

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA DA *Morinda citrifolia*  
(noni), EM AVES POEDEIRAS NATURALMENTE INFECTADAS**

**DANILO RODRIGUES BARROS BRITO**

Dissertação apresentada como requisito à  
obtenção do título de Mestre em Ciência  
Animal, da Universidade Federal do Piauí,  
Programa de Pós-Graduação em Ciência  
Animal com área de Concentração em  
Sanidade e Reprodução Animal.

**Orientador:** Prof. Dr. Rozeverter Moreno  
Fernandes

Teresina – Estado do Piauí - Brasil  
Abril - 2008

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA DA *Morinda citrifolia*  
(noni), EM AVES POEDEIRAS NATURALMENTE INFECTADAS**

**DANILO RODRIGUES BARROS BRITO**

Dissertação aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Rozeverter Moreno Fernandes – CCA/UFPI  
(Orientador)

---

Prof. Dr<sup>a</sup> Rita de Maria Seabra Nogueira de Candanedo Guerra - UEMA

---

Prof. Dr<sup>a</sup> Maria Zenaide de Lima Moreno Fernandes - FACIME/UESPI

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais que sempre foram um exemplo de determinação e persistência, que souberam conquistar, mas ao mesmo tempo dividir. Obrigado por terem acreditado em mim e pelo amor expressado em atitude de confiança, proporcionando alegrias e vitórias na minha vida.

## AGRADECIMENTOS

Àquele que tem sido a razão do meu viver, a esperança das minhas conquistas e a certeza das minhas vitórias. A ti Jesus Cristo, agradeço pelo dom da vida e por mais uma etapa cumprida. Sem ti nada poderia fazer. Tu és amigo verdadeiro e eterno, o motivo por mais uma benção alcançada. Agradeço-te Senhor Deus por todas as coisas que tem feito em meu ser.

À Universidade Federal do Piauí, por ter proporcionado toda a estrutura para a realização do nosso experimento e desenvolvimento técnico-científico do projeto de pesquisa.

Aos órgãos de fomento, CNPq e FAPEMA, pela bolsa concedida.

À minha família pelo amor dispensado a mim e por sempre ter me ajudado nas diversas fases da minha vida, como esta do mestrado.

À minha noiva, Daniela Aguiar Penha, que tem me feito muito feliz e ensinado a amar e ser amado de forma tão especial. Obrigado Amor por ter suportado todo esse tempo distante de mim.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rozeverter Moreno Fernandes, que sempre conduziu a pesquisa de forma ética e sistemática, onde esteve sempre a tirar minhas dúvidas e ensinar-me sobre a parte experimental. Também a sua esposa, Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno Fernandes, que oficialmente não foi minha co-orientadora, mas que agiu como tal.

Aos alunos de Medicina Veterinária da UFPI, Marcos Daniel de Sousa Ferreira, Fernanda Rodrigues Leite Rolim e Daniela Cristina Pereira Lima, que muito me ajudaram na realização do experimento, e por fim, dos resultados encontrados em nossa pesquisa.

Ao Ronaldo Sousa Santos, que não mediu esforços a nos fornecer toda a matéria vegetal do noni necessária para a realização do experimento.

À Kamilla Figueiredo Vidigal, Felipe de Jesus Morais Júnior, Bruno Leandro Maranhão Diniz, Rodrigo Maciel Calvet, amigos do estado do Maranhão que estiveram ao meu lado como companheiros de mestrado.

Aos funcionários do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal e Agronomia, Luís Gomes da Silva e Vicente de Sousa Paulo, que sempre estiveram a ajudar-me nas diversas tarefas exigidas no programa.

“Determinando tu algum negócio, ser-te-á firme, e a luz brilhará em teus caminhos”.  
(Jó 22.28)

“Uma pessoa nunca aprenderá demais, que é melhor haver aprendido algo que nunca será usado do que de repente precisar de alguma coisa que nunca aprendeu”.  
(Harry Lewis Foust)

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>01</b>
<b>2.</b>	<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>11</b>
	<b>Abstract .....</b>	<b>12</b>
	<b>Resumo .....</b>	<b>13</b>
	<b>Introdução .....</b>	<b>14</b>
	<b>Material e Métodos .....</b>	<b>15</b>
	<b>Resultados e Discussão .....</b>	<b>19</b>
	<b>Referências Bibliográficas .....</b>	<b>21</b>
<b>3.</b>	<b>CAPÍTULO II .....</b>	<b>27</b>
	<b>Resumo .....</b>	<b>28</b>
	<b>Abstract .....</b>	<b>29</b>
	<b>Introdução .....</b>	<b>30</b>
	<b>Material e Método .....</b>	<b>32</b>
	<b>Resultado e Discussão .....</b>	<b>37</b>
	<b>Referência Bibliográfica .....</b>	<b>45</b>
<b>4.</b>	<b>CONCLUSÕES GERAIS .....</b>	<b>47</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>48</b>

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

- Figura 1.** Avaliação do extrato aquoso do fruto da *Morinda citrifolia* nas duas maiores concentrações e em dois tempos distintos de exposição ..... 24
- Figura 2.** Avaliação percentual da taxa de mortalidade em 96 horas de exposição ao extrato etanólico do fruto da *Morinda citrifolia* ..... 25
- Figura 3.** Comparação da taxa de mortalidade entre extrato etanólico e aquoso do fruto da *Morinda citrifolia* ao longo das 96 horas de exposição ..... 26

### CAPÍTULO II

- Figura 1.** Percentual de mortalidade entre extrato aquoso e etanólico da folha da *Morinda citrifolia* sobre *Ascaridia galli* ..... 41
- Figura 2.** Percentual de eliminação comparativo entre o extrato aquoso e etanólico da folha da *Morinda citrifolia* sobre *Ascaridia galli* no teste in vivo ..... 44

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

**Tabela 1.** Percentual médio de mortalidade do extrato aquoso do fruto da *Morinda citrifolia* sobre *Ascaridia galli* no teste in vitro ao longo de 96 horas de tratamento ..... 24

**Tabela 2.** Percentual médio de mortalidade do extrato etanólico do fruto da *Morinda citrifolia* sobre *Ascaridia galli* no teste in vitro ao longo de 96 horas de tratamento ..... 25

**Tabela 3.** Atividade anti-helmíntica do extrato aquoso e etanólico obtido do fruto de *Morinda citrifolia* na eliminação de *Ascaridia galli* em aves poedeiras naturalmente infectadas ..... 26

### CAPÍTULO II

**Tabela 1.** Percentagem média de eficácia do extrato aquoso da folha da *Morinda citrifolia* sobre *Ascaridia galli* no teste in vitro considerando o tempo de exposição dos parasitas aos tratamentos ..... 38

**Tabela 2.** Percentagem média de eficácia do extrato etanólico da folha da *Morinda citrifolia* sobre *Ascaridia galli* no teste in vitro, considerando o tempo de exposição dos parasitas aos tratamentos ..... 40

**Tabela 3.** Atividade anti-helmíntica do extrato aquoso obtido da folha de *Morinda citrifolia* na eliminação de *Ascaridia galli* em aves poedeiras naturalmente infectadas ..... 42

**Tabela 4.** Atividade anti-helmíntica do extrato etanólico obtido da folha de *Morinda citrifolia* na eliminação de *Ascaridia galli* em aves poedeiras naturalmente infectadas ..... 43

## RESUMO

A atividade anti-helmíntica dos extratos aquoso e etanólico do fruto e da folha da *Morinda citrifolia* (noni) foi avaliada in vitro e in vivo em aves poedeiras naturalmente infectadas por *Ascaridia galli*. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando o teste t de “Student”. Para os testes com o fruto, nas concentrações 13,48 e 26,96 mg/mL, o extrato aquoso apresentou percentagem de mortalidade de 46,67 e 50%, respectivamente, diferindo estatisticamente do controle ( $P < 0,05$ ). O extrato etanólico nas concentrações 33,36 e 66,72 mg/mL, apresentou taxa de mortalidade de 66,67 e 76,67%, respectivamente, diferindo estatisticamente ( $P < 0,05$ ). No teste in vivo, o extrato aquoso apresentou um percentual de eliminação de 27,08%, diferindo estatisticamente do grupo controle. Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos do extrato etanólico e controle (diluyente) ( $P > 0,05$ ). Para os testes com a folha, no teste in vivo, não houve diferença significativa entre o extrato aquoso e o grupo controle (água) na eliminação do *A. galli*. O extrato etanólico apresentou um percentual de eliminação de 30,1%, diferindo estatisticamente do grupo controle ( $P < 0,05$ ). Na concentração 13,92 mg/mL, o extrato aquoso apresentou percentagem de mortalidade de 96,67%. O extrato etanólico, nas concentrações 33,36 e 66,72 mg/mL, apresentou percentagem de mortalidade de 83,33 e 90%, respectivamente, havendo diferença estatisticamente significativa do controle negativo ( $P < 0,05$ ). Portanto, no teste in vitro, os extratos aquoso e etanólico da folha e do fruto da *M. citrifolia* apresentaram taxa de mortalidade elevada sobre *A. galli*, mostrando-se promissora como planta de atividade anti-helmíntica. No teste in vivo, os mesmos extratos apresentaram um percentual de eliminação baixo, considerando uma concentração de 10%.

