

## EFEITO *IN VITRO* DO EXTRATO DE *Leonurus sibiricus* (Lamiaceae) CONTRA trichostrongylídeos

Idelvânia dos Anjos Nonato<sup>1\*</sup>, Gabriel Domingos Carvalho<sup>2</sup>; Camilo Amaro Carvalho<sup>3</sup>, Rogério Pinto<sup>4</sup>, Artur Kanadani Campos<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (UFV) – Viçosa/Brasil; [vania.dosanjos@gmail.com](mailto:vania.dosanjos@gmail.com)\*

<sup>2</sup> Professor do Instituto Federal do Norte de Minas Gerais (IFNMG)

<sup>3</sup> Professor do Departamento de Medicina e Enfermagem da UFV

<sup>4</sup> Professor da Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde – UNIVIÇOSA

<sup>5</sup> Professor do Departamento de Veterinária da UFV

Recebido em: 31/03/2015 – Aprovado em: 15/05/2015 – Publicado em: 01/06/2015

### RESUMO

A erva-de-macaé (*Leonurus sibiricus*), da família Lamiaceae, é uma planta utilizada no tratamento de várias doenças, porém são poucos os estudos sobre a sua ação farmacológica. Estudos prévios demonstraram o efeito de extratos de *L. sibiricus* na mortalidade de larvas de estrongilídeos de eqüídeos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia *in vitro* de extratos aquosos de *L. sibiricus*, de diferentes partes do vegetal (caule e folhas), em concentrações diferentes (5% e 10%), na eclodibilidade de ovos e mortalidade de larvas de helmintos. Verificou-se que os tratamentos de caule 10%, caule 5%, folha 10% e folha 5% apresentaram, nesta ordem, os maiores números de larvas mortas. Mesmo em concentrações baixas (5 e 10%) o extrato aquoso de *L. sibiricus* mostrou-se eficaz na mortalidade das larvas. Os extratos do caule foram mais eficientes do que os de folha. O tratamento com extrato aquoso do caule a 10% apresentou os melhores resultados, demonstrando o potencial larvicida desta planta.

**PALAVRAS-CHAVE:** erva-de-macaé, fitoterapia, helmintose.

### IN VITRO EFFECT OF *Leonurus sibiricus* (Lamiaceae) EXTRACT AGAINST trichostrongylides

#### ABSTRACT

The herb-of-macae (*Leonurus sibiricus*), Lamiaceae family, is a plant used in the treatment of various diseases, but there are few studies about its pharmacological action. Previous studies have demonstrated the effect of extracts of *L. sibiricus* on the larval mortality of equine strongyles larvae. The aim of this study was to evaluate the *in vitro* efficacy of aqueous extracts of *L. sibiricus* from different parts of the plant (stem and leaves) at different concentrations (5% and 10%) at the eclodibility eggs and larval mortality of helminths. It was found that the treatments of stem 10%, stem 5%, leaf 10% and leaf 5% were, in this order, the highest values of dead larvae. Even in low concentrations (5 and 10%) the aqueous extract of *L. sibiricus* was effective on larval mortality. The stem extracts were more efficient than the leaf extracts. Treatment with aqueous extract of the stem 10% showed the best results, demonstrating the larvicide potential of this plant.

**KEYWORDS:** helminth diseases, herb-of-macae, phytotherapy.

## INTRODUÇÃO

As infestações por helmintoses têm grande valor econômico em nosso país, em função do manejo utilizado na criação de ovinos e caprinos, que favorece o alto índice de parasitos (SALGADO, 2011; OLIVEIRA, 2013). O mercado da carne ovina no Brasil está cada vez mais em crescimento, uma vez que o preço pago pela carne é bem melhor que a carne bovina produzida com o mesmo manejo, porém a produção está mais dependente do mercado externo, por ter maior saída (ESTEVES et al., 2010; SOUZA, 2012; SOUZA et al., 2013). Além disso, a condição climática subtropical favorece o desenvolvimento de espécies de parasitas, acarretando grandes prejuízos (COSTA et al., 2011).

