# CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E POTENCIAIS ANTIMICROBIANOS, LARVICIDAS E MOLUSCICIDAS DE NANOEMULSÕES (O/A) DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE Syzygium

# cumini (L.) Skeels e Hymenaea courbaril L. var. courbaril

Gustavo Oliveira Everton (EVERTON, G.O)<sup>1\*</sup>

**Orientador:** Victor Elias Mouchrek Filho (MOUCHREK FILHO, V. E.)<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Maranhão, Departamento de Tecnologia Química, Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleo Essenciais, CEP 65080-805, São Luís, MA, Brasil. \*autor.

**RESUMO:** Este estudo avaliou a toxicidade, a atividade moluscicida frente ao caramujo transmissor da esquistossomose (Biomphalaria glabrata), atividade larvicida frente a larvas do vetor da dengue (Aedes aegypti) e a atividade antimicrobiana frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas dos óleos essenciais e nanoemulsões de Syzygium cumini (L.) Skeels e Hymenaea courbaril L. var. courbaril. Os óleos essenciais (OE's) foram extraídos por hidrodestilação e as nanoemulsões obtidas pelo método de inversão de fases com caracterização química através de Cromatografia Gasosa acoplada e espectrometria de massas (CG-EM). Ambos os OE's apresentaram toxicidade baixa, e assim foram avaliados quanto as propriedades biológicas moluscicidas, larvicidas e antimicrobianas. No ensaio bactericida foi detectada sensibilidade das cepas testadas frente aos óleos essenciais e nanoemulsões entre 9 e 33 mm de inibição. Para a Concentração Letal 50% frente ação do OE e da nanoemulsão de H. courbaril e S. cumini, respectivamente, observou-se a CL90 de 73,24/55,24 mg L<sup>-1</sup> e 77,20/71,03 mg L<sup>-1</sup> frente B. glabrata e 16,60/14,95 mg/L e 29,58/21,45 mg L<sup>-1</sup> frente Ae. aegypti. Observou-se que a nanoemulsão dos óleos essenciais aumentou a eficiência dos óleos essenciais. Através dos resultados obtidos conclui-se que as nanoemulsões avaliadas são propiciam e incentivam sua aplicação em virtude de seus potenciais para as atividades biológicas deste estudo, afirmando ainda a bioatividade do produto obtido com alto potencial de mercado e acessibilidade a

Palavras-chave: nanoemulsão; óleo essencial; produto.

# 1. INTRODUCÃO

O Brasil é o país com a maior biodiversidade do mundo com aproximadamente 55 mil espécies vegetais catalogadas de um total estimado entre 350 e 550 mil espécies em todo o planeta. As plantas medicinais têm atraído a atenção de pesquisadores do mundo inteiro, por suas propriedades medicinais e organolépticas. Estas possuem substâncias biologicamente ativas, podendo ser usadas para fins terapêuticos ou para fornecer precursores para a síntese química farmacêutica (BRASIL, 2014).

Entre os produtos obtidos de plantas, encontram-se os óleos essenciais de espécies aromáticas. Estes são conhecidos por suas propriedades bactericidas, antioxidantes, viruscida, larvicida, moluscicida e fungicidas (NTZIMANI et al., 2010). Diversas plantas com tais propriedades têm se mostrado promissoras no controle de ampla variedade de estirpes bacterianas, vetores de arboviroses, doenças negligenciadas e na retardação da oxidação dos alimentos. Dentre os produtos mais indicados para utilização dos óleos essenciais estão as nanoemulsões para o uso em propriedades antimicrobianas (GADIOLI, 2017), aplicações larvicidas e moluscicidas. Visto que, estes produtos melhoram a eficiência dos óleos essenciais utilizados na forma direta pois corrigem os problemas de rápida volatização e oxidação (TURASAN et al., 2015).

Tal fato tem despertado o interesse na utilização de tais produtos naturais no controle do crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes nos alimentos, a fim de substituir ou diminuir a utilização dos conservantes químicos (TRAJANO et al., 2009), além de estudos moluscicidas com essas plantas a fim de tornas menos oneroso e mais eficiente o controle da esquistossomose (OMS, 2002), conhecida como barriga d'água, sendo transmitida pelo caramujo da espécie *Biomphalaria glabrata* (RAGHAVAN et al., 2003).