Palavras-chave: *Morinda citrifolia*, atividade anti-helmíntica, *Ascaridia galli*

## ABSTRACT

### EVALUATION OF THE ANTHELMINTIC ACTIVITY OF *Morinda citrifolia* (noni), IN CHICKEN NATURALLY INFECTED

The anthelmintic activity of aqueous and ethanolic extracts of *Morinda citrifolia* fruit (noni) was evaluated in vitro and in vivo in chicken naturally infected by *Ascaridia galli*. The data were analyzed by the Student test. For the with fruit test, the concentrations of 13,48 and 26.96 mg/mL from the aqueous extract, demonstrated mortality of 46.67 and 50%, respectively ( $P < 0,05$ ). The ethanolic extract in the concentrations of 33.36 e 66.72 mg/mL, demonstrated mortality rate of 66.67 e 76.67%, respectively, deferring statistically ( $P < 0,05$ ). In the in vivo test, the aqueous extract of noni fruit showed 27.08% of elimination, deferring statistically from the control group. There was no statistical difference between the ethanolic extract treatments and the control (diluent) ( $P > 0,05$ ). For the with leaf test, in the in vivo, there was no significative difference between the aqueous extract and the control group (water) ( $P > 0.05$ ) in the elimination of *A. galli*. The ethanolic extract presented an elimination of 30.1%, differing stastically from the control group ( $P < 0.05$ ). In the concentration of 13.92 mg/mL, the aqueous extract presented a mortality of 96.67%. The ethanolic extract, in the concentrations of 33.36 and 66.72 mg/mL, showed a mortality of 83.33 and 90%, respectively, there was a significative statistical difference from the negative control ( $P < 0,05$ ). So the test in vitro, the aqueous and ethanol extracts of leaf and fruit of *M. citrifolia* showed high mortality rate on *A. galli*, is showing promising activity as plant anthelmintic. In the test in vivo, the same extracts showed a low percentage of disposal, considering a concentration of 10%.

Key-words: *Morinda citrifolia*, anthelmintic activity, *Ascaridia galli*

## 1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas com fins medicinais, para tratamento, cura e prevenção de doenças, é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. No início da década de 1990, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou que 65-80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (AKERELE, 1993).

As plantas medicinais são importantes por fornecerem matéria-prima para a síntese de drogas, além de serem utilizadas como agentes terapêuticos. O emprego das plantas é supervalorizado no uso tradicional com base nos seus benefícios medicinais. Dessa forma, torna-se imprescindível o conhecimento sobre a dose e a parte empregada da planta, além de suas propriedades terapêuticas, pois existem plantas que são altamente tóxicas, mesmo em pequenas doses (ZHAN; ZHOU, 2003).

A validação científica dos fitoterápicos é uma etapa inicial obrigatória para a utilização correta das plantas medicinais e seus compostos ativos. A total aceitação de drogas derivadas de plantas e a fitoterapia da medicina científica só poderá ocorrer se estes produtos cumprirem os mesmos critérios de eficácia, segurança e controle de qualidade que os produtos sintéticos (RATES, 2001). Desta forma, os produtos derivados de plantas precisam ter a eficácia avaliada e confirmada, assim como deve ser garantida que sua administração a organismos vivos ocorra sem riscos para sua saúde (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2005).

Os testes *in vitro* permitem uma avaliação da existência de propriedades anti-helmínticas nos extratos vegetais, constituindo desta maneira, uma etapa preliminar à caracterização dos possíveis compostos ativos presentes nos vegetais, possibilitando a criação de novas alternativas para o controle das parasitoses (COSTA et al., 2002). Assim, a fitoterapia pode contribuir para aumentar a produtividade, uma vez que reduz o uso de anti-helmínticos convencionais, além de estender a vida útil dos produtos químicos disponíveis (VIEIRA et al., 1999).

A produção de frangos e ovos com a utilização de sistemas orgânicos e outros não intensivos vem crescendo em importância em vários países. Em contraste com o sistema convencional, estas criações são afetadas por várias mudanças no manejo, tais como: acesso a áreas de pasto e proibição no uso de medicamentos preventivos, incluindo anti-parasitários. Tal modelo implica o aperfeiçoamento do manejo e alimentação das aves, uma vez que tendo acesso a piquetes as aves terão contato com ovos, larvas e hospedeiros intermediários de diversos helmintos (TRAMSBORG et al., 1999).

A *Morinda citrifolia*, normalmente conhecida por noni, é uma pequena árvore da família das Rubiaceae, originária do Sudoeste da Ásia, tendo sido difundida pelo homem através da Índia, e do Oceano Pacífico até as ilhas da Polinésia Francesa, onde se situa o Taiti. O emprego tradicional do noni pelos polinésios está atribuído aos efeitos relacionados com atividade antibacteriana, antiviral, antifúngica, antitumoral, anti-helmíntica, analgésica, antiinflamatória, hipotensora e imunoestimulante, usado há mais de 2000 anos (WANG et al., 2002).

A planta noni cresce tanto em florestas, como em terrenos rochosos ou arenosos. É tolerante a solos salinos e certas condições de seca. É, portanto, encontrada numa grande variedade de habitat: terrenos vulcânicos ou mesmo em terra calcária. Pode crescer até 9m de altura, e tem folhas largas, simples, de verde escuro, com veias vincadas. A planta apresenta flores e frutos durante todo o ano, sendo as flores pequenas e brancas; os frutos contém muitas sementes, e tem um forte odor, quando colhida, sendo por vezes descrita como fruta de queijo ou fruta de vômito. O fruto é oval e atinge 4 a 7 cm de tamanho. Quando surge apresenta uma cor verde, mudando para amarelo e por fim, quase branco, época em que o fruto é colhido. Apesar do seu cheiro, as pessoas alimentam-se deste fruto, quer cru, quer cozido. Os habitantes do Sudoeste da Ásia e os aborígenes da Austrália, ingerem a fruta crua com sal ou cozida com especiarias. O fruto contém muitas sementes, que normalmente são ingeridas depois de fritas (WIKIPÉDIA, 2006).

Um dos princípios biológicos ativo da *M. citrifolia* é um alcalóide conhecido como xeronine, sendo útil na medicina, alimentação e em campos industriais. A composição, caracterização, o modo de ação e a utilidade desse alcalóide, pode ser isolado de um grande número de substâncias naturais através de determinadas técnicas e precauções (HEINICKE, 1985).

Estudos demonstraram que o suco do fruto do noni, em concentrações de 5 % v/v ou superior, inibiu significativamente, a iniciação de novos brotos vasculares em desenvolvimento da veia placentária humana, em comparação com os controles de volumes equivalentes de solução salina 0,9 %; estas concentrações do suco também reduziram a velocidade de crescimento e a proliferação de brotos capilares em desenvolvimento. A concentração de 10 % do suco em meio de cultivo, induz degeneração vascular e apoptose nas concavidades com células capilares e houve também inibição da iniciação capilar em desenvolvimento de tumores mamários humanos e em desenvolvimentos tumorais com brotos capilares, havendo degeneração rápida dos vasos (HORNICK et al., 2003).

Um estudo realizado com suco de noni tahitiano, comercializados como suplementos dietéticos, administrados a 10 % em água durante 1 semana, preveniu a formação de 7-12 dimetilbenzo[a]antraceno (DMBA)-DNA. As concentrações de DMBA-DNA foram reduzidas no coração (30 %), nos pulmões (41 %), no fígado (42 %) e nos rins (80 %) em ratas Sprague-Dowley. Entretanto, o efeito foi muito maior em ratos C57BL-6, os quais reduziram o DMBA-DNA no coração (60 %), fígado (70 %) e nos rins (90 %). O suco teve efeito antioxidante *in vitro* que foi comparado com o produzido pela vitamina C, pó de semente de uva e picnogenol em doses equivalentes diárias. Com base nesses resultados, Wang; Su (2001) sugeriram que o suco de noni pode contribuir para prevenção do câncer.

Uma fração enriquecida de polissacarídeo do suco teve efeitos profiláticos e terapêuticos potenciais contra o modelo de Sarcoma 180 sensível a imunomoduladores. A atividade antitumoral desse suco produz uma recuperação da saúde de 25 a 45 % em ratos alogênicos e o efeito foi abolido completamente pela administração simultânea de inibidores específicos de macrófagos (2-cloro adenosina), de células T (ciclosporina) ou de células asesinas naturais (anticorpo GM1). A fração produz efeitos sinérgicos benéficos quando se combinou com fármacos antineoplásicos como cisplatino, adriamicina, mitomicina C, bleomicina, etopósido, 5-fluoruracilo, vincristina ou cantotecina. Não foi favorável quando se associou com paclitaxel, arabinósido de citosina ou fármacos anticancerosos imunossupressores como ciclofosfamida, metrotexato ou 6-tioguanina. Na administração conjunta com citocina Th1 e interferon gama, o efeito foi favorável, porém a atividade foi abolida quando se combinou com citocina Th2, interleucina-4 ou interleucina-10, sugerindo que a fração induz, *in vivo*, um estado imune dominante Th1. A associação da fração com imexón, um imunomodulador sintético, foi benéfica, porém resultou como desfavorável com a combinação com o copolímero MVE-2, um imunomodulador de alto peso molecular, interleucina-2 ou interleucina-126 (HIRAZUMI; FURUSAWA, 1999).

