



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
NÚCLEO DE PÓS-GRADUAÇÃO**

EM



DESENVOLVIMENTO E MEIO AMBIENTE

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: DESENVOLVIMENTO REGIONAL

PROGRAMA REGIONAL DE DESENVOLVIMENTO E MEIO AMBIENTE

**ATIVIDADE LARVICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL
DE PLANTAS EXISTENTES NO
ESTADO DE SERGIPE CONTRA
Aedes aegypti Linn.**

Autor: Wellington José da Silva

Orientador: Sócrates Cabral de Holanda Cavalcanti

FEVEREIRO - 2006

São Cristóvão – Sergipe

Brasil



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
NÚCLEO DE PÓS-GRADUAÇÃO

EM

DESENVOLVIMENTO E MEIO AMBIENTE

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: DESENVOLVIMENTO REGIONAL

PROGRAMA REGIONAL DE DESENVOLVIMENTO E MEIO AMBIENTE



**ATIVIDADE LARVICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL
DE PLANTAS EXISTENTES NO
ESTADO DE SERGIPE CONTRA
Aedes aegypti Linn.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Núcleo de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente da Universidade Federal de Sergipe, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Desenvolvimento e Meio Ambiente.

Autor: Wellington José da Silva

Orientador: Sócrates Cabral de Holanda Cavalcanti

FEVEREIRO - 2006
São Cristóvão – Sergipe
Brasil



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
NÚCLEO DE PÓS-GRADUAÇÃO

EM



DESENVOLVIMENTO E MEIO AMBIENTE

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: DESENVOLVIMENTO REGIONAL

PROGRAMA REGIONAL DE DESENVOLVIMENTO E MEIO AMBIENTE

**ATIVIDADE LARVICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL
DE PLANTAS EXISTENTES NO
ESTADO DE SERGIPE CONTRA
Aedes aegypti Linn.**

Dissertação de Mestrado defendida por Wellington José da Silva e aprovada em 29 de março de 2006 pela banca examinadora constituída pelos doutores:

Dr. Sócrates Cabral de Holanda Cavalcanti - Orientador
Universidade Federal de Sergipe

Dr. Josemar Sena Batista
Universidade Federal de Sergipe

Dr. Péricles Barreto Alves
Universidade Federal de Sergipe

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente

Sócrates Cabral de Holanda Cavalcanti - Orientador
Universidade Federal de Sergipe

È concedida ao Núcleo responsável pelo Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente da Universidade Federal de Sergipe permissão para disponibilizar cópias desta dissertação e emprestar ou vender tais cópias.

Wellington José da Silva - Autor
Universidade Federal de Sergipe

Sócrates Cabral de Holanda Cavalcanti - Orientador
Universidade Federal de Sergipe

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e pela capacidade de aprender todos os dias e em todos os momentos. Pela humildade, que me faz perceber o pouco que sei e o muito que tenho a descobrir.

Aos familiares, pelo incentivo, orações e apoio em todas as circunstâncias durante o curso. Por compreenderem os momentos de renúncia que fiz a tantos encontros de família, para dedicar-me à execução deste trabalho.

À Sócrates, meu orientador, de quem me tornei um observador e admirador da sua abnegação pelo trabalho. Meu muito obrigado por me aceitar em seu laboratório e me confiar a realização deste trabalho de mestrado. Agradeço pela compreensão, paciência e disponibilidade que demonstrou durante estes anos. Como disse Einstein: “Se enxerguei longe é porque estive sobre ombros de gigantes.” Obrigado professor.

A Grace Anne Azevedo, amiga e companheira de laboratório que em muito contribuiu para a realização desse trabalho. Pelo grande apoio que recebi na realização da parte experimental, meu muito obrigado.

Aos professores Josemar Sena Batista e Péricles Barreto Alves que aceitaram de bom grado o convite para participarem das bancas do exame de qualificação e defesa final desta dissertação. Além disso, agradeço ao professor Josemar pela disponibilidade quando busquei algumas orientações e pelo livre acesso que tive ao seu laboratório na busca de materiais para a realização dos experimentos. Ao professor Péricles, agradeço pela análise que fez da composição química dos óleos essenciais testados neste trabalho, mostrando-se em todos os momentos acessível e disponível.

À professora Maria da Paz que contribuiu na parte de análise estatística dos dados e com outras orientações quando precisei. A Paulo Vinicius e Adriana Ferreira que participaram ativamente da confecção desta dissertação e que me acompanharam durante todo o mestrado, dando o apoio necessário na parte de informática.

Enfim, agradeço a todos os que direta ou indiretamente, participaram comigo, dando a sua contribuição para a realização deste mestrado.

Muito Obrigado !

RESUMO

O *Aedes aegypti* (Linn, 1762) é atualmente o mosquito que apresenta maior dispersão em áreas urbanas do mundo. Esta espécie é de grande importância para a medicina pois, trata-se do vetor de quatro sorotipos do flavivírus causador do dengue clássico e da febre hemorrágica do dengue. O aumento na densidade desse mosquito está relacionado ao comportamento sinantrópico e ao hábito antropofílico dessa espécie. Urge, portanto, o controle da densidade populacional do *A. aegypti* para que o dengue não assuma proporções de uma epidemia. Não existe vacina para o dengue, e a melhor forma de combater a doença é atacar o vetor, principalmente eliminando os locais onde ocorre a oviposição e o desenvolvimento das larvas do *A. aegypti*. Atualmente esse controle é feito por meio de aplicações de inseticidas organofosforados. Porém, o uso frequente e em doses cada vez maiores desses produtos, têm selecionado populações resistentes do mosquito. Em todo o mundo diversas pesquisas são desenvolvidas no sentido de encontrar substância de origem vegetal, como alternativa para o controle do dengue. Os óleos essenciais, produzidos no metabolismo secundário das plantas, têm apresentado atividades inseticidas, larvicidas, fumigantes, deterrentes e outras. Este trabalho teve como objetivo identificar óleos essenciais de plantas do Estado de Sergipe com atividade larvicida contra o *Aedes aegypti* (Linn, 1762). Foram testados os óleos essenciais de *Croton heliotropiifolius*, *Croton pulegioidorus*, *Hyptis fruticosa*, *Hyptis pectinata* e *Lippia gracilis*. O óleo essencial das folhas foi extraído por hidrodestilação, com arraste de vapor, usando um aparelho de Clevenger. A análise dos óleos essenciais foi feita por cromatografia gasosa acoplado a um espectômetro de massas (CG/EM). Os ensaios larvicidas foram realizados utilizando-se 20 larvas por teste, em um béquer contendo 20ml de água mineral (26-28°) e mais a solução teste nas concentrações pré-estabelecidas para cada planta. Os testes foram feitos em quintuplicata para cada concentração. A análise dos dados foi feita de acordo com o método Reed-Muench (Colegate & Molyneux, 1993), estimando-se uma CL₅₀ de 550,68; 158,81; 502,68; 366,35 e 98,06 mg L⁻¹ respectivamente para *Croton heliotropiifolius*, *Croton pulegioidorus*, *Hyptis fruticosa*, *Hyptis pectinata* e *Lippia gracilis*. Todos os óleos testados foram ativos contra as larvas do *Aedes aegypti*, porém o óleo essencial de *Lippia gracilis* apresentou a melhor atividade. Além disso, o óleo de *L. gracilis* teve o maior rendimento, que foi de 7%. Isto sugere que o óleo essencial dessa espécie vegetal, pode ser uma alternativa no combate ao vetor do dengue, diminuindo o impacto sobre o ambiente e a saúde da população.

Palavras-Chaves: *Aedes aegypti*, óleos essenciais, larvicida, *Croton heliotropiifolius*, *Croton pulegioidorus*, *Hyptis fruticosa*, *Hyptis pectinata*, *Lippia gracilis*.

ABSTRACT

Within several types of mosquitoes living in tropical and sub-tropical regions, *Aedes aegypti* is the vector known to carry yellow and dengue fever, diseases responsible for a number of morbidity and mortality around the world, due to its severe symptoms. Although several million dollars are spent attempting to eradicate the vector, no success has been achieved in many parts of the world. *Aedes aegypti* is a domiciliary mosquito, which hides in dark and closed places, aggravating its eradication. However, the only efficient way to control dengue resides in controlling *Aedes aegypti* population. Therefore, the ideal method for controlling mosquito infestation is the prevention of mosquito breeding through the use of larvicides. Many synthetic insecticides have been used along the past years. Organophosphates, such as, temephos, have been used as larvicide in several countries since the 1960's. However, resistance to pesticides has guided research to find new methods intended to control *Aedes aegypti*. Secondly, the synthetic insecticides are toxic and adversely affect the environment by contaminating soil, water and air. The necessity for continued research has been even more apparent in the late years, aiming to find new methods to control the vector and reduce the incidence of dengue. Recent research has focused on natural product alternatives for pest control in developing countries. The demand for natural and nonpersistent insecticides is gradually increasing. Pyrethrins, the most economically important natural insecticide, comprise a group of six closely related monoterpene esters. The industrial production is based on their extraction from *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Pyrethrum) capitula, the first natural compound to be used against adult mosquitoes. The world production of natural pyrethrins still falls short of global market demand. Plant-based insecticides appear to have no ill effect on non-target populations and are biodegradable, in addition to being locally available in many parts of the world most affected by mosquito borne diseases. They act by interfering with the growth and reproduction of the pest and are effective against different stages of their growth. The search for efficient natural larvicide or pesticide substances with low environmental toxicity has increased. Plants essential oils are outstanding candidates, since they are, in some cases, highly active, readily available in tropical countries, and economically viable. Studies of the essential oil larvicidal activity have been published in literature. Plants, such as, *Lippia sidoides*, *Atlantia monophylla*, and *Hyptis martiusii* have been tested and are potent larvicides. Since the genders *Hyptis* and *Lippia* have been found to be active against *Aedes aegypti*, the larvicidal activities of the essential oils from three plants belonging to these genders were analyzed by measurement of their LC₅₀. In addition, two plants belonging to the *Croton* gender and available in Sergipe were employed in the experiments.

Key Words: *Aedes aegypti*, essential oil, larvicidal activity, *Croton heliotropiifolius*, *Croton pulegioidorus*, *Hyptis fruticosa*, *Hyptis pectinata*, *Lippia gracilis*.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	x
CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO	01
CAPÍTULO 2 – REVISÃO DA LITERATURA	06
2.1 – Natureza x desenvolvimento	07
2.2 – Saúde ambiental	08
2.2.1 – Considerações sobre o mosquito <i>Aedes aegypti</i> Linnaeus, 1762	10
2.2.2 – O ciclo da vida do <i>Aedes aegypti</i>	12
2.2.2.1. O ovo	13
2.2.2.2. A larva	13
2.2.2.3. A pupa	14
2.2.2.4. O adulto	
2.2.3 – O Dengue	15
2.3 – Considerações sobre óleos essenciais	20
2.4 – O uso de plantas em pesquisas sobre atividade biológica	23
2.5 – Descrição botânica sobre as espécies testadas	26
CAPÍTULO 3 – METODOLOGIA	30
3.1 – Obtenção e cultivo das larvas	31
3.2 – Material vegetal	33
3.3 – Obtenção do óleo essencial	34
3.4 – Teste de toxicidade	35
3.5 – Análise dos óleos essenciais	36
3.6 – Análise das estatísticas dos dados	36
CAPÍTULO 4 – RESULTADOS	37
CAPÍTULO 5 – DISCUSSÃO E CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

LISTA DE FIGURAS

	Página
2.1 Mosquito <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus, 1762)	11
2.2 Distribuição do dengue no mundo em 2001	11
2.3 Distribuição do <i>Aedes aegypti</i> nas Américas	12
2.4 Ovos do <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus, 1762)	13
2.5 Larvas do <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus, 1762)	3
2.6 Pupa do <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus, 1762)	14
2.7 Adulto do <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus, 1762)	14
2.8 Origem dos monoterpenos e sesquiterpenos	22
3.1 Cultivo das Larvas do <i>Aedes aegypti</i>	32
3.2 Cultivo do <i>Aedes aegypti</i> no estágio adulto	32
3.3 Aparelho de Clevenger	34
4.1 Alguns dos Principais Constituintes do óleo essencial <i>Croton heliotropiifolius</i>	39
4.2 Alguns dos Principais Constituintes do óleo essencial <i>Hyptis fruticosa</i>	41
4.3 Alguns dos Principais Constituintes do óleo essencial <i>Lippia gracilis</i>	44
4.4 Alguns dos Principais Constituintes do óleo essencial <i>Cróton pulegiodorus</i>	46
4.5 Taxa de mortalidade das larvas do <i>Aedes aegypti</i> , expostos a cinco concentrações diferentes do óleo essencial de <i>Croton pulegiodorus</i> , após 24 h.	48
4.6 Estimação das CL ₅₀ do óleo essencial de <i>Croton pulegiodorus</i> pelo método Reed-Muench a partir do acumulado de mortos e sobreviventes no mesmo ponto dos eixos. O ponto de interseção das duas curvas é a dose letal 50% requerida pelos animais testados.	48
4.7 Taxa de mortalidade das larvas do <i>Aedes aegypti</i> , expostos a cinco concentrações diferentes do óleo essencial de <i>Croton heliotropiifolius</i> , após 24 h.	50
4.8 Estimação das CL ₅₀ do óleo essencial de <i>Croton heliotropiifolius</i> pelo método Reed-Muench a partir do acumulado de mortos e sobreviventes no mesmo ponto dos eixos. O ponto de interseção das duas curvas é a dose letal 50% requerida pelos animais testados.	50

4.9	Taxa de mortalidade das larvas do <i>Aedes aegypti</i> , expostos a cinco concentrações diferentes do óleo essencial de <i>Lippia gracilis</i> , após 24 h.	52
4.10	Estimação das CL ₅₀ do óleo essencial de <i>Lippia gracilis</i> pelo método Reed-Muench a partir do acumulado de mortos e sobreviventes no mesmo ponto dos eixos. O ponto de interseção das duas curvas é a dose letal 50% requerida pelos animais testados.	52
4.11	Taxa de mortalidade das larvas do <i>Aedes aegypti</i> , expostos a cinco concentrações diferentes do óleo essencial de <i>Hyptis fruticosa</i> , após 24 h.	54
4.12	Estimação das CL ₅₀ do óleo essencial de <i>Hyptis fruticosa</i> pelo método Reed-Muench a partir do acumulado de mortos e sobreviventes no mesmo ponto dos eixos. O ponto de interseção das duas curvas é a dose letal 50% requerida pelos animais testados.	54
4.13	Taxa de mortalidade das larvas do <i>Aedes aegypti</i> , expostos a cinco concentrações diferentes do óleo essencial de <i>Hyptis pectinata</i> , após 24 h.	56
4.14	Estimação das CL ₅₀ do óleo essencial de <i>Hyptis pectinata</i> pelo método Reed-Muench a partir do acumulado de mortos e sobreviventes no mesmo ponto dos eixos. O ponto de interseção das duas curvas é a dose letal 50% requerida pelos animais testados.	56
5.1	Estruturas químicas do timol e do carvacrol	61
5.2	Estrutura química do temefós	61
5.3	Estrutura química do α -pineno e do β -pineno.	62

LISTA DE TABELAS

		Página
2.1	Série histórica de frequência por Ano e mês de casos de dengue notificados no município de Aracaju/se	17
2.2	Notificação dos casos de dengue por município do Estado de Sergipe	17
3.1	Concentrações de óleo essencial utilizadas nos ensaios larvicidas para cada espécie vegetal	35
4.1	Constituintes químicos do óleo essencial de <i>Croton heliotropiifolius</i>	38
4.2	Constituintes químicos do óleo essencial de <i>Hyptis fruticosa</i>	39
4.3	Constituintes químicos do óleo essencial de <i>Hyptis pectinata</i>	41
4.4	Constituintes químicos do óleo essencial de <i>Lippia gracilis</i>	42
4.5	Constituintes químicos do óleo essencial de <i>Croton pulegioidorus</i>	44
4.6	Mortalidade das larva do <i>Aedes aegypti</i> após 24 h de exposição a várias concentrações do óleo essencial de <i>Croton pulegioidorus</i>	47
4.7	Mortalidade das larva do <i>Aedes aegypti</i> após 24 h de exposição a várias concentrações do óleo essencial de <i>Croton heliotropiifolius</i>	49
4.8	Mortalidade das larva do <i>Aedes aegypti</i> após 24 h de exposição a várias concentrações do óleo essencial de <i>Lippia gracilis</i>	51
4.9	Mortalidade das larva do <i>Aedes aegypti</i> após 24 h de exposição a várias concentrações do óleo essencial de <i>Hyptis fruticosa</i>	53
4.10	Mortalidade das larva do <i>Aedes aegypti</i> após 24 h de exposição a várias concentrações do óleo essencial de <i>Hyptis pectinata</i>	55

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1.0 - INTRODUÇÃO

O dengue é uma virose transmitida pela picada dos mosquitos *Aedes aegypti* ou *Aedes albopictus*, que após terem picado uma pessoa doente, adquirem o flavivírus, causador da doença, passando a disseminá-lo. Seu período de incubação é de oito a dez dias.

O dengue manifesta-se de duas formas. A forma benigna é difundida e tem sintomas semelhantes aos de uma forte gripe. A forma maligna é a hemorrágica e atinge principalmente as pessoas que já foram acometidas pela forma benigna da doença. Esta forma hemorrágica é letal na maioria dos casos, pois provoca hemorragias internas. Não existe tratamento específico contra o dengue

Os mosquitos são responsáveis por mais doenças que qualquer outro grupo de artrópodes. O mosquito *Aedes aegypti* atua como um vetor para um arbovírus responsável pela febre amarela nas Américas Central e do Sul e no oeste da África. Este mosquito também é o vetor do dengue hemorrágico, que se tornou endêmica no Brasil. Ele é atualmente um mosquito que apresenta a maior dispersão em áreas urbanas do mundo. Esta espécie é de grande importância para a medicina, pois trata-se do vetor de quatro sorotipos do flavivírus causador do dengue clássico e da febre hemorrágica do dengue. O aumento na densidade desse mosquito está relacionado ao comportamento sinantrópico e ao hábito antropofílico dessa espécie (Silva et al, 2004).

Os machos de todas as espécies de mosquitos não sugam o sangue humano ou de animais, eles se alimentam de frutos. Apenas as fêmeas sugam o sangue que ela precisa de modo a amadurecer os seus ovos. Os ovos da maioria das espécies de insetos são postos juntos, mas o *Aedes* põe os ovos separadamente, consequentemente permitindo a difusão dos ovos e aumentando a chance de sobrevivência. Os seus ovos são brancos imediatamente após a postura, mas mudam para preto nas primeiras vinte quatro horas. A larva jovem se alimenta de bactérias da água. A maioria dos mosquitos põe seus ovos em qualquer tipo de água, entretanto o *A. aegypti* põe seus ovos na maioria das vezes em água limpa. Porém, segundo Silva et al (1999), o *Aedes* tem uma capacidade de adaptação a

condições adversas, desenvolvendo-se ate mesmo em águas poluídas. De acordo com Silva & Silva (1999), a quiescência dos ovos do *Aedes aegypti* se dá em ambientes inóspitos.

Os seus ovos podem sobreviver por longos períodos, mesmo em ambientes secos, geralmente por mais de um ano. Uma vez que o vírus pode ser transmitido do adulto para o ovo, o vírus também consegue sobreviver até o próximo período de chuvas, quando as cidades ficam alagadas. O vírus se instala nas glândulas salivares do mosquito, que ao picar o indivíduo, injeta saliva na ferida, de modo a evitar a coagulação sanguínea e facilitar a alimentação. Durante a alimentação, as fêmeas do mosquito injetam o vírus na circulação sanguínea.

No Brasil o dengue causa morte de várias pessoas todos os anos ou a incapacidade de trabalho por um período de aproximadamente 10 dias devido aos sintomas geralmente severos. Isto representa uma perda de milhões de reais tanto no investimento para erradicação da doença no Brasil, como na contagem dos dias de trabalho parado. Tendo em vista os prejuízos causados pelo dengue no Brasil, torna-se de suma importância à descoberta de novos métodos de combate ao vetor do dengue. A melhor forma de combater a doença é erradicar o mosquito, exterminando as larvas do *A. aegypti* nos locais de reprodução. Normalmente, esse controle é feito por meio de aplicações de um inseticida organofosforado, o temefós. Este inseticida age inibindo a acetilcolinesterase. Esta enzima encontrada no sistema nervoso central e periférico, e nas sinapses neuromusculares, tem como principal função biológica a rápida hidrólise da acetilcolina (ACh), com uma capacidade de catabolizar mas de 10 mil moléculas de ACh/seg (Gualtiere et al, 1997). No entanto, o controle tem enfrentado alguns obstáculos como, por exemplo, o crescimento desordenado das cidades. Novos centros urbanos são formados sem uma política de saneamento básico adequada, facilitando assim, a propagação da doença. A complexidade dos atuais centros urbanos dificulta a aplicação espacial do inseticida e favorece a proliferação de locais que servem de criadouros para o mosquito (Silva et al, 2001).

