



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOTECNOLOGIA**

ESCARIÃO DA NÓBREGA GOMES

**ESTUDOS DA ATIVIDADE ANTI-PARASITÁRIA, TOXICOLÓGICA E
HISTOPATOLÓGICA DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DE *SOLANUM
PANICULATUM* E *CYMBOPOGON CITRATUS***

**RECIFE
2017**

ESCARIÃO DA NÓBREGA GOMES

**ESTUDOS DA ATIVIDADE ANTI-PARASITÁRIA, TOXICOLÓGICA E
HISTOPATOLÓGICA DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DE *SOLANUM
PANICULATUM* E *CYMBOPOGON CITRATUS***

Dissertação apresentada como requisito para
obtenção do título de Mestre em
Morfotecnologia pela Universidade Federal de
Pernambuco.

Linha de Pesquisa: Morfologia e Métodos
Clássicos e Avançados

Orientador: Prof. Dr. Luiz Lúcio Soares da
Silva

Coorientador: Prof. Dr. Lécio Leone de
Almeida

**RECIFE
2017**

Gomes, Escarião da Nóbrega

Estudos da atividade anti-parasitária, toxicológica e histopatológica dos extratos etanólicos de *Solanum paniculatum* e *Cymbopogon citratus*. / Escarião da Nóbrega Gomes. – Recife: O Autor, 2017.

47 f.: il., fig., tab.

Orientador: Luiz Lúcio Soares da Silva

Coorientador: Lécio Leone de Almeida

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Morfotecnologia, 2017.

Inclui referências

1. Matéria médica vegetal 2. Anti- helmínticos 3. Histologia I. Silva, Luiz Lúcio Soares da (orient.) II. Almeida, Lécio Leone de (coorient.) III. Título

572.2

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2017-440



pósMorfotec
Programa de Pós-Graduação
em Morfotecnologia

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOTECNOLOGIA

Profa. Dra. SÔNIA PEREIRA LEITE

COORDENADORA

Prof. Dr. JEYMESSON RAPHAEL CARDOSO VIEIRA

VICE-COORDENADOR

CORPO DOCENTE

Prof. Dr. Antonio Carlos de Freitas

Profa. Dra. Juliana Pinto de Medeiros

Profa. Dra. Cláudia Sampaio de A. Lima

Profa. Dra. Kenia Valenca Correia

Prof. Dr. Claudio Gabriel Rodrigues

Profa. Dra. Luciana Maria Silva de S. Maia

Profa. Dra. Eliete Cavalcante da Silva

Prof. Dr. Luiz Lucio Soares da Silva

Prof. Dr. Gilberto Gonçalves Rodrigues

Profa. Dra. Paloma Lys de Medeiros

Profa. Dra. Ivone Antônia de Souza

Prof. Dr. Ricardo Yara

Prof. Dr. Jacinto da Costa Silva Neto

Profa. Dra. Rosa Valeria da Silva Amorim

Prof. Dr. Jeymesson Raphael C. Vieira

Profa. Dra. Sônia Pereira Leite

RECIFE
2017

ESCARIÃO DA NÓBREGA GOMES

**ESTUDOS DA ATIVIDADE ANTI-PARASITÁRIA, TOXICOLÓGICA E
HISTOPATOLÓGICA DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DE *SOLANUM
PANICULATUM* E *CYMBOPOGON CITRATUS***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Morfotecnologia.

Aprovada em: 17/07/2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Luiz Lúcio Soares da Silva
Orientador - UFPE

Profa. Dra. Juliana Pinto de Medeiros
Titular - UFPE

Prof. Dr. Diego Nathan do Nascimento Souza
Titular – UERN

Dedicatória

Dedico a minha mãe Shirley Sousa da Nóbrega – “Dona Cirlei” e ao meu pai José de Sousa Gomes – “Zezito” (In Memoriam).

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por tudo que tem feito de maravilhoso na minha vida. Por ter me dado à oportunidade de prosseguir na vida acadêmica, mostrando-me que o conhecimento é para todos e que devemos sempre acreditar no nosso potencial.

Ao meu orientador Prof. Dr. Luiz Lúcio Soares da Silva, que nesta caminhada se tornou mais que orientador, um amigo, por quem tenho admiração e respeito pelo profissional ético que és.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Lécio Leone de Almeida, que não mediu esforços para que fossem realizadas todas as etapas do experimento. Que diante das dificuldades enfrentadas (como o local para realização do experimento, aquisição dos animais, realização dos exames laboratoriais, entre outras), mostrou-me confiança e que chegaríamos ao nosso objetivo final. Prof. Dr. Lécio Almeida, receba minha admiração e agradecimento.

Aos Professores da Universidade Federal de Campina Grande, *Campus* de Patos – PB, Prof. Dr. Onaldo Guedes Rodrigues e Profa. Dra. Ana Célia Rodrigues Athayde que prontamente nos receberam para realização de todos os testes parasitológicos no Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos (DPAD) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

Ao Diretor e funcionários do Centro de Apoio à Pesquisa da UFRPE - CENAPESQ, aqui representados na pessoa do Prof. Dr. Paulo Roberto Eleotério de Sousa, ao Diretor do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto, e aos funcionários do Biotério em Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE, onde foi possível realizarmos os testes toxicológicos e histopatológicos.

A Universidade Federal de Pernambuco – UFPE pela oportunidade de poder conquistar o título de Mestre em Morfotecnologia. Bem como aos nobres docentes do Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia - UFPE, aqueles que sem discriminação ou preconceitos transmitiram seus conhecimentos, nos orientando dia a dia para enfrentarmos os desafios do campo acadêmico.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, e à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação - PROPESQ/UFPE, pelos seis (06) meses de bolsa de estudo no primeiro período (2015.2) do curso de mestrado.

Expressamos nossos sinceros agradecimentos ao Prof. Dr. Nicácio Henrique da Silva (Laboratório de Química de Produtos Naturais), a Profa. Dra. Mônica Cristina Barros Martins, Prof. Dr. Antônio Fernando Moraes de Oliveira, a Profa. Dra. Claudia Sampaio (Laboratório de Biofísica, Química e Radiologia Sampaio de Andrade Lima) e ao colega João Ferreira Neto do grupo de pesquisa de Plantas Medicinais que nos auxiliaram nos testes fitoquímicos. Ao Prof. Edeones França Tenório (Coordenador do Biotério José Paulino – UFPE), pelo fornecimento dos animais para a realização dos experimentos.

A Profa. Dra. Marta Geruza Soares de Lucena pelo apoio e palavras de incentivo durante todas as etapas de realização do curso de mestrado em Morfotecnologia, que vai desde a seleção até aqui, nessa reta final.

As minhas filhas Anna Letícia, Maria Eduarda e Anna Sophia, que me proporcionam a maior alegria da minha vida. Aos meus pais Shirley Sousa da Nóbrega e José de Sousa Gomes (*In memoriam*) e aos meus irmãos que direta ou indiretamente me apoiaram em mais essa etapa da minha vida, especialmente a minha irmã Kátia da Nóbrega Gomes de Souza, pela preciosa colaboração na tradução dos artigos.

Finalizo agradecendo em especial a minha esposa Renata Valéria Regis de Sousa Gomes, por sempre estar ao meu lado, apoiando-me nas minhas decisões, e que nos ajudou bastante na execução e desenvolvimento da pesquisa, mostrando-nos com seu exemplo o valor da pesquisa com compromisso e seriedade. Sem você nada disso seria possível.

A todos, o meu muito obrigado!

ESTUDOS DA ATIVIDADE ANTI-PARASITÁRIA, TOXICOLÓGICA E HISTOPATOLÓGICA DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DE *SOLANUM PANICULATUM* E *CYMBOPOGON CITRATUS*. Recife, PE: UFPE, 2017. 47p. (Dissertação – Mestrado em Morfotecnologia).

RESUMO

A utilização das plantas como alternativa no tratamento de enfermidades em animais é estimulada pela crescente busca da sociedade por produtos livres de resíduos químicos, existindo uma grande carência de estudos que determinem os níveis de toxicidade e a identificação de possíveis modificações ocasionadas por essas plantas nas estruturas microscópicas dos tecidos biológicos. Nesse sentido, o objetivo dessa pesquisa foi estudar a atividade anti-parasitária *in vitro*, toxicidade e histopatologia dos extratos etanólicos de *Solanum paniculatum* e *Cymbopogon citratus*. Para a obtenção dos extratos etanólicos foram utilizadas a raiz de *S. paniculatum* e folhas de *C. citratus* e realizado o estudo fitoquímico. Nos testes anti-helmíntico *in vitro* foram utilizados 2mL dos extratos nas concentrações 50; 25; 12; 6 e 3% e avaliados com 24, 48 e 72 horas após exposição. Para avaliação da toxicidade subcrônica, os animais (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) foram divididos em três grupos: G1 controle (água destilada), G2 tratados com dose de 5000mg/kg de extrato etanólico de *S. paniculatum* e G3 tratados com dose de 5000mg/kg de extrato etanólico de *C. citratus*. Os extratos foram administrados por gavagem, sempre às 08 horas da manhã, após pesagem dos animais, por trinta dias consecutivos. Ao término do tratamento, os animais foram anestesiados e submetidos a coleta de sangue por punção cardíaca para análise bioquímica. Em seguida, foram eutanasiados e realizado a laparotomia e craniotomia para remoção do fígado, rins e cerebelo para pesagens e fixados em formol a 10% tamponado para análises histopatológicas. Os extratos etanólicos de *S. paniculatum* e *C. citratus* *in vitro* apresentaram ação anti-parasitária. Possuem a presença dos compostos: taninos; flavonas, flavonóis e xantonas; flavanonóis; catequinas; flavanonas; alcalóides. A dose subcrônica de 5g/kg de peso corporal dos extratos de *S. paniculatum* e *C. citratus* ocasionaram alterações nos parâmetros bioquímicos do fígado e rins; e alterações histopatológicas nos parênquimas do fígado, rins e cerebelo dos ratos.

Palavras-chave: Anti-helmíntico. Dose sub-crônica. Fitoterapia. Histologia.

STUDY ANTI-PARASITARY, TOXICOLOGICAL AND HISTOPATHOLOGICAL ACTIVITY OF THE ETHANOLIC EXTRACTS OF *SOLANUM PANICULATUM* AND *CYMBOPOGON CITRATUS*. Recife, PE: UFPE, 2017. 47p. (Dissertation - Master in Morphotechnology).

ABSTRACT

The use of plants as an alternative in the treatment of diseases in animals is stimulated by the growing search of society for products free of chemical residues, there is a great lack of studies that determine the levels of toxicity and the identification of possible modifications caused by these plants in the structures of biological tissues. In this sense, the objective of this research was to study the *in vitro* anti-parasitary, toxicological and histopathological activity of the ethanolic extracts of *Solanum paniculatum* and *Cymbopogon citratus*. To obtain the ethanolic extracts were used the *S. paniculatum* root and leaves of *C. citratus* and the phytochemical study was carried out. *In vitro* anthelmintic tests were used 2mL of extracts at concentrations 50; 25; 12; 6 and 3% and evaluated at 24, 48 and 72 hours after exposure. To evaluate subchronic toxicity, the animals (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) were divided into three groups: G1 control (distilled water), G2 treated with 5000mg/kg dose of ethanolic extract of *S. paniculatum* and G3 treated with dose of 5000mg/kg of ethanolic extract of *C. citratus*. The extracts were administered by gavage, always at 8 o'clock in the morning, after weighing the animals, for thirty consecutive days. At the end of the treatment the animals were anesthetized and submitted to blood collection by cardiac puncture for biochemical analysis. Afterwards, they were euthanized and performed laparotomy and craniotomy for removal of the liver, kidneys and cerebellum for weighing and fixed in 10% formalin buffered for histopathological analyzes. The ethanolic extracts of *S. paniculatum* and *C. citratus* *in vitro* presented anti-parasitary action. They have the presence of the compounds: tannins; flavones, flavonols and xanthones; flavanonols; catechins; flavanones; alkaloids. The subchronic dose of 5g/kg of body weight of the extracts of *S. paniculatum* root and leaves of *C. citratus* causes alterations in the biochemical parameters the liver and kidneys; and changes histological in the liver, kidneys and cerebellum of rats.