Uma fração rica em polissacarídeos do suco do noni, com atividade antitumoral no modelo de carcinomatoses peritoneal de pulmão de Lewis (LLC), incrementou significativamente a sobrevivência de ratos portadores de tumor LLC isogênico. Não houve efeito citotóxico significativo no cultivo de células de LLC, LLC1, porém pode ativar exudado de células peritoneais (PEC) para transmitir toxicidade quando se cultivou conjuntamente com as células tumorais. Isso sugere que a fração suprimiu o crescimento tumoral mediante a estimulação do sistema imune do hospedeiro. O tratamento conjunto com agente imunossupressor 2-cloro adenosina (C1-Ade) ou com ciclosporina A (cys-A) diminuiu o efeito da

fração do suco, sustentando um mecanismo imunomodulador. Ademais, a fração liberou vários mediadores de células efectoras murinas, como: fator alfa de necrose tumoral (TNF-alfa), interleucina-1beta (IL-1beta), IL-10, IL-12 p70, interferon-gama (IFN-gama) e óxido nítrico (NO); porém não teve atividade sobre IL-2 e suprimiu a liberação de IL-4. O incremento do tempo de sobrevivência e o tratamento ocorreram ao combinar doses sub-ótimas de quimioterápicos como: adriamicina, cisplatino, 5-fluorouracilo e vincristina, sugerindo que a aplicação clínica da fração polissacarídica do suco pode ser utilizado como complemento no tratamento de câncer (FURUSAWA et al., 2003).

O extrato etanólico do fruto pulverizado inibiu, *in vitro*, a ciclooxigenase-1 (COX-1) e teve uma concentração inibitória média (CI50) igual a 163 µg/mL, enquanto que os controles com aspirina ou indometacina inibiram a COX-1 com CI50 iguais a 241 e 1,2 µg/mL, respectivamente (LI et al., 2003). No entanto, a administração do suco do fruto maduro (50 % em água), administrado em doses de 20 g de material vegetal fresco/kg, por via oral, não teve efeito analgésico no modelo de contorções induzidas por ácido acético 0,75 % intraperitoneal (0,1 mL/10 g) em ratos OF-1.

O extrato aquoso liofilizado de raiz sem casca, administrado em doses de 800 mg/kg, por via intraperitoneal, teve atividade analgésica significativa em contorções de camundongos. O efeito do extrato foi antagonizado por naloxona, o que indica um efeito central tipo morfínico, e não mostrou toxicidade nos camundongos. O extrato administrado em doses de 1,6 g/kg, intraperitoneal, diminuiu todos os parâmetros condutores nos modelos de dois compartimentos, de seleção de luz/escurecimento e de escada, conjuntamente com o tempo de sono induzido. Estes resultados sugerem que o extrato teve efeito sedativo (YOUNOS et al., 1990).

A atividade antiparasiticida é esperada na planta noni, a qual possui o poder de matar ou expelir o parasita (FAHS, 2002). O extrato alcoólico de folhas tenras mostrou atividade anti-helmíntica *in vitro* contra *Ascaris lumbricoides* humano (KALEYSA RAJ, 1975).

Na medicina tradicional, o fruto do noni é pouco utilizado em relação com as outras partes da planta, porém no Havaí se prepara um tônico digestivo para infecções internas, incluindo parasitas intestinais, debilidade e desordens respiratórias (LAVAUT; LAVAUT, 2003).

O suco do noni na concentração de 21% mostrou-se com maior eficácia do que a piperazina a 50% no teste *in vitro* com *Ascaridia galli* (HADINOTO; HADISOEWIGNYO, 2003).

Avaliando o efeito anti-helmíntico da *M. citrifolia* em caprinos, Satrija et al. (1999)

relataram a redução do *Haemonchus contortus* de 73,6 a 88,8%, utilizando dose de 0,4 – 1 g kg<sup>-1</sup> do extrato aquoso da fruta. No mesmo sentido, Murdiati et al. (2000) pesquisaram a atividade anti-helmíntica do noni em caprinos e ovinos, levando em consideração o *H. contortus* e afirmaram que no teste in vitro o extrato clorofórmico foi eficiente na morte de parasitas adultos e no desenvolvimento dos ovos.

O extrato clorofórmico e hexânico da *M. citrifolia* demonstraram atividade anti-helmíntica em experimento utilizando ratos parasitados pela *Hymenolepis nana*. Os resultados obtidos relatam uma redução desse parasita de 27,6-85,3% nas doses de 0,42 a 3,33 g kg<sup>-1</sup>, respectivamente, para extrato clorofórmico e de 3,33 – 24,6%, nas mesmas doses, para extrato hexânico (WIDDHIASMORO, 2000).

O suco do noni foi testado em várias concentrações (20, 40, 60, 80 e 100%) in vitro em *Ascaris suum*. Cada placa com 20 parasitas adultos foram colocados por 3 horas em BOD a 37°C. Após esse tempo, foi feita a leitura para determinar a taxa de mortalidade. Na concentração de 20% obteve-se uma taxa de mortalidade de 75%, na concentração de 40% do suco uma mortalidade de 90% e na concentração de 60% uma taxa de mortalidade de 100%. A solução de piperazina a 20% demonstrou uma taxa de mortalidade de 60%, inferior ao que se obteve na mesma concentração com o suco do noni (KESEHATAN, 2003).

Os extratos clorofórmico, hexânico e metanólico da folha da *M. citrifolia* dessecada a frio, aplicados respectivamente em doses de < 2 mg/placa, > 1mg/placa e < 1 mg/placa, tiveram atividade antimutagênica, contra mutágenos indiretos, no modelo in vitro de *Salmonella typhimurium* TA100. Entretanto, não tiveram efeito contra mutágenos diretos em doses até 10 mg/placa (KUSAMRAN et al., 1998).

De acordo com Mueller et al. (2000), o suco do noni causou hiperpotassemia em um paciente humano com insuficiência renal crônica submetido a uma dieta baixa em potássio. A concentração de potássio em várias amostras do suco foi de 56,3 mEq/L, parecida com a que se encontra nos sucos de laranja e de tomate.

Um extrato hidroalcoólico a 50 % do fruto seco, administrado em doses de 10 g de material vegetal seco/kg, por via oral ou subcutânea, não causou toxicidade geral em camundongos (MOKKHAMIT et al., 1971).

Os Polinésios utilizaram a planta inteira do noni em várias combinações como remédio. O suco do fruto tem uma grande importância na medicina alternativa para diferentes tipos de problemas, como artrites, diabetes, pressão alta, dores musculares, dificuldades na menstruação, dores de cabeça, doença do coração, AIDS, câncer, úlcera gástrica, torceduras, depressão,

problemas digestivos e ateroscleroses.

A evidência científica dos benefícios do suco do noni é limitada, mas há alguma evidência para o tratamento bem sucedido dos resfriados e da influenza (SOLOMON, 1999).

Abbott (1985), um químico botânico da Universidade do Havaí, disse: “Povos são loucos por esta planta. Usam-na para diabetes, pressão alta, câncer e muitas outras doenças”. Bushnell et al. (1950), relatou que noni era um remédio tradicional usado para tratar os ossos quebrados, cortes profundos e feridas. Segundo Betz (1997), a *M. citrifolia* foi testada para um grande número de atividades biológicas e antimicrobiais em animais, relatando que os frutos secos têm atividade estimulatória do músculo liso e efeitos histaminérgicos.

Freqüentemente, infecções massivas de vermes têm sido observadas em produções orgânicas ou Colonial/Caipira se comparada com aves produzidas em gaiolas. Na Dinamarca as prevalências de *Ascaridia galli* foram de 64; 42 e 5% no sistema orgânico, Colonial/Caipira e poedeiras em gaiola, respectivamente; e de *Heterakis gallinarum* foi de 73; 19 e 0% e a de *Capilaria obsignata* foi de 54; 52 e 0% (PERMIN et al.,1999).

As produções em confinamento tendem a favorecer a presença de parasitas de ciclo curto e transmissão direta como a *Eimeria* sp., *A. galli*, *H. gallinarum* e *Capilaria* sp (RUFF, 1999). As aves criadas em sistemas que propiciem maior contato com solo apresentam com maior freqüência problemas de parasitose. As infecções por helmintos são quase que inevitáveis em sistemas que utilizam piquete de pastoreio. Isto se deve à sobrevivência dos ovos dos parasitas no meio ambiente, associada com fatores epidemiológicos da infecção por helmintos (RUFF, 1999), e à necessidade de hospedeiro intermediário (FREITAS, 1977).

Em estudos realizados com galinhas soltas no município de Seropédica, Rio de Janeiro, Carneiro (2001) encontrou doze espécies de helmintos, sendo sete nematóides e cinco cestódeos. As espécies que apresentaram os maiores graus de dominância foram *H. gallinarum* e *Capillaria* sp., sendo estas duas espécies classificadas como centrais. As quatro espécies secundárias foram *Amoebotaenia cuneata*, *Oxyspirura mansonii*, *Gongylonema ingluvicola* e *Raillietina* sp. e seis espécies satélites, *Davainea proglotina*, *Raillietina echinobothrida*, *Raillietina tetragona*, *Tetrameres confusa*, *Cheilospirura hamulosa* e *A. galli*.

Fernandes et al. (2001) estudando a atividade anti-helmíntica *in vitro* em galinhas caipiras observaram que a prevalência em 50 galinhas caipira necropsiadas foi de 94% para *Raillietina* sp., 14% para *H. gallinarum* e 6% para *A. galli*, sendo que os animais parasitados pelos nematóides *H. gallinarum* e *A. galli*, apresentavam infecção mista e em três animais foram encontrados os três tipos de parasitos.