Atualmente, sabe-se que os mosquitos já estão adquirindo resistência aos inseticidas caseiros e aos utilizados pelos carros “fumaceiros” do governo (Carvalho & Silva, 2000). 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 ao mosquito adulto e/ou à larva de *Aedes aegypti* e que sejam isentas de toxicidade para o ambiente. Resistência a inseticidas convencionais é um dos principais obstáculos ao controle de insetos pestes de importância na agricultura e na medicina. A resistência resulta no aumento da frequência de aplicação de inseticida, dosagens crescentes, rendimentos diminuídos, danos ambientais e surgimento de doenças, quando os vetores não podem ser controlados. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o custo da resistência de insetos a inseticidas pode alcançar anualmente US\$ 1,4 bilhões nos Estados Unidos.

Marcoris *et al* (1995), realizou provas biológicas para verificar a suscetibilidade do *Aedes aegypti* ao temefós em dois municípios do Estado de São Paulo e um em Goiás. A mortalidade de *A. aegypti* procedente de Goiânia aponta a modificação da suscetibilidade desse mosquito ao temefós, confirmando a premissa da necessidade de monitoramento, além de sinalizar a necessidade de realização de provas específicas de resistência ao inseticida. Ressalta-se aqui a importância destes resultados na decisão sobre a extensão e frequência do uso desse organofosforado como estratégia de controle do *Aedes aegypti*. Outros trabalhos como o de Carvalho *et al* (2004), mostrou que os níveis de suscetibilidade do *Aedes aegypti* ao temefós vêm se alterando no Distrito Federal. Segundo Campos & Andrade (2001), larvas de *Aedes aegypti* coletadas em Campinas, indicaram resistência potencial à concentração – diagnóstico de 0,04 ppm do organofosforado temefós. O teste de concentração múltipla registrou sobrevivência de 24,5% das larvas à concentração de 0,0125 ppm.

Os efeitos indesejáveis dos inseticidas, como a permanência por longos períodos de tempo no ambiente, afetando o ecossistema, estimularam a pesquisa de produtos naturais. Plantas como organismos que co-evoluem com insetos e outros microorganismos, são fontes naturais de substâncias inseticidas e antimicrobianas, já que as mesmas são produzidas pelo vegetal em resposta a um ataque patogênico. Terpenos e fenilpropanóides voláteis sintetizados por espécies vegetais podem ter, dependendo do inseto em análise, propriedade atrativas (alimentação, polinização) e/ou deterrentes e inseticidas (Simas *et al*, 2004).

Alguns estudos apontam compostos de origem botânica com atividade larvicida e potencial para uso no controle de vetores. Silva *et al* (2004), realizou o estudo fitoquímico das frações larvicida, isoladas de *Magonia pubescens*, monitorado pelo estudo de eficácia sobre larvas do terceiro estágio de *Aedes aegypti*, na busca de alternativa para o controle desse mosquito e obtenção de estruturas químicas passíveis de aprimoramento da atividade pela via sintética de outros derivados. A fração que apresentou o maior potencial larvicida teve uma CL₅₀ e CL₉₀ de 3,1 e 36,6 ppm respectivamente. Pizarro *et al* (1999), estudou a possibilidade de uso do resíduo líquido de *Agave sisalana* resultante do processo de extração das fibras na indústria sisaleira, como larvicida para controle de *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*. Para *Aedes aegypti* foi constatada a CL₅₀ em 322 ppm e para *Culex quinquefasciatus* em 183 ppm. Slimstad *et al* (1995), isolou dois diterpenos: o ácido ent-Kaur-16-eno-19-oico e o ácido 9(11),16-Kauradieno-19-oico com atividade larvicida contra o *Aedes aegypti* de extratos da raiz de *Melantheria albinervia* (Asteraceal), planta do Zimbábue. Park *et al* (2002), analisou a atividade inseticida de materiais derivados dos frutos de *Piper nigrum* contra larvas no 3º estágio de *Culex pallens*, *Aedes aegypti* e *Aedes togoi*. Segundo Pohlit *et al* (2004), sete extratos metanólicos de plantas encontradas no Estado do Amazonas mostraram-se ativos, provocando 100% de mortalidade em larvas de *A. aegypti*. Entre as espécies testadas estão, *Tapura amazônica*, *Piper aduncum*, *Piper tuberculum* e *Simaba polyphylla*.

Tendo em vista que muitas plantas são por natureza tóxicas para mosquitos, este trabalho visou determinar a atividade larvicida de óleos essenciais de plantas encontradas no Estado de Sergipe contra a larva do *A. aegypti*. Seus objetivos específicos foram: extrair óleos essenciais destas plantas, identificar os constituintes dos óleos essenciais, calcular a CL₅₀ destes óleos e obter óleos essenciais com atividade larvicida contra o *Aedes aegypti*. A CL₅₀ foi calculada segundo o método Reed-Muench (Colegate & Molyneux, 1993), conforme está descrito na metodologia. Além disso, vale ressaltar que, os óleos essenciais de plantas com efeito larvicida, diminuem consideravelmente o impacto ambiental e os riscos à saúde, ocasionados pela aplicação dos inseticidas convencionais. Encontrar métodos naturais de combate ao vetor contribui, portanto, para a melhoria da qualidade de vida da população.

CAPÍTULO 2

REVISÃO DA LITERATURA

2.0 – REVISÃO DA LITERATURA

2.1 – NATUREZA X DESENVOLVIMENTO

Toda sociedade, toda cultura cria, inventa, institui uma determinada idéia do que seja a natureza. Nesse sentido, o conceito de natureza não é natural. Sendo na verdade criado e instituído pelos homens. Constitui um dos pilares através do qual os homens erguem as suas relações sociais, sua produção material e espiritual, enfim, a sua cultura. Dessa forma é fundamental que reflitamos e analisemos como foi concebida a natureza na nossa sociedade, o que tem servido como um dos suportes para o modo como produzimos e vivemos que tantos problemas nos tem causado e contra o qual constituímos o movimento ecológico, (Gonçalves, 1989). O homem tenta domesticar a natureza. Há nele a idéia de uma natureza selvagem, distante dos padrões culturais e sociais. Para o homem o que é natural não é cultural. A consequência desta forma de pensar é a exploração continua e desequilibrada dos recursos naturais. É o homem a todo custo tentando dominar a natureza para adequá-la e transformá-la naquilo que ele considera ser a natureza.

De acordo com Kesserling (1992), o conceito de natureza sofreu transformações na história ocidental, desde a antiguidade clássica até hoje, principalmente no tocante ao lugar do homem na natureza e a práxis humana em relação a ela, como a auto-concepção das ciências naturais e o triângulo Deus-Homem-Natureza. A partir da idade moderna surge a dicotomia homem x natureza. O homem abandona a sua “menoridade” e eleva-se, como dono da natureza, seu dominador. A natureza torna-se objeto da ciência e de manipulação. No século XIX surge a visão da natureza como sendo mercadoria, desencadeando um processo de exploração dos recursos naturais, que vem acelerando desde a revolução industrial até os dias de hoje.

De acordo com Leff (2001), a visão mecanicista da razão cartesiana converteu-se no princípio constituído de uma teoria econômica que predominou sobre os paradigmas organicistas dos processos da vida, legitimando uma falsa idéia de progresso da civilização moderna. Desta forma, a racionalidade econômica banizou a natureza da esfera da produção, gerando processos de destruição ecológica e degradação ambiental.

Este processo de degradação está diretamente associado à deterioração das condições sociais nas quais se produzem e propagam novas epidemias e doenças da pobreza (Leff, 2001). Dentre estas epidemias está o dengue, transmitido pela picada do mosquito *Aedes aegypti*. Estas epidemias são de etiologia ambiental, pois resultam da desarmonia nas relações homem/natureza.

A exploração dos recursos naturais feita de forma desordenada, para alimentar um crescimento econômico sem limites, aliado ao crescimento populacional, tem gerado a crise socioambiental, pois ultrapassa a capacidade de carga dos ecossistemas e não permite o desenvolvimento do potencial ambiental de cada região para um desenvolvimento sustentável. Segundo Leff (2001), os indicadores tradicionais do desenvolvimento vieram incorporar índices sobre o estado de saúde da população, a incidência e prevalência de doenças infecciosas, a desnutrição e mortalidade infantil, e a esperança de vida ao nascer. A tendência dos programas de saneamento e dos serviços de saúde pública tem sido de melhorar esses índices tradicionais. Contudo, a degradação ambiental gerou uma patologia ambiental emergente e a reincidência de doenças da pobreza (a cólera, o dengue) ocasionadas pela contaminação do ar, da água e dos solos, como também pelo uso de substâncias tóxicas e perigosas como os pesticidas e outros produtos agrotóxicos. As condições ambientais ao afetar a saúde da população urbana e rural, incidem nas taxas de fertilidade, natalidade, mortalidade e morbidade da população.

Este trabalho vem ser uma alternativa no controle do dengue e contribuir para a melhoria da qualidade de vida da população, pois um larvicida natural vem ser uma alternativa para diminuir a poluição ambiental causada pelos inseticidas organofosforados e contribuir para a melhoria da saúde da população.

2.2 – SAÚDE AMBIENTAL

Nos últimos tempos a questão ambiental veio revolucionar o nosso saber do mundo e abrir novas perspectivas científicas e profissionais em diversos campos do conhecimento, inclusive as práticas médicas (Leff, 2001). Ao longo da história o homem perdeu o sentido da natureza como sendo a totalidade, o kosmos e assimilou a idéia de uma natureza fragmentada e a serviço do homem. Esta mudança de concepção da natureza

alterou também o pensamento, da política e também da prática médica. Surgiram novos padrões de relações sociais e de relação homem/natureza. A dissociação homem e natureza desarmonizou as relações entre ambos e deu lugar a um processo de exploração e degradação da natureza, que passou a ser objeto do homem. Nesse contexto de desarmonia foram surgindo diversas doenças de etiologia ambiental. A degradação ambiental está diretamente associada à deterioração das condições sociais nas quais se produzem e propagam novas epidemias e doenças da pobreza (Leff, 2001). Dentre estas epidemias está o dengue, transmitido pela picada do mosquito *Aedes aegypti*.

A tradicional dicotomia homem/natureza que conformou o saber da sociedade ocidental voltar a ser questionada. A questão ambiental parece exigir um novo paradigma onde natureza e cultura não caiam fora uma da outra (Gonçalves, 1989). O incipiente campo da saúde ambiental está levando a revolucionar as práticas preventivas e curativas tradicionais, em face da medicina moderna (Leff, 2001). A pesquisa de um larvicida natural é também o resgate do conhecimento tradicional e popular do efeito das plantas como alternativa para inseticidas convencionais.

O contínuo e crescente processo de desmatamento provocou a urbanização de uma série de mosquitos vetores inclusive o *Aedes aegypti*, mosquito transmissor do vírus do dengue e da febre amarela. De acordo com a organização mundial de saúde (OMS) o vírus do dengue é o mais importante arbovírus para o homem e uma vez que o mosquito *Aedes aegypti*, é o hospedeiro natural desse vírus, este também tem sido muito estudado. Muitas pessoas morrem no Brasil devido o dengue hemorrágico e muitas outras sofrem ao se contagiar. Os mosquitos chegaram ao Brasil da Etiópia trazidos por navios transportando escravos. Vivendo perto dos homens por tanto tempo, os mosquitos se tornaram dependentes do homem e aprenderam muito conosco. Por exemplo, eles reduziram consideravelmente o zumbido que as asas fazem, de modo a impedir a escuta.

O atual reaparecimento de doenças como o dengue e a febre amarela é devido ao aumento do número de mosquitos e a resistência aos inseticidas comerciais. A febre amarela esta sob controle devido à existência de vacina, no entanto não existe vacina para o dengue. A experiência de controle mostrou que os agentes tóxicos aéreos para o controle do mosquito adulto não são eficientes, uma vez que muitos mosquitos adultos se alojam

em locais ocultos dentro das casas, como por exemplo, “os closets”. A única maneira de se reduzir a densidade dos mosquitos a um nível onde as epidemias de dengue não ocorram é atacando os locais de reprodução (Gluber, 1989). O método de controle ideal é, entretanto, o tratamento sistemático dos locais de reprodução através de larvicida. Os agentes normalmente usados são inseticidas e larvicidas organofosforados. Uma alternativa para o controle químico convencional é a utilização de produtos naturais e de plantas (Consoli e Oliveira, 1994). Existem plantas que naturalmente exibem efeito tóxico sobre mosquitos. É a natureza agindo e mantendo os ecossistemas equilibrados.

Pesquisas como esta visa contribuir para a melhoria da qualidade de vida, uma vez que, o larvicida natural é uma alternativa frente aos inseticidas sintéticos, que poluem o ambiente e afetam a saúde do homem. De acordo com Leff, (2001); a agenda 21 situa o ser humano no centro de seus objetivos. O primeiro princípio da Declaração de Kioto proclama que: “os seres humanos constituem o centro das preocupações relacionadas com o desenvolvimento sustentável. Têm direito a uma vida saudável e produtiva em harmonia com a natureza”. A agenda 21 coloca ênfase especial na atenção primeira à saúde, sobretudo em áreas rurais; na prevenção, antes do que na correção e tratamento das doenças; na luta contra doenças transmissíveis e na proteção de grupos vulneráveis; na redução dos riscos para a saúde, derivado da contaminação e dos perigos ambientais.

2.2.1. Considerações sobre o mosquito *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762

O mosquito *Aedes aegypti* (Figura 2.1) é o principal responsável pela transmissão da febre amarela urbana e do dengue em todo o mundo. É um mosquito doméstico e antropofílico, com atividade hematofágica diurna e utiliza-se preferencialmente de depósitos artificiais de água limpa para colocar seus ovos. (Tauil, 2001).



Fonte: <http://klab.agsci.colostate.edu/aegypti/aegypti.html>

Fig.2.1 Mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)

Embora oriundo do Velho Mundo, acompanhou o homem em sua longa e ininterrupta migração pelo mundo, e permaneceu onde as alterações antrópicas propiciaram a sua proliferação. Hoje, o *A. aegypti* é considerado um mosquito cosmopolita, com ocorrência em regiões tropicais e subtropicais (Consoli e Oliveira, 1994)

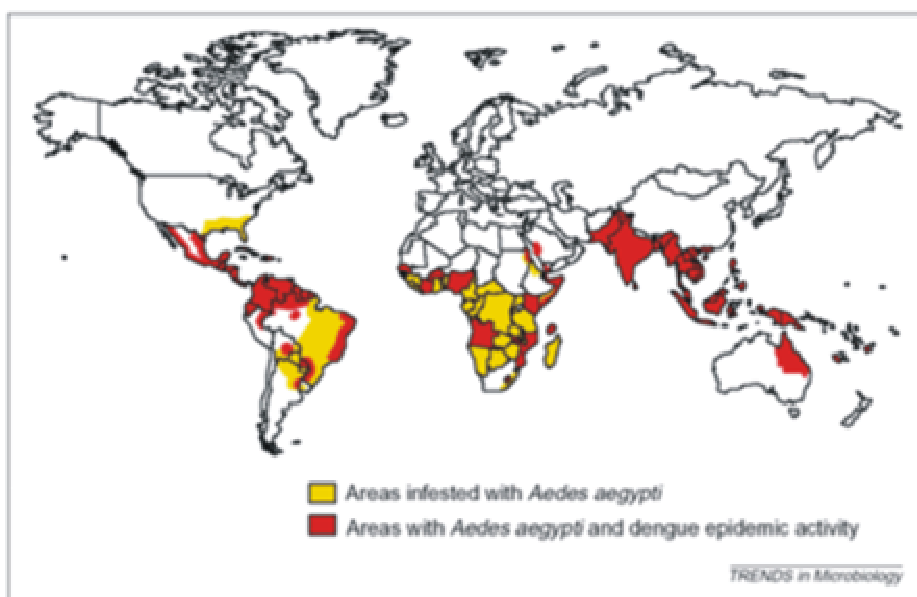


Fig.2.2 - Distribuição do Dengue no mundo em 2001.

De acordo com a figura 2.2, observamos que a ocorrência do *Aedes aegypti* se dá principalmente nas regiões tropicais. A região nordeste do Brasil de acordo com a figura está suscetível a ocorrência de epidemias do dengue. Vimos também que o mosquito *Aedes aegypti* esta distribuído na maior parte do Brasil.

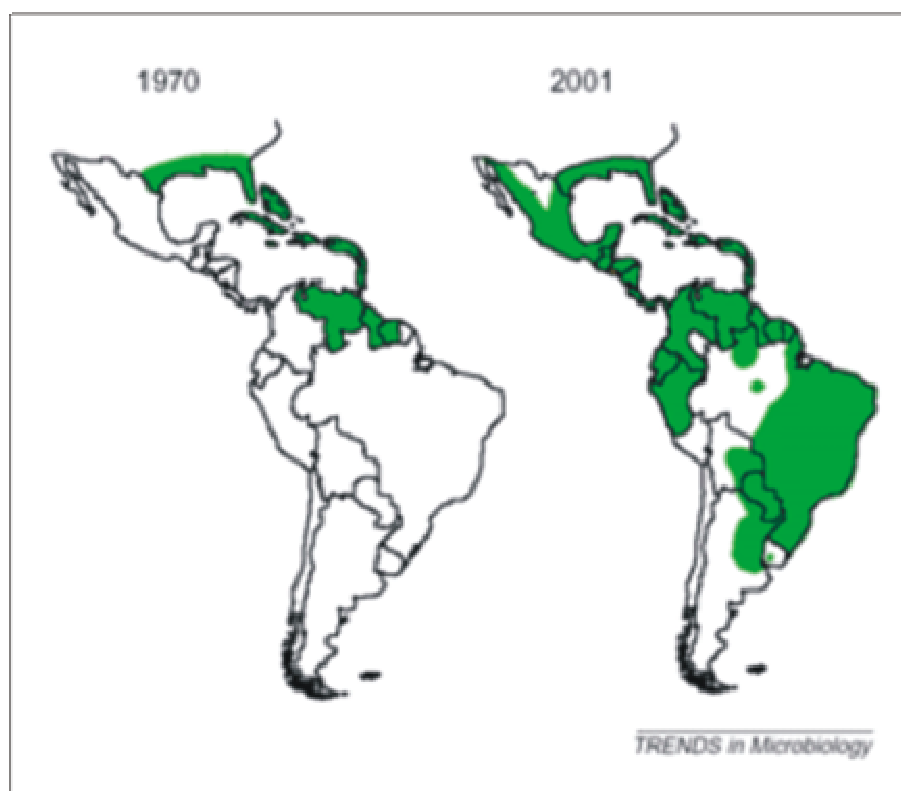


Figura 2.3 - Distribuição do *Aedes aegypti* nas Américas.

No Brasil o *Aedes aegypti* está restrito às vilas e cidades, sempre ligado ao peridomicílio e ao domicílio humano. Nas cidades brasileiras é encontrado nos locais de maior concentração humana e raramente em ambientes semi-silvestres ou onde a população humana é mais rarefeita (Neves, 2000). Na figura 2.3 está esquematizada a distribuição do *A. aegypti* nas Américas e sua evolução dos anos 1970 a 2001. A América Central e em grande parte do Brasil desde a região sul até a região norte, são as áreas de maior infestação do *Aedes aegypti* no continente americano.

2.2.2. O ciclo de vida do *Aedes aegypti*

O conhecimento do ciclo de vida do mosquito contribui para melhoria das formas de combate a esse vetor. O *Aedes aegypti* é uma espécie doméstica, que se reproduz, preferencialmente, em água parada e limpa, acumulada em recipientes fabricados pelo homem, como latas, pneus, vasos etc, dentro ou perto das habitações. Seu ciclo de vida compreende 4 estágios: OVO – LARVA – PUPA – ADULTO.

2.2.2.1. O ovo

O ovo do *Aedes aegypti* (Fig. 2.4), mede aproximadamente 1 mm de comprimento, com contorno alongado e fusiforme e é depositado individualmente, nas paredes dos depósitos que servem como criadouros, próximos à lâmina da água; no momento da postura os ovos são brancos, mas nas primeiras vinte quatro horas adquirem a cor negra; a formação do embrião se completa em 48 horas; são capazes de resistir a longos períodos de dessecação. De acordo com dados da FUNASA, ovos com até 450 dias, sofrem eclosão, quando colocados em contato com a água. A capacidade de resistência dos ovos é um sério obstáculo para sua erradicação. Esta condição permite que os ovos sejam transportados a grandes distâncias, em recipientes secos, tornando-se assim, o principal meio de dispersão do inseto.

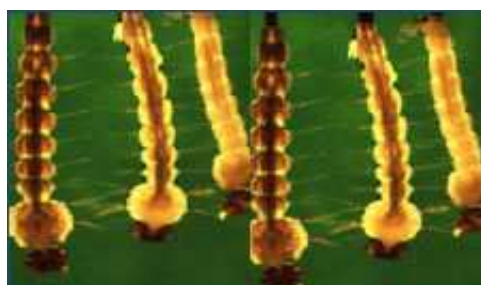


Fonte: <http://www.saude.rs.gov.br/cevs/dengue.php>

Fig. 2.4 - Ovos do *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762).

2.2.2.2. A larva

Na fase de larva o *Aedes aegypti* (Fig. 2.5) possui aspecto vermiforme, sifão curto, grosso e mais escuro que o corpo e possui 4 estádios evolutivos. A duração desta fase depende da temperatura e da alimentação, em média dura 7 dias. As larvas são sensíveis a movimentos bruscos na água.



Fonte: <http://www.saude.rs.gov.br/cevs/dengue.php>

Fig. 2.5 - Larvas do *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762).