Key-words: Anti-helminthic. Sub-chronic dose. Phytotherapy. Histology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A: Raiz de jurubeba; B: folhas de capim santo.....	22
Figura 2. Extrato bruto de jurubeba e capim santo.....	23
Figura 3. Estudo fitoquímico de jurubeba e capim santo.....	23
Figura 4. Percentual de ovos viáveis após exposição aos tratamentos com as cinco concentrações do extrato da raiz de jurubeba (TJ) e do tratamento controle positivo (TC+) e controle negativo (TC-). *Médias diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.....	30
Figura 5. Percentual de larvas viáveis após exposição aos tratamentos com as cinco concentrações do extrato da raiz de jurubeba (TJ) e do tratamento controle positivo (TC+) e controle negativo (TC-). *Médias diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.....	30
Figura 6. Percentual de ovos viáveis após exposição aos tratamentos com as cinco concentrações do extrato das folhas de capim santo (CS) e do tratamento controle positivo (TC+) e controle negativo (TC-). *Médias diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.....	32
Figura 7. Percentual de larvas viáveis após exposição aos tratamentos com as cinco concentrações do extrato das folhas de capim santo (CS) e do tratamento controle positivo (TC+) e controle negativo (TC-).....	33
Figura 8. Fotomicrografias de cortes histológicos do fígado dos ratos dos grupos experimentais, corados com hematoxilina-eosina (HE) e examinados em microscopia de campo claro. Notar em A₁ (TC = controle) estruturas bem preservadas nos parênquimas hepático. Em B₁ (tratados com <i>S. paniculatum</i> = TJ), notar infiltrado inflamatório portal (seta tracejada) e hepatócitos necróticos (pontas de setas). Em C₁ (tratados com <i>C. citratus</i> = TCS), notar lóbulo central com leve infiltrado inflamatório (seta). Escala de barra: 50µm.....	37
Figura 9. Fotomicrografias de cortes histológicos dos rins dos ratos dos grupos experimentais, corados com hematoxilina-eosina (HE) e examinados em microscopia de campo claro. Notar em A₂ (TC = controle) estrutura renal bem preservada. Em B₂ (tratados com <i>S. paniculatum</i> = TJ), desorganização dos glomérulos (seta dupla) e túbulos renais (asteriscos). Em C₂ (tratados com <i>C. citratus</i> = TCS), espaço subcapsular levemente diminuído (pontas de seta). Escala de barra: 50µm.....	37
Figura 10. Fotomicrografias de cortes histológicos do cerebelo dos ratos dos grupos experimentais, corados com hematoxilina-eosina (HE) e examinados em microscopia de campo claro. Notar em A₃ (TC = controle) estrutura cerebelar bem preservada. Em B₃ (tratados com <i>S. paniculatum</i> = TJ), vacuolização das células de Purkinje (pontas de setas). Em C₃ (tratados com <i>C. citratus</i> = TCS), vacuolização das células de Purkinje discreta (ponta de seta). Escala de barra: 50µm.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Prospecção química de <i>Solanum paniculatum</i> (jurubeba) e <i>Cymbopogon citratus</i> (capim santo)	28
Tabela 2. Médias, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV) e valores mínimo dos tratamentos com as cinco concentrações do extrato da raiz de jurubeba (TJ) e do tratamento controle positivo (TC+) e controle negativo (TC-) após as 72 horas de exposição dos ovos e larvas dos nematoides gastrintestinais <i>in vitro</i>	29
Tabela 3. Resumo da análise de variância e da comparação das médias dos tratamentos com as cinco concentrações do extrato da raiz de jurubeba (TJ) e do tratamento controle positivo (TC+) e controle negativo (TC-) sobre ovos (OVV) e larvas (LVV) viáveis pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.....	31
Tabela 4. Médias, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV) e valores mínimo dos tratamentos com as cinco concentrações do extrato de capim santo (CS) e do tratamento controle positivo (TC+) e controle negativo (TC-) após as 72 horas de exposição dos ovos e larvas dos nematoides gastrintestinais <i>in vitro</i>	32
Tabela 5. Resumo da análise de variância e da comparação das médias dos tratamentos com as cinco concentrações do extrato das folhas de capim santo (CS) e do tratamento controle positivo (TC+) e controle negativo (TC-) sobre ovos (OVV) e larvas (LVV) viáveis pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.....	33
Tabela 6. Equações de regressão (ER), coeficientes de variação (CV), determinação (R^2) e nível de significância (α) para as variáveis ovo viável (OVV), larva viável (LVV) em função do tempo de exposição ao extrato de jurubeba e capim santo	34
Tabela 7. ¹ Peso médio corporal e de órgãos dos grupos experimentais.....	35
Tabela 8. ¹ Análise da função hepática e renal dos grupos experimentais.....	36

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 Plantas Medicinais e atividade anti-parasitária.....	17
3 OBJETIVOS.....	21
3.1 Geral.....	21
3.2 Específicos.....	21
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
4.1 Coleta e preparação do material botânico.....	22
4.2 Obtenção dos extratos etanólicos e estudo fitoquímico.....	22
4.3 Teste anti-parasitário <i>in vitro</i> de ovos e larvas de caprinos	23
4.4 Aspectos éticos.....	24
4.5 Reagentes e produtos químicos.....	25
4.6 Teste de toxicidade com os animais (<i>Rattus norvegicus albinus</i>, Wistar)..<	25
4.6.1 Grupos experimentais e toxicidade subcrônica.....	25
4.6.2 Análise bioquímica da função hepática	26
4.6.3 Análise bioquímica da função renal.....	26
4.6.4 Análise histopatológica do fígado, rins e cerebelo.....	26
4.7 Análise estatística.....	27
5 RESULTADOS.....	28
5.1 Estudo fitoquímico preliminar.....	29
5.2 Atividade anti-parasitária <i>in vitro</i>.....	29
5.3 Estudo das atividades sub-crônicas dos extratos etanólicos da raiz de <i>S. paniculatum</i> e da folha de <i>C. citratus</i> sobre <i>Rattus norvegicus albinus</i>, Wistar.....	34
5.4 Análise bioquímica da função hepática.....	35
5.5 Análise bioquímica da função renal.....	36
5.6 Análise histopatológica do fígado, rins e cerebelo de <i>Rattus norvegicus albinus</i>, Wistar.....	36
5.6.1 Histopatologia do fígado.....	36
5.6.2 Histopatologia dos rins	37

5.6.3 Histopatologia do cerebelo.....	38
6 DISCUSSÃO.....	39
7 CONCLUSÕES.....	43
REFERÊNCIAS.....	44

1 INTRODUÇÃO

O Brasil está entre os quatro países do mundo que apresentam a maior variedade de plantas, sendo a utilização das plantas com atividades terapêuticas uma das práticas mais antigas empregadas pelo homem para cura das suas enfermidades (SILVA et al., 2010).

Verifica – se na literatura, que centenas dessas espécies vegetais são registradas com atividade medicinal, sendo de acordo com Rates (2001) seis as etapas para validação de uma planta medicinal, as quais estão relacionadas aos dados botânicos, o uso popular da planta avaliada e aos testes farmacológicos onde são realizados os testes que determinam a eficácia contra os agentes causadores da doença, e a segurança de administração para espécie a ser tratada.

A validação de plantas medicinais envolve vários testes que visam confirmar a sua eficácia e determinar a segurança de sua utilização em organismos vivos (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2005). A investigação preliminar dos constituintes químicos de uma planta possibilita o conhecimento prévio do extrato e indica a natureza das substâncias presentes (SOUSA et al., 2011), entretanto, muitas plantas não possuem monografias farmacopéicas.

A ampla utilização das plantas como alternativa no tratamento de enfermidades em animais e/ou seres humanos, estimulado pela crescente busca da sociedade por produtos livres de resíduos químicos, culminou no reconhecimento da fitoterapia pelo ministério da saúde, como alternativa medicinal, através da Portaria nº 971, de 3 de maio de 2006.

Apesar da fitoterapia ser uma excelente alternativa com variadas indicações terapêuticas, de fácil obtenção e baixo custo em relação aos produtos da indústria farmacêutica, um problema observado é que não há informações disponíveis quanto ao potencial tóxico de uma grande parte das plantas descritas como medicinais. Essa ausência de informação não está necessariamente relacionada à falta de toxicidade, mas também a falta de estudos a esse respeito (FURTADO, 2006).

As plantas *Solanum paniculatum* (jurubeba) e *Cymbopogon citratus* (capim santo), são referenciadas principalmente por seu potencial anti-helmíntico, sendo essas administradas no tratamento de animais e de seres humanos. Apesar da sua ampla utilização e de alguns trabalhos testando sua eficácia *in vitro* e *in vivo*, existe uma grande carência de estudos que determinem os níveis de toxicidade e a identificação de possíveis modificações ocasionadas por essas plantas nas estruturas microscópicas dos tecidos biológicos.

Nesse sentido, o objetivo dessa pesquisa foi estudar a atividade anti-parasitária *in vitro*, toxicidade e histopatologia dos extratos etanólicos de *Solanum paniculatum* e *Cymbopogon citratus*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Plantas Medicinais e atividade anti-parasitária

O Brasil está entre os quatro países do mundo que apresentam maior variedade de plantas. A utilização das plantas com atividades terapêuticas é uma das práticas mais antigas empregadas pelo homem para cura das suas enfermidades (SILVA et al., 2010). Verifica-se na literatura que centenas dessas espécies vegetais são registradas com atividade medicinal.

A ampla utilização das plantas como alternativa no tratamento de enfermidades em animais e/ou seres humanos, estimulado pela crescente busca da sociedade por produtos livres de resíduos químicos, culminou no reconhecimento da fitoterapia pelo ministério da saúde como alternativa medicinal através da Portaria nº 971, de 3 de maio de 2006.

Solanum paniculatum é uma Solanaceae de porte arbustiva, amplamente distribuída na América tropical. A ela são atribuídas propriedades medicinais, sendo popularmente utilizada no tratamento da icterícia, da hepatite crônica e de febres intermitentes, além de usos culinários (FORNI-MARTINS et al., 1998; ASSUNÇÃO et al., 2006). Muitas Solanaceae acumulam alcalóides e são em decorrência disto extremamente tóxicas. Como nativas do Brasil destacam-se *S. americanum* (maria-pretinha) que é uma planta invasora muito comum em culturas, a *S. lycocarpum* (fruta-do-lobo) que é uma das espécies mais características dos cerrados com grandes frutos arredondados, e a *S. paniculatum* (jurubeba) muito utilizada como medicinal (SOUZA; LORENZI, 2005).