A ascariíose é causada por um nematóide (*Ascaridia galli*) de corpo cilíndrico que mede entre 3 a 12 centímetros. As camas de aviário usadas na produção local são ideais ao desenvolvimento dos ovos de *A. galli*. As condições ambientais do piquete também favorecem este desenvolvimento, pela presença de áreas sombreadas, uma vez que os ovos desta espécie são mais sensíveis à dessecação do que outras espécies de ascarídeos. As aves jovens são mais susceptíveis do que as adultas e os vermes adultos podem causar obstrução intestinal e morte das aves (FREITAS, 1977).

Em estudo realizado na Dinamarca, a prevalência de *A. galli* foi de 100% em frangos criados no sistema Colonial/Caipira e orgânico, enquanto que para o sistema industrial foi de 25%. O contato com áreas de chão/terra pode ter proporcionado este alto valor de prevalência de *A. galli* nesses frangos, ocasionando provavelmente a mortalidade das aves (PERMIN et al., 2002). Outros estudos demonstram que a presença de *A. galli* associada à bactéria *Pasteurella multocida* reduz significativamente o ganho de peso das aves criadas no sistema Colonial/Caipira (DAHL et al., 2002).

Diversas plantas tem sido citadas na literatura e conhecimento popular como tendo atividade anti-helmíntica, em especial nos levantamentos etnobotânicos realizados pelos pesquisadores. Joshi; Joshi (2000) documentaram as plantas medicinais usadas nas áreas de Kali Gandaki, Nepal, empreendendo uma listagem de 48 espécies de plantas com relato de uso medicinal acompanhadas do respectivo nome de espécie e número de voucher do herbário, nome popular, partes usadas, preparação e via de administração. Entre estas, *Chenopodium album* L. (Melde) e *Melia azedarach* L. (Lírio ou Cinamomo) são usadas para tratamento de infecções por parasitos intestinais.

Girão et al. (1998) realizaram um levantamento das plantas conhecidas pelos criadores de caprinos do Piauí com possível efeito anti-helmíntico, e muitas delas apresentaram resultados promissores, como a batata-de-purga (*Operculina* sp.) e o lírio (*M. azedarach*).

Entre as várias plantas avaliadas *in vitro* com potencial anti-helmíntico estão o *Croton Zenhtneri* (canela de cunhã) e *Chenopodium ambrosoides* (matruz ou matruço) (PESSOA, 2001), *Ocimum gratissimum* (alfavaca) (PESSOA et al., 2002), *Spigelia anthelmia* (erva lombrigueira) (ASSIS et al., 2003), *Punica granatum* (romã) (AMORIM et al., 1996), *Canavalia brasiliensis* e *Dioclea grandiflora* (MENEZES et al., 1992), *Uvaria hookei* e *Uvaria narum* (PADMAJA et al., 1993), as quais apresentaram bons percentuais de atividade nos testes com inibição de eclosão de ovos de nematóides.

Fernandes (1998) estudou a atividade de quatro espécies de plantas, comparando seus efeitos àquelas obtidos com o mebendazol usando como padrão e avaliado pelo método crítico controlado e registrou os seguintes resultados em termos de percentuais médios de eliminação de *A. galli* e *H. gallinarum*, respectivamente: *Allium sativum* L.(alho) 9,70% e 6,70%; *Tynnanthus labiatus* (Cham) Miers (cipó-cravo) 16,70% e 4,12%; *Cocus nucifera* L. (coco da baia) 19,00% e 1,25%; *Punica granatum* L. (romã) 6,60% e 0,22%. Os percentuais de eliminação de *A. galli*, produzidos pelo coco-da-baia e pelo cipó-cravo, correspondem respectivamente a 1/5 e 1/6 da droga padrão.

Menezes et al. (1992) em estudo *in vitro* da atividade ovicida de folhas e sementes de duas plantas sobre *H. contortus*. As farinhas das sementes de *Canavalia brasiliensis* e *Cratylia floribunda* foram eficazes na dose de 50 mg (37,7% e 15,5% respectivamente). Em altas doses (500 mg) foram observadas ação ovicida de 99,9 e 99,7% das plantas supracitadas, respectivamente.

Testes realizados com extratos de *S. anthelmia* e *Momordica charantia* sobre ovos de *H. contortus* de ovinos indicaram que a dose inibidora de 50% (DI50), durante 48 horas de incubação, foi de 0,173 e 0,101 mg/mL, respectivamente para cada planta (BATISTA et al., 1999). Assis et al. (2003), também estudando a ação de *S. Anthelmia*, observaram que na concentração de 50 mg mL<sup>-1</sup> o extrato acetato de etila inibiu 100% de eclosão de *H. contortus* e 81,2% do desenvolvimento larvar, enquanto o extrato metanólico inibiu 97,4% da eclosão e 84,4% do desenvolvimento larvar de vermes nas fezes de caprinos e ovinos.

Vieira et al. (1999) avaliaram a ação de nove plantas, *A. sativum*, *Carica papaya*, *Musa acuminata*, *C. brasiliensis*, *M. charantia*, *Anona squamosa*, *Menta sp*, *C. ambrosioides* e *Hymenaea courbaril*, e concluíram que as mesmas não eram realmente eficazes no controle de verminoses de caprinos. Pessoa et al. (2001) estudando o efeito ovicida dos óleos essenciais de *C. ambrosioides* e *O. gratissimum* sobre *H. contortus* verificaram que na concentração de 1,0%, houve inibição de 99,86±0,33% e 100% da eclosão de ovos, respectivamente. Dessa forma, os óleos essenciais de *C. ambrosioides* e *O. gratissimum* mostraram-se eficazes na inibição da eclosão de ovos de *H. contortus*.

Costa et al. (2002) estudaram os efeitos de extratos de sementes de *Mangifera indica* sobre *H. contortus* e detectaram que o extrato etanólico inibiu de 95,66% da eclosão de ovos a uma concentração de 50mg/mL<sup>-1</sup> e que este efeito foi dependente da dose. Akhtar; Riffat (1985) verificaram a ação da fruta de *M. azedarach* em galinhas infectadas com *A. galli* e os dados indicaram que 20mg/Kg provoca uma redução significativa (P<0,001), de acordo com os OPG

realizados 10 e 15 dias após o tratamento. Satrija et al. (1994) avaliaram o efeito anti-helmíntico do leite de mamão (*Carica papaya*) em *Ascaris suum* e detectaram redução de 39,5 e 100% dos vermes nos grupos que receberam respectivamente 2,4 e 8g de leite do mamão por quilo de peso corporal. Foi observado também uma diarreia leve no dia seguinte ao tratamento em alguns animais que receberam a maior dose.

Alguns trabalhos foram realizados especificamente com a árvore indiana Neem, *Azadirachta indica*, demonstrando seu efeito anti-helmíntico (MOSTOFA et al., 1996). Pietrosemoli et al. (1999) observaram o efeito das folhas secas em bovinos e concluíram que ocorre controle efetivo da carga parasitária, sem efeito no ganho de peso dos animais. Pessoa (2001) testou os efeitos da *Azadirachtina* obtida da semente *in vitro* sobre *H. contortus* e encontrou 68,3% de inibição na eclobilidade deste verme a uma concentração de 1%.

O suco e o infuso de folhas de *C. ambrosioides* (Erva-de-Santa-Maria) foram testados em camundongos naturalmente infectados com os oxiurídeos *Syphacia obvelata* e *Aspicularis tetraptera*. Tanto os infusos (concentrações de 5% e 10%) quanto o suco a 20% foram ineficazes para a remoção dos helmintos (BORBA; AMORIM, 2004).

Estudando a atividade anti-helmíntica das plantas *A. sativum*, *Punica granatum*, *Tynnanthus fasciculatus* e *Cocos nucifera* em frangos infectados naturalmente com *H. gallinarum*, Fernandes et al. (2004) concluíram que as plantas nas doses empregadas não apresentaram atividade significativa ( $P < 0,05$ ) sobre o parasito.

Algumas limitações atuais do uso de medicamentos sintéticos, tais como: alto custo de alguns produtos disponíveis no mercado, não disponibilidade destes em algumas áreas rurais pobres ou distantes de centros comerciais, risco de poluição ambiental (HAMMOND et al., 1997), resíduos nos alimentos (HERD, 1995), desenvolvimento de resistência aos anti-helmínticos pelos nematóides (MELO et al., 2003) e redução da eficiência produtiva em animais de produção (GITHIGIA et al., 2001) favorecem o retorno ao estudo de plantas com propriedades medicinais para o controle de diversas doenças, principalmente as parasitoses gastrintestinais. Nesse sentido, este trabalho justifica-se por proporcionar uma alternativa no tratamento das helmintíases aviárias, tanto ao pequeno produtor quanto ao sistema orgânico de criação.

O objetivo deste trabalho foi determinar a atividade anti-helmíntica *in vitro* e *in vivo* da *M. citrifolia* sobre *A. galli* em aves poedeiras, usando extrato aquoso e etanólico em diversas concentrações, verificando dentre as concentrações dos extratos aquoso e etanólico da folha e do

fruto da *M. citrifolia* aquelas que poderão apresentar atividade anti-helmíntica eficaz.

Estruturalmente este trabalho foi dividido em introdução, dois capítulos, intitulados “Atividade anti-helmíntica dos extratos aquoso e etanólico do fruto da *Morinda citrifolia* sobre *Ascaridia galli*” e “Efeito anti-helmíntico da folha da *Morinda citrifolia* (noni) sobre *Ascaridia galli*”, considerações finais e referências bibliográficas.