2.2.2.3. A pupa

A pupa é o último estágio da fase aquática (Fig. 2.6) e possui o aspecto de vírgula, sendo bastante móvel quando perturbada; seu corpo escurece a medida que se aproxima o momento da emergência do adulto. Esta fase dura de 2 a 3 dias e durante este período a pupa não se alimenta.



Fonte: <http://www.saude.rs.gov.br/cevs/dengue.php>

Fig. 2.6 - Pupa do *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762).

2.2.2.4. O adulto

Os mosquitos adulto estão na fase de reprodução e dispersão da espécie. Seu corpo é escuro, com faixas brancas nas bases dos segmentos tarsais e possui um desenho em forma de lira no mesonoto. Eles podem acasalar 24h após emergirem. O acasalamento pode se dar durante o vôo ou pousados sobre uma superfície. O repasto sanguíneo das fêmeas fornece proteínas para o desenvolvimento dos ovos. Ocorre nas primeiras horas do dia e ao anoitecer. O macho alimenta-se de carboidratos extraídos dos vegetais. A fêmea faz uma postura após cada repasto sanguíneo. O intervalo entre a alimentação e a postura é de 3 dias. A postura se dá geralmente no fim da tarde. A fêmea é atraída por recipientes

sombreados ou escuros, com superfície áspera. Prefere água limpa e distribui cada postura em vários recipientes



Fonte: <http://www.saude.rs.gov.br/cevs/dengue.php>

Fig. 2.7 - Adulto do *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762).

2.2.3. O Dengue

O primeiro relato de doença semelhante ao dengue foi descrita numa enciclopédia chinesa da dinastia Chin (265 a 420 anos AC). Foi denominada pelos chineses de veneno da água, pois achavam que de alguma maneira estava associada a insetos. Epidemias foram também escritas nas Índias Ocidentais em 1635. Os primeiros relatos de uma síndrome febril aguda semelhante ao dengue foram detectados na ilha de Jakarta, na Ásia, e no Cairo e em Alexandria, no Egito, em 1779. Em 1903, Graham forneceu, pela primeira vez, evidências da transmissão por mosquito, e, em 1906, Bancroft concluiu ser o *Aedes aegypti* o vetor do dengue. No final da Segunda Grande Guerra, Sabin e colaboradores fizeram importantes contribuições como a definição dos sorotipos dengue 1 e 2, do tamanho da partícula viral, das vias de infecção, de agentes inativantes, da duração da imunidade homóloga e heteróloga.

O dengue é uma doença febril aguda, de etiologia viral e de evolução benigna na forma clássica, e grave quando se apresenta na forma hemorrágica. É hoje a mais importante arbovirose que afeta o homem especialmente nos países tropicais, onde as condições do meio ambiente favorecem o desenvolvimento e a proliferação do *Aedes aegypti*, (Figura 2.1) principal mosquito vetor (Guzmán e Kouri, 2001).

O vírus do dengue é um arbovírus do gênero *Flavivirus*, pertencente à família *Flaviviridae*. São conhecidos quatro sorotipos: 1, 2, 3 e 4. A presença do vírus no organismo provoca alterações bioquímicas como a diminuição da albumina no sangue, albuminúria e discreto aumento dos testes de função hepática: aminotransferase, aspartato sérica (conhecida anteriormente por transaminase glutâmico – oxalacética – TGO) e aminotransferase alanina sérica (conhecida anteriormente por transaminase glutâmico pirúvica – TGP).

O dengue é um dos principais problemas de saúde pública no mundo. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que 80 milhões de pessoas se infectem anualmente, em 100 países, de todos os continentes, exceto a Europa. Cerca de 550 mil doentes necessitam de hospitalização e 20 mil morrem em consequência do dengue (Funasa, 2002).

O dengue clássico e o dengue hemorrágico são problemas importantes de saúde pública em regiões tropicais e subtropicais. O dengue está presente em mais de 100 países e 2,5 bilhões de pessoas vivem em áreas endêmicas. Recentemente, foi estimada a ocorrência de 50-100 milhões de casos de dengue, em plena crise epidêmica. Estima-se que cerca de 250.000-500.000 casos de dengue hemorrágico são oficialmente notificados anualmente (Guzmán e Kouri, 2001).

Há referências de epidemias em 1916, em São Paulo, e em 1923, em Niterói, sem diagnóstico laboratorial. A primeira epidemia documentada clínica e laboratorialmente ocorreu em 1981-1982, em Boa Vista - Roraima, causado pelos sorotipos DEN-1 e DEN-4. A partir de 1986, foram registradas epidemias em diversos estados (Santos, 2003). A mais importante ocorreu no Rio de Janeiro onde, pelo inquérito sorológico realizado, estima-se que pelo menos 1 milhão de pessoas foram afetadas pelo sorotipo DEN-1 nos anos 1986/1987. Outros estados como Ceará, Alagoas, Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, Tocantins, São Paulo, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul notificaram surtos no período de 1986/1993 (Santos, 2003). No município de Aracaju a equipe de controle de zoonoses da prefeitura faz o controle permanente dos casos de dengue na cidade (Tabela 3.1). Este controle é feito semanalmente pelos agentes de saúde municipais. De acordo com os dados, observamos que de 1999 a 2003 houve uma redução de 33,8% do número de casos de

dengue notificados no município de Aracaju. Além disso, verifica-se que o número de casos da doença aumenta no período de Janeiro a Maio ao longo dos anos. Segundo a Secretaria Municipal da Saúde de Aracaju, neste período, alguns bairros da cidade enfrentam problemas com a falta de água e a população utiliza diversos recipientes para o estoque de água. Estes reservatórios de água são propícios para a reprodução do mosquito *Aedes aegypti*.

TABELA 2.1 - SÉRIE HISTÓRICA DE FREQUÊNCIA POR ANO E MÊS DE CASOS DE DENGUE NOTIFICADOS NO MUNICÍPIO DE ARACAJU/SE

ANO DE NOTIFICAÇÃO	MESES												
	JAN.	FEV.	MAR.	ABR.	MAIO	JUNHO	JULHO	AGO.	SET.	OUT.	NOV.	DEZ.	TOTAL
1999	420	423	620	864	880	356	170	351	183	60	106	308	4741
2000	519	563	376	283	443	171	200	150	60	15	59	15	2856
2001	81	106	166	192	472	260	143	103	37	13	16	10	1599
2002	111	197	333	381	297	214	214	171	72	88	46	7	2131
2003	57	58	131	251	359	280	174	106	72	38	42	35	1603
2004	34	31	46	16	27	32	33	27	19				

Fonte: Centro de Controle de Zoonoses da Prefeitura Municipal de Aracaju

De acordo com a tabela 2.2, podemos observar que nos últimos anos tem decrescido o número de casos de dengue notificados no Estado de Sergipe.

TABELA 2.2 – NOTIFICAÇÃO DOS CASOS DE DENGUE POR MUNICÍPIO DO ESTADO DE SERGIPE. DADOS EPIDEMIOLÓGICOS 1ª A 52ª SEMANA de 1996 a 2005.

MUNICÍPIO		1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
01	Aracaju	1241	2119	7609	4770	2855	1325	2135	1596	318	633
02	Barra Coqueiros	02	17	2586	340	147	30	120	142	3	12
03	Laranjeiras	-	154	167	67	95	21	121	54	10	37
04	N. S. Socorro	184	452	634	473	678	164	641	647	97	67
05	São Cristóvão	24	173	599	15	79	02	64	230	4	11
06	Itaporanga d'Ajuda	04	58	408	152	163	55	24	83	4	8
07	Riachuelo	06	-	01	01	55	02	76	75	12	0
TOTAL		1461	2973	12004	5818	4072	1599	3181	2827	448	768
08	Estância	22	700	2583	581	534	602	900	743	126	90
09	Boquim	11	1422	526	119	41	22	117	136	31	40
10	Pedrinhas	-	934	116	01	03	17		17	0	15

11	Araúá	-	18	38	08	06	22	44	62	0	1
12	Itabaianinha	04	233	266	02	23	08	57	37	0	10
13	Tomar do Geru	-	398	278	07	41	01	21	297	4	3
14	Umbaúba	212	422	03	03	10	17	26	0	1	1
15	Cristinápolis	154	349	299	25	03	04	09	16	0	4
16	S. Luzia Itanhy	01	05	88	15	04	100	20	03	0	1
17	Indiaroba	88	295	442	111	26	19	14	03	0	0
TOTAL		492	4776	4639	872	691	812	1208	1314	162	165
18	Itabaiana	291	533	2006	1427	602	165	557	504	22	9
19	Carira	01	08	170	21	05	127	102	354	4	5
20	N. S. Aparecida	05	09	85	19	17	103	61	12	1	1
21	S. Miguel Aleixo	-	04	77	07	114	11	04	04	0	6
22	Frei Paulo	523	613	525	102	194	42	93	98	13	12
23	Ribeirópolis	02	76	1233	112	141	83	28	66	3	0
24	Pinhão	-	07	58	31	47	17	04	05	0	7
25	Pedra Mole	04	05	05		07	34	09	38	2	45
26	Moita Bonita	08	18	79	185	89	16	37	96	0	6
27	Macambira	04	10	102	73	49	28	94	68	2	0
28	Malhador	01	06	105	128	12	35	106	123	6	2
29	Campo do Brito	-	60	221	181	56	19	79	52	0	0
30	Areia Branca	01	23	38	17	189	137	41	27	1	4
TOTAL		840	1372	4764	2303	1630	817	1215	1447	54	97
31	N. S. Dorés	-	54	403	106	38	15	28	303	2	2
32	Siriri	-	04	315	48	62	14	49	41	7	2
33	Sta Rosa de Lima	-	-	03	02	02	03	01	16	0	0
34	Divina Pastora	-	01	02	19	06	49	71	25	0	0
35	Rosário do Catete	-	22	145	179	141	58	88	44	1	1
36	Maruim	01	57	302	35	03	30	122	52	6	3
37	General Maynard	-	01	02	35	159	57	02	02	0	2
38	Pirambu	-	20	49	10	01	01	24	06	0	0
39	Japaratuba	01	25	296	29	09	11		20	1	18
40	Capela	02	04	1268	343	296	15	11	94	1	0
41	Sto Amaro Brotas	-	-	52	12	02	03		01	17	3
42	Carmópolis	01	04	341	132	131	156	76	43	3	7
TOTAL		05	192	3178	950	850	412	472	374	38	38
43	Canindé S. Francisco	-	12	-		36	06	154	92	19	8
44	Poço Redondo	02	16	03	31	18	31	63	0	0	0
45	Porto da Folha	-	08	159	176	116	44	15	64	72	20
46	Gararu	-	-	03	79	14	20	167	13	3	4
47	Monte Alegre	-	02	03	02	167	05	06	18	0	0
48	N. S. de Lourdes	-	-	-	10	02	01	12	08	1	5
49	Itabí	04	01	01	51	04	01	04	01	0	12
50	N. S. da Glória	04	02	728	90	70	02	45	110	3	28
51	Graccho Cardoso	03	02	01	02			32	38	13	3
52	Feira Nova	01	-	11	10		01		03	1	1
53	Cumbe	-	01	223	19	30	05	11	12	2	7
TOTAL		14	44	1132	1030	457	116	509	359	114	88

54	Canhoba	-	-	03	01	02	03	78	01	0	2
55	Amparo S. Francisco	01	-	02	01	03	02	01	05	3	3
56	Aquidabã	-	02-	15	60	139	12	03	27	3	2
57	Telha	-	24	-	-		04	06	05	1	11
58	Própria	-	-	07	79	195	109	126	122	54	120
59	Cedro S. João	-	01	02	06		08	17	42	0	0
60	Santana S. Francisco	-	-	03	06	09	02	14	84	27	2
61	Brejo Grande	-	02	04	06	0	34	07	62	1	0
62	Neópolis	03	01	48	75	20	100	66	40	17	134
63	Japoatã	-	01	30	45	25	04	22	33	3	0
64	Malhada dos Bois	-	01	16		26		04	0	0	0
65	São Francisco	-	01	15	01	40	29	05	27	11	5
66	Muribeca	-	01	07	41	32	22	23	41	0	12
67	Pacatuba	-	10	11	23	06	08	03	0	0	1
68	Ilha das Flores	-	-	-	38	02	50	17	22	6	5
TOTAL		04	43	163	382	499	387	392	511	126	298
69	Poço Verde	10	55	40	11	22	60	105	81	1	0
70	Simão Dias	15	389	208	172	51	48	58	125	0	3
71	Lagarto	378	967	1193	176	75	15	149	192	12	3
72	Riachão do Dantas	04	35	-	46	79	21	12	68	0	3
73	São domingos	309	194	37	42	12	01	222	64	19	3
74	Tobias Barreto	333	89	152	105	30	12	65	69	3	30
75	Salgado	-	78	66	08	198	61	89	42	30	16
TOTAL		1049	1807	1696	560	467	218	700	641	65	58
TOTAL GERAL		3865	11207	27576	13619	8666	4361	7677	7473	1007	1512

Fonte: Setor de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Estado da Saúde de Sergipe.

Segundo membros do setor de vigilância epidemiológica da Secretaria de Estado da Saúde de Sergipe, a redução do número de casos de dengue notificados no Estado, deve-se ao controle feito por agentes de saúde dos municípios e a utilização de carros fumaceiros na aplicação de inseticidas. Os agentes de saúde visitam cada domicílio do município e ao observarem a presença de larvas nos reservatórios de água, aplicam o inseticida Temephós. Este inseticida organofosforado é recomendado pelo Ministério da Saúde do Brasil. É importante ressaltar, porém que nem todos os casos de dengue notificados em Sergipe são confirmados por testes clínicos. Os dados da tabela 3.2 revelam que os municípios de Aracaju, N. S. do Socorro, São Cristóvão, Lagarto, Itabaiana, Própria, Estância, Tobias Barreto e Simão Dias são os municípios com maior número de casos da doença nos últimos anos. Estes municípios, entretanto, possuem um grande contingente populacional em comparação com as demais. Além disso, vale ressaltar que nem todos os casos de dengue que são notificados em Sergipe são confirmados por exames laboratoriais.

Medidas de Controle: Até o momento não existe uma vacina para prevenção do dengue. Enquanto não se pode contar com esta medida de controle, o único elo vulnerável da cadeia epidemiológica é o vetor. A luta contra os mosquitos consiste principalmente na eliminação dos seus criadouros potenciais, que se constituem em recipientes artificiais de água, como pneus usados expostos ao ar, depósitos de ferro velho descobertos, latas, garrafas e plásticos abandonados. As medidas de controle consiste na limpeza de terrenos baldios; aplicação de larvicida em depósitos de água de consumo; uso de inseticida para as formas adultas do mosquito, durante os períodos de transmissão. As ações de prevenção do dengue necessitam de envolvimento de outros setores da sociedade, particularmente na questão da melhoria de condições de urbanização e habitação, coleta regular de lixo, abastecimento permanente de água encanada e educação escolar (Tauil, 2001).

A conscientização de cada cidadão sobre as medidas de prevenção e controle do dengue, é de fundamental importância para a diminuição do número de casos da doença. É necessária uma ação efetiva dos órgãos públicos de saúde, no que diz respeito ao controle da doença, em parceria com a população.

2.3 – CONSIDERAÇÕES SOBRE ÓLEOS ESSENCIAIS

Segundo Rocha (1998), as substâncias ativas das partes medicinais são e dois tipos: os produtos do metabolismo primário (essencialmente sacarídeos), substâncias indispensáveis à vida da planta que se forma em todas as plantas verdes graças à fotossíntese; o segundo tipo de substâncias é composto pelos produtos do metabolismo secundário, ou seja, processos que resultam essencialmente da assimilação do nitrogênio. Estes produtos são úteis para a planta e seus efeitos terapêuticos são notáveis. Dentre os produtos do metabolismo secundário estão os óleos essenciais (ou essências naturais), resinas e alcalóides. Algumas famílias botânicas destacam-se pelo grande número de espécies aromáticas tais como: Anacardiaceae, Apiaceae, Asteraceae, Chenopodiaceae, Cupressaceae, Gentianaceae, Lamiaceae, Myrtaceae, Pinaceae, Piperaceae, Poaceae, Rutaceae, Verbenaceae e Zingiberaceae.

Ainda segundo Rocha (1998), os óleos essenciais são líquidos voláteis, refringentes, de odor característico. Formam-se num grande numero de plantas como subproduto do metabolismo secundário. Os vegetais são mais ricos em essências quando o tempo é estável e o período da manhã é o melhor horário para colhê-los.

Estes óleos acumulam-se em curtos tecidos no seio das células ou de reservatórios de essência sob a epiderme dos pêlos, das glândulas ou nos espaços intracelulares. O controle microscópico da qualidade dos óleos essenciais revela-nos que essas células estão dispostas em formações características.

Os óleos essenciais são extraídos de plantas frescas ou secas mediante destilação por vapor de água, extração pura e simples, prensagem, CO₂ supercrítico ou outras técnicas (por pressão, por absorção de gorduras em perfumaria, etc)

Do ponto de vista químico, trata-se de misturas extremamente complexas. A medicina recorre freqüentemente a substâncias extraídas dos óleos essenciais (mentol, cânfora).

O uso farmacêutico dos óleos essenciais fundamenta-se nas suas propriedades fisiológicas: o perfume e o gosto (corrigentia); o efeito irritante sobre a pele e as mucosas (derivantia); as propriedades desinfetantes e a ação bactericida.

Os óleos essenciais devem ser conservados, bem como as plantas que os contêm, em recipientes bem fechados ao abrigo da luz. As essências oxidam-se rapidamente à luz e ao ar, polimerizam-se, transformam-se em resinas e perdem o odor e a ação que os caracterizam.

Os óleos essenciais compõem-se sobretudo de terpenos, produtos voláteis freqüentemente misturados com outras substâncias.

Segundo FAHN (1979) in GLORIA (1994), os terpenos representam o grupo mais importante de substâncias químicas secretadas pelas plantas, animais, sendo derivadas do isopropeno (unidade ramificada de 5 carbonos) e classificados de acordo com o número

mínimo dessas unidades presentes na molécula. Os terpenos fornecem matéria prima para uma grande variedade de indústrias: isto é, produtos de resinas para papéis e têxteis, aglutinantes usados no preparo de inseticidas, antissépticos, produtos farmacêuticos, perfumes e condimentos.

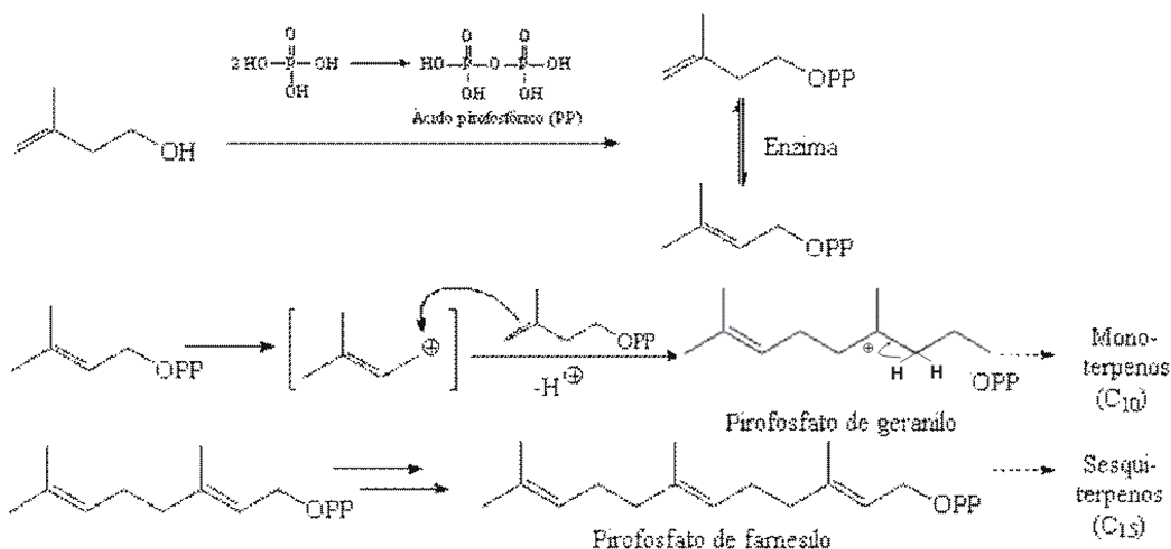


Figura 2.8 – Origem dos monoterpenos e sesquiterpenos.

Conforme Martins et al. (1998), os óleos essenciais têm propriedades antivirais, antiespasmódicas, analgésicas, bactericidas, cicatrizante, expectorante, relaxante, antissépticas das vias respiratórias, vermífuga e antiinflamatória. Eles são extraídos de plantas frescas ou secas mediante hidrodestilação por arraste de vapor, extração pura e simples ou por outras técnicas (Sousa, 2000). O Brasil já possui tradição no cultivo de certas plantas medicinais e aromáticas e a produção de óleos essenciais vem proporcionando geração de divisas com a exportação. No mercado a demanda de óleos essenciais tem aumentado bastante. A maior parte do óleo essencial comercializado é destinado à grandes indústrias de medicamentos, perfumes e cosméticos, inseticidas, detergentes e desinfetantes. A composição química do óleo essencial varia de acordo com a espécie em estudo. O rendimento do óleo essencial, como também a composição química, dependem de fatores como: O material genético, as condições ambientais, as condições de cultivo, a colheita e todo o processamento após a colheita, como o modo e o tempo de secagem.