No Brasil, essa doença já vem sendo descrita em 18 estados e no Distrito Federal, sendo sua ocorrência diretamente ligada à presença dos moluscos transmissores (BRASIL, 2014). Há substâncias moluscicidas empregadas para o extermínio de moluscos, sendo o niclosamida o único

recomendado. Contudo, o uso desse moluscicida tem gerado preocupação em relação a fatores como: toxicidade para outras espécies, devido à sua baixa seletividade; contaminação do meio ambiente e resistência de caramujos da espécie *B. glabrata* (CANTANHEDE et al., 2010).

Para tais finalidades das plantas produtoras de óleo essencial, este estudo selecionou as que não haviam ou que houvessem poucos estudos relatados em periódicos científicos sobre a ação dos seus óleos essenciais frente as propriedades moluscicidas, larvicidas e bactericidas. A *H. courbaril* (jatobá) possui óleo essencial que pode ser extraído do pericarpo do fruto, sendo este um subproduto comumente não aproveitadas. Outro foco deste trabalho foi o jambolão, mundialmente conhecida como *Syzygium cumini*, sendo seus frutos utilizados no tratamento de diabetes. Porém, não possui o aproveitamento dos bioprodutos de suas folhas.

Estudos mostraram para os óleos essenciais extraídos das partes comumente aproveitadas das plantas em estudo, atividades biológicas como alternativa no combate a surtos alimentares, bem como as Doenças Transmitidas por Alimentos e melhorias da segurança alimentar (KUMAR et al., 2017). Ainda, os seus respectivos potenciais antioxidantes ressaltam a melhoria da validade de produtos pelo uso de antioxidantes naturais, com menos efeitos colaterais ao consumidor (DEGÁSPARI& WASZCZYNSKYJ, 2004). No controle larvicida para *Aedes aegypti* (AGUIAR et al., 2010), apresentando resultados promissores para o controle do vetor de aborviroses de problema mundial como a dengue, Zika e a Chikungunya (SILVA et al., 2018). Porém, com relação a todas essas propriedades biológicas ainda existem poucos relatos na literatura com relação aos seus respectivos óleos essenciais e de forma inédita para testagem de bioprodutos com as nanoemulsões.

Desta forma, este estudo contribuirá cientificamente à área de química orgânica, produtos naturais, química de óleos essenciais, microbiologia de alimentos e água e da saúde coletiva, podendo ser utilizado futuramente como dado em pesquisas de estudo da erradicação da esquistossomose no país. Este trabalho caracterizou quimicamente, e avaliou de forma inédita a toxicidade, a atividade moluscicida frente ao caramujo (*Biomphalaria glabrata*), atividade larvicida frente *Aedes aegypti* e a atividade antimicrobiana frente a bactérias patogênicas, dos óleos essenciais e bioprodutos nanoemulsões extraídos das folhas de *S. cumini* e *H. courbaril*, espécies de grande importância medicinal e encontradas onde a doença é endêmica no Brasil e ainda com uma literatura restrita com relação aos seus potenciais biológicos no país.

#### 2. METODOLOGIA

## 2.1. Local da pesquisa

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais, Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água, Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada (NIBA) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Central Analítica da Universidade de Campinas, Central Analítica da UFMA e Núcleo de Combustível, Catálise e Ambiental (NCCA).

## 2.2. Obtenção dos óleos essenciais

As folhas de *S. cumini* L. e cascas de *H. courbaril* L. foram coletadas em janeiro de 2020 na região Pré-Amazônica de Palmeirândia (MA). Foram identificadas pelo Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão, sob o registro de n°1079 e 1069, respectivamente. Sendo transportadas para o Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV/UFMA), para secagem e armazenamento. Para extração dos óleos essenciais, utilizou-se a técnica de hidrodestilação (100 °C/3h) com um extrator de Clevenger de vidro acoplado a um balão de fundo redondo. Foram utilizadas 50g de *S. cumini* e 120g de *H. courbaril*, adicionando-se água destilada (1:10). Cada óleo essencial foi seco com sulfato de sódio (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e centrifugado. Essas operações foram realizadas em triplicatas e as amostras armazenadas em vials âmbar sob refrigeração de 4°C.