O *Cymbopogon citratus* conhecida popularmente como capim santo, pertence à família das Poaceae. É uma erva perene originária da Ásia e subspontânea nos países tropicais. Suas folhas são aromáticas, ásperas, estreitas e com mais de 50cm de comprimento. Possui atividades como inseticida, diurético, analgésico, antifúngico, antibacteriano, anticarcinogênico e anti-helmíntico (ALMEIDA et al. 2003), estas atividades são atribuídas aos óleos voláteis a-citral, b-citral e mirceno (FERREIRA; FONTELES, 1989). As Poaceae representam o principal componente das pastagens, incluindo-se aí uma infinidade de espécies forrageiras, como as braquiárias e o capim marmelada. Destaca-se o uso de espécies como medicinais, o capim-limão (*C. citratus*) e a citronela (*C. martinii*) (SOUZA; LORENZI, 2005).

As plantas *S. paniculatum* e *C. citratus*, são referenciadas principalmente por seu potencial anti-helmíntico, sendo essas administradas no tratamento de animais e de seres humanos. Apesar da sua ampla utilização e de alguns trabalhos testando sua eficácia *in vitro* e *in vivo*, existe uma grande carência de estudos que determinem os níveis de toxicidade e a

identificação de possíveis modificações histológicas ocasionadas por essas plantas nas estruturas microscópicas dos tecidos biológicos.

Apesar da fitoterapia ser uma excelente alternativa com variadas indicações terapêuticas, de fácil obtenção e baixo custo em relação aos produtos da indústria farmacêutica, um problema observado é que não há informações disponíveis quanto ao potencial tóxico de uma grande parte das plantas descritas como medicinais. Essa ausência de informação não está necessariamente relacionada à falta de toxicidade, mas também a falta de estudos a esse respeito (FURTADO, 2006).

A validação de plantas medicinais envolve vários testes que visam confirmar a sua eficácia e determinar a segurança de sua utilização em organismos vivos (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2005). Segundo Sousa et al. (2011), a investigação preliminar dos constituintes químicos de uma planta possibilita o conhecimento prévio do extrato e indica a natureza das substâncias presentes, entretanto, muitas plantas não possuem monografias farmacopéicas.

As infecções por nematódeos gastrintestinais têm se constituído em importante entrave à expansão da ovinocultura e caprinocultura de corte, destacando-se o *Haemonchus contortus* como principal parasita. A elevada prevalência associada à grande patogenicidade faz deste parasito o mais nocivo em diferentes regiões do território nacional (SOTOMAIOR, 2007).

O controle das helmintoses gastrintestinais vem sendo motivo de estudos nas mais diversas áreas do conhecimento científico como, a microbiologia, especialmente fungos nematófagos, homeopatia e fitoterapia, como por exemplo: *Momordica charantia*, semente de *Curcubita maxima* e *Convolvulus macrocarpus*, no entanto, qualquer que seja a prática de controle adotada, ela terá que ser pautada em estudos epidemiológicos, para que de forma efetiva se estabeleça um modelo de controle estratégico (ARAÚJO-LIMA et al., 2002).

O controle estratégico de parasitos pelo uso de fármacos tradicionais (benzimidazóis, avermectinas, imidazotiazoles e salicilanilídeos) tem desenvolvido dois grandes problemas, o desenvolvimento acelerado da resistência ao princípio ativo e ou presença dos resíduos nos produtos de origem animal e no meio ambiente, contribuindo para agravar a ecotoxicidade. O controle desses parasitos em caprinos vem sendo realizado sem considerar os fatores epidemiológicos predominantes na região, os quais interferem diretamente na população parasitária ambiental e, conseqüentemente, na infecção do rebanho (SOUSA, 2009).

Poucos produtores realizam um esquema racional de alternância de drogas anti-helmínticas, promovendo a seleção de indivíduos resistentes e, além disso, a ausência de um enfoque estratégico agrava ainda mais o controle dos parasitas gastrintestinais (VIEIRA;

CAVALCANTE, 1999). Na tentativa de minimizar o problema parasitário, vem sendo conduzido vários tipos de controle integrado, dentre eles o uso de fitoterápicos com efeitos anti-helmínticos (HERD, 1996).

A fitoterapia surge como alternativa para aumentar os lucros da criação, reduzindo o uso de anti-helmínticos convencionais (VIEIRA, 2007). Os mecanismos de ação de algumas plantas e extratos de plantas que podem afetar a viabilidade, mobilidade e fecundidade dos parasitos *in vitro* ainda carecem de estudos científicos.

Para se verificar todo o potencial fitoterápico do extrato de plantas, Sousa et al. (2013) recomendam que devem ser considerados importantes fatores, como: tipo de extrato, parte da planta utilizada, concentração/dose, via de administração, bioensaio utilizado, espécie animal infectada e qual a espécie do parasita.

Santos et al. (2009) observaram que a sazonalidade influencia no rendimento do extrato, sendo que os melhores rendimentos no processo de extração foram observados nas amostras colhidas no período matutino, em dias com altas temperaturas e altos índices pluviométricos na região do Paraná. Já Lawal et al. (2017) verificaram que a composição química de extratos varia de acordo com a origem geográfica, idade e natureza da planta.

A jurubeba (*S. paniculatum*) e o capim santo (*C. citratus*) são comumente utilizadas na medicina popular e são espécies listadas na Farmacopeia Brasileira que pertencem à "Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde - SUS", o que fortalece a importância em determinar suas atividades, os níveis de toxicidade e a identificação de possíveis modificações ocasionadas por essas plantas nas estruturas microscópicas dos tecidos biológicos.

A jurubeba apesar de ser muito utilizada para o tratamento de distúrbios hepáticos e gastrointestinais, estudos demonstraram que há variação na dose a ser administrada dependendo da parte da planta a ser utilizada para a obtenção do extrato, como observado por Mesia-Vela et al. (2002), que avaliando o extrato aquoso de raízes, caules e flores de jurubeba, observaram que a dose do extrato das flores (820 mg/kg) para inibir a secreção de ácido gástrico em ratos foi praticamente o dobro da dose utilizada pelo extrato da raiz (418 mg/kg), validando o uso foliar de *Solanum paniculatum* L. para tratar distúrbios gástricos.

Já Clementino-Neto et al. (2016) verificaram que o extrato etanólico bruto das partes aéreas de jurubeba, apresentaram atividade antidiarreica em ratos, inibindo a motilidade e secreção do intestino delgado, bem como atividade espasmolítica não seletiva no íleo da cobaia, sendo que doses $=340,3 \pm 35,1$ mg/kg ocasionavam a formação de fezes líquida.

Quanto ao capim santo, Ekpenyong et al. (2015) destacaram que os efeitos farmacológicos e biológicos dos principais fitoquímicos isolados dos extratos de *C. citratus* e do óleo essencial possuem propriedades farmacocinéticas semelhantes, incluindo absorção, distribuição, metabolismo e excreção, e que os dados disponíveis justificam novos estudos que avaliem a farmacocinética dessa planta. Nesse sentido os estudos toxicológicos fornecem subsídios essenciais para a utilização com segurança desses fitoterápicos.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Estudar a atividade anti-parasitária *in vitro*, toxicidade e histopatologia dos extratos etanólicos de *Solanum paniculatum* e *Cymbopogon citratus*.

3.2 Específicos

- Estudar a atividade anti-parasitária “*in vitro*” dos extratos etanólicos da raiz de *S. paniculatum* e da folha de *C. citratus* sobre ovos e larvas de helmintos gastrintestinais de caprinos.
- Analisar o perfil fitoquímico dos extratos etanólicos da *S. paniculatum* e *C. citratus*.
- Avaliar a toxicidade sub-crônica dos extratos sobre fígado, rins e cerebelo de ratos Wistar.
- Estudo da histopatologia do fígado, rins e cerebelo de ratos Wistar.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta e preparação do material botânico

O material botânico utilizado foi a raiz de *S. paniculatum* (jurubeba) e as folhas de *C. citratus* (capim santo) (Figura 1). A raiz da jurubeba foi coletada no município de Teixeira- PB e as folhas do capim santo foram coletadas as seis horas da manhã, no canteiro florestal do Centro de Saúde e Tecnologia Rural – CSTR/UFCG – Campus de Patos – PB, no mês de novembro de 2015. Essa região apresenta média pluviométrica anual de 749,67 mm/ano, sendo que os meses de janeiro a maio são os que apresentam maior índices de chuvas (MONTEIRO et al., 2013).



Figura 1. A: Raiz de jurubeba; B: folhas de capim santo.

O material vegetal do capim santo foi colocado para secagem à temperatura ambiente, na sombra, por 48 horas, em seguida levado à estufa de ventilação forçada a 60°C por 24 horas. Logo após, as folhas do capim santo e a raiz seca da jurubeba foram pesados e moídos.

4.2 Obtenção dos extratos etanólicos e estudo fitoquímico

Os procedimentos para obtenção dos extratos etanólicos foram realizados no Centro de Apoio à Pesquisa da UFRPE e a prospecção química foi realizada no Laboratório de Biofísica, Química e Radiologia Sampaio de Andrade Lima da UFPE, os quais seguiram a metodologia descrita por Matos (1997). Foram utilizados 500g de cada planta e submetida à extração com etanol absoluto 1.100 mL de volume de etanol PA por 72 horas. O solvente foi filtrado e evaporado em rota-evaporador e o resíduo transferido para frasco de vidro e esses colocados em banho-maria para a evaporação total do solvente (Figura 2).



Figura 2. Extrato bruto de jurubeba e capim santo

Para a prospecção dos constituintes do extrato hidroalcoólico foi preparado uma solução mãe, para qual foi pesado 0,3 g do extrato, diluído em 30 mL de álcool 70%. Depois de pronta a solução mãe, foi colocado 3 mL em seis frascos de vidro, para submeter o conteúdo dos tubos aos testes de Fenóis e Taninos; Antocianinas, Antocianidas e Flavonóides; Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavanonas; e, Alcalóides (MATOS, 1997) -(Figura 3).

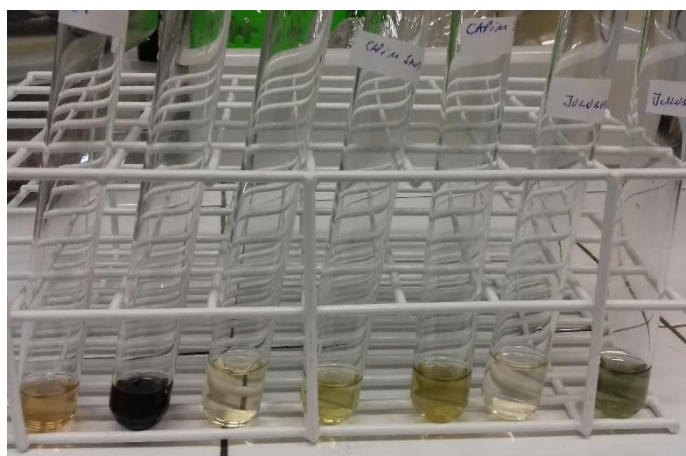


Figura 3. Estudo fitoquímico de jurubeba e capim santo

4.3 Teste anti-parasitário *in vitro* de ovos e larvas de caprinos

A ação farmacológica foi testada “*in vitro*” e as análises parasitológicas foram realizadas no Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos (DPAD) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

Para obtenção dos ovos e larvas de helmintos foram utilizados 06 (seis) caprinos da raça Moxotó dos quais foram coletadas as fezes diretamente da ampola retal e acondicionadas em sacos plásticos em temperatura ambiente. As coletas foram realizadas no mês de janeiro de 2016 às 6:00 horas da manhã.

