

Atividade Repelente do Óleo Essencial de *Ocimum selloi* Benth. (variedade eugenol) contra o *Anopheles braziliensis* Chagas

Josiane P. PAULA *, Paulo V. FARAGO,
Lizianne E.M. CHECCHIA, Karla M. HIROSE e João L.C. RIBAS

Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Departamento de Ciências Farmacêuticas;
Avenida Carlos Cavalcanti, 4748 - 84030-900 Ponta Grossa, PR, Brasil

RESUMO. *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae) é uma planta herbácea nativa do Brasil. Seu óleo essencial tem sido utilizado como flavorizante em comidas e em produtos orais e como componente de fragrâncias. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade repelente de mosquitos do óleo essencial de *O. selloi* (variedade eugenol) em humanos. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação das folhas da espécie. Em estudo de campo, no qual seis voluntários (cada qual como seu próprio controle) foram expostos ao *Anopheles braziliensis* Chagas por trinta minutos, *O. selloi* (10% v/v, solução em etanol) reduziu drasticamente o número de picadas comparado ao controle (redução de 98,1%, $P=0,011$), mostrando ser um repelente de mosquitos eficiente.

SUMMARY. "Repellent Activity of *Ocimum selloi* Benth. Essential Oil (variety eugenol) against *Anopheles braziliensis* Chagas". *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae) is an herbal plant native to Brazil. The essential oil has been used as a flavoring additive in foods and oral products and as a component of fragrances. The aim of this study was to evaluate the mosquito repellent activity of *O. selloi* essential oil (variety eugenol) in humans. The essential oil was obtained by hydro-distillation of *O. selloi* leaves. In a field study in which six volunteers (each individual as his own control) were exposed to *Anopheles braziliensis* Chagas for thirty minutes, *O. selloi* (10% v/v, solution in ethanol) drastically reduced the frequency of bites as compared to ethanol alone (reduction of 98.1%, $P=0.011$) thereby proving to be an effective mosquito repellent.

INTRODUÇÃO

Os repelentes têm sido amplamente empregados na proteção contra picadas de mosquitos, visando a diminuição do incômodo causado por esses insetos e, ainda mais importante, reduzindo o contato com o homem, o que torna os repelentes uma ferramenta relevante na luta contra as doenças transmitidas por vetores ¹.

O DEET (N,N-dietil metilbenzamida ou N,N-dietil *m*-toluamida) é o repelente mais estudado até o presente momento. Dogan *et al.* ² mostraram que o DEET não atua exatamente como um repelente, mas como um inibidor da atração causada pelo ácido láctico.

Embora muitos autores defendam a utilização do DEET por sua eficiência comprovada, outros o consideram alvo de críticas em virtude dos questionamentos sobre sua toxicidade e por relatos da ocorrência de casos de encefalite as-

sociados ao seu uso ³. Devido a essa controvérsia, estudos têm sido feitos para identificar novas substâncias que possam ser utilizadas como agentes repelentes.

Sabe-se de longa data que determinadas plantas repelem naturalmente os mosquitos, como foi, em princípio, observado com o piretro, obtido do crisântemo. Uma grande variedade de vegetais tem sido testada com relação ao seu potencial repelente ⁴. A triagem de produtos repelentes de origem botânica vem sendo feita a partir de extratos da planta inteira ou de órgãos específicos, como folha, fruto, flor, raiz e casca ⁵.

Alguns trabalhos têm evidenciado que espécies do gênero *Ocimum* são usadas contra mosquitos e para proteger cereais armazenados contra insetos ^{6,7}.

A presente pesquisa tem por objetivo avaliar a ação repelente do óleo essencial de *Ocimum*

PALAVRAS-CHAVE: *Anopheles braziliensis*, *Ocimum selloi*, Repelente.

KEY WORDS: *Anopheles braziliensis*, *Ocimum selloi*, Repellent.

* Autor a quem dirigir a correspondência: E-mail: jopadilha@terra.com.br

selloi Benth. (variedade eugenol) contra o *Anopheles braziliensis* Chagas.

MATERIAL E MÉTODOS

As folhas de *O. selloi* foram coletadas no mês de fevereiro de 2003, na caverna do Olho d'Água, distrito de Itaiacoca, município de Ponta Grossa, Estado do Paraná, Brasil. As exsiccatas foram preparadas de acordo com os critérios preconizados por Fidalgo & Bononi⁸, identificadas por taxonomista, depositadas no Herbário da Universidade Estadual de Ponta Grossa e registradas sob o número HUEPG 1226. O material vegetal foi dessecado à temperatura ambiente e fragmentado com o auxílio de um triturador em hélice. Após a dessecação, foi armazenado em recipientes herméticos e acondicionado ao abrigo da luz.

