

Desenvolvimento de uma nanoemulsão (o/a) bioativa incorporada ao óleo essencial de *Coleus aromaticus* Benth (hortelã-grosso)

Development of a bioactive nanoemulsion (o/w) incorporated into the essential oil of *Coleus aromaticus* Benth (spearmint)

Desarrollo de una nanoemulsión bioactiva (o/w) incorporada al aceite esencial de *Coleus aromaticus* Benth (hierbabuena)

Recebido: 18/11/2021 | Revisado: 27/11/2021 | Aceito: 20/01/2022 | Publicado: 22/01/2022

Maycon Lopes Ferreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1569-6624>
Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais, Brasil
E-mail: lopes_rio2016@hotmail.com

João Pedro Mesquita Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1833-9814>
Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais, Brasil
E-mail: joão-p01@live.com

Thaylanna Pinto de Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1172-3004>
Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais, Brasil
E-mail: thaylanna.lima@discente.ufma.br

Brendha Araújo de Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4504-4341>
Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais, Brasil
E-mail: brendha.araujo@discente.ufma.br

Rodrigo de Aquino Almeida

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6109-1282>
Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais, Brasil
E-mail: rodrigo.aquino@discente.ufma.br

Ana Paula Muniz Serejo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4376-4364>
Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais, Brasil
E-mail: ana.serejo@discente.ufma.br

Silvio Carvalho Marinho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7181-5798>
Universidade Ceuma, Brasil
E-mail: silviomarinho@yahoo.com.br

Ana Cathariny da Silva de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1631-3856>
Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais, Brasil
E-mail: ana.cathariny@discente.ufma.br

Paulo Roberto Barros Gomes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4221-6577>
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, Brasil
E-mail: prbgomes@yahoo.com.br

Victor Elias Mouchrek Filho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2855-7292>
Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais, Brasil
E-mail: victor.mouchrek@ufma.br

Gustavo Oliveira Everton

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0457-914X>
Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais, Brasil
E-mail: gustavooliveiraeverton@gmail.com

Resumo

Este estudo objetivou avaliar a atividade larvicida do óleo essencial (OE) e nanoemulsão (O/A) das folhas de *Coleus aromaticus* Benth (hortelã-grosso). O material vegetal obtido nesta pesquisa foi coletado em Arari (MA) em maio de 2021. Para extração do OE foi utilizada a técnica de hidrodestilação em um sistema extrator de Clevenger modificado. A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu. A atividade antioxidante foi executada pelo método espectrofotométrico de eliminação de radicais hidroxila do ácido salicílico. Para atividade

larvicida submeteu-se larvas *Aedes aegypti* a soluções do OE e nanoemulsões em concentrações de 10-100 mg L⁻¹, onde avaliou-se a mortalidade das larvas e determinou-se a CL₅₀ pelo método de Probit. No ensaio de fenólicos totais, foi quantificado o valor de 350,86 mg EAT g⁻¹, sendo um resultado significativo para presença da classe no óleo essencial. No ensaio de atividade antioxidante foi obtida a CE₅₀ de 195,39 mg L⁻¹ para ação de *C. aromaticus* sendo classificada como promissora. Observou-se ação do OE como larvicida sendo determinada a CL₅₀ de 3,24 mg L⁻¹, enquanto para nanoemulsão foi observada ação superior em de 1,83 mg L⁻¹. Os resultados obtidos permitiram concluir que o OE estudado apresentou atividade larvicida eficiente contra as larvas de *Aedes aegypti*. Por fim, destaca-se o potencial obtido para o OE e nanoemulsão obtida da espécie em estudo, sendo importante destacar que a nanoemulsão obtida é um bioproduto formulado a partir do óleo essencial com potencial de mercado, sendo importante no controle e combate de casos relacionados ao *Aedes aegypti*.

Palavras-chave: Larvicida; Óleo essencial; Coleus aromaticus.