Nos últimos anos houve um aumento no interesse em realizar pesquisas de modo a verificar o possível uso de extratos de plantas como alternativa para inseticidas sintéticos. Os óleos essenciais estão entre as substâncias mais testadas contra insetos. Tais óleos podem agir como fumigantes (Regnault-Roger et al, 1993) e (Risha et al, 1990), inseticidas de contato (Weaver et al, 1994), repelentes (Ndungu et al, 1995), e atuam afetando alguns parâmetros biológicos, tais como a razão de crescimento, tempo de vida e reprodução (Pascual-Villalobos, 1996).

Como o *Aedes aegypti* é um mosquito com características domiciliar e peridomiciliar, o uso de agentes tóxicos aéreos para o controle do mosquito nem sempre é eficiente, uma vez que a maioria dos mosquitos adultos escondem-se no interior das casas. A única maneira de se reduzir a densidade dos mosquitos a um nível onde as epidemias de dengue não ocorram é atacando os locais de reprodução (Gluber, 1989). O controle ideal é feito com o uso de larvicidas nestes locais de reprodução. Normalmente são usados inseticidas e larvicidas organofosforados. O uso de produtos naturais e de plantas são uma alternativa para o controle químico convencional. Em termos, várias plantas têm mostrado atividade pesticida, como um mecanismo de defesa contra predação ou infecção.

2.4 – O USO DE PLANTAS EM PESQUISAS SOBRE ATIVIDADE BIOLÓGICA

Toda sociedade humana, ao longo dos tempos, acumula um acervo de informações sobre o ambiente que a cerca, que vai lhe possibilitar interagir com ele para prover suas necessidades de sobrevivência. Neste acervo, inscreve-se o conhecimento relacionado ao mundo vegetal com o qual estas sociedades estão em contato (Amorozo, 1996), pois o conhecimento sobre as plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. Com isso percebe-se a estreita relação existente entre o homem e as plantas consideradas curativas em todas as fases de desenvolvimento das várias civilizações (Gottlieb, 1993).

Segundo Keith (1998) o nascimento da botânica, por exemplo, ocorreu como uma tentativa de identificar os usos e virtudes das plantas, essencialmente para a medicina, mas também para a culinária e a manufatura. Era convicção geral que cada parte das plantas tenha sido projetado para um propósito humano. Havia então, uma ligação com a

natureza, fundamental na convicção de que o homem fazia parte da natureza e estaria num só mundo.

O isolamento das primeiras substâncias puras do reino vegetal começa a ocorrer no século XVIII. Este século, juntamente com o XIX, caracteriza-se pelos trabalhos de extração, principalmente de ácidos orgânicos e de alcalóides, sendo desta época o isolamento de morfina, quinina e estriquinina (Pinto *et al*, 2001).

A natureza, de forma geral, tem produzido a maioria das substâncias orgânicas conhecidas. Entretanto, é o Reino Vegetal que tem contribuído de forma mais significativa para o fornecimento de substâncias úteis ao tratamento de doenças que acometem os seres humanos. A fantástica variedade e complexidade de metabólitos especiais biossintetizados pelas plantas teriam se formado e evoluído, como mecanismo de defesa desses vegetais as condições de adaptação e regulação. No contexto da evolução de plantas terrestres, estima-se, atualmente, que cerca de 500.000 espécies ocupam todo o planeta, sendo que, 50% (250.000) são constituídas pelas angiospermas. No auge desse processo evolutivo, as angiospermas alcançaram, sem dúvida, um desenvolvimento ímpar, dada a ocorrência de micromoléculas distintas e complexas, com vários centros estereogênicos; possivelmente, devido a essas características, sejam-lhes atribuídas inúmeras finalidades alelopáticas e biológicas. Dessa forma, as plantas constituem-se um enorme laboratório de síntese orgânica, fruto de milhões de anos de evolução e adaptação sobre a terra (Montanari e Bolzani, 2001).

Os recursos biológicos fornecem alimentação, roupas, habitação, remédios e bem estar. As propostas da Agenda 21 para a conservação da biodiversidade pedem aos governos que: promovam os métodos tradicionais, o conhecimento dos povos indígenas e de suas comunidades; partirem os benefícios dos recursos biológicos, incluindo a biotecnologia, particularmente com os países em desenvolvimento, o uso sustentável dos recursos biológicos e a transferência segura de biotecnologia, em particular, para os países em desenvolvimento. Apesar dos crescentes esforços nos últimos vinte anos, a perda de diversidade biológica em todo o mundo continua, principalmente devido à destruição de habitats e a poluição. Outro aspecto relevante é a perda do conhecimento acumulado sobre o uso medicinal tradicional das plantas pelas comunidades a elas associadas. Assim, é

necessária a viabilização de políticas governamentais que priorizem projetos ambientais voltados para as comunidades locais que utilizam esses recursos naturais para conservar o patrimônio genético das espécies, principalmente as nativas, institucionalizando a utilização sustentável desses recursos.

Considerado o único recurso terapêutico de parte da população brasileira e de mais de 2/3 da população do planeta, o mercado mundial de fitoterápicos movimenta cerca de US\$ 22 bilhões, com crescimento de 12% ao ano, vem seduzindo anualmente mais adeptos nos países desenvolvidos. Em 2000 o setor faturou US\$ 6,6 bilhões nos EUA e US\$ 8,5 bilhões na Europa, sendo a Alemanha, de longe, o maior mercado mundial de fitoterápicos. A balança comercial brasileira é altamente deficitária neste item (Pinto *et al*, 2001).

Entretanto, com o pouco que se conhece sobre biodiversidade das florestas tropicais, como a da Amazônia, toma-se óbvio que o estudo de plantas medicinais no Brasil ainda é fragmentário e escasso. Cerca de 2/3 das espécies de plantas se encontram nos trópicos. Como consequência, pode-se esperar que as potenciais descobertas de novos produtos naturais biologicamente ativos serão das florestas tropicais. Somente o Brasil possui cerca de 60.000 espécies de plantas, o que corresponde a cerca de 12% de toda a flora mundial conhecida, e não menos de 75% de todas as espécies existentes nas grandes florestas. No mercado brasileiro, este segmento corresponde por 5% do mercado farmacêutico brasileiro, ou seja, US\$ 500 milhões por ano, segundo estimativas da Associação Brasileira da Indústria de Fitoterápicos. O país exporta cerca de US\$ 7 milhões em extratos vegetais de alcaçuz, aloés, bardana, catuaba, ipeca e quina.

Por outro lado o Brasil importa uma quantidade considerável de hormônios esteroidais, produtos cosméticos de fonte natural, verdadeiro contra-senso para uma nação que possui uma das maiores e mais ricas populações vegetais do planeta portadora de matérias-primas para fitofármacos, sendo que das 60 mil espécies vegetais, cerca de 10 mil delas são medicinais. Um problema grave na comercialização de fitoterápicos no Brasil ou da possibilidade de exportação é a falta do status de medicamento ético que lhe garanta eficácia, segurança e qualidade, padrões estes mensurados em bases científicas para a segurança do usuário (Pinto *et al*. 2001).

Nestas últimas décadas, uma importante mudança no paradigma das sociedades ocidentais fez com que os produtos de plantas passassem novamente a ocupar papel de destaque por grandes contingentes das populações de países desenvolvidos e em desenvolvimento. As atividades extrativistas no meio natural constituem um dos principais usos da diversidade biológica. A espécie vegetal para uso medicinal tem recebido atenção especial seja pelo seu consumo direto, seja pelo seu grande potencial na produção de novos medicamentos. Essas espécies são largamente exploradas por grandes setores da sociedade destacando-se as comunidades tradicionais, as indústrias farmacêuticas e as empresas que comercializam plantas nativas (Brasil, 2000).

2.5 – DESCRIÇÃO BOTÂNICA DAS ESPÉCIES TESTADAS :

Euphorbiaceae

Família: **Euphorbiaceae**

Gênero: ***Croton***

Espécies: ***Croton heliotropiifolius* St.Hill**

***Croton pulegioides* Baill, 1864**

O *Croton heliotropiifolius* St. Hill, cujo sinônimo é *Croton Campestris* St.Hill é um subarbusto originário do Brasil, popularmente conhecido como velame, velame-do-campo ou velame-do-mato. Segundo Harley et al (1980), o velame é encontrado em regiões de caatinga, campo rupestre, cerrado e mata de altitude. Suas folhas são ovaladas, as flores são alvas e aromáticas e o fruto é uma pequena cápsula. A planta toda apresenta-se coberta de pêlos amarelados. Dentre as suas propriedades medicinais, destacam-se seu poder depurativo, desobstruente e diurético. Como fitoterápico é indicado no tratamento de artrite, blenorragia crônica, doença venérea, eczema, gota úrica, sífilis, herpes, impingem, ingurgitamento ganglionar, palpitação do coração, reumatismo e vesícula. De acordo com Carvalho (1994), o velame é utilizado também na alimentação animal, em atividade apícolas e como combustível. O velame é uma das plantas visitadas por abelhas da espécie *Apis mellifera* (Carvalho & Marchini, 1999).

O velame possui alcalóides (taspanina-alcalóide do tipo aporfírico), resina e de acordo com o trabalho de El Babili et al (1998), foram isolados e identificados três diterpenos–furanos, a partir do extrato de diclorometano da casca da raiz do *C. campestris*. Os três diterpenos–furanos foram chamados: velamona, velamolona e acetato de velamolona.

Plantas do gênero *Croton* sp. possuem óleo essencial geralmente composto por cimeno, limoneno, 1,2,10–trihidroxi–N–óxido crotosinolina e éster graxo (tetracosanoato de butila).

O *Croton pulegioidorus* Baill, 1864, é um arbusto com cerca de 1 metro de altura, aromático, com forte odor caprílico, folhas membranáceas e flores brancas. É popularmente conhecido como velame ou velaminho. Na medicina popular ele é utilizado como expectorante, bem como no tratamento de problemas das vias urinárias, reumatismo e doenças da pele.

Lamiaceae

Família: **Lamiaceae**

Gênero: *Hyptis*

Espécies: *Hyptis pectinata* Poit.

Hyptis fruticosa Salzm. ex Benth

A família Lamiaceae possui cerca de 250 gêneros e 6970 espécies. O gênero *Hyptis* é formado por aproximadamente 400 espécies distribuídas desde o sul dos Estados Unidos até a Argentina. Segundo Falcão & Menezes (2003), pelo menos 25 espécies foram estudadas sob os aspectos etnofarmacológicos, farmacológicos e composição química.

As plantas do gênero *Hyptis* são de porte herbáceo, arbustivo e raramente arbóreo. Os caules são geralmente quadrangulares, as folhas opostas, simples ou partidas, pecioladas ou sésseis ou curtamente pendunculadas, contendo substâncias aromáticas.

Muitas espécies são utilizadas na forma de condimento, melhorando o aroma e o sabor dos alimentos.

Espécies do gênero *Hyptis* têm grande importância econômica e etnofarmacológica, sendo bastante utilizadas na medicina popular. *Hyptis pectinata*, popularmente chamada sambacaitá ou canudinho, é usada como planta medicinal por apresentar propriedades bactericida, fungicida e anti-tussígena (Malan, 1989). Segundo Rojas et al (1992), o sambacaitá tem propriedades anti-infecciosas e de acordo com os trabalhos de Pereda-Miranda et al (1993), ele é usado em febres, doenças de pele, distúrbios gástricos, rinofaringite e congestão pulmonar. Dentre as atividades farmacológicas citamos que, o extrato aquoso das folhas de *Hyptis pectinata* produz efeito antiedematogênico e antinociceptivo (Bispo et al, 2001), como também, pode estimular a regeneração hepática após uma hepatectomia parcial, na concentração de 100 mg/Kg (Silva et al, 2002). O timol que é um dos constituintes do óleo essencial das folhas de *Hyptis pectinata* apresentou propriedade antisséptica, segundo Pereda Miranda et al (1993).

Em trabalhos já realizados sobre os compostos químicos do gênero *Hyptis*, encontramos que já foram identificados o diterpenos horminona: 14-metoxi taxodina (Marletti et al, 1976) e o hyptol (Monanche et al, 1977), na espécie *Hyptis fruticosa*. Do óleo essencial de *Hyptis pectinata* foram identificados os monoterpenos: mirceno, timol (Malan et al, 1989), α -pineno, α -thujeno, γ -terpineno e p -cimeno (Malan et al, 1988). Dentre os sesquiterpenos do óleo essencial de *Hyptis pectinata*, foram identificados: β -cariofileno e óxido de cariofileno (Jirovetz & Ngassoum, 1999), germacreno D, biciclogermacreno e β -elemeno (Brophy & Lassak, 1987).

A *Hyptis fruticosa* Salzm. ex Benth, popularmente conhecida como alecrim do campo ou alecrim de tabuleiro é comumente encontrada na costa do nordeste brasileiro. Na medicina popular, a infusão das folhas de *Hyptis fruticosa* é utilizada como analgésico, bem como, tratamento de febres e bronquites.

Verbenaceae

Família: **Verbenaceae**

Gênero: *Lippia*

Espécies: *Lippia gracilis* H.B.K.

O gênero *Lippia* (Verbenaceae) inclui aproximadamente 200 espécies divididas em ervas, arbustos e pequenas árvores. Estas espécies estão distribuídas principalmente nos países das América Central e do Sul, e nos territórios da África Tropical. Estas plantas são tradicionalmente utilizadas no tratamento de problemas gastrointestinais e respiratórios, como gripe, bronquite e asma. Além disso algumas espécies de *Lippia* mostraram atividade contra malária (Gasquet et al, 1993) e antiviral (Abade et al, 1995). A *Lippia gracilis* H.B.K., popularmente conhecida como alecrim da chapada, é utilizada no tratamento de doenças cutâneas como queimaduras, feridas e úlceras (Giron et al, 1991; Lemos et al, 1992). Plantas desta espécie são de porte herbáceo, atingindo cerca de 1 metro de altura, com folhas pequenas e flores brancas. As folhas da maioria das espécies de *Lippia* são utilizadas como condimento na preparação de alimentos.

Aspectos relacionados aos constituintes químicos do óleo essencial de *Lippia gracilis* estão descritos no capítulo que trata dos resultados desse trabalho.

CAPÍTULO 3

METODOLOGIA

3.0 – METODOLOGIA

3.1 – OBTENÇÃO E CULTIVO DAS LARVAS:

Os ovos do *Aedes aegypti* (cepa Recife) adquiridos no Insetário do Laboratório de Doenças Parasitárias da UFRPE, Departamento de Medicina Veterinária, Av. Dom Manuel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, Recife-PE, CEP.: 52.171-900, foram imersos em água mineral, cerca de 3 L, contida em uma bacia plástica de formato retangular para a eclosão. Após a imersão dos ovos, 0,5 g de ração de rato foram adicionadas na água de modo a promover o crescimento das larvas. Todo o material é mantido no interior de uma gaiola de madeira e coberta com uma tela de tecido, apropriada para insetos, a fim de evitar a contaminação por ovos de outras espécies de mosquito (Fig 3.1). Após a eclosão, as larvas foram acompanhadas até que atingissem o 3º ou 4º estágio do desenvolvimento, quando então eram utilizadas nos ensaios de atividade larvicida. São necessários de 4 a 5 dias para que as larvas atinjam o tamanho ideal para os ensaios.

Vinte larvas foram separada e permitidas a completar a metamorfose, atingindo a fase adulta. Desde então, os mosquitos estão sendo cultivados em uma gaiola retangular de metal alumínio envolta por uma tela plástica ideal para insetos (Fig. 3.2). O cultivo dos mosquitos tem como objetivo a reposição de ovos para os futuros ensaios de atividade larvicida. As fêmeas do mosquito são alimentadas com sangue de ratos recém nascidos, mantidos no interior da gaiola por alguns dias. Os machos são alimentados com uma solução aquosa de sacarose colocada em um recipiente fechado contendo um chumaço de algodão em forma de pavil, embebido da solução. No interior da gaiola é mantido permanentemente um copo descartável de 200 mL contendo 100 mL de água mineral (26-28°C) com papel de filtro imerso na água, de modo que, a maior parte do papel fique acima do nível da água, e servindo de base para a deposição dos ovos do mosquito. Periodicamente, o papel de filtro é substituído por outro e aquele que continha os ovos, é mantido sobre a gaiola, para secar, e posteriormente armazenado em um recipiente fechado.

A gaiola fica apoiada sobre quatro pilares, imersos em água no interior de uma bacia plástica (Fig. 3.2). Isto evita a penetração de formigas, que são predadores naturais dos ovos do *Aedes aegypti*.

As larvas foram identificadas, como sendo do *Aedes aegypti*, por técnicos do laboratório do centro de controle de zoonoses do município de Aracaju / SE.



Fig. 3.1 – Cultivo das Larvas do *Aedes aegypti*

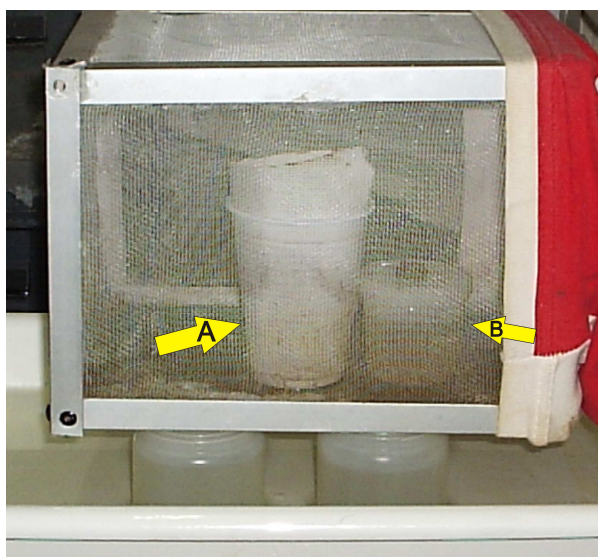


Fig. 3.2 – Cultivo do *Aedes aegypti* no estágio adulto.

*A – Recipiente contendo água mineral e papel de filtro que serve para deposição dos ovos de *Aedes aegypti*.*

***B – Recipiente contendo solução aquosa de
sacarose para alimentar
os machos do Aedes aegypti.***

3.2 – MATERIAL VEGETAL:

No presente trabalho foi testada a atividade larvica dos óleos essenciais das seguintes espécies vegetais: *Hyptis fruticosa* (Alecrim de tabuleiro), *Hyptis pectinata* (Sambacaitá), *Croton heliotropiifolius* (Velame), *Lippia gracilis* (Alecrim de chapada) e *Croton pulegioidorus* (Velame de cheiro).

A escolha da espécie *Lippia gracilis* deveu-se ao fato de que um dos constituintes do seu óleo essencial é o timol, substância com ótima atividade larvica, confirmada pela literatura. As espécies *Croton heliotropiifolius* e *Croton pulegioidorus* foram selecionadas a partir de entrevistas feitas a moradores das respectivas localidades do estado de Sergipe: nos povoados Salvador e Sapé, município de Itaporanga D' Ajuda, no mês de maio de 2004 e povoado Santana dos Frades, no município de Pacatuba, no mês de outubro de 2004. Durante as entrevistas, moradores relataram que as duas espécies de *Croton* são utilizadas no combate ao ataque de pulgas nas casas. Como as pulgas são insetos tanto quanto o *A. aegypti*, resolvemos testar estas duas espécies de *croton*. Quanto às espécies *Hyptis fruticosa* e *Hyptis pectinata* alguns trabalhos já vinham sendo realizados no laboratório e havia disponibilidade de seus óleos essenciais. Além disso, não foi encontrada literatura referencia sobre a atividade larvica do óleo desta espécie, motivo pelo qual resolvemos testá-lo.

As plantas foram coletadas em diversas localidades do Estado de Sergipe a saber: A *Hyptis fruticosa*, foi coletada no município de São Cristóvão no mês de novembro de 2003, durante a manhã. A *Hyptis pectinata* foi coletada no povoado Miranda, município de Capela no mês de Setembro de 2003, durante a manhã. O *Croton heliotropiifolius* foi coletado nas imediações do bairro Veneza, no município de Aracaju, no mês de abril de 2005 durante a manhã. O *Croton pulegioidorus* foi coletado no povoado Santana dos Frades, município de Pacatuba, no mês de maio de 2005, durante a manhã. A *Lippia gracilis* foi coletada no Campus Rural da Universidade Federal de Sergipe, localizado no

município de São Cristóvão, no mês de maio de 2005, no horário da tarde. De todas as plantas coletadas, somente o *Croton heliotropiifolius*, *Croton pulegioides* e *Hyptis pectinata*, encontravam-se em período fértil.

Foram preparadas três excisas de cada espécie e as mesmas foram identificadas pelo prof. Dr. Luciano Queiroz Paganucci, botânico da Universidade Estadual de Feira de Santana, no Estado da Bahia. As excisas estão depositadas no herbário da Universidade Federal de Sergipe com os seguintes números de Voucher: *Lippia gracilis* (08214), *Hyptis pectinata* (08215), *Hyptis fruticosa* (08216), *Croton heliotropiifolius* (08217) e o *Croton pulegioides* (08218).

Após a coleta, foi realizada a separação e triagem das folhas. Para a secagem deste material foi utilizada uma estufa com renovação e circulação de ar, tipo MA 037 da marca Marconi, a 40° C, durante 48 horas. Posteriormente, o material foi triturado em moinho de facas e transformado em pó.