Foram determinados os parâmetros físico-químicos dos óleos essenciais: densidade, solubilidade, cor e aparência de acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010). O rendimento do óleo essencial foi expresso em porcentagem na relação massa/volume pela medida de densidade (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2019).

Os constituintes dos óleos essenciais foram identificados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas. Para a identificação dos compostos na amostra utilizou-se o programa AMDIS (Automated Mass spectral Deconvolution Mass & Identification System).

## 2.3. Preparo das nanoemulsões e estabilidade termodinâmica

O preparo das nanoemulsões óleo-em-água (O/A) foi realizado de acordo com as metodologias adaptadas descritas por Lima et al. (2020), através do método de baixa energia de inversão de fases. As nanoemulsões foram formuladas com óleo essencial, surfactante não iônico e água. A homogeneização final foi finalizada mantendo a formulação em agitação constante a 6000 rpm, até atingir a redução da temperatura para 25 °C  $\pm$  2 °C. Para comprovar a estabilidade, as formulações serão submetidas a diferentes testes de estresse: centrifugação, ciclo de aquecimento-resfriamento e estresse de congelamento-descongelamento, de acordo com a metodologia descrita por Shafiq et al. (2007).

#### 2.4. Ensaio de toxicidade

Para a avaliação da letalidade de *Artemia salina* Leach, foi preparada uma solução salina estoque de cada óleo essencial na concentração de 10.000 mg/L e 0,02 mg de Tween 80 (tenso ativo). Alíquotas de 5, 50 e 500 μL desta foram transferidas para tubos de ensaio e completados com solução salina já preparadas anteriormente até 5 mL, obtendo-se no final concentrações de 10, 100 e 1000 mg/L, respectivamente. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas, onde dez larvas na fase náuplio foram transferidas para cada um dos tubos de ensaio. Para o branco utilizou-se 5 mL da solução salina, para o controle positivo K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> e para o controle negativo 5 mL de uma solução 4 mg/L de Tween 80. Após 24 horas de exposição, realizou-se a contagem das larvas vivas, considerando-se mortas aquelas que não se movimentaram durante a observação e nem com a leve agitação do frasco. Adotou-se o critério estabelecido por Dolabela (1997) para classificação da toxicidade dos óleos essenciais.

#### 2.5. Atividade Moluscicida

As amostras dos caramujos da espécie *Biomphalaria glabrata* foram capturados de acordo com proposta de Brasil (2007), efetuando uma varredura com conchas nas áreas submersas, nos períodos chuvosos de setembro/2018 a março/2019, nas áreas com baixo saneamento no bairro Sá Viana, São Luís-MA (Figura 1). Posteriormente, transportados para o NIBA (Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada) da UFMA, para posteriores análises.



Figura 1 - Área de coleta, Sá Viana, São Luís -MA.

Os caramujos foram mantidos em laboratório por 30 dias sendo analisados a cada 07 dias, para confirmação da ausência de infecção por *Schistossoma mansoni*. Para a avaliação da atividade moluscicida foi utilizada à técnica preconizada pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 1983), submetendo-se inicialmente 10 caramujos adultos, em uma solução de 150 mg/L dos óleos essências e nanoemulsões e alimentando-os com alface hidropônico *ad.libittum* (MALEK, 1995). Os mesmos ficaram expostos na solução por 24 h, sob temperatura ambiente, removidos da solução, lavados por duas vezes com água desclorada, colocados em um recipiente de vidro contendo 500 mL de água desclorada, alimentando-os com alface hidropônico e observados a cada 24 h, por 4 dias para avaliar a mortalidade.

No segundo teste, denominado de Concentração Letal (CL<sub>50</sub>), foram preparadas soluções de cada óleo essencial e nanoemulsões num volume de 500 mL nas concentrações 10, 25, 50 e 75 mg/L e 0,15 mL de Tween 80 (tensoativo), utilizando-se a mesma metodologia do teste piloto. Para o controle negativo, utilizou-se água desclorada e Tween 80. A análise estatística dos dados foi realizada de acordo com o método de Reed&Muench (1938).

