



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**EFEITO *in vitro* DE EXTRATOS ETANÓLICOS DA RAIZ DE
JURUBEBA (*Solanum paniculatum* L.) E DAS FOLHAS DE
MELÃO-DE-SÃO-CAETANO (*Momordica charantia* L.) SOBRE
OVOS E LARVAS DE NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS
DE CAPRINOS.**

LUCIANA NUNES CORDEIRO

**PATOS – PB
2008**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**EFEITO *in vitro* DE EXTRATOS ETANÓLICOS DA RAIZ DE
JURUBEBA (*Solanum paniculatum* L.) E DAS FOLHAS DE
MELÃO-DE-SÃO-CAETANO (*Momordica charantia* L.) SOBRE
OVOS E LARVAS DE NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS
DE CAPRINOS.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Campina Grande, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração Sistemas Agrossilvipastoris no Semi-árido, para obtenção do título de Mestre.

Luciana Nunes Cordeiro

**Orientador (a): Prof^ª. DSc. Ana Célia
Rodrigues Athayde**

**Co-Orientador: Prof. DSc. Onaldo Guedes
Rodrigues**

**PATOS – PB
2008**

FICHA CATALOGADA NA BIBLIOTECA SETORIAL DO
CAMPUS DE PATOS - UFCG

C794e
2008

Cordeiro, Luciana Nunes.

Efeito *in vitro* de extratos etanólicos da raiz de Jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) e das folhas de Melão-de-São-Caetano *Momordica charantia* L.) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos. / Luciana Nunes Cordeiro. - Patos - PB: CSTR/UFCG, 2008.

64p.

Orientador (a): Ana Célia Rodrigues Athayde.

Dissertação (Pós - Graduação em Zootecnia – Sistemas Agrossilvipastoris no Semi - Árido) – Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande.

1 –Parasitologia Veterinária – Dissertação. 2 – Plantas MedicinaisI – Dissertação. 3 - Nematóides em caprinos. I - Título

CDU: 6576.89:636.3



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

PROVA DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

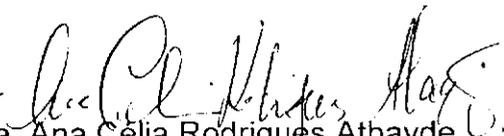
TÍTULO: "EFEITO *in vitro* DE EXTRATOS ETANÓLICOS DA RAIZ DE JURUBEBA (*Solanum paniculatum* L.) E DAS FOLHAS DE MELÃO-DE-SÃO-CAETANO (*Momordica charantia* L.) SOBRE OVOS E LARVAS DE NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS DE CAPRINOS".

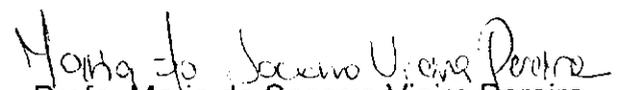
AUTORA: Luciana Nunes Cordeiro

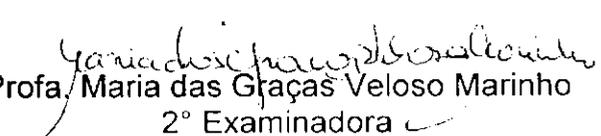
ORIENTADORA: Profa. Drá. Ana Célia Rodrigues Athayde

JULGAMENTO

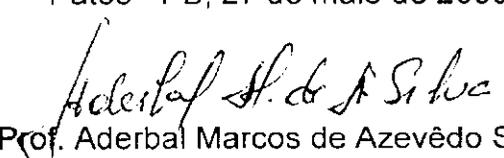
CONCEITO: APROVADA


Profa. Ana Célia Rodrigues Athayde
Presidente


Profa. Maria do Socorro Vieira Pereira
1º Examinadora


Profa. Maria das Graças Veloso Marinho
2º Examinadora

Patos - PB, 27 de maio de 2008


Prof. Aderbal Marcos de Azevêdo Silva
Coordenador

DEDICO

À minha mãe, pelo seu espírito visionário e sua infinita capacidade de amar e alegrar a todos que estão ao seu lado.

AGRADECIMENTOS

A Deus, misericordioso e bom, sempre me acenando que é possível melhorar.

A imensa compreensão da minha orientadora Profa. Ana Célia Rodrigues Athayde, permitindo que eu aspirasse um pouco do seu conhecimento, durante a realização deste trabalho.

Aos colegas de experimento Werlaneide Silva, Maurício Machado e Vinícius Vilela pelo companheirismo e estímulo nas horas mais difíceis.

Ao Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais da Universidade Regional do Cariri – URCA pelas análises fitoquímicas dos extratos.

Aos Professores Onaldo Guedes e Graça Marinho pela amizade, ensinamentos e força positiva para continuar na batalha.

Ao Professor Aderbal Azevedo, pela paciência durante as análises estatísticas.

Ao meu pai e irmãos, pelo amor e carinho diário e estímulo a buscar sempre o melhor.

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE TABELAS	i
LISTA DE FIGURAS	ii
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
CAPÍTULO 1	11
1 INTRODUÇÃO	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 A Caprinocultura e a Resistência Anti-Helmíntica	13
2.2 Alternativas para o Controle da Verminose Caprina	16
2.2.1 <i>Solanum paniculatum</i> L.	21
2.2.2 <i>Momordica charantia</i> L.	24
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
CAPÍTULO 2: Efeito <i>in vitro</i> do extrato etanólico das folhas do Melão-de-São-Caetano (<i>Momordica charantia</i> L.) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos.	31
RESUMO	31
ABSTRACT	32
1 INTRODUÇÃO	33
2 MATERIAL E MÉTODOS	35
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4 CONCLUSÃO	44
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
CAPÍTULO 3: Efeito <i>in vitro</i> do extrato etanólico da raiz de Jurubeba (<i>Solanum paniculatum</i> L.) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos.	47
RESUMO	47
ABSTRACT	48
1 INTRODUÇÃO	49
2 MATERIAL E MÉTODOS	51
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
4 CONCLUSÃO	62
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1	Sinopse de plantas conhecidas como medicinais no município de Patos-PB.....	20
----------	---	----

Capítulo 2

Tabela 1	Valores de médias do desenvolvimento de ovos e larvas de nematóides gastrintestinais submetidos a diferentes diluições de extrato etanólico de <i>M. charantia</i> ao longo de 72 horas de experimento <i>in vitro</i>	39
Tabela 2	Influência do tempo de exposição ao extrato etanólico de <i>M. charantia</i> em relação a ação ovicida e larvicida.....	39
Tabela 3	Interação na ação do extrato etanólico de <i>M. charantia</i> entre diluições e o tempo de experimentação quanto ao desenvolvimento celular de ovos e larvas de nematóides gastrintestinais.....	41

Capítulo 3

Tabela 1	Valores de médias do desenvolvimento de ovos e larvas de nematóides gastrintestinais submetidos a diferentes diluições de extrato etanólico de <i>S. paniculatum</i> ao longo de 72 horas de experimento <i>in vitro</i>	57
Tabela 2	Influência do tempo de exposição ao extrato etanólico de <i>S. paniculatum</i> em relação a ação ovicida e larvicida.....	58

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

- Figura 1 Interação de fungo nematófago com ovo de *Ascaris lumbricoides*..... 17
- Figura 2 Flavonóides - grupos hidroxílicos/metoxilílicos/açúcares do esqueleto básico..... 22

Capítulo 2

- Figura 1 Coleta de fezes da ampola retal..... 36
- Figura 2 Larva imóvel, vista ao microscópio óptico, mostrando resíduos de extrato de *M. charantia* aderido ao seu corpo (seta vermelha)..... 39

Capítulo 3

- Figura 1 Raízes de jurubeba (*S. paniculatum*)..... 51
- Figura 2 Coleta de fezes da ampola retal..... 53
- Figura 3 Vista ao microscópio óptico da aderência do extrato etanólico de *S. paniculatum* as larvas de parasitos (tonalidade mais escura – seta vermelha)..... 58
- Figura 4 Larvas imóveis e totalmente distendidas, vista ao microscópio óptico, mostrando resíduos de extrato de jurubeba aderido ao seu corpo (seta vermelha)..... 59

CORDEIRO, Luciana Nunes. **Efeito *in vitro* de extratos etanólicos da raiz de Jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) e das folhas de Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos.** Patos, PB: UFCG, 2008. 64 p. (Dissertação – Mestrado em Zootecnia – Sistemas Agrossilvipastoris no Semi-Árido)

RESUMO

O controle tradicional dos nematóides gastrintestinais, através de anti-helmínticos sintéticos gera problemas como resistência, resíduos alimentares e ecotoxicidade, despertando a necessidade no desenvolvimento de novas alternativas para o controle da verminose caprina, seja interferindo na contaminação das pastagens, como controle biológico, seja no uso de plantas ou produtos botânicos para administrar aos animais. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* a ação de extratos etanólicos da raiz de Jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) e das folhas de Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos. As larvas foram obtidas de coproculturas e a recuperação de ovos foi feita em tamises, a partir de fezes de caprinos naturalmente infectados da mesorregião do Sertão Paraibano. O extrato foi utilizado nas diluições de 50; 25; 12; 6 e 3 % para ambos os testes e como controle positivo 0,2 mg.kg¹ de moxidectina e para testemunha, utilizou-se água destilada estéril. As placas foram examinadas ao microscópio óptico para contagem dos ovos em desenvolvimento e larvas móveis e imóveis, após 24 h, 48 h e 72 h de incubação. As diluições do extrato etanólico de *M. charantia* e os tratamentos testemunha e fármaco diferiram quanto ao número de ovos inviáveis e no teste de motilidade larval as diluições acima de 12 % apresentaram resultados significativos quanto ao número de larvas inviáveis. A ação de *S. paniculatum* sobre a eclosão dos ovos foi significativamente diferente nas diluições do extrato acima de 25 % e a motilidade larval foi afetada em 50 %. Nas condições ensaiadas a *M. charantia* e *S. paniculatum* expuseram um potencial terapêutico alternativo para o controle da verminose caprina, sendo necessários estudos futuros para identificar os constituintes nas folhas e raízes responsáveis pela atividade anti-helmíntica.

Palavras-chave: atividade anti-helmíntica, *Momordica charantia*, *Solanum paniculatum*.

CORDEIRO, Luciana Nunes. **Efectiveness *in vitro* of the etanolical extract of the roots of Jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) and of the leafs of Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) on the eggs and larvae of gastrointestinal nematodes of goats.** Patos, PB: UFCG, 2008. 64 p. (Dissertation – Magister Science in in Husbandry Science-agrosilvipastoral Systems in Semi-árid).

ABSTRACT

The experiment *in vitro* was realized to evaluate the action of the etanolical extract of the root of jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) and of the leafs of Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) on the eclosion of eggs and the agility of the larvae of gastrointestinal nematodes of goats. The nematode larvae were obtained from larvae culture and the eggs recuperation was done in sieves, from feces of naturally infected goats of the mesoregion of the sertão paraibano. The used extract on the concentrations of 50; 25; 12,5; 6,25 and 3,12 % to both tests and as positive control 0,2 mg.kg² of moxidectine and to the witness, it was used distilled sterile water. The plates were examined on the optical microscope, to the counting of the eggs in development, after 24h, 48h and 72h of incubation and to the counting of the movable and immovable larvae. In the testes conditions, there *S. paniculatum* and *M. charantia* can be a viable alternative to the control of the gastrointestinal nematodes, being necessary future studies to identify the constitution of the root and leafs that was responsible to the anthelmintic activity.

Key-words: Anthelmintic activity, *Momordica charantia*, *Solanum paniculatum*.

1 INTRODUÇÃO

A caprinocultura é uma atividade de grande importância socioeconômica mundial, mas, somente em alguns países esta atividade apresenta expressão econômica, sendo, na maioria dos casos, desenvolvida de forma empírica e extensiva, adotando baixos níveis de tecnologia e, conseqüentemente, apresentando baixas produtividade e rentabilidade.

No Nordeste brasileiro, a produção de caprinos e ovinos tem uma função social e econômica importante, especialmente para pequenos produtores rurais como fonte de renda e nutrição. Existem diversos fatores que limitam a produção desses animais, dentre eles, problemas nutricionais, de manejo e sanitários, especificamente as doenças parasitárias que são as maiores causadoras de altas mortalidades nos rebanhos.

Nos últimos 30 anos, o controle de infecções por nematóides gastrintestinais de ruminantes tem sido realizado exclusivamente pelo uso de anti-helmínticos sintéticos (benzimidazóis, avermectinas, imidazotiazóis e salicilanilídeos), os quais apresentam algumas desvantagens, como desenvolvimento de populações resistentes, altos custo, presença dos resíduos nos produtos de origem animal e ambiente, e redução da produção animal devido à baixa efetividade. No entanto, na situação extrema de subsistência das pequenas propriedades, onde os anti-helmínticos são ineficazes ou indisponíveis, mortalidade massiva de animais jovens é um componente trágico em países pobres.

Em outro extremo, o mau uso e ou uso intensivo de alguns anti-helmínticos sintéticos ou semi-sintéticos de baixa qualidade tem favorecido o desenvolvimento de uma múltipla resistência aos anti-helmínticos que podem conduzir a falhas no controle de parasitas em ruminantes. Estes contrastes indicam que a total confiança nos anti-helmínticos sintéticos pode representar dificuldades no manejo das infecções de parasitas gastrintestinais em pequenas propriedades, requerendo métodos alternativos no controle de helmintos.

Os anti-helmínticos derivados de plantas usadas para o tratamento de infecções parasitas em homens e animais podem oferecer uma alternativa para minimizar alguns destes problemas. Na busca por anti-helmínticos naturais, testes *in vitro* são utilizados como estudos preliminares de plantas, onde os extratos são diretamente colocados em contato com os ovos e larvas dos parasitas para avaliar o efeito na eclosão de ovos e no desenvolvimento larval.

O conhecimento sobre a epidemiologia dos parasitos e suas interações com os hospedeiros em um determinado ambiente e sistema produtivo são necessários para estabelecimento de um sistema de controle efetivo. A falta destas informações pode levar a

utilização inadequada de tratamentos anti-helmínticos, efetivando um rápido desenvolvimento de resistência e conseqüentemente o aumento de casos clínicos e perdas produtivas.

As análises fitoquímicas de plantas e experimentos controlados, associados com o conhecimento recente sobre estratégias no controle de parasitos, podem oferecer novas alternativas efetivas e economicamente viáveis para as doenças parasitárias. Portanto, os estudos fitoquímicos são imprescindíveis na avaliação de material botânico que será utilizado em novos experimentos (CHAGAS et al., 2008).

As principais vantagens dos estudos *in vitro* para testar as propriedades anti-helmínticas dessas plantas são o baixo custo, rapidez dos resultados e possibilidade de amplos *screenings* (GITHIORI & ATHANASIADOU & THAMSBORG, 2006).

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* a ação de extratos etanólicos da raiz de Jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) e das folhas de Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos, contribuindo com o estudo acerca de novas possibilidades para o controle das endoparasitoses.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A Caprinocultura e a Resistência Anti-Helmíntica

O Nordeste brasileiro é o maior pólo produtor de caprinos e ovinos deslançados do país, detendo 89% do rebanho total. O parasitismo por nematódeos gastrintestinais é um dos fatores limitantes desta atividade, pois causa diminuição na produção de carne, leite e elevada mortalidade no período chuvoso. Os prejuízos à caprinocultura nacional são mais evidentes na região Nordeste, onde a exploração desta espécie animal é mais intensa e de relevante importância social. As principais consequências das infecções por endoparasitas são retardo na produção, custos com tratamento profilático e curativo e em casos extremos, a morte dos animais. Enquanto nos países desenvolvidos os gastos devidos aos custos com controle são significativos, nos países em desenvolvimento as doenças parasitárias causam prejuízos pela diminuição na produção e na restrição à criação de animais com reduzida susceptibilidade as parasitoses, porém com baixas performances produtivas (MELO & BEVILAQUA, 2002; MOTA, CAMPOS & ARAUJO, 2003).

