UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO

Curso de Medicina Veterinária

Isabele Caroline Oliveira Souza

ESTUDO COMPARATIVO DE TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO DOS PRINCÍPIOS ATIVOS DO ALHO (*Allium sativum*) E HORTELÃ (*Mentha* sp.) UTILIZADOS COMO ANTI-HELMÍNTICOS

São Paulo

2016

Isabele Caroline Oliveira Souza

ESTUDO COMPARATIVO DE TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO DOS PRINCÍPIOS ATIVOS DO ALHO (*Allium sativum*) E HORTELÃ (*Mentha* sp.) UTILIZADOS COMO ANTI-HELMÍNTICOS

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de medicina veterinária da universidade de santo amaro – UNISA, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em medicina veterinária
Orientador: Prof. Dr. Celso Martins Pinto
Coorientador: Prof.ª Marcia Eugenia Del Llano Archondo

São Paulo

2016

Souza, Isabele Caroline Oliveira
Estudo comparativo de técnicas de extração dos princípios ativos do alho (*Allium sativum*) e hortelã (*Mentha* sp.) utilizados como anti-helmínticos / Isabele Caroline Oliveira Souza. -- São Paulo , 2016
44 f.

TCC Graduação (Medicina Veterinária) - Universidade de Santo Amaro, 2016

Orientador(a): Celso Martins Pinto,
Coorientador(a): Marcia Eugenia del Llano Archondo

1.Alho. 2.Hortelã. 3.Extração. 4.Anti-helmíntico. I.Pinto, Celso Martins, orient. II.Archondo, Marcia Eugenia del Llano, coorient. III.Universidade de Santo Amaro IV.Titulo

Ficha catalográfica gerada automaticamente pelo
Sistema de Bibliotecas da Universidade de Santo Amaro - UNISA

Isabele Caroline Oliveira Souza

ESTUDO COMPARATIVO DE TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO DOS PRINCÍPIOS ATIVOS DO ALHO (*Allium sativum*) E HORTELÃ (*Mentha* sp.) UTILIZADOS COMO ANTI-HELMÍNTICOS

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de medicina veterinária da universidade de santo amaro – UNISA, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em medicina veterinária

Orientador: Prof. Dr. Celso Martins Pinto

Coorientador: Prof.ª Marcia Eugenia Del Llano Archondo

São Paulo,____ de_____de 2016

Banca examinadora

_____

Conceito Final

Agradecimentos

Agradeço a Deus por toda paciência, força, serenidade e todas as bênçãos que me aconteceram no decorrer desse trabalho e durante a graduação.

Aos meus pais Valeria e Valdeci por todo apoio, compreensão, por passarem toda a calma necessária, por confiarem em mim e serem a minha base e espelho em tudo na vida. Agradeço por todo amor e carinho que me foi dado, e por ajudarem a tornar meus sonhos realidade.

Ao meu noivo Mauricio por ter ficado ao meu lado e me apoiado. Agradeço pelo carinho, atenção, dedicação, paciência, amor e confiança que foram fundamentais durante esses anos de faculdade e para nossas vidas.

A minha prima/irmã Stella por sempre estar ao meu lado e por me ajudar em muitas coisas na vida.

A minha família que sempre confiou e me apoiou em tudo.

Às minhas amigas da faculdade Mariana Chiconello e Carolina Pierotti por toda a ajuda e torcida para a conclusão desse trabalho, e principalmente pela amizade que foi construída durante esses 5 anos, tornando cada dia especial e cheio de alegria.

A Ana Klein por toda a ajuda, companheirismo e por todos os conselhos que foram importantes durante esses meses de TCC.

À Professora Marcia Eugenia por toda a ajuda, dedicação, orientação, paciência e por toda a parte pratica. Obrigada por ter sido uma das minhas bênçãos.

Ao Professor Celso Martins pelo tema do trabalho, orientação, apoio, paciência e por toda a ajuda necessária para a construção do trabalho e formação acadêmica.

Ao Laboratório LESIFAR e aos funcionários da UNISA pela ajuda e atenção.

Obrigada, obrigada, obrigada!

“Não basta dar os passos que nos devem levar um dia ao objetivo, cada passo deve ser ele próprio um objetivo em si mesmo, ao mesmo tempo em que nos leva para diante” (Johann Goethe)

RESUMO

Verifica-se que muitas plantas possuem o efeito anti-helmíntico tão eficiente quanto o uso de vermífugos comerciais, porém algumas espécies animais, de parasitas e de plantas, necessitam de estudos mais detalhados e a adequada comprovação de tal eficiência, pois é necessário saber como fazer, quando e quanto pode ser utilizado das substâncias da planta para o bem-estar animal e para ser de fácil acesso e preparação para a população que deseja utilizá-la. Os métodos de extração das plantas influenciam muito no seu poder de ação, sendo assim esse trabalho teve por objetivo comparar três métodos de extração dos princípios ativos do alho (*Allium sativum)* e hortelã (*Mentha* sp.) que são utilizados como anti-helmínticos em animais, avaliando se os extratos obtidos por diferentes métodos apresentam composição semelhante e em quais dos métodos utilizados a concentração dos princípios é obtida em maior quantidade. A caracterização dos extratos foi obtida através da cromatografia em camada delgada e doseamento dos flavonoides através da espectrofotometria a 425nm após complexação com cloreto de alumínio. Os resultados mostraram que a composição química de um extrato vegetal pode variar quando utilizados diferentes solventes na extração e métodos diferentes. Assim, utilizando flavonóides totais como marcadores químicos, os extratos hidroalcoólicos apresentaram maior quantidade destas substâncias em relação aos extratos aquosos, tanto na hortelã como no alho. Em relação aos extratos aquosos, o uso de calor influenciou a composição, assim, os decoctos apresentaram um menor teor de flavonóides totais em relação aos extratos obtidos por maceração cinética, na qual foi utilizada unicamente agitação a temperatura ambiente.

Palavra-chave: Alho. Hortelã. Extração. Anti-helmíntico.

ABSTRACT

It has been found that many plants have the anthelmintic effect as efficient as the use of commercial vermifuges, but some animal species, parasites and plants, need more detailed studies and adequate proof of such efficiency, since it is necessary to know how do, when and how much can be used from plant substances for animal welfare and to be easily accessible and prepared for the population that wishes to use it. The methods of extracting the plants influence their action power. The objective of this work was to compare three methods of extracting the active principles of garlic (*Allium sativum*) and mint (*Mentha* sp.), which are used as anthelmintics in animals, evaluating whether the extracts obtained by different methods have similar composition and in which of the methods used the concentration of the principles is obtained in greater quantity. The extracts were characterized by thin layer chromatography and flavonoid assay by spectrophotometry at 425nm after complexation with aluminum chloride. The results showed that the chemical composition of a plant extract can vary when different solvents are used in the extraction and different methods. Thus, using total flavonoids as chemical markers, hydroalcoholic extracts presented higher amounts of these substances in relation to aqueous extracts, both in mint and garlic. In relation to the aqueous extracts, the use of heat influenced the composition, thus, the decocts presented a lower content of total flavonoids in relation to the extracts obtained by kinetic maceration, in which only agitation was used at room temperature.

Keywords: Garlic. Mint. Extracting. Anthelmintic.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - material vegetal: (A) alho e (B) hortelã.....25
Figura 2 - Alho triturado com gral e pistilo.....26
Figura 3 - Pesagem do alho em balança analítica.....26
Figura 4 - Erlenmeyer contendo os extratos.....26
Figura 5 - Agitador mecânico “shaker”.....26
Figura 6 - Armazenamento dos extratos em frasco âmbar.....27
Figura 7 - Determinação do pH utilizando potenciômetro.....28
Figura 8 - Cromatografia em camada delgada em cuba de vidro saturada.....29
Figura 9 - Espectrofotômetro.....30
Figura 10 - Amostras preparadas para espectrofotometria.....30
Figura 11 - Obtenção dos extratos de hortelã: (A) Extrato aquoso; (B) Extrato hidroalcoolico; (C) Decocto.....31
Figura 12 - Obtenção dos extratos de alho: (D) Extrato aquoso; (E) Extrato hidroalcoolico; (F) Decocto.....31
Figura 13 - Perfil cromatográfico da hortelã e alho visualizado na luz ultravioleta.....33
Figura 14 - Perfil cromatográfico da hortelã e do alho com revelador anisaldeido sulfúrico.....33
Figura 15 - Reta de calibração para quantificação de flavonoides totais.....34
Figura 16 - Teor de flavonóides totais em folhas de hortelã e bulbos de alho.....36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características físicas dos extratos preparados.....31
Tabela 2 - Sistema cromatográfico utilizado para os extratos de alho e hortelã.....32
Tabela 3 - Concentração dos flavonoides presentes nos extratos.....35
Tabela 4 - Concentração de flavonoides totais presentes nas folhas de hortelã e nos bulbilhos do alho.....35

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Distância (Rf) e característica de coloração das manchas do sistema cromatográfico da hortelã.....34
Quadro 2 - Distância (Rf) e característica de coloração das manchas do sistema cromatográfico do alho.....35