Os ovos foram obtidos através da técnica dos quatro tamises, e a partir da suspensão obtida através da técnica de Gordon e Whitlock (1939) modificado por Ueno e Gutierrez (1983), foram utilizados 2 mL do extrato nas concentrações 50; 25; 12; 6 e 3% mg mL⁻¹ para cada 200 ovos em 2 mL de acordo com Hubert e Kerboeurf (1984) e colocado na placa de Petri. As variáveis quantificadas foram ovo viável (OVV) e ovo inviável (OVI) identificado pelo gênero.

As larvas infectantes foram obtidas através da coprocultura pela técnica de Roberts e Sullivan (1950), e a partir da suspensão obtida através da coprocultura procedeu-se a contagem e identificação das larvas. Foram utilizados 2 mL do extrato nas concentrações 50; 25; 12; 6 e 3% mg mL⁻¹ para cada 200 larvas em 2 mL (HUBERT; KERBOEURF, 1984) e colocados em placa de Petri. As variáveis quantificadas foram larva viável (LVV) e larva inviável (LVI).

O procedimento foi igualmente repetido com água destilada para o controle negativo e com albendazole 5% (Farmazole 1,9%® - Laboratório Fagra) para o controle positivo, os ensaios foram realizados em triplicata, e as leituras ao microscópio óptico para a contagem dos ovos e larvas em desenvolvimento foram realizadas com 24, 48 e 72 horas de incubação.

Convencionou-se nomear os tratamentos com o extrato de jurubeba e suas respectivas concentrações de TJ3, TJ6, TJ12, TJ25, TJ50; com o extrato de capim santo CS3, CS6, CS12, CS25, CS50; o controle positivo com albendazole 5% TC+; e o controle negativo com água destilada TC-.

4.4 Aspectos éticos

Os procedimentos realizados estão de acordo com OECD - *Guideline for the Testing of Chemicals* - (OECD, 2008) e foram submetidos e aprovados pelos comitês de ética no uso de animal da UFCG, UFPE e UFRPE sob os números das licenças: Universidade Federal de Campina Grande-UFCG (Protocolo CEP N° 293-2015), Universidade Federal de Pernambuco (Ofício N° 01/2016) e Universidade Federal Rural de Pernambuco (Número licença 071/2016).

4.5 Reagentes e produtos químicos

KIT's comerciais de diagnóstico (LabTest, Minas Gerais, Brasil), Dopalem[®] (hidrocloridrato de cetamina), Rompum[®] (xilazina) e Thionembotal[®] (tiopental) foram utilizadas durante os experimentos.

4.6 Teste de toxicidade com os animais (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar)

Os experimentos foram realizados no Biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco - DMFA/UFRPE e no Centro de apoio à pesquisa (Cenapesq/UFRPE). Foram utilizados 18 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) provenientes da colônia do Biotério de Criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), com 90 dias de idade, pesando 300 ± 20 g, alojadas em condições controladas com alimentação e água “*ad libitum*”, temperatura $22 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade $60 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 h claro e 12 h escuro. Após 10 dias de aclimação no biotério do DMFA/UFRPE, os animais foram separados ao acaso, em três grupos com seis ratos em cada. Em seguida, foram submetidos a tratamentos diários e monitorados em relação ao peso corporal e sobrevivência.

4.6.1 Grupos experimentais e toxicidade subcrônica

Após adaptação foram formados três grupos para avaliação da toxicidade subcrônica (OECD, 2008; LI et al., 2016): G1 controle (água destilada), G2 tratados com dose de 5000 mg/kg de extrato etanólico de jurubeba e G3 tratados com dose de 5000 mg/kg de extrato etanólico de capim santo. Convencionou-se nomear o G1 = TC, G2 = TJ e G3 = TCS

Os extratos foram administrados por gavagem, sempre às 08 horas da manhã, após pesagem dos animais, por trinta dias consecutivos. Ao final do experimento, os animais, ao trigésimo dia de tratamento foram anestesiadas com hidrocloridrato de cetamina (80 mg/kg) e xilazina (6 mg/kg), por via intraperitoneal e submetidos a coleta de sangue por punção cardíaca (Parasuraman et al., 2010). O sangue foi centrifugado a 3000 rpm a 4°C durante 15 minutos, em seguida o soro foi removido e armazenado a -20°C para análise bioquímica (Jasper et al., 2012). Na etapa seguinte, os ratos foram eutanasiados com tiopental (40 mg/kg) seguida por laparotomia e craniotomia para remoção do fígado, rins e cerebelo para pesagens (Cunha et al.,

2013) e imediatamente foram fixados em formol a 10% tamponado para análises histopatológicas.

4.6.2 Análise bioquímica da função hepática

Os níveis séricos de transaminases (alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e Fosfatase alcalina (FA), bem como de Albumina (Al) foram dosados usando analizador químico (BEL Photonics® Spectrophotometer SP 2000 UV) e KIT's comerciais de diagnóstico (LabTest, Minas Gerais, Brasil). Todas as dosagens foram realizadas em triplicata.

4.6.3 Análise bioquímica da função renal

Os níveis séricos de Ureia e Creatinina foram dosados usando analizador químico (BEL Photonics® Spectrophotometer SP 2000 UV) e KIT's comerciais de diagnóstico (LabTest, Minas Gerais, Brasil). Todas as dosagens foram realizadas em triplicata.

4.6.4 Análise histopatológica do fígado, rins e cerebelo

Amostras de fígado foram preservadas em formaldeído a 10% tamponado por 24 horas. Logo após, foram lavadas em solução tampão PBS, desidratadas em álcool em série crescente de concentração e incluídas em glicol metacrilato historesina (Historesin Leica®). Os cortes de 4 µm foram obtidos em micrótomo Leica® modelo RM 2245 equipado com navalha de vidro, distendidos em água destilada e colocados sobre lâminas, levados para secagem em estufa a 60°C por 1 minuto e submetidos às técnicas de coloração pela Hematoxilina - Eosina (H.E.). As lâminas em duplicatas/animal foram analisadas (10 campos aleatórios com espaço porta e veia centrolobular, parênquima renal com glomérulo e parênquima cerebelar com presença de células Purkinje) em microscópio de luz (campo claro), da marca Leica® modelo DM500 e fotografadas mediante o uso de câmera Leica® modelo EC3 acoplada ao microscópio, bem como do software Leica® Application Suite (LAS) EZ para análise histopatológica (Lemos et al., 2011, 2014; Almeida et al., 2014).

4.7 Análise estatística

Todos os valores foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média e analisadas pelo software SAS[®] for Windows versão 9.0. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo previamente testados para normalidade pelo Teste de Shapiro-Wilk. As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Os dados dos testes de eclosão de ovos e desenvolvimento larval foram expressos em porcentagem, transformados $\log (x + 1)$ e submetidos à análise de regressão quadrática. A relação entre essas variáveis foi expressa pelo modelo: $Y = \beta_0 + \beta_1 X + \beta_2 X^2$.

5 RESULTADOS

5.1 Estudo fitoquímico preliminar

Foram obtidos dos extratos de jurubeba e capim – santo massas finais de 3,87g e 6,97g, rendimento de 0,77% e 1,39% e concentração de 3,4g/mL e 3,2g/mL respectivamente.

Os testes fitoquímicos para identificação de taninos resultaram na formação de precipitado de coloração verde no extrato da raiz de jurubeba e do capim santo, que indica a presença de taninos flobabênicos (taninos condensados ou catéquicos).

Nos testes para antocianinas, antocianidinas e flavonóides, mostraram que no frasco de meio ácido não houve variação da cor indicando a presença de flavonas, flavonóis, xantonas e flavanonóis, e que o meio alcalino (pH¹¹) apresentou uma coloração vermelho laranja com positiva presença de flavanonóis.

Com relação ao teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas, os extratos etanólicos da raiz de jurubeba e das folhas de capim santo apresentaram em meio ácido uma coloração pardo- amarelada e em meio alcalino, vermelho laranja, indicando resultados positivos para a presença de catequinas e flavanonas e negativo para leucoantocianidinas.

Os testes fitoquímicos para identificação de alcalóides resultaram na formação de precipitado confirmando a presença de alcalóides.

Os resultados obtidos na prospecção química dos extratos botânicos podem ser observados de forma simplificada na Tabela 1.

Tabela 1. Prospecção química de *Solanum paniculatum* (jurubeba) e *Cymbopogon citratus* (capim santo).

Constituintes	Jurubeba	Capim santo
Taninos	***	***
Fenóis	---	---
Antocianinas e Antocianidinas	---	---
Flavonas, Flavonóis e Xantonas	***	***
Chalconas e Auronas	---	---
Flavanonóis	***	***
Leucoantocianidinas	---	---
Catequinas (Taninos catéquicos)	***	***
Flavanonas	***	***
Alcalóides	***	***

Legenda: (***) Presença de compostos; (---) Ausência de compostos.

5.2 Atividade anti-parasitária *in vitro*

A análise parasitológica de contagem média de ovos foi de 4,500 OPG (ovos por grama de fezes). Os ovos apresentaram características morfológicas típicas da família Trichostrongylidae. Na contagem e identificação das larvas verificou-se média de 2,150 larvas por placa, onde 70% das larvas correspondiam ao gênero *Haemonchus*, 16% *Trichostrongylus* e 14% ao gênero *Oesophagostomum*.

Avaliando-se a ação das cinco concentrações testadas nos tratamentos com extrato da raiz de *S. paniculatum* (TJ50, TJ25, TJ12, TJ6, TJ3) e do controle positivo que foi o grupo tratado com albendazole 5% (TC+), verificou-se que os tratamentos com jurubeba apresentaram ação anti-helmíntica sobre os ovos de nematoides gastrintestinais de caprinos, sendo o que o TJ50 foi o tratamento que apresentou o menor percentual de ovos viáveis após 72 horas de exposição, com uma média geral de 34.31 ± 15.69 e o TC+ apresentou uma baixa ação sobre os ovos de nematoides gastrintestinais com um percentual de 88.12 ± 14.50 após 72 horas de exposição (Tabela 2, Figura 4).

Tabela 2. Médias, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV) e valores mínimo dos tratamentos com as cinco concentrações do extrato da raiz de jurubeba (TJ) e do tratamento controle positivo (TC+) e controle negativo (TC-) após as 72 horas de exposição dos ovos e larvas dos nematoides gastrintestinais *in vitro*.

