

Efeitos *in vitro* dos extratos de folhas de *Musa cavendishii* Linn. e de sementes de *Carica papaya* Linn. sobre culturas de larvas de nematódeos gastrintestinais de caprinos

Batatinha, M.J.M.*; Santos, M.M.; Botura, M.B.; Almeida, G.M.; Domingues, L.F.; Almeida, M.A.O.

Escola de Medicina Veterinária – UFBA, Salvador-BA, 40.170-110.

*Autor para correspondência: Escola de Medicina Veterinária – Universidade Federal da Bahia, Av. Ademar de Barros, n. 500, Ondina, Salvador-BA, 40.170-110, e-mail: mjmb@ufba.br

RESUMO: A utilização de várias plantas com atividade anti-helmíntica tem sido descrita na literatura. Com o objetivo de avaliar os efeitos dos extratos de folhas de *Musa cavendishii* Linn. (banana) e de sementes de *Carica papaya* Linn. (mamão) sobre cultivos de larvas de nematódeos gastrintestinais de caprinos foram utilizadas seis concentrações (mg/mL) do extrato aquoso das folhas de bananeira (130,6; 81,62; 51,01; 31,88; 19,92 e 12,45) e de sementes de mamão (464; 290; 181,25; 113,28; 70,8 e 44,25) para o tratamento dos cultivos de larvas, realizados em triplicata. Como controle positivo e negativo, foram utilizados cultivos de larvas tratados, respectivamente, com doramectina e água destilada. Os resultados revelaram uma redução do número de larvas da superfamília Strongyloidea superior a 95% na concentração de 130,6 mg/mL do extrato aquoso das folhas de bananeira e entre 464 e 290 mg/mL do extrato aquoso de sementes de mamão. Estudos *in vivo* tornam-se necessários no sentido de aprofundar os conhecimentos sobre a atividade anti-helmíntica destes extratos.

Palavras-Chave: *Musa cavendishii*, *Carica papaya*, anti-helmíntico, cabras, nematóides, *Musa cavendishii*, zingiberales

ABSTRACT: Anthelmintic effect of aqueous extract of *Musa cavendishii* Linn. leaves and *Carica papaya* Linn. seeds on gastrointestinal nematodes of goats. The use of several plants with anthelmintic effect has been referred in the literature. The purpose of this experiment was to evaluate the effects of *Musa cavendishii* Linn. leaves and *Carica papaya* Linn. seeds on gastrointestinal nematodes of goats. Six different concentrations (mg/mL) for the aqueous extract of *Musa cavendishii* leaves (130,6; 81,62; 51,01; 31,88; 19,92 e 12,45) and for aqueous extract of *Carica papaya* seeds (464; 290; 181,25; 113,28; 70,8 e 44,25) were used to treat feces cultures. Distilled water and doramectin were used to treat cultures considered to be negative and positive control. The results revealed a reduction of more than 95% of the Strongyloidea larvae on the concentration of 130,6 mg/mL for the *Musa cavendishii* extract and between the concentrations of 464 and 290 mg/mL for the *Carica papaya* extract. *In vivo* studies are necessary in order to obtain more information about the anthelmintic action of these extracts.

Key words: *Musa cavendishii*, *Carica papaya*, goats, anthelmintic, nematoda, *Musa cavendishii*, zingiberális.

INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica tem sido documentada em várias partes do mundo (Batista, 1999; Zafar *et al.*, 2001). Na prática de campo, produtores rurais empregam várias plantas no tratamento das parasitoses dos animais domésticos, e dentre estas destacam-se o uso de *Carica papaya* (mamão) e *Musa cavendishii* (banana). A atividade anti-helmíntica das folhas de banana (Braga *et al.*, 2001) e alguns

constituintes químicos voláteis, isolados das folhas, com atividade antibacteriana já foram identificados (Zeid, 1998).

Com relação ao mamão, inúmeros trabalhos demonstram suas atividades antioxidante (Osato *et al.*, 1993), antiprotzoária (Bhat & Surolia, 2001), antibacteriana (Emeruwa, 1982;), anti-helmíntica (Satrija *et al.*, 1994; Satrija *et al.*, 1995; Singh & Nagaich, 1999), antifúngica (Giordani *et al.*, 1996) e contraceptiva em machos de várias espécies animais (Lohiya *et al.*, 2000; Lohiya *et al.*, 2002). Alguns constituintes químicos do mamão presentes nas sementes frescas e relacionados com a atividade anti-

Recebido para publicação em 05/08/2003

Aceito para publicação em 04/02/2003

helmíntica foram identificados, como o benzilisotiocianato (Kermanshai *et al.*, 2001; Kumar *et al.*, 1991).