3.3– OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL:

O óleo essencial foi obtido através de hidrodestilação por arraste de vapor utilizando o aparelho de cleverger (Fig. 3.3). Inicialmente pesou-se 100 gramas do pó obtido das folhas pulverizadas, que foram colocadas no interior do balão de vidro do hidrodestilador. Em seguida, acrescentou-se 2 litros de água destilada na temperatura ambiente. Toda essa mistura foi aquecida durante 6 horas. Ao final desse período, o óleo essencial foi recolhido em um frasco de vidro com tampa e em seguida armazenado num freezer à -20°C, até posterior análise. Ao término da primeira extração foi calculado o rendimento do óleo essencial de cada espécie.



Fig. 3.3 – Aparelho de Clevenger.

3.4– TESTE DE TOXICIDADE:

O teste foi realizado transferindo-se as larvas entre o terceiro e o quarto estádios, selecionadas (20 por teste) para um béquer contendo 20 mL de água mineral (26°-28°C). As larvas foram capturadas utilizando-se uma pipeta de Pasteur. Cada teste foi feito em quintuplicata para cada concentração testada. Os controles positivos foram realizados com o organofosforado temefós em larvas do *Aedes aegypti*, na concentração utilizada pela vigilância sanitária que é de 0,1 ppm. Os controles negativos foram realizados com 20 mL de água mineral (26-28°C) contendo 0,04% de Tween. As larvas foram expostas às soluções por 24 h e ao fim deste período era registrada a mortalidade. A solução teste foi preparada do seguinte modo: pesou-se 20 mg do óleo essencial, em um recipiente do tipo eppendorf, para cada mL da solução teste.

Em seguida, uma gota de solvente, do tipo tween 80, foi colocada sobre o óleo, fazendo-se então a homogeneização. A seguir utilizando-se uma pipeta automática, foi acrescentado 1 mL de água destilada e fez-se nova homogeneização. Com o auxílio de uma pipeta automática, a solução teste era transferida para o béquer contendo as larvas separadas para o teste, de acordo com as concentrações pré-estabelecidas após testes iniciais (tabela 3.1).

Tabela 3.1- Concentrações de óleo essencial utilizadas nos ensaios larvicidas para cada espécie vegetal.

ESPÉCIES VEGETAIS	CONCENTRAÇÕES TESTADAS (mg L ⁻¹)				
<i>Croton pulegioidorus</i>	30	70	100	300	500
<i>Croton heliotropiifolius</i>	100	300	500	1000	1500
<i>Hyptis fruticosa</i>	50	100	300	1000	2000
<i>Hyptis pectinata</i>	50	100	300	500	1000
<i>Lippia gracilis</i>	30	50	70	100	300

3.5- ANÁLISE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Amostras dos óleos essenciais foram analisadas utilizando-se cromatografia gasosa em equipamento Shimadzu QP5050A interfaceada com espectroscopia de massa (CG/EM) dotada de: coluna capilar DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 m) conectado em um detector operando em impacto eletrônico a 70 eV; gás de arraste Hélio (fluxo 1 mL/min) e programação: 80°C (1 min), 3°C/min, 180°C (0 min), 10°C/min, 300°C (3 min), tipo de injeção split 1:100. Os cálculos dos índices de retenção foram feitos através da co-injeção de *n*-alcanos. À identificação dos constituintes do óleo essencial foram efetuadas baseadas nos índices de retenção (Adams, 1995) e pela comparação do espectro de massa com o banco de dados das bibliotecas NIST21 e NIST107. As concentrações dos constituintes foram calculadas a partir da área de pico do CG e arranjado em ordem de eluição.

3.6- ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS:

Realizou-se a análise dos dados de acordo com o método Reed-Muench (Colegate & Molyneux, 1993). Este método parte do princípio de que, um animal que sobreviva a uma certa dose, também irá sobreviver em qualquer uma dose menor que

aquela, conseqüentemente o animal que morrer com uma certa dose, também irá morrer em doses maiores que aquela. A partir de uma tabela contendo os dados de mortalidade para cada concentração testada, é construído um gráfico onde se observa uma curva para o acúmulo de animais mortos em cada concentração e outra curva para o acúmulo de sobreviventes. O ponto de intercessão entre as curvas é a CL_{50} , pois nesse ponto o número de animais sobreviventes é igual ao número de animais mortos.

O intervalo de confiança foi calculado segundo o método de Pizzi (1950), a partir de um gráfico que faz a relação entre a mortalidade e o logaritmo da dose.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS

4.0 – RESULTADOS

No presente trabalho foram testados os óleos essenciais de: *Hyptis fruticosa*, *Hyptis pectinata*, *Croton heliotropiifolius*, *Croton pulegioides* e *Lippia gracilis*. Os óleos essenciais testados apresentaram atividade larvicida contra as larvas do *Aedes aegypti*.

Na Tabela 4.1, verificamos que foram identificados 22 constituintes do óleo essencial de *Croton heliotropiifolius*, listados de acordo com a ordem de eluição. Os monoterpenos representam 7,46% do total, enquanto que os sesquiterpenos representam 86,96%. Os compostos majoritários foram o β -cariofileno, biciclogermacreno e o germacreno-D com 38,21; 20,90 e 12,36% respectivamente (Fig 4.1). O rendimento do óleo foi de 0,2%.

Tabela 4.1- Constituintes químicos do óleo essencial de *Croton heliotropiifolius*

TR (min)	Composto	(%)	IRR exp.*
3.867	α -Pineno	0.34	935
4.492	Sabineno	0.48	974
4.717	Mirceno	0.92	991
5.075	α -Felandreno	0.23	1007
5.475	<i>p</i> -Cimeno	0.15	1024
5.583	Limoneno	3.62	1029
5.650	1,8-Cineol (Eucaliptol)	0.20	1032
6.242	γ -Terpineno	0.70	1057
7.200	Linalol	0.28	1098
12.808	Acetato de bornila	0.37	1285
15.783	α -Copaeno	0.17	1378
17.217	β -Cariofileno	38.21	1423
18.258	α -Humuleno (α -Cariofileno)	3.88	1456
19.117	Germacreno-D	12.36	1483
19.625	Biciclogermacreno	20.90	1499
20.075	Sesquicineol	3.60	1515

20.383	δ -Cadineno	1.45	1525
21.467	Germacreno-B	0.56	1560
22.042	Espatuleno	2.48	1579
22.250	Óxido de cariofileno	1.20	1586
24.892	β -Bisabolol	0.91	1676
25.100	α -Bisabolol	1.41	1679

* IRR exp. = Índice de retenção relativo aplicando a equação de Van den Dool, H. e Kratz, P.D., J. Chrom., 1963, 11, 463.

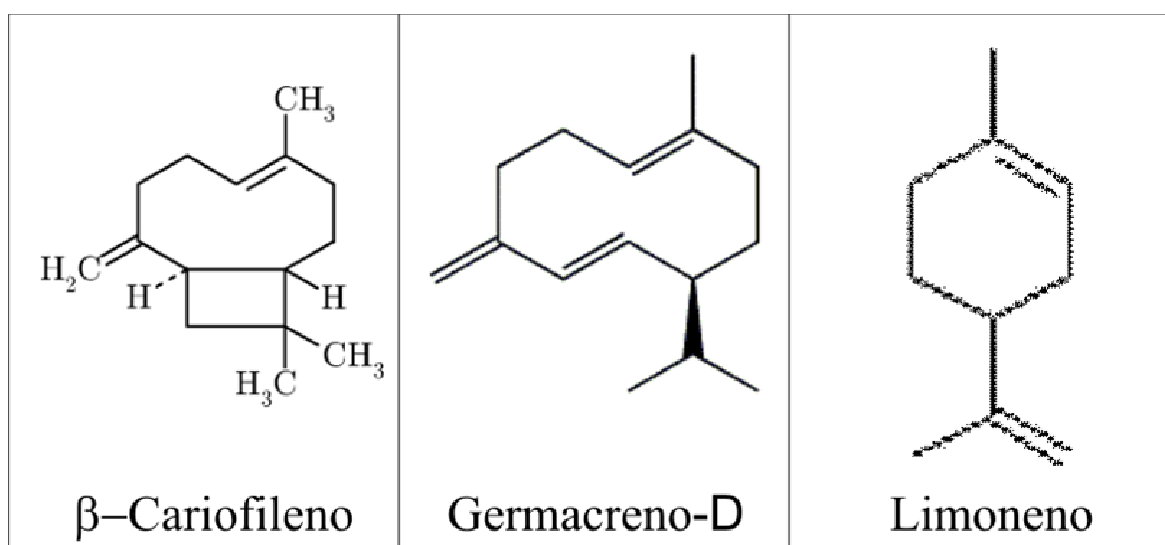


Fig. 4.1 – Alguns dos Principais Constituintes do óleo essencial de *Croton heliotropiifolius*

Do óleo essencial de *Hyptis fruticosa* foram identificados 36 constituintes, que encontram-se listados de acordo com a ordem de eluição (Tabela 4.2). Destes constituintes, 43,43% são monoterpenos e 50,18% são sesquiterpenos. Os compostos majoritários foram o sabineno, óxido de cariofileno, β -cariofileno, γ -cadineno e borneol com 15,79; 10,23; 9,79; 8,57 e 8,12% respectivamente (Fig 4.2). O rendimento do óleo foi de 2 %.

Tabela 4.2 - Constituintes químicos do óleo essencial de *Hyptis fruticosa*

TR (min)	Composto	(%)	IRR exp.*
3.858	α -Pineno	2.99	935
4.117	Canfeno	0.71	951
4.492	Sabineno	0.39	976

4.592	β - Pineno	2.39	980
4.733	β -Mirceno	0.30	989
5.475	<i>p</i> -Cimeno	0.55	1024
5.600	Limoneno	1.51	1030
5.667	1,8-Cineol (Eucaliptol)	15.79	1033
4.492	Sabineno	0.29	976
6.992	<i>p</i> -Cimeneno	0.30	1090
7.208	Linalol	0.52	1099
8.550	Cânfora	8.12	1146
9.167	Borneol	2.34	1167
9.867	α -Terpineol	0.38	1192
14.925	α -Cubebeno	1.67	1352
15.800	α -Copaeno	2.71	1379
16.258	β -Cubebeno	0.67	1393
17.208	<i>trans</i> - Cariofileno	9.79	1423
17.817	β -Cariofileno	0.56	1422
18.267	α -Humuleno	1.81	1457
18.550	<i>cis</i> -4-(14)-Muurolo-5-dieno	0.52	1466
18.958	γ -Muuroleno	0.43	1479
19.133	Germacreno-D	2.31	1484
19.483	Epizonareno	0.45	1495
19.642	Biciclogermacreno	8.57	1500
20.175	γ -Cadineno	0.58	1517
20.383	<i>cis</i> -Calameneno	3.86	1524
20.700	Cadina 1,4-dieno	0.47	1535
20.850	α -Cadineno	2.04	1540
22.108	Espatulanol	10.23	1581
22.283	Óxido de cariofileno	5.21	1587
22.400	β -Copaen-4-a-ol	0.45	1591
23.683	γ -Eudesmol	0.35	1634

24.208	α -Eudesmol	0.81	1652
24.325	α -Cadinol	1.07	1656
24.792	α -Kusinol	0.70	1672

* IRR exp. = Índice de retenção relativo aplicando a equação de Van den Dool, H. e Kratz, P.D., J. Chrom., 1963, 11, 463.

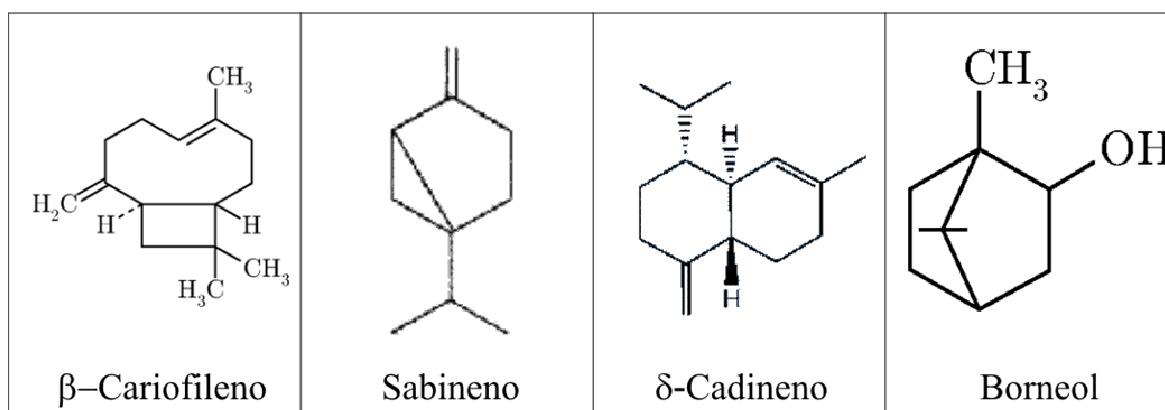


Fig. 4.2 – Alguns dos Principais Constituintes do óleo essencial de *Hyptis fruticosa*

Do óleo essencial *Hyptis pectinata*, foram identificadas sete constituintes, que estão listados de acordo com a ordem de eluição (Tabela 4.3). Todos estes constituintes são sesquiterpenos. O β -cariofileno e óxido de cariofileno foram os compostos majoritários, com 40,90 e 38,05% respectivamente.

Tabela 4.3 - Constituintes químicos do óleo essencial de *Hyptis pectinata*

TR (min)	Composto	(%)	IRR exp.*
15.783	α -Copaeno	3.62	1378
16.267	β -Elemeno	1.87	1393
17.192	β -Cariofileno	40.90	1422
18.250	α -Humuleno	1.12	1456
19.558	α -Selineno	1.21	1498
20.375	<i>cis</i> -Calemeneno	4.16	1524
22.250	Óxido de cariofileno	38.05	1586

* IRR exp. = Índice de retenção relativo aplicando a equação de Van den Dool, H. e Kratz, P.D., J. Chrom., 1963, 11, 463.

Na literatura encontramos que o óleo essencial de *Hyptis pectinata* contém 33 compostos, com predomínio dos monoterpenos (95,8%). Seus principais constituintes são o timol e o β – terpineno. Provavelmente, a propriedade anti-septica é exercida pelo timol (Malan et al, 1998). Vale ressaltar que em nenhum outro quimiotipo no mundo foi encontrado o timol como constituinte do óleo essencial de *Hyptis pectinata*

Foram identificados 34 constituintes do óleo essencial de *Lippia gracilis*, listados conforme a ordem de eluição (Tabela – 5.4). Estes constituintes perfazem um total de 98,39%, sendo que, deste total, 81,02% são de monoterpenos e 17,37% são de sesquiterpenos. Os compostos majoritários foram o carvacrol, o-cimono, γ -terpineno, β -cariofileno e aromadendreno com 44,43; 9,42; 9,16, 8,83 e 7,17% respectivamente. O óleo essencial de *Lippia gracilis* obteve um rendimento de 7%. Foi realizado também o teste larvicida com o hidrolato do óleo essencial de *Lippia gracilis*. Foram colocadas 20 larvas de *Aedes aegypti* em 20 mL do hidrolato puro, obtendo-se 100% de mortalidade das larvas após 24 h.

Segundo Pascual et al (2001), a composição química dos óleos essenciais de muitas espécies de *Lippia* tem sido investigada utilizando-se a técnica de cromatografia gasosa. Os constituintes que foram identificados com maior frequência nos óleos essenciais de *Lippia* são: limoneno, β -cariofileno, p -cimeno, cânfora, linalol, α -pineno e timol. Trabalhos realizados por Arcila-Lozano et al (2004), encontraram em plantas do gênero *Lippia* os seguintes compostos: limoneno, γ -cariofileno, cânfora, linalol, α -pineno, carvacrol e timol. Entretanto, segundo Lemos et al (1992), os principais constituintes do óleo essencial de *Lippia gracilis* são os monoterpenos timol, carvacrol, p -cimeno, 4-terpenil acetato e os sesquiterpenos α -copaeno e β -cubebeno.

Tabela 4.4- Constituintes químicos do óleo essencial de *Lippia gracilis*

TR (min)	Composto	(%)	IRR exp.*
6,917	Triciclono	0,82	923
7,150	α -Pineno	0,21	931

7,683	α -Fencheno	0,06	947
8,675	1-Octen-3-ol	0,03	977
8,983	β -Mirceno	1,67	987
9,575	α -Felandreno	0,11	1005
9,658	Isosilvestreno	0,06	1007
9,950	δ -3-Careno	1,66	1015
10,233	α -Cimeno	9,42	1023
10,392	Limoneno	0,24	1027
10,508	1,8-Cineol	0,96	1030
11,025	(Z)- β -Ocimeno	0,07	1045
11,458	γ -Terpineno	9,16	1056
12,992	Linalol	0,41	1098
14,558	Ipsdienol	0,28	1140
14,742	Cânfora	0,21	1145
16,000	Terpin-4-ol	0,59	1179
17,783	2-iso-propil-5-metil-Anisol	5,85	1228
18,117	5-iso-propil-2-metil-Anisol	0,18	1237
19,992	Timol	3,83	1288
20,300	Carvacrol	44,43	1297
24,500	β -Cariofileno	8,83	1418
24,925	α -trans-Bergamoteno	0,77	1431
25,108	Aromadendreno	1,17	1437
25,367	α -Himaxaleno	0,09	1445
25,667	α -Humuleno	1,30	1454
26,783	β -Selineno	0,20	1487
26,833	Viridifloreno	1,49	1489
26,983	Biciclogermacreno	2,88	1493
27,367	β -Bisaboleno	0,35	1505
27,700	γ -Cadineno	0,10	1516
29,533	Espatulanol	0,61	1575

29,717	Oxido de cariofileno	0,27	1581
29,850	Globulol	0,08	1585

* IRR exp. = Índice de retenção relativo aplicando a equação de Van den Dool, H. e Kratz, P.D., J. Chrom., 1963, 11, 463.

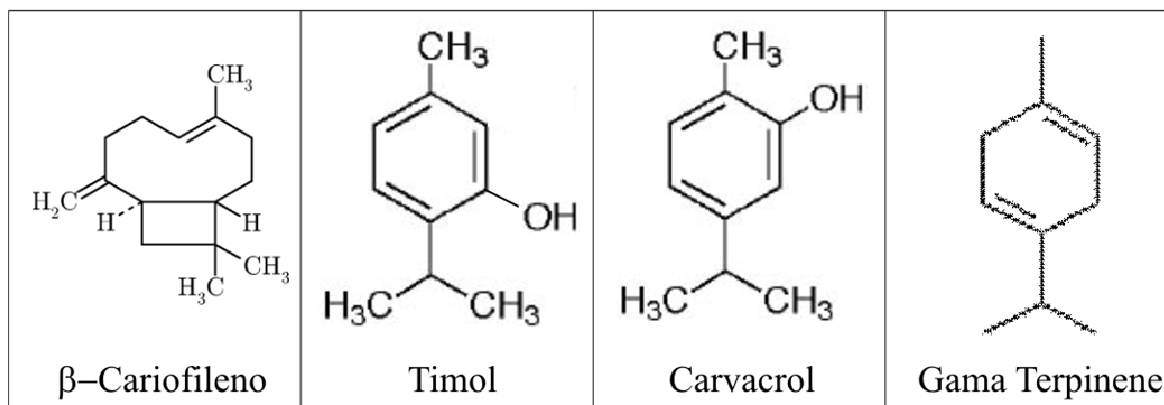


Fig. 4.3 – Alguns dos Principais Constituintes do óleo essencial de *Lippia gracilis*

Foram identificados 56 constituintes do óleo essencial do *Croton pulegioidorus*, listados de acordo com a ordem de eluição conforme a tabela 4.5. Estes constituintes representaram 85,32% do total. Os monoterpenos e os sesquiterpenos representaram 2,11% e 83,21% respectivamente, do total de constituintes. Os constituintes majoritários foram: β -Cariofileno (21,80%), biciclogermacreno (17,49%), germacreno D (10,16%), τ -Cadinol (4,22%) e β -Copaen-4- α -ol (4,15%). O rendimento do óleo essencial foi de 5%. Foi realizado também o teste larvicida com o hidrolato do óleo essencial de *Croton pulegioidorus*. Foram colocadas 20 larvas de *Aedes aegypti* em 20 mL do hidrolato puro, obtendo-se 100% de mortalidade das larvas após 24 h.