Tratamento	Variável	Média geral	DP	CV	Mínimo
TJ3	OVV	85.20	15.20	17.84	66.67
	LVV	92.88	9.38	10.10	78.00
TJ6	OVV	74.13	13.41	18.10	53.85
	LVV	89.33	14.89	16.67	60.00
TJ12	OVV	66.11	11.44	17.31	44.44
	LVV	75.33	33.40	45.18	20.00
TJ25	OVV	51.57	12.63	24.49	33.33
	LVV	73.93	29.73	39.46	30.00
TJ50	OVV	34.31	15.69	45.74	20.00
	LVV	67.69	32.64	48.22	20.00
TC+	OVV	88.12	14.50	16.45	66.67
	LVV	94.94	4.97	5.27	88.00
TC-	OVV	100.00	0.0	0.0	100.00
	LVV	100.00	0.0	0.0	100.00

Legenda: OVV = Ovo viável; LVV – larva viável

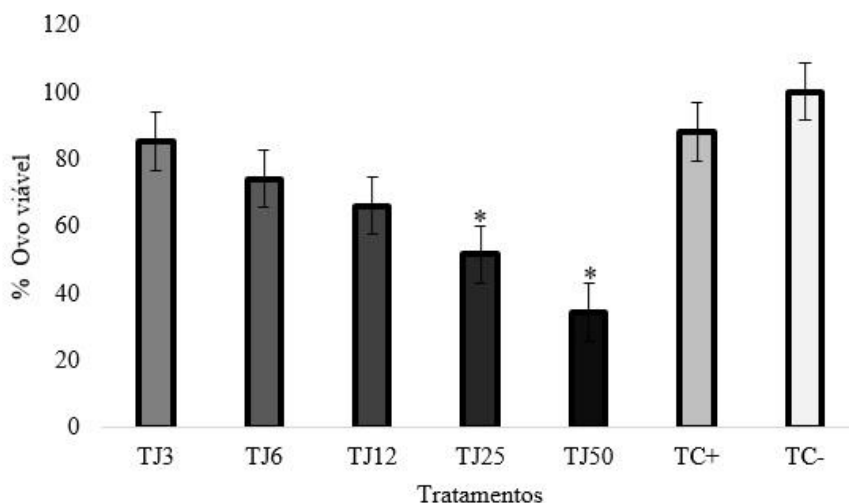


Figura 4. Percentual de ovos viáveis após exposição aos tratamentos com as cinco concentrações do extrato da raiz de jurubeba (TJ) e do tratamento controle positivo (TC+) e controle negativo (TC-). *Médias diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Avaliando-se o efeito dos tratamentos sobre as larvas de nematóides, observou-se que o TJ50 apresentou o menor percentual e larvas viáveis com média de 67.69 ± 32.64 . O TC+ apresentou uma baixa ação sobre as larvas de nematoides gastrintestinais com um percentual de 94.44 ± 4.97 após 72 horas de exposição (Figura 5, Tabela 2).

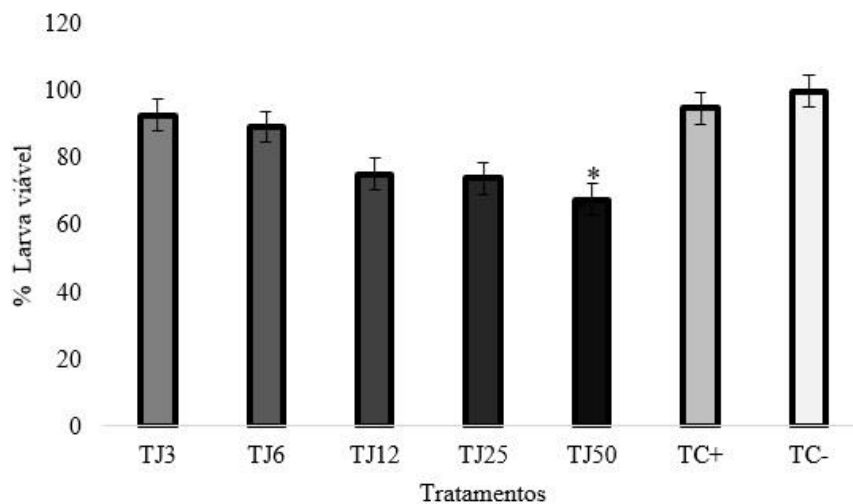


Figura 5. Percentual de larvas viáveis após exposição aos tratamentos com as cinco concentrações do extrato da raiz de jurubeba (TJ) e do tratamento controle positivo (TC+) e controle negativo (TC-). *Médias diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Observou-se diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos com jurubeba na concentração de 50% e 25% para ovo viável e na concentração de 50% para larva viável em comparação com a média do TC+. Os demais tratamentos não apresentaram diferenças estatísticas significativas (Tabela 3).

Tabela 3. Resumo da análise de variância e da comparação das médias dos tratamentos com as cinco concentrações do extrato da raiz de jurubeba (TJ) e do tratamento controle positivo (TC+) e controle negativo (TC-) sobre ovos (OVV) e larvas (LVV) viáveis pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Estatísticas	OVV	LVV
F	28.03	2.81
Pr > F	<.0001	0.0184
CV	18.02	25.99
Tratamento	Médias – OVV	Médias – LVV
TJ50	34.31±15.69e*	67.69±32.64b*
TJ25	51.57 ±12.63de*	73.94±29.73ab
TJ12	66.11±11.44cd	75.33±33.40ab
TJ6	74.13±13.41bc	89.33±14.89ab
TJ3	85.20±15.20ab	92.89±9.28ab
TC+	88.12±14.50a	94.44±4.97a
TC-	100(±0.0)a	100±0.0a

*Médias seguidas por letras minúsculas iguais na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).

Avaliando-se a eficácia do extrato de capim santo nas cinco concentrações testadas, verificou-se que o tratamento com concentração de 50% foi o que apresentou o menor percentual de ovos viáveis após as 72 horas de exposição, com uma média geral de 60.34 ± 24.83 e valor mínimo de 25% de ovos viáveis, e o TC+ apresentou uma baixa ação sobre os ovos de nematoides gastrintestinais com um percentual de 88.12 ± 14.50 após 72 horas de exposição (Tabela 4, Figura 6).

Tabela 4. Médias, desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV) e valores mínimo dos tratamentos com as cinco concentrações do extrato de capim santo (CS) e do tratamento controle positivo (TC+) e controle negativo (TC-) após as 72 horas de exposição dos ovos e larvas dos nematoides gastrintestinais *in vitro*.

Tratamento	Variável	Média geral	DP	CV	Mínimo
CS3	OVV	92.78	12.66	14.04	66.67
	LVV	100.00	0.0	0.0	100.00
CS6	OVV	90.12	8.81	9.50	80.00
	LVV	99.55	1.33	1.33	96.00
CS12	OVV	82.55	19.85	24.06	44.44
	LVV	99.11	1.45	1.46	96.00
CS25	OVV	76.25	22.64	29.69	36.36
	LVV	98.66	3.31	3.36	90.00
CS50	OVV	60.34	24.83	41.50	25.00
	LVV	96.00	6.40	6.60	80.00
TC+	OVV	88.12	14.50	16.45	66.67
	LVV	94.44	4.97	5.27	88.00
TC-	OVV	100.00	0.0	0.0	100.00
	LVV	100.00	0.0	0.0	100.00

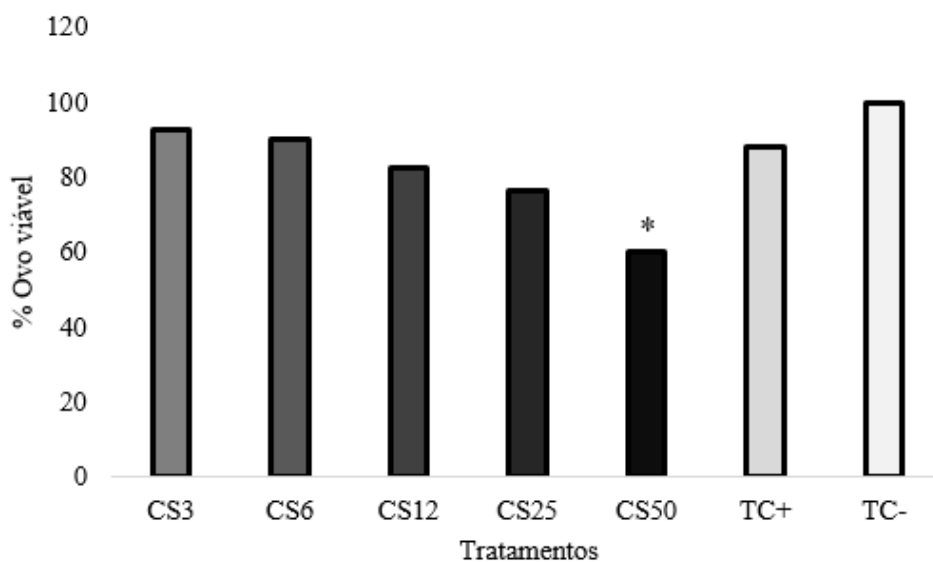


Figura 6. Percentual de ovos viáveis após exposição aos tratamentos com as cinco concentrações do extrato das folhas de capim santo (CS) e do tratamento controle positivo (TC+) e controle negativo (TC-). *Médias diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Já ação dos tratamentos com o extrato de capim santo (CS) e albendazole 5% (TC+) para os nematoides na fase larval foi ineficaz, apresentando os tratamentos CS50 e TC+ percentuais de 96 ± 6.4 e 94.44 ± 4.97 de larvas viáveis após 72 horas de exposição respectivamente (Tabela 4, Figura 7).

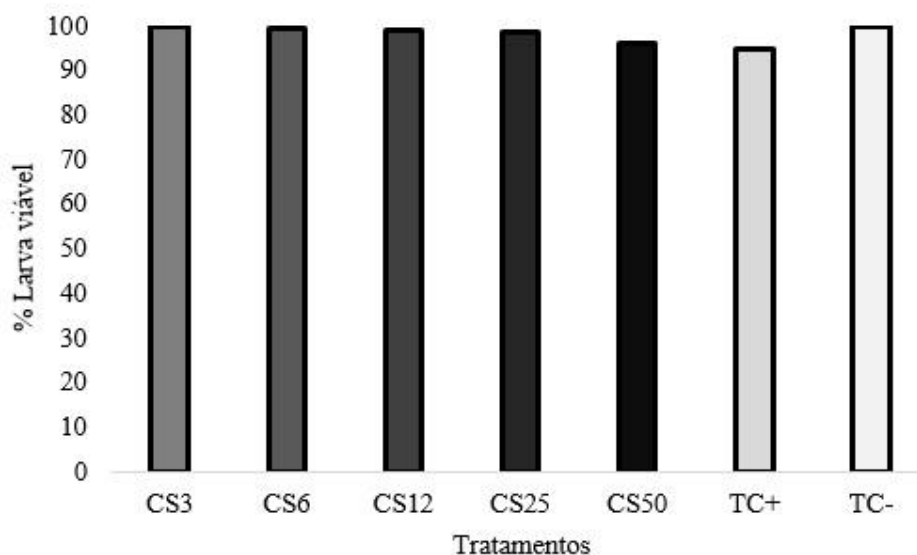


Figura 7. Percentual de larvas viáveis após exposição aos tratamentos com as cinco concentrações do extrato das folhas de capim santo (CS) e do tratamento controle positivo (TC+) e controle negativo (TC-).

Observou-se diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos com capim santo somente na concentração de 50% para ovo viável em comparação com a média do TC+. Os demais tratamentos não apresentaram diferenças estatísticas significativas (Tabela 5).

Tabela 5. Resumo da análise de variância e da comparação das médias dos tratamentos com as cinco concentrações do extrato das folhas de capim santo (CS) e do tratamento controle positivo (TC+) e controle negativo (TC-) sobre ovos (OVV) e larvas (LVV) viáveis pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Estatísticas	OVV	LVV
F	5.37	3.68
Pr > F	<.0002	0.0037
CV	19.90	3.45
Tratamento	Médias – OVV	Médias – LVV
CS50	60.34±24.83.69b*	96.00±6.4a
CS25	76.25 ±22.64ab	98.66±3.31a
CS12	82.55±19.85a	99.11±1.45a
CS6	90.12±8.81a	99.55±1.33a
CS3	92.78±12.66a	100.00±0.0a
TC+	88.12±14.50a	94.44±4.97a
TC-	100(±0.0)a	100±0.0a

*Médias seguidas por letras minúsculas iguais na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P < 0.05$).

Verificou-se correlação positiva significativa entre o percentual de ovos (OVV) e larvas (LVV) viáveis em função do tempo de exposição ao extrato de jurubeba e capim santo, sendo possível assim prever a ação *in vitro* dos extratos sobre os nematoides gastrintestinais no decorrer do tempo (Tabela 6).