O parasitismo por nematóides gastrintestinais é uma das maiores causas da mortalidade de pequenos ruminantes, onde em áreas tropicais o número de animais infectados alcança mais de 95%, principalmente animais jovens e fêmeas em período peri-parturiente ou em lactação são mais sensíveis, sofrendo uma perda de peso de 6-12 kg por animal/ano, principalmente devido ao *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus* spp., resultando em mortalidade acima de 40%. Causam impactos nos sistemas de produção, elevando os custos de controle, especialmente em países em desenvolvimento, onde as fontes nutricionais disponíveis para os pequenos ruminantes nas pequenas propriedades são inadequadas e, conseqüentemente, a imunidade natural é comprometida, resultando em baixa produtividade e alta mortalidade (KNOX, TORRES-ACOSTA & AGUILAR-CABALLERO, 2006).

Até o presente momento o controle destes parasitos, tem sido feito quase exclusivamente com a utilização de fármacos, que atuam sobre a fase adulta do parasita no hospedeiro. O aparecimento de resistência a estas drogas, seu impacto ecotóxico e a presença de resíduos químicos detectados na carne e leite vem chamando a atenção para os seus efeitos indesejáveis (MOTA, BEVILAQUA & ARAUJO, 2000).

Em algumas áreas, o problema ocorre devido ao uso freqüente de anti-helmínticos químicos, especialmente nos trópicos e sub-trópicos, onde as condições ambientais são ideais para o desenvolvimento e transmissão de nematóides parasitas (KNOX, TORRES-ACOSTA & AGUILAR-CABALLERO, 2006). A eficácia das drogas anti-helmínticas tem emergido

por causa das linhagens de nematóides resistentes, reduzindo e ameaçando a produção de pequenos ruminantes em algumas regiões e colocando em perigo outras áreas de maior produção. (COSTA et al. 2006).

O desenvolvimento da resistência é uma consequência evolucionária do tratamento com drogas e a intensidade da seleção determina a rapidez com que ela se desenvolve. A baixa eficácia dos tratamentos com anti-helmínticos é o primeiro sinal do aparecimento de cepas resistentes (MELO et al. 1998).

Define-se como resistência anti-helmíntica o aumento do número de indivíduos em uma população, capazes de suportar doses de um composto químico que tenha comprovado ser letal à maioria de uma população normalmente sensível, da mesma espécie. O número de indivíduos resistentes numa população é o resultado de trocas na frequência gênica causada pelo cruzamento daqueles indivíduos que tenham sobrevivido a exposições da droga. A mais importante característica da resistência é hereditariedade (MELO & BEVILAQUA, 2002).

Os traços da resistência são definidos como uma escolha que influencia a capacidade para controlar a infecção e pode ser avaliada usando os seguintes parâmetros: número de células na mucosa intestinal, contagem de ovos por grama, número de larvas de quarto e quinto estágio e números de machos e fêmeas, bem como seu comprimento. Por outro lado, a resistência é baseada na habilidade dos animais em suportar as consequências patogênicas de uma infecção endoparasita, a qual pode ser avaliada observando o volume das células vermelhas, hemoglobina, concentração média de albumina, taxa de consumo alimentar e crescimento (LOUVANDINI et al. 2006).

Três classes de modernos anti-helmínticos sintéticos são organizados, cada um tendo um diferente mecanismo de ação: grupo 1, os benzimidazóis (albendazol) e pró-benzimidazóis, que desfaz β -tubulina; grupo 2, os imidotiazóis e/ou tetrahidropirimidinas (levamisol) que age nos receptores para a acetilcolina (Ach); e grupo 3, as lactonas macrocíclicas (ivermectina) que abre os canais glutamato-porta e cloreto. A resistência aos três maiores grupos de anti-helmínticos é comum, principalmente em espécies como *Haemonchus contortus*, *Teladorsagia circumcincta* e *Trichostrongylus* spp. (STEPEK et al. 2004; GILLEARD, 2006).

O conhecimento da resistência aos bezimidazóis é mais avançado do que para muitas outras classes de anti-helmínticos e é geralmente aceito que mutações no gene isotipo-1 β -tubulina são os maiores determinantes da resistência em muitas espécies de nematóides parasitas. Entretanto, o mecanismo é mais complexo e outros loci podem estar envolvidos. O conhecimento da resistência aos tetrahidropirimidinas/imidazotiazóis e lactonas macrocíclicas

é menos avançado e embora vários genes estejam envolvidos como contribuintes para resistência, sua importância relativa não é conhecida. Ainda não está claro como os alelos da resistência são ativados, selecionados e difundidos nas populações de parasitos (GILLEARD, 2006).

O primeiro relato de resistência a anti-helmínticos utilizados atualmente em nematóides gastrintestinais de ovinos no mundo foi com o tiabendazol. Este problema disseminou-se pelo mundo inteiro, geralmente em áreas com verões chuvosos e onde o parasito do abomaso *Haemonchus contortus* é endêmico, principalmente, a Austrália, África do Sul e América do Sul. No Brasil, o primeiro relato de resistência a anti-helmínticos benzimidazóis ocorreu no Rio Grande do Sul, onde 97% das propriedades apresentaram resistência anti-helmíntica. No nordeste brasileiro, a resistência em nematóides de caprinos foi relatada no semi-árido pernambucano aos anti-helmínticos levamisol, albendazol e parbendazol, no estado da Bahia ao albendazol e ivermectina. No Ceará, a literatura cita relatos de resistência em caprinos utilizando o oxfendazol e levamisol (MELO & BEVILAQUA, 2002).

Os principais fatores que levam a uma maior ou menor disseminação da resistência são operacionais, genéticos, biológicos e ecológicos. A não observância na posologia (dose vezes a frequência de administração) correta, frequência de tratamentos e rotação rápida de princípio ativo, são alguns exemplos de fatores operacionais. É importante conhecer os detalhes destes mecanismos para designar e implementar os esquemas no controle de parasitas, de forma a minimizar o desenvolvimento da resistência e manter o uso estável das drogas disponíveis. O problema torna-se cada vez mais sério com o desenvolvimento de isolados multi-resistentes em pequenos ruminantes (SAMSON-HIMMELSTJERNA, 2006).

O conhecimento sobre a epidemiologia dos parasitos e suas interações com os hospedeiros em um determinado ambiente e sistema produtivo são requisitos importantes para um sistema de controle efetivo. A falta destas informações pode levar a utilização inadequada de tratamentos anti-helmínticos, associadas ao desenvolvimento de resistência com aumentos de casos clínicos e perdas produtivas. Os programas de controle eficientes baseiam-se em informações sobre a disponibilidade de larvas no ambiente, detecção de fontes de infecção, conhecimento sobre as exigências climáticas para eclosão de ovos e viabilidade larvar. Medidas preventivas baseadas nestas informações diminuem a frequência de tratamentos químicos e associadas ao controle alternativo podem reduzir a dependência dos anti-helmínticos (MOTA, CAMPOS & ARAUJO, 2003).

Os problemas relacionados à resistência e ecotoxicidade enfatizam a necessidade de programas integrados no controle parasitário, que assegurem saúde e segurança dos organismos vivos, por meio de tratamentos estratégicos baseados na epidemiologia, eliminação de vermifugações desnecessárias, utilização de pastoreio alternado e higienização de pastagens. Os consumidores atuais preferem produtos de criações com mínima intervenção química, especialmente aqueles que possivelmente apresentam efeitos nocivos ao ambiente. (COSTA et al. 2006; KNOX, TORRES-ACOSTA & AGUILAR-CABALLERO, 2006).

Por estas razões, alternativas para controle quimioterapêutico de nematóides parasitas gastrointestinais de pequenos ruminantes estão aumentando em importância através do *screening* de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica. As plantas são conhecidas por fornecerem anti-helmínticos de várias fontes botânicas, as quais têm sido utilizadas para tratar infecções em homens e animais, diminuindo a emissão de resíduos químicos no ambiente e na rede trófica (IQBAL et al. 2005).

2.2 Alternativas para o Controle da Verminose Caprina

Os caprinos são considerados, dentre os ruminantes domésticos, como os animais mais susceptíveis aos nematóides gastrintestinais, gerando um grande risco problema sanitário e econômico na produção de caprinos. Os animais jovens são os mais afetados, pois ainda não adquiriram resistência imunológica aos parasitos. As pastagens contaminadas constituem um importante elemento epidemiológico, sendo o principal veículo de transmissão de larvas infectantes para os animais. O controle tradicional por meio de anti-helmínticos sintéticos gera problemas já conhecidos, como resistência, resíduos alimentares e ecotoxicidade, despertando a necessidade no desenvolvimento de novas alternativas para o controle da verminose caprina, seja interferindo na contaminação das pastagens, como controle biológico, seja no uso de plantas ou produtos botânicos para administrar aos animais (ARAÚJO et al. 2006).

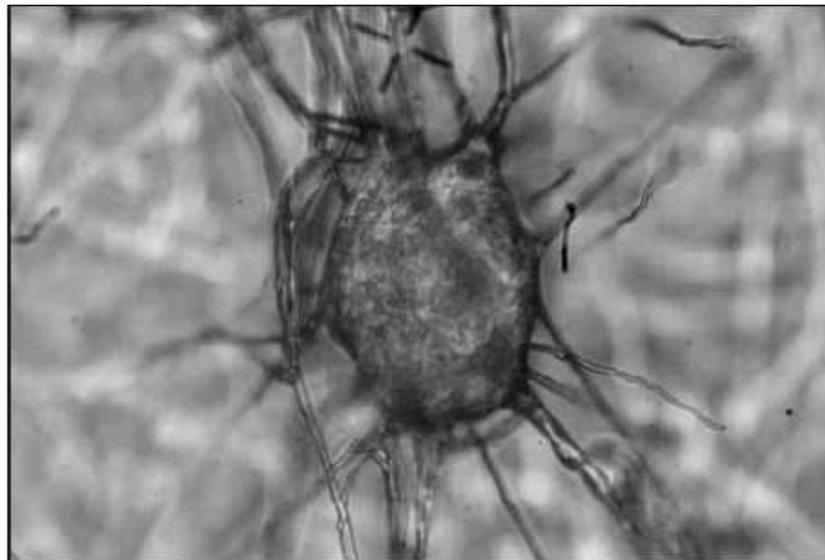
A utilização de fungos nematófagos parece ser altamente promissora para animais em pastejo que estão sendo constantemente infectados, predando nematóides por meio de hifas adesivas, comportando-se como antagonistas naturais de nematóides, promovendo a captura, a morte ou mesmo a sua destruição (CAMPOS et al. 2007).

Araújo et al. (2006), objetivando comprovar a capacidade de passagem do fungo *Duddingtonia flagrans* (isolado AC 001), a mais estudada no controle das helmintoses gastrintestinais de animais domésticos na Europa, através do trato gastrintestinal de caprinos sem perder a capacidade predatória no controle biológico de larvas infectantes de

Haemonchus contortus e *Strongiloides papillosus* de caprinos, obtendo resultados que indicam que o referido fungo pode ser usado no controle biológico dos nematóides avaliados.

Campos et al. (2007), avaliaram a viabilidade de uma formulação do fungo *Monacrosporium sinense* no controle de nematóides parasitos gastrintestinais de bovinos. Os péletes (20g) foram aplicados via oral, duas vezes por semana, durante seis meses, mostrando efetividade no biocontrole de nematóides gastrintestinais de bovinos.

Braga et al. (2007), avaliaram em diferentes intervalos a ação *in vitro* de isolados brasileiros de fungos nematófagos do gênero *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Verticillium chlamydosporium*, sobre ovos de *Ascaris lumbricoides*. Após sete, dez e quatorze dias de interação, o fungo promissor a ser utilizado no controle biológico de *A. lumbricoides* foi o *V. chlamydosporium* (26-30%). Os outros fungos não foram satisfatórios (Figura 1).



Adaptado: BRAGA, et. al. (2007).

Figura 1 – Interação de fungo nematófago com ovo de *Ascaris lumbricoides*.

Graminha et al. (2005), avaliaram, *in vitro* e *in vivo*, o fungo *Arthrobotrys musiformis*, administrado nas formas microencapsulado e in natura, após passagem pelo trato gastrintestinal de ovinos. O resultado do teste *in vitro* confirmou a viabilidade de *A. musiformis* (95,5%), mesmo após a passagem pelo trato gastrintestinal. Na avaliação *in vivo*, não houve diferença estatística entre o número de ovos por grama de fezes dos grupos tratados e controle, Embora os resultados não sejam conclusivos, *A. musiformis* mostrou-se promissor agente no biocontrole de nematóides parasitos gastrintestinais.

Araújo et al. (2007), avaliaram a viabilidade do fungo nematófago *Monacrosporium thaumasium*, no controle de larvas infectantes de nematóides gastrintestinais de caprinos em

campo, no Semi-Árido cearense. O grupo de animais que recebeu o tratamento com o fungo uma vez por semana apresentou redução no número de ovos por grama de fezes, menor carga parasitária e maior ganho de peso, em relação aos animais dos demais grupos, mostrando-se eficiente no controle de larvas infectantes nas pastagens, podendo ser utilizado no controle e profilaxia de nematóides gastrintestinais de caprinos, em doses semanais de 2 a 2,5 g de micélio.

De acordo com a estimativa atual pela Organização Mundial de Saúde, em muitos países desenvolvidos uma grande porção da população faz uso de remédios da medicina tradicional, especialmente as plantas medicinais. Embora um acesso fácil à medicina moderna esteja disponível nesses países, o uso de plantas medicinais mantém sua popularidade por razões culturais e históricas. Por outro lado, nos países em desenvolvimento 65-80% da população depende exclusivamente das plantas medicinais para os cuidados básicos em saúde (AGRA, FREITAS & BARBOSA-FILHO, 2007).

Na Ásia, America Latina, África e Índia o intensivo uso de plantas medicinais como principal forma de medicação, devido as suas propriedades farmacológicas é uma atividade comum (SCHMOURLO et al. 2005). No Brasil, a exploração de recursos genéticos de plantas medicinais está relacionada, em grande parte, à coleta extensiva e extrativa do material silvestre. Apesar do volume considerável de exploração das várias espécies medicinais na forma bruta ou de seus subprodutos, as pesquisas básicas ainda são incipientes. A população brasileira, de um modo geral, guarda um saber significativo a respeito de métodos alternativos de cura das doenças mais frequentes. As comunidades tradicionais possuem uma bagagem maior sobre o assunto, porém sofre ameaça constante devido à influência direta da medicina ocidental moderna e pelo desinteresse dos jovens da comunidade, interrompendo assim o processo de transmissão do saber entre as gerações (FRANCO & BARROS, 2006).

A exploração de recursos genéticos de plantas medicinais no Brasil está relacionada, em grande parte, à coleta extensiva e extrativa do material silvestre. Apesar do volume considerável da exportação de várias espécies medicinais na forma bruta ou de seus subprodutos, pouquíssimas espécies chegaram ao nível de ser cultivadas, mesmo em pequena escala. O fato torna-se mais marcante quando consideramos as espécies nativas, cujas pesquisas básicas ainda são incipientes (RODRIGUES & CARVALHO, 2001).

O estudo do uso tradicional das plantas e seus produtos na região nordeste do Brasil tem sido gradualmente melhorado durante os últimos anos com um número significativo de publicações nesta área. A investigação etnomedicinal das plantas conhecida como medicinal e/ou tóxico mostrou um total de 483 espécies entre 79 famílias. Destas 466 espécies

correspondem a cerca de 96.5% registradas pelo seu uso medicinal, oito como ambas medicinal e tóxica e 27 somente como tóxica (AGRA, FREITAS & BARBOSA-FILHO, 2007).