A extração do óleo essencial foi realizada através de hidrodestilação (arraste a vapor) durante um período de seis horas, utilizando o aparelho de Clevenger para essências menos densas do que a água⁹. A confirmação dos constituintes químicos presentes no óleo essencial, especialmente o eugenol, foi efetuada por meio de cromatografia em camada delgada, utilizando como eluente o sistema de solventes tolueno/acetato de etila (93:7)¹⁰, frente a padrões puros de fenilpropanóides e terpenóides disponíveis no Laboratório de Farmacognosia da UEPG.

A técnica empregada para avaliar a atividade repelente de mosquitos foi uma adaptação dos métodos realizados em campo por Trigg¹ e Yap *et al.*^{11,12}. O presente trabalho foi desenvolvido nas proximidades do Rio Tibagi, município de Ponta Grossa, no dia treze de março de 2003, entre as dezenove horas e trinta minutos e vinte horas e trinta minutos, horário em que se observou a maior concentração de mosquitos.

Resumidamente, o volume de 100 µL de uma solução etanólica do óleo essencial de *Ocimum selloi* a 10% (v/v) foi aplicado em uma área de aproximadamente 50 cm² da face cubital do antebraço de seis voluntários expostos aos mosquitos *Anopheles (NYSSORHYNCHUS) braziliensis* Chagas identificados por entomologistas, por um período de trinta minutos. O restante do antebraço foi coberto com luvas de algodão para proteção contra as picadas. O controle negativo foi realizado anteriormente, no mesmo antebraço, com a aplicação, de forma análoga, de 100 µL de etanol por trinta minutos. Como controle positivo foi utilizado o repelente Autan Bayer® aplicado no rosto.

Promoveu-se a contagem do número total de

picadas que ocorreram durante o período de aplicação do controle negativo e da solução de óleo essencial de *O. selloi*. A comparação estatística entre o tratamento com *O. selloi* a 10% (v/v) e com etanol foi realizada pelo teste *t* de Student para amostras pareadas ($P \geq 0,05$).

Todos os voluntários, previamente, receberam e assinaram o termo de esclarecimento e livre consentimento à participação no estudo.

RESULTADOS

Como mostrado na Tabela 1, a solução alcoólica (10% v/v) do óleo essencial de *O. selloi* (variedade eugenol) apresentou atividade repelente contra o mosquito *A. braziliensis*, comparada ao controle negativo e durante o período de tempo analisado. O número médio de picadas após o tratamento com o óleo essencial em questão (0,33, variando de 0 a 1) foi muito menor que o registrado com o controle negativo (13,67, variando de 3 a 24). Foi possível constatar uma grande variação na atração aos mosquitos pelos voluntários, quando da aplicação do controle negativo. O óleo essencial de *O. selloi* (10% v/v) promoveu uma redução drástica no número de picadas nos seis voluntários, com uma percentagem de repelência variando entre 92,9 e 100% (média de 98,1%) (Tabela 1). O valor de *P* foi de 0,011, indicando que essa diferença foi estatisticamente significativa.

Nenhuma picada de *A. braziliensis* foi notada na região facial dos voluntários tratados com o controle positivo. Também não se observou qualquer sinal de irritação cutânea ou reação adversa nos seis voluntários expostos à essência de *O. selloi*.

Voluntários	Número de picadas		Redução do número de picadas (%)
	Controle negativo	Óleo de <i>O. selloi</i> (10% v/v)	
1	7	0	100
2	14	1	92,9
3	22	0	100
4	24	1	95,8
5	12	0	100
6	3	0	100
Média	13,67	0,33	98,1

Tabela 1. Avaliação da ação repelente do óleo essencial de *O. selloi* (variedade eugenol) contra o *A. braziliensis*. Redução do número de picadas (%): [(Número do controle) . (Número do óleo de *Ocimum selloi*) / (Número do controle)]. 100.

DISCUSSÃO

A ação repelente do óleo essencial de *O. selloi* foi avaliada contra o *A. brasiliensis*. Embora se tenha notícia da presença de *Plasmodium* sp. infectando essa espécie de anofelino em regiões endêmicas de malária, felizmente não se tem conhecimento da transmissão de doenças por essa espécie de *Anopheles*¹³.

Diversos pesquisadores tem estudado a atividade repelente de mosquitos das espécies da família Lamiaceae, inclusive as do gênero *Ocimum*. Esses estudos foram realizados com vários mosquitos vetores de doenças e utilizaram diferentes métodos para evidenciar a atividade repelente. Em que pese as diferentes abordagens, a efetividade da ação repelente de mosquitos tem sido consistente em *Ocimum* spp.³.