Tabela 6. Equações de regressão (ER), coeficientes de variação (CV), determinação (R^2) e nível de significância (α) para as variáveis ovo viável (OVV), larva viável (LVV) em função do tempo de exposição ao extrato.

24 horas				
	ER	R^2	CV	A
Jurubeba	$Y_{ovv} = 94,59781 - 2,00211x + 0,01334x^2$	0,7725	20,75684	0,0001**
	$Y_{lvv} = 98,05165 - 0,23191x + 0,00040389x^2$	0,8277	1,95998	0,0001**
Capim Santo	$Y_{ovv} = 98,32506 + 0,39292x - 0,01411x^2$	0,5953	6,62355	0,0044*
	$Y_{lvv} = 100,10682 - 0,16633x - 0,00017087x^2$	0,0869	4,90448	0,0869 ^{ns}
48 horas				
Jurubeba	$Y_{ovv} = 96,65550 - 2,51049x + 0,03133x^2$	0,6796	17,40769	0,0011*
	$Y_{lvv} = 100,44540 - 0,14527x - 0,00082297x^2$	0,5092	3,67803	0,0140*
Capim Santo	$Y_{ovv} = 97,08912 - 1,13597x + 0,00995x^2$	0,5094	14,12111	0,0139*
	$Y_{lvv} = 100,0000 + 0x + 0x^2$	Ns	ns	Ns
72 horas				
Jurubeba	$Y_{ovv} = 73,07467 - 1,36361x + 0,00859x^2$	0,8091	16,09489	0,0001**
	$Y_{lvv} = 86,35013 - 3,68509x + 0,04969x^2$	0,7344	28,26299	0,0004**
Capim Santo	$Y_{ovv} = 87,01863 - 1,67832x + 0,01210x^2$	0,6721	22,16144	0,0012*
	$Y_{lvv} = 99,62652 + 0,05761x - 0,00231x^2$	0,4993	1,40260	0,0158*

* $p < 0,05$

** $p < 0,01$

ns: Não significativo ($p > 0,05$)

5.3 Estudo das atividades sub-crônicas dos extratos etanólicos da raiz de *S. paniculatum* e da folha de *C. citratus* sobre *Rattus norvegicus albinus*, Wistar

Quanto aos testes realizados nos ratos Wistar, observou-se que o peso médio corporal dos ratos tratados com água destilada (TC) foi $339,7 \pm 4,5g$ e capim santo (TCS) $325,2 \pm 6,8g$, não diferindo estatisticamente. Já os ratos tratados com o extrato de jurubeba (TJ) apresentaram a média do peso corporal $288,7 \pm 6,0g$, inferior ao dos ratos dos grupos de tratamento TC e TCS, com uma diferença de 51g e 36,5g respectivamente, o que foi estatisticamente significativo ao nível de 5% de significância, indicando que o extrato de jurubeba ocasionou diminuição no peso corporal nos ratos desse grupo experimental (Tabela 7).

Observou-se que o peso dos rins (direito e esquerdo) e do fígado foi maior no grupo TC, demonstrando que os extratos de jurubeba e capim santo diminuíram o tamanho desses órgãos

e conseqüentemente seu peso, entretanto, não houve diferença significativa entre os três tratamentos avaliados (Tabela 7).

Já o peso do cerebelo, a menor média foi do tratamento TJ, apresentando esse grupo uma diferença de 0,34g e 0,23g em relação aos tratamentos TC e TCS, sendo estatisticamente significativo apenas a diferença entre a média do grupo TJ em relação ao grupo TC (Tabela 7).

Tabela 7. ¹Peso médio corporal e de órgãos dos grupos experimentais.

² Tratamentos				
³ Parâmetros	TC	TJ	TCS	F Estatística P
Número de ratos	6	6	6	
Peso corporal (g)	339,7±4,5a	288,7±6,0b	325,2±6,8a	19,36 ^{0,0001}
Peso renal (g)				
Rim direito	1,45±0,05	1,26±0,08	1,29±0,14	1,09 ^{0,3609}
Rim esquerdo	1,39±0,07	1,23±0,12	1,21±0,14	0,79 ^{0,4766}
Peso hepático (g)	10,5±0,5	8,6±0,6	9,7±0,9	1,88 ^{0,1867}
Peso encefálico (g)	1,91±0,09a	1,57±0,07b	1,8±0,04ab	6,00 ^{0,0221}

¹Dados apresentados como média ± EPM.

²TC = controle (água destilada) via gavagem. Animais/grupo ($n = 6$), TJ = *S. paniculatum* (jurubeba 5000mg/kg/dia), e TCS = *C. citratus* (Capim santo 5000mg/kg/dia).

³Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey nível de 5% de significância.

5.4 Análise bioquímica da função hepática

Analisando-se a função hepática dos ratos Wistar por meio dos níveis séricos transaminases (alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), Fosfatase alcalina (FA) e Albumina (Al)), observou-se que houve um aumento na média dos parâmetros bioquímicos AST e FA no grupo TJ, apresentando diferenças estatísticas significativas em relação ao tratamento TC e TCS (Tabela 8).

No grupo TCS observou-se uma diminuição dos parâmetros bioquímicos AST e FA em relação aos demais tratamentos, apesar das diferenças não terem sido estatisticamente significativas (Tabela 8).

5.5 Análise bioquímica da função renal

Na avaliação da função renal, observou-se que houve uma elevação na média do nível sérico Ureia dos tratamentos TJ e TCS, diferindo esses dois tratamentos estatisticamente em relação ao grupo TC (Tabela 8).

Tabela 8. ¹Análise da função hepática e renal dos grupos experimentais.

³ Parâmetros	² Tratamentos			F Estatística P
	TC	TJ	TCS	
Número de ratos	6	6	6	
Análise Fígado				
Albumina (g/dL)	2,9±0,5	2,7±0,1	2,6±0,1	0,40 ^{0,6820}
Aspartato Aminotransferase (U/L)	120,1±4,7a	189,1±2,1b	106,6±8,2a	62,78 ^{0,0001}
Alanina Aminotransferase (U/L)	43,0±3,0	39,7±1,9	40,3±5,7	0,19 ^{0,8298}
Fosfatase Alcalina (U/L)	107,1±10,2a	154±8,2b	88,3±5,8a	6,00 ^{0,0221}
Análise Rins				
Ureia (mg/dL)	42,1±3,1a	55,8±0,8b	54,3±1,8b	12,50 ^{0,0012}
Creatinina (mg/dL)	0,8±0,02	0,9±0,01	1,0±0,02	0,29 ^{0,7552}

¹Dados apresentados como média ± EPM.

²Controle (água destilada) via gavagem. Animais/grupo (n = 6), *Solanum paniculatum* L. (Jurubeba) (5000mg/kg/dia), *Cymbopogon citratus* Stapf (Capim santo 5000mg/kg/dia) e

³Médias seguidas por letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey HSD nível de 5% de significância.

5.6 Análise histopatológica do fígado, rins e cerebelo de *Rattus norvegicus albinus*, Wistar

5.6.1 Histopatologia do fígado

Na análise histopatológica do fígado verificou-se no grupo experimental tratado com o extrato da raiz de jurubeba (TJ) um infiltrado inflamatório portal e hepatócitos necróticos (Figura 8 B₁). No grupo tratado com o extrato da folha de capim santo (TCS) observou-se lóbulo central com leve infiltrado inflamatório (Figura 8 C₁). No tratamento TC as estruturas estavam bem preservadas nos parênquimas hepático (Figura 8 A₁).

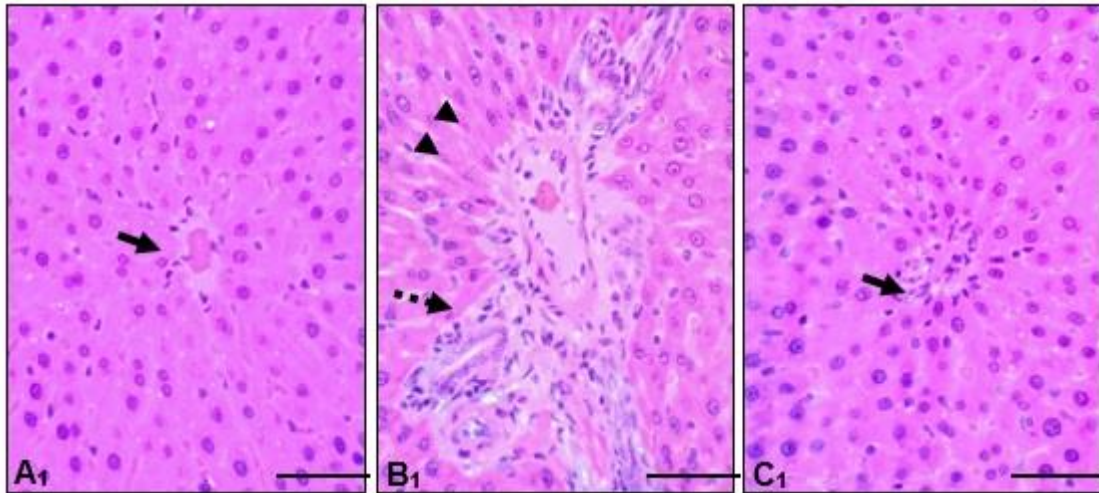


Figura 8. Fotomicrografias de cortes histológicos do fígado dos ratos dos grupos experimentais, corados com hematoxilina-eosina (HE) e examinados em microscopia de campo claro. Notar em **A₁** (TC = **controle**) estruturas bem preservadas nos parênquimas hepático. Em **B₁** (tratados com *S. paniculatum* = **TJ**), notar infiltrado inflamatório portal (seta tracejada) e hepatócitos necróticos (pontas de setas). Em **C₁** (tratados com *C. citratus* = **TCS**), notar lóbulo central com leve infiltrado inflamatório (seta). Escala de barra: 50µm. H.E.

5.6.2 Histopatologia dos rins

Na análise histopatológica dos rins do grupo experimental TJ, observou-se uma desorganização dos glomérulos e túbulos renais (Figura 9 B₂) e no grupo TCS verificou-se espaço subcapsular levemente diminuído (Figura 9 C₂). No TC verificou-se que as estruturas renal estavam bem preservadas (Figura 9 A₂).

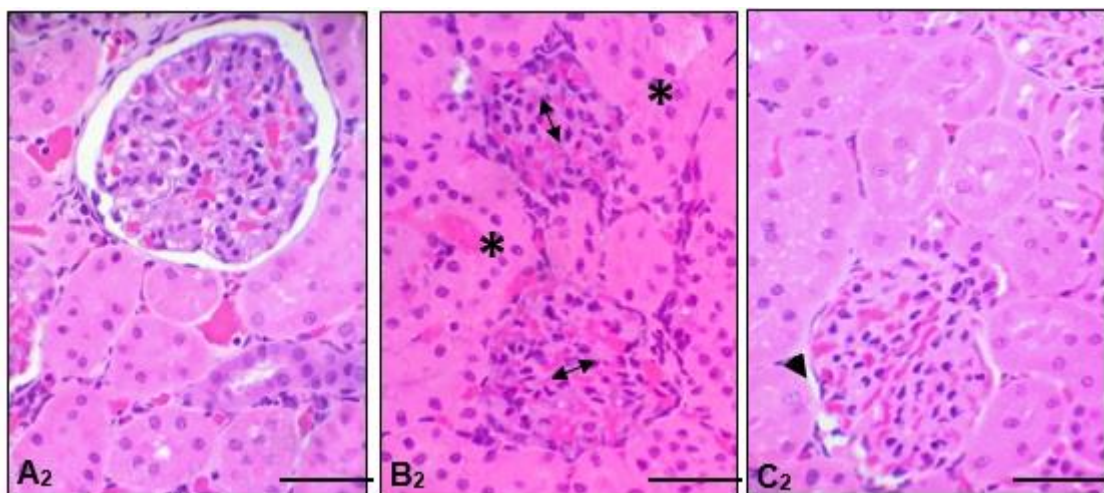


Figura 9. Fotomicrografias de cortes histológicos dos rins dos ratos dos grupos experimentais, corados com hematoxilina-eosina (HE) e examinados em microscopia de campo claro. Notar em **A₂** (TC = **controle**) estrutura renal bem preservada. Em **B₂** (tratados com *S. paniculatum* = **TJ**), desorganização dos glomérulos (seta dupla) e túbulos renais (asteriscos). Em **C₂** (tratados com *C. citratus* = **TCS**), espaço subcapsular levemente diminuído (pontas de seta). Escala de barra: 50µm. H.E.