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 13
2 OBJETIVOS 15
2.1 Objetivo geral 15
2.2 Objetivos específicos 15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 16
3.1 Plantas que são utilizadas como anti-helmínticos em animais 16
3.2 Características das duas plantas pesquisadas: alho e hortelã 17
3.3 Composição química do alho (*Allium sativum*) e hortelã (*Mentha* sp.) 18
3.4 Uso fitoterápico do alho (*Allium sativum*) e da hortelã (*Mentha* sp.) 20
3.5 Métodos de extração dos princípios químicos das plantas 21
3.6 Controle de qualidade de extratos vegetais 22
3.6.1 Cromatografia em camada delgada 23
3.6.2 Quantificação de substâncias químicas por espectrofotometria 23
4 MATERIAL E MÉTODOS 25
4.1 Material vegetal 25
4.2 Métodos utilizados para a extração dos princípios ativos 25
4.2.1 Extrato aquoso por maceração cinética 26
4.2.2 Extrato hidroalcoolico por maceração cinética 27
4.2.3 Extrato aquoso por decocção (Decocto) 27
4.3 Caracterização dos extratos 28
4.3.1 Características físicas 28
4.3.2 Perfil cromatográfico 29
4.3.3 Doseamento de flavonoides 29
4.3.3.1 Preparação da curva padrão 30
5 RESULTADOS 31
5.1 Características físicas dos extratos 31
5.2 Perfil cromatográfico dos extratos 32
5.2.1 Resultado da análise cromatográfica 32
5.3 Quantificação de flavonoides totais 34
6 DISCUSSÃO 37
7 CONCLUSÃO 40
REFERÊNCIAS 41

1 INTRODUÇÃO

Existem vários medicamentos anti-helmínticos para o tratamento das parasitoses em animais, porém o tratamento fitoterápico também pode ser utilizado de forma eficaz, mais econômica, e de fácil acesso. Para isso deve saber a quantidade adequada, método de preparo, e quais plantas associar, para tornar o tratamento mais fidedigno. Umas das plantas a serem associadas para o tratamento contra helmintos em animais são o alho e a hortelã, que possuem uma infinidade de benefícios ao organismo além de sua ação vermífuga.

A fitoterapia é considerada uma medicina alternativa, podendo servir de opção para o médico veterinário como uma forma de tratamento, avaliando as vantagens do medicamento alopático e do fitoterápico e as condições do paciente[1].

As infecções por parasitas intestinais são reflexos das condições de vida da população tanto de animais quanto do ser humano, estando intimamente relacionado com o subdesenvolvimento e a pobreza, constituindo importantes entidades mórbidas por ter ampla distribuição geográfica e muitas vezes elevados índices de prevalência[2].

Diante das consequências socioeconômicas, os índices das doenças parasitarias aumentam na população devido ao uso restrito dos medicamentos alopáticos, por não serem acessíveis às muitas comunidades distantes de centros comerciais ou postos públicos de distribuição de medicamentos[3], ou ainda os parasitos podem apresentar resistência aos medicamentos anti-helmínticos pelo uso frequente[4]. A partir deste contexto, pesquisas relacionadas as propriedades terapêuticas de plantas medicinais contra infecções parasitárias no homem e animais podem servir como uma alternativa viável de tratamento e minimizar alguns dos problemas socioeconômicos da população[3.]

O alho *(Allium sativum)* e a hortelã (M*entha* sp*.)* são usados como plantas medicinais há séculos por possuírem substâncias que trazem muitos efeitos benéficos para a saúde humana e animal, além de serem utilizados muito na alimentação como condimentos e produtos comerciais. Dentre esses efeitos, tanto o alho como a hortelã agem e ajudam no trato gastrointestinal, facilitando assim a digestão, e também são muitos utilizados em indivíduos com infecções respiratórias,

inflamações, e contra verminoses, entre outras afecções. Mesmo sendo de origem natural e trazerem muitos benefícios, o alho e a hortelã tem que ser usados de forma cautelosa em algumas situações como indivíduos alérgicos aos componentes químicos dos mesmos, associações com outras plantas, e quantidade utilizada, pois isso pode potencializar seu efeito e causar alguns desequilíbrios no organismo e intoxicações.

O *Allium sativum* e a *Mentha* sp*.* são duas espécies utilizadas de forma ampla por possuírem alguns princípios ativos que agem contra uma série de enfermidades. Uma das ações é agir contra alguns parasitas intestinais, tanto de humanos quanto de animais, por terem efeito de vermífugo natural. Alguns estudos mostraram que a atividade antiparasitária da alicina, principal constituinte do alho, em parasitas do homem e de animais, é evidenciada contra *Entamoeba histolitica, Ascaris lumbricoides, Giardia lamblia,* entre outros parasitas intestinais. E contra alguns fungos como, *Candida albicans e Aspergillus furmigatus*[5;6].

Os princípios ativos das plantas são produzidos e armazenados durante seu crescimento, e a concentração desses agentes químicos variam conforme a região do vegetal que é utilizada para a extração (folhas, caule, raízes, etc.)[7.] Os métodos de extração dos princípios ativos do alho e da hortelã influenciam muito no seu poder de ação, sendo assim, tem que ser analisada a melhor forma de extrai-los para que se obtenha os mesmos em maior quantidade e modificá-los o menos possível durante o processo extrativo, o qual caracteriza a finalidade desse trabalho.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Comparar três extratos de hortelã (*Mentha* sp.) e alho *(Allium sativum*) obtidos por diferentes métodos de extração.

2.2. Objetivos específicos

- Realizar levantamento bibliográfico sobre plantas com ação anti-helmíntica em animais.
- Caracterizar os extratos hidroalcoolicos e aquoso de hortelã obtidos por maceração cinética e decocção.
- Caracterizar os extratos hidroalcoolicos e aquoso de alho, obtidos por maceração cinética e decocção.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Plantas que são utilizadas como anti-helmínticos em animais

As infecções por parasitas intestinais são reflexos das condições de vida da população tanto de animais quanto do ser humano, estando intimamente relacionado com o subdesenvolvimento e a pobreza, constituindo importantes entidades mórbidas por ter ampla distribuição geográfica e muitas vezes elevados índices de prevalência[2].

Diante das consequências socioeconômicas, os índices das doenças parasitarias aumentam na população devido ao uso restrito dos medicamentos alopáticos, por não serem acessíveis às muitas comunidades distantes de centros comerciais ou postos públicos de distribuição de medicamentos[3], ou ainda os parasitos podem apresentar resistência aos medicamentos anti-helmínticos pelo uso frequente[4]. A partir deste contexto, pesquisas relacionadas as propriedades terapêuticas de plantas medicinais contra infecções parasitárias no homem e animais podem servir como uma alternativa viável de tratamento e minimizar alguns dos problemas socioeconômicos da população[3].

Há diversas espécies de plantas com atividade anti-helmíntica em animais, a família Lamiaceae e Liliaceae, que são as famílias da hortelã e do alho respectivamente, entram no grupo de plantas com tal atividade. Dentre essas espécies de plantas serão citadas a seguir algumas que possuem efeito anti-helmíntico.

A administração de 0,04 mL/g da infusão das folhas secas de *Solanum lycocarpum* L. (Solanaceae) por via intragástrica em camundongos, tem um efeito significativo na eliminação de *Aspiculuris tetraptera*. Considera-se que os glicoalcalóides e agliconas nos extratos possam afetar a reprodução dos helmintos quando a planta é ingerida[8].

A planta *Chenopodium ambrosioides* Linn. (Chenopodiaceae) mostrou atividade molusquicida contra o caracol da espécie *Biomphalaria glabrata* hospedeiro de *Schistosoma mansoni*[9.]

O extrato de *Spigelia anthelmia* Linn. (Loganiaceae) foi avaliado em cinco concentrações diferentes (3.1, 6.2, 12.5, 25 e 50 mg/mL) contra *Haemonchus contortus*. Foi verificado que a concentração de 50mg de acetato de etila inibiu 100%

dos ovos de incubação e 81.2% do desenvolvimento larval desse parasita. E o extrato metanólico inibiu 97.4% dos ovos de incubação e 84.4% das larvas em desenvolvimento. A partir desses resultados foi sugerido que a utilização de *S. anthelmia* pode servir no controle de nematódeos gastrintestinais de pequenos ruminantes[10].

Algumas plantas com efeito anti-helmíntico em cães e gatos: Guandu (*Cajanus cajan*) com sal e mel, ou apenas a sua decocção[11], óleo da Erva-Santa *(Chenopodium ambrosioides)* contra *Toxascaris leonina* e *Toxocara canis*[12], a casca do Mamão *(Carica papaya)* e suas folhas[1], a Grama *(Agropyron repens beauv L)* e a Nogueira (*Juglans regia L*)[13].

A ação ovicida do extrato aquoso da *Punica granatum* (Romã) contra nematoides gastrointestinais de ovinos, obteve o maior percentual de inibição de eclosão de ovos na diluição de 12% onde em total de 87 ovos 64% foram inibidos. Foi sugerido que o extrato foi eficaz no tratamento in vitro do nematoide gastrointestinal *Haemonchus contortus*[14.]

A utilização de plantas em animais com finalidade anti-helmíntica deve levar em consideração vários fatores para determinar sua eficácia como, princípios ativos, tais como parte da planta utilizada, forma de extração, concentração/dose, via de administração, espécie animal infectada, espécie do parasita[3,] tempo de tratamento e associação com outras plantas, pois uma mesma planta pode ser utilizada para o tratamento de várias doenças ou várias plantas de espécies diferentes podem ser combinadas para tratar uma única infecção[15].