É comum assim como na bovinocultura, fazer terminação de ovinos a pasto, sendo essa característica uma desvantagem no controle das endoparasitoses, devido a infestação nas pastagens (ROCCO, et al., 2012). Os principais gêneros de nematóides que acometem ovinos e caprinos são *Haemonchus*, *Trichostrongylus* e *Cooperia* da família Trichostrongylidae; *Oesophagostomum* da família Oesophagostomidae; *Skrjabinema* da superfamília Oxyuroidea; *Strongyloides* da superfamília Rhabditoidea e *Trichuris* da família Trichuridae. Sendo os mais comuns de infestações *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus* identificados em diferentes regiões (CARVALHO et al., 2011; SOUSA et al., 2013).

As discussões a respeito do controle de helmintos estão centradas no princípio de que a população parasitária deve ser manejada de forma a não causar problemas clínicos nos hospedeiros ou perdas na produção, de forma que essa carga diminua de maneira satisfatória. Sendo assim observa-se que a ovinocultura necessita de maior subsídio científico, visando não só o crescimento da atividade, mas também à sua sustentabilidade. Fatores como raça, idade e estado nutricional e fisiológico podem influenciar a suscetibilidade aos parasitas (CHAGAS et al., 2008; RAMOS, 2013).

O conhecimento das propriedades curativas das plantas medicinais evolui ao longo dos anos e o seu uso acompanha a história da humanidade e da medicina (CARVALHO et al., 2008). O uso de fitoterápicos no controle de verminoses é uma alternativa que pode reduzir custos com o uso de anti-helmínticos, bem como o aparecimento de resistência parasitária aos medicamentos alopáticos (LÔBO, 2009).

A erva-de-macaé ou rubim (*Leonurus sibiricus* L.), pertence à família Lamiaceae e ordem Lamiales. Produz terpenóides e substâncias fenólicas com efeitos alelopáticos (LARCHER, 2000). Em sua composição química possui alcalóides como estaquidrina e leonurina e alguns flavonóides. Alguns estudos analisaram os constituintes da erva-de-macaé e observaram que em sua composição havia presença de 13 compostos, sendo que dentre os identificados destaca-se a predominância dos trans-cariofileno, alfa-humuleno e germacreno-D, os quais são responsáveis por 70% da composição do óleo dessa planta. Essas substâncias apresentam propriedades alelopáticas tendo ação antibacteriana, antifúngica e inibidores enzimáticos (ALMEIDA et al., 2006).

Estudos fitoquímicos dos extratos de *L. sibiricus* revelaram metabólitos primários como carboidratos, aminoácidos e lipídeos e metabólitos secundários como compostos fenólicos, terpenóides, óleos essenciais e alcalóides, sendo que estes possibilitam considerar esta espécie vegetal possuidora de um potencial efeito tóxico ou anti-helmíntico (MARTINS et al., 2010).

Com relação a eficácia anti-helmíntica das plantas da família Lamiaceae, há

estudos que sugerem que elas sejam eficazes no tratamento de nematóides gastrointestinais de bovinos (NASCIMENTO et al., 2008). REIS (2009) demonstrou o efeito de extratos de *L. sibiricus* na mortalidade de larvas de estrongilídeos de equídeos, e menor eclodibilidade dos ovos.

Tendo em vista a importância das helmintoses para a produção de ovinos, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito *in vitro* de extratos aquosos de *L. sibiricus*, de diferentes partes do vegetal (caule e folhas), em concentrações diferentes (5% e 10%), na eclodibilidade de ovos e mortalidade de larvas de *Trichostrongylidae*, pelo método da coprocultura quantitativa.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção do extrato vegetal de *Leonurus sibiricus*

Foram coletadas plantas da espécie *L. sibiricus* no município de Viçosa, localizado na Zona da Mata Norte há 649 metros acima do nível do mar com temperatura amena, média anual de 13,2°C para a temperatura mínima, e de 25,6°C para a temperatura máxima a área do município é de 279 km<sup>2</sup>, latitude a 20 graus 45' 20" S, longitude a 42 graus 52'40"O), Minas Gerais - Brasil. Estas foram selecionadas, limpas e secas em estufa a 40°C por três dias para a desidratação completa. As folhas e caule foram separados e moídos, sendo as raízes desprezadas. Foram preparadas soluções aquosas nas concentrações de 5 e 10%, utilizando-se 10 e 20 gramas de folhas moídas e do caule da planta, individualmente. Seguindo-se a metodologia proposta por CARVALHO et al., (2008), os constituintes foram misturados e submetidos a extração por ultrassom (Unique<sup>®</sup> - MaxiClean 1400) por 60 minutos. A mistura foi coada a vácuo para obtenção máxima da solução, removendo-se a matéria seca. Estas soluções foram transferidas para frascos de vidro âmbar, devidamente identificados, e acondicionados a 4°C em geladeira.