Abstract

This study aimed to evaluate the larvicidal activity of essential oil (EO) and nanoemulsion (O/A) of *Coleus aromaticus* Benth (coarse mint) leaves. The plant material obtained in this research was collected in Arari (MA) in May 2021. The hydrodistillation technique was used for EO extraction in a modified Clevenger extractor system. The total phenolic compounds were determined by the Folin-Ciocalteu method. Antioxidant activity was performed by the spectrophotometric method of elimination of hydroxyl radicals from salicylic acid. For larvicidal activity, *Aedes aegypti* larvae were submitted to EO solutions and nanoemulsions at concentrations of 10-100 mg L⁻¹, where larvae mortality was evaluated and LC₅₀ was determined by the Probit method. In the total phenolic assay, the value of 350.86 mg EAT g⁻¹ was quantified, being a significant result for the presence of the class in the essential oil. In the antioxidant activity assay, the IC₅₀ of 195.39 mg L⁻¹ was obtained for the action of *C. aromaticus* being classified as promising. The action of the EO as larvicidal was observed and the LC₅₀ of 3.24 mg L⁻¹ was determined, while for nanoemulsion a higher action was observed in 1.83 mg L⁻¹. The results obtained allowed us to conclude that the studied EO presented efficient larvicidal activity against the larvae of *Aedes aegypti*. Finally, we highlight the potential obtained for EO and nanoemulsion obtained from the species under study, and it is important to highlight that the nanoemulsion obtained is a bioproduct formulated from the essential oil with market potential, being important in the control and combat of cases related to *Aedes aegypti*.

Keywords: Larvicidal; Essential oil; Coleus aromaticus.

Resumen

Este estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad larvicida del aceite esencial (AE) y la nanoemulsión (O/A) de las hojas de *Coleus aromaticus* Benth (menta gruesa). El material vegetal obtenido en esta investigación fue recolectado en Arari (MA) en mayo de 2021. La técnica de hidrodestilación se utilizó para la extracción de equipos operativos en un sistema extractor Clevenger modificado. Los compuestos fenólicos totales se determinaron por el método Folin-Ciocalteu. La actividad antioxidante se realizó mediante el método espectrofotométrico de eliminación de radicales hidroxilo del ácido salicílico. Para la actividad larvicida, las larvas de *Aedes aegypti* se sometieron a soluciones AE y nanoemulsiones a concentraciones de 10-100 mg L⁻¹, donde se evaluó la mortalidad de larvas y se determinó LC₅₀ por el método Probit. En el ensayo fenólico total, se cuantificó el valor de 350,86 mg de EAT g⁻¹, siendo un resultado significativo para la presencia de la clase en el aceite esencial. En el ensayo de actividad antioxidante, se obtuvo el CE₅₀ de 195,39 mg L⁻¹ por la acción de *C. aromaticus* siendo clasificado como prometedor. Se observó la acción de la AE como larvicida y se determinó el CL₅₀ de 3,24 mg L⁻¹, mientras que para la nanoemulsión se observó una mayor acción en 1,83 mg L⁻¹. Los resultados obtenidos permitieron concluir que la AE estudiada presentó actividad larvicida eficiente contra las larvas de *Aedes aegypti*. Por último, destacamos el potencial obtenido para la AE y nanoemulsión obtenida de la especie en estudio, y es importante destacar que la nanoemulsión obtenida es un bioproducto formulado a partir del aceite esencial con potencial de mercado, siendo importante en el control y combate de casos relacionados con *Aedes aegypti*.

Palabras clave: Larvicida; Aceite esencial; Coleus aromaticus.

1. Introdução

Ao longo da história da humanidade a utilização de plantas medicinais exercem papel significativo na terapêutica mundial (Pirondo, 2011), sendo os produtos naturais utilizados pela humanidade desde tempos remotos. Esse uso está baseado na procura por alívio e cura de doenças pela ingestão de ervas e folhas, talvez sendo isto uma das primeiras formas de utilização dos produtos naturais (Viegas, 2006). Esta busca incessante pelo desafio de transpor barreiras à sua sobrevivência, como o clima e as doenças, levaram o homem ao atual estágio de desenvolvimento científico, mesmo após o avanço tecnológico observado nos dias de hoje (Viegas, 2006).

De forma geral, a biodiversidade tem produzido a maioria das substâncias bioativas conhecidas, úteis ao tratamento de

doenças que acometem os seres humanos (Montanari, 2001). No mundo, mais de duas mil espécies de plantas foram catalogadas como substâncias que apresentaram propriedades inseticidas (Baladrin, 1985), e com o surgimento de formas resistentes do mosquito aos inseticidas convencionais utilizados, tem crescido a procura por extratos vegetais e substâncias naturais que sejam efetivas no combate às larvas do mosquito *Aedes aegypti* e que sejam isentas de toxicidade para o meio ambiente.