Como as informações científicas sobre o possível efeito anti-helmíntico das folhas de bananeira e das sementes de mamão sobre nematódeos gastrintestinais de caprinos são escassas, a avaliação *in vitro* dos extratos aquosos de folhas de bananeira e de sementes de mamão sobre larvas de terceiro estágio de nematódeos gastrintestinais de caprinos poderá fornecer subsídios para que novos princípios ativos com atividade anti-helmíntica possam ser estudados.

MATERIAL E MÉTODO

Preparação dos extratos aquosos

As amostras vegetais foram identificadas pela Dra. Marta Fagundes Neves, e armazenadas no Laboratório de Botânica Dr. Antonio Nonato Marques na Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola, Salvador, Bahia, com exicata nº 546 para bananeira e nº 722 para mamoeiro.

As folhas de bananeira coletadas de um mesmo local no município de Lauro de Freitas, Bahia, e sementes de mamão maduro obtidas de um mesmo estabelecimento comercial localizado no município de Salvador, Bahia, foram secas à temperatura ambiente e submetidas, separadamente, a uma extração aquosa sob homogeneização mecânica por um período de 24 horas, sendo em seguida filtradas e liofilizadas. Os extratos foram acondicionados em frascos âmbar e mantidos congelados até o momento da sua utilização.

A determinação das concentrações dos extratos foi baseada em resultados obtidos de experimentos pilotos, onde as concentrações de 130,6 mg/mL e 464 mg/mL revelaram-se como sendo as mais eficazes para os extratos aquosos de folhas de bananeira e de sementes de mamão, respectivamente. As concentrações testadas foram: 130,6; 81,62; 51,01; 31,88; 19,92 e 12,45 mg/mL para o extrato de folhas de bananeira, e de 464;

290; 181,25; 113,28; 70,8 e 44,25 mg/mL para o extrato aquoso das sementes de mamão.

Realização dos cultivos de larvas

As amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal de caprinos naturalmente infectados com helmintos gastrintestinais e mantidos na Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia. Estas amostras foram submetidas à contagem de ovos por grama de fezes (OPG) segundo Taira (1980), e aquelas que apresentavam OPG maior que 2000 eram misturadas, formando um único homogeneizado para a realização dos cultivos de larvas (Ueno *et al.*, 1997).

As diferentes concentrações dos extratos foram testadas, em triplicata, nos cultivos de larvas constituídos de 2 g de fezes, 2g de serragem e 2 mL do extrato, e incubadas durante sete dias em estufas a 34°C. Cultivos de larvas foram também tratados com doramectina (Dectomax) e água destilada, representando os controles positivo e negativo, respectivamente. Após o sétimo dia, as larvas infectantes foram coletadas dos cultivos de larvas e identificadas por gênero (Ueno & Gonçalves, 1988). Todo o delineamento experimental foi repetido três vezes para assegurar a validação dos resultados.

Análise dos resultados

A eficácia de cada concentração dos extratos sobre as larvas de nematódeos gastrintestinais de caprinos foi determinada pelo cálculo dos percentuais de redução (Vizard & Wallace, 1987).

Devido à grande variação do número de larvas da superfamília Strongyloidea observado nas diferentes concentrações testadas, estes valores foram submetidos à transformação logarítmica, empregando-se a equação: $y = \log(x+25)$ (Box & Cox 1964). Em seguida estes dados foram analisados pelo Teste de Variância Univariada, utilizando o programa estatístico SPSS (versão 10.0) para a avaliação da significância do tratamento com as diferentes concentrações dos extratos.

TABELA 1 – Média aritmética do número de larvas da superfamília Strongyloidea obtidas de culturas de fezes de caprinos tratadas com extrato aquoso de folhas de bananeira.