### Obtenção das amostras de fezes

As amostras de fezes foram colhidas de ovinos naturalmente infectados. As fezes foram coletadas diretamente da ampola retal, em quantidade de aproximadamente 10 gramas. Foi realizada a contagem de ovos por grama de fezes (OPG), de acordo com técnica de Gordon e Whitlock modificada (UENO & GONÇALVES, 1998 citado por CHAGAS et al., 2008). O número médio de ovos foi avaliado, e as amostras com alta contagem de ovos de parasitos foram selecionadas para realização da coprocultura ou "cultura de fezes", de acordo com o método de Loss modificado por ARAÚJO et al., (2006).

As amostras contendo ovos correspondentes às características morfológicas típicas, de ovos produzidos por integrantes da Superfamília *Strongyloidea*, Família *Trichostrongylidae*, foram incluídas neste estudo.

### Realização da Coprocultura e Método de Baermann

Para a análise da eficácia dos extratos, foram realizadas as coproculturas e a recuperação das larvas com diferentes concentrações do extrato aquoso, para diferentes partes da planta, caule e folhas, utilizando-se vermiculita segundo método de Loss modificado, de acordo com ARAÚJO et al., (2006).

Foram realizadas 36 coproculturas, totalizando seis repetições para cada um dos seis grupos de tratamento, estes tratamentos adicionados uma quantidade

padrão de 8 mL para cada repetição, onde se tem:

- a) Grupo 1 (controle negativo): coprocultura para a recuperação das larvas, adicionando água mineral em cada amostra.
- b) Grupo 2: coprocultura com extrato das folhas da erva-de-macaé a 5%.
- c) Grupo 3: coprocultura com extrato das folhas da erva-de-macaé a 10%.
- d) Grupo 4: coprocultura com extrato do caule da erva-de-macaé a 5%.
- e) Grupo 5: coprocultura com extrato do caule da erva-de-macaé a 10%.
- f) Grupo 6: coprocultura usando o dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) a 0,33mM, como grupo positivo para inativação das larvas, segundo técnica descrita por CARVALHO et al. (2009).

As coproculturas foram colocadas em estufa de crescimento a 25°C por sete dias, e após este período foi realizado o método de Baermann de acordo com ARAÚJO et al., (2006), onde o conteúdo das coproculturas foi colocado em contato com água a 45°C no aparelho de Baermann. O sedimento oriundo deste método foi colocado em lâminas para análise da eficácia do extrato de *L. sibiricus* na eclodibilidade dos ovos e/ou mortalidade de larvas infectantes de *Trichostrongylideos*.

### Análise dos Dados

Os dados obtidos foram analisados utilizando-se o método de Lilliefors, para se comprovar a normalidade. Uma vez verificado a normalidade dos dados, realizou-se a análise de variância para verificar o efeito dos tratamentos sobre os parâmetros e o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade para comparação das médias por meio do pacote estatístico Sistema para Análise Estatística SAEG (2007).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A contagem de ovos por grama de fezes (OPG) revelou uma carga parasitária média de 700.0000 OPG. Convencionalmente é aceitável para ovinos um resultado de 500 OPG (FURTADO, 2006). Na Tabela 1 pode-se observar as médias do total de larvas, larvas vivas e larvas mortas nos seis tratamentos distintos.

**TABELA 1.** Média das larvas nos diferentes tratamentos.

Tratamento	Larvas totais	Larvas vivas	Larvas mortas	EPM <sup>1</sup>
Controle negativo	919,5	919,5	0 <sup>A</sup>	0
Folhas a 5%	862	546	316 <sup>B</sup>	19,3
Folhas a 10%	941	605,5	335,5 <sup>B</sup>	20,2
Caule a 5%	879,3	491,3	388,0 <sup>BC</sup>	21,5
Caule a 10%	756,2	274,8	481,3 <sup>C</sup>	26
Controle positivo	667,7	0	667,7 <sup>D</sup>	49,9

\*Médias seguidas de mesma letra nas colunas, não diferem estatisticamente. <sup>1</sup>EPM - Erro Padrão da Média.