#### 2.6. Atividade Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi realizada segundo a técnica de difusão de disco do *Clinical* and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015) que padroniza os testes de sensibilidade de antimicrobianos por disco-difusão, utilizando-se suspensões padronizadas de cepas bacterianas ATCC distribuídas em placas contendo meio de cultura Ágar Mueller Hinton (AMH) acrescidas de discos contendo 50 μL dos óleos essenciais e das nanoemulsões. Como controle positivo utilizou-se Gentamicina. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35 °C/24 h. Os diâmetros dos halos de inibição foram mensurados, incluindo o diâmetro do disco. Esses ensaios foram feitos em triplicata. O esquema experimental é apresentado na Figura 2.

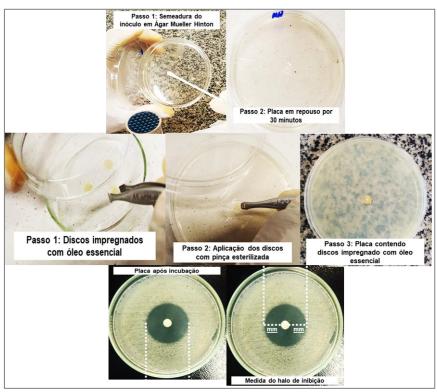


Figura 2 - Esquema experimental do Método de Difusão de Disco

Para determinação da concentração inibitória mínima (CIM), utilizou-se a técnica de diluição em caldo. com diluições seriadas dos óleos essenciais e das nanoemulsões em caldo Mueller Hinton (MH), resultando nas concentrações de 1000, 500, 250, 100, 50, 25, 10 e 5 μg/mL, realizando-se os controles de esterilidade e com incubação a 35°C por 24 horas. Após o período de incubação, foi verificada a concentração inibitória mínima do óleo, sendo definida como a menor concentração que

visivelmente inibiu o crescimento bacteriano (ausência de turvação visível). Ensaios realizados em triplicata.

#### 2.7. Atividade larvicida

Os ovos foram coletados na Universidade Federal do Maranhão, Campus Bacanga em São Luís/MA, através de armadilhas denominadas ovitrampas (Figura 3).



Figura 3 - Obtenção das larvas de Aedes aegypti

As armadilhas foram inspecionadas semanalmente para a substituição das palhetas e recolhimento dos ovos e encaminhados. A identificação da espécie seguiu a metodologia proposta por Forattini (1962). As larvas obtidas foram alimentadas com ração de gato conforme a metodologia de Silva (1995) até atingirem o terceiro estádio, idade em que foram feitos os experimentos.

Os ensaios para atividade larvicida foram realizados de acordo com a metodologia adaptada proposta por Silva (2006) e OMS. Inicialmente, foram preparadas diluições seriadas a partir 100 mg L<sup>-1</sup> do OE e nanoemulsões. A cada concentração foram adicionadas 10 larvas na proporção 2 mL/larva. Todos os testes foram realizados em triplicatas e como controle negativo foi utilizado uma solução formada de DMSO 2%, e como controle positivo, uma solução de temefós a 100 ppm, equivalente a concentração utilizada pela fundação nacional de saúde (Funasa) para o controle larvicida do vetor. Após 24h foram realizou-se a contagem de vivas e mortas, sendo que foram consideradas mortas, as larvas que não reagiram ao toque após 24 horas do início do experimento. Para quantificação da eficiência do OE foi aplicado o teste estatístico de Reed & Muench (1938) com cálculo do intervalo de confiança por Pizzi (1950).

#### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 3.1. Parâmetros físico-químicos dos óleos essenciais

Os parâmetros físico-químicos dos óleos essenciais são importantes não apenas para determinação da qualidade, como também para o controle da sua pureza e estes são apresentados na Tabela 1. Observa-se que o OE de *H. courbaril* obteve um rendimento de 2,10% superior ao OE de *S. cumini* de 1,60%.

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos dos OE's

OE	Densidade (g/mL)	Índice de refração (nD 25°)	Solubilidade em álcool a 70% (v/v)	Cor	Aparência	Rend. (%)
S. cumini	0,9720	1,5085	1:2	Amarelo	Límpido	1,60
H. courbaril	0,9500	1,4960	1:3	Amarelo	Límpido	2,10

Comparando os valores para o OE estudado com os da literatura, pode-se observar que houve uma similaridade entre eles, no que diz respeito aos parâmetros analisados. As pequenas diferenças nos valores encontrados podem ser atribuídas a fatores tais como época de coleta, diferentes tipos de solo, condições e tempo de armazenamento (COSTA et al., 2012). Sendo importante enfatizar o rendimento de 2,10% para o OE de *H. courbaril* que foi observado em resultados superiores a

literatura para outras partes da mesma espécie, incentivando sua produção em virtude do aproveitamento de cascas que são comumente descartadas em nosso estado.