Os resultados encontrados no presente trabalho revelaram que o óleo essencial de *O. selloi* (variedade eugenol) apresenta uma elevada atividade repelente contra a espécie de mosquito testada. Em estudo similar realizado com a variedade estragol da essência de *O. selloi*, Paula *et al.*¹⁴ obtiveram uma redução no número de picadas de 88% em relação ao controle. White¹⁵ demonstrou a ação repelente em duas espécies de *Ocimum*, o *O. americanum* e o *O. suave*, contra o *Aedes aegypti*, transmissor da febre amarela e da dengue. Palsson & Jaesson¹⁶ confirmaram essa ação, analisando o *O. americanum* (*O. canum*). Chogo & Crans¹⁷ foram além, após terem avaliado a ação repelente do *O. suave*, isolaram o seu principal componente, o eugenol. Os pesquisadores citados sugerem que a ação repelente dessas espécies de *Ocimum* se deve ao alto teor do fenilpropanóide em questão, o que vai de encontro com os resultados evidenciados na presente pesquisa, uma vez que o eugenol caracteriza-se como o principal componente volátil da variedade de *O. selloi* ora ensaiada.

Os dados obtidos mostraram ainda uma grande diferença no número de picadas do controle negativo entre os voluntários. Para evitar que essas diferenças interindividuais quanto à atração do mosquito e à susceptibilidade a picadas, tornassem o teste pouco sensível, foram tomados alguns cuidados, como a utilização de cada voluntário como seu próprio controle, conforme o que foi proposto por Yap *et al.*¹¹.

Apesar de nossos resultados terem confirmado um eficiente efeito repelente, estudos adicionais devem ser desenvolvidos para determinar o tempo de duração da ação repelente do óleo volátil em pauta, bem como para testá-lo contra

outras espécies do gênero *Anopheles* de maior importância como vetores de doenças.

CONCLUSÕES

A solução alcoólica a 10% (v/v) do óleo essencial de *O. selloi* (variedade eugenol) indicou uma redução média de 98,1% no número de picadas de *A. brasiliensis* nos voluntários ($P = 0,011$). Esforços adicionais devem ser empregados, a fim de determinar o tempo de duração da ação repelente do presente óleo essencial e a atividade repelente de outros mosquitos de interesse na saúde pública.

REFERÊNCIAS

1. Trigg, J.K. (1996) *J. Amer. Mosquito Control Assoc.* **12**: 329-30.
2. Dogan, E.B., J.W. Ayres & P.A. Rossignol (1999) *Med. Vet. Entomol.* **13**: 97-100.
3. Paula, J.P. (2002) "Estudo da ação repelente do óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth. contra o *Anopheles brasiliensis* Chagas", Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, págs. 7, 58-9.
4. Fradin, M.S. (1998) *Ann. Internal Med.* **128**: 931-40.
5. Sukumar, K., M. Perich & L.L. Boobar (1991) *J. Amer. Mosquito Control Assoc.* **7**: 210-37.
6. Cutis, S.F. (1991) "Natural and Synthetic repellents", en "Control of Disease Vectors in the Community" (Cutis, C.F., ed.), Wolfe, London, págs. 75-92.
7. Singh, G. & R.K. Upadhyay (1993) *J. Sci. Ind. Res.* **52**: 676-83.
8. Fidalgo, O. & V.L.R. Bononi (1986) "Técnicas de Coleta, Preservação e Herborização de Material Botânico", Instituto de Botânica, São Paulo.
9. United States Pharmacopeial Convention (1990) "The United States Pharmacopoeia 22nd ed.", Rockville.
10. Wagner, H., S. Bladt & E.M. Zgainski (1983) "Drogenanalyse: Dunnschichtchromatographische Analyse von Arzneidrogen", Springer-Verlag, Berlin.
11. Yap, H.H., K. Jahangir, A.S.C. Chong, C.R. Adana, N.L. Chong, Y.A. Malik & B. Rohaizt (1998) *J. Vector Ecol.* **23**: 62-8.
12. Yap, H.H., K. Jahandir & J. Zairi (2000) *J. Amer. Mosquito Control Assoc.* **16**: 241-4.
13. Póvoa, M.M., R.A. Wirtz, R.N.L. Larcerda, M.A. Miles & D. Warhurst (2001) *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **96**: 179-84.
14. Paula, J.P., F.J.R. Paumgarten & M.R. Gomes-Carneiro (2003) *J. Ethnopharmacol.* **88**: 253-60.
15. White, B. (1973) *East Afr. Med. J.* **50**: 249-52.
16. Palsson, K. & T.G. Jaenson (1999) *Acta Tropica* **72**: 39-52.
17. Chogo, J.B. & G. Crank (1981) *J. Nat. Prod.* **44**: 308-11.