Verificou-se efeito significativo dos tratamentos com extrato aquoso de *L.*

*sibiricus* diferenciando-se do controle negativo com relação porcentual de mortalidade larval. Os tratamentos, caule 10%, caule 5%, folha 10% e folha 5% apresentaram, nesta ordem, os maiores valores de larvas mortas. Resultados de prospecção fitoquímica de *L. sibiricus* indicam a presença de metabólitos secundários que podem estar relacionados à sua ação, tais como: açúcares redutores, alcalóides, compostos fenólicos, flavonóides, heterosídeos cardiotônicos, taninos, triterpenos e esteróides (FERRÃO et al., 2012).

FERRÃO et al. (2012) ao analisarem espectrofotometricamente extratos aquosos a 10% de *L. sibiricus* observaram que ao longo da faixa espectral se enquadram compostos fenólicos das classes isoflavonóides e biflavonóides, aos quais são atribuídas atividades larvicidas, bem como outros compostos como taninos, antraquinonas conforme.

Os tratamentos com extratos de folha não diferenciaram estatisticamente ( $p > 0,05$ ) entre si, assim como os extratos de caule também não diferenciaram estatisticamente ( $p > 0,05$ ) entre si. Mesmo em concentrações consideradas baixas (5 e 10%) o extrato aquoso de *L. sibiricus* mostrou-se eficaz na mortalidade das larvas, e o tratamento com extrato aquoso do caule a 10% apresentou os melhores resultados de mortalidade de larvas. Resultados semelhantes foram observados nos estudos de REIS (2009).

## CONCLUSÕES

Pode-se concluir que os extratos do caule foram mais eficientes do que os de folha. O tratamento com extrato aquoso do caule a 10% apresentou os melhores resultados, demonstrando o potencial larvicida deste extrato em estudo.

O extrato aquoso de *L. sibiricus* desponta como uma alternativa viável para o controle parasitológico, porém são necessários mais estudos para se determinar a concentração ideal do extrato para a realização de testes *in vivo* que comprovem a eficácia do produto.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L. F. R. **Constituintes presentes nas folhas de *Leonurus sibiricus***. 96f. 2006. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista.

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

CARVALHO, C. A.; SILVA, M. B.; OLIVEIRA, T. G.; LIMA, J. M.; ROSA, M. B. Estudo espectrométrico de diferentes estágios fenológicos da *Brassica oleracea var. capitata*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.2, p.249-257, 2008.

CARVALHO, G. D.; SOUZA, E. D.; SOUZA, L. A.; PORFIRIO, L. C.; SILQUEIRA, H. M. Perfil de famílias interioranas que fazem uso de plantas medicinais. **PUBVET**, v.2, n.12, Mar.5, 2008.

CARVALHO, C. A.; MATTA, S. L. P., MELO, F. C. S. A.; ANDRADE, D. C. F.; CARVALHO, L. M.; NASCIMENTO, P. C.; SILVA, M. B.; ROSA, M. B. Cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus* MIERS – Bignoniaceae): Estudo fitoquímico e toxicológico envolvendo *Artemia salina*. **Revista Eletrônica de Farmácia.**, v.6, n.1, p.51-58, 2009.

CARVALHO, C. D.; MOREIRA, F. R. O.; BEZERRA, K. S. ; GUIMARÃES, J. V. C. N.; CARDOSO, J. C.; LIMA, A. S.; JERALDO, V. L. S.; MELO, C. M. Infecção parasitária e perfil sanitário de plantel caprino em área urbana de Sergipe. **Scientia plena.**, v. 7, n.3, 2011.

COSTA, V. M. M.; SIMÕES, S. V. D.; RIET-CORREA, F. Controle das parasitoses gastrintestinais em ovinos e caprinos na região semiárida do Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira.**, v.31, n.1, p.65-71, 2011.

CHAGAS, A. C. S.; OLIVEIRA, M. C. S.; ESTEVES, S. N.; OLIVEIRA, H. N.; GIGLIOT, R.; GIGLIOT, C.; CARVALHO, C. O.; FERRENZINI, J.; SCHIAVONE, D. C. Parasitismo por Nematóides Gastrintestinais em Matrizes e Cordeiros criados em São Carlos, São Paulo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.**, v.17, Supl., p.126-132, 2008.