		Concentrações do extrato aquoso de banana (mg/mL)						
Gênero de larvas	Doramectin	130,6	81,62	51,01	31,88	19,92	12,45	Água destilada
<i>Haemonchus</i>	0 ^a	102 ^b	442 ^c	1389 ^d	1870 ^d	2188 ^d	1679 ^d	1604 ^d
<i>Oesophagostomum</i>	0 ^a	7 ^a	110 ^b	309 ^c	514 ^d	488 ^{cd}	411 ^{cd}	369 ^{cd}
<i>Trichostrongylus</i>	0 ^a	0 ^a	8 ^{ab}	19 ^{bc}	34 ^d	33 ^{cd}	25 ^{cd}	26 ^{cd}
Total	0 ^a	108 ^a	553 ^b	1707 ^c	2420 ^{cd}	2700 ^d	2116 ^{cd}	1999 ^{cd}

Letras minúsculas comparam valores nas linhas (p<0,05)

TABELA 2 – Percentual de redução do número de larvas de nematódeos gastrintestinais de caprinos após tratamento de cultivos de larvas com extrato aquoso de folhas de bananeira.

Concentração (mg/mL)	<i>Haemonchus</i>	<i>Oesophagostomum</i>	<i>Trichostrongylus</i>	Total
130,6	97,92	95,80	71,52	96,45
81,62	93,88	88,53	56,76	81,43
51,01	19,50	24,12	25,95	73,34
31,88	0	0	0	0
19,92	0	0	0	0
12,45	0	0	0	0
Doramectina	99,33	97,08	71,51	98,43
Água destilada	0	0	0	0

RESULTADO E DISCUSSÃO

Na análise das médias do número de larvas da superfamília Strongyloidea no tratamento com o extrato aquoso de folhas de bananeira (Tabela 1), verificou-se redução significativa ($p < 0,05$) do número de larvas totais nas concentrações de 81,62 e 130,6 mg/mL. Entretanto, a eficácia terapêutica deste extrato apenas foi observada na maior concentração testada (130,6 mg/mL) (Tabela 2).

Considerando que a eficácia de um anti-helmíntico é assegurada quando o percentual de redução do número de ovos é superior a 95% (Horner & Bianchin, 1989), o extrato aquoso das folhas de bananeira apresentou eficácia elevada na concentração de 130,6 mg/mL para o total de larvas, *Haemonchus* e *Oesophagostomum*, enquanto que

nas demais concentrações testadas o percentual de redução permaneceu inferior a 95% (Tabela 2).

Resultados semelhantes foram encontrados por Braga *et al.* (2001) ao observarem redução significativa do número de nematódeos gastrintestinais de bezerros de três a cinco meses de idade naturalmente infectados tratados com folha de bananeira.

A análise estatística do número de larvas da superfamília Strongyloidea obtidas de culturas de fezes de caprinos tratadas com o extrato aquoso de sementes de mamão revelou redução significativa ($p < 0,05$) do número de larvas totais nas concentrações de 181,25 e 464 mg/mL (Tabela 3). Entretanto, a eficácia terapêutica deste extrato apenas foi observada nas duas maiores concentrações (Tabela 4).

TABELA 3 – Média aritmética do número de larvas da superfamília Strongyloidea obtidas de culturas de fezes de caprinos tratadas com extrato aquoso de sementes de mamão.

Concentrações do extrato aquoso de mamão (mg/mL)								
Gênero de larvas	Doramectina	464	290	181,25	113,28	70,8	44,25	Água destilada
<i>Haemonchus</i>	2 ^a	61 ^b	11 ^{ab}	452 ^c	612 ^{cd}	402 ^c	774 ^{cd}	1069 ^d
<i>Oesophagostomum</i>	0 ^a	4 ^a	1 ^a	72 ^b	239 ^c	103 ^b	238 ^{bc}	344 ^c
<i>Trichostrongylus</i>	0 ^a	5 ^a	2 ^a	60 ^{bc}	105 ^{cd}	37 ^b	77 ^{cd}	87 ^{cd}
Total	2 ^a	70 ^a	14 ^a	584 ^b	957 ^{bc}	542 ^b	1089 ^{bc}	1499 ^c

Letras minúsculas comparam valores nas linhas ($p < 0,05$)

TABELA 4 – Percentual de redução do número de larvas de nematódeos gastrintestinais de caprinos após tratamento de cultivos de larvas com extrato aquoso de mamão.