## 3.2. Caracterização química dos óleos essenciais

Os picos cromatográficos foram identificados através da comparação dos respectivos espectros de massa com os dados das espectrotecas (1) WILEY 139; (2) NIST107 e (3) NIST21. Os principais resultados obtidos são apresentados na Figura 4a para *H. courbaril* e na Figura 4b os compostos identificados no OE extraído das folhas da *S. cumini*.

Como pode ser observado na Figura 4a foram identificados 25 componentes na amostra do óleo essencial de *H. courbaril*, sendo o constituinte majoritário do OE  $\beta$ -ocimeno com 45,33% da composição, seguido por d-limoneno (13,51%),  $\alpha$ -pineno (12,33%),  $\beta$ -pineno (9,79%) e  $\beta$ -micreno (8,38%).

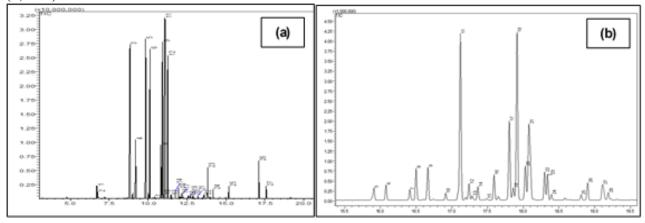


Figura 4 – Cromatograma do óleo essencial de (a) H. courbaril (b) S. cumini

A composição química relatada traz constituintes ainda não observados para a extração das cascas do fruto, mas como comparativo Mercês et al. (2018), verificaram as análises cromatográficas realizadas em CG/EM do OE das folhas de *H. courbaril*, sendo possível detectar 36 compostos, 26 foram identificados, representando 76,03% dos constituintes do OE. A análise revelou o óxido de cariofileno e β-cariofileno como compostos majoritários do OE desta espécie 20,63% e 16,78%, respectivamente. O β-ocimeno observado neste estudo é apontado como eficiente larvicida e altamente antimicrobiano.

Na Figura 4b foram identificados 28 componentes na amostra, sendo o constituinte majoritário do OE o isocariofileno (52.01%), naftaleno (17.37%) e longifoleno (11.65%). Segundo Pereira et al. (2007), a composição do OE de uma espécie desta planta está relacionada a aspectos ambientais, tais como: o ciclo vegetativo da planta; o processo de obtenção do óleo essencial; o ambiente no qual a espécie se desenvolve, o tipo de cultivo, a temperatura, umidade relativa, a quantidade de água e os nutrientes no terreno, entre outros. Essa dependência da composição do óleo essencial das condições ambientais pode ser verificada ao se comparar a composição e o rendimento de óleos essenciais extraídos em diferentes locais e partes de planta.

#### 3.3. Toxicidade

Na Tabela 2 são apresentadas as Concentrações Letais 50% referentes a ação dos óleos essenciais frente a *Artemia salina* L. e sua posterior classificação segundo o critério de Dolabela (1997).

Tabela 2 – Concentração Letal 50% para ação dos óleos essenciais frente a *Artemia salina* L. e classificação dos óleos quanto a sua toxicidade pelo critério de Dolabela.

OE	$\mathrm{CL}_{50}$	Classificação
S. cumini	$398,10 \pm 5,25 \text{ mg/L}$	Atóxico

A Concentração Letal 50% (CL<sub>50</sub>) refere-se ao ponto em que o número de animais sobreviventes é igual ao número de animais mortos, e seguindo o critério de Dolabela (1997) é possível determinar a toxicidade de produtos naturais visando uma aplicação específica do agente no organismo alvo, visto que óleos com toxicidade elevada não são recomendados para aplicações biológicas.