ESTEVES, R. M. G.; OSÓRIO, J. C. S.; OSÓRIO, M. T. M.; MEMDONÇA, G.; OLIVEIRA, M. M.; WIEGAND, M.; VILANOVA, M. S.; CORREA, F.; JARDIM, R. D. Avaliação in vivo e da carcaça e fatores determinantes para o entendimento da cadeia da carne ovina. **Revista Brasileira de Agrociência.**, v.16, n.1-4, p.101-108, 2010.

FERRÃO, B. H.; MOLINARI, R. F.; TEIXEIRA, M. B.; MARTINS, C. M.; REIS, K. R. P.; CARVALHO, G. D.; CARVALHO, C. A. Prospecção fitoquímica, potencial anti-helmíntico e análise toxicológica de Macaé (*L. sibiricus* L.). **Revista Brasileira de Farmácia.**, v.93, n.3, p.353-358, 2012.

FURTADO, S. K. **Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no Estado do Paraná: testes in vitro e in vivo.** 2006. Tese (Doutorado em Agronomia - Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, UFPR, Brasil.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal.**, 2. ed. Stuttgart: Eugen Ulmer, 2000. 531p.

LÔBO, K. M. S. **Ação anti-helmíntica de jurubeba e batata de purga adicionadas à dieta de ovelhas prenhas e não prenhas.** 56f. 2009. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Campina Grande. Patos.

MARTINS, C. M.; CARVALHO, C. A.; CARVALHO, G. D.; PINTO, R. Avaliação do potencial anti-helmíntico do extrato aquoso de *Leonurus sibiricus* (Lamiaceae) – Estudo fitoquímico e toxicológico. In: XVI Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária. **Anais do XVI Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária.**, 2010.

NASCIMENTO, E. M.; FURLONG, J.; PIMENTA, D. S.; PRATA, M. C. A. Efeito anti-

helmíntico do hidrolato de *Mentha villosa* Huds. (Lamiaceae) em nematóides gastrintestinais de bovinos. **Ciência Rural.**, v.39, n.3, p. 817-824, 2008.

OLIVEIRA, L. D. R. **Plantas medicinais como alternativa para o controle de *haemonchus contortus* em ovinos: testes *in vitro* e *in vivo*.** 73f. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade de Brasília - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária.

RAMOS, J. C. S. **Avaliação das parasitoses gastrointestinais em bovinos de raça brava durante a primavera e verão.** 102f. 2013. Dissertação de Mestrado (Integrado em Medicina Veterinária) – Universidade Técnica de Lisboa/Faculdade de Medicina Veterinária.

REIS, K. R. P. **Avaliação *in vitro* do Extrato Aquoso de *Leonurus sibiricus* (Lamiaceae) no Controle de Estrongilídeos de Equídeos.** 27f. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdades de Ciências Biológicas e da Saúde - UNIVIÇOSA.

ROCCO, V. V. B. MARIA JULIANA RIBEIRO LACERDA, M. J. R.; FERNANDES, L. H.; SOUZA, S. P. P.; GUIMARÃES, K. C. Diferentes princípios ativos no controle de helmintos gastrintestinais em ovinos. **Global science and technology.**, v.05, n.02, p. 194-200, 2012.

SALGADO, J. A. **Sistemas de produção de cordeiros e seu efeito na infecção por helmintos gastrintestinais.** 66f. 2011. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba.

SOUZA, D. A. **O mercado doméstico da carne ovina em 2012.** Disponível em: <<http://www.farmpoint.com.br/cadeia-produtiva/conjuntura-de-mercado/o-mercado-domestico-da-carne-ovina-em-2012-83144n.aspx#comentarios>>. Acesso em: 15 mar 2015.

SOUSA, R. G.; FALCÃO, H. S.; BARBOSA FILHO, J. M.; MELO DINIZ, M. F. F.; BATISTA, L. M. Atividade anti-helmíntica de plantas nativas do continente americano: uma revisão. **Revista Brasileiro Medicina.**, v.15, n.2, p.287-292, 2013.

SAEG, **Sistema para Análise Estatística.** Versão 9.1. Fundação Artur Bernardes, Universidade Federal de Viçosa, 2007.