O *Aedes aegypti* é um mosquito diurno, de coloração preta, com listras e manchas brancas, adaptado ao ambiente urbano. Assim, o acúmulo de recipientes úteis ou inúteis, que de certa forma, são capazes de juntar água, favorecendo a proliferação do vetor. No Brasil, *Aedes aegypti* está amplamente beneficiado graças às práticas culturais diversificadas que favorecem a manifestação epidêmica da dengue em várias cidades brasileiras (Taveira, 2001). A partir do século XX, o combate ao *Aedes aegypti* foi sistematizado e intensificado no Brasil, com o objetivo de reduzir o número de casos de febre amarela urbana, que havia levado milhares de pessoas a óbito. O controle vetorial era feito por meio da eliminação mecânica de criadouros; quando não era possível a eliminação, tratavam-se os criadouros com larvicidas e ainda se aplicavam outros tipos de inseticidas (Costa, 2011).

Tendo em vista os prejuízos causados pela transmissão de dengue no mundo, sendo essa uma infecção reemergente circulante nos cinco continentes e com grande potencial para assumir formas graves e letais (Simas, 2004), torna-se de suma importância a descoberta de novos métodos de combate ao seu vetor *Aedes aegypti* (Viegas, 2006).

Como alternativa, nos últimos anos, os óleos essenciais obtidos de plantas têm sido considerados fontes em potencial de substâncias biologicamente ativas (Kelsey, 1984), e visando a grande diversidade de vegetais existentes no Brasil (Sandes, 2000), estudos a partir de extratos vegetais surgem com a expectativa de se encontrarem substâncias com propriedades larvicidas e simultaneamente seletivas para serem usadas em futuras formulações de um produto comercial (Furtado, 2005).

Dentre as espécies que se destacam na produção de óleos essenciais está *Coleus amboinicus* (Lour.) Spreng, erva pertencente à família Lamiaceae, amplamente utilizada tanto na medicina popular quanto para fins culinários. Isso se deve principalmente a sua natural produção de um óleo essencial com grandes quantidades de compostos bioativos, como carvacrol (Menéndez, 1999), timol [Singh, 2002], β -cariofileno, α -humuleno, γ -terpineno, p-cimeno, α -terpineol e β -selineno, identificado no componente oleoso de suas folhas (Murthy, 2009; Senthilkumar, 2010).

Os bioprodutos originários dessa espécie têm evidenciado propriedades antifúngicas, antimicrobianas, inseticida, atividades antileptospirais, atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, analgésicas, diuréticas e citotóxicas demonstrando efetividade no tratamento de doenças de pele e suas folhas são usadas topicamente para o tratamento de furúnculos e micoses superficiais (Raju, 2018), sendo uma importante espécie a ser explorada para estudos larvicidas.

Desta forma, as plantas medicinais têm-se mostrado promissoras quanto a sua ação larvicida, inseticida e deterrente que agregada a novas tecnologias, viabiliza novos produtos que não sejam nocivos ao meio ambiente. Assim, este estudo terá por objetivo avaliar o perfil químico e atividade larvicida dos óleos essenciais e nanoemulsões (O/A) de *Coleus amboinicus* Benth.

2. Metodologia

2.1 Obtenção do material vegetal

A coleta do material vegetal utilizado nesta pesquisa foi realizada em maio de 2021. As folhas de *Coleus amboinicus* Benth foram coletadas no horário da manhã no município de Arari- MA, Brasil, conforme a Figura 1.

Figura 1 – Folhas de *Coleus amboinicus* Benth.



Fonte: Autores (2021).

Após a coleta, a espécie vegetal foi transportada para o Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV/UFMA), onde as folhas foram pesadas, trituradas e armazenadas para a extração do óleo essencial do vegetal.

2.2 Extração do óleo essencial

Para extração do óleo essencial, foi aplicada a técnica de hidrodestilação com um extrator de Clevenger de vidro acoplado a um balão de fundo redondo acondicionado em manta elétrica como fonte geradora de calor. Foram utilizadas 400g das folhas do vegetal trituradas em liquidificador, e adicionou-se 3200 mL água destilada (1:8) ao material vegetal contido no balão (Figura 2).

Figura 2 – Sistema de hidrodestilação com extrator de clevenger.



Fonte: Autores (2021).

A hidrodestilação foi conduzida a 100°C por 3h e logo após recolheu-se o óleo essencial extraído. O óleo essencial foi seco por percolação com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) e centrifugado. Essas operações foram realizadas em triplicatas e as amostras armazenadas em ampolas de vidro âmbar sob refrigeração de 4°C. Posteriormente submetidos as análises.