Na Tabela 2 foi possível observar que nenhum dos óleos foi classificado como tóxico, logo, suas aplicações podem ser relativamente aceitáveis e sendo encorajadas. Desta forma, os ensaios de atividade biológica foram iniciados. É importante ressaltar que o óleo essencial de *H. courbaril* extraído das cascas do fruto apresenta até agora um rendimento significativo e componentes químicos de importância biológica e neste ensaio de toxicidade apresenta a CL<sub>50</sub> de 354,8 mg/L, muito acima do critério que era de apenas 250 mg/L para ser classificado como atóxico. Logo, este OE tem seu potencial de aplicação novamente incentivado juntamente ao de *S. cumini*. É importante enfatizar que estudos relativos à toxicidade de produtos naturais são de vital importância para aplicações biológicas e estudos da literatura ainda não divulgam toxicidade das plantas em estudo em um teste específico como o bioensaio frente a *Artemia salina*.

#### 3.4. Atividade antimicrobiana

Os resultados referentes aos ensaios para determinação da atividade antimicrobiana são apresentados na Tabela 3. Todos os óleos apresentaram atividade antimicrobiana frente a *E. coli* e *S. aureus*.

Tabela 3 – Halos de inibição (mm), Concentração Inibitória Mínima (μg/mL) e Concentração Bactericida Mínima (μg/L) dos óleos essenciais e nanoemulsões

	EO/NANO H. courbaril			EO/NANO S. cumini		
Species	DIH	MIC	MBC	DIH	MIC	MBC
E. coli	21/22	190/180	490/460	17/18	250/200	600/550
S. aureus	33/34	170/160	450/420	32/34	150/130	390/370
P. aeruginosa	11/12	800/760	1300/1210	9/11	500/470	1000/900
Salmonella sp.	12/13	500/475	900/840	13/15	350/330	800/700
B. cereus	15/17	470/445	530/500	22/24	200/150	780/740
P. mirabilis	10/12	430/405	900/850	11/13	400/320	820/720

De acordo com os resultados observados, nota-se que as bactérias apresentaram sensibilidade frente aos óleos essenciais testados. Foi detectada uma variação nos halos de inibição abrangida entre 9 e 33 mm (cepas foram sensíveis). O OE de *H. courbaril* revelou atividade antimicrobiana frente a todas as linhagens testadas, mas exibiu maior halo de inibição na cepa de *S. aureus* (33 mm). Estes resultados estão de acordo com as análises apontadas por Sales (2014), que ao testar a ação antimicrobiana do OE de *H. courbaril* frente a 8 cepas microbianas, apontou sensibilidade apenas às cepas bacterianas Gram-positivas de *S. aureus* nas concentrações de 50 e 100 mg mL<sup>-1</sup> do OE. Mercês et al. (2013), ao realizarem teste de microdiluição em série, relataram atividade do óleo para todas as bactérias testadas, entre elas *S. aureus* e *E. coli*.

Na presente investigação, o OE de *S. cumini* mostrou-se mais eficaz especialmente contra bactérias Gram-positivas, como *S. aureus* (32 mm) e *B. cereus* (22 mm). Estes resultados, constatam a relevância deste estudo, visto que, Loguercio et al. (2005), ao investigarem a ação antimicrobiana

do extrato de *S. cumini*, encontraram halos de inibição inferiores ao deste estudo, para essas mesmas bactérias. É importante enfatizar que as nanoemulsões para tais finalidades são apresentadas de forma inédita neste estudo e apresentaram eficiência maior do que o óleo essencial in vitro, ainda apresentando-se como um produto aplicável com potencial de mercado.

## 3.5. Atividade Moluscicida e Larvicida

Na Tabela 4 são apresentados os resultados referentes a atividade moluscicida dos OE's frente ao *Biomphalaria glabrata*.