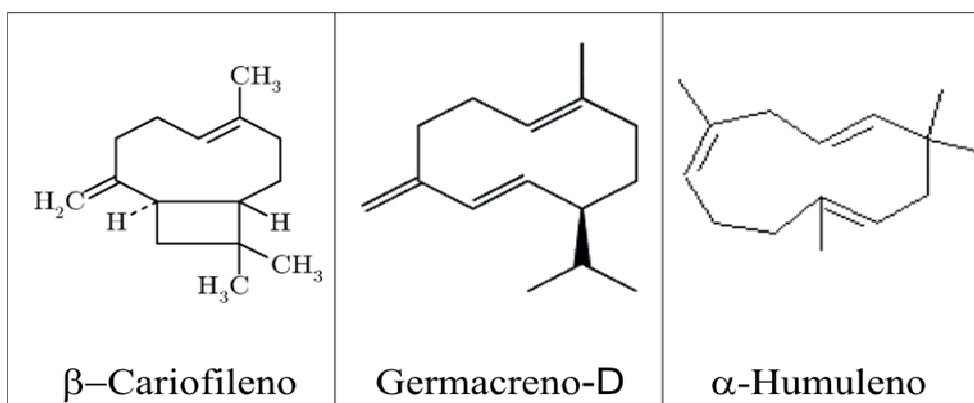
Tabela 4.5- Constituintes químicos do óleo essencial de *Croton pulegioidorus*

TR (min)	Composto	(%)	IRR exp.*
4692	α -Pineno	0,02	933
5525	Sabineno	0,03	972
5842	β -Mirceno	0,04	987
6.350	δ -3-Careno	0,04	1007

6808	<i>o</i> -Cimeno	0,04	1008
6942	Limoneno	0,32	1028
7.008	β -Felandreno	0,04	1030
7 750	γ -Terpineno	0,09	1056
8958	Linalol	0,20	1098
11 367	Borneol	0,21	1171
11 642	Terpin-4-ol	0,07	1180
12 125	α -Terpineol	0,03	1194
15 142	Acetato de bornila	0,96	1282
15400	2-Undecanona	0,02	1290
16908	γ -Elemeno	0,07	1335
17308	α -Cubebeno	0,03	1346
18033	Ciclosativeno	0,49	1367
18275	α -Copaeno	0,52	1374
18542	β -Bourbonerio	0,12	1382
18725	β -Elemeno	0,77	1388
19225	(Z)-Cariofileno	0,05	1403
19342	α -Gurjuneno	0,14	1406
19792	β -Cariofileno	21,80	1420
20083	β -Gurjuneno	0,18	1429
20592	Geranil acetona	0,21	1445
20708	α -neo-Cloveno	0,12	1448
20792	β -Farneseno	0,22	1451
20917	α -Humuleno	3,75	1454
21 067	Alo-Aromadendreno	0,82	1459
21 558	γ -Muuroleno	0,41	1474
21 750	Germacreno D	10,16	1480
22 100	Valenceno	0,43	1491
22.217	Biciclogermacreno	17,49	1494

22.483	β -Curcumeno	0,28	1502
22.592	Germacreno-A	0,84	1506
22742	Sesquicineol	1,48	1511
22.825	Cubenol	0,68	1513
22.900	δ -Cadineno	1,46	1516
23017	Cis-Calameno	0,23	1520
23358	Cadina-1,4-dieno	0,09	1531
23483	α -Cadineno	0,08	1535
23.608	α -Calacoreno	0,03	1539
24.183	β -Germacreno	1,77	1557
24758	β -Copaen-4- α -ol	4,15	1576
24917	Oxido de cariofileno	1,76	1581
25025	Globulol	0,67	1584
25267	Guaiol	1,05	1592
25892	1,10-di-epi-Cubenol	1,17	1613
26.067	10-epi- γ -Eudesmol	0,22	1619
26.275	1-epi-Cubenol	0,42	1626
26.700	epi- α -Cadinol	0,81	1640
26.758	epi- α -Muurolol	1,18	1642
26842	τ -Cadinol	4,22	1645
27.092	α -Muurolol	2,36	1654
27.742	β -Bisabolol	0,48	1675

* IRR exp. = Índice de retenção relativo aplicando a equação de Van den Dool,
H. e Kratz, P.D., J. Chrom., 1963, 11, 463.

Fig. 4.4 – Alguns dos Principais Constituintes do óleo essencial de *Croton pulegioidorus***Tabela 4.6 - Mortalidade das larvas do *Aedes aegypti* após 24h de exposição a várias concentrações do óleo essencial de *Croton pulegioidorus*.**

DOSE (mg L ⁻¹)	LOG DOSE	MORTOS	VIVOS	ACUMULADO DE MORTOS	ACUMULADO DE VIVOS	MÉDIA	MORTALIDADE (%)
500	2,6989	20	0	42,2	0	1	100
300	2,4771	17,4	2,6	22,2	2,6	0,895	89,5
100	2,0	3,4	16,6	4,8	19,2	0,2	20
70	1,8450	1,4	18,6	1,4	37,8	0,035	3,5
30	1,4771	0	20	0	57,8	0	0

Numero de animais (n = 20)

A CL₅₀ estimada foi de 158,81 (154,41 – 163,21) mg L⁻¹.

A atividade larvicida do óleo essencial de *Croton pulegioidorus* foi testada em cinco concentrações diferentes, sendo: 30, 70, 100, 300 e 500 mg L⁻¹ (Tabela 4.6). O n é o numero de larvas do *Aedes aegypti* utilizadas no ensaio larvicida para cada concentração, num total de 20 larvas por ensaio. Os testes foram feitos em quintuplicata para cada concentração. Os dados sobre o numero de animais vivos e mortos, são uma média das cinco amostras testadas. A concentração de 30 mg L⁻¹ não apresentou atividade larvicida pois, nessa concentração a taxa de mortalidade foi igual a zero. A concentração de 500 mg L⁻¹ do óleo essencial de *Croton pulegioidorus*, apresentou a maior atividade larvicida, provocando a morte de 100% dos indivíduos testados (Fig. 4.5). As concentrações de 70, 100 e 300 mg L⁻¹ apresentaram uma taxa de mortalidade de 3,5; 20 e 89,5%

respectivamente. A concentração letal 50% (CL_{50}), ou seja, aquela concentração que mata 50% dos indivíduos testados, foi encontrada no intervalo entre as concentrações de 100 e 300 $mg\ L^{-1}$ (Fig. 4.6). A CL_{50} do óleo essencial de *Croton pulegioidorus* foi estimada em 158,81 $mg\ L^{-1}$.

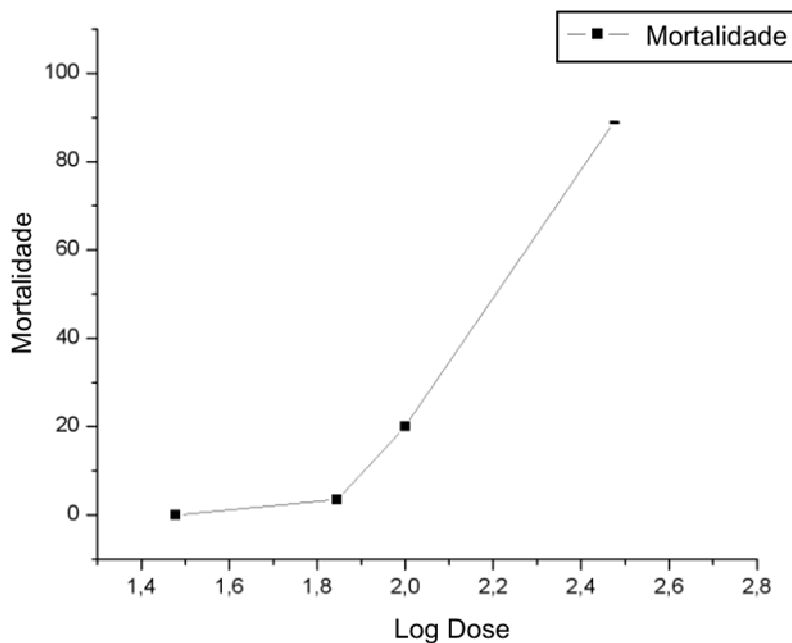


Fig. 4.5 – Taxa de mortalidade das larvas do *Aedes aegypti*, expostos a cinco concentrações diferentes do óleo essencial de *Croton pulegioidorus*, após 24 h.

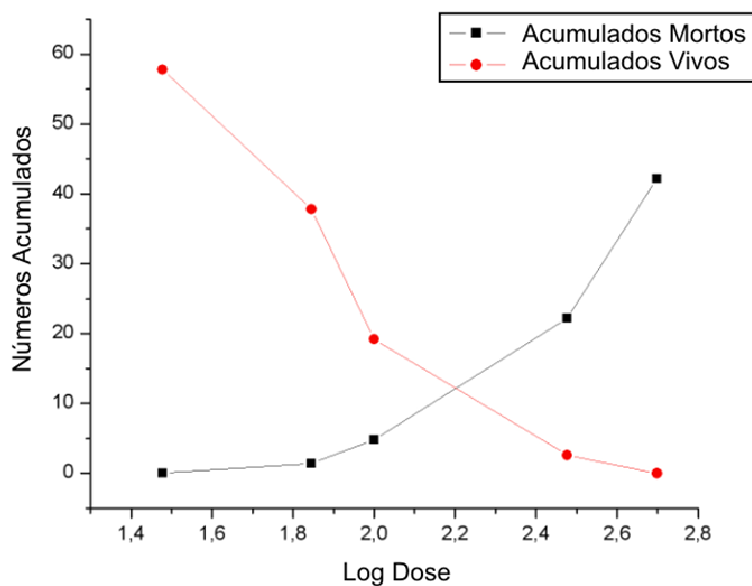


Fig. 4.6 – Estimação das CL_{50} do óleo essencial de *Croton pulegioidorus* pelo método Reed-Muench a partir do acumulado de mortos e sobreviventes no mesmo ponto dos eixos. O ponto de interseção das duas curvas é a dose letal 50% requerida pelos animais testados.

Tabela 4.7 - Mortalidade das larvas do *Aedes aegypti* após 24 h de exposição a várias concentrações do óleo essencial de *Croton heliotropiifolius*.

DOSE (mg L ⁻¹)	LOG DOSE	MORTOS	VIVOS	ACUMULADO DE MORTOS	ACUMULADO DE VIVOS	MÉDIA	MORTALIDADE (%)
1500	3,1760	16,8	3,2	47,4	3,2	0,936	93,6
1000	3	15,4	4,6	30,6	7,8	0,796	79,6
500	2,6989	8,6	11,4	15,2	19,2	0,441	44,1
300	2,4771	5	15	6,6	34,2	0,161	16,1
100	2	1,6	18,4	1,6	52,6	0,029	2,9

Numero de animais (n = 20)

A CL₅₀ estimada foi de 550,68 (545,28 - 556,08) mg L⁻¹.

De acordo com a tabela 4.7, o óleo essencial de *Croton heliotropiifolius* foi testado em 5 concentrações diferentes: 100, 300, 500, 1000 e 1500 mg L⁻¹. A concentração com menor atividade larvicida contra o *Aedes aegypti* foi 100 mg L⁻¹, que apresentou 2,9% de mortalidade. A concentração de 1500 mg L⁻¹ mostrou-se a mais ativa, com uma taxa de mortalidade de 93,6% dos indivíduos testados (Fig 4.7). A concentração letal 50% (CL₅₀) ficou no intervalo entre as seguintes concentrações: 500 mg L⁻¹, com uma taxa de mortalidade de 44,1% e 1000 mg L⁻¹, com uma taxa de mortalidade de 79,6% das larvas (Fig 4.8). A CL₅₀ estimada para o óleo essencial de *Croton heliotropiifolius* foi de 550,68 mg L⁻¹.

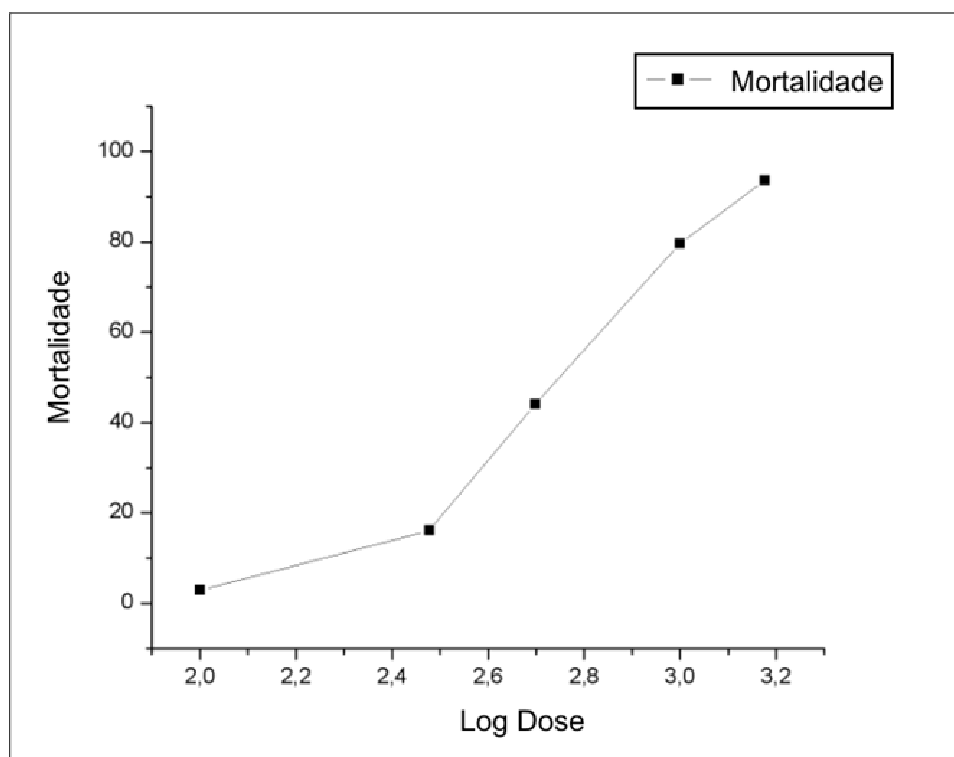


Fig. 4.7 – Taxa de mortalidade das larvas do *Aedes aegypti*, expostos a cinco concentrações diferentes do óleo essencial de *Croton heliotropiifolius*, após 24 h.

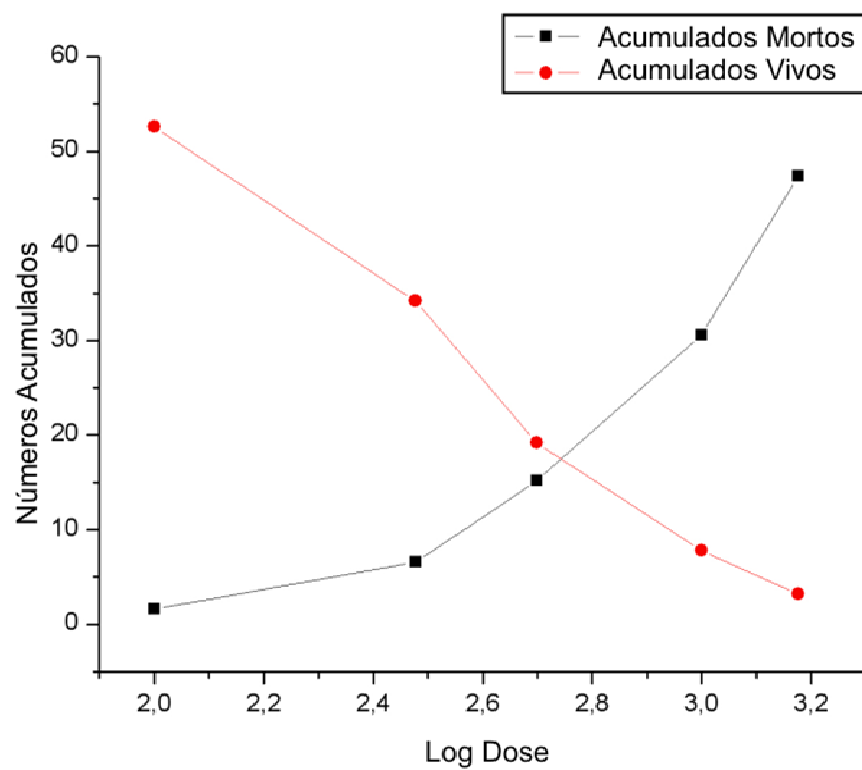


Fig. 4.8 – Estimação das CL_{50} do óleo essencial de *Croton heliotropiifolius* pelo método Reed-Muench a partir do acumulado de mortos e sobreviventes no mesmo ponto dos eixos. O ponto de interseção das duas curvas é a dose letal 50% requerida pelos animais testados.

Tabela 4.8 - Mortalidade das larvas do *Aedes aegypti* após 24h de exposição a várias concentrações do óleo essencial de *Lippia gracilis*.

DOSE (mg L ⁻¹)	LOG DOSE	MORTOS	VIVOS	ACUMULADO DE MORTOS	ACUMULADO DE VIVOS	MÉDIA	MORTALIDADE (%)
300	2,4771	20	0	32,6	0	1	100
100	2	9,2	10,8	12,6	10,8	0,538	53,8
70	1,8450	2,8	17,2	3,4	28	0,108	10,8
50	1,6989	0,6	19,4	0,6	47,4	0,012	1,2
30	1,4771	0	20	0	67,4	0	0

Numero de animais (n = 20)

A CL₅₀ estimada foi de 98,06 (94,06 – 102,06) mg L⁻¹.

Os dados da tabela 4.8, nos permite observar que a atividade larvica do óleo essencial de *Lippia gracilis*, contra o *Aedes aegypti*, foi testada nas seguintes concentrações: 30, 50, 70, 100 e 300 mg L⁻¹. A concentração de 30 mg L⁻¹ apresentou uma taxa de mortalidade igual a zero, mostrando-se, portanto, inativa. No entanto, na concentração de 300 mg L⁻¹, o óleo essencial de *Lippia gracilis* provocou a morte de 100% das larvas do *Aedes aegypti* (Fig 4.9). A concentração letal 50% (CL₅₀) foi obtida no intervalo das seguintes concentrações: 70 mg L⁻¹ que obteve uma taxa de mortalidade de 10,8% e 100 mg L⁻¹ como uma taxa de mortalidade de 53,8% das larvas (Fig.4.10). A CL₅₀ do óleo essencial de *Lippia gracilis* foi estimada em 98,06 mg L⁻¹.

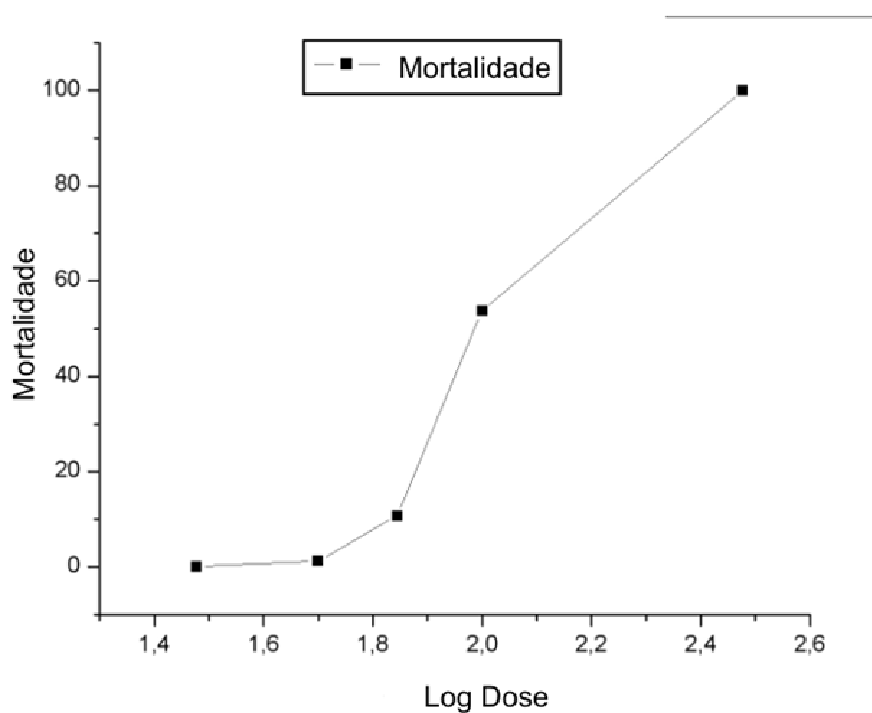


Fig. 4.9 – Taxa de mortalidade das larvas do *Aedes aegypti*, expostos a cinco concentrações diferentes do óleo essencial de *Lippia gracilis*, após 24 h.

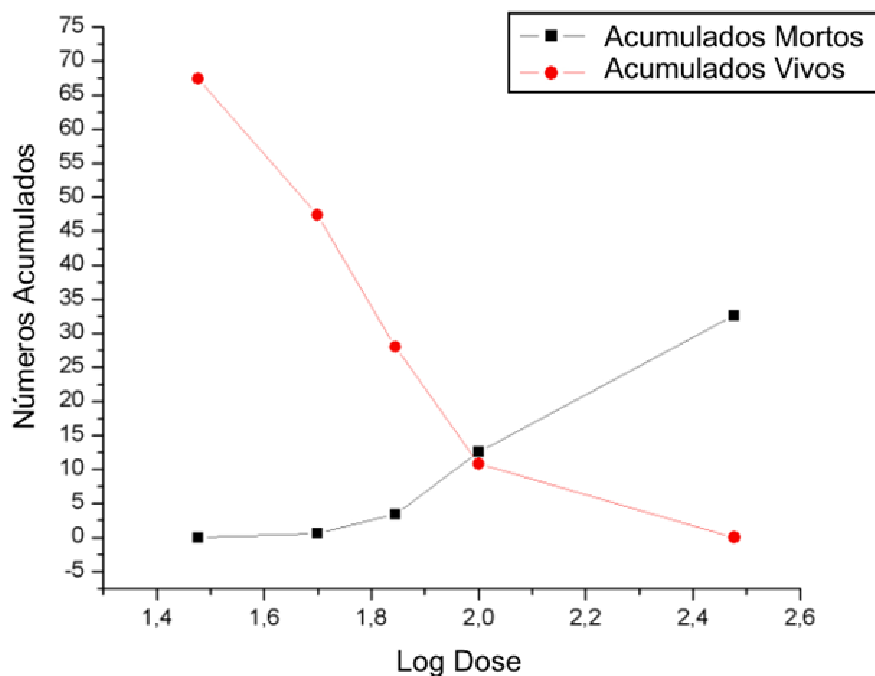


Fig. 4.10 – Estimação das CL_{50} do óleo essencial de *Lippia gracilis* pelo método Reed-Muench a partir do acumulado de mortos e sobreviventes no mesmo ponto dos eixos. O ponto de interseção das duas curvas é a dose letal 50% requerida pelos animais testados.