5.6.3 Histopatologia do cerebello

Na análise histopatológica do cerebello, observou-se no grupo tratado com jurubeba uma vacuolização das células de Purkinje (Figura 10 B₃) e no tratamento com capim santo vacuolização das células de Purkinje discreta (Figura 10 – C₃). No TC verificou-se que as estruturas cerebelares estavam bem preservadas (Figura 10 A₃).

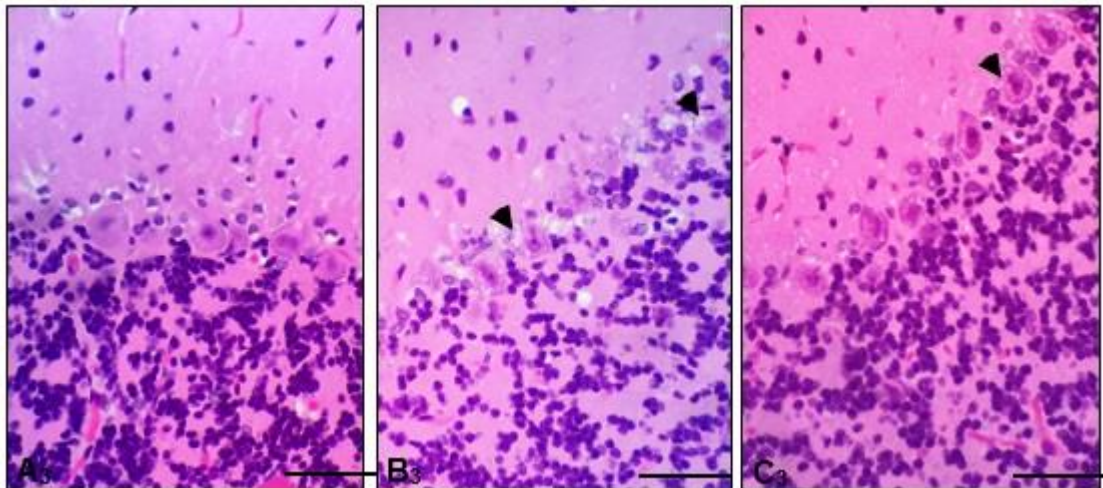


Figura 10. Fotomicrografias de cortes histológicos do cerebello dos ratos dos grupos experimentais, corados com hematoxilina-eosina (HE) e examinados em microscopia de campo claro. Notar em A₃ (TC = **controle**) estrutura cerebelar bem preservada. Em B₃ (tratados com *S. paniculatum* = TJ), vacuolização das células de Purkinje (pontas de setas). Em C₃ (tratados com *C. citratus* = TCS), vacuolização das células de Purkinje discreta (ponta de seta). Escala de barra: 50µm.

6 DISCUSSÃO

Nesse trabalho o rendimento do extrato de capim santo foi de 1,39% e do extrato da raiz de jurubeba 0,77%. Santos et al. (2009) observaram que a sazonalidade influencia no rendimento, sendo que os melhores rendimentos no processo de extração foram observados nas amostras colhidas no período matutino, em dias com altas temperaturas e altos índices pluviométricos.

A confirmação da presença de taninos flobabênicos no extrato da raiz de jurubeba e das folhas de capim santo potencializa a ação fitoterápica dessas plantas, o que é corroborado por Getachew (1999) que afirma que alguns animais que consomem plantas taniníferas apresentam resistência a parasitos internos. Os taninos apresentam um importante papel na nutrição animal, podendo exercer efeitos adversos e/ou benéficos na utilização de nutrientes, na saúde e na produção animal (NOZELLA, 2001).

O uso de plantas taniníferas tem sido indicado como alternativa aos anti-helmínticos químicos comerciais no controle de nematódeos gastrintestinais em pequenos ruminantes, estes estudos reforçam os resultados obtidos uma vez que os extratos etanólicos da raiz de jurubeba e das folhas de capim santo apresentam taninos, sugerindo que a ação ovicida e larvicida do extrato é atribuída principalmente a esse grupo químico.

Lawal et al. (2017) verificaram que a composição química de extratos de *C. citratus* varia de acordo com a origem geográfica, idade e natureza da planta e seus compostos isolados são de diversas classes químicas, incluindo taninos, esteróis, terpenóides, fenóis, cetonas, flavonóides e açúcares.

Sousa et al. (2013) recomendam que ao se avaliar a atividade anti-helmíntica de extratos de plantas devem ser considerados importantes fatores, como: tipo de extrato, parte da planta utilizada, concentração/dose, via de administração, bioensaio utilizado, espécie animal infectada e qual a espécie do parasita.

Nas análises anti-helmínticas a concentração dos extratos da raiz de jurubeba e das folhas de capim santo que apresentaram os melhores resultados quanto a sua eficácia sobre ovos de nematoides, foi na concentração de 50%, resultados esses superiores aos do fármaco utilizado como controle positivo. Vilela et al. (2009) realizaram no sertão paraibano um estudo fitoterápico *in vivo* do farelo de jurubeba e da associação da jurubeba e batata de purga em ovinos naturalmente infectados por nematóides gastrintestinais, e verificaram que os resultados dos tratamentos com as plantas medicinais estudadas foram superiores ao dos animais tratados com o fármaco albendazole, indicando essas plantas como alternativas viáveis para o controle

das endoparasitoses gastrintestinais de ovelhas mantidas em regime intensivo no semi-árido paraibano.

Macedo et al. (2015) avaliando a eficácia do decocto e do óleo essencial de *C. citratus* contra o nematoide *Haemonchus contortus* utilizando o teste *in vitro* de eclosão dos ovos, observaram que no grupo tratado com óleo de *C. citratus* a população *H. contortus* foi reduzida em 38,5% ($P < 0,05$) em comparação com o grupo controle, e que as concentrações efetivas necessárias para inibir 50% da eclosão dos ovos foram 0,46 para o extrato obtido por decocção e 0,14 para o óleo.

Nos testes *in vitro*, o extrato de *S. paniculatum* na concentração de 50% reduziu em média 32,31% ($P < 0,05$) das larvas de nematoides e o extrato de *C. citratus* não apresentou eficácia apresentando alto percentual médio de larvas viáveis (96%) na concentração de 50%, após 72 horas de exposição. O controle químico também não demonstrou eficiência significativa apresentando percentual médio de 94,44% de larvas viáveis no mesmo período. A ineficácia do extrato de capim santo sobre as larvas de nematódeos pode ser devido a forma de preparo do extrato e/ou às baixas concentrações testadas. Estudos mostraram que o efeito dos extratos aquosos da folha de *C. citratus* sobre cultivos de larvas de nematódeos gastrintestinais de caprinos, reduziram o percentual de larvas na concentração de 224 mg mL⁻¹ e que em concentrações menores a redução foi inferior a 95%, indicando assim que a redução do percentual de larvas viáveis esteja relacionada à concentração testada (ALMEIDA et al., 2003).

A baixa eficiência do controle positivo está associada à resistência anti-helmíntica, onde investigadores demonstraram através do teste de eclosão *in vitro* a resistência do *H. contortus* a todos os benzimidazóis após seleção com thiabendazole (BORGES, 2003), não devendo-se assim estimular o uso de anti-helmínticos associados em rebanhos comerciais, justamente para não acelerar a resistência (SILVA et al., 2008). Problemas com a resistência anti-helmíntica foi verificado também em rebanhos de caprinos em Mossoró-RN-Brasil, onde os resultados obtidos demonstraram que os nematoides gastrintestinais de caprinos localizados nessa região estão resistentes ao anti-helmíntico albendazole e ivermectina (COELHO et al., 2010).

A helmintose gastrointestinal representa um obstáculo à criação de caprinos, causando graves danos aos rebanhos, tais como retardo do crescimento, perda de peso e até morte (VIEIRA et al. 2014). Estes resultados indicam a necessidade de pesquisas que explorem todo o potencial das plantas e reafirma a importância das pesquisas fitoterápicas, o que ampliará a farmacopeia de plantas que demonstrem eficácia anti-helmíntica, reduzindo o percentual desses endoparasitas no hospedeiro, como os extratos de batata de purga e melão São Caetano que

também apresentaram-se como mais uma alternativa de plantas referenciadas como eficaz no controle dos parasitos gastrintestinais (GOMES et al., 2010).

S. paniculatum e *C. citratus* são comumente utilizadas na medicina popular brasileira e são espécies listadas na Farmacopeia Brasileira que pertencem à "Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde - SUS", o que fortalece a importância em determinar suas atividades, os níveis de toxicidade e a identificação de possíveis modificações ocasionadas por essas plantas nas estruturas microscópicas dos tecidos biológicos.

O peso total dos órgãos exerce efeito importante no metabolismo corporal, uma vez que uma diminuição ou um aumento no peso bruto de órgãos poderá afetar funções vitais no organismo. Nessa pesquisa verificou-se que a dose subcrônica de 5000mg/kg de peso corporal do extrato da raiz de *S. paniculatum*, após 30 dias de administração, ocasionou emagrecimento nos ratos e diminuição no peso do cerebelo desse grupo experimental, bem como a diminuição do peso dos rins (direito e esquerdo) e do fígado e vacuolização das células de Purkinje dos grupos tratados com *S. paniculatum* e *C. citratus* em relação ao grupo controle positivo. Também observou-se que houve um aumento na média dos parâmetros bioquímicos aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (FA). Essa elevação da AST sem elevação de ALT no tratamento com jurubeba, associado com o aumento da FA demonstrou indício de lesão hepática, o que foi confirmado na análise histopatológica do fígado, onde verificou-se um infiltrado inflamatório portal e hepatócitos necróticos. No grupo de ratos tratados com o extrato das folhas de *C. citratus* observou-se uma diminuição dos parâmetros bioquímicos AST e FA em relação aos demais tratamentos, ocasionando no lóbulo central um leve infiltrado inflamatório.

Na literatura verificou-se que a jurubeba é muito utilizada para o tratamento de distúrbios hepáticos e gastrointestinais, sendo que Mesia-Vela et al. (2002) verificaram que os extratos aquosos de raízes, caules e flores de jurubeba inibiram a secreção de ácido gástrico em ratos com dosagens de 418, 777 e 820 mg/kg de peso corporal, respectivamente. A administração do extrato da raiz no lúmen duodenal inibiu a secreção gástrica induzida por histamina e betanecol em ratos, além disso, na dosagem 1,2g/kg de peso corporal, protegia os animais contra a produção de lesões gástricas subsequentes à hipersecreção induzida pelo stress após restrição a frio. Esses autores não observaram sinais tóxicos após a administração dos diferentes extratos até 2g/kg de peso corporal, validando o uso foliar de *S. paniculatum* para tratar distúrbios gástricos.