Concentração (mg/mL)	<i>Haemonchus</i>	<i>Oesophagostomum</i>	<i>Trichostrongylus</i>	Total
464	96,10	95,92	87,87	95,16
290	98,06	96,61	90,14	97,11
181,25	59,16	79,57	45,18	63,58
113,28	46,84	51,34	21,45	47,04
70,8	57,56	65,72	63,18	44,67
44,25	24,00	27,54	35,84	28,20
Doramectina	98,74	96,02	91,48	97,79
Água destilada	0	0	0	0

No tratamento dos cultivos de larvas, com o extrato aquoso das sementes de mamão, foi observada eficácia acima de 95% nas concentrações superiores a 290 mg/mL para larvas totais e dos gêneros *Haemonchus* e *Oesophagostomum*, enquanto que para as demais concentrações a redução variou entre 24 e 79,57% (Tabela 4).

Observou-se baixos percentuais de redução de larvas do gênero *Trichostrongylus* nos testes realizados com ambos os extratos. Este fato pode ser atribuído a uma limitação do teste de avaliação do percentual de redução, que impõe um limite mínimo de 200 ovos presentes no grupo controle negativo; caso contrário, o teste sempre acusará um percentual de redução inferior a 95% (Horner & Bianchin, 1989).

Os resultados obtidos com o extrato aquoso de sementes de mamão corroboram com aqueles observados por Singh & Nagaich (1999) ao relatarem 100% de eficácia *in vitro* do extrato aquoso das sementes de mamão sobre larvas de *Ascaridia galli* e *Heterakis gallinae*.

A identidade dos constituintes químicos das sementes de mamão responsáveis pela ação anti-helmíntica ainda não foi completamente elucidada. Kermanshai *et al.* (2001) sugerem que o benzilisotiocianato seja o principal ou o único composto responsável por esta atividade. Estes autores estabeleceram uma correlação positiva entre a atividade anti-helmíntica e a presença deste composto no óleo das sementes de mamão. A inibição do metabolismo energético e a interferência na atividade motora do *Ascaridia galli*, utilizado como modelo biológico, podem estar relacionados com o mecanismo de ação do benzilisotiocianato (Kumar *et al.*, 1991).

Trabalhos realizados previamente mostraram que tanto os extratos aquosos quanto aqueles à base de solventes orgânicos das sementes de mamão apresentavam atividade anti-helmíntica. Kermanshai *et al.* (2001) sugerem que o precursor do benzilisotiocianato é um composto solúvel em água, o que poderia, desta forma, explicar a atividade anti-helmíntica observada nos extratos aquosos das sementes de mamão.

Alta eficácia anti-helmíntica do látex de mamão foi observada por Satrija *et al.* (1994) ao tratarem *in vivo* suínos infectados por *Ascaris suum*, com 2, 4 e 8 g/kg deste produto em dose única, sendo relatada redução de 100% quando utilizada a dose mais alta. O látex de mamão também apresentou eficácia de 84,95% no tratamento *in vivo* de camundongos infectados com *Heligmosomoides polygyrus* (Satrija *et al.*, 1995).

Baixo percentual de redução (3,2%) foi observado por Vieira *et al.* (1999) ao tratar caprinos com 2 g/kg de sementes de mamão por via oral, em dose única e sob a forma de suco. No entanto, os

autores referem-se à administração das sementes de mamão sob a forma de suco filtrado, sem descreverem, se a dose utilizada foi referente à quantidade em mg das sementes de mamão ou de constituintes químicos contidos no suco.

A concentração do extrato de folhas de bananeira necessária para promover atividade anti-helmíntica contra larvas de nematódeos gastrintestinais de caprinos foi menor do que aquela utilizada no teste com o extrato de sementes de mamão, revelando, desta forma, a maior eficácia do extrato de bananeira. Estudos *in vivo* tornam-se necessários no sentido de aprofundar os conhecimentos sobre a ação anti-helmíntica destes extratos.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo sugerem que os extratos aquosos das folhas de bananeira e das sementes de mamão são eficazes no tratamento *in vitro* de nematódeos gastrintestinais de caprinos, sendo o extrato de bananeira mais eficaz.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- BATISTA, L.M. **Atividade ovicida e larvicida de *Spigelia anthelmia* e *Mormodica charantia* sobre *Haemonchus contortus***, 1999. 50p. Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza.
- BHAT, G.P., SUROLIA, N. *In vitro* malarial activity of extracts of three plants used in the traditional medicine of India. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.65, n.4, p.304-8, 2001.
- BOX, G.E.P., COX, D.R. An analysis of transformations. **Journal of the Royal Statistical Society**, n.26, p.211-43, 1964.
- BRAGA, D.B., BRAGA, M.M., MATTOS, D.G., *et al.* Avaliação preliminar da atividade anti-helmíntica da folha de bananeira (*Musa* sp.) em bovinos. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.8, n.2, p.127-8, 2001.
- EMERUWA, A.C. Antibacterial substance from *Carica papaya* fruit extract. **Journal Natural Products**, v.45, n.2, p.123-7, 1982.
- GIORDANI, R., CARDENAS, M.L., RAFFORT, J., *et al.* Fungicidal activity of latex sap from *Carica papaya* and antifungal effect of D(+)-glucosamine on *Candida albicans* growth. **Mycoses**, v.39, n.3/4, p.103-10, 1996.
- HORNER, M.R., BIANCHIN, I. Teste para quantificar a resistência de nematódeos contra produtos antihelmínticos, **Comunicado Técnico: CNPQ**, n.32, p.1-5, 1989.
- KERMANSCHAI, R., MCCARRY, B.E., ROSENFELD, J., *et al.* Benzylisothiocyanate is the chief or sole