2.3 Conteúdo fenólico total (CFT)

A determinação dos compostos fenólicos totais do óleo essencial foi realizada com adaptação do método de Folin-Ciocalteu (Waterhouse, 2002). Utilizou-se 5 mg do óleo essencial diluído em 1 mL de etanol. A esta solução foi adicionado 7 mL de água destilada, 800 µL do reagente Folin-Ciocalteu e 2,0 mL de carbonato de sódio a 20%. Após duas horas foi realizada a leitura em espectrofotômetro UV-VIS em comprimento de 760 nm. A curva padrão foi expressa em mg L⁻¹ de ácido tânico.

2.4 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi feita pelo método espectrofotométrico de eliminação de radicais hidroxila do ácido salicílico conforme os métodos descritos por Smirnff&Cumbes (1989) e Sundarajan et al. (2016).

A nanoemulsão e os óleos essenciais em diferentes concentrações de 10-500 mg L⁻¹ foram dissolvidos em DMSO 0,2% e água destilada, respectivamente. Foram adicionadas a essas concentrações 1 mL de ácido salicílico (9 mM), 1 mL de sulfato ferroso (9 mM) e 1 mL de peróxido de hidrogênio (9 mM). Utilizou-se ácido ascórbico como padrão positivo. A mistura reacional foi incubada durante 60 min a 37 °C em banho-maria; após a incubação, a absorbância das misturas foi medida a 510 nm usando um espectrofotômetro UV/VIS e a CE₅₀ calculada.

2.5 Preparo das nanoemulsões (O/A)

O preparo das nanoemulsões foi realizado de acordo com as metodologias adaptadas descritas por Lima et al. (2020), Sugumar et al. (2014), Kubitschek et al. (2014) e Rodrigues et al. (2014). A nanoemulsão óleo-em-água foi formulada com cada óleo, surfactante não iônico (tween 20) e água. As quantidades necessárias de cada constituinte da fase oleosa (óleo+Tween20) foram aquecidas a 65 ± 5 °C. A fase aquosa foi aquecida separadamente a 65 ± 5 °C, proporcionando uma formulação primária, pelo método de inversão de fases.

Para comprovar a estabilidade, a emulsão formulada foi submetida a diferentes testes de estresse (Shafiq et al., 2007). Ciclo de aquecimento-resfriamento: foi realizado mantendo a nanoemulsão formulada a 40 e 4 °C, alternando cada temperatura por 48 h. O ciclo foi repetido três vezes. Estresse de congelamento-descongelamento: nanoemulsão alternativamente a -21 e 25 °C por 48 h em cada temperatura. O ciclo foi repetido três vezes. As formulações que passaram nos testes de estresse termodinâmico foram levadas para estudos de ação larvicida.

2.6 Atividade larvicida

Os ovos foram coletados em São Luís/ MA, através de armadilhas denominadas ovitrampas. Estas consistem de baldes marrons (500 mL), de polietileno, com 1 mL de levedura de cerveja e 300 mL de água corrente e inserida duas palhetas de Eucatex para a ovoposição do mosquito. As armadilhas foram inspecionadas semanalmente para a substituição das palhetas e recolhimento dos ovos e encaminhados para o Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV/UFMA) do Pavilhão Tecnológico da Universidade Federal do Maranhão – UFMA.

Inicialmente, colocou-se os ovos do *Aedes aegypti* para eclodir a temperatura ambiente em um aquário circular de vidro contendo água mineral. A identificação da espécie seguiu a metodologia proposta por Forattini (1962). As larvas obtidas são alimentadas com ração de gato conforme a metodologia de Silva (1995) até atingirem o terceiro e quarto estágio, idade em

que foram feitos os experimentos.

Os ensaios para atividade larvicida foram realizados de acordo com a metodologia adaptada proposta por Silva (2006). Inicialmente, foi preparada uma solução mãe de 100 mg L⁻¹ de cada um dos óleos essenciais sendo diluídas em solução de DMSO 2% e nanoemulsões (isenta de diluição). Desta solução, preparou-se cinco diluições nas concentrações 1,0-90,0 mg L⁻¹. A cada concentração foram adicionadas 10 larvas na proporção 1 mL por larva.