Verifica-se que muitas plantas possuem o efeito anti-helmíntico tão eficiente quanto o uso de vermífugos comerciais, porém algumas espécies animais, de parasitas e de plantas, necessitam de estudos mais detalhados e a adequada comprovação de tal eficiência, pois é necessário saber como fazer, quando e quanto pode ser utilizado das substâncias da planta para o bem-estar animal e para ser de fácil acesso e preparação para a população que deseja utilizá-la.

3.2. Características das duas plantas pesquisadas: alho e hortelã

O alho *(Allium sativum)* teve origem na Ásia, pertence à família *Liliaceae,* é composto por bulbo (cabeça), bulbilhos (dentes), envolvido por uma túnica branca

por vezes rosada recobrindo-o todo, e suas folhas são compridas sem inervação. Embora seja originário de clima temperado, é cultivado no mundo inteiro[7]. O principal componente químico dessa planta é a Alicina que é responsável por vários efeitos terapêuticos.

O *Allium sativum* é utilizado desde a antiguidade como recurso terapêutico para o tratamento de feridas, doenças pulmonares, problemas digestivos, e entre outras doenças. Sua eficácia contra enfermidades é demasiadamente extensiva[7], sendo considerada uma das plantas medicinais que mais traz benefícios ao organismo. Tal eficácia depende da parte da planta que é utilizada, principalmente do bulbo onde há maior concentração dos princípios ativos.

O alho não é somente comercializado *in natura,* pois também há vários subprodutos do mesmo, como: óleo de alho, alho em pó, alho frito, alho triturado, e alicina. Esses subprodutos podem ser utilizados tanto como condimento quanto para efeito terapêutico.

A hortelã (*Mentha* sp.) é originária da Europa, Ásia e África. Pertence à família *Lamiaceae,* é caracterizada como uma planta vivaz, aromática, anual, de 30 a 60 cm de altura, caule violáceo, ramificados, folhas opostas, oval-lanceoladas, serreadas, cor verde-escura, levemente aveludada, flores lilases ou azuladas, dispostas em espigas terminais[16]. O principal componente químico é o óleo essencial que contém diversas substancias.

Assim como o alho a hortelã é utilizada há séculos pela humanidade como planta medicinal, por possuir ação contra várias enfermidades, além disso é muito utilizada também como condimento, por ser uma planta aromática de sabor agradável e com efeito refrescante. Para obter tal efeito seja na terapia como na culinária a parte da planta que é mais usada são suas folhas[16], onde se obtêm em maior quantidade os princípios ativos. Essa planta também é comercializada em subprodutos, como óleos, hidrolatos, sachês de chá, entre outros.

3.3. Composição química do alho (*Allium sativum*) e hortelã (*Mentha* sp.)

O alho e a hortelã são utilizados como plantas medicinais por serem constituídos de vários compostos químicos que auxiliam no tratamento de diversas doenças.

O principal componente químico do alho é a Alicina (derivado do enxofre) que confere as características organolépticas do mesmo (cheiro e sabor) e é responsável por sua ação farmacológica. Em sua composição química também encontramos vitaminas (A, B2, B6, C), aminoácidos, ferro, iodo, selênio, cobre, cálcio, potássio, fósforo e enzimas, conferindo-lhe alto valor nutricional e diversos benefícios ao organismo[7;17].

O alho possui efeito anti-hipertensivo, antioxidante, imunoestimulante, antifúngico, anti-protozoário, anti-neoplásico, antimicrobiano, anti-parasitário (anti-helmíntico), repelente e atua no sistema cardiovascular[17.] Acredita-se que a maioria dessas propriedades se devem à riqueza de substâncias sulfurosas na composição do alho.

O alho vem sendo utilizado no tratamento de animais como agente anti-helmíntico, controlando endoparasitas por meio da ação dos componentes presentes nessa planta e favorecendo a taxa de passagem dos alimentos no trato gastrointestinal devido à quantidade de óleo presente neste fitoterápico[18].

O principal componente químico da hortelã é o óleo essencial que contém mentol, mentona, mentofurano (açáo hepatotóxica), acetato de mentilo, limoneno, terpenos, entre outros. Contém também flavonóides, ácidos fenólicos, colina, cetonas, vitaminas C e D, minerais, carotenóides, entre outras substâncias[19].

A hortelã possui efeito aromático, antiespasmódico, colerético, carminativo, digestivo, antiemético, obstipante, vermífugo, expectorante, antiinflamatório, antiséptico, antifúngico, anestésico tópico (principalmente de mucosas) e antipruriginoso[19]. Além de ser muito utilizada comercialmente como chicletes, colutórios, pasta de dentes, entre outras utilidades, por ter componentes que conferem efeito refrescante e com sabor agradável.

A hortelã tem um potencial anti-helmíntico, porém ainda não se sabe ao certo qual das diversas substâncias presentes nessa planta possui tal efeito, ou se é uma combinação dos mesmos que proporciona a ação contra os vermes.

3.4. Uso fitoterápico do alho (*Allium sativum*) e da hortelã (*Mentha* sp.)

Segundo a OMS (Organização Mundial da Saúde), planta medicinal é qualquer planta que possua em um de seus órgãos ou em toda planta substâncias com propriedades terapêuticas ou que sejam ponto de partida na síntese de produtos químicos ou farmacêuticos[20]. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Portaria 06/95 ANVISA) fitoterápico pode ser definido como "Todo medicamento tecnicamente obtido e elaborado, empregando-se, exclusivamente, matérias primas ativas vegetais com a finalidade profilática, curativa ou para fins de diagnóstico, com benefício para o usuário. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade; é o produto final acabado, embalado e rotulado. Na sua preparação podem ser utilizados adjuvantes farmacêuticos permitidos pela legislação vigente. Não podem estar incluídas substâncias ativas de outras origens, não sendo considerado produto fitoterápico quaisquer substâncias ativas, ainda que de origem vegetal, isoladas ou mesmo suas misturas" [21].

O alho e a hortelã são utilizados de várias formas como fitoterápico em animais[22]. Foi avaliada a eficiência do alho desidratado adicionado à mistura mineral em bovinos, na concentração de 2% fornecido *ad libitum* no controle de carrapato, mosca-dos-chifres e nematódeos gastrintestinais, tendo se observado redução média de 47,3% no número de ovos por grama de fezes (OPG) do grupo tratado, em relação ao grupo controle, não houve eficácia no controle de carrapatos e dos nematódeos em bovinos[22].

A utilização de uma dose de 180 ml de extrato aquoso de alho influencia no controle de endoparasitas no sistema gastrointestinal de ovinos, quando comparado com animais que não foram tratados com o fitoterápico, porém não se mostrou muito eficiente levando em conta o tempo de tratamento[23].

Neves e Rodriguês[24] demonstram a eficiência do alho quando manipulado a partir do bulbo da planta e óleo de soja, macerado e aquecido uma hora antes da ordenha, no tratamento de mastite de vacas no período reprodutivo, diminuindo eficientemente a infecção.

Um estudo feito com novilhas da raça Holandesa demonstrou que o uso de 120g de extrato aquoso de alho é indicado para o controle parcial de nematódeos

gastrintestinais, o que se deve pela melhor estabilidade da alicina no meio aquoso, além da facilidade na administração e pouca rejeição dos animais ao extrato[25].

Três dentes de alho, 50 ml de aguardente e 500 ml de água, mostrou-se eficaz para o tratamento de diarreia em bezerros[7].

A adição de leite às folhas trituradas de *Mentha villosa* é utilizada para o tratamento de verminoses em crianças[26].

O hidrolato de *Mentha villosa* Huds. mostrou-se efetivo no controle de larvas de nematoides gastrintestinais de bovinos em teste *in vitro*[27].

Estes métodos de utilização de alho e hortelã como fitoterápicos demonstram sua ampla utilização e eficácia contra algumas enfermidades de diferentes espécies.

3.5. Métodos de extração dos princípios químicos das plantas

As práticas relacionadas ao uso popular de plantas medicinais são o que muitas comunidades têm como alternativa viável para o tratamento de doenças ou a busca pela manutenção da saúde[28]. O uso popular é passado por várias gerações, porém pode ir se perdendo ao longo do tempo por conta da influência da medicina moderna e da indústria farmacêutica.

O aproveitamento adequado dos princípios ativos de uma planta exige o preparo correto, ou seja, para cada parte a ser usada, grupo de princípio ativo a ser extraído ou doença a ser tratada, existe forma de preparo e uso mais adequados[29].

Imediatamente após a colheita, as plantas medicinais devem ser comercializadas, consumidas ou secas (droga vegetal), objetivando-se minimizar as perdas no teor e na composição dos princípios ativos, pois a partir do momento da colheita, inicia-se um processo de degradação devido ao aumento da atividade enzimática, que leva também à degradação dos princípios ativos[20].

Segundo um trabalho feito por Pinto et al.[28], a folha é a parte do vegetal significantemente mais utilizada na medicina caseira, seguida por raízes, flores, planta inteira, casca, bulbo, sementes entre outros. A forma de preparação mais utilizada é o chá, por decocção.

Para extrair os princípios ativos das plantas e ter um efeito terapêutico eficaz, tem que ser levado em consideração qual destes princípios deseja-se obter levando em conta a parte da planta que será utilizada, forma de extração, concentração dos princípios, via de administração e tempo de tratamento.