Tabela 4.9 - Mortalidade das larvas do *Aedes aegypti* após 24h de exposição a várias concentrações do óleo essencial de *Hyptis fruticosa*.

DOSE (mg L ⁻¹)	LOG DOSE	MORTOS	VIVOS	ACUMULADO DE MORTOS	ACUMULADO DE VIVOS	MÉDIA	MORTALIDADE (%)
2000	3,3010	20	0	41,8	0	1	100
1000	3	10,8	9,2	21,8	9,2	0,703	70,3
300	2,4771	8,4	11,6	11	20,8	0,345	34,5
100	2	2,6	17,4	2,6	38,2	0,063	6,3
50	1,6989	0	20	0	58,2	0	0

Numero de animais (n = 20)

A CL₅₀ estimada foi de 502,68 (497,28 – 508,08) mg L⁻¹.

O óleo essencial de *Hyptis fruticosa* foi testado em 5 concentrações: 50, 100, 300, 1000 e 2000 mg L⁻¹ (Tabela 4.9). A concentração de 50 mg L⁻¹ mostrou-se inativa contra as larvas do *Aedes aegypti*, apresentando uma taxa de mortalidade igual a zero. A concentração de 2000 mg L⁻¹ foi aquela de maior atividade larvicida, com uma taxa de mortalidade de 100% dos indivíduos testados (Fig 4.11). A concentração letal 50% (CL₅₀) foi obtida a partir do intervalo entre as seguintes concentrações: 300 mg L⁻¹, que apresentou uma taxa de mortalidade de 34,5% das larvas e 1000 mg L⁻¹ que apresentou uma taxa de mortalidade de 70,3% dos indivíduos testados (Fig. 4.12). A CL₅₀ do óleo essencial de *Hyptis fruticosa* foi estimada em 502,68 mg L⁻¹.

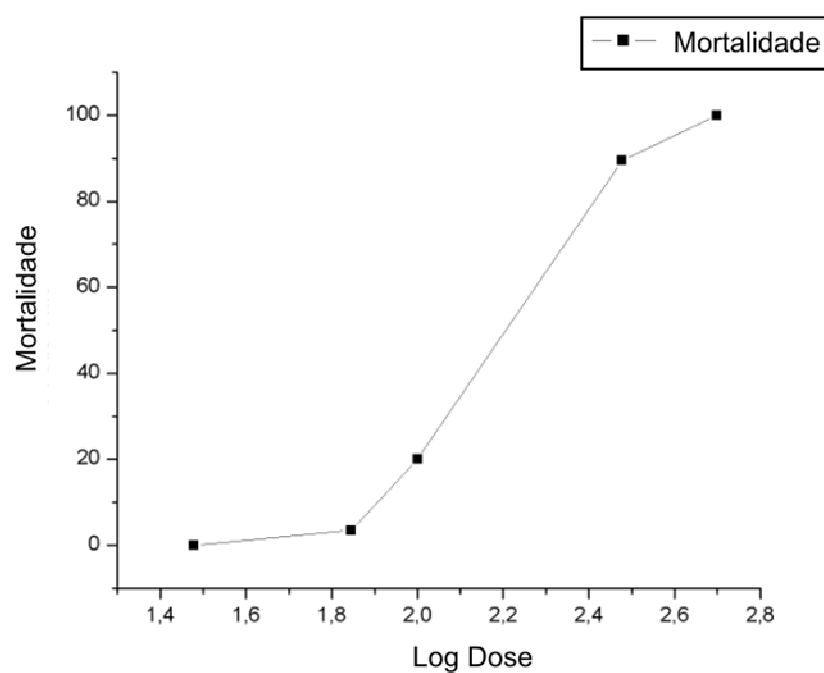


Fig. 4.11 – Taxa de mortalidade das larvas do *Aedes aegypti*, expostos a cinco concentrações diferentes do óleo essencial de *Hyptis fruticosa*, após 24 h.

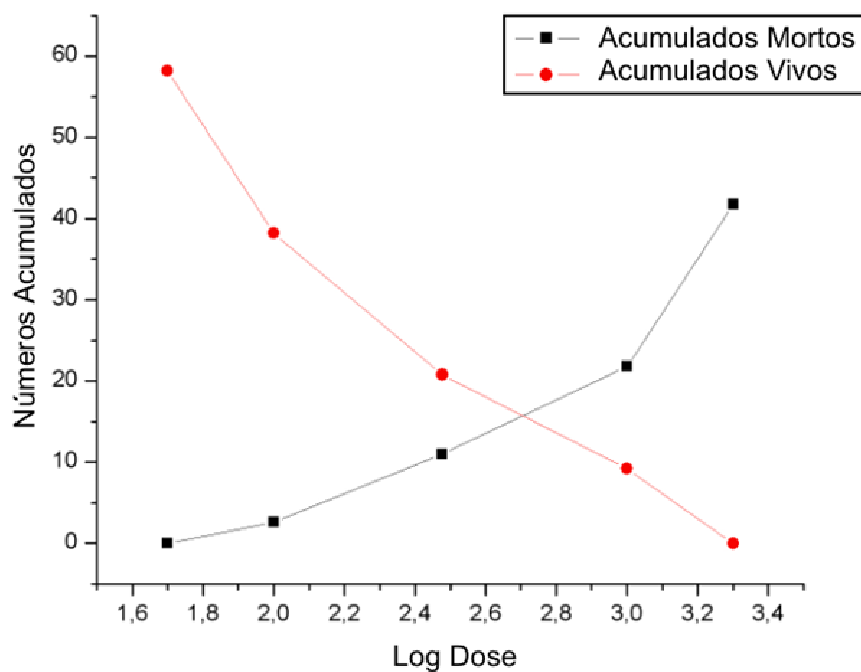


Fig. 4.12 – Estimação das CL_{50} do óleo essencial de *Hyptis fruticosa* pelo método Reed-Muench a partir do acumulado de mortos e sobreviventes no mesmo ponto dos eixos. O ponto de interseção das duas curvas é a dose letal 50% requerida pelos animais testados.

Tabela 4.10 - Mortalidade das larvas do *Aedes aegypti* após 24 h de exposição a várias concentrações do óleo essencial de *Hyptis pectinata*.

DOSE (mg L ⁻¹)	LOG DOSE	MORTOS	VIVOS	ACUMULADO DE MORTOS	ACUMULADO DE VIVOS	MÉDIA	MORTALIDADE (%)
1000	3	20	0	42,2	0	1	100
500	2,6989	13,2	6,8	22,2	6,8	0,765	76,5
300	2,4771	8	12	9	18,8	0,323	32,3
100	2	1	19	1	37,8	0,025	2,5
50	1,6989	0	20	0	57,8	0	0

Numero de animais (n = 20)

A CL₅₀ estimada foi de 366,35 (361,35 - 371,35) mg L⁻¹.

A partir da tabela 4.10, verificamos que foi testada a atividade larvicida do óleo essencial de *Hyptis pectinata* contra o *Aedes aegypti* nas seguintes concentrações: 50, 100, 300, 500 e 1000mg L⁻¹. A concentração de 50 mg L⁻¹ mostrou-se inativa pois, a taxa de mortalidade para essa concentração foi zero. A concentração de 1000 mg L⁻¹ foi aquela de maior atividade, pois causou a morte de 100% das larvas testadas (Fig 4.13). A concentração letal 50% (CL₅₀) foi encontrada no intervalo entre as seguintes concentrações: 300 mg L⁻¹, com uma taxa de mortalidade de 32,3% e 500 mg L⁻¹, que apresentou uma taxa de mortalidade de 76,5% das larvas (Fig 4.14). A CL₅₀ do óleo essencial de *Hyptis pectinata* foi estimada em 366,35 mg L⁻¹.

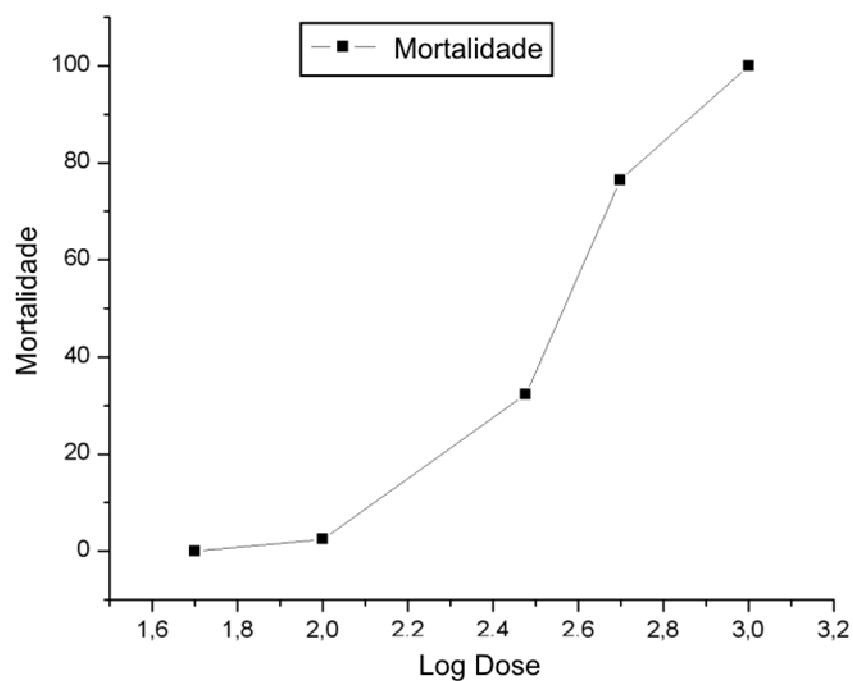


Fig. 4.13 – Taxa de mortalidade das larvas do *Aedes aegypti*, expostas a cinco concentrações diferentes do óleo essencial de *Hyptis pectinata*, após 24 h.

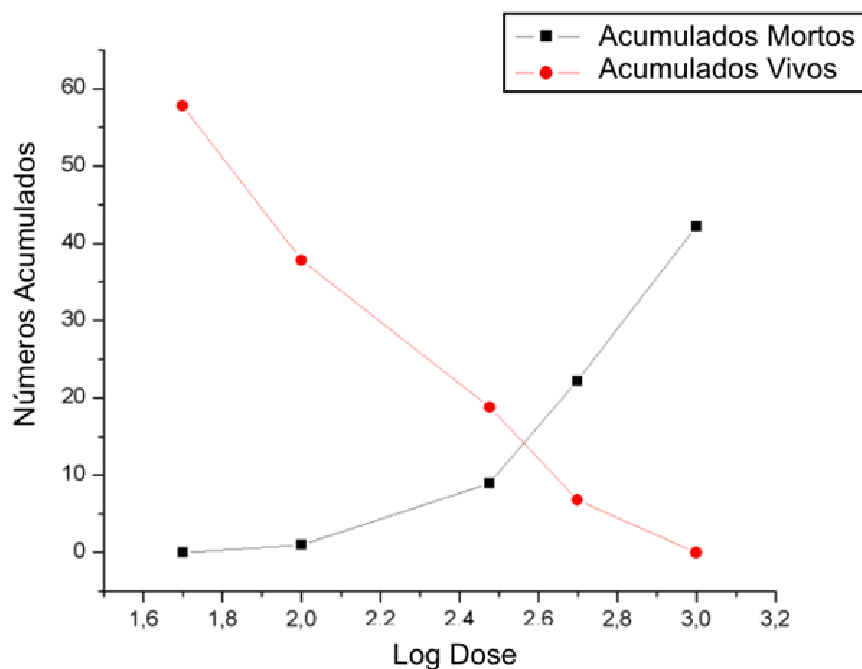


Fig. 4.14 – Estimação das CL_{50} do óleo essencial de *Hyptis pectinata* pelo método Reed-Muench a partir do acumulado de mortos e sobreviventes no mesmo ponto dos eixos. O ponto de interseção das duas curvas é a dose letal 50% requerida pelos animais testados.

CAPÍTULO 5

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

5.0 - Discussão e Conclusão

Os óleos essenciais de *Croton pulegiodorus*, *Croton heliotropiifolius*, *Hyptis pectinata*, *Hyptis fruticosa* e *Lippia gracilis* demonstraram possuir, em maior ou menor escala, atividade larvica contra o *Aedes aegypti*. Porém, para avaliar o grau de atividade larvica de cada um dos óleos essenciais testados, usaremos alguns parâmetros, descritos a seguir. No Brasil, os agentes da FUNASA, órgão do governo federal responsável pelo combate e controle do dengue, aplicam o inseticida organofosforado temefós nos locais que servem como criadouros das larvas do *Aedes aegypti*, numa concentração de 100 ppm. Nesta concentração, obtém-se uma taxa de mortalidade de 100% das larvas, após 24 horas. Admitindo-se esta concentração como padrão, concluímos que um óleo essencial com ótima atividade larvica deverá obter uma concentração letal 50% (CL₅₀), numa concentração menor que 100 ppm. Sendo este um dos parâmetros que utilizaremos para efeito de comparação, verificamos a partir dos resultados obtidos que, o óleo essencial de *Lippia gracilis* foi aquele que apresentou uma ótima atividade larvica, com uma CL₅₀ de 98,06 mg L⁻¹. O óleo essencial de *Croton pulegiodorus* mostrou possuir uma boa atividade larvica, pois, sua CL₅₀ foi de 158,81 mg L⁻¹. Quanto ao óleo essencial de *Hyptis pectinata*, a atividade larvica contra o *Aedes aegypti* foi moderada, apresentando uma CL₅₀ de 366,35 mg L⁻¹. Os óleos essenciais de *Hyptis fruticosa* e *croton heliotropiifolius* demonstraram possuir baixa atividade larvica contra o *Aedes aegypti*, pois, a CL₅₀ estimada para estes óleos foi de 502,68 mg L⁻¹ e 550,68 mg L⁻¹ respectivamente.

Em trabalhos realizados por Luna et al (2005), foi testada a atividade larvica de diversos extratos, do temefós e do composto timol contra as larvas do *Aedes aegypti*. Após 24 h o temefós e o timol apresentaram uma CL₁₀₀ de 3 mg L⁻¹ e 10 mg L⁻¹ respectivamente. Isto serve para reforçar o fato de que essas duas substâncias têm uma ótima atividade larvica contra o *Aedes aegypti* e, portanto, são utilizadas aqui como referência.

Um outro parâmetro utilizado para avaliar a atividade larvica dos óleos essenciais testados neste trabalho, é o resultado de outros trabalhos que tiveram o mesmo objetivo. Carvalho et al (2003), testou a atividade larvica do óleo essencial de *Lippia*

sidoides contra o *Aedes aegypti*. Esta planta tem servido de referência para a realização de outros trabalhos com a mesma finalidade. A CL_{50} do óleo essencial de *Lippia sidoides* é de 63 ppm. Ainda de acordo com Carvalho et al (2003), o constituinte do óleo essencial de *L. sidoides* que tem atividade larvicida, é o timol. Este composto está presente no óleo essencial e no hidrolato (figura 6.1). O hidrolato 100% do óleo essencial de *Lippia sidoides* matou 100% das larvas em menos de 5 minutos. Neste mesmo trabalho foi testado a atividade larvicida do timol e do carvacrol. Nas concentrações de 0,085% e 0,040% o timol provocou a mortalidade de 100% das larvas em 30 minutos de experimento. De todos os óleos que testamos, o óleo essencial de *Lippia gracilis* foi o único que apresentou como um de seus constituintes, o timol (3,83%). Certamente a presença do timol contribuiu para que o óleo essencial de *L. gracilis* tivesse a melhor atividade larvicida dentre os óleos testados. Com relação ao carvacrol, o trabalho de Carvalho et al (2003) mostrou que, sendo testado no limite do coeficiente de solubilidade (0,04%), o carvacrol não apresentou atividade larvicida contra o *Aedes aegypti*. Nesta mesma concentração, o timol provocou a mortalidade de 100% das larvas em 30 minutos de experimento. Em nosso trabalho, o carvacrol foi o componente majoritário do óleo essencial de *Lippia gracilis*, representando 44,43% do total de constituintes. Acreditamos que não somente o timol mais também o carvacrol e os demais compostos do óleo essencial de *Lippia gracilis*, tenham participação na atividade larvicida, devido ao sinergismo existente entre os constituintes de um óleo essencial. Além disso, de acordo com Ahn et al (1998), o monoterpene carvacrol é altamente tóxico para ninfas de *Reticulitermes speratus* (Kolbe) e adultos de *Sitophilus oryzae*, *Callosobruchus chinensis*, e *Lasioderma serricorne*, atuando também como fumigante. Isto sugere que, o carvacrol possua atividade larvicida contra o *Aedes aegypti*. A CL_{50} do óleo essencial de *Lippia sidoides* também serviu de comparação para o trabalho de Calvacante et al (2004) que testou a atividade larvicida do óleo essencial de plantas comumente encontradas no nordeste do Brasil, contra o *Aedes aegypti*. Os óleos essenciais de *Ocimum americanum* e *Ocimum gratissimum* tiveram uma CL_{50} de 67 ppm e 60 ppm respectivamente e foram considerados ótimos larvicidas naturais, quando comparados com a *Lippia sidoides* (63 ppm).

Durante os ensaios larvicidas, foi realizado um teste com o hidrolato puro de *Lippia gracilis*, que provocou a morte de 100% das larvas do *Aedes aegypti* após 24 h. Apesar de não ter sido feita a análise dos constituintes do hidrolato, acreditamos, com base

no trabalho de Carvalho et al (2003), que também o timol ou outros constituintes com atividade larvicida estavam presentes no hidrolato e foram os responsáveis pela morte das larvas do *Aedes aegypti*. O mesmo tipo de teste foi realizado com o hidrolato puro do óleo essencial de *Croton pulegioidorus*, obtendo-se também 100% de mortalidade das larvas do *Aedes aegypti*, após 24 h. A análise dos constituintes presentes nestes hidrolatos, bem como a identificação e o isolamento do(s) composto(s) com atividade larvicida será de fundamental importância para a pesquisa de um larvicida natural contra o *Aedes aegypti*, em trabalhos posteriores. O hidrolato possui as vantagens de ser facilmente obtido, com baixo custo e com um maior rendimento.

No que tange à atividade larvicida de óleos essenciais, um aspecto relevante a ser considerado é a relação entre a atividade e a estrutura dos compostos testados. Segundo Simas et al (2004), embora existam muitos relatos na literatura mostrando a atividade inseticida de óleos essenciais, poucos discutem a relação estrutura x atividade biológica de seus constituintes. No trabalho que ele realizou, ficou evidente a importância da lipofilicidade de terpenos para a atividade larvicida em *Aedes aegypti*, quando se compararam monoterpenos e sesquiterpenos de estruturas correlatas. Também foi observada a menor atividade de fenilpropanóides, contendo núcleos benzênicos que possuem substituintes nucleofílicos, como hidroxila, metoxila e benzodioxila. Plantas brasileiras ricas em óleos essenciais contendo sesquiterpenos abundantes como nerolidol. E farnesol, monoterpenos como α e β - pineno, carvona e geraniol e fenilpropanóides como safrol, eugenol e aldeído cinâmico são alternativas interessantes para o controle de larvas de *Aedes aegypti*. No presente trabalho não foi realizado o teste larvicida de nenhum composto puro, porém, uma vez identificados os constituintes de cada óleo essencial, estes testes poderão ser realizados numa etapa posterior a essa pesquisa. Entretanto, observamos que timol presente no óleo essencial de *Lippia gracilis*, possui maior atividade larvicida contra *A. aegypti* do que o carvacrol, que foi o componente majoritário deste óleo essencial, apesar de possuírem estruturas correlatas. A diferença na posição da hidroxila parece estar relacionada com o maior potencial larvicida do timol (Fig. 5.1)

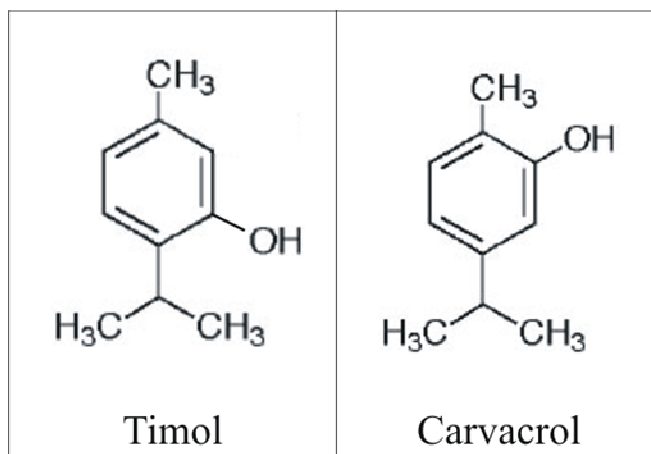


Fig. 5.1 – Estruturas químicas do timol e do carvacrol

Outro aspecto a ser analisado na atividade larvica de óleos essenciais é a inibição da enzima acetilcolinesterase. O inseticida organofosforado temefós mata as larvas do *Aedes aegypti* por inibir a ação desta enzima (Fig. 5.2). Miyazawa & Yamafuji (2005) usando o método colorimétrico testou a inibição da acetilcolinesterase por 17 tipos de monoterpenos bicíclicos. Seus resultados mostraram que compostos hidrocarbonetos são mais inibidores do que álcool e cetonas. A presença do grupo funcional oxigenado diminui o potencial de inibição da acetilcolinesterase. O α -pineno mostrou-se um potente inibidor desta enzima. A posição da dupla ligação (C=C) parece está relacionado com o potencial de inibição da enzima (Fig.5.3). Ainda de acordo com Miyazawa & Yamafuji (2005), os compostos com um grupo metil alicíclico mostram maior poder de inibição da atividade da acetilcolinesterase. Os resultados mostraram que o δ -3-careno tem grande poder de inibição da acetilcolinesterase e possui grupos metil alicíclicos. No óleo essencial de *Lippia gracilis* foram identificados o α -pineno (0,21%) e o δ -3-careno (1,66%) como constituintes. Isto sugere que esses compostos tiveram participação na atividade larvica desse óleo, inibindo a enzima acetilcolinesterase.