Marinho et al. (2007), realizaram um levantamento no município de Patos-Paraíba, no período de março a maio de 2004, com o objetivo de resgatar e preservar o conhecimento popular do uso de plantas medicinais, formas de uso e propriedades de cura, nos tratamentos de enfermidades nos animais domésticos, observaram que 61 plantas medicinais foram citadas com variadas indicações terapêuticas, sendo enfatizado que o uso destas plantas na medicina veterinária é uma alternativa de tratamento viável, segura, de fácil obtenção e baixo custo em relação aos produtos da indústria farmacêutica que, causam efeitos indesejáveis e são de custo elevado (Tabela 1).

Almeida et al. (2007), avaliaram a eficácia de plantas, *in natura*, do Melão-de-São-Caetano, da batata de purga e de sementes de abóbora sobre infecções helmínticas em caprinos naturalmente infectados e observaram redução no número de ovos por grama de fezes, sinalizando como uma alternativa viável para o controle das infecções anti-helmínticas.

Rodrigues et al. (2007), verificaram a sensibilidade de nematóides gastrintestinais de caprinos a ação de compostos anti-helmínticos, convencionais (moxidectina 0,2%, albendazole, cloridrato de levamisol e ivermectina) e alternativos (extrato aquoso de batata de purga), sobre animais do semi-árido paraibano. Os resultados indicaram que os nematóides gastrintestinais da mesorregião do Sertão Paraibano não são efetivamente sensíveis à ação dos anti-helmínticos moxidectina, albendazol, ivermectina e extrato aquoso de batata de purga, e que são moderadamente sensíveis ao cloridrato de levamisol.

Santos (2007) realizou no sertão paraibano um estudo fitoterápico do farelo de jurubeba e da associação da jurubeba e batata de purga sobre ovinos naturalmente infectados por nematóides gastrintestinais. Os resultados reforçam que os animais tratados com as plantas avaliadas não apresentaram nenhuma disfunção clínica, indicando a utilização como medida alternativa para o controle de helmintos gastrintestinais de ovinos.

A medicina baseada em plantas, derivada de regiões com ampla diversidade biológica, apresenta-se como uma alternativa de cura, menos agressiva e viável para os animais e a maioria da população brasileira. Os gêneros *Solanum* e *Momordica* destacam-se na região do semi-árido paraibano na medicina popular, pelo baixo custo e fácil obtenção.

Tabela 1 - Sinopse de plantas conhecidas como medicinais no município de Patos-PB.

Nome Popular	Nome Científico	Indicação	Parte utilizada	Forma de uso
Alfazema brava	<i>Hyptis suaveolens</i>	Diarréia	Folhas e flores	Chá
Algaroba	<i>Prosopis juriflora</i>	Doenças do coração	Vagem	Maceração
Alho	<i>Allium sativum</i>	Mastite; picada de inseto e cobra, vermífugo	Bulbo	Chá Bulbo amassado
Babosa	<i>Aloe vera</i>	Cicatrizante; anti-cancerígeno; vermífugo; carrapaticida; sarnicida; anti-pulga; repelente; retenção de placenta; bicheira; enterite	Folha; polpa	Sumo; decocção
Batata de purga	<i>Operculina alata</i>	Vermífugo; sarnicida;	Tubérculo	Maceração; em pó
Cabeça de nego	<i>Wilbrandia sp</i>	Tosse	Raiz	Decocção
Carrapateira	<i>Ricinus communis</i>	Catarro em equinos	Semente	Óleo (tópico)
Castanha de cajú	<i>Anacardium occidentale</i>	Intoxicações por plantas ou picada de inseto	Castanha	Trituradas
Catingueira	<i>Caesalpinia pyramidalis</i>	Diarréia	Casca	Maceração
Feijão bravo	<i>Capparis flexuosa</i>	Intoxicação por salsa	Folhas e casca	Infusão; chá
Goiabeira	<i>Psidium guayava</i>	Diarréia	Brotos	chá
Hortelã da folha grossa	<i>Plectranthus amboinicus</i>	Tosse	Folhas	Lambedor
Hortelã da folha miúda	<i>Mentha villosa</i>	Ameba; giárdia	Folha	Lambedor
Jerimun	<i>Cucurbita pepo</i>	Vermífugo	Semente	Triturada
Juazeiro	<i>Zizyphus joazeiro</i>	Anti-caspa; sarnicida; cicatrizante	Raspa da entrecasca	Maceração
Jurema preta	<i>Mimosa tenuiflora</i>	Cicatrizante e antibiótico	Casca	Decocção e chá
Jurubeba	<i>Solanum paniculatum</i>	Hepatite; cirrose; ascite	Fruto; raiz	Maceração
Macela	<i>Egletes viscosa</i>	Problemas intestinais	Sementes	Chá
Mastruz	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	Tosse; cicatrizante; anti-inflamatório; calcificação de fraturas; traumatismo	Folha e caule	Sumo (tópico e uso oral) maceração
Melão de São Caetano	<i>Momordica charantia</i>	Prurido; ectoparasitos	Fruto; caule; folhas	Sumo; maceração
Pau de serrote		Retenção de placenta	Raspa de entrecasca	Maceração
Pereiro	<i>Aspidosperma pirifolium</i>	Ectoparasitos	cacas	Maceração
Pinheira	<i>Annona squamosa</i>	Sarnicida	Folha	Maceração
Saião	<i>Kalanchoe brasiliensis</i>	Antiinflamatório das vias respiratórias	folha	Sumo; chá
Salsa	<i>Ipomoea asarifolia</i>	Prurido	Caule; folhas	Decocção
Sena	<i>Senna alexandrina</i>	Aftosa; brilho nos pelos	Casca; toda a planta	Decocção; maceração
Tamarindo	<i>Tamarindus indica</i>	Laxante; antiinflamatório	Fruto	Chá

Fonte: Adaptado de Marinho et. al. (2007).

2.2.1 *Solanum paniculatum* L.

O gênero *Solanum* é considerado um dos maiores e mais complexos entre as Angiospermas. Compreende cerca de 1500 espécies e tem pelo menos 5000 epítetos publicados. É bem representado no Brasil, amplamente distribuído do norte ao sul, em vários tipos de ecossistemas. No Nordeste brasileiro, é representado por 80 espécies, incluindo 32 que são endêmicas ao Brasil e 20 que são endêmicas a região Nordeste, amplamente usado na medicina popular, destacando-se como planta invasora, ocupando os mais diversos tipos de ambientes, desde lavouras a terrenos baldios e margens de rodovias. À semelhança do que ocorre com outras invasoras, caracteriza-se por apresentar capacidade de colonização rápida de ambientes abertos (inclusive por ação antrópica) e reprodução predominantemente autogâmica, o que lhe confere alta uniformidade genética em nível populacional (ASSUNÇÃO et al. 2006; SILVA et al. 2007).

Solanum paniculatum L. (Solanaceae), conhecida popularmente como Jurubeba é uma espécie vegetal do tipo arbusto ereto, 1,5-1,7m de altura, caule e ramos com acúleos cônicos, folhas alternas, lâmina largo-ovóide ou lanceolada, inflorescências ramificadas, multiflores, flores com pétalas estrelada-retácea, alva ou lilás e fruto tipo baga. Amplamente utilizada pela medicina tradicional como tônico, antitérmico, tratamento de disfunções gástricas. Suas raízes e frutos são popularmente recomendados como um purgante, para tratar icterícia, hepatite e distúrbios intestinais. A planta é um componente de várias formulações farmacêuticas incluindo: xaropes, infusões ou decocções (2%), extratos etanólicos, tinturas e elixir. A infusão de flores (0.3%) é indicada para bronquite e tosse; as raízes maceradas (6%) para artrite e que dos frutos (16%) para anemia. A decocção das folhas é empregada para tratar parasitas intestinais, mas também indicada para desordens estomacais (MESIA-VELA et al. 2002; BOTION et al. 2005).

Este gênero produz uma grande variedade de esteróides saponinas e glicoalcalóides que são importantes na defesa natural das plantas como metabólitos secundários. Além de alcalóides, os flavonóides constituem um dos grupos de substâncias mais freqüentes. O número de trabalhos de sistemática química sobre o gênero *Solanum* é relativamente reduzido, aparentemente devido às dificuldades de se trabalhar com um gênero com grande plasticidade morfológica. Porém, dados químicos baseados nos padrões flavonoídicos contribuíram para uma compreensão sistemática dos táxons nos níveis mais baixos de classificação na família (SILVA et al. 2003).

A literatura relata um perfil químico de *Solanum* com base na freqüência de flavonóides (Figura 2). Os padrões de oxidação dos flavonóides têm muito a contribuir,

ajudando a entender a sistemática dos táxons na família, mas este grande potencial ainda não foi explorado. Entre os poucos estudos realizados com os flavonóides de *Solanum*, constam a análise de espécies selecionadas de batata, 12 espécies da seção *Androceras*, 11 espécies da seção *Solanum*, 22 espécies da seção *Basarthurum*, 3 espécies da seção *Erithrotrichum*, 1 espécie da seção *Micracantum* e 1 espécie da seção *Lasiocarpa* (SILVA et al. 2003).

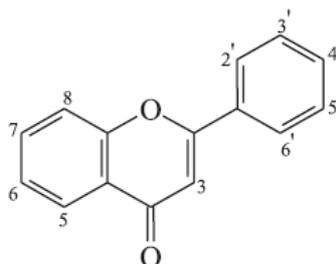


Figura 2: Flavonóides - grupos hidroxílicos/metoxilílicos/açúcares do esqueleto básico.

A presença de esteróides alcalóides solasodina, o qual é potencialmente um importante material para a síntese de hormônios esteróides, é característico do gênero *Solanum* (SILVA et al., 2007). Países como a antiga URSS e Hungria, durante anos, utilizaram a solasodina, extraída do *Solanum laciniatum* como única fonte de progesterona e cortisona (MOLA & ARAUJO & MAGALHÃES, 1997).

Os glicoalcalóides têm sido detectados em mais 350 espécies de plantas – a maioria *Solanum spp.* ou outros membros da família Solanaceae. Mais de 75 ocorrem naturalmente estruturas aglicona (alcaminas) que são conhecidas, tendo como base um esqueleto colestane C27, com anel ou grupos adicionais de nitrogênio, os quais fornecem a base de algumas atividades biológicas. A presença de um oligossacarídeo torna a molécula anfipática. Muitos glicoalcalóides exibem dois principais tipos de atividade biológica que reflete sua “dupla” natureza química: uma atividade anti-acetilcolinesterase, remanescente de alguns alcalóides, e propriedades típicas de membrana, semelhante a algumas saponinas (SILVA et al. 2005).

Muitos compostos esteróides têm sido isolados destas espécies. Estes alcalóides incluem jurubebina, jubebina, e solanina; e as resinas jupebina e jupebenina. Frutose, glicose e galactose foram detectadas nos frutos e solaninas foram isoladas das raízes e caules. As saponinas foram identificadas também nas raízes destas espécies como isojuripidina, isojurubidina, isopaniculidina e jurubidina, a qual é um esteróide de açúcar livre, obtido via hidrólise ácida do glicosídeo jurubina, também isolado das raízes de *S. paniculatum* (MESIAVELA et al. 2002).

Muitos flavonóis (3-oxiflavonas) glicosilados descritos como bioprodutos de espécies deste gênero são geralmente derivados do kanferol (3,5,7,4'-tetraidroxiflavona) e quercetina (3,5,7,3',4'-pentaidroxiflavona), o mesmo ocorrendo também com os derivados metilados e acilados. Substâncias derivadas da isoramnetina (3,5,7,4'-tetraidroxi-3'-metoxiflavona) e miricetina (3,5,7,3',4',5'-hexaidroxiflavona) são mais restritos. A glicose e a rarnose aparecem como os carboidratos mais freqüentes, podendo-se considerar a galactose, a arabinose e a xilose como de ocorrência relativamente rara. A única flavona glicosilada encontrada até o presente é derivada da luteolina (5,7,3',4'-tetraidroxiflavona). No gênero *Solanum*, particularmente, destaca-se a excepcional capacidade de suas espécies produzirem 3-O-glicosidioflavonóis e um número significativo de kanferol, quercetina e miricetina metilados como agliconas, muitos dos quais apresentam 8-hidroxilação/glicosilação (SILVA et al. 2003).

O acúmulo de flavonóides não glicosilados está relacionado com a existência de estruturas secretoras, como também à formação de outros tipos de produtos naturais lipofílicos. Assim, os flavonóides provenientes dos exsudatos das plantas têm sido encontrados em grupos taxonômicos distintos, em diferentes níveis hierárquicos, família, gênero e táxons infragenéricos. Na família Solanaceae a presença de flavonóides livres foi encontrada em partes aéreas de espécies pertencentes aos gêneros *Nicotiana*, *Browallia*, *Chamaesaracha*, *Petunia*, *Salpiglossis*, *Lycopersicum* e *Solanum* (SILVA et al. 2003).

A Ierobina® é um produto fitofarmacêutico brasileiro indicado para o tratamento da dispepsia. A formulação contém os extratos hidro-etanólicos de *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae), *Remijia ferruginea* D. C. (Rubiaceae), *Jacaranda caroba* D. C. (Bignoniaceae) e *Erythraea centarium* (L.) Borkh. (Gentianaceae), com exceção desta última, as plantas ocorrem no Brasil e são popularmente empregadas para tratar diferentes doenças, dentre as quais a dispepsia. No entanto, relatos de sua atividade biológica são escassos. Os estudos fornecem evidências e apóiam o uso da Ierobina® no tratamento da dispepsia. Entretanto, mais estudos são necessários para identificar os compostos responsáveis pela ação anti-dispépica da Ierobina® (BOTION et al. 2005).

A composição química de *S. paniculatum* esta longe de ser compreendida e muitas substâncias tem sido isoladas da planta, por exemplo, alcalóides estão em alta quantidade nas raízes (0.98%) dos que no caule (0.28%) e poucos são encontrados nas folhas (0.20%). Dessa forma a atividade farmacológica de *S. paniculatum* pode ser atribuída aos alcalóides esteróides, mas o isolamento destes componentes, e análises químicas para identificação e

determinação do seu mecanismo de ação *in vitro* ainda está em estudo (MESIA-VELA et al. 2002).

2.2.2 *Momordica charantia* L.

Historicamente, *Cucurbitaceae*, é uma das mais importantes famílias de plantas utilizadas para a produção de alimentos, fibras e fitoterápicos. Entretanto, para cucurbitáceas ruderais, aparentemente não há cultivo sistematizado e a demanda parece ser suprida pelo processo de extrativismo e/ou manejo associado. *Momordica charantia* L., o popular Melão-de-São-Caetano, originalmente conhecido por seu uso na culinária e na medicina, é uma planta anual, herbácea, trepadeira, folhas membranáceas, fulvescentes e com flores unissexuais, sendo muito comum nas cercas do litoral e do interior do Brasil (LENZI, ORHT & GUERRA, 2005).

A origem de *M. charantia* é provavelmente Índia com centro secundário de diversidade na China. Esta espécie foi domesticada na Ásia, possivelmente no Oeste da Índia ou Sudeste da China. A Índia esta dotada com ampla diversidade genética baseada em caracteres morfológicos (local de crescimento, maturidade e vários caracteres de frutos incluindo forma, peso, cor e textura superficial). Dois tipos de cultivares crescem no Nordeste da Índia e nove tipos no Sudeste da Índia. Hoje, cultivares indianos, primariamente duas variedades de *M. charantia* var. *charantia*, com grande produção de frutos fusiformes e var. *muricata* (selvagem) com frutos pequenos e circulares. A diversidade genética entre indivíduos ou populações pode ser determinada usando marcadores morfológicos e moleculares. Os caracteres fenotípicos podem ser limitados e influenciados por fatores ambientais e pelo estágio de desenvolvimento da planta. Em contraste, os marcadores moleculares, baseados em polimorfismos na seqüência de DNA, são independentes das condições ambientais e apresentam elevados níveis de polimorfismo (DEY et al. 2006).