Clementino-Neto et al. (2016) verificaram que o extrato etanólico bruto das partes aéreas de jurubeba, apresentaram atividade antidiarreica em camundongos, inibindo a

motilidade e secreção do intestino delgado, bem como atividade espasmolítica não seletiva no íleo da cobaia. E que o extrato não produziu toxicidade *in vitro* ou *in vivo*, apresentando atividade antidiarreica, inibindo equitativamente a frequência de defecação, sendo significativamente essa resposta dependente da dose, pois dose = $340,3 \pm 35,1$ mg/kg ocasionava a formação de fezes líquida.

De acordo com Ekpenyong et al. (2015) *C. citratus* é uma erva perene extensamente consumida devido seus efeitos medicinais e que grande número de trabalhos foram publicados descrevendo as ações farmacológicas, biológicas e terapêuticas desta erva. Esses autores destacam que os efeitos farmacológicos e biológicos dos principais fitoquímicos isolados dos extratos de *C. citratus* e do óleo essencial, possuem propriedades farmacocinéticas semelhantes, incluindo absorção, distribuição, metabolismo e excreção, e que os dados disponíveis justificam novos estudos que avaliem a farmacocinética do capim santo.

7 CONCLUSÕES

Conclui-se que o extrato etanólico de *S. paniculatum* (concentração 50%) apresentou *in vitro* atividade anti-parasitária sobre ovos e larvas de helmintos gastrintestinais. E o extrato etanólico de *C. citratus* (concentração 50%) apresentou atividade anti-parasitária somente sobre os helmintos gastrintestinais na fase de ovo.

A dose sub-crônica de 5g/Kg dos extratos etanólico de *S. paniculatum* e *C. citratus* ocasionaram alterações nos parâmetros bioquímicos e histopatológico do fígado, rins e cerebelo de *Rattus norvegicus albinus* (Wistar).

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L. L.; TEIXEIRA, A. A. C.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V. Histopathological analysis of the small intestine of pregnant rats exposed to sub-lethal doses of herbicides and treated with melatonin. **Experimental Pathology and Health Sciences**. v. 6, p. 63, 2014.
- ALMEIDA, M. A. O.; BOTURA, M. B.; SANTOS, M. M.; ALMEIDA, G. N. Efeitos dos extratos aquosos de folhas de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (capim santo) e *Digitaria insularis* (L) Fedde (capim-açu) sobre cultivo de larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos. **Ver Brás Parasitol Vet**, v. 12, n. 3, p. 125-129, 2003.
- ARAÚJO-LIMA, R. C. A. et al. Difusão do uso de plantas medicinais com ação antiparasitária: uma alternativa para o controle da verminose de caprinos e ovinos na região semi-árida da Paraíba. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA, 1, ENCONTRO NACIONAL INSTITUCIONAL DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA, 2, FEIRA UNIVERSIDADE E SOCIEDADE, 1., 2002, João Pessoa. **Resumos...** João Pessoa: COPREX/UFPB, 2002. p. 378.
- ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G. S. DE A.; AMORIM, E. P. DA R.; MUNIZ, M. DE 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.
- BORGES, C. C. L. Atividade *in vitro* de anti-helmínticos sobre larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de caprinos, utilizando a técnica de coprocultura quantitativa (Ueno, 1995). **Parasitol Latinoam**, n. 58, p. 42-47, 2003.
- CAMURÇA-VASCONCELOS; A. L. F. et al. Validação de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica. **Rev. Bras. Pl. Méd.**, Botucatu, v. 7, n. 3, p. 97-106, 2005.
- CLEMENTINO-NETO, J. et al. Toxicological, Antidiarrheal and Spasmolytic Activities of *Solanum paniculatum*. **Planta Med.** v. 82, p. 58-64, 2016.
- COELHO, W. A. C. et al. Resistência anti-helmíntica em caprinos no Município de Mossoró, RN. **Ci. Anim. Bras.**, Goiânia, v. 11, n. 3, p. 589-599, 2010.
- CUNHA, L. C. et al. Avaliação da toxicidade aguda do extrato aquoso de *Apeiba tibourbou* Aubl (Tiliaceae), em camundongos e ratos. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v. 34, n. 3, p. 357-362, 2013.
- EKPENYONG, C. E.; AKPAN, E.; NYOH, A. Ethnopharmacology, phytochemistry, and biological activities of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf extracts. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 13, n.5, p. 321-337, 2015.
- FERREIRA, M. S. C.; FONTELES, M.C. Aspectos etnobotânicos e farmacológicos do *Cymbopogon citratus* Stapf (capim limão). **Rev. Bras. Farm.** v. 70, n. 4, p. 94-97. 1989.
- FORNI-MARTINS, E. R.; MARQUES, M. C. M.; LEMES, M. R. Biologia floral e reprodução de *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae) no estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Bras. Bot.** v. 21, n. 2, 1998.

FURTADO, S. K. **Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no estado do Paraná: testes *in vitro* e *in vivo***. Curitiba. Dissertação [Mestrado em Agronomia]– UFPR; 2006, 147p.

GETACHEW, G. **Tannins in tropical multipurpose tree species: localization and quantification of tannins using histochemical approaches and the effect of tannins on *in vitro* rumen fermentation**. Stuttgart: Verlag Ulrich E. Grauer, 1999. 186 p.

GOMES, R. V. R. S. et al. Ação antiparasitária in vitro dos extratos etanólicos de *Operculina hAMILTONII* (batata de purga) e *Momordica CHARANTIA* (melão de são caetano) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos do semi-árido paraibano. **Acta Veterinária Brasilica**, v.4, n. 2, p. 92-99, 2010.

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.

HERD, R. Impactos ambientais associados aos compostos endectocidas. In: PADILHA, T. **Controle dos nematóides gastrintestinais em ruminantes**. Coronel Pacheco, MG: EMBRAPA – CNPGL, p.95-111, 1996.

HUBERT, J.; KERBOEUF, D. A new method for culture of larvae used in diagnosis of ruminant gastrointestinal strongylosis: comparison with fecal cultures. **Can. J. Comp. Med.** v. 48, p.63 – 71, 1984.

JASPER, R.; LOCATELLI, G. O.; PILATI, C.; LOCATELLI, C. Evaluation of biochemical, hematological and oxidative parameters in mice exposed to the herbicide glyphosate-Roundup®. **Interdiscip. Toxicol**, v. 5, p. 133-140, 2012.

LAWAL, O. A.; OGUNDAJO, A. L.; AVOSEH, N. O.; OGUNWANDE, I. A. Chapter 18 – *Cymbopogon citratus*. In: KUETE, V. **Medicinal Spices and Vegetables from Africa**, Elsevier, 2017, pages. 397-423.

LEMOS, A. J. J. M. Response of blastocyst–endometrium interactions in albino rats to sublethal doses of biological and synthetic insecticides. **Food Chem Toxicol.**, v. 49, p. 2541-2547, 2011.

LEMOS, A. J. J. M. et al. Effect of the combination of metformin hydrochloride and melatonin on oxidative stress before and during pregnancy, and biochemical and histopathological analysis of the livers of rats after treatment for polycystic ovary syndrome. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 280, p. 159-168, 2014.

LI, W. et al. Evaluation of the acute and sub-chronic oral toxicity of the herbal formula Xiaoer Chaigui Tuire Oral Liquid. **J. Ethnopharmacol.**, v.189, p. 290-299, 2016.

MACEDO, I. T. F. et al. Anthelmintic activity of *Cymbopogon citratus* against *Haemonchus contortus*. **Braz. J. Vet. Parasitol.**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 268-275, 2015.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. UFC Edições. p. 44-46, 1997.

MESIA-VELA, S. et al. *Solanum paniculatum* L. (Jurubeba): Potent inhibitor of gastric acid secretion in mice. **Phytomedicine**. v. 9, p. 508–514, 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria n. 971, de 3 de maio de 2006. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Edição n. 84 de 04/05/2006, p. 1-10.

MONTEIRO, D. R. et al. Levantamento pluviométrico do município de Patos-PB nos últimos 16 anos. In: I WORKSHOP INTERNACIONAL SOBRE ÁGUA NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO, 1., 2013, Campina Grande. **Anais...** Campina Grande: Anais Workshop Internacional sobre água no Semiárido Brasileiro/UEPB, 2013. p. 1-5.

NOZELLA, E. F. Determinação de taninos em plantas com potencial forrageiro para ruminantes. 2001. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

OECD, 2008. Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4 Health Effects. Test No 407: Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents, section. 4 OECD, OECD library. 10.1787/9789264070684-en.

PARASURAMAN, S.; RAVEENDRAN, R.; KESAVAN, R. Blood sample collection in small laboratory animals. **J Pharmacol Pharmacother**, v. 1, p. 87-93, 2010.

RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, p. 603-13, 2001.

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

SANTOS, A. et al. Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em função de sazonalidade e consorciamento. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.19, n.2A, p. 436-441, Abr./Jun. 2009.

SILVA, A. R. et al. Avaliação da eficácia de compostos anti-helmínticos sobre nematoides parasitos gastrintestinais (Strongyloidea) de caprinos. **Rev Bras Parasitol Vet**, supl. 1, v. 17, p. 120-125, 2008.

SILVA, L. L. S. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Dioclea grandiflora* Mart. ex. Benth., Fabaceae. **Rev Bras Farmacog**, v. 20, n. 2, p. 208-14, 2010.

SOTOMAIOR, C. S. et al. Identificação de Ovinos e Caprinos Resistentes e Susceptíveis aos Helminthos Gastrintestinais. **Rev. Acad.**, Curitiba, v. 5, n. 4, p. 397-412, 2007.

SOUSA, R. G. et al. Atividade anti-helmíntica de plantas nativas do continente americano: uma revisão. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 287-292, 2013.

SOUSA, R. V. R. **Estudo da eficácia de extratos botânicos sobre ovos e larvas de nematoides gastrintestinais de caprinos do sertão paraibano**. 2009. 85 p. Dissertação de mestrado apresentado ao PPGZ da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Patos – PB, 2009.

SOUSA, R. V. R. et al. Análise fitoquímica de extratos botânicos utilizados no tratamento de helmintos gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Rev Caatinga**, v. 24, n. 4, p. 172-177, 2011.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. Botânica Sistemática: Guia Ilustrativo para Identificação das Famílias de Angiospermas da Flora Brasileira, Baseado em APG II. Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA. Nova Odessa, SP, 2005.

UENO, H.; GUTIERRES, V. C. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1983.

VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R. Resistência anti-helmíntica em rebanhos caprinos no Estado do Ceará. **Pesq. Vet. Bras.** 19(3/4):99-103, jul./dez. 1999.

VIEIRA, L.S. **Produção Orgânica de Ovinos: O Controle de Verminose**. Disponível em: http://www.accoba.com.br/ap_info_dc.aspx?Info=384&idCategoria=5. Acesso em: 20 de junho de 2007.

VIEIRA, V. D. et al. Prevalence and risk factors associated with goat gastrointestinal helminthiasis in the Sertão region of Paraíba State, Brazil. **Trop Anim Health Prod** v. 46, n.2, p. 355–361, 2014.

VILELA, V. L. R. et al. Potencial anti-helmíntico da raiz de *Solanum paniculatum* Linnaeus (1762) em ovelhas do semi-árido Paraibano. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 3, n. 1, p. 20-24, 2009.