Alguns métodos caseiros de extração são[19]:

- Infusão que é feito com água (solvente) fervida, onde é mergulhado o que deseja utilizar da planta em uma quantidade determinada, tampa-se o recipiente e deixa abafado durante alguns minutos;
- Decocção que é feito com a parte que deseja utilizar da planta mergulhados em um recipiente com água (solvente) e levado ao fogo até ferver, mantendo o cozimento por alguns minutos;
- Maceração onde tritura-se uma certa quantidade do que deseja utilizar da planta para aumentar a superfície de contato, e coloca água, azeite ou vinagre (solventes) e deixa em repouso por algumas horas ou dias;
- Tintura que consiste na utilização de solventes (álcool, vinagre, etc.) que será colocado sobre a planta triturada em um vidro escuro e agitada durante alguns dias, e após esse período a solução será coada e colocada mantida em um vidro escuro para ser utilizada.

Os métodos descritos acima também podem ser utilizados pela indústria farmacêutica, e serão citados a seguir outros métodos que são feitos em laboratórios para a extração dos princípios ativos dos fitoterápicos, são eles: percolação, turbólise, contra-corrente, fluido supercrítico, e sohxlet[30], que são métodos feitos em equipamentos específicos.

Esses métodos utilizados nos laboratórios consistem em um processamento das plantas num determinado solvente resultando em uma solução extrativa contendo as substâncias de interesse terapêutico[30].

3.6. Controle de qualidade de extratos vegetais

A eficácia de um produto natural depende da qualidade da matéria prima utilizada e do processo de extração.

A produção de fitoterápicos envolve um processo interdisciplinar, multidisciplinar e interinstitucional e abrange diversas etapas. Uma destas consiste no emprego de métodos analíticos para quantificação e controle dos marcadores químicos ou farmacológicos, presentes tanto na matéria-prima vegetal quanto no produto intermediário e final. Devem ser realizados ensaios fitoquímicos e farmacológicos. Esses métodos permitem a avaliação de sua qualidade, eficácia terapêutica e segurança[31].

3.6.1. Cromatografia em camada delgada

A cromatografia é um processo de separação. Ela está fundamentada na migração diferencial dos componentes de uma mistura, que ocorre devido a diferentes interações, entre duas fases imiscíveis, a fase móvel e a móvel fase estacionária.

A cromatografia pode ser utilizada para a identificação de substâncias separadas, por comparação com padrões previamente existentes, para a purificação de compostos, separando-se as substâncias indesejáveis e para a separação dos componentes de uma mistura.

De acordo com o sistema cromatográfico, a cromatografia pode ser:

- Cromatografia em coluna – cromatografia liquida (CL); cromatografia gasosa (CG); cromatografia supercrítica (CSC);
- Cromatografia planar - cromatografia em papel (CP); cromatografia em camada delgada (CCD).

A cromatografia em camada delgada (CCD) a qual foi utilizada para caracterização dos extratos no presente trabalho, é um método de isolamento simples, rápido, e que possibilita melhor identificação e quantificação de substâncias[32].

3.6.2. Quantificação de flavonóides

A espectrofotometria é uma das principais técnicas utilizadas para a análise de flavonoides. Esta técnica alcança grande destaque devido a sua simplicidade, baixo custo e ampla disponibilidade nos laboratórios de controle de qualidade.

Um dos maiores desafios da espectrofotometria para análise de matrizes complexas como os extratos vegetais, é a leitura do grupo químico desejado sem a interferência de outras substâncias químicas que podem estar presentes. Desta forma, para obtenção dos espectros dos flavonoides sem a interferência de outros compostos fenólicos, comumente se emprega o método colorimétrico com cloreto de alumínio ($AlCl_3$) para tratamento das amostras a serem analisadas. Isto porque o cátion Al_3^+ forma complexos estáveis com as hidroxilas livres dos flavonóides, ocasionando um deslocamento dos seus máximos de absorção para regiões de maior comprimento de onda, desta forma, após reação de complexação com cloreto de alumínio estaríamos realizando a leitura somente dos flavonóides[33].

No doseamento por espectrofotometria é necessário um padrão. A quercetina é uma substância que serve como um marcador específico para os flavonóides. Assim, é possível obter uma curva de calibração com soluções de quercetina e a partir desta curva obter as concentrações de flavonóides totais expressos como quercetina presentes nos extratos[33].

Os flavonóides exibem uma variação de funções biológicas e possuem um papel importante na interação entre as plantas e o seu meio ambiente. Os flavonóides protegem as plantas contra a radiação ultravioleta, contribuem para a beleza das flores e frutos, estando relacionados na sua coloração (exceto o verde), alguns possuem ação inseticida protegendo a planta contra insetos (isoflavonóides), outros participam de associações simbióticas com bactérias e parasitas. Os flavonóides estão amplamente distribuídos em todas as plantas terrestres, estimando-se que sejam conhecidas cerca de 4000 substâncias[19].

Possuem atividade antioxidante, antinflamatória, antiviral e antitumoral, ou seja, possuem função protetora e de tratamento de doenças degenerativas mediadas por estresse oxidativo entre outras funções no organismo[34].

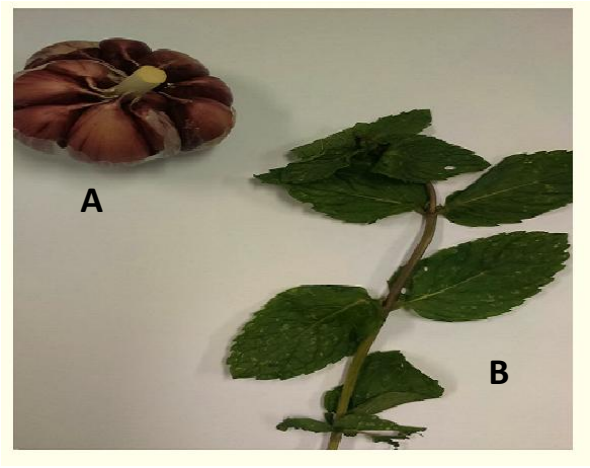
4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material vegetal

Alho *in natura* e hortelã fresca foram obtidos em comércio local na zona Sul da cidade de São Paulo. Após obtenção os produtos foram higienizados e preparados para a realização dos ensaios de caracterização e extração.

O alho foi triturado em gral para facilitar a extração, e a hortelã fraccionada.

Figura 1 – material vegetal: (A) alho e (B) hortelã



Fonte: Arquivo pessoal

4.2. Métodos utilizados para a extração dos princípios ativos

Foram utilizados três métodos de extração para a obtenção de soluções extrativas de alho e hortelã:

- Extrato aquoso obtido por maceração cinética.
- Extrato aquoso obtido por decocção
- Extrato hidroalcoólico obtido por maceração cinética.

Os ensaios foram realizados no laboratório LESIFAR da Universidade de Santo Amaro.

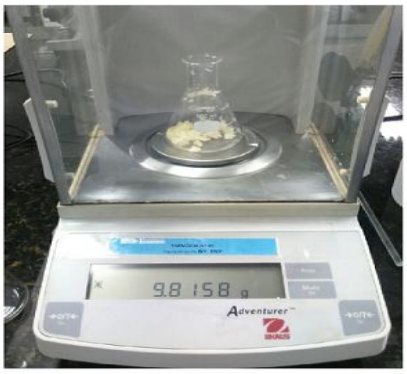
4.2.1. Extrato aquoso por maceração cinética

Para a preparação do extrato aquoso de alho, os dentes de alho foram debulhados e descascados e os bulbilhos triturados com gral e pistilo. Após trituração foram pesados aproximadamente 10g de alho e o volume completado com água destilada para 100mL em erlenmeyer.

Figura 2 - Alho triturado com gral e pistilo

Fonte: Arquivo pessoal

Figura 3 – pesagem do alho em balança analítica



Fonte: Arquivo pessoal

Para a preparação do extrato aquoso de hortelã, após higienização, foram pesadas aproximadamente 10 g de folhas e o volume completado para 100mL. Os recipientes (erlenmeyer) contendo o material foi levado para agitador mecânico do tipo “shaker” e a extração foi realizada a 25ºC sob agitação a 200rpm por uma hora.

Figura 4 – Erlenmeyer contendo os extratos

Fonte: Arquivo pessoal

Figura 5 – Agitador mecânico “shaker”

Fonte: Arquivo pessoal

Ao concluir o processo, o extrato foi filtrado e armazenado em frasco de vidro âmbar de 60ml para realização dos ensaios.

4.2.2. Extrato hidroalcoolico por maceração cinética

Para a preparação dos extratos hidroalcoolicos foram pesados 10g do alho previamente debulhado, descascado e triturado e das folhas de hortelã. Este material foi colocado de forma separada em recipientes do tipo erlenmeyer e o volume completado para 100mL com etanol 70%.

O extrato foi obtido por maceração cinética em agitador mecânico do tipo “shaker” durante uma hora a 25ºC e 200rpm.

Após extração as soluções extrativas serão filtradas e armazenadas em frascos de vidro âmbar para a realização dos ensaios de caracterização.

Figura 6 – Armazenamento dos extratos em frasco âmbar

Fonte: Arquivo pessoal

4.2.3. Extrato aquoso por decocção (Decocto)

Para a preparação dos decoctos foram pesados 10g do alho previamente debulhado, descascado e triturado e das folhas de hortelã. Este material foi colocado de forma separada em bécquer de vidro e o volume completado para 100mL com água destilada e levado até fervura por 3 minutos em chapa aquecedora.