Em países em desenvolvimento, 80% das pessoas continua utilizando a medicina tradicional nos problemas básicos de saúde. Nas últimas décadas, no entanto, pesquisas objetivaram a avaliação científica de drogas tradicionais originadas das plantas. *M. charantia*, é uma dessas plantas que tem sido comumente utilizada na medicina tradicional. Cresce em regiões tropicais da Ásia, Amazônia, oeste da África e Caribe. Utilizada na medicina tradicional de países como Brasil, China, Colômbia, Cuba, Gana, Haiti, Índia, México, Malásia, Nova Zelândia, Nicarágua, Panamá e Peru, principalmente para diabetes, como abortivo e no tratamento de cólicas. Tópicamente é utilizada para curar ferimentos, internamente e externamente para manejo de parasitas. Usado também como emenagogo,

antiviral para sarampo e hepatite. Baseado no uso na medicina popular, as pesquisas objetivando comprovar a eficácia de *M. charantia*, utilizando técnicas modernas, obteve como resultados ação anti-diabetes, antiviral, anti-tumoral, anti-leucêmica, antibacteriana, anti-helmíntica, anti-mutagênica, antimicobacteriana, antioxidante, anti-úlceras, anti-inflamatória, hipocolesterolêmica, hipotrigliceridêmica, hipotensiva, imunoestimulante e propriedades inseticidas (BELOIN et al. 2005; LEITE, NUNES-PINHEIRO & CAMPELLO, 2005).

M. charantia contém biologicamente químicos ativos que incluem glicosídeos, saponinas, alcalóides, óleos não voláteis, triterpenos, proteínas e esteróides. Os frutos imaturos são uma boa fonte de vitamina C e também fornecem vitamina A, fósforo e ferro. Vários fitoquímicos como as momorcharinas, momordenol, momordicilina, momordicinas, momordicinina, momordina, momordolol, charantina, charina, cryptoxantina, cucurbitinas, cucurbitacinas, cucurbitanes, cicloartenols, diosgenina, ácidos elaeostericos, eritrodiol, ácidos galacturônicos, ácido gentísico, goiaglicosídeos, goiasaponinas, multiflorenol, foram isolados. Os relatos afirmam que podem ser encontrados em qualquer parte da planta. Os químicos hipoglicêmicos de *M. charantia* são uma mistura de saponinas esteróides conhecidas como charantinas, peptídeos dependentes de insulina e alcalóides, os quais estão concentrados nos frutos, que apresentam pronunciada atividade hipoglicêmica/anti-hiperglicêmica. Proteínas inibidoras HIV como MRK29 e MAP30 e lectinas são documentadas. São relatados também a presença de inibidores de tripsina, elastase, ciclase guanilada e α -glicosidase como D-(+)-trealose (GROVER & YADAV, 2004).

Os frutos de *M. charantia*, é atualmente o mais utilizado na medicina tradicional para tratar diabetes e é uma das mais promissoras alternativas para a doença. Um pequeno número de componentes ativos, polipeptídeo-p e charantina (uma mistura de dois esteróides glicosídeos) têm sido identificados dos frutos e sementes. O estudo destes componentes, com suco puro, extratos etanólico e metanólico dos frutos, tem mostrado atividade hipoglicêmica via *in vitro* em animais e humanos. Embora, seja observado que *M. charantia* melhore a função do pâncreas, fígado e músculo esquelético, seguido da melhora na resistência a insulina, seu mecanismo não está bem definido e pouca atenção tem sido dada aos efeitos de *M. charantia* sobre a função do tecido adiposo e secreção de adipocitocina (ROFFEY et al. 2005).

A atividade anti-helmíntica das folhas de *M. charantia* apóia seu uso contra problemas gastrointestinais, os estudos sugerem que os glicosídeos triterpernos, bem como mormodocinas I e II sejam os principais agentes nematocidas (BELOIN et al. 2005).

Muitos componentes têm sido identificados em extratos de frutos de *M. charantia*, o suco demonstra ser um estimulador no armazenamento de glicogênio pelo fígado e secreção de insulina pelo isolamento das ilhotas de Langerhans. A atividade hipoglicêmica tem sido encontrada tanto em humanos normais como em diabéticos (tipo 1 e 2), sugerindo que os frutos mimetizam a ação da insulina em humanos (RAZA et al. 1996).

O efeito gastroprotetor de algumas plantas medicinais tem sido atribuído à presença de constituintes como: flavonóides, triterpenóides, taninos e esteróides. Extratos obtidos de frutos e de folhas de *M. charantia* quando administrados por via oral inibiram as lesões gástricas induzidas por etanol, conferindo gastroproteção. A presença de esteróides detectada em suas folhas tem sido relacionada ao seu potencial antioxidante (LEITE, NUNES-PINHEIRO & CAMPELLO, 2005).

O extrato aquoso de *Momordica charantia*, perde completamente sua atividade inibitória contra *Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans* após fracionamento. Esta atividade é provavelmente atribuída às proteínas, conhecidas por terem propriedades hiperglicêmicas, anti-tumor, anti-leucemia e antiviral, como as lectinas (MAP 30), peptídeos napin-like inativadores de ribossomos (charantina), inibidores de tripsina (mormocharina MCTI-I, II, III, e mormocharina) e inibidores de elastase (MCEI-I, -II, -III e -IV) presentes no extrato aquoso de *M. charantia* e perdido após a separação do precipitado do sobrenadante. Assim, se o extrato aquoso total apresenta atividade, essa atividade vem do precipitado, pois o sobrenadante não apresenta atividade (SCHMOURLO et al. 2005).

Prabakar & Jebanesan (2004), que estudaram a atividade larvicida do extrato das folhas de cinco curcubitáceas, dentre elas *M. charantia* sobre estágio L3 de *Culex quinquefasciatus*, vetor da filariose na Índia, resultando em mortalidade larval após 24 horas de exposição ao extrato, potencializando o uso de *M. charantia* como um promissor bioinseticida, apoiando os estudos *in vitro* para o desenvolvimento de novas formulações alternativas com plantas.

3 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, W. V. F.; SILVA, M. L. C. R.; FARIAS, E. B.; ATHAYDE, A. C. R.; SILVA, W. W. Avaliação de plantas medicinais em caprinos da região do semi-árido paraibano naturalmente infectados por nematóides gastrintestinais. **Caatinga** (Mossoró,Brasil), v.20, n.3, p.01-07, julho/setembro 2007.

AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 17(1): 114-140, Jan./Mar. 2007.

ARAUJO, J. V.; FREITAS, B. W.; VIEIRA, T. C.; CAMPOS, A. K. Avaliação do fungo predador de nematóides *Duddingtonia flagrans* sobre larvas infectantes de *Haemonchus contortus* e *Strongyloides papillosus* de caprinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, n. 2, p. 76-79. 2006.

ARAÚJO, J. V.; RODRIGUES, M. L. A.; SILVA, W. W.; VIEIRA, L. S. Controle biológico de nematóides gastrintestinais de caprinos em clima semi-árido pelo fungo *Monacrosporium thaumasium*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 8, p. 1177-1181, ago. 2007.

ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G. S. A.; AMORIM, E. P. R.; MUNIZ, M. F. S.; ENDRES, L. Ocorrência de *Curvularia lunata* em Jurubeba no estado de Alagoas. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 32, n. 4, p. 386-387, 2006.

BELOIN, N.; GBEASSOR, M.; AKPAGANA, K.; HUDSON, J.; SOUSSA, K.; KOU MAGLO, K.; ARNASON, J. T. Ethnomedicinal uses of *Mormodica charantia* (*Curcubitaceae*) in Togo and relation to its phytochemistry and biological activity. **Journal of Ethnopharmacology**. Vol. 29, p. 49-55. 2005.

BOTION, L.M.; FERREIRA, A. V. M.; CÔRTEZ, S. F.; LEMOSA, V. S.; BRAGA, F. C. Effects of the Brazilian phytopharmaceutical product Ierobina® on lipid metabolism and intestinal tonus. **Journal of Ethnopharmacology** 102, p. 137–142. 2005.

BRAGA, F. R.; ARAUJO, J. V.; CAMPOS, A. K.; CARVALHO, R. O.; SILVA, A. R.; TAVELA, A. O.; MACIEL, A. S. Observação *in vitro* da ação dos isolados fúngicos *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Verticillium chlamydosporium* sobre ovos de *Ascaris lumbricoides* (Lineu, 1758). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 3, p. 356-358, mai-jun. 2007.

CAMPOS, A. K.; ARAUJO, J. V.; ASSIS, R. C. L.; GANDRA, J. R.; GUIMARAES, M. P. Viabilidade de formulação peletizada do fungo nematófago *Monacrosporium sinense*, no controle biológico de nematóides parasitos gastrintestinais de bezerros. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 1, p. 14-20. 2007.

CHAGAS, A.C.S.; VIEIRA, L.S.; FREITAS, A.R.; ARAÚJO, M.R.A.; ARAÚJO-FILHO, J.A.; ARAGUÃO, W.R.; NAVARRO, A.M.C. Anthelmintic efficacy of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) and the homeopathic product Fator Vermes® in Morada Nova sheep. **Veterinary Parasitology**, Vol.151, p. 68–73. 2008.

- COSTA, C. T. C.; BEVILAQUA, C. M. L.; MACIEL, M. V.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; MORAIS, S. M.; MONTEIRO, M. V. B.; FARIAS, V. M.; SILVA, M. V.; SOUZA, M. M. C. Anthelmintic activity of *Azadirachta indica* A. Juss against sheep gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**. Vol. 137, p. 306-310. 2006.
- DEY, S. S.; SINGH, A. K.; CHANDEL, D.; BEHERA, T. K. Genetic diversity of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) genotypes revealed by RAPD markers and agronomic traits. **Scientia Horticulturae**. Vol. 109, p. 21-28. 2006.
- FRANCO, E.A.P.; BARROS, R.F.M. Uso e diversidade de plantas medicinais no Quilombo Olho D'água dos Pires, Esperantina, Piauí. **Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu**, v.8, n.3, p.78-88, 2006.
- GILLEARD, J. S. Understanding anthelmintic resistance: The need for genomics and genetics. **International Journal for Parasitology**. Vol. 36, p. 1227-1239. 2006.
- GITHIORI, J. B.; ATHANASIADOU, S.; THAMSBORG, S. M. Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminths in livestock with emphasis on small ruminants. **Veterinary Parasitology**. Vol.139, p. 308-320. 2006.
- GRAMINHA, E. B. N.; MONTEIRO, A. C.; SILVA, H. C.; OLIVEIRA, G. P.; COSTA, A. J. Controle de nematóides parasitos gastrintestinais por *Arthrobotrys musiformis* em ovinos naturalmente infestados mantidos em pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 9, p. 927-933. Set. 2005.
- GROVER, J. K. & YADAV, S. P. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. **Journal of Ethnopharmacology**. Vol. 93, p. 123-132. 2004.
- IQBAL, Z.; LATEEF, M.; JABBAR, A.; MUHAMMAD, G.; KHAN, M. N. Anthelmintic activity of *Calotropis procera* (Ait.) Ait. F. flowers in sheep. **Journal of Ethnopharmacology**. Vol. 102, p. 256-261. 2005.
- KNOX, M. R.; TORRES-ACOSTA, J. F. J.; AGUILAR-CABALLERO, A. J. Exploiting the effect of dietary supplementation of small ruminants on resilience and resistance against gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**. Vol. 139, p. 385-393. 2006.
- LEITE, K. L.; NUNES-PINHEIRO, D. C. S.; CAMPELLO, C. C. Efeito gastroprotetor do extrato hexânico de partes aéreas de *Momordica charantia*. **Ciência Animal**, 15(1):15-20, 2005.
- LENZI, M.; ORTH, A. I.; GUERRA, T. M. Ecologia da polinização de *Momordica charantia* L. (*Cucurbitaceae*), em Florianópolis, SC, Brasil. **Revista Brasil. Bot.**, V.28, n.3, p.505-313, jul.-set. 2005.
- LOUVANDINI, H.; VELOSO, C. F. M.; PALUDO, G. R.; DELL'PORTO, A.; GENNARI, S. M.; McMANUS, C. M. Influence of protein supplementation on the resistance and resilience on Young hair sheep naturally infected with gastrointestinal nematodes during rainy and dry seasons. **Veterinary Parasitology**. Vol. 137, p. 103-111. 2006.

MARINHO, M. L.; ALVES, M. S.; RODRIGUES, M. L. C.; ROTONDANO, T. E. F.; VIDAL, L. F.; SILVA, W. W.; ATHAYDE, A. C. R. A utilização de plantas medicinais em medicina veterinária: um resgate do saber popular. *Rev. Bras. Pl. Med.* Botucatu, v. 9, n.3, p. 64-69, 2007.

MELO, A. C. F. L.; BEVILAQUA, C. M. L.; SELAIVE, V.; GIRÃO, M. D. Resistência a anti-helmínticos em nematóides gastrintestinais de ovinos e caprinos, no município de Pentecoste, estado do Ceará. *Ciência Animal*. 8(1):7-11. 1998.

MELO, A. C. F. L. & BEVILAQUA, C. M. L. Resistência anti-helmíntica em nematóides de pequenos ruminantes: uma revisão. *Ciência Animal*, 12(1):35-45, 2002.

MESIA-VELA, S.; SANTOS, M. T.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; LAPA, A. J. *Solanum paniculatum* L. (Jurubeba): Potent inhibitor of gastric acid secretion in mice. *Phytomedicine* 9: 508–514, 2002.

MOLA, J. L.; ARAUJO, E. R.; MAGALHÃES, G. C. Solasodina em espécies de *Solanum* do cerrado do Distrito Federal. *Química Nova*. 20(5). p. 460-462.1997.

MOTA, M. A.; BEVILAQUA, C. M. L.; ARAÚJO, J. V. Atividade predatória dos fungos *Arthrobotrys conoides* e *Monacrosporium thaumasium* sobre larvas infectantes de *Haemonchus contortus* de caprinos. *Ciência Animal*. Vol.10(1):37-41. 2000.

MOTA, M. A.; CAMPOS, A. K.; ARAÚJO, J. V. Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. *Pesq. Vet. Bras.* 23(3):93-100, jul./set. 2003.

PRABAKAR, K. & JEBANESAN, A. Larvicidal efficacy of some Curcubitaceous plant leaf extracts against *Culex quinquefasciatus* (Say). *Bioresource Technology*. Vol. 95, p. 113-114. 2004.

RAZA, H.; AHMED, I.; LAKHANI, M. S.; SHARMA, A. K.; PALLOT, D.; MONTAGUE, W. Effect of Bitter Melon (*Momordica Charantia*) Fruit Juice on the Hepatic Cytochrome P450-Dependent Monooxygenases and Glutathione S-Transferases in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Biochemical Pharmacology*, Vol. 52, pp. 1639-1642, 1996.

RODRIGUES, V. E. G. & CARVALHO, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do alto Rio Grande – Minas Gerais. *Ciênc. Agrotec.*, Lavras, v.25, n.1, p.102-123, jan./fev., 2001.

RODRIGUES, A. B.; ATHAYDE, A. C. R.; RODRIGUES, O. G.; SILVA, W. W.; FARIA, E. B. Sensibilidade dos nematóides gastrintestinais de caprinos a anti-helmínticos na mesorregião do Sertão Paraibano. *Pesq. Vet. Bras.* 27(4):162-166, abril 2007.

ROFFEY, B. W.C.; ATWAL, A. S.; JOHNS, T.; KUBOW, S. Water extracts from *Momordica charantia* increase glucose uptake and adiponectin secretion in 3T3-L1 adipose cells. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol.112, p. 77–84. 2007.