Os capítulos foram elaborados na forma de artigos científicos, sendo o primeiro de acordo com as normas da Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária e o segundo obedecendo às normas da Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, os quais serão submetidos à publicação.

## **2. CAPÍTULO 1\***

---

\* Apresentado segundo normas da Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária

**ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA DOS EXTRATOS AQUOSO E ETANÓLICO DO FRUTO DA *Morinda citrifolia* SOBRE *Ascaridia galli***

**DANILO R. BARROS BRITO<sup>1</sup>; ROZEVERTER MORENO FERNANDES<sup>2</sup>; MARIA ZENAIDE DE LIMA C. M. FERNANDES<sup>3</sup>; MARCOS DANIEL DE S. FERREIRA<sup>4</sup>; FERNANDA R. L. ROLIM<sup>4</sup>, MANOEL L. DA SILVA FILHO<sup>5</sup>**

**ABSTRACT:-** BRITO, D.R.B.; FERNANDES, R.M.; FERNANDES, M.Z.L.C.M.; FERREIRA, M.D.S.; ROLIM, F.R.L.; SILVA FILHO, M. L. [**Anthelmintic activity of aqueous and ethanolic extracts of *morinda citrifolia* fruit on *ascaridia galli***]. The anthelmintic activity of aqueous and ethanolic extracts of *Morinda citrifolia* fruit (noni) was evaluated in chicken naturally infected by *Ascaridia galli*. The anthelmintic activity in vitro was determined in adult parasites. The aqueous and ethanolic extracts presented the following concentrations: 1.69; 3.37; 6.74; 13.48 e 26.96 mg/mL e 4.17; 8.34; 16.68; 33.36 e 66.72 mg/mL, respectively. The anthelmintic activity in vivo was determined by the administration of 10ml/Kg of the aqueous and ethanolic extracts during three consecutive days. Later the chickens were euthanized and necropsy was performed in order to count the remaining helminthes. The data were analyzed by the Student test. In the concentrations of 13.48 and 26.96 mg/mL, the aqueous extract demonstrated mortality of 46.67 and 50%, respectively, there was a significant difference from the negative control ( $P < 0,05$ ). The ethanolic extract presented statistical difference from the negative control (diluent) ( $P < 0,05$ ) for the concentrations of 33.36 e 66.72 mg/mL, expressed by a mortality rate of 66.67 e 76.67%, respectively. In the in vivo test, the aqueous extract of noni fruit showed 27.08% of elimination, differing statistically from the control group. There was no statistical difference between the ethanolic extract treatments and the control (diluent) ( $P > 0,05$ ). It follows that the anthelmintic activity noni fruit of the test showed satisfactory results in vitro, there is a need for studies in higher concentrations in the test in vivo.

**KEY WORDS:** *Morinda citrifolia*, fruit, anthelmintic activity, *Ascaridia galli*

## RESUMO

A atividade anti-helmíntica dos extratos aquoso e etanólico do fruto da *Morinda citrifolia* (noni) foi avaliada em aves poedeiras naturalmente infectadas por *Ascaridia galli*. A atividade anti-helmíntica in vitro foi determinada em parasitos adultos. O extrato aquoso e etanólico apresentaram as seguintes concentrações: 1,69; 3,37; 6,74; 13,48 e 26,96 mg/mL e 4,17; 8,34; 16,68; 33,36 e 66,72 mg/mL, respectivamente. A atividade anti-helmíntica in vivo foi determinada administrando durante três dias consecutivos o extrato aquoso e etanólico (10 mL/Kg). Posteriormente as aves foram sacrificadas e necropsiadas para contagem dos helmintos remanescentes. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando o teste t de "Student". Nas concentrações 13,48 e 26,96 mg/mL, o extrato aquoso apresentou percentagem de mortalidade de 46,67 e 50%, respectivamente, havendo diferença estatisticamente significativa do controle negativo ( $P < 0,05$ ). O extrato etanólico apresentou diferença estatisticamente significativa do controle negativo (diluyente) ( $P < 0,05$ ) para as concentrações 33,36 e 66,72 mg/mL, expressando taxa de mortalidade de 66,67 e 76,67%, respectivamente. No teste in vivo, o extrato aquoso do fruto do noni apresentou um percentual de eliminação de 27,08%, diferindo estatisticamente do grupo controle. Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos do extrato etanólico e controle (diluyente) ( $P > 0,05$ ). Conclui-se que a atividade anti-helmíntica do fruto do noni apresentou no teste in vitro resultados satisfatórios, havendo necessidade de estudos com maiores concentrações no teste in vivo.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Morinda citrifolia*, fruto, atividade anti-helmíntica, *Ascaridia galli*

---

<sup>1</sup> Curso de Pós-graduação em Ciência Animal, UFPI.

<sup>2</sup> Departamento de Morfofisiologia Veterinária. Centro de Ciências Agrárias (CCA), Universidade Federal do Piauí (UFPI), Campus Agrários da Socopo, CCA, S/N, 64.049-550. E-mail: zmoreno@ufpi.br.

<sup>3</sup> Departamento das Clínicas, UESPI.

<sup>4</sup> Curso de Medicina Veterinária, UFPI.

<sup>5</sup> Campus Prof<sup>a</sup> Cinobelina Elvas, UFPI.

Sob os auspícios da UFPI, CNPq e FAPEMA.

## INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais pela população mundial tem sido muito significativo nos últimos tempos. Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostram que cerca de 80% da população mundial já usou algum tipo de erva na busca de alívio de alguma sintomatologia dolorosa ou desagradável. Desse total, pelo menos 30% deu-se por indicação médica (MARTINS et al., 2000).

As plantas medicinais são importantes por fornecerem matéria-prima para a síntese de drogas, além de serem utilizadas como agentes terapêuticos. O emprego das plantas é supervalorizado no uso tradicional com base nos seus benefícios medicinais. Dessa forma, torna-se imprescindível o conhecimento sobre a dose e a parte empregada da planta, além de suas propriedades terapêuticas, pois existem plantas que são altamente tóxicas, mesmo em pequenas doses (ZHAN; ZHOU, 2003).

A validação científica dos fitoterápicos é uma etapa inicial obrigatória para a utilização correta de plantas medicinais ou de seus compostos ativos. A total aceitação de drogas derivadas de plantas e a fitoterapia da medicina científica só poderão ocorrer se estes produtos cumprirem os mesmos critérios de eficácia, segurança e controle de qualidade que os produtos sintéticos (RATES, 2001). Os produtos derivados de plantas devem ter eficácia avaliada e confirmada, assim como deve ser garantida que sua administração a organismos vivos ocorra sem riscos para sua saúde (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2005). Assim, a fitoterapia pode contribuir para aumentar a produtividade, uma vez que reduz o uso de anti-helmínticos convencionais, além de estender a vida útil dos produtos químicos disponíveis (VIEIRA et al., 1999).

Diversas plantas são citadas popularmente como tendo atividade anti-helmíntica. Dentre elas tem-se a *Morinda citrifolia*, normalmente conhecido por noni. É uma pequena árvore da família das Rubiaceae, originária do Sudoeste da Ásia, tendo sido difundida pelo homem através da Índia e do Oceano Pacífico até as ilhas da Polinésia Francesa, onde se situa o Taiti. O emprego tradicional do noni pelos polinésios está atribuído aos efeitos relacionados com atividade antibacteriana, antiviral, antifúngica, antitumoral, anti-helmíntica, analgésica, antiinflamatória, hipotensora e imunostimulante, usado há mais de 2000 anos (WANG et al., 2002).

A ascaridíase é uma parasitose causada por *Ascaridia galli*, sendo comum na avicultura doméstica. As aves novas são mais susceptíveis do que as adultas e os vermes

adultos podem causar obstrução intestinal e morte das aves (FREITAS, 1977). Em estudo realizado na Dinamarca a prevalência de *A. galli* foi de 100% em frangos criados no sistema Colonial/Caipira e orgânico, enquanto que para o sistema industrial foi de 25%. A alta prevalência de *A. galli* e outros helmintos neste tipo de produção provavelmente contribuem para a mortalidade das aves (PERMIN et al., 2002).

Dentro da perspectiva da produção de frangos e ovos, a utilização de sistemas orgânicos e outros não intensivos, vêm crescendo em importância em vários países em contraste com o sistema convencional. Estas criações são afetadas por várias mudanças no manejo, tais como: acesso a áreas de pasto e proibição no uso de medicamentos preventivos, incluindo anti-parasitários. Tal modelo implica o aperfeiçoamento do manejo e alimentação das aves, uma vez que tendo acesso a piquetes as aves terão contato com ovos, larvas e hospedeiros intermediários de diversos helmintos (TRAMSBORG et al., 1999).