4.3. Caracterização dos extratos

A caracterização é feita para poder padronizar os extratos e identificar as substâncias desejadas, para quantifica-las e identifica-las através de métodos e reagentes específicos para cada componente químico.

Os extratos foram caracterizados por cromatografia em camada delgada de forma a se obter um perfil cromatográfico e através de suas características físicas. Foram medidos o pH e a densidade relativa e em seguida foi realizada a quantificação de flavonoides totais por espectrofotometria.

4.3.1. Características físicas

pH

A acidez ou alcalinidade de uma amostra é determinada através da medida do pH. Esta característica física está relacionada com a permeabilidade através de membranas e a absorção de uma substância no organismo[35].

O pH dos extratos foi determinado utilizando potenciômetro previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e pH 7,0. As medidas foram realizadas em duplicata[36].

Figura 7 – Determinação do pH utilizando potenciômetro

Fonte: Arquivo pessoal

Densidade aparente

A densidade aparente do extrato foi calculada utilizando método do picnômetro. Um picnômetro previamente tarado foi preenchido com o líquido padrão

(água destilada) e pesado. O picnômetro foi lavado com o extrato, preenchido com este e pesado. A partir destes dados foi calculado a densidade aparente visual.

4.3.2. Perfil cromatográfico

O perfil cromatográfico foi obtido por cromatografia em camada delgada em cuba de vidro saturada e sistema ascendente de acordo com Wagner H,[37] com as seguintes características:

- Fase móvel: diclorometano
- Fase estacionária: Placas de sílica gel GF254 em suporte acrílico.
- Tamanho da placa: 20cm x 20cm
- Percurso: 10cm
- Aplicação das amostras: tubo capilar
- Visualização em luz ultravioleta
- Reagente de visualização: Vanilina sulfúrica.

Figura 8 - Cromatografia em camada delgada em cuba de vidro saturada

Fonte: Arquivo pessoal

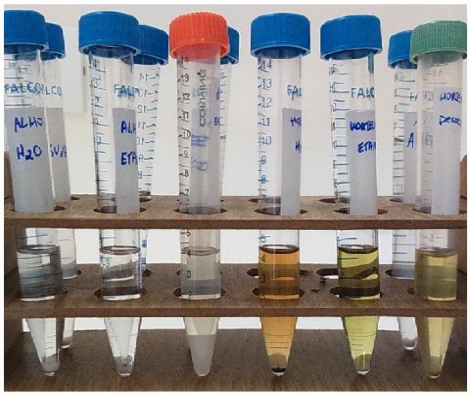
4.3.3. Doseamento de flavonóides

Os flavonóides totais presentes nos extratos foram quantificados por espectrofotometria através de reação com cloreto de alumínio a 5% e leitura a 425nm, utilizando quercetina como padrão[33].

Figura 9 – Espectrofotômetro

Fonte: Arquivo pessoal

Figura 10 – Amostras preparadas para espectrofotometria



Fonte: Arquivo pessoal

4.3.3.1 Preparação da curva padrão

Para a quantificação de flavonóides totais foi utilizada uma solução de quercetina 1mg/ml como padrão. A partir desta solução foram preparadas soluções de quercetina a 0,8mcg/ml, 1,6 mcg/ml, 2,4 mcg/ml, 3,2mcg/ml e 4mcg/ml.

Com a solução de 0,8mcg/ml foi determinado o comprimento de onda máximo (aquele no qual devem ser realizadas as leituras) após complexação com cloreto de alumínio.

A partir das leituras de absorbância das soluções de quercetina complexadas com cloreto de alumínio obteve-se uma curva padrão e a partir da equação da reta desta curva foi determinada a concentração das amostras.

Preparação das amostras:

Para a leitura da absorbância das amostras foi realizado o procedimento a seguir:

- Amostras de extrato de hortelã: Foi retirada uma alíquota de 0,5mL do extrato, adicionou-se 0,5mL de solução etanólica de cloreto de alumínio a 5% e completou-se o volume para 5mL.
- Amostras de extrato de alho: Foi retirada uma alíquota de 2mL de cada extrato, adicionou-se 1mL de solução etanólica de cloreto de alumínio a 5% e completou-se o volume para 5mL.

Determinação do teor de flavonóides totais:

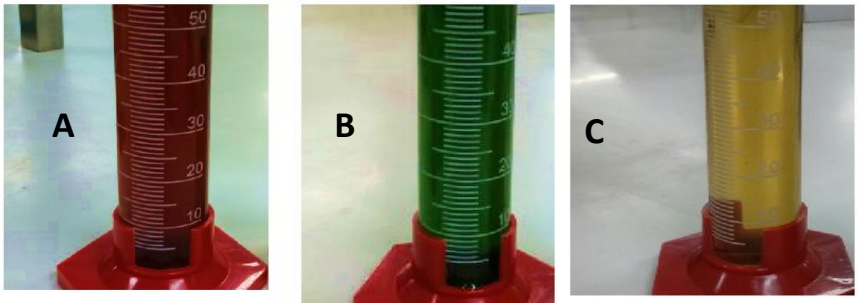
O teor de flavonóides totais foi calculado substituindo a absorbância das amostras na equação da reta de calibração (figura 15).

5 RESULTADOS

5.1. Características físicas dos extratos

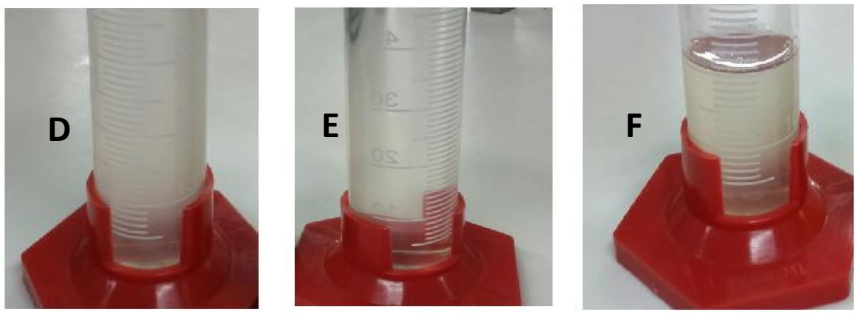
Os extratos obtidos pelos diferentes métodos de extração apresentaram características de cor diferentes, como observa-se na figura 11 e 12.

Figura 11 – Obtenção dos extratos de hortelã: (A) Extrato aquoso; (B) Extrato hidroalcoolico; (C) Decocto



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 12 - Obtenção dos extratos de alho: (D) Extrato aquoso; (E) Extrato hidroalcoolico; (F) Decocto



Fonte: Arquivo pessoal

As características físicas dos extratos estão apresentadas na tabela a seguir:

Tabela 1 - Características físicas dos extratos preparados

ENSAIO	pH	DENSIDADE	COR
Hortelã (aquoso)	5,52	0,790	Avermelhado
Hortelã (hidroalcoolico)	6,90	0,768	Verde
Hortelã (decocto)	6,39	0,784	Amarelo
Alho (aquoso)	5,8	0,713	Branco turvo
Alho (hidroalcoolico)	7,04	0,711	Incolor
Alho (decocto)	6,03	0,800	Levemente amarelo

5.2. Perfil cromatográfico dos extratos

O sistema cromatográfico e o tempo de realização do ensaio estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2 - Sistema cromatográfico utilizado para os extratos de alho e hortelã

SISTEMA CROMATOGRÁFICO	
Tipo de adsorvente	Sílica gel GF254
Sistema solvente	Diclorometano
Tamanho da placa	20cm x 20cm
Suporte	Placa de acrílico
Saturação da cuba	Cuba saturada
Percurso	10 cm
Tempo gasto	60 minutos
Visualização	Luz ultravioleta
Revelador	Anisaldeido sulfúrico

5.2.1. Resultado da análise cromatográfica

No quadro 1 e 2 apresenta-se a distância que as manchas percorreram durante o ensaio (Rf), e na figura 13 e 14 ilustra-se o perfil cromatográfico.

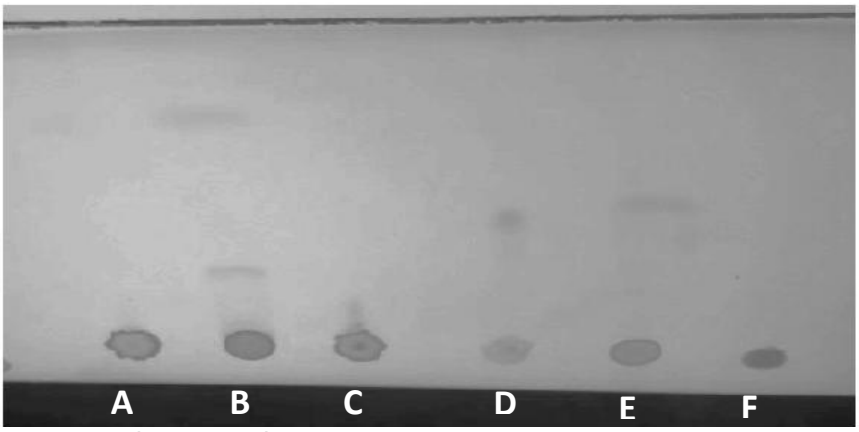
Quadro 1 – Distância (Rf) e característica de coloração das manchas do sistema cromatográfico da hortelã