SANTOS, A. P. L. **Estudo fitoterápico da planta *Solanum paniculatum* (jurubeba) em ovinos naturalmente infectados por nematóides gastrintestinais no sertão paraibano.**

2007. Dissertação (Mestrado – Área de Concentração em Zootecnia). Universidade Federal de Campina Grande, Patos.

SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. V. Molecular diagnosis of anthelmintic resistance. **Veterinary Parasitology**. Vol. 136, p. 99-107. 2006.

SCHMOURLO, G.; MENDONÇA-FILHO, R. R.; ALVIANO, C. S.; COSTA, S. S. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. **Journal of Ethnopharmacology**. Vol. 96, p. 563–568, 2005.

SILVA, T. M. S.; CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO, R.; AGRA, M. F. Ocorrência de flavonas, flavonóis e seus glicosídeos em espécies do gênero *Solanum* (SOLANACEAE). **Quim. Nova**, Vol. 26, No. 4, 517-522, 2003.

SILVA, T. M. S.; BATISTA, M. M.; CAMARA, C. A.; AGRA, M. F. Molluscicidal activity of some Brazilian *Solanum* spp. (Solanaceae) against *Biomphalaria glabrata*. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 99, n. 4, p. 1–7. 2005.

SILVA, T. M. S., NASCIMENTO, R. J. B.; BATISTA, M. M.; AGRA, M. F.; CAMARA, C. A. Brine shrimp bioassay of some species of *Solanum* from Northeastern. Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 17(1): 35-38, Jan./Mar. 2007.

STEPEK, G.; BEHNKE, J. M.; BUTTLE, D. J.; DUCE, I. R. Natural plant cysteine proteinases as anthelmintics?. **TRENDS in Parasitology**. Vol. 20, nº 7, julho. 2004.

Capítulo 2

CORDEIRO, Luciana Nunes. **Efeito *in vitro* do extrato etanólico das folhas do Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos.** Patos, PB: UFCG, 2008. 65 p. (Dissertação – Mestrado em Zootecnia – Sistemas Agrossilvipastoris no Semi-Árido)

RESUMO

O experimento *in vitro* foi realizado para avaliar a ação do extrato etanólico das folhas do Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) sobre o desenvolvimento de ovos e motilidade de larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos. As larvas foram obtidas de coproculturas e a recuperação de ovos foi feita em tamises, a partir de fezes de caprinos naturalmente infectados da mesorregião do Sertão Paraibano. O extrato foi utilizado nas diluições de 50; 25; 12; 6 e 3 % para ambos os testes e como controle positivo 0,2 mg.kg de moxidectina e para testemunha, utilizou-se água destilada estéril. As placas foram examinadas ao microscópio óptico para contagem dos ovos em desenvolvimento e larvas móveis e imóveis, após 24 h, 48 h e 72 h de incubação. As diluições do extrato etanólico de *M. charantia* e os tratamentos testemunha e fármaco diferiram quanto ao número de ovos inviáveis. No teste de motilidade larval as diluições acima de 12% apresentaram médias significativamente melhor quanto ao número de larvas inviáveis. Nas condições ensaiadas a *M. charantia* mostrou-se ser uma alternativa viável para o controle da verminose caprina, sendo necessário estudos futuros para identificar os constituintes no extrato responsáveis pela atividade anti-helmíntica.

Palavras-chave: nematóides gastrintestinais, *Momordica charantia*, atividade anti-helmíntica.

CHAPTER 2

CORDEIRO, Luciana Nunes. **Efectiveness *in vitro* of the etanolical extract of the leafs of Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) on the eggs and larvae of gastrointestinal nematodes of goats.** Patos, PB: UFCG, 2008. 65 p. (Dissertation – Magister Science in in Husbandry Science-agrosilvipastoral Systems in Semi-árid).

ABSTRACT

The experiment *in vitro* was realized to evaluate the action of the etanolical extract of the leafs of Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) on the eclosion of eggs and the agility of the larvae of gastrointestinal nematodes of goats. The nematode larvae were obtained from larvae culture and the eggs recuperation was done in sieves, from feces of naturally infected goats of the mesoregion of the sertão paraibano. The used extract on the concentrations of 50; 25; 12,5; 6,25 and 3,12 % to both tests and as positive control 0,2 mg.kg of moxidectine and to the witness, it was used distilled sterile water. The plates were examined on the optical microscope, to the counting of the eggs in development, after 24h, 48h and 72h of incubation and to the counting of the movable and immovable larvae. In the testes conditions, the *M. charantia* can be a viable alternative to the control of the gastrointestinal nematodes, being necessary future studies to identify the constitution of the leafs that was responsible to the anthelmintic activity.

Key words: gastrointestinal nematodes, *Momordica charantia*, Anthelmintic activity

1 INTRODUÇÃO

As helmintoses são uma das mais importantes doenças em animais no mundo, infligindo perdas pesadas de produção em criações de animais. Estas doenças são especialmente prevalentes em países em desenvolvimento em associação com práticas de manejo deficientes e inadequadas medidas de controle.

Um grande problema de saúde, especialmente de pequenos ruminantes, são as infecções por nematóides gastrintestinais. As medidas econômicas mostram que os custos financeiros do parasitismo interno são consideráveis, devido ao aumento na mortalidade e uma redução na taxa de crescimento (Louie, Vlassoff & Mackay, 2007).

Os prejuízos à caprinocultura nacional causados por nematódeos gastrintestinais são mais evidentes na região Nordeste, onde a exploração desta espécie animal é mais intensa e de relevante importância social. A utilização de anti-helmínticos é indispensável nas regiões tropicais úmidas, levando a maioria dos criadores a aplicarem diversos grupos de químicos com várias dosificações por ano, e que inevitavelmente, pode causar diminuição da eficácia do produto.

Uma abordagem integrada é necessária para o controle efetivo das doenças parasitárias, no qual incluem estratégias e medidas para usar os anti-helmínticos e cuidados no manejo de pastagens, controlando as taxas de reinfestação e fazendo a rotação de pastagens. Os anti-helmínticos comerciais têm sido usados por várias décadas em todo o mundo para minimizar as perdas causadas pelas infecções de helmintos. No entanto, os riscos da resistência anti-helmíntica, resíduos, disponibilidade e alto custo especialmente para pequenos produtores têm despertado a necessidade de outros métodos alternativos de controle. Opções como, controle biológico, vacinas, seleção de raças geneticamente resistentes e plantas medicinais tem sido estudado em diferentes partes do mundo. O screening e avaliação de propriedades de plantas medicinais podem oferecer as possíveis alternativas, sustentáveis e ambientalmente corretas (Artho et al. 2007).

Dentre essas alternativas, medidas biológicas com plantas medicinais estão sendo desenvolvidas, pesquisando novas substâncias com atividade antiparasitária. Entretanto, apesar da medicina popular relatar um número considerável de plantas com ação anti-helmíntica, as investigações científicas, comparando sua eficácia ao dos anti-helmínticos comerciais, ainda são escassos (Diehl et al. 2004; Eguale et al. 2007).

Vários ensaios podem ser usados para testar a atividade biológica, primeiramente *in vitro* e depois, para desenvolver produtos naturais, *in vivo*. Extratos brutos ou fracionados e às

vezes compostos isolados são utilizados para realizar screening da atividade antibacteriana, anti-inflamatória, antioxidante, anti-helmíntica, bem como propriedades psicotrópicas e neurotrópicas. Nos testes para atividade biológica *in vitro*, uma droga padrão é incluída no esquema de teste para assegurar que o ensaio é efetivo. A atividade de um extrato pode ser comparada entre diferentes ensaios, porém não com padrões puros, como extratos brutos que contém uma miríade de compostos que podem agir sinergicamente (Fennell, 2004).

Momordica charantia é uma planta que tem sido utilizada freqüentemente como medicinal, pertence à família Curcubitaceae e é conhecida popularmente como Melão-de-São-Caetano. Cresce em áreas tropicais da Ásia, Amazônia, oeste Africano e no Caribe, sendo utilizada na medicina popular em países em desenvolvimento como Brasil, China, Colômbia, Cuba, Gana, Haiti, Índia, México, Malásia, Nova Zelândia, Nicarágua, Panamá e Peru. Seus frutos, folhas e raízes são utilizadas de forma mais comum para diabetes, cicatrizante, contra parasitas internos e ectoparasitas e no tratamento de cólicas. Os estudos fitoquímicos dos componentes botânicos do Melão-de-São-Caetano têm demonstrado o conteúdo de compostos biologicamente ativos como 50 novos glicosídeos **cucurbitins** e **cucurbitane** (Chen et al. 2008).

Por estas razões, o interesse em screening de plantas medicinais por sua atividade anti-helmíntica permanece com grande interesse científico independente do uso extensivo de químicos sintéticos nas modernas práticas clínicas em todo o mundo. Corroborando para o objetivo deste estudo em avaliar *in vitro* a ação do extrato etanólico das folhas de Melão-de-São-Caetano sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos da mesorregião do Sertão Paraibano.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido nos Laboratórios de Ciências Química e Biológicas (LCQB) e de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos (LDPAD) da Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária (UAMV) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) e no Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais da Universidade Regional do Cariri (URCA).

Foram utilizadas as folhas do Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.), as quais foram coletadas na zona rural da cidade de Patos-PB no mês de setembro de 2007. A exsicata da espécie foi depositada no Herbário Caririense Dárdaro de Andrade Lima do Departamento de Biologia da Universidade Regional do Cariri – URCA tendo como registro nº 3272.

O extrato etanólico das folhas do Melão-de-São-Caetano, foi preparado de acordo com a metodologia de Mourechrek (2000), obtendo um extrato líquido com concentração de 98,9 mg/mL. Os ensaios para verificação e identificação de classes de metabólitos secundários foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Matos (1997).

Utilizou-se as seguintes diluições: 50; 25; 12; 6 e 3 (%) preparadas a partir da concentração matriz do extrato etanólico do material vegetal e a concentração de 0,2 mg.kg³ de moxidectina (concentração controle positivo), bem como para testemunha, utilizou-se água destilada esterilizada.

Foram utilizados dois caprinos da raça Moxotó, com 6 a 12 meses de idade, com peso médio de 25 kg, naturalmente infectados por helmintos gastrintestinais (infecção poliespecífica). Os animais foram mantidos em piquetes separados, recebendo água *ad libitum*, forragem verde e suplementação mineral durante 30 dias. A infecção foi mantida para obtenção de estágios parasitários de helmintos gastrintestinais.

As fezes foram coletadas diretamente da ampola retal (Fig. 1), em quantidade de aproximadamente 50 gramas, acondicionadas em sacos plásticos e encaminhadas diretamente ao Laboratório de Doenças Parasitárias de Animais Domésticos da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), sob temperatura ambiente num intervalo de tempo máximo de duas horas.

Foi realizada a contagem de ovos por grama de fezes (OPG), através da técnica de Gordon & Whitlock (1939) e para obtenção dos ovos, utilizou-se a técnica dos quatro tamises metálicos de Girão & Ueno (1982). Os ovos do nematódeo foram recuperados do tamis com

³ Cydectin_{oral} – Fort Dodge.

menor abertura entre malhas e diluídos com água destilada de modo a comporem uma suspensão, com aproximadamente 4.000 ovos de *Trichostrongyloidea*, 200 ovos de *Strongyloides* e 300 ovos de *Trichuris*.

O teste de eclosão de ovos foi realizado em triplicata, utilizando 21 placas de Petri como unidades experimentais de acordo com a metodologia de Furtado (2006), adicionando 2 mL da suspensão de ovos, com aproximadamente 500 ovos helmintos gastrintestinais, a 2 mL da diluição do extrato de Melão-de-São-Caetano. As placas foram examinadas ao microscópio óptico, para contagem dos ovos em desenvolvimento, às 24 h, 48 h e 72 h de incubação.

A avaliação ao microscópio óptico das unidades experimentais seguiu a metodologia de Furtado (2006) para quantificação das seguintes variáveis: ovo viável (V): ovo blastomerado, apresentando uma massa arredondada formada por um grande número de células. Ovo inviável (I): ovo com uma formação interna mais alongada do que arredondada, dobrada ao meio e de aspecto grosseiro.



Figura 1 – Coleta de fezes da ampola retal (LDPAD).

O teste de motilidade foi realizado com larvas de terceiro estágio (L_3), obtidas de coproculturas, realizadas de acordo com a metodologia de Roberts & O'Sullivan, (1950). As unidades experimentais constaram de placas de Petri, recebendo 2 ml de suspensão de larvas (400) e 2 ml das diluições supracitadas. O total de unidades experimentais examinadas foi de 21. A contagem de larvas móveis e imóveis foi realizada às 24 h, 48 h e 72 h do início do teste.

Os testes de eclosão de ovos e de desenvolvimento larval foram sumarizados como médias e desvios padrões e as diferenças estatísticas foram mensuradas usando a análise de variância (ANOVA) e confirmado pelo Teste de Tukey a 5% de significância (SAS, 1991).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises fitoquímicas foram realizadas com o extrato etanólico das folhas de Melão-de-São-Caetano (*M. charantia*) utilizando a metodologia de Matos (1997), não sendo detectada a presença de taninos, flavonóides, triterpenos, saponinas e alcalóides. Acredita-se que a polimerização do extrato etanólico de *M. charantia* tenha impedido a observação desses compostos químicos. Entretanto, autores como Grover & Yadav (2004), revisando a ação farmacológica e potenciais usos biológicos de *M. charantia* concluíram que os químicos ativos incluem glicosídeos, saponinas, alcalóides, óleos não voláteis, triterpenos, proteínas e esteróides e vários fitoquímicos como as momorcharinas, momordenol, momordicina, momordicinas, momordicinina, momordina, momordolol, charantina, charina, cryptoxantina, cucurbitinas, cucurbitacinas, cucurbitanes, cicloartenols, diosgenina, ácidos elaeostericos, eritrodíol, ácidos galacturônicos, ácido gentísico, goiaglicosídeos, goiasaponinas, multiflorenol, foram isolados e podem ocorrer em qualquer parte da planta.

Poucos trabalhos objetivaram isolar os químicos ativos com ação anti-helmíntica, porém Beloin et al. (2005), afirmam que as folhas de *M. charantia* são utilizadas como anti-helmíntica contra problemas gastrintestinais no oeste da África, geralmente causados por infecções nematóides, sugerindo que os glicosídeos triterpênicos, e mormodocinas I e II sejam os principais agentes nematicidas. Acredita-se que estes compostos sejam responsáveis pelas propriedades anti-helmínticas da *M. charantia*, corroborando para que estudos posteriores para o isolamento dessas substâncias sejam necessários para desenvolver estudos mais específicos.

A ação anti-helmíntica do extrato etanólico das folhas de *M. charantia* podem ser verificados na tabela 1, observando-se diferença significativa entre as diluições do extrato etanólico e os tratamentos testemunha e fármaco quanto ao número de ovos inviáveis, demonstrando ação ovicida do extrato etanólico. Entretanto, o número de ovos inviáveis foi maior em 12%, talvez devido a uma melhor diluição do extrato, ou seja, nas diluições de 25 e 50% havia muitos resíduos do extrato, retardando a sua ação sobre os ovos. Entretanto, para o teste de motilidade larval isso foi uma característica favorável, pois as diluições acima de 12% foram significativamente melhor quanto ao número de larvas inviáveis, pela aderência dos resíduos do extrato etanólico ao corpo das larvas, impedindo a motilidade e alimentação, resultando em morte (Figura 2).

Tabela 1 – Valores de médias do desenvolvimento de ovos e larvas de nematóides gastrintestinais submetidos a diferentes diluições de extrato etanólico de *Momordica charantia* ao longo de 72 horas de experimento *in vitro*.