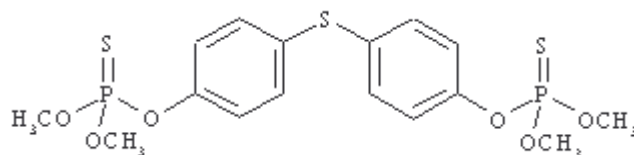


Fig. 5.2 – Estrutura química do temefós.

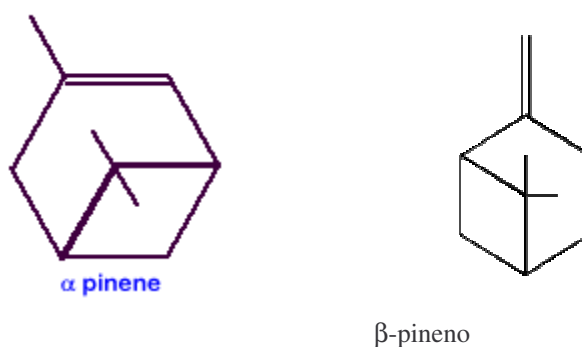


Fig. 5.3 – Estruturas químicas do α -pineno e do β - pineno.

A partir dos resultados observamos que o β -cariofileno foi um dos constituintes majoritários dos óleos essenciais de *Croton heliotropiifolius* e *Hyptis pectinata*, representando 38,21 e 40,90% respectivamente do total de constituintes. Entretanto, o óleo essencial de *Hyptis pectinata* demonstrou maior atividade larvica contra o *Aedes aegypti* em relação ao óleo essencial de *Croton heliotropiifolius*. Isto sugere que o maior potencial larvica do óleo essencial de *Hyptis pectinata* não está relacionado ao β -cariofileno pois, de acordo com os resultados, o percentual deste composto nos dois óleos essenciais é praticamente o mesmo. Para a obtenção de resultados mais conclusivos é necessária a realização de testes larvicidas dos compostos puros do óleo essencial de *Hyptis pectinata* para confirmar qual ou quais compostos são responsáveis pela maior atividade larvica desse óleo essencial, comparada à atividade do óleo essencial de *Croton heliotropiifolius*. O α -copaeno, α -humuleno, β -cariofileno e o óxido de cariofileno são compostos que aparecem no óleo essencial destas duas espécies vegetais. Além disso, é importante observar a diferença do percentual de óxido de cariofileno sendo, 38,05% do óleo essencial de *Hyptis pectinata* e 1,20% do óleo essencial de *Croton heliotropiifolius*. Esta diferença no percentual, indica que este composto está relacionado a maior atividade larvica do óleo essencial de *Hyptis pectinata*.

No que diz respeito a viabilidade econômica dos óleos essenciais aqui testados, concluímos que o óleo essencial de *Lippia gracilis* é economicamente viável em relação ao inseticida organofosforado temefós. Além de exercer menor impacto sobre o ambiente e a saúde da população, o óleo essencial de *Lippia gracilis* teve um bom rendimento (7%) e obteve uma CL_{50} menor que 100 ppm. Vale ressaltar também que, o seu hidrolato

provocou 100% de mortalidade das larvas do *Aedes aegypti* e este é um produto de fácil obtenção e com baixo custo.

Diante do que foi exposto, verificamos que, a pesquisa por larvicidas naturais tem sido motivo da realização de vários trabalhos no mundo inteiro e, portanto, este trabalho é uma contribuição neste sentido. Concluímos que o óleo essencial de *Lippia gracilis* poderá ser utilizado no futuro como um ótimo larvicida no controle da população de *Aedes aegypti*. Os produtos naturais com este fim diminuem o impacto que os inseticidas sintéticos causam na saúde da população e no ambiente. Além disso, a *Lippia gracilis* é uma planta de fácil propagação. Vale ressaltar também que hidrolato puro do óleo essencial de *L. gracilis* mostrou-se um ótimo larvicida, sendo, contudo um produto de fácil obtenção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, S.; SÁNCHEZ, P.; BERMEJO, A.; VILLAR and CARRASCO, L.: **Antiviral Activity of Some Medicinal Plants.** Methods and Findings 17(Suppl. A) (1995), p. 108.

AHN, Y. J.; LEE, S. B.; KIM, G.H. **Inseticidal and acaricidal activity of carvacrol and β -thujaplicine derived from *Thujopsis dolabrata* var. *hodai* sawdust.** Journal of Chemical Ecology 24 (1998), pp. 81-90.

AMOROZO, M.C.M. **A abordagem etnobotânica na pesquisa das plantas medicinais.** In: DI STASI, L. C. *Plantas Medicinais: arte e ciência.* São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista, 1996. p. 47-68.

ARCILA –LOZANO, C.C.; LOARCA-PINA, G.; LECONAVRIBE, S.; GONZALEZ DE MEJIA, E. **[Orégano: properties, composition and biological activity].** Arch Latinoam Nutr. 2004 Mar; 54(1) : 100-11.

BISPO, M.D.; MOURÃO, R.H.V; FRANZOTTI, E.M.; BONFIM, K.B.R.; ARRIGONI-BLANK, M de F.; MORENO, M.P.N.; MARCHIORO, M.; ANTONIOLLI, A.R. **Antinoceptive and antiedematogenic effects of the aqueous extract of *Hyptis pectinata* leaves in experimental animals.** Journal of Ethnopharmacology. Vol 78, nº 1, 2001. 81-86.

BRASIL. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.** Censo demográfico. Rio de Janeiro, 2000.

BROPHY, J.J.; LASSAK, E.V. **The volatile leaf oils of *Hyptis pectinata* (L.) Poit. And *Vitex trifolia* L. var *bicolor* (Wild) Moldenke from Fiji.** Flavour Fragrance J., 2(1), 41-3. 1987.

CAMPOS, J.; ANDRADE, Carlos F.S. **Suscetibilidade larval de duas populações de *Aedes aegypti* a inseticidas químicos.** Ver. Saúde Pública, jun. 2001, vol. 35, n. 3, p. 232-236.

CARVALHO, L.A.F.; SILVA, I.G. **Avaliação longitudinal da atividade do *Temephós* a 1% sobre o *Aedes aegypti* (Lin, 1762).** Entomologia y vectores. 7:191-201, 2000.

CARVALHO, Maria do S. L. de; CALDAS, E.D.; DEGADLLIER, N. et al. **Suscetibilidde de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal.** Rev. saúde Pública, out. 2004, vol. 38, n. 5, p. 623-629.

CARVALHO, A.F.; MELO, V.M.; CRAVEIRO, A.A.; MACHADO, M.I.; BANTIM, M.B.; RABELO, E.F. **Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sodoides* cham. Against *Aedes aegypti* Linn.** Mem Inst. Oswaldo Cruz. 2003 jun.; 98 (4): 569 - 71

CAVALCANTI, E. S.; MORAIS, S.M.; LIMA, M.A.; SANTANA, E.W. **Larvicidal activity of essential oils from brazilian plants against *Aedes aegypti* L.** Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 2004 Aug.; 99 (5): 541-4. Epub 2004 Nov. 3.

COLEGATE, Steven M.; MOLYNEUX, Russel J. **Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, an Structural Determination.** CRC Press. Boca Raton. Ann Arbor London, Tokyo. 1993. pp. 446 – 449.

CONSOLI, R.; OLIVEIRA, R.L. **Principais mosquitos de importância sanitária do Brasil,** Rio de Janeiro: Fiocruz, 1994, 255p.

EL BABILI, F; MOULIS, C; BOM, M.; RESPAUD, M; FOURASTE, I. **Three furano – diterpenes from the bark of *cróton campestris*.** Phytochemistry, vol. 48, n. 1, may 1998, pp. 165 -169 (5).

FALCÃO, D. Q. & MENEZES, F. S. **Revisão etnofarmacológica, farmacológica e química do gênero *Hyptis*.** Revista Brasileira de Farmacologia, 84(3): pp.69-74, 2003.

FUNASA. **Direção do Centro Nacional de Epidemiologia:** Jarbas Barbosa da Silva Júnior Desenvolvido pela Fundação Nacional de Saúde, jul. 2002. Plano de intensificação das ações de prevenção e controle da Febre Amarela.

GASQUET, F.; DELMAS, P.; TIMÓN-DAVID, A.; KEITA, M; GUINDO, N.; KOITA, D; DIALLO and DOUMBO, O.;. *Evaluation in Vitro and in Vivo of a Traditional Antimalarial, "Malarial-5"*. Fitoterapia. 64 (1993), pp.423 – 426.

GIRÓN, L. M.; FREIRE, V.; ALONZO, A.; CÁCERES, A. *Ethnobotanical Survey of the Medicinal Flora used by the Caribes of Guatemala*. Journal of Ethnopharmacology. 34 (1991), pp.173 – 187.

GLÓRIA, Beatriz Appezzato Da. *Programa de Plantas Medicinais e Fisioterapia: Estruturas Secretoras nos Vegetais Superiores*. Edição Cursos Agrozootécnicos ESALQ-USP. Piracicaba – São Paulo. 1994. 81p.

GLUBER, D. *Aedes aegypti* and *Aedes aegypti*-boe disease control in the 1990's: top down or bottom up. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*; v. 40, p.571-578, 1989.

GONÇALVES, Carlos WP. Os (des) *Caminhos do Meio Ambiente*. São Paulo: contexto, 1989.

GOTTLIEB, O. Das plantas medicinais aos fármacos naturais. *Ciência hoje*, v. 15, n. 89, p. 51-55, abr. 1993.

GUALTIERI, F. et al. *Dinâmica Molecular das Interações de Novos Análogos da Tacrina (THA) com a Acetilcolinesterase (AChE)*. II *Fármaco* 50, 489-503. 1997

GUZMÁN, M. G., KOURI, G. *Dengue: na update*. *Lancet Infectious Diseases*, v. 2, p 32-42, jan. 2001.

JIROVETZ, L.; NGASSOUM, M.B. *Olfactory evaluation and GC/MS analysis of the essential oils of leaves and flowers of Hyptis pectinata (L.) Poit.* From Cameron. 125, 35-37. 1999.

KEITH, Thomas. *O homem e o mundo natural*, São Paulo: cia. Das letras, 1998.

KESSLERLING, Thomas. *O conceito de natureza na historia do pensamento ocidental*. *Ciência e ambiente*. Universidade Federal de Santa Maria, VIII, nº5, jul/dez, p. 19-40, 1992.

LEFF, Enrique. *Saber ambiental: sustentabilidade, racionalidade, complexidade, poder* Petrópolis, RJ: vozes, 2001.

LEMO, T. L. G.; MONTE, F. J. Q.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A.; BARBOSA, R. C. S. B.; LIMA, E. O. *Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Brazilian plants*. Fitoterapia, vol. 63, n.3 (1992) pp. 266 - 268.

LUNA, J. de S.; SANTOS, A. F. dos; LIMA, M. R. F. de; OMENA, M. C. de; MENDONÇA, F. A. C. de; BIEBER, L. W.; SANT'ANA, A. E. G. *A Study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil*. Journal of Ethnopharmacology, vol. 97, Issere 2, 28 february 2005, pp. 199-206.

MALAN, K.A.; PELISSIER, Y.; BESSIERE, J.M.; PELLERIN, F. *Variation in the chemical composition of the essential oil of Hyptis pectinata, L. Poit Plant. Med. Phytotner.*, 23(2), 86-9. 1989.

MALAN, K.A.; PELISSIER, Y.; MARION, C. ; BLAISE, A.; BESSIERE, J.M. *The essential oil of Hyptis pectinata*. Planta Med., 54(6), 531-2. 1988.

MARCORIS, M.L.G.; CAMARGO, M.F.; SILVA, I.G.; TAKAKU, L.; ANDRIHETTI, M.T. Modificação da Suscetibilidade de *Aedes aegypti* ao Temephós. *Revista de Patologia Tropical*. 24: 31-40, 1995.

MARLETTI, F.; MONACHE, F.D.; MARINI-BETTOLO, G.B.; DE ARAÚJO, M.C.M.; CAVALCANTI, M.S.B.; D'ALBUQUERQUE, I.L.; DE LIMA, O.G. *Diterpenoide quinones of Hyptis fruticosa (Labiatae)*. Gazz Chim. Ital., 106(1-2), 119-26. 1976

MARTINS, Ernane roine et al. *Plantas medicinais*. 2 ed. Viçosa; uv, 1998.220p.

MIYAZAWA, M.; YAMAFUJI, C. *Inhibition of acetylcholinesterase activity bicyclic monoterpenoids*. J. Agric Food chem. 2005 Mar 9; 53(5): 1765-8.

MONACHE, F.D.; MARLETTI, F.; MARINI-BETTOLO, G.B.; D'ALBUQUERQUE, I.L. *Diterpenoids of Hyptis fruticosa (Labiatae)*. II. Hyptol. Gazz. Chim. Ital., 107(5-6), 319-21. 1977.

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. *Química Nova*, v. 24, n. 1, p. 105-111, jan/fev. 2001.

NDUNGU, M.; LAWDALE, W.; HASSANALI, A.; MOREKA, L.; CHABRA, C. S. *Cleomemonophylla* essential oil its constituents as tick (*Rhipicephalus appendiculatus*) and maize weevil (*Sitophilus zeamais*) repellents. *Entomologia experimentalis et Applicata*, v. 76, p. 217-222, 1995.

NEVES, D P. *Parasitologia Humana* 10 ed. São Paulo: Atheneu, 2000. 428p

PARK, L. L. Kwon.; LEE, Sang-Gil.; CHOI, Don-Hwa; PARK, Ji-Doo; AHN, Yong-Joon. Insecticidal activities of constituents identified in the essential oil from leaves of *chamaecyparis obtusa* against *callosobruchus chinensis* (L-) and *Sitophilus oryzae* (L-)

PARK, I. K.; SCHIN, S.C.; PARK, J.D.; AHN, Y.J. Larvicidal activity of isobutylamides identified in *Piper nigrum* fruits against three mosquito species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 1866-1870, 2002.

PASCUAL, M. E.; SLOWING, K.; CARRETEIRO, E.; SÁNCHEZ MATA, D.; VILLAR, A. *Lippia: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review..* Journal of Ethnopharmacology, vol. 76, Issue 3, Agosto 2001, pp. 201-214.

PASCUAL-VILLALOBOS, M. J. Evaluation of the insecticidal activity of *Chrysanthemum coronarium* L. plant extracts. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, v. 22, p. 411-420, 1996.

PEREDA-MIRANDA, R; HERNANDEZ, L.; VILLAVICENTE, M.J.; NOVELO, M.; IBARRA, P.; CHAI, H.; PEZZUTO, J.M. *Structure and stereochemistry of pectinolides A-C, novel antimicrobial and cytotoxic 5,6-dihydro-á-pyrones from Hyptis pectinata*. Journal of Natural Products, 56(4), 583-93. 1993.

PINTO, A. C. et al. Produtos naturais: atualidade, desafio e perspectivas. *Química Nova*. São Paulo, v. 25, n. 3, p. 429-438, mai. 2001. Suplemento 1.

PIZARRO, A.P.; OLIVEIRA-FILHO, A.M.; PARENTE, J.P.; MELO, M.T.; SANTOS, C.E.; LIMA, P.R. Aproveitamento do resíduo da indústria do sisal no controle de larvas de mosquito. *Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 32: 23-29, 1999.

PIZZI, M. *Sampling variation of the fifty percent end-point, determined by the Reed-Muench (Behrens) method*. Human Biol 1950, 22, 151 – 90.

POHLIT, Adrian Martin; QUINARD, Etienne Louis Jacques; NUNOMURA, Sérgio Massayoshi *et al*. Screening of plants found in the state of Amazonas, Brazil for activity against *Aedes aegypti* larvae. *Acta Amaz*. 2004, vol. 34, nº01, p. 97-105.

REGNAULT-ROGER, C.; HAMRAQUI, A.; HOTELMAN, M.; THERON, F.; PINEAL, R. Insecticidal effect of essential oils Mediterranean plants upon *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera, Bruchidae), a pest of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) *J. Chem. Ecol.*, v. 19, p. 1233-1244, 1993.

RISHA, M. E.; EL-MAHAL, M. K. A.; SCHIMIDT, H. G. Toxicity of vapours of *Acorus calamus* L. oil to the immature stages of some stored-product Coleoptera. *J. Stored Prod. Res.*, v. 26, p. 133-137, 1990.

ROCHA, Marco Aurélio. *Fitoterapia*. Internet. 1998.

URL: <http://www.geocities.com/Athens/Pathernon/5140/Substveg.htm>.

ROJAS, A.; HERNANDEZ, L.; PEREDA-MIRANDA, R.; MATA, R. *Screening for antimicrobial activity of crude drugs extracts and natural products from Mexican medicinal plants*. Journal of ethnopharmacology, 35(3), 275-83. 1992.

SANTOS, A C. *Triagem de extratos de plantas para o controle de vetores de doenças tropicais e estudo fitoquímico da Annona montana Mucfadyen.*, Fevereiro, 2003

SILVA, H. H. G. da; SILVA, I. G. da; SANTOS, R. M. G. dos *et al.* Atividade larvica de taninos isolados de *Magonia pubescens* St. Hil (Sapindaceae) sobre *Aedes aegypti* (Díptera, Culicidae). *Ver. Soc. Brás. Méd. Trop.* Set/out. 2004, vol. 37, nº 5, p. 396-399.

SILVA, R.L.; MELO, G.B. de; ANTONIOLLI, A.R.; LIMA, S.O.; MELO, V.A. de; RAMALHO, F.S.; RAMALHO, L.N.Z.; ZUCOLATO, S.; JÚNIOR, O. de C. e S. *Efeito do extrato aquoso da Hyptis pectinata sobre a proliferação de hepatócitos após hepatectomia parcial*. Acta Cirúrgica Brasileira. Vol. 17. (suplemento 3) 2002-105.

SILVA, H.H.G.; SILVA, I.G. *Influência no período de quiescência dos ovos sobre o ciclo evolutivo de Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) (Díptera culicidae) em condições de laboratório*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 32:349-355. 1999

SILVA, H.H.G.; SILVA, I.G.; SOUZA, S.S.; GUIMARÃES, V.P.; ELIAS, C.N.; PIMENTA, J.F. *Estudo comparativo de eficiência das técnicas de ultra baixo volume (UBV) e termonebulização (FOG) no controle de Aedes aegypti*. Informe Epidemiológico do Sistema único de Saúde 10:45-46. 2001.

SILVA, H.H.G.; SILVA, I.G.; OLIVEIRA, C.L.N.S.; ELIAS, C.N. *Adaptação do Aedes aegypti (linnaeus, 1762) em criadouros artificiais com água poluída*. Entomologia y Vectores 6:383-391. 1999.

SIMAS, Naomi Kato; LIMA, Elisângela da Costa; CONCEIÇÃO, Scheila da Rocha *et al.* Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue: atividade larvica de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilterpenóides. *Química Nova*. Fev. 2004, vol. 27, nº01, p. 46-49.

SLIMESTAD, R.; MARSTON, A.; MAVI, A. HASTETTMANN, K. Larvicidal Constituents of *Melantheria albinervia*. *Planta Médica*. 61: 562-563, 1995.

SOUZA, C.V.B. *Óleos essenciais no controle da mosca branca, Bemisia argentifolii* Bellows & Perring, 1994. Fortaleza – UFU, 2000 – 62p

TAUIL, P.L. Urbanização e Ecologia do Dengue. *Caderno de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, V. 17, p99-102, 2001. Suplemento.

WEAVER, K. D.; WELLS, D. C.; DUNKEL, V. F.; BERTSCH, W.; SING, E. S.; SRIHARAN, S. Insecticidal activity of floral, foliar, and root extracts of *Tagetes minuta* (Asterales: Asteraceae) against adult Mexican bean weevils (Coleoptera: Bruchidae). *J. Econ. Entom.*, v. 87, p. 1718 – 1725, 1994b.

Figura 2.1 - <http://klab.agsci.colostate.edu/aegypti/aegypti.html>. Acesso 15/05/06.

Figura 2.2 - <http://www.nib.unicamp.br/svol/cp000121.htm>