Luz Ultravioleta				**Revelador**		
	Hortelã (Aquoso)	**Hortelã (Hidroalcoolico**	**Hortelã (Decocto)**	**Hortelã (Aquoso)**	**Hortelã (Hidroalcoolico)**	**Hortelã (Decocto)**
Rf						
0,09	Marrom	Marrom	Marrom	Marrom	Marrom	Marrom
0,14	Marrom		Marrom			Marrom
0,18					Azul	
0,25		Marrom			Marrom	
0,54					Violeta	
0,70	Violeta	Violeta			Violeta	
0,94				Azul	Azul	

Quadro 2 – Distância (Rf) e característica de coloração das manchas do sistema cromatográfico do alho

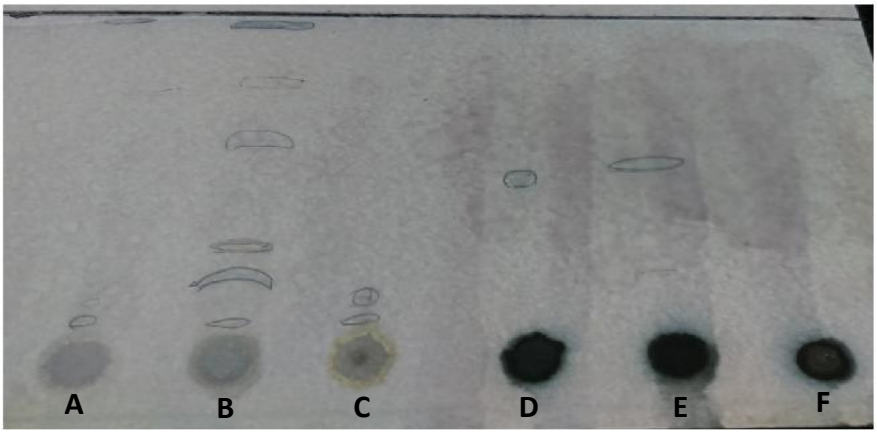
Luz Ultravioleta				Revelador		
	Alho (Aquoso)	**Alho (Hidroalcoolico**	**Alho (Decocto)**	**Alho (Aquoso)**	**Alho (Hidroalcoolico)**	**Alho (Decocto)**
Rf						
0,13	Azulada					
0,20		Azulada				
0,24			Violeta			
0,45	Violeta	Violeta				
0,50				Azul	Azul	

Figura 13 – Perfil cromatográfico da hortelã e alho visualizado na luz ultravioleta: (A) hortelã aquoso; (B) hortelã hidroalcoolico; (C) hortelã decocto; (D) alho aquoso; (E) alho hidroalcoolico; (F) alho decocto.



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 14 – Perfil cromatográfico da hortelã e do alho com revelador anisaldeido sulfúrico: (A) hortelã aquoso; (B) hortelã hidroalcoolico; (C) hortelã decocto; (D) alho aquoso; (E) alho hidroalcoolico; (F) alho decocto.

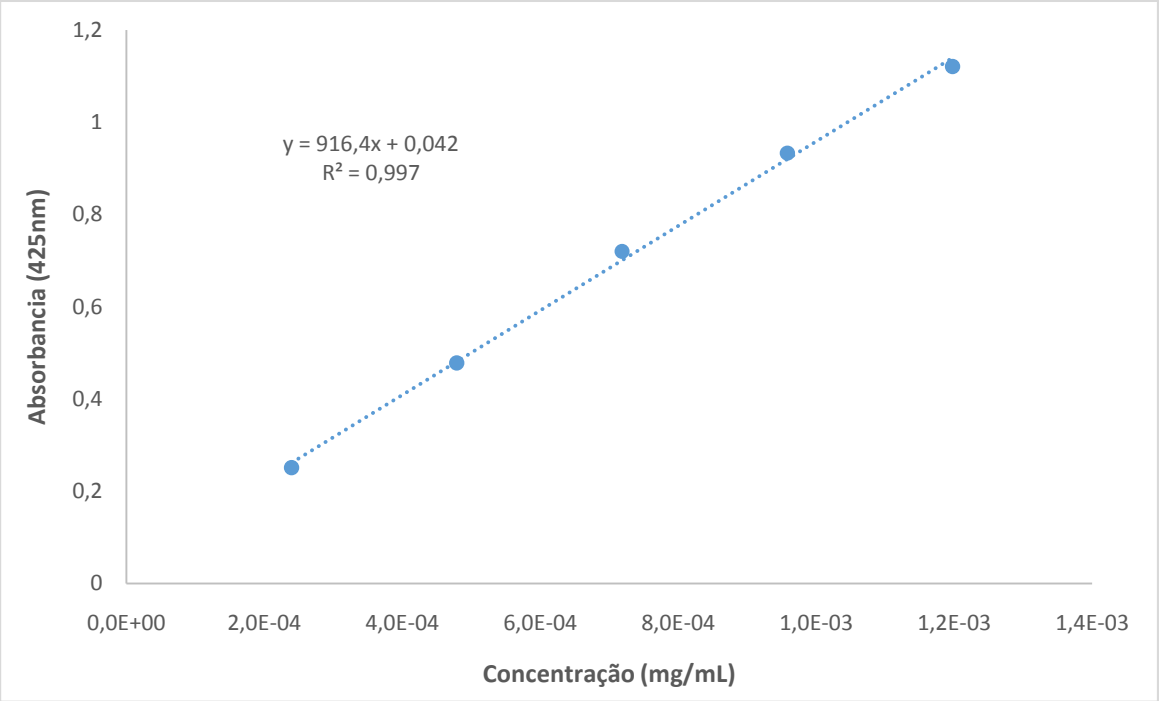


Fonte: Arquivo pessoal

5.3. Quantificação de flavonóides totais

Na figura 15 apresenta-se a reta de calibração obtida a partir de soluções de quercetina em diferentes concentrações após complexação com o cloreto de alumínio. Na figura também se apresenta a equação da reta que é utilizada para quantificação dos flavonóides.

Figura 15 - Reta de calibração para quantificação de flavonóides totais



Fonte: Arquivo pessoal

Equação da reta: Y = 916,41 X + 0,0421
Sendo que:
Y = absorbância
X = concentração

Portanto:

$$concentração = \frac{absorbancia - 0{,}0421}{916{,}41}$$

Na tabela 3 apresenta-se a concentração de flavonóides presente nos extratos de alho e hortelã, e na tabela 4 apresenta-se a concentração dos flavonóides totais presentes nas folhas de hortelã e dos bulbilhos de alho.

Tabela 3 – Concentração dos flavonóides presentes nos extratos

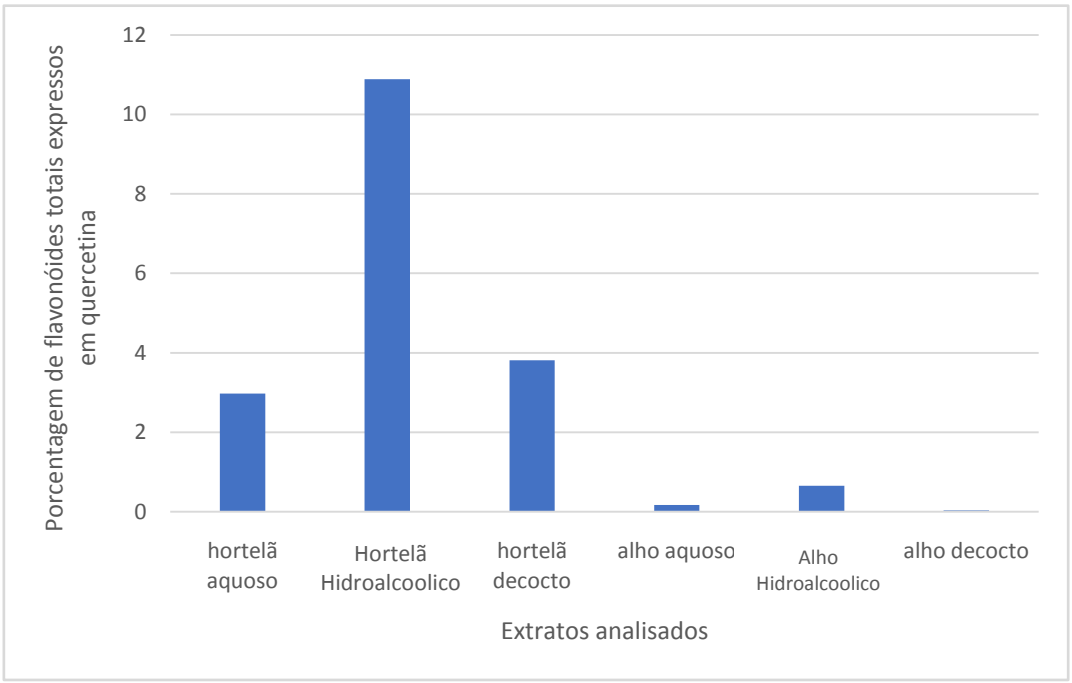
Extrato	Absorbância	Diluição	Concentração no extrato (mg/ml)
Hortelã Aquoso	0,215	10	1,89
Hortelã Hidroalcoolico	0,618	10	6,28
Hortelã Decocto	0,226	10	2,01
Alho Aquoso	0,141	2,5	0,27
Alho Hidroalcoolico	0,522	2,5	1,31
Alho Decocto	0,1	2,5	0,16

Tabela 4 – Concentração de flavonóides totais presentes nas folhas de hortelã e nos bulbilhos do alho