Tratamentos	Estágio de Desenvolvimento*			
	OVV	OVI	LVV	LVI
3%	80.20AB	19.79AB	91.43B	8.56D
6%	72.25AB	27.73AB	96.00AB	4.00DE
12%	55.04B	44.95A	72.13C	27.86C
25%	58.90B	41.10A	51.53D	48.46B
50%	63.46B	36.53A	13.28E	86.71A
Testemunha	94.77A	5.22B	99.75A	0.24E
Fármaco	74.06AB	25.93AB	98.13AB	1.86DE

*OVV = ovo viável. OVI = ovo inviável. LVV = larva viável. LVI = larva inviável. Letras maiúsculas comparam médias nas colunas. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes ($P < 0,05$).

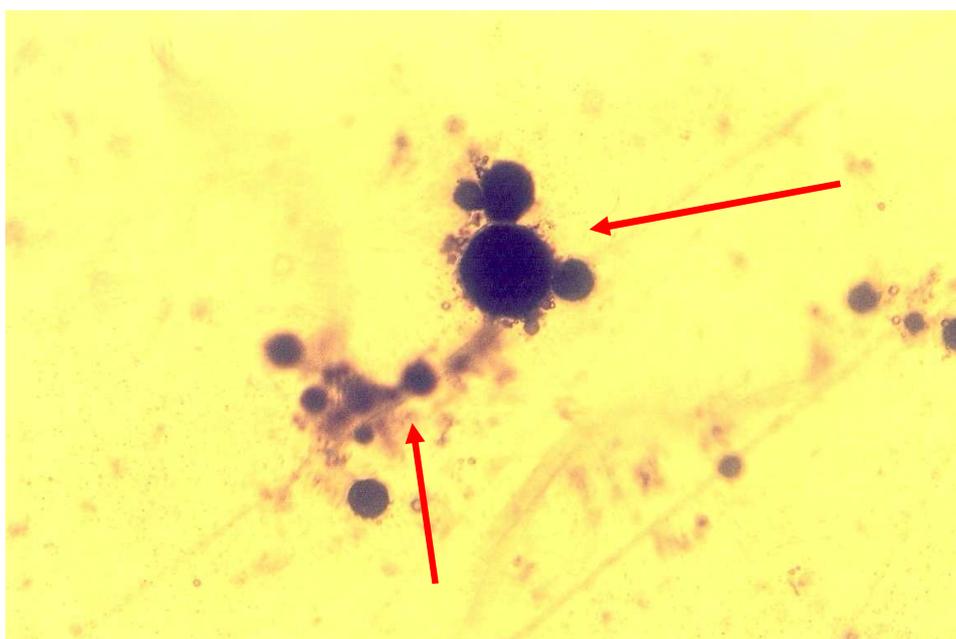


Figura 2 – Larva imóvel, vista ao microscópio óptico (10X), mostrando resíduos de extrato de *Momordica charantia* (25%) aderido ao seu corpo (seta vermelha).

Na tabela 2 observa-se que não ocorreu diferença significativa quanto ao tempo de exposição em relação à ação do extrato etanólico de *M. charantia*. Entretanto, durante a leitura de 48 horas, alguns ovos e larvas que inicialmente estavam recobertos pelo extrato e foram classificados como inviáveis, apresentaram desenvolvimento celular e motilidade, respectivamente. A confirmação da efetiva ação do extrato etanólico de *M. charantia* ocorreu após a leitura de 72 horas.

Tabela 2 – Influência do tempo de exposição ao extrato etanólico de *Momordica charantia* em relação à ação ovicida e larvicida.

Período	Estágio de Desenvolvimento*			
	OVV	OVI	LVV	LVI
24	63.32B	36.67A	72.73B	27.26A
48	83.75A	16.24B	79.45A	20.54B
72	66.65B	33.34A	71.64B	28.35A

*OVV = ovo viável. OVI = ovo inviável. LVV = larva viável. LVI = larva inviável. Letras maiúsculas comparam médias nas colunas. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes ($P < 0,05$).

A análise estatística revelou interação entre os tratamentos e o tempo de exposição, onde na tabela 3 observa-se que a diluição de 50% do extrato etanólico de *M. charantia* foi efetivo em 72 horas para um maior número de ovos e larvas inviáveis. Porém a motilidade larval também foi afetada nas diluições de 12 e 25%.

Tabela 3 – Interação na ação do extrato etanólico de *Momordica charantia* entre diluições e o tempo de experimentação quanto ao desenvolvimento celular de ovos e larvas de nematóides gastrintestinais.

Tratamentos	Estágio de Desenvolvimento*											
	OVV			OVI			LVV			LVI		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
3%	51.87ABa	95.89Aa	92.85Aa	48.13ABa	4.11Aa	7.15Ba	100Aa	78.23Bb	96.08Aab	0.00Cb	21.76Ba	3.91Cb
6%	38.90Ba	88.10Aa	89.75Aa	61.10Aa	11.90Aa	10.22Ba	100Aa	91.00Aa	97.00Aa	0.00Ca	9.00BCa	3.00Ca
12%	55.37ABa	63.07Aa	46.70ABa	44.63ABa	36.93Aa	53.30ABa	85.03Ba	79.40Bb	51.96Bc	14.96Cb	20.60Bb	48.03Ba
25%	42.87ABa	67.17Aa	66.67ABa	57.13ABa	32.83Aa	33.33ABa	24.10Cc	88.46ABa	42.03Bb	75.90Ba	11.53BCc	57.96Bb
50%	64.97ABa	100Aa	25.43Bb	35.03ABb	0.0Ab	74.57Aa	0.00Db	20.66Ca	19.20Ca	100.00Aa	79.33Ab	80.80Ab
Testemunha	95.67Aa	96.33Aa	92.33Aa	4.33Ba	3.67Aa	7.67Ba	100Aa	100Aa	99.26Aa	0.00Ca	0.00Ca	0.73Ca
Fármaco	93.63Aa	75.73Aa	52.83ABa	6.37Aa	24.27Aa	47.17ABa	100Aa	98.43Aa	95.96Aa	0.00Ca	1.56Ca	4.03Ca

*OVV = ovo viável. OVI = ovo inviável. LVV = larva viável. LVI = larva inviável Letras maiúsculas comparam médias nas colunas. Letras minúsculas comparam médias na linha. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes (P<0,05).

Na região do Semi-Árido paraibano, vários trabalhos objetivando formas alternativas de controle de verminose caprina e/ou ovina vêm sendo desenvolvidos há vários anos pelo grupo de pesquisa da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, campus de Patos, mas os estudos avaliaram administrações *in vivo* de formulações com plantas medicinais.

Em relação à baixa efetividade tanto ovicida como larvicida do controle positivo Moxidectina (tabela 1 e 2), observado neste estudo, é corroborado por um trabalho anterior realizado por Rodrigues et al. (2007), na mesorregião do Sertão Paraibano, avaliando a sensibilidade de nematóides gastrintestinais de caprinos a anti-helmínticos, observando que estes nematóides não foram efetivamente sensíveis à ação da moxidectina, albendazol, ivermectina e o extrato aquoso de batata de purga.

Os resultados do presente estudo são reforçados pelos trabalhos de Almeida et al. (2007), avaliando a eficácia anti-helmíntica do farelo e do extrato etanólico das folhas do melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.), da batata de purga (*Operculina hamiltoni* L.) e da semente de jerimum (*Curcubita pepo* L.) e de Brito-Júnior (2006), avaliando *in vivo* a ação anti-helmíntica dos extratos alcoólicos da batata de purga e do melão-de-São-Caetano, cujos resultados indicaram que as plantas estudadas, podem ser utilizadas como alternativa no controle de helmintoses gastrintestinais de caprinos, reduzindo o número de ovos por grama de fezes (OPG).

Devido à insipiência de estudos *in vitro* utilizando *M. charantia* e nematóides gastrintestinais, os resultados deste estudo demonstrando a ação ovicida e larvicida do extrato etanólico de *M. charantia*, só podem ser discutidos com o trabalho de Batista et al. (1999), avaliaram *in vitro* a ação de *M. charantia* e *Spigelia anthelmia* sobre a eclosão de ovos e a motilidade de larvas do nematódeo *Haemonchus contortus*, observando que quanto maior a concentração do extrato maior diminuição no desenvolvimento dos ovos, impedindo a eclosão, ao passo que a motilidade larval foi impedida pela *M. charantia* independente da dose do extrato aplicada, mas não relataram qual o perfil fitoquímico dos extratos avaliados.

Este estudo é influenciado por vários trabalhos *in vitro* como os de Costa et al. (2006), que avaliou inicialmente *in vivo* a ação anti-helmíntica das folhas de *Azadirachta indica* contra nematóides gastrintestinais de ovinos e observou que não houve atividade da planta como anti-helmíntico, entretanto em outro delineamento experimental o mesmo Costa et al. (2008) avaliou *in vitro* sobre ovos e larvas do nematóide *Haemonchus contortus* e concluíram que o extrato etanólico das folhas de *A. indica* pode ser utilizado no controle de nematóides em pequenos ruminantes, mas alertando para a necessidade de delineamentos *in*

vivo e avaliações de toxicidade para desenvolver formulações a serem aplicadas por produtores.

Estes trabalhos ressaltam a importância de continuar os estudos com *M. charantia*, buscando o isolamento dos compostos ativos nas folhas e aplicações sobre gêneros específicos de nematóides, permitindo novas formas de controle da verminose caprina.

4 CONCLUSÃO

O extrato etanólico de *M. charantia* mostrou ser efetivo, impedindo o desenvolvimento celular dos ovos e dificultando a motilidade larval dos nematóides gastrintestinais. Estudos futuros *in vitro* poderão viabilizar o isolamento de constituintes químicos do extrato com potencial anti-helmíntico e a realização de testes de toxicidade para continuar as avaliações *in vivo*.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKHTAR, M. S. et.al. Anthelmintic activity of medicinal plants with particular reference to their use in animals in the Indo-Pakistan subcontinent. **Small Ruminant Research**. 38, p. 99-107. 2000.
- ALMEIDA, W. V. F. et al. Avaliação de plantas medicinais em caprinos da região do semi-árido paraibano naturalmente infectados por nematóides gastrintestinais. **Caatinga** (Mossoró,Brasil), v.20, n.3, p.01-07, julho/setembro 2007.
- ARTHO, R. et. al. Avermectin-resistance in gastrointestinal nematodes of Boer goats and Dorper sheep in Switzerland. **Veterinary Parasitology**. 144, p. 68-73. 2007.
- BATISTA, L. M. et al. Atividade ovicida e larvicida *in vitro* das plantas *Spigelia anthelmia* e *Momordica charantia* contra o nematódeo *Haemonchus contortus*. **Ciência Animal**. Vol.9 n. 2, p. 67-73. 1999.
- BELOIN, N. et al. Ethnomedicinal uses of *Momordica charantia* (*Curcubitaceae*) in Togo and relation to its phytochemistry and biological activity. **Journal of Ethnopharmacology**. Vol. 29, p. 49-55. 2005.
- BRACA, A. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of *Momordica charantia* seed essential oil. **Fitoterapia**, v. 79, p. 123–125. 2008.
- BRITO-JUNIOR, L. **Avaliação Comparada da Ação Anti-Helmíntica da Batata de Purga (*Oeperculina hamiltoni* (G. Don) D.F Austin & Staples), do Melão de São Caetano (*Momordica charantia* L.) e do Capim Santo (*Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf em Caprinos Naturalmente Infectados**. 2006. 52p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Campina Grande – Patos.
- CHEN, J. et al. Trinorcucurbitane and cucurbitane triterpenoids from the roots of *Momordica charantia*. **Phytochemistry**, 69, p. 1043–1048. 2008.
- COSTA, C. T. C. et al. Anthelmintic activity of *Azadirachta indica* A. Juss against sheep gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, 137, p. 306-310. 2006.
- COSTA, C. T. C.; et al. *In vitro* ovicidal and larvicidal activity of *Azadirachta indica* extracts on *Haemonchus contortus*. **Small Ruminant Research**, 74, p. 284-287. 2008.
- DIEHL, M. S. et. al. Prospect for anthelmintic plants in the Ivory Coast using ethnobotanical criteria. **Journal of Ethnopharmacology**. 95, p. 277-284. 2004.
- EGUALE, T. et. al. In vitro and in vivo anthelmintic activity of crude extracts of *Coriandrum sativum* against *Haemonchus contortus*. **Journal of Ethnopharmacology**. 110, p. 428-433. 2007.
- FENNELL, C. W. et. al. Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: pharmacological screening and toxicology. **Journal of Ethnopharmacology**. 94, p.205-217. 2004.

FURTADO, S. K. **Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no estado do Paraná: testes *in vivo* e *in vitro***. CURITIBA. 2006. 147p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná – Curitiba.

GBOLADE, A.A. & ADEYEMI, A.A. Anthelmintic activities of three medicinal plants from Nigeria. **Fitoterapia**, v. 79, p. 223–225. 2008.

GIRÃO, E. S. & UENO, H. Nova técnica de contagem de ovos para o diagnóstico de fascioloses crônicas em ruminantes, RESUMO, p. 36, VII Congresso Brasileiro de Parasitologia (Porto Alegre, Rio Grande do Sul). 1982.

GITHIORI, J. B. et al. Anthelmintic activity of preparations derived from *Myrsine Africana* and *Rapanea melanophloeos* against the nematode parasite, *Haemonchus contortus*, of sheep. **Journal of Ethnopharmacology**, 80, p. 187-191. 2002.

GORDON, H. McL.; WHITLOCK, A. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep feces. **Journal Council Scientific Industry Research Austrália**, v. 12, p. 50-52, 1939.
GROVER, J. K. & YADAV, S. P. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. **Journal of Ethnopharmacology**. Vol. 93, p. 123-132. 2004.

LOUIE, K.; VLASSOFF, A.; MACKAY, A. D. Gastrointestinal nematode parasites of sheep: A dynamic model for their effect on liveweight gain. **International Journal for Parasitology**. 37, p. 233-241. 2007.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2 ed. Edições UFC – Fortaleza. 1997.

MOURECHREK, V. E. **Introdução a química de óleos essenciais**. Ed. Universitária. Universidade Federal do Maranhão, 71p. 2000.

ROBERTS, F. H. S. & O'SULLIVAN, J. P. Methods of egg counts and laval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. *Aust. Agric. Res*, v. 1, p. 99-102. 1950.

RODRIGUES, A. B. et al. Sensibilidade dos nematóides gastrintestinais de caprinos a anti-helmínticos na mesorregião do Sertão Paraibano. **Pesq. Vet. Bras.** V. 27, n. 4, p. 162-166, abril 2007.

SAS (Statistical Analysis System), 1991. Guide for Personal Computers Version 6.03. Institute Inc., SAS/STAT, Cary, NC, USA.

Capítulo 3

CORDEIRO, Luciana Nunes. **Efeito *in vitro* do extrato etanólico raiz de Jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos.** Patos, PB: UFCG, 2008. 65 p. (Dissertação – Mestrado em Zootecnia – Sistemas Agrossilvipastoris no Semi-Árido)

RESUMO

O experimento *in vitro* foi realizado com o extrato etanólico das raízes de jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) para avaliar a ação sobre a eclosão de ovos e motilidade de larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos. As larvas dos parasitos foram obtidas de coproculturas e a recuperação de ovos foi feita em tamises, a partir de fezes de caprinos naturalmente infectados da mesorregião do Sertão Paraibano. O extrato foi utilizado nas diluições de 50; 25; 12; 6 e 3 % para ambos os testes e como controle positivo 0,2 mg.kg de moxidectina e para testemunha, utilizou-se água destilada estéril. As placas foram examinadas ao microscópio ótico, para contagem dos ovos em desenvolvimento, após 24 h, 48 h e 72 h de incubação, bem como para contagem das larvas móveis e imóveis. A prospecção química do extrato identificou a presença de taninos, flavonóides, triterpenos e saponinas. A eclosão dos ovos foi significativamente diferente nas diluições do extrato acima de 25 % e a motilidade larval em 50 %. Nas condições ensaiadas a *S. paniculatum* mostrou-se ser uma alternativa viável para o controle dos nematóides gastrintestinais, sendo necessário estudos futuros para identificar os constituintes da raiz responsáveis pela atividade anti-helmíntica.