Todos os testes foram realizados em triplicatas e como controle negativo foi utilizado uma solução formada de DMSO 2%, e como controle positivo, uma solução de etanol (P.A) 70% v/v. Após 24h realizou-se a contagem de vivas e mortas, sendo consideradas mortas, as larvas que não reagem ao toque após 24 horas do início do experimento. Para quantificação da eficiência dos óleos essenciais e nanoemulsões foi aplicado o teste estatístico de Probit (Finney, 1952) e classificação da ação por Cheng et al. (2003).

3. Resultados e Discussão

3.1 Conteúdo Fenólico Total

A Tabela 1 apresenta a quantidade de fenólicos totais no OE de *C. aromaticus*.

Tabela 1. Conteúdo Fenólico total (CFT) do óleo essencial de *C. aromaticus*.

OE	Equação da reta	CFT	R ²
<i>C. aromaticus</i>	$y = 0,0587x + 0,06$	350,86 mg EAT g ⁻¹	0,9998

Fonte: Autores.

Segundo a Tabela 1 pôde confirmar um quantitativo importante de fenólicos totais. Estes compostos fenólicos quantificados são uma das classes de metabólicos secundários das plantas responsáveis pela atividade anti-inflamatória observada, sendo também estes relacionados a diversas propriedades antioxidantes (Singh et al., 2012). Além disso, é de suma importância a exposição de estudos como este, devido a escassez de publicações na literatura relacionados a estudos de fenólicos totais do OE da espécie em estudo.

Um quantitativo semelhante em base de equivalência grama de ácido gálico para os extratos da espécie *C. aromaticus* foram encontrados na literatura. Terto (2020) relatam que para o teor total de fenólicos para o extrato das folhas de *C. aromaticus* esteve em 142.39 ± 1.12 mg EAG g⁻¹. Por outro lado, Mendonça (2016) avaliou o conteúdo fenólico total das folhas de *C. aromaticus* em 9,31 mg EAG g⁻¹ de folha fresca, indicando que os valores encontrados no presente estudo são promissores.

As diferenças observadas para os compostos fenólicos apresentam uma alta dependência de fatores ambientais, sendo fortemente afetada tanto pela composição do solo, fertilização mineral, métodos de cultivo, dentre outros fatores, revelando que a variabilidade das condições ambientais durante todo o ano é importante para a produção deles (Nenadis et al., 2015; Passari et al., 2019). Medeiros (2021) concluiu em seu estudo que através da quantificação no teor de fenólicos totais foi possível identificar qual o melhor mês para a coleta de *C. aromaticus* em relação a esses compostos. Portanto, foi observado que o melhor mês é julho (164,7 mg EAG g⁻¹), justificando assim as diferenças nos quantitativos obtidos em todos os estudos.

3.2 Atividade antioxidante

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos para a capacidade antioxidante do OE, onde a partir da equação da reta, calculou-se o respectivo valor da concentração efetiva 50% (CE₅₀) responsável pela inibição de 50% da inibição de radicais

hidroxilas.

Tabela 2. Capacidade antioxidante do OE quantificada em CE₅₀.

OE	CE ₅₀	Equação da reta	R ²
<i>C. aromaticus</i>	195,39 mg L ⁻¹	y=224,16x-463,53	0,9422

Fonte: Autores.

Segundo a Tabela 2, o OE de *C. aromaticus* quantificou uma CE₅₀ de 195,39 mg L⁻¹, enquanto a do padrão ácido ascórbico foi de 78,86 mg L⁻¹. Campos et al. (2003), classifica que produtos naturais com concentrações menores que 500 mg L⁻¹ são classificados como ativos para o sistema empregado. Assim, a CE₅₀ de *C. aromaticus* foi promissora e ativa, embora tenha sido um valor inferior ao padrão, evidenciando a necessidade de mais estudos para determinar o mecanismo de ação antioxidante do vegetal estudado.

Resultados próximos ao obtido neste trabalho são relatados por Terto (2020), onde foi obtido um valor de CE₅₀ de 112,39 mg L⁻¹. Por outro lado, Mendonça (2006) relatou o valor de CE₅₀ DE 510 mg L⁻¹. Segundo Sousa et al. (2007) quanto menor o valor de CE₅₀ maior a atividade antioxidante do composto vegetal, pois é necessária uma menor concentração de óleo essencial para reduzir o radical hidroxila em 50%. Efeitos de sazonalidades podem justificar essas variações de quantitativos analisados.