Extrato	Concentração do extrato (g planta/ mL de extrato)	Concentração na planta (%)
Hortelã Aquoso	0,063	2,97
Hortelã Hidroalcoolico	0,058	10,89
Hortelã Decocto	0,053	3,81
Alho Aquoso	0,161	0,17
Alho Hidroalcoolico	0,200	0,65
Alho Decocto	0,500	0,03

A concentração de flavonóides totais das plantas obtidas nos diferentes extratos está representada na figura a seguir:

Figura 16 - Teor de flavonóides totais em folhas de hortelã e bulbos de alho



6 DISCUSSÃO

Extratos de plantas são uma alternativa para o tratamento de verminoses em animais, porém esta área é ainda pouco explorada e são necessárias mais pesquisas para determinar sua eficácia. O levantamento bibliográfico de plantas utilizadas como anti-helmínticos em animais mostra diferentes espécies de plantas utilizadas em diferentes espécies animais, como no trabalho feito por Cruz (2008)[8] que utilizou infusão de folhas secas *Solanum lycocarpum* L. (Solanaceae) em camundongos e verificou a eliminação de *Aspiculuris tetráptera* (nematódeo de ratos). Em um trabalho feito por Assis (2003)[10] verificou-se que extrato de *Spigelia anthelmia* Linn. (Loganiaceae) na concentração de 50mg de acetato de etila inibiu 100% dos ovos de incubação de *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes. E o extrato metanólico inibiu 97.4% dos ovos de incubação. Um outro trabalho feito por Carmo (2013)[14], mostra que o extrato aquoso da *Punica granatum* (Romã) contra nematoides gastrointestinais de ovinos na concentração de 12% pode ser eficaz no tratamento in vitro do nematoide gastrointestinal *Haemonchus contortus.*

Um ponto a ser considerado é que durante a pesquisa bibliográfica relacionada ao uso de alho e hortelã constatou-se que a maioria dos artigos publicados se referem a bovinos e pequenos ruminantes. Alguns dos resultados obtidos através da utilização anti-helmíntica do alho e da hortelã mostraram-se eficazes tanto in vitro quanto in vivo, como no trabalho feito por Nascimento (2009)[27] onde verificou-se que o hidrolato de *Mentha villosa* Huds. mostrou-se efetivo no controle de larvas de nematoides gastrintestinais de bovinos em teste *in vitro*. E no trabalho feito por Parra (2014)[25], mostra que a atividade anti-helmíntica do alho foi parcialmente eficaz contra nematódeos em bovinos com 120g de alho em extração aquosa no teste in vivo.

Pesquisas realizadas com hortelã e alho mostram a atividade anti-helmíntica destes produtos (Santos 2012[24]; Parra 2014[25]; Nascimento 2009[27]). Cada uma destas pesquisas, porém, utiliza produtos diferentes, seja o óleo essencial, hidrolato (extrato aquoso), extrato etanólico entre outros, com resultados positivos ou não. Estes extratos são também utilizados na medicina popular de formas diversas, como por exemplo, infusão e decocção. A questão é se estes produtos são semelhantes e qual teria o melhor efeito terapêutico.

Para se obter um produto fitoterápico eficaz é necessário padronizar a preparação dos extratos. Neste trabalho foram preparados três tipos de extratos para cada matéria prima (alho e hortelã), estes foram caracterizados em relação ao pH e densidade como características físicas, e cromatografia e espectrofotometria para analisar os componentes químicos. Os resultados obtidos através da determinação do pH dos extratos revelam que o mesmo está ao redor de 6,0 e 7,0, sendo assim considerados biocompatíveis[35]. A densidade de todos os extratos obtidos mostra-se muito semelhante entre eles.

O perfil cromatográfico em camada delgada é um ensaio que permite separar os constituintes do extrato vegetal. Assim, podem ser utilizados sistemas para determinados grupos químicos. Como o grupo químico responsável pela ação anti-helmíntica do alho e hortelã ainda não foi muito bem definido, optou-se por realizar o perfil cromatográfico para observação de flavonóides como descrito por Wagner (2009)[37] e Oliveira (2010)[32].

O perfil cromatográfico das folhas de hortelã em extrato hidroalcoolico mostrou um maior número de manchas, tanto na observação sob luz ultravioleta quanto após a revelação com anisaldeido sulfúrico como apresentado na figura 13 e 14, isto indica que o extrato apresenta um maior número de flavonóides e se mostrou muito semelhante ao perfil cromatográfico obtido por Wagner (2009)[37].Foi este extrato que apresentou maior teor de flavonóides em relação aos outros extratos, como observa-se na tabela 3 e 4, e na figura 16. O extrato aquoso e o decocto apresentaram uma composição semelhante entre eles mostrando também a presença de flavonóides.

Podemos observar no perfil cromatográfico (figura 13 e 14) que a composição em relação aos flavonóides não é a mesma dependendo do solvente utilizado na extração, pois as manchas não se apresentaram nos mesmos Rfs. No extrato hidroalcoolico foram observadas 5 manchas após revelação com anisaldeido sulfúrico e nos extratos aquosos (tanto por maceração como decocto) somente duas manchas. Comparando os extratos aquosos tanto na observação sob luz ultravioleta como após revelação, temos uma mancha em Rf de aproximadamente 0,7 – 0,9 de cor azul/violeta no extrato aquoso obtido sem aquecimento (maceração), esta mancha não aparece mais no extrato obtido por aquecimento (decocto). De acordo com o atlas de cromatografia de Wagner H. (2009)[37], a mancha que corresponde ao Rf 0,09 seria o mentol, substância presente no óleo essencial da hortelã, e estaria

presente em todos os extratos obtidos desta planta quando observados na luz ultravioleta.

Assim, vemos que um extrato obtido por métodos diferentes pode ter uma composição diferente, seria importante avaliar qual destes extratos apresenta uma melhor atividade anti-helmíntica e avaliar quais as substâncias presentes na hortelã com esta atividade para realizar uma padronização do extrato utilizando a substância ativa como marcador.

No perfil cromatográfico dos extratos de alho observa-se menos manchas, porém estão presentes nos três extratos analisados na visualização com ultravioleta, sendo que após revelação com anisaldeido sulfúrico o decocto não apresentou nenhuma mancha correspondente a flavonóides (apresentado na figura 14), o que pode indicar que não houve uma extração destas substâncias por este método ou que houve uma degradação química pelo calor. Não significa, porém, que os decoctos não extraiam outros componentes como a alicina, taninos e outros. O extrato hidroalcoolico de alho foi o que obteve em maior concentração os flavonóides totais em relação aos outros extratos obtidos, estes dados estão apresentados na tabela 3 e 4, e na figura 16. A cromatografia mostrou que a composição dos extratos obtidos por maceração, tanto o aquoso como o hidroalcoolico apresentam a mesma composição em relação aos flavonóides. Ensaios farmacológicos devem ser realizados de modo a verificar se são estes dois extratos os que apresentam melhor atividade anti-helmíntica e se proceder a uma padronização do extrato utilizado com esta finalidade.

7 CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que dependendo do método de extração e do solvente utilizado a composição dos extratos pode não ser a mesma, assim, a ação farmacológica destes também pode ser diferente.

Utilizando flavonóides totais como marcador químico, é o extrato hidroalcoolico obtido por maceração cinética tanto para a hortelã como para o alho, o que apresentou maior concentração de flavonóides totais. São necessários ensaios “in vitro” e “in vivo” para determinar a eficácia destes extratos.

A partir disso, verificamos a importância de se realizar uma padronização físico-química desses extratos, caracterização de outras substâncias presentes, determinação da dose, a melhor forma de administração, avaliar qual o tipo de extrato com melhor atividade contra helmintos e desta forma garantir um tratamento seguro e eficaz.

REFERÊNCIAS

[1] Ozaki AT, Duarte PC. Fitoterápicos utilizados na medicina veterinária, em cães e gatos. Rev. Inf. 2006. [acesso em: 02 fev 2016] 18 (11/12): 17-25. Disponível em: http://www.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/11/infarma06.pdf

[2] Bottero, d. Persistência de parasitoses intestinais endêmicas na América Latina. Boletim Oficinal Sanitário Panamericano. V.60. Pg. 39-47. 1981.