Palavras-chave: nematóides gastrintestinais, testes *in vitro*, caprinos, *Solanum paniculatum*.

CHAPTER 3

CORDEIRO, Luciana Nunes. **Efectiveness *in vitro* of the etanolical extract of the roots of Jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) on the eggs and larvae of gastrointestinal nematodes of goats.** Patos, PB: UFCG, 2008. 65 p. (Dissertation – Magister Science in in Husbandry Science-agrosilvipastoral Systems in Semi-árid).

ABSTRACT

The experiment *in vitro* was realized to evaluate the action of the etanolical extract of the root of jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) on the eclosion of eggs and the agility of the larvae of gastrointestinal nematodes of goats. The nematode larvae were obtained from larvae culture and the eggs recuperation was done in sieves, from feces of naturally infected goats of the mesoregion of the sertão paraibano. The used extract on the concentrations of 50; 25; 12,5; 6,25 and 3,12 % to both tests and as positive control 0,2 mg.kg of moxidectine and to the witness, it was used distilled sterile water. The plates were examined on the optical microscope, to the counting of the eggs in development, after 24h, 48h and 72h of incubation and to the counting of the movable and immovable larvae. The chemistry prospection of the extract identifies the presence of tanins, flavonoids, triterpenes and saponins. The eclosion of the eggs was meaningfully different on the extracts concentrations of 25 % and the larvae agility in 50 %. In the testes conditions, the *S. paniculatum* can be a viable alternative to the control of the gastrointestinal nematodes, being necessary future studies to identify the constitution of the root that was responsible to the anthelmintic activity.

Key words: gastrointestinal nematodes, *in vitro* tests, goats, *Solanum paniculatum*.

1 INTRODUÇÃO

As criações de caprinos e ovinos são uma fonte importante de renda no Nordeste do Brasil por sua capacidade de resistir às condições adversas. O principal interesse na exploração de pequenos ruminantes é a produção de leite para alimentação da população rural mais pobre. No entanto, o parasitismo por nematóides gastrintestinais é um fator que prejudica esta atividade devido às severas perdas econômicas na produção de pequenos ruminantes.

O controle dos nematóides gastrintestinais tem sido acompanhado do uso de anti-helmínticos sintéticos, O desenvolvimento de resistência à maioria dos anti-helmínticos convencionais disponíveis torna-se um sério problema mundial. Entretanto, estas drogas estão disponíveis de forma ineficaz, inacessível ou inadequadamente para pequenos produtores de países em desenvolvimento, associados aos problemas como alto custo, resíduos na carne e no leite e risco de contaminação ambiental, os quais são fatores que reforçam as pesquisas por vias alternativas de controle dos parasitas. A avaliação da ação de plantas medicinais objetivando identificar propriedades anti-helmínticas esta ganhando atenção atualmente, pela sustentabilidade e benefícios ambientais que geram (Egualé et al. 2007).

O problema da resistência anti-helmíntica em nematódeos gastrintestinais e o alto custo do tratamento tradicional estimulam o uso de técnicas modernas no manejo de pastagens, incluindo rotação de pastagem, mudanças na fertilização regular e programas que auxiliam o controle de parasitas, mas a ação de metabólitos secundários como nematocidas tem sido alvo de recentes revisões explorando efeitos *in vitro* e *in vivo* dos constituintes botânicos. Um amplo número de plantas já demonstrou atividade nematocida, embora para a maioria dos responsáveis bioativos para esta atividade permanece desconhecida (Rochfort et al. 2008).

Solanum paniculatum L. (Solanaceae), conhecida popularmente como Jurubeba, é uma espécie vegetal amplamente utilizada pela medicina tradicional como tônico, antitérmico, tratamento de disfunções gástricas. Em vários estudos fitoquímicos em espécies do gênero *Solanum*, muitos alcalóides tem sido isolados, bem como uma grande variedade de esteróides saponinas, glicoalcalóides e flavonóides que são importantes na defesa natural das plantas como metabólitos secundários com várias atividades biológicas relatadas (Silva et al. 2005; Cheng et al. 2008).

As plantas e seus extratos têm sido usados há muitos séculos como tratamentos para doenças, incluindo as infecções parasitárias, somente nos últimos 20-30 anos, os cientistas despertaram o interesse quais plantas da medicina tradicional são efetivas, e qual seu modo de ação. As buscas por novas drogas mais eficazes é muito importante, especialmente considerando que no Brasil as doenças parasitárias são um sério problema de saúde pública e que existe uma biodiversidade com uma fonte potencial de muitas moléculas bioativas desconhecidas (Vieira et al. 2008).

Os fatores acima mencionados justificam o interesse em avaliar *in vitro* a ação do extrato etanólico da raiz de jurubeba sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos naturalmente infectados da mesorregião do Sertão Paraibano.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido nos Laboratórios de Ciências Químicas e Biológicas (LCQB) e de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos (LDPAD) da Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária (UAMV) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) e no Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais da Universidade Regional do Cariri (URCA).

As raízes da jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) (Fig. 1) foram coletadas na zona rural da cidade de Patos-PB entre os meses de agosto e setembro de 2007. Exsicata da espécie foi depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima da Universidade Regional do Cariri tendo como registro nº 3273.



Figura 1 – Raízes de jurubeba (*S. paniculatum*) (LDPAD).

O extrato etanólico da raiz de jurubeba foi preparado de acordo com a metodologia de Mourechrek (2000), obtendo um extrato líquido com concentração de 1,6 mg/mL. Os ensaios para verificação e identificação de classes de metabólitos secundários foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Matos (1997).

Utilizou-se as seguintes diluições: 50; 25; 12; 6 e 3 % preparadas a partir da concentração matriz do extrato etanólico do material vegetal e a concentração de 0,2 mg.kg⁴ de moxidectina (concentração controle positivo), bem como para testemunha, utilizou-se água destilada estéril.

Foram utilizados dois caprinos da raça Moxotó, com 6 a 12 meses de idade, com peso médio de 25 kg, naturalmente infectados por helmintos gastrintestinais (infecção poliespecífica). Os animais foram mantidos em piquetes separados, recebendo água *ad libitum*, forragem verde e suplementação mineral durante 30 dias. A infecção foi mantida para obtenção de estágios parasitários de helmintos gastrintestinais.

As fezes foram coletadas diretamente da ampola retal (Fig. 2), em quantidade de aproximadamente 50 gramas, foram acondicionadas em sacos plásticos e encaminhadas diretamente ao Laboratório de Doenças Parasitárias de Animais Domésticos da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), sob temperatura ambiente, num intervalo de tempo máximo de duas horas.

Foi realizada a contagem de ovos por grama de fezes (OPG), através da técnica de Gordon & Whitlock (1939) e para obtenção dos ovos, utilizou-se a técnica dos quatro tamises metálicos de Girão & Ueno (1982). Os ovos do nematódeo foram recuperados do tamis com menor abertura entre malhas e diluídos com água destilada de modo a comporem uma suspensão, com aproximadamente 4.000 ovos de *Trichostrongyloidea*, 200 ovos de *Strongyloides* e 300 ovos de *Trichuris*.

O teste de eclosão de ovos foi realizado em triplicata, utilizando 21 placas de Petri como unidades experimentais de acordo com a metodologia de Furtado (2006), adicionando 2 mL da suspensão de ovos, com aproximadamente 500 ovos helmintos gastrintestinais, a 2 mL

⁴ Cydectin_{oral} – Fort Dodge.

da diluição do extrato de Jurubeba. As placas foram examinadas ao microscópio óptico, para contagem dos ovos em desenvolvimento, às 24 h, 48 h e 72 h de incubação.

A avaliação ao microscópio óptico das unidades experimentais seguiu a metodologia de Furtado (2006) para quantificação das seguintes variáveis: ovo viável (V): ovo blastomerado, apresentando uma massa arredondada formada por um grande número de células. Ovo inviável (I): ovo com uma formação interna mais alongada do que arredondada, dobrada ao meio e de aspecto grosseiro.



Figura 2 – Coleta de fezes da ampola retal (LDPAD).

O teste de motilidade foi realizado com larvas de terceiro estágio (L_3), obtidas de coproculturas, realizadas de acordo com a metodologia de Roberts & O'Sullivan, (1950). As unidades experimentais constaram de placas de Petri, recebendo 2 ml de suspensão de larvas (400) e 2 ml das diluições supracitadas. O total de unidades experimentais examinadas foi de 21. A contagem de larvas móveis e imóveis foi realizada às 24 h, 48 h e 72 h do início do teste.

Os testes de eclosão de ovos e de desenvolvimento larval foram sumarizados como médias e desvios padrões e as diferenças estatísticas foram mensuradas usando a análise de variância (ANOVA) e confirmado pelo Teste de Tukey a 5% de significância (SAS, 1991).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises fitoquímicas foram realizadas com o extrato etanólico da raiz de Jurubeba (*S. paniculatum*), a presença de um precipitado verde indicou a existência de taninos flobabênicos (taninos condensados ou catéquicos); o teste para antocianinas, antocianidinas e flavonóides indicou a presença de flavonóis (flavanonóis); o teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas revelou a presença de flavanonas; a intensificação da cor vermelha indicou a presença de flavanóis, flavanonas, flavanonóis e/ou xantonas, livres e seus heterosídeos; a coloração parda no teste para esteróides e triterpenóides, indicou a presença de triterpenóides pentacíclicos livres; a presença de colarinho de espuma persistente e abundante indicou a presença de saponinas heterosídeos saponínicos.

Rochfort et al. (2008), revisaram a literatura enfocando os bioativos vegetais em relação à saúde e produção de ruminantes, relatando que as supostas moléculas bioativas pertencem a uma ampla gama de classes químicas, onde a busca pelos metabolitos vegetais esta baseado no tipo de estrutura (terpenos, alcalóides, lipídeos, carboidratos, saponinas e taninos) e cada classe tem sido examinada com relatos de bioatividade, especificamente atividade antibiótica ou anti-helmíntica. Vários trabalhos descrevem as atividades nematocidas dos taninos.

Semelhante a este trabalho, os testes fitoquímicos do extrato etanólico de *A. indica* realizados por Costa et al. (2008), revelaram a presença de flavonóides, taninos condensados, triterpenóides pentacíclicos livres, saponinas e alcalóides. Discutindo que a atividade antiparasitária destes taninos condensados é atribuída a sua capacidade de adesão às proteínas da membrana celular, diminuindo a quantidade de proteínas disponíveis as larvas, provocando a inanição e morte.

O uso de plantas taniníferas tem sido indicado como uma alternativa aos anti-helmínticos químicos comerciais no controle de nematódeos gastrintestinais em pequenos

ruminantes, estes estudos reforçam nossos resultados, uma vez que o extrato etanólico da raiz de jurubeba é rica em taninos, sugerindo que a ação ovicida e larvicida do extrato é atribuída principalmente a esse grupo químico. Em consonância os resultados *in vitro* de Alonso-Díaz et al. (2008), sobre a ação anti-helmíntica dos extratos de *Acacia pennaluta*, *Leucena leucocephala*, *Lisyloma latisiliquum* e *Piscidia piscipula* em larvas infectivas (L3) de *Trichostrongylus colubriformis*, mostrou inibição na motilidade larval em todos os extratos testados, mas devido os estudos *in vivo* poderão estimular o desenvolvimento de métodos na administração de plantas taniníferas, as quais dificultam a palatibilidade do animal.

Minho et al. (2007), enfatizam a importância no uso de forragens contendo altos níveis de taninos condensados (TC) ou extratos (ETC) como método alternativo para redução da carga parasitária, fecundidade de nematóides fêmeas e eclodibilidade de ovos, avaliando os efeitos de ETC de *Acacia molissima* sobre parâmetros parasitológicos em ovelhas naturalmente infectados com *H. contortus* e *T. colubriformis*, indicando ação anti-helmíntica do extrato e uma alternativa no controle da hemonose ovina.

Silva et al. (2005) afirmam que o gênero *Solanum* é conhecido por produzir uma grande variedade de esteróides saponinas e glicoalcalóides, importantes na defesa natural da planta contra vários predadores, por isso avaliaram a ação moluscicida de várias espécies do gênero *Solanum*, dentre elas o extrato metanólico das partes aéreas de *S. paniculatum* e apesar de não observarem ação moluscicida do referido extrato contra *Biomphalaria glabrata*, revelaram que a investigação químicas anteriores do extrato metanólico demonstrou a presença de esteróides sapogeninas, sendo improvável atividade moluscicida, mas não descartando a importância do gênero como moluscicida.

Ren et al. (2008), realizaram a análise fitoquímica de *Dracocephalum rupestre* objetivando isolar quatro grupos de flavonóides porque vários relatos anteriores atribuem a este grupo químico uma ampla gama de efeitos biológicos tanto *in vitro* como *in vivo*, sendo

os efeitos biológicos mais significantes os que foram atribuídos a suas propriedades antioxidantes.

Para demonstrar as dificuldades nos estudos de avaliação de material botânico sobre nematóides gastrintestinais *in vivo*, o trabalho de Chagas et al. (2008), avaliado o *A. indica* e do produto homeopático Fator Vermes®, sobre a ação no controle de nematóides gastrintestinais, observaram que os resultados não mostraram efetividade nas condições ensaiadas, mas reforçam a importância dos estudos fitoquímicos na avaliação do material botânico para refazer este estudo futuramente.

O teste de eclosão de ovos foi realizado para observar a ação anti-helmíntica do extrato etanólico da raiz de jurubeba (*S. paniculatum*). Na tabela 01, observou-se que quanto maior a diluição do extrato menor o número de ovos viáveis, mas não houve diferença significativa entre 25% e 50%. As diluições de 12, 25 e 50% mostraram os melhores efeitos na inibição do desenvolvimento celular dos ovos, considerados como inviáveis.

O extrato etanólico de *S. paniculatum* foi mais efetivo na diluição de 50%, diferindo estatisticamente das outras diluições apresentando um maior número de larvas inviáveis, talvez devido a uma melhor aderência do extrato as larvas (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores de médias do desenvolvimento de ovos e larvas de nematóides gastrintestinais submetidos a diferentes diluições de extrato etanólico de *Solanum paniculatum* ao longo de 72 horas de experimento *in vitro*.

Tratamentos	Estágio de desenvolvimento*			
	OVV	OVI	LVV	LVI
3%	65.24B	34.75D	91.00AB	9.00CD
6%	46.65C	53.34C	85.77B	14.22C
12%	40.46CD	59.53CB	63.66C	36.33B
25%	28.47ED	71.52AB	57.90C	42.10B
50%	21.94E	78.05A	31.27D	68.72A
Testemunha	94.77A	5.22E	99.75A	0.24D
Fármaco	74.06B	25.93D	98.13A	1.86D

*OVV = ovo viável. OVI = ovo inviável. LVV = larva viável. LVI = larva inviável. Letras maiúsculas comparam médias nas colunas. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes (P<0,05).

A aderência do extrato etanólico de *S. paniculatum* as larvas dos parasitos, impedem a motilidade e a alimentação, resultando em estresse energético e conseqüente morte do parasito, acredita-se que esta ação de aderência ocorra principalmente pela grande quantidade de taninos presentes no extrato (Figuras 3 e 4).

A ação do extrato etanólico de *S. paniculatum* em relação ao tempo de exposição, foi observada, sendo as leituras realizadas a cada 24 horas, num total de três leituras (24, 48 e 72 h). Durante o experimento a ação ovicida do extrato nas primeiras 24 horas inibiu um número significativo de ovos, não influenciando o tempo de exposição, uma vez que não houve diferença a partir de 48 horas. Em relação à motilidade larval o extrato age de forma mais eficaz após 48 horas de exposição ao parasito (Tabela 2).