- anthelmintic in papaya seed extracts. **Phytochemistry**, n.57, p.427-35, 2001.
- KUMAR, D., MISHRA, S.K., TRIPATHI, H.C. Mechanism of anthelmintic action of benzylisothiocyanate. **Fitoterapia**, v.65, n.5, p.403-10, 1991.
- LOHIYA, N.K., PATHAK, N., MISHRA, P.K., *et al.* Contraceptive evaluation and toxicological study of aqueous extracts of the seeds of *Carica papaya* in male rats. **Journal of Ethnopharmacology**, n.70, p.17-27, 2000.
- LOHIYA, N.K., MANIVANNAN, B., MISHRA, P.K., *et al.* Chloroform extract of *Carica papaya* seeds induces long-term reversible azoospermia in langur monkey. **Asian Journal of Andrology**, v.4, n.1, p.17-26, 2002.
- OSATO, J.A., SANTIAGO, L.A., REMO, G.M., *et al.* Antimicrobial and antioxidant activities of unripe papaya. **Life Sciences**, v.53, n.17, p.1383-9, 1993.
- SATRIJA, F., NANSEN, P., BJORN, H., *et al.* Effect of papaya latex against *Ascaris suum* in naturally infected pigs. **Journal of Helminthology**, v.68, n.4, p.343-6, 1994.
- SATRIJA, F., NANSEN, P., MURTINI, S., *et al.* Anthelmintic activity of papaya latex against patent *Heligmosomoides polygyrus* infection in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v.48, n.3, p.161-4, 1995.
- SINGH, K., NAGAICH, S. Efficacy of aqueous seed extract of *Carica papaya* against common poultry worms: *Ascaridia galli* and *Heterakis gallinae*. **Journal of Parasitic Diseases**, v.23, n.2, p.113-6, 1999.
- TAIRA, N. O'ring technique. In : SMIMIZU, T. *et al.* **Bujatries**. 2 ed. Tokio : Kindai publi, 1980 p.89-90
- UENO, H., GONÇALVES, P.C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 2° ed. República Dominicana : Universidade Autonoma de Santo Domingo. 1988. 50p.
- UENO, H., ARAUJO, F.R., BORGES, C.C.L., *et al.* **Coprocultura quantitativa para larvas de Strongyloidea em nematódeos gastrintestinais de caprinos**. Salvador: JICA, 1997. 19p.
- VIEIRA, L.S., CAVALCANTE, A.C.R., PEREIRA, M.F., DANTAS, L.B., XIMENES, L.S.F. Evaluation of anthelmintic efficacy of plants available in Ceará State, North-east Brazil, for the control of goat gastrointestinal nematodes. **Revue Médecine Vétérinaire**, v.150, n.5, p.447-52, 1999.
- VIZARD, A.L., WALLACE, R.J. A simplified egg count reduction test. **Australian Veterinary Journal**, v.64, n.4, p.109-11, 1987
- ZAFAR, I., NADEEM, Q.K., KHAN, M.N., *et al.* In vitro anthelmintic activity of *Allium sativum*, *Zingiber officinale*, *Curcubita mexicana* and *Ficus religiosa*. **International Journal of Agriculture and Biology**, v.3, n.4, p.454-57, 2001.
- ZEID, A.H.S.A. GC/MS analysis and antimicrobial activity of the volatile constituents of flowers and leaves of some *Musa* species. **Egyptian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.39, n.4-6, p.277-88, 1998.