[3] Sousa RG, Falcão HS, Barbosa Filho JM, Melo Diniz MFF, Batista LM. Atividade anti-helmíntica de plantas nativas do continente americano: uma revisão. Rev. Bras. Pl. Med. 2013 [Acesso em: 20/03/2016] 15(2): 287-292. Disponivel em: http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v15n2/18.pdf

[4] Camurça-Vasconcelos ALF, Morais, SM, Santos LFL, Rocha MFG, Bevilaqua CML. Validação de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica. REV.BRAS.PL.MED, 2005, [acesso em: 9 nov 2016] 7(3): 97-106. Disponível em: http://www.sbpmed.org.br/download/issn_05_3/artigo_revisao2.pdf

[5] Bianchin I, Catto JB. Alho desidratado (*Allium sativum* L.) no controle de nematódeos gastrintestinais em bovinos naturalmente infectados. Ciência Rural, Santa Maria, jul-ago, 2004 [acesso em: 15 abril 2016] 34 (4): 1267-1270. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/cr/v34n4/a52v34n4.pdf

[6] Masamha B, Gadzirayi CT, Mukutirwa I. Efficacy of Allium sativum (garlic) in controlling nematode parasites in sheep. Res. Vet. Med. 2010 [acesso em: 19 fev 2016] 8(3): 161-169. Disponível em: http://jarvm.com/articles/Vol8Iss3/Vol8%20Iss3Gadzirayi.pdf

[7] Oliveira APG, Oliveira APM, Vieira BCR, Souza MH, Amaral AA. Alho (*Allium sativum* linn.) como fitoterápico para animais de produção. Enc.Bio. Centro Cien. Com. 2015. [acesso em: 21 fev 2016] 11(22): 49. Disponível em: http://www.conhecer.org.br/enciclop/2015E/alho.pdf

[8] Cruz APS, Costa DPC, Valente GSC, Mattos DMM, Alexandre DJA, Diré GF, Borba HR. Anthelmintic effect of *Solanum lycocarpum* in mice infected with A*spiculuris tetraptera*. The Journal of American Science, 2008 [acesso em: 18 mar 2016] 4(3): Pg. 77-78. Disponível em: http://www.sciencepub.net/american/0403/11_0419_lycocarpum_am.pdf

[9] Santos EA, Carvalho CM, Costa ASL, Conceição AS, Moura FB, Santana AEG. Bioactivity evaluation of plant extracts used in indigenous medicine against the snail, *Biomphalaria glabrata*, and the larvae of *Aedes aegypti*. Evi. Bas. Compl. and Alt.

Med. 2012. [acesso em: 20 set 2016] Disponível em: https://www.hindawi.com/journals/ecam/2012/846583/

[10] Assis LM, Bevilaqua CML, Morais SM, Vieira LS, Costa, CTC, Souza JA L. Ovicidal and larvicidal activity in vitro of Spigelia anthelmia Linn. extracts on Haemonchus contortus. Veterinary Parasitology. Nov.2003 [Acesso em: 19 Mar 2016] 117: 43–49.

[11] Lans C, Harper T, Georges K Bridgewater E. Medicinal plants used for dogs in Trinindad and Tobago. Preventive Veterinary Medicine. 2000. 45:207 – 214.

[12] Hammond JA, Fielding D, Bishop SC. Prospects for plant anthelmintics in tropical Veterinary Medicine. Veterinary Research Communications, 1997. 21 (3): 214 – 217.

[13] Cunha AP, Silva AP, Roque OR. Plantas e Produtos vegetais em Fitoterapia. 4.ª ed. Lisboa: Fundacao caloust Gulbenkian; 2003. 701p.

[14] Carmo, F. N. A., Medeiros, A. J. D., Silva, F. A. T., Medeiros, R. A.; Dias, S. A. M. M. E Feitosa, K. M. Ação anti-helmíntica da *Punica granatum* (romã). IX Congresso de iniciação cientifica do IFRN, 2013; [acesso em: 10 Nov 2016]. Disponivel em: http://www2.ifrn.edu.br/ocs/index.php/congic/ix/paper/viewFile/907/52

[15] Oliveira CJ, Araújo TL. Plantas medicinais: usos e crenças de idosos portadores de hipertensão arterial. Rev. Ele. Enfer. 2007. [acesso em: 25 mar 2016] 18(1): 93-105. Disponível em: https://www.fen.ufg.br/fen_revista/v9/n1/pdf/v9n1a07.pdf

[16] Radünz LL, Melo EC, Barbosa LCA, Santos RHS, Barbosa FF, Martinazzo AP. Influência da temperatura do ar de secagem no rendimento do óleo essencial de hortelã-comum (*Mentha x villosa huds*). Eng. na Agric. Out./Dez 2006.[acesso em: 15 jan 2016] 14(4): 250-257. Disponível em: http://br.monografias.com/trabalhos-pdf900/temperatura-rendimento-oleo/temperatura-rendimento-oleo.pdf

[17] Apolinário AC, Monteiro MMO, Pachú CO, Sabtas IC. *Allium sativum L* l. Como agente terapêutico para diversas patologias: uma revisão. Biofar –Rev. de bio e farm. 2008 [acesso em 20 Mar 2016] 2(1):1-6. Disponível em: http://sites.uepb.edu.br/biofar/download/v3n1-2008/ALLIUM_SATIVUM.pdf

[18] Melhorn HAL, Quraishy SAL, Rasheid KAS, Jatzlau A, Abdelghaffar F. Addition of a combination of onion (*Allium cepa*) and coconut (*Cocos nucifera*) to food of sheep stops gastrointestinal helminthic infections. Parasitology Research. 2011.108(4): 1041-1046.

[19] Pachú CO. Processamento de plantas medicinais para obtenção de extratos secos e líquidos [tese]. Campina Grande – Paraíba: Universidade federal de campina grande; 2007. [acesso em 19 nov 2016]. Disponível em: http://www.prodep.cct.ufcg.edu.br/teses/Clesia_OP_2007.pdf

[20] Silva F, Casali VWD. Plantas medicinais e aromáticas: Pós-colheita e óleos essenciais. Viçosa: Arte e Livros, 2000. 135p.

[21] Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Portaria n. 6 de 31 de janeiro de 1995. Diário Oficial da União de 31 de Janeiro de 1995. Brasília Acesso em: 15/02/2016. Disponível em: <http://anvisa.gov.br/e-legis/>

[22] Bianchin I, Gomes A, Feijo GLD, Vaz EC. Eficiência do pó de alho (Allium sativum L.) no controle dos parasitos de bovinos. Boletim de Pesquisa Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, 1999. 31 p.

[23] Santos FCC, Vogel FSF, Monteiro SG. Extrato aquoso de alho (*Allium sativum*) sobre nematóides gastrintestinais de ovinos. Rev. Bras. de Agro. 2012.[acesso em: 03 mar 2016] . 7(1): 139-144. Disponível em: http://www.aba-agroecologia.org.br/revistas/index.php/rbagroecologia/article/view/10365/8559

[24] Neves AP, Rodrigues RF. Uso do alho no controle da mastite subclínica em vacas leiteiras. Cad. de Agroec. 2013. [acesso em: 20 mar 2016] 8(2): 1-5. Disponível em: http://www.aba-agroecologia.org.br/revistas/index.php/cad/article/view/13915/9619

[25] Parra CLC, Olivo CJ, Agnolin CA, Sangioni LA, Buzatti A, Pivoto FL. Soluções de alho (*Allium sativum* L.) no controle de nematódeos gastrintestinais em bovinos jovens da raça Holandesa. Rev. bras. plantas med. Set/2014 [acesso em: 18 mar 2016] 16(3): 545-551. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722014000300011

[26] Medeiros MFT, Fonseca VS, Andreata RHP. Plantas medicinais e seus usos pelos sitiantes da Reserva Rio das Pedras, Mangaratiba, RJ, Brasil. Acta bot. bras. 2004. [acesso em: 12 abril 2016]18(2): 391-399. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-33062004000200019

[27] Nascimento EM, Furlong J, Pimenta SD, Prata MCA. Efeito anti-helmíntico do hidrolato de Mentha villosa Huds. (Lamiaceae) em nematóides gastrintestinais de bovinos. Ciencia Rural. 2009. [acesso em: 12 fev 2016] 39(3). Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782009000300028

[28] Pinto EPP, Amorozo MCM, Furlan A. Conhecimento popular sobre plantas medicinais em comunidades rurais de mata atlântica – Itacaré, BA, Brasil. Acta Bot. Bras. Out/Dez 2006. [acesso em: 12 jan 2016] 20(4). Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-33062006000400001

[29] Arnous AH, Santos AS, Beinner, RPC. Plantas medicinais de uso caseiro - conhecimento popular e Interesse por cultivo comunitário. Rev. Espaço para a Saúde, jun.2005 [acesso em: 22 Mar 2016] Londrina, 6(2):1-6. Disponível em: www.ccs.uel.br/espacoparasaude

[30] Fonseca SGC. Farmacotécnica de fitoterápicos. Departamento de farmácia/UFC. Fortaleza – CE.2005. [acesso em: 14 set 2016]. Disponível em: http://www.farmacotecnica.ufc.br/arquivos/Farmacot_Fitoterapicos.PDF

[31] Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR (Organizadores) Farmacognosia da planta ao medicamento. 5 ed. Porto Alegre/Florianópolis: editora da UFRGS/editora da UFSC; 2003.

[32] Oliveira F, Rito JLA, Akisue G, Bacchi EM. Fundamentos de cromatografia aplicada a fitoterápicos. 1ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2010. 143p.

[33] Marques GS, Monteiro RPM, Leao WF, Marques MA, Peixoto MS, Neto PR, Xavier, HS, Soares AL. Avaliação de procedimentos para quantificação de flavonoides totais em folhas de Bahunia fortificata Link. Química nova. 2012. 35:517-522.

[34] Dornas WC, Oliveira TT, Rodrigues-das-dores RG, Santos AF, Nagem TJ. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. Rev. Ciênc. Farm. Básica Aplic., 2007 [acesso em: 10 nov 2016] 28(3): 241- 249. Disponível em: http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewFile/235/230

[35] Allen Jr LV, Popovich NG, Ansel HC. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. Tradução Ellenara Lemos-Senna [et al.] 8 ed.Porto Alegre: Artmed, 2007. 1756p

[36] Brasil. Farmacopeia Brasileira. 5ª ed. Vol. 1. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Brasilia: Anvisa 2010.

[37] Wagner H, Bladt S. Plant drug analysis: A thin laye chromatography atlas. 2ed. New York: Springer; 2009. 384p.