Medeiros (2021) observou em seu estudo que o melhor mês para a ação sequestradora de radicais pelo extrato de *C. aromaticus* é outubro (85,04 mg L⁻¹), o que pode ser devido a maiores concentrações de fenólicos. Portanto, no presente estudo obteve-se um quantitativo eficaz, em que os compostos fenólicos quantificados são uma das classes de metabólicos secundários das plantas, sendo também estes relacionados a diversas propriedades antioxidantes.

3.3 Atividade larvicida

A Tabela 3 apresenta os resultados referentes a mortalidade das larvas *Aedes aegypti* frente ação do óleo essencial com cálculo da CL₅₀.

Tabela 3. Concentração Letal 50% (CL₅₀) para ação do óleo essencial e nanoemulsão de *C. aromaticus* frente *Aedes aegypti*.

	Concentração mg L ⁻¹	Mortalidade (%)	CL ₅₀ mg L ⁻¹	σ	χ ²	R ²
ÓLEO ESSENCIAL	100-20	100,0				
	15	80,0				
	10	70,0	3,24 (1,89-5,55)	0,830	0,949	0,958
	5	60,0				
	2	40,0				
	10	100,0				
NANOEMULSÃO	8	100,0				
	6	80,0				
	4	80,0	1,83 (1,108-3,017)	0,533	0,829	0,910
	2	80,0				
	0	0,00				
		Controle positivo	Todas as larvas inativas			
	Controle negativo	Todas as larvas ativas				
	Branco	Todas as larvas ativas				

Fonte: Autores.

Conforme apresenta a Tabela 3, a CL₅₀ para o óleo essencial referente a estimativa de mortalidade de 50% de larvas *Aedes aegypti* esteve abaixo de 50 mg L⁻¹, sendo classificada por Cheng et al. (2003) como ação muito ativa do óleo essencial, sendo seu potencial de uso e aplicação incentivado. A nanoemulsão (O/A) formulada também apresentou potencial ativo para a atividade larvicida, porém teve ação relativamente maior quando comparada a ação do *óleo essencial* in vitro.

Estudos recentes que permitiram assegurar a confiabilidade dos resultados obtidos, visto que Pereira et al. (2021) e Santos et al. (2020) obtiveram CL₅₀ de 28,52 mg L⁻¹ e CL₅₀ de 41,7 mg L⁻¹ respectivamente para ação larvicida frente *Aedes aegypti* da espécie em estudo. As espécies foram obtidas, respectivamente, no município de Palmeirândia (MA) e Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

Para o OE de *C. aromaticus*, Huang et al. (2019) caracterizaram quimicamente o OE testado através da análise CG-EM e constataram que o constituinte principal do vegetal estudado foi o carvacrol, o que relatou 61,53% do total de OE, reafirmado por outros autores permitindo então a atribuição do potencial larvicida a seu constituinte majoritário.

A atividade larvicida de um OE é principalmente atribuída a sua constituição química. A ação biológica observada, segundo Huang et al. (2019), está relacionada à presença de componentes químicos neste óleo essencial, como carvacrol, timol, fenóis e ácidos aromáticos, sendo muito comum sua aplicação como repelentes naturais, pois possui alto teor de OE em suas folhas, visando uma alternativa segura, ecologicamente viável e eficiente no combate e controle da população de *Aedes aegypti* no país.

Por fim, o potencial tóxico dos OE's e dos seus compostos químicos frente *Aedes aegypti* pode variar significativamente de acordo com os fatores intrínsecos e extrínsecos, condições geográficas e sazonalidades Dias e Moraes,

(2014) relatam que estes fatores também podem estar diretamente associados quanto as variações de CL₅₀ nos respectivos estudos. Sendo importante enfatizar que a nanoemulsão obtida é um bioproduto formulado a partir do óleo essencial com potencial de mercado, sendo importante no controle e combate de casos relacionados ao *Aedes aegypti*.

4. Conclusão

Os resultados obtidos permitiram concluir que o OE estudado apresentou atividade larvicida eficiente contra as larvas de *Aedes aegypti*, onde o critério usado considera boas substâncias de agentes larvicidas com um valor de CL₅₀ abaixo de 100 mg L⁻¹. Por fim, destaca-se o potencial obtido para o OE e nanoemulsão obtida da espécie em estudo, sendo importante destacar que a nanoemulsão obtida é um bioproduto formulado a partir do óleo essencial com potencial de mercado, sendo importante no controle e alternativa no combate de casos relacionados ao *Aedes aegypti*.

Agradecimentos

Ao Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV-UFMA).