Tabela 4 – Concentração Letal 50% e 90% para ação dos óleos essenciais frente ao caramujo transmissor da esquistossomose (*B. glabrata*) e frente ao vetor de arboviroses *Ae. aegypti* 

	Atividade	Atividade moluscicida		Atividade larvicida		
	В. д	labrata	Ae. aegypti			
Espécie	OE	Nanoemulsão	OE	Nanoemulsão		
	$CL_{90}$	$CL_{90}$	$\mathrm{CL}_{50}$	$\mathrm{CL}_{50}$		
H. courbaril	73,24 mg/L	55,24 mg/L	16,60 mg/L	14,95 mg/L		
S. cumini	77,20 mg/L	71,03 mg/L	29,58 mg/L	21,45 mg/L		

O OE de *H. courbaril* obteve a menor Concentração Letal 90% (CL<sub>90</sub>) frente ao caramujo *B. glabrata* sendo esta 73,24 mg/L, sendo ativa pelo critério de classificação ativa internacional. Ainda o OE de *S. cumini* apresenta uma CL<sub>50</sub> de 77,20 mg/L. Para ambos os produtos ainda não possuíam estudos divulgados em periódicos científicos com o óleo extraído das cascas e nem das folhas, mostrando a relevância de estudos com essa espécie.

Para ser considerada moluscicida a substância deve eliminar o caramujo em todas as fases do seu ciclo de vida e no seu habitat natural, possuir baixas concentrações, baixo custo, ser estável no armazenamento em condições tropicais; fácil de transportar e aplicar; ter ação letal seletiva a caramujos, ser inócuo para o homem, animais domésticos, peixes e plantas, não sofrer decomposição na água e no solo e ser estável em condições de temperatura e irradiação solar (WHO, 2002). Dessa forma, os óleos essenciais em estudo estão dentro desses padrões sendo apresentado como agentes moluscicida frente ao caramujo transmissor da esquistossomose, ainda este estudo apresenta um bioproduto inédito para tal finalidade com potencial de mercado: as nanoemulsões. Visto que, os moluscicidas vegetais, quando comparados com os sintéticos, apresentam danos ambientais mínimos, constituem um método eficaz e de baixo custo que pode auxiliar no controle da esquistossomose, porém, apesar destas características, ainda são comercializados apenas moluscicidas sintéticos (SÁ et al., 2017).

No ensaio larvicida foi possível observar o alto potencial larvicida, de acordo com Dias&Moraes (2014), das nanoemulsões analisadas no presente estudo, mostrando-se eficientes frente as larvas do mosquito *Aedes aegypti*, incentivando assim, seu potencial de aplicação larvicida. O potencial é confirmado para a nanoemulsão de *S. cumini* é confirmado por Murthy&Rani (2004) ao relatarem ação larvicida do óleo essencial in vitro de *S. cumini* obtendo CL<sub>50</sub> abaixo de 100 mg/L. Para *H. courbaril*, Everton et al. (2020) analisaram o potencial larvicida de *H. courbaril* e classificaram a ação observada em seu estudo como altamente eficiente.

A ação da nanoemulsão incorporada aos óleos essenciais é associada a presença de constituintes químicos como componentes terpênicos, álcoois e aldeídos, sendo responsáveis pela atividade larvicida contra *Aedes aegypti* (Leite et al., 2009). Ainda, outros estudos justificam tal ação pela maior concentração em presença de sesquiterpenos oxigenados, presentes principalmente em cascas de frutos. Por fim, os efeitos observados podem ser decorrentes de um somatório de substâncias presentes, que apesar de se encontrarem em concentrações menores, também possuem bioatividade.

## 4. CONCLUSÃO

Através dos resultados obtidos nos estudos químicos, na avaliação da toxicidade, atividade moluscicida, larvicida e antimicrobiana dos óleos essenciais de *S. cumini e H. courbaril*, conclui-se que os óleos essenciais avaliados são compostos por substâncias que propiciam e incentivam sua aplicação em virtude de seus potenciais para as atividades biológicas deste estudo, afirmando ainda a bioatividade do produto obtido com alto potencial de mercado.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, J. C. D. et al. Chemical constituents and larvicidal activity of Hymenaea courbaril fruit peel. **Natural Product Communications**, v. 5, n. 12, p. 1934578X1000501231, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n° 26, de 13 de maio de 2014. **Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos.** Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder executivo, Brasília, DF.

CANTANHEDE, S. P. D. et al. **Atividade moluscicida de plantas: uma alternativa profilática.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 20, n.2, p. 282-288, 2010.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests.** Approved standard. M2-A8, 8.ed. 2003.

COSTA, D. A. et al. Avaliação da toxicidade aguda e do efeito ansiolítico de um derivado sintético da carvona. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 16, n. 3, p. 303-310, 2012.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão acadêmica**, v. 5, n. 1, 2004.

DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C. Essential oils and their compounds as Aedes aegypti L.(Diptera: Culicidae) larvicides. **Parasitol. Res., v.** 113, n. 2, p.565-592, 2014

DOLABELA, M.F. **Triagem in vitro para a atividade antitumoral e anti- T.cruzi de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas.** Belo Horizonte. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Minas Gerais, 1997. 128p

GADIOLI, I. L. Obtenção, caracterização química, propriedades antioxidantes e antimicrobianas de extratos de polpas, sementes e folhas de passifloras silvestres para formulação de nanoemulsões. 2017.

KUMAR, A. et al. Antibacteriana, análise antioxidante de extratos fitoquímicos derivados de sementes de Syzygium cumini L. contra bactérias patogênicas. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v. 10, n. 8, pág. 2707-2712, 2017.

LEITE, A. M., et al. Preliminary study of the molluscicidal and larvicidal properties of some essential oils and phytochemicals from medicinal plants. **Rev. bras. Farmacognosia,** v, 19, n. 4, p. 842-846, 2009.

LIMA T. C. P. et al. Desenvolvimento de nanogel de copaifera reticulata sobre a lesão muscular em ratos usando fonoforese. **Saúde Pesq**, v. 13, n. 1, 2009.

- LOGUERCIO, A. P. et al. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (Syzygium cumini (L.) Skells). **Ciência rural**, v. 35, n. 2, p. 371-376, 2005.
- MERCÊS, P. F. F et al. Composição química e atividade antibacteriana do óleo essencial dos frutos de Hymenaea courbaril L. var. courbaril. **VII SBOE- Simposio Brasileiro de Oleos Essenciais**, 2013.
- MURTHY, J. M.; RANI, P. U. Biological activity of certain botanical extracts as larvicides against the yellow fever mosquito, Aedes aegypti L. **J Biopest**, v. 2, n. 1, p. 72-6, 2009
- NTZIMANI, A. G.; GIATRAKOU, V. I.; SAVVAIDIS, I. N. Combined natural antimicrobial treatments (EDTA, lysozyme, rosemary and oregano oil) on semi cooked coated chicken meat stored in vacuum packages at 4 C: Microbiological and sensory evaluation. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, n. 1, p. 187-196, 2010.
- OMS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD). 2002. **Empleo inocuo de plaguicidas**, Genève, OMS. 29p.
- PEREIRA, C. K. et al. Composição química, atividade antimicrobiana e toxicidade do óleo essencial de Hymenaea courbaril (jatobá). 30<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. QUÍMICA, SBD Águas de Lindoia-SP, 2007.
- REED L.J.; MUENCH H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. American Journal of Hygiene, v. 27, n. 3, p. 493-497, 1938.
- SÁ, J., SIQUEIRA, W., SILVA, H., CALAZANS, R., MORAIS, V., SANTOS, M., ... & MELO, A. Avaliação da atividade moluscicida do extrato de Anadenanthera colubrina sobre caramujos adultos e embriões da espécie Biomphalaria glabrata. **Blucher Biophysics Proceedings**, v. 1, n. 1, p. 26-29, 2017.
- SALES, G. W. P. Avaliação da atividade antimicrobiana e do mecanismo de ação do óleo essencial extraído da casca de frutos da *Hymenaea courbail* L. 2014. 141 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Fortaleza, 2014.
- Shafiq S. et al. Development and bioavailability assessment of ramipril nanoemulsion formulation. **Eur. J. Pharm. Biopharm**, v. 66, p. 227-243, 2007.
- SILVA, M. V. S. G. et al. Composição química e atividade larvicida contra Aedes aegypti do óleo essencial da Eugenia calycina. 2018.
- TRAJANO, V. N.; LIMA, E. D. O.; SOUZA, E. L. D.; TRAVASSOS, A. E. R. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 542- 545, 2009.
- TURASAN, H.; SAHIN, S.; SUMNU, G. Encapsulation of rosemary essential oil. **LWT-Food science and technology**, v. 64, n. 1, p. 112-119, 2015.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Report of the Scientific working Group on Plant Molluscicide & Guidelines for evaluation of plant molluscicides. Geneva: TDR/SC 4-SWE (4)/83.3, 1983.