Deste modo as limitações atuais do uso de medicamentos, tais como: alto custo de alguns produtos disponíveis no mercado, não disponibilidade destes em algumas áreas rurais pobres ou distantes de centros comerciais, risco de poluição ambiental (HAMMOND et al., 1997), resíduos nos alimentos (HERD, 1995), desenvolvimento de resistência aos anti-helmínticos pelos nematóides (MELO et al., 2003) e redução da eficiência produtiva em animais de produção (GITHIGIA et al., 2001) favorecem o retorno ao estudo de plantas com propriedades medicinais para o controle de diversas doenças, principalmente as parasitoses gastrintestinais. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade anti-helmíntica do fruto da *Morinda citrifolia* sobre o *Ascaridia galli*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

*Matéria vegetal:* parte da planta *M. citrifolia* foi coletada no município de Altos, estado do Piauí a 31 °C 12” 21’ de latitude e a 400m de altitude. O solo local é Podzólico Vermelho Amarelo Distrófico com baixa fertilidade natural (P 5 mg/dm<sup>3</sup>, K 14 mg/dm<sup>3</sup>, Al 6 mmol/dm<sup>3</sup>, e Ca+Mg 8 mmol/dm<sup>3</sup>) e alta acidez (pH-5,3). A precipitação média anual do município é em torno de 1.297 mm, sendo que cerca de 90% das chuvas se concentram no período de novembro a maio. A temperatura média anual está em torno de 25°C e umidade relativa de 67% situado a 42 km ao nordeste de

Teresina. A identificação botânica foi realizada no Núcleo de Referência em Ciências Ambientais do Trópico Ecotonal do Nordeste - TROPEN, Teresina-PI, sendo a exsiccata depositada sob o número 21644 no herbário Graziela Barroso.

Os frutos foram picados, dessecados em uma estufa de circulação forçada de ar durante 8 dias a uma temperatura máxima de 45° C ( $\pm 1$ ). Após esta etapa, o material foi triturado em moinho, tipo willis, obtendo-se um pó que foi acondicionado em um frasco de vidro âmbar hermeticamente fechado e identificado, onde permaneceu até o momento do preparo dos extratos.

*Preparação dos Extratos:* O extrato etanólico foi obtido através de maceração a frio após quatro extrações sucessivas, sendo filtrado usando papel de filtro Whatman nº 1, em seguida concentrado em evaporador rotativo sob pressão reduzida, à temperatura não superior a 45 °C e, então, liofilizado. O extrato aquoso foi obtido através de cocção, ou seja, 50g de matéria vegetal (pó) para 500mL de água destilada e em seguida deixou-se ferver por dois minutos e após o resfriamento à temperatura ambiente a solução obtida fora filtrada obtendo-se então uma solução a 10%.

*Determinação do Peso Seco:* Foi retirado uma alíquota de 1 mL de cada extrato que foi transferida para frascos limpos e desengordurados, previamente pesados e identificados, os quais foram colocados na estufa de circulação forçada de ar a uma temperatura máxima de 45 °C ( $\pm 1$ ) até a obtenção de um peso constante, procedimento realizado em triplicata. A massa média obtida referente à 1mL foi relacionada ao respectivo volume total, obtendo-se então a massa total em mg/mL. Este procedimento foi realizado para o extrato aquoso com o objetivo de determinar o peso seco e para o extrato etanólico para avaliar o rendimento aproximado deste após a evaporação do etanol.

*Manutenção das aves:* durante o experimento foram adquiridas em granjas da zona rural da cidade de Teresina-PI, galinhas poedeiras em fase de descarte e que não recebiam vermífugo há pelo menos três meses. Foram colocadas em um galpão composto por uma área coberta com bebedouros e comedouros, além da cama de maravalha. Sobre o telhado foi colocado uma mangueira perfurada a laser (microfuros) que jogava água sobre a telha, mantendo assim o conforto térmico dos animais, principalmente devido às altas temperaturas alcançadas na cidade. Junto à área coberta, os animais tiveram acesso a uma área descoberta e de chão batido que sempre estava capinada, evitando que os animais tivessem acesso a outras plantas. Para determinar o grau de infecção do plantel, foram realizados exames de fezes, através da técnica Willis

ligeiramente modificada (WILLIS apud UENO, 1994).

*Atividade anti-helmíntica in vitro:* foi determinada em helmintos adultos, machos e fêmeas de *Ascaridia galli* coletados a partir do intestino delgado de aves necropsiadas. Os parasitas, assim obtidos, foram lavados minuciosamente com solução salina 0,9% e aqueles considerados mais ativos eram transferidos para placa de petri descartáveis (150x15mm), contendo solução Tyrode (KALEYSA RAJ, 1975) pré-aquecida totalizando 10 parasitos por placa, a qual foi adicionado o extrato aquoso e etanólico e mantidos em uma estufa BOD a uma temperatura de 37° C ( $\pm 1$ ). Os nematóides foram periodicamente examinados na 6<sup>a</sup>, 24<sup>a</sup>, 48<sup>a</sup>, 72<sup>a</sup> e 96<sup>a</sup> hora para teste de mortalidade. Aqueles com perda de motilidade mesmo após uma breve pressão com estilete foram considerados mortos (SHILASKAR; PARASAR, 1989). O experimento foi repetido três vezes para cada dose e a porcentagem de parasitas mortos em cada grupo foi calculada e analisada estatisticamente. As placas que continham alíquotas de 2, 4, 8, 16 e 32 mL dos extratos testes adicionados a 58, 56, 52, 44 e 28 mL da solução de Tyrode respectivamente, de forma que cada placa ficasse com um volume final de 60 mL/placa (FERNANDES, 2008).

Procedimento semelhante foi feito para os grupos controles negativos, porém no lugar dos extratos aquosos colocou-se água destilada e para os extratos etanólicos usou-se uma mistura de “tween 80” a 17,5% em DMSO a 12,5% (v/v), pois através desse processo facilitou a solubilização dos compostos para posterior adição de água destilada. O bioensaio controle, indicou que os parasitos não foram afetados pela composição da mistura empregada como diluente. Como controle positivo usou-se uma solução de citrato de piperazina tetrahidratada na concentração recomendada pelo fabricante (Proverm Tortuga) e adaptada aos nossos testes, onde se diluiu a piperazina em solução de Tyrode numa concentração final de 50 mg/mL (SHIVAKUMAR et al., 1975). Após cálculos realizados com o peso seco, as concentrações dos extratos aquoso e etanólico foram: 1,69; 3,37; 6,74; 13,48 e 26,96 mg/mL e 4,17; 8,34; 16,68; 33,36 e 66,72 mg/mL, respectivamente, considerando a ordem crescente das alíquotas dos extratos testes nas placas.

*Atividade anti-helmíntica in vivo:* os grupos foram constituídos de um controle positivo (piperazina), dois negativos (água destilada e diluente (a mesma mistura usada na atividade in vitro)) e dois grupos testes (extrato aquoso e etanólico), sendo compostos de seis animais cada grupo, com peso médio de 1,5 Kg. Diagnosticada a infecção, as aves foram transferidas individualmente para gaiolas galvanizadas com

fundo removível para facilitar a coleta das fezes, onde passaram por um período de adaptação de 72 horas, recebendo diariamente 50g de ração e água *ad libitum*. Antes do início dos testes as aves foram submetidas a um período de jejum de 6 horas, tendo disponível água à vontade. Os extratos aquoso e etanólico foram administrados durante três dias consecutivos no volume de 10 mL/Kg, utilizando-se uma sonda intragástrica (FERNANDES et al., 2005). As fezes foram coletadas durante quatro dias por grupo, em seguida foram levadas ao laboratório, lavadas em água corrente e peneiradas em tamis USBS-50, abertura 0,297 mm e tyler 48 sob outro tamis de malha USBS-40, abertura 0,42 mm e tyler 35 colocado no fundo da pia, de modo a reter o resíduo que passasse pelo primeiro tamis. Posteriormente eram acondicionadas em frascos contendo uma solução AFA a quente (Ácido Acético, Formol e Álcool) (AMATO et al., 1991) para conservação, visando à contagem dos helmintos eliminados. No quinto dia de tratamento, as aves foram sacrificadas e necropsiadas (Resolução nº 714 de 20/06/2002 do Conselho Federal de Medicina Veterinária). A mucosa do trato gastrintestinal foi raspada e o conteúdo colocado em frascos contendo AFA quente para posterior contagem e identificação dos helmintos remanescentes. O efeito do tratamento foi avaliado pelo método crítico controlado (STEWART, 1955) adaptado ao nosso modelo experimental, e expressa em termos percentuais médios de eliminação de *A. galli*, conforme a fórmula abaixo:

$$\% \text{ de atividade Anti-helmintica} = \frac{\text{N}^\circ \text{ total de nematóides eliminados nas fezes após o tratamento}}{\text{N}^\circ \text{ total de nematóides eliminados nas fezes após o tratamento} + \text{N}^\circ \text{ total de nematóides recuperados na necropsia}} \times 100$$

Cálculo semelhante foi aplicado aos grupos controles negativos com o objetivo de avaliar a eliminação espontânea dos helmintos e para verificar se os diluentes não interferiram na atividade dos extratos.

*Análise estatística:* Os dados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando o teste t de “Student”, com auxílio do programa InStat (Graphpad InStat: GraphPad Software Oberlin, San Diego – CA, USA). O nível de significância adotado foi  $p < 0,05$  (PIMENTEL-GOMES, 1987).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A *M. citrifolia* apresentou no extrato etanólico um rendimento elevado, no qual se obteve a quantidade de 125g do extrato na forma de pó depois do processo de liofilização, sendo este resultado expressivo, pois, segundo Rates (2001), a grande dificuldade na realização de ensaios clínicos está relacionada com a quantidade de extrato e de princípio ativo obtidos das plantas. O pH do extrato etanólico do fruto do noni foi de 4,40 e do extrato aquoso de 3,86. O peso seco do extrato aquoso do fruto do noni foi de 50,1 mg/mL e do extrato etanólico de 24,6 mg/mL.

A percentagem média de mortalidade nos testes in vitro, usando diferentes concentrações do extrato aquoso do fruto da *M. citrifolia* e diferentes tempos de exposição do parasita ao extrato, estão dispostos na tabela 1.