Referências

- Campos, M. G., Webby, R. F., Markham, K. R., Mitchell, K. A., & Da Cunha, A. P. (2003). Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(3), 742-745.
- Balandrin, M. F., Klocke, J. A., Wurtele, E. S., & Bollinger, W. H. (1985). Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. *Science*, 228(4704), 1154-1160.
- Castillo, R. A. M., & González, V. P. (1999). *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 3, 110-115.
- Cheng, S. S., Chang, H. T., Chang, S. T., Tsai, K. H., & Chen, W. J. (2003). Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. *Bioresource Technology*, 89(1), 99-102.
- Costa, Z. G. A., Romano, A. P. M., Elkhoury, A. N. M., & Flannery, B. (2011). Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 2(1), 11-26.
- Dias, C. N., & Moraes, D. F. C. (2014). Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvicides. *Parasitology research*, 113(2), 565-592.
- Finney, D. J. (1952). *Probit analysis: a statistical treatment of the sigmoid response curve*. Cambridge university press, Cambridge.
- Forattini, O. (1962). *Entomologia Médica*. Universidade de São Paulo.
- Furtado, R. F., de Lima, M. G., Andrade Neto, M., Bezerra, J. N., & Silva, M. G. D. V. (2005). Atividade larvicida de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Neotropical Entomology*, 34, 843-847.
- Huang, H. T., Lin, C. C., Kuo, T. C., Chen, S. J., & Huang, R. N. (2019). Phytochemical composition and larvicidal activity of essential oils from herbal plants. *Planta*, 250(1), 59-68.
- Kelsey, R. G., Reynolds, G. W., & Rodriguez, E. (1984). Chemistry of biologically active constituents secreted and stored in plant glandular trichomes. *Biology and chemistry of plant trichomes/edited by E. Rodriguez, PL Healey and I. Mehta*.
- Kubitschek-KM, A. R. J., & Zero, J. M. (2014). Development of jojoba oil (*Simmondsia chinensis* (Link) CK Schneid.) based nanoemulsions. *Lat. Am. J. Pharm*, 33(3), 459-63.
- Lima, T. C. P., de Almeida, A. F., de Oliveira, E. C. P., Carrera Silva Júnior, J. O., Ribeiro Costa, R. M., Pena Matos, A., & Fonseca Gomes, M. R. (2020). Desenvolvimento de nanogel de *Copaifera reticulata* sobre a lesão muscular em ratos usando fonoforese. *Saúde e Pesquisa*, 13(1).
- Mendonça SC (2016). Atividades antioxidantes, anti-Candida e inibitorias da lipoxigenase e alfa-amilase de espécies medicinais do gênero *Plectranthus*. Dissertação de Mestrado Universidade Federal de Lavras.
- Montanari, C. A., & Bolzani, V. D. S. (2001). Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. *Química Nova*, 24, 105-111.
- Murthy, P. S., Ramalakshmi, K., & Srinivas, P. (2009). Fungitoxic activity of Indian borage (*Plectranthus amboinicus*) volatiles. *Food Chemistry*, 114(3), 1014-1018.
- Nenadis, N., Llorens, L., Koufogianni, A., Díaz, L., Font, J., Gonzalez, J. A., & Verdager, D. (2015). Interactive effects of UV radiation and reduced precipitation on the seasonal leaf phenolic content/composition and the antioxidant activity of naturally growing *Arbutus unedo* plants. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 153, 435-444.