Tabela 2 – Influência do tempo de exposição ao extrato etanólico de *Solanum paniculatum* em relação a ação ovicida e larvicida.

PERIODO	Estágio de desenvolvimento*			
	OVV	OVI	LVV	LVI
24	57.914A	42.086B	79.629A	20.371B
48	49.805B	50.195A	79.148A	20.852B
72	51.552B	42.448A	67.298B	32.702A

*OVV = ovo viável. OVI = ovo inviável. LVV = larva viável. LVI = larva inviável. Letras maiúsculas comparam médias nas colunas. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes (P<0,05).

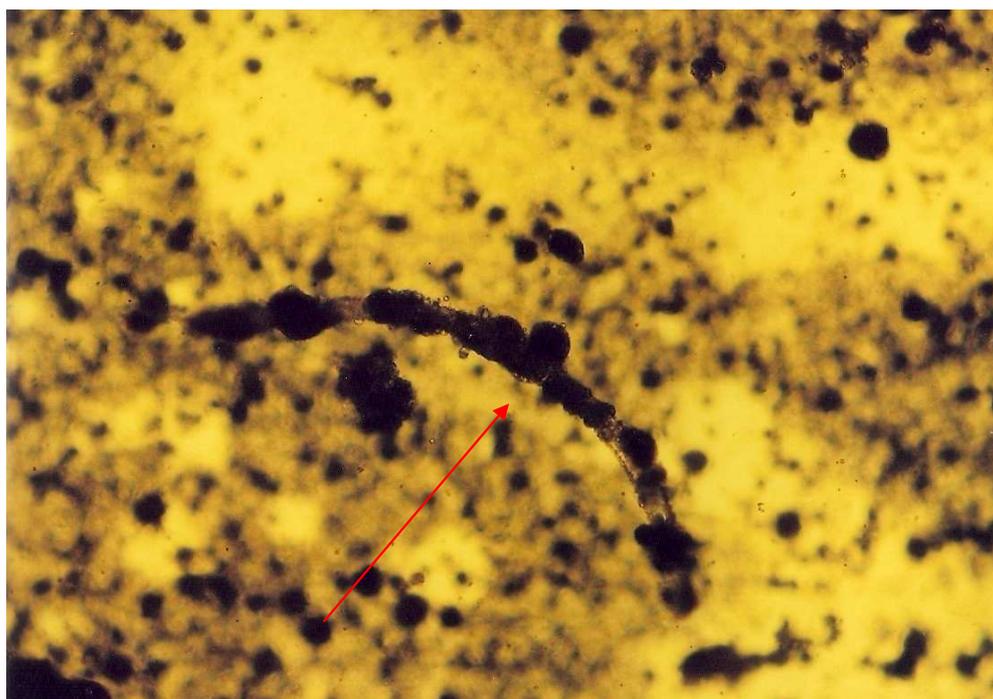


Figura 3 – Vista ao microscópio óptico (10X) da aderência do extrato etanólico de *Solanum paniculatum* (50%) às larvas de parasitos (tonalidade mais escura – seta vermelha).



Figura 4 – Larvas imóveis e totalmente distendidas, vista ao microscópio óptico (10X), mostrando resíduos de extrato de jurubeba (3%) aderido ao seu corpo (seta vermelha).

Na região do Semi-Árido paraibano, vários trabalhos objetivando formas alternativas de controle de verminose caprina e/ou ovina vêm sendo desenvolvidos há vários anos pelo grupo de pesquisa da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, campus de Patos, mas os estudos têm sido feitos principalmente avaliando administrações *in vivo* de formulações com plantas medicinais baseadas no conhecimento etnobotânico de moradores da região, como enfatizado por Marinho et al. (2007). Dentre estes trabalhos a dissertação de Santos (2007), analisou *in vivo* a administração do farelo da raiz de jurubeba sobre ovinos naturalmente infectados por nematóides gastrintestinais, observando que mesmo não ocorrendo diferença significativa na redução do número de ovos por grama de fezes em relação ao grupo tratado com albendazole 1%, a administração do farelo pode ser usada como uma medida alternativa para o controle de verminoses em pequenos ruminantes. Ressaltando que se houver associação com o farelo de Batata de purga (*Operculina hamiltoni*), ocorre uma melhor efetividade no controle de helmintos gastrintestinais de ovinos.

Em relação à baixa efetividade tanto ovicida como larvicida do controle positivo Moxidectina (tabela 1 e 2), observado em nosso estudo, é corroborado por um trabalho anterior realizado por Rodrigues et al. (2007), na mesorregião do Sertão Paraibano, avaliando a sensibilidade de nematóides gastrintestinais de caprinos a anti-helmínticos, observando que estes nematóides não foram efetivamente sensíveis à ação da moxidectina, albendazol, ivermectina e o extrato aquoso de batata de purga.

A grande dificuldade encontrada neste estudo foi à escassez de trabalhos anteriores *in vitro* e/ou *in vivo* utilizando extratos de *S. paniculatum* sobre nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes, é necessário extrapolar a discussão utilizando estudos com outras plantas aplicadas sobre pequenos ruminantes tanto *in vitro* como *in vivo*.

Vários trabalhos como os de Camurça-Vasconcelos et al. (2007), avaliaram a atividade anti-helmíntica dos óleos essenciais de *Croton zehntneri* e *Lippia sidoides* e principais constituintes, anetol e timol, através de testes *in vitro* sobre o desenvolvimento de ovos e larvas de *H. contortus*, observando inibição no desenvolvimento de ovos e larvas de *H. contortus* maior que 90%, colocando estes óleos essenciais como substâncias promissoras com atividade anti-helmíntica. Mas os pesquisadores alertam para a necessidade de estudos toxicológicos e de eficácia anti-helmíntica *in vivo* após absorção e metabolismo dos compostos botânicos.

Camurça-Vasconcelos, et al. (2008), avaliaram a eficiência do óleo essencial de *Lippia sidoides* sobre nematóides gastrintestinais de ovinos, obtiveram eficácia de 56,9% sobre *H. contortus* e *Trichostrongylus* spp., despertando a importância do controle alternativo de plantas associado com outros métodos de controle de nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes.

Costa, et al. (2008), os quais testaram o extrato etanólico de *Azadirachta indica* sobre ovos e larvas de *H. contortus*, obtendo 99.77% e 87.11% de efetividade, respectivamente para

ovos e larvas, indicando que este material botânico possui metabólitos com atividade nematicida, podendo ser usado no controle de nematódeos gastrintestinais em pequenos ruminantes.

O trabalho de Gbolade & Adeyemi (2008), foi pioneiro avaliando o extrato dos frutos de *Sphenocentrum jollyanum* sobre larvas de *H. contortus*, observando paralisia e morte na concentração de 80 mg.ml, atribuindo esta atividade a presença de alcalóides, saponinas e flavonóides. Ressaltando assim a importância deste estudo sobre a ação *in vitro* de *S. paniculatum* contra nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes.

Nwosu et al. (2008), avaliaram *in vivo* e *in vitro* a eficácia anti-helmíntica de extratos aquosos da casca de *Sacoglottis gabonensis* contra nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes, até então não se tinha confirmado sua ação antiparasitária, mas os resultados mostraram efetividade na redução da carga parasitária e na inibição do desenvolvimento celular dos ovos, porém são necessários mais estudos para determinar com precisão quais substâncias no extrato possuem realmente o potencial anti-helmíntico.

Estes resultados reforçam a importância de estudos *in vitro*, deste estudo, despertando o interesse de isolar quimicamente as frações dos extratos etanólicos para delinear futuros estudos de toxicidade e formulações a serem aplicadas *in vivo* em pequenos ruminantes, principalmente ovinos e caprinos para difusão do uso entre produtores rurais.

4 CONCLUSÃO

O extrato etanólico de *S. paniculatum* mostrou ser efetiva, impedindo o desenvolvimento celular dos ovos de helmintos gastrintestinais e dificultando a motilidade larval, provocando a inanição e conseqüente morte das larvas infectantes. Estudos futuros *in vitro* poderão viabilizar o isolamento de constituintes químicos do extrato com potencial anti-helmíntico, a realização de testes de toxicidade para continuar as avaliações *in vivo* desenvolvendo formulações que favoreçam a palatabilidade dos animais, devido ao alto conteúdo de taninos presentes nas raízes de jurubeba.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALONSO-DÍAZ, M.A.; TORRES-ACOSTA, J. F. J.; SANDOVAL-CASTRO, C. A.; CAPETILLO-LEAL, C.; BRUNET, S.; HOSTE, H. Effects of four tropical tanniniferous plant extracts on the inhibition of larval migration and the exsheathment process of *Trichostrongylus colubriformis* infective stage. **Veterinary Parasitology**. doi:10.1016/j.vetpar.2008.01.011. 2008.
- ASSIS, L. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, S. M.; VIEIRA, L. S.; COSTA, C. T. C.; SOUZA, J. A. L. Ovicidal and larvicidal activity in vitro of *Spigelia anthelmia* L. extracts on *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**. 117, p. 43-49. 2003.
- BOTION, L.M.; FERREIRA, A. V. M.; CÔRTEZ, S. F.; LEMOSA, V. S.; BRAGA, F. C. Effects of the Brazilian phytopharmaceutical product Ierobina® on lipid metabolism and intestinal tonus. **Journal of Ethnopharmacology** 102, p. 137–142. 2005.
- CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, S. M.; MACIEL, M. V.; COSTA, C. T. C.; MACEDO, I. T. F.; OLIVEIRA, L. M. B.; BRAGA, R. R.; SILVA, R. A.; VIEIRA, L. S. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. **Veterinary Parasitology**. 148, p. 288-294. 2007.
- CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F., BEVILAQUA, C. M. L., MORAIS, S. M., MACIEL, M.V., COSTA, C. T. C., MACEDO, I. T. F., OLIVEIRA, L. M. B., BRAGA, R. R., SILVA, R. A., VIEIRA, L. S., NAVARRO, A. M. C., Anthelmintic activity of *Lippia sidoides* essential oil on sheep gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, doi:10.1016/j.vetpar.2008.02.023. 2007.
- CHAGAS, A.C.S.; VIEIRA, L.S.; FREITAS, A.R.; ARAÚJO, M.R.A.; ARAÚJO-FILHO, J.A.; ARAGUÃO, W.R.; NAVARRO, A.M.C. Anthelmintic efficacy of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) and the homeopathic product Fator Vermes® in Morada Nova sheep. **Veterinary Parasitology**, Vol.151, p. 68–73. 2008.
- CHENG, F.; LI, X.; WANG, J. Z. A new alkaloid from *Solanum cathayanum*. **Chinese Chemical Letters**, 19, p. 68–70. 2008.
- COSTA, C. T. C.; BEVILAQUA, C. M. L.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; MACIEL, M. V.; MORAIS, S. M.; CASTRO, C. M. S.; BRAGA, R. R.; OLIVEIRA, L. M. B. *In vitro* ovicidal and larvicidal activity of *Azadirachta indica* extracts on *Haemonchus contortus*. **Small Ruminant Research**, 74, p. 284-287. 2008.
- EGUALE, T.; TILAHUN, G.; DEBELLA, A.; FELEKE, A.; MAKONNEN, E. *Haemonchus contortus*: In vitro and in vivo anthelmintic activity of aqueous and hydro-alcoholic extracts of *Hedera helix*. **Experimental Parasitology**. 116, p. 340-345. 2007.
- FURTADO, S. K. Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no estado do Paraná: testes *in vivo* e *in vitro*. CURITIBA. 2006. 147p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná – Curitiba.
- GBOLADE, A. A.; ADEYEMI, A. A. Investigation of in vitro anthelmintic activities of *Pycnanthus angolensis* and *Sphenocentrum jollyanum*. **Fitoterapia**, 79, p. 220–222. 2008.

GIRÃO, E. S. & UENO, H. Nova técnica de contagem de ovos para o diagnóstico de fascioloses crônicas em ruminantes, RESUMO, p. 36, VII Congresso Brasileiro de Parasitologia (Porto Alegre, Rio Grande do Sul). 1982.

GORDON, H. MCL.; WHITLOCK, A. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep feces. **Journal Council Scientific Industry Research Austrália**, v. 12, p. 50-52, 1939.

MATOS, F.J.A. **Introdução a Fitoquímica experimental**. 2 ed. Fortaleza: Imprensa Universitária, Universidade Federal do Ceará, 1997.

MARINHO, M. L.; ALVES, M. S.; RODRIGUES, M. L. C.; ROTONDANO, T. E. F.; VIDAL, L. F.; SILVA, W. W.; ATHAYDE, A. C. R. A utilização de plantas medicinais em medicina veterinária: um resgate do saber popular. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v. 9, n.3, p. 64-69, 2007.

MINHO, A.P.; BUENO, I. C. S.; LOUVANDINI, H.; JACKSON, F.; GENNARI, S. M.; ABDALLA, A. L. Effect of *Acacia molissima* tannin extract on the control of gastrointestinal parasites in sheep, **Animal Feeding Science Technology** doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.09.016. 2007.

MOURECHREK, V. E. **Introdução a química de óleos essenciais**. Ed. Universitária. Universidade Federal do Maranhão, 71p. 2000.

NWOSU, C. O.; ENEME, T. A.; ONYEYILI, P. A.; OGUGBUAJA, V. O. Toxicity and anthelmintic efficacy of crude aqueous of extract of the bark of *Sacoglottis gabonensis*. **Fitoterapia**, 79, p. 101–105. 2008.

REN, D.; GUO, H.; YU, W.; WANG, S.; JI, M.; LOU, H. Stereochemistry of flavonoidal alkaloids from *Dracocephalum rupestre*. **Phytochemistry**, 69, p. 1425–1433. 2008.

ROBERTS, F. H. S. & O’SULLIVAN, J. P. Methods of egg counts and laval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. *Aust. Agric. Res*, v. 1, p. 99-102. 1950.

ROCHFORT, S.; PARKER, A. J.; DUNSHEA, F. R. Plant bioactives for ruminant health and productivity. **Phytochemistry**, 69, p. 299–322. 2008.

RODRIGUES, A. B.; ATHAYDE, A. C. R.; RODRIGUES, O. G.; SILVA, W. W.; FARIA, E. B. Sensibilidade dos nematóides gastrintestinais de caprinos a anti-helmínticos na mesorregião do Sertão Paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira** V. 27, n. 4, p. 162-166, abril 2007.

SANTOS, A. P. L. 2007. **Estudo Fitoterápico da planta *Solanum paniculatum* L. (Jurubeba) em ovinos naturalmente infectados por nematóides gastrintestinais no Sertão Paraibano**. Patos, 60p. Dissertação de Mestrado – Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande.

SAS (Statistical Analysis System), 1991. Guide for Personal Computers Version 6.03. Institute Inc., SAS/STAT, Cary, NC, USA.

SILVA, T. M. S.; BATISTA, M. M.; CAMARA, C. A.; AGRA, M. F. Molluscicidal activity of some Brazilian *Solanum* spp. (Solanaceae) against *Biomphalaria glabrata*. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 99, n. 4, p. 1–7. 2005.

VIEIRA, N. C.; ESPINDOLA, L. S.; SANTANA, J. M.; VERAS, M. L.; PESSOA, O. D. L.; PINHEIRO, S. M.; ARAUJO, R. M.; LIMA, M. A. S.; SILVEIRA, E. R. Trypanocidal activity of a new pterocarpan and other secondary metabolites of plants from Northeastern Brazil flora. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 16 p. 1676–1682. 2008.

VIEIRA, F. M.; BESSA, E. C. A.; LIMA, S. S. Ocorrência de helmintos em *Hydrochaeris hydrochaeris* (Linnaeus, 1766) (Rodentia, Hydrochaeridae) na Represa de São Pedro, município de Juiz de Fora, MG, a partir do diagnóstico coprológico. *XXIX Semana de Biologia e XII Mostra de Produção Científica* – UFJF. 2006.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.