O extrato aquoso do noni começou a apresentar efeito a partir de 48 horas na concentração de 26,96 mg/mL, sendo este efeito não significativo estatisticamente quando comparado com o controle negativo ( $P > 0,05$ ). Porém, na 72<sup>a</sup> e 96<sup>a</sup> hora com concentrações de 13,48 e 26,96 mg/mL, houve diferença estatisticamente significativa, considerando o extrato aquoso do fruto do noni, o controle positivo (piperazina) e o controle negativo (água) (Fig. 1). Comparando as taxas de mortalidade do tratamento e do controle negativo, observa-se que nos dois últimos períodos de tempo há uma maior discrepância da eficácia do extrato aquoso fruto do noni com relação ao teste com água.

O extrato etanólico apresentou diferença estatisticamente significativa do controle negativo (diluyente) na 96<sup>a</sup> hora nas concentrações 33,36 e 66,72 mg/mL ( $P < 0,05$ ) (Fig. 2). Observa-se que a taxa de mortalidade dos parasitas adultos de *A. galli* na concentração 8,34 mg/mL na 72<sup>a</sup> hora foi inferior ao controle negativo. A maior concentração do extrato etanólico do fruto do noni (66,72 mg/mL) demonstrou uma melhor eficiência no combate ao parasita, sendo a taxa de mortalidade de 76,67% (Tabela 2).

Na 48<sup>a</sup> hora de observação, foi verificado que tanto o extrato aquoso como o etanólico do fruto do noni, demonstrou um efeito anti-helmíntico superior ao observado pela piperazina na mesma hora, considerando a maior concentração para ambos os extratos. Hadinoto & Hadisoewignyo (2003), avaliando o efeito anti-helmíntico do suco do noni sobre o *A. galli* em várias concentrações (7, 9, 12, 16, e 21%), observaram

uma atividade anti-helmíntica satisfatória no teste in vitro, sendo também superior à encontrada com a piperazina, utilizada em diferentes concentrações (20, 25, 32, 40 e 50%).

Em testes semelhantes, o suco do noni foi testado em várias concentrações (20, 40, 60, 80 e 100%) in vitro sobre *Ascaris suum*. Estes parasitas foram colocados em placas por 3 horas em BOD a 37°C. Após esse tempo, foi feita a leitura para determinar a taxa de mortalidade. Os resultados obtidos nas concentrações de 20, 40 e 60% foram de 75, 90 e 100% de mortalidade, respectivamente. Porém a solução de piperazina a 20% demonstrou uma taxa de mortalidade de 60%, inferior ao que se obteve na mesma concentração com o suco do noni (KESEHATAN, 2003), resultado que diferiu ao encontrado neste trabalho.

Considerando a mortalidade acumulada ao longo das 96 horas, verifica-se que o extrato etanólico apresentou um maior percentual de mortalidade do que o extrato aquoso (Fig. 3). Estes resultados sugerem que o princípio ativo responsável pela mortalidade esteja na fração etanólica.

Os dados da Tabela 3 mostram no teste in vivo, os percentuais de eliminação de *A. galli* em aves poedeiras naturalmente infectadas submetidas à administração de extrato aquoso de *M. citrifolia*. Comparando estatisticamente os três tratamentos houve diferença significativa entre o extrato aquoso, controle negativo (água) e controle padrão (piperazina) ( $P < 0,05$ ), demonstrando certa eficiência do fruto da *M. citrifolia* na eliminação do *A. galli*. No entanto, de acordo com a classificação do índice de eficácia proposto pela World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) (POWERS *et al.*, 1982), um produto seria altamente efetivo se apresentasse mais de 90% de ação contra o parasita tratado, moderadamente efetivo quando atuasse entre 80 a 90%, pouco efetivo quando a ação fosse entre 60 e 80% e não efetivo em níveis abaixo de 60%. Portanto, o extrato aquoso do fruto do noni na concentração de 10%, não foi efetivo na eliminação do *A. galli* em aves poedeiras infectadas naturalmente.

Na mesma tabela verifica-se que o extrato etanólico de *M. citrifolia* não apresentou diferença estatística significativa entre os tratamentos extrato etanólico e controle (diluente) ( $P > 0,05$ ), havendo apenas diferença estatística do controle padrão, demonstrando não ser efetivo o extrato etanólico da *M. citrifolia* na eliminação do *A. galli*.

Os resultados obtidos neste trabalho, no teste in vivo, considerando a concentração de 10%, demonstraram uma baixa eficiência da ação do extrato do fruto (aquoso e etanólico) frente ao *A. galli*, não descartando a possibilidade de extratos com concentrações mais elevadas apresentarem atividade anti-helmíntica. Portanto, faz-se necessário a continuidade da pesquisa com o objetivo de obter mais informações sobre a atividade parasiticida da *M. citrifolia*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMATO, J. F. R., BOEGER, W. A., AMATO, S. B. **Protocolos para laboratório - Coleta e processamento de parasitos de pescado**. Imprensa Universitária, UFRRJ, Rio de Janeiro, 1991, 77p.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F., MORAIS, S. M., SANTOS, L. F. L., ROCHA, M. F. G., BEVILAQUA, C. M. L. Validação de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.7, n.3, p.97-106, 2005.

FERNANDES, M. Z. L. C. M. Estudo da atividade anti-helmíntica de extratos de plantas sobre nematóides de aves *Ascaridia galli* (Schränk, 1788) Freeborn, 1923 e *Heterakis gallinarum* (Schränk, 1788) Madsen, 1949. 83p. (Tese em Parasitologia Veterinária), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Veterinária, Rio de Janeiro, 2008.

FERNANDES, R. M., RODRIGUES, M. L. A., BORBA, H. R., FERNANDES, M. Z. L. C. M., AMORIM, A. Atividade anti-helmíntica de plantas em frangos naturalmente infectados com *Ascaridia galli*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária**, v.57, n.2, p.264-266, 2005.

FREITAS, M. G. **Helmintologia Veterinária**. Belo Horizonte: Rabelo & Brasil, 1977. p.397.

GITHIGIA, S. M. et al. Impact of gastrointestinal helminths on production in goats in Kenya. **Small Ruminant Research**, v. 42, p.21-29, 2001.

HADINOTO, I.; HADISOEWIGNYO, D. L. Potential Anthelmintic Effect of the Juice of *Morinda citrifolia* Linn. on *Ascaridia galli* In-Vitro. **Media Kedokteran Hewan**, v.20, n.2, 2003.

HAMMOND, J. A., FIELDING, D., BISHOP, S. C. Prospects for plant anthelmintics in tropical veterinary medicine. **Veterinary Research Communications**, v.21, p.213-228, 1997.

HERD, P. R. Equine parasite control keeping up with evolution. **Veterinary Medicine**, v.90, p.447-480, 1995.

KALEYSA RAJ, R. Screening of indigenous plants for anthelmintic action against human *Ascaris lumbricoides* Part II. **Indian Journal Physiology Pharmacology**, v.19, n.1, p.47-49, 1975.

KESEHATAN, B. L. Efek Antelmintik Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap *Ascaris suum* Invitro/Ludmilla. Disponível em: <http://www.jkpkbppk-gdl-res-2003-budikusuma-1687-anthelmint>. Acesso em: 08 de jan. 2008.

MARTINS, E. R., CASTRO, D. M., CASTELI, D. C., DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Visçosa: UFV, 2000. 220p.

MELO, A. C. F. L.; REIS, I. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; VIEIRA, L. S.; ECHEVARRIA, F. A. M; MELO, L. M. Nematódeos resistentes a anti-helmínticos em rebanhos de ovinos e caprinos do estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, v.33, p.339-344, 2003.

PERMIN, A. et al. Ecto-, Endo- and haemoparasites in free-range chickens in the Goromonzi District in Zimbabwe. **Preventive Veterinary Medicine**, v.54, p.213-224, 2002.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 12.ed., Piracicaba, Nobel, 1987, 467 p.

POWERS, K.G.; WOOD, I.B.; ECKERT, J; GIBSON, T.; SMITC, H.J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) – Guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine and ovine). **Veterinary Parasitology**, v.10, p.265-284, 1982.

RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v.39, p.603-613, 2001.

SHILASKAR, D.V.; PARASAR, G.C. In vivo and kymographic studies on *Psoralea 'corylifolia* and piper betle against avian *Ascaridia galli*. **Indian Veterinary Journal**, v.62, p.387-394, 1989.

SHIVAKUMAR, A.M.; CHANDRA, S.; SABIR, M. Studies on the anthelmintic actions of mebendazole against *Ascaridia galli*. **Indian Veterinary Journal**, v. 52, p.136-42, 1975.

STEWART, J. S. Anthelmintic studies: I. A controlled critical entero-nemacidal test. **Parasitology**, v.45, p.231-241, 1955.

THAMSBORG, S.M.; ROEPSTORFF.; LARSEN, M. Integrated and biological control of parasites in organic and conventional production systems. **Veterinary Parasitology**, v.84 n.3-4, p.169-186,1999.

VIEIRA, L.S.; CAVALCANTE, A.C.R.; PEREIRA, M.F; DANTAS, L.B.; XIMENES, L.J.F. Evaluation of anthelmintic efficacy of plants available in Ceará State, North – East Brazil, for the control of goat gastrointestinal nematodes. **Revue Medicine Veterinary**, v.150, n.5, p.447-452, 1999.

WANG, M. Y.; WEST, B. J.; JENSENS, C. J.; NOWICK, D.; PALU, A. K.; ANDERSON, G. *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in noni research. **Acta Pharmacologica Sinica**, v.23, n.12, p.1127-1141, 2002.

WILLIS, H.H. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. In: UENO, H., GONÇALVES, P. C. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes. 3ª ed., **Japan International Cooperation Agency**, Tokyo, Japan, p.14, 1994.

ZHAN, J.; ZHOU, P.A. Simplified method to evaluate the acute toxicity of ricin and ricinus agglutinin. **Toxicology**, v.186, p.119-123, 2003.

Tabela 1. Percentual médio de mortalidade do extrato aquoso do fruto da *Morinda citrifolia* sobre *Ascaridia galli* no teste in vitro ao longo de 96 horas de tratamento.

	Concentração (mg/mL)	Tempo/ (%) de mortalidade				
		6 <sup>a</sup> h	24 <sup>a</sup> h	48 <sup>a</sup> h	72 <sup>a</sup> h	96 <sup>a</sup> h
	1,69	0	0	0	0	0
Extrato	3,37	0	0	0	0	6,67 <sup>a</sup>
Aquoso	6,74	0	0	0	6,67 <sup>a</sup>	40 <sup>b</sup>
do noni	13,48	0	0	0	16,67 <sup>b</sup>	46,67 <sup>b</sup>
	26,96	0	0	3,33 <sup>a</sup>	16,67 <sup>b</sup>	50 <sup>b</sup>
Piperazina	50	0	0	0	50 <sup>c</sup>	100 <sup>c</sup>
Água		0	0	0,67 <sup>a</sup>	5,35 <sup>a</sup>	14 <sup>a</sup>

Médias com letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Student ( $P > 0,05$ ).

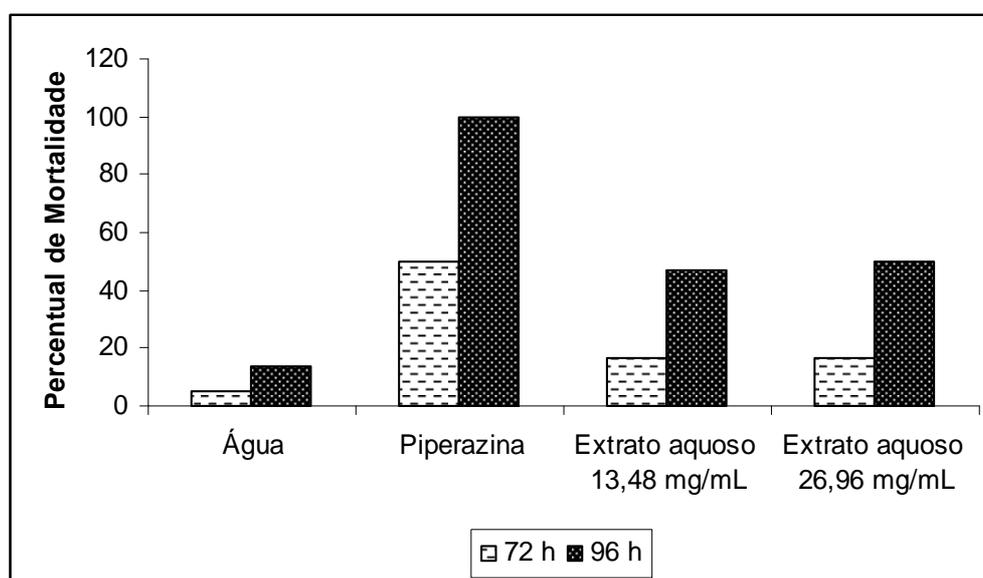


Figura 1. Avaliação do extrato aquoso do fruto da *Morinda citrifolia* nas duas maiores concentrações e em dois tempos distintos de exposição.

Tabela 2. Percentual médio de mortalidade do extrato etanólico do fruto da *Morinda citrifolia* sobre *Ascaridia galli* no teste in vitro ao longo de 96 horas de tratamento.

	Concentração (mg/mL)	Tempo/ (%) de mortalidade				
		6 <sup>a</sup> h	24 <sup>a</sup> h	48 <sup>a</sup>	72 <sup>a</sup> h	96 <sup>a</sup> h
Extrato Etanólico do noni	4,17	0	0	0	6,67 <sup>a</sup>	23,33 <sup>a</sup>
	8,34	0	0	0	3,33 <sup>a</sup>	26,67 <sup>a</sup>
	16,68	0	0	0	6,67 <sup>a</sup>	33,33 <sup>b</sup>
	33,36	0	0	6,67 <sup>a</sup>	33,33 <sup>b</sup>	66,67 <sup>b</sup>
	66,72	0	0	10 <sup>a</sup>	33,33 <sup>b</sup>	76,67 <sup>b</sup>
Piperazina	50	0	0	0	50 <sup>c</sup>	100 <sup>c</sup>
Diluyente		0	0,67	3,33 <sup>a</sup>	6,67 <sup>a</sup>	13,33 <sup>a</sup>

Médias com letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Student ( $P > 0,05$ ).

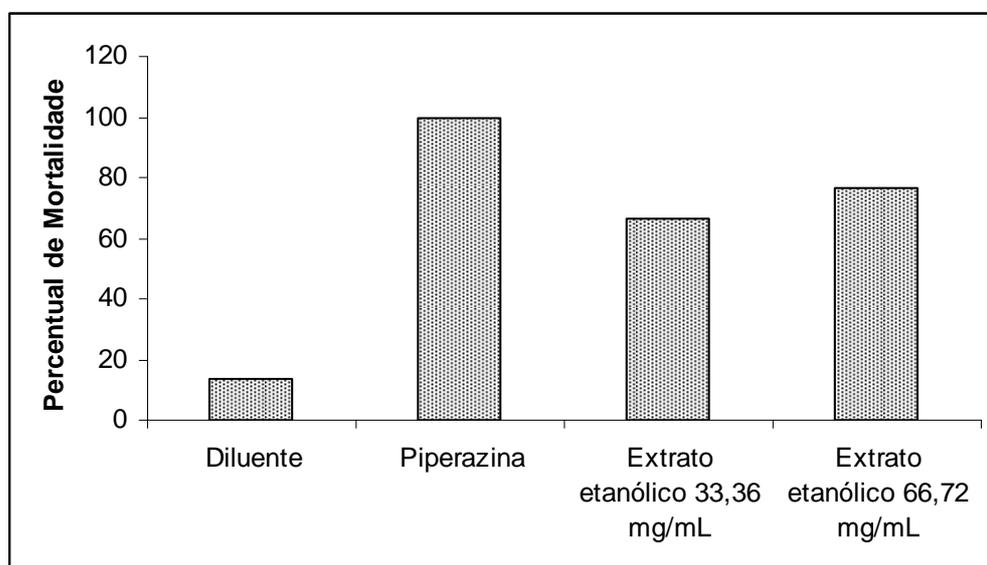


Figura 2. Avaliação percentual da taxa de mortalidade em 96 horas de exposição ao extrato etanólico do fruto da *Morinda citrifolia*.

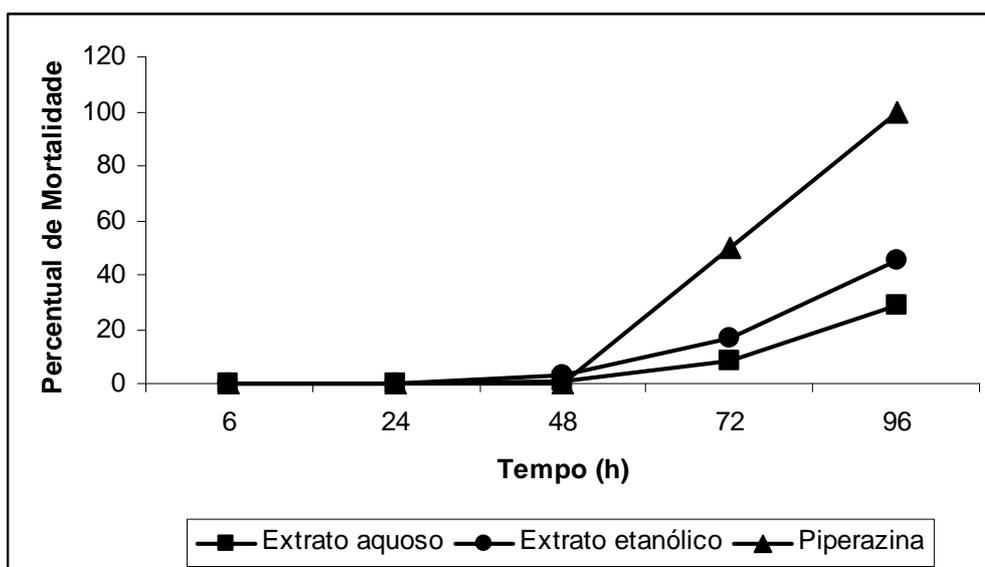


Figura 3. Comparação da taxa de mortalidade entre extrato etanólico e aquoso do fruto da *Morinda citrifolia* ao longo das 96 horas de exposição.

Tabela 3. Atividade anti-helmíntica do extrato aquoso e etanólico obtido do fruto de *Morinda citrifolia* na eliminação de *Ascaridia galli* em aves poedeiras naturalmente infectadas.

Parte usada	Tratamentos	Número de animais	Número de helmintos		Eliminação (%)
			Exame Fecal	Necropsia	
Fruto	