- Passari, L. M., Scarminio, I. S., Marcheafave, G. G., & Bruns, R. E. (2019). Seasonal changes and solvent effects on fractionated functional food component yields from *Mikania laevigata* leaves. *Food chemistry*, 273, 151-158.
- Pirondo, A., Coulleri, J. P., Keller, H. A., & Ferrucci, M. S. (2011). Influencia de factores externos sobre la comercialización de plantas medicinales en un medio urbano: el caso de vendedores criollos e indígena en Corrientes, Argentina.
- Pereira, A. P. M., Martins, T. G. T., Arruda, M. O., Dias, A. A. S., da Silva Souto, L. A., de Araújo Neto, A. P., ... & Everton, G. O. (2021). Chemical profile and larvicidal activity of essential oil obtained from the leaves of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. *Research, Society and Development*, 10(4), e15410413846-e15410413846.
- Raju, V. D., Kishore, P. S., & Yamini, K. (2018). Experimental studies on four stroke diesel engine fuelled with tamarind seed oil as potential alternate fuel for sustainable green environment. *European Journal of Sustainable Development Research*, 2(1), 10.
- Rodrigues, E. D. C., Ferreira, A. M., Vilhena, J. C., Almeida, F. B., Cruz, R. A., Florentino, A. C., ... & Fernandes, C. P. (2014). Development of a larvicidal nanoemulsion with Copaiba (*Copaifera duckei*) oleoresin. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24, 699-705.
- Santos, A. B. D. S., Everton, G. O., Júnior, R. G. D. O. C., Rosa, P. V. S., Pereira, A. P. M., dos Santos Souza, L., & Mouchrek Filho, V. E. (2020). Óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum* Blume e *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng como agentes larvicidas frente as larvas do *Aedes aegypti*. *Brazilian Journal of Development*, 6(4), 22355-22369.
- Sandes, A. R. R., & Di Blasi, G. (2000). Biodiversidade e diversidade química e genética. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento*, 13, 28-32.
- Simas, N. K., Lima, E. D. C., Conceição, S. D. R., Kuster, R. M., Oliveira Filho, A. M. D., & Lage, C. L. S. (2004). Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue: atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. *Química nova*, 27, 46-49.
- Singh, G., Singh, O. P., Prasad, Y. R., De Lampasona, M. P., & Catalan, C. (2002). Studies on essential oils, Part 33: chemical and insecticidal investigations on leaf oil of *Coleus amboinicus* Lour. *Flavour and fragrance journal*, 17(6), 440-442.
- Shafiq, S., Shakeel, F., Talegaonkar, S., Ahmad, F. J., Khar, R. K., & Ali, M. (2007). Development and bioavailability assessment of ramipril nanoemulsion formulation. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 66(2), 227-243.
- Senthilkumar, A., & Venkatesalu, V. (2010). Chemical composition and larvicidal activity of the essential oil of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng against *Anopheles stephensi*: a malarial vector mosquito. *Parasitology research*, 107(5), 1275-1278.
- Singh, H. P., Kaur, S., Negi, K., Kumari, S., Saini, V., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2012). Assessment of in vitro antioxidant activity of essential oil of *Eucalyptus citriodora* (lemon-scented Eucalypt; Myrtaceae) and its major constituents. *LWT-Food science and Technology*, 48(2), 237-241.
- Sminorff, N., Cumbes, Q. J. (1989). Atividade sequestrante de radical hidroxila de solutos compatíveis. *Phytochemistry*, 28(4), 1057-1060.
- Silva, W. J. D. (2006). Atividade larvicida do óleo essencial de plantas existentes no estado de Sergipe contra *Aedes aegypti* Linn.
- Silva, H. H. G. D., Silva, I. G. D., Elias, C. N., Lemos, S. P. S., & Rocha, A. P. (1995). Idade fisiológica dos ovos de *aedes* (*stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus, 1762)(diptera, culicidae).
- Sousa, C. M. D. M., Silva, H. R., Ayres, M. C. C., Costa, C. L. S. D., Araújo, D. S., Cavalcante, L. C. D., & Chaves, M. H. (2007). Total phenolics and antioxidant activity of five medicinal plants. *Química Nova*, 30(2), 351-355.
- Sugumar, S., Clarke, S. K., Nirmala, M. J., Tyagi, B. K., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2014). Nanoemulsion of eucalyptus oil and its larvicidal activity against *Culex quinquefasciatus*. *Bulletin of entomological research*, 104(3), 393-402.
- Sundararajan, R., & Koduru, R. (2016). In vitro antioxidant activity on roots of *Limnophila heterophylla*. *Free Radicals and Antioxidants*, 6(2), 178-185.
- Taveira, L. A., Fontes, L. R., Natal, D., & Gomes, A. D. C. (2001). Manual de diretrizes e procedimentos no controle do *Aedes aegypti*. In *Manual de diretrizes e procedimentos no controle do Aedes aegypti* (pp. 108-108).
- Terto, M. V. C., Gomes, J. M., Araújo, D. I. A., Silva, T. S., Ferreira, J. M., Souza, J. J. N., & Tavares, J. F. (2020). Photoprotective activity of *Plectranthus amboinicus* extracts and HPLC quantification of rosmarinic acid. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 1-6.
- Viegas Jr, C., Bolzani, V. D. S., & Barreiro, E. J. (2006). Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Química nova*, 29, 326-337.
- Waterhouse, A. L. (2002). Determination of total phenolics. *Current protocols in food analytical chemistry*, 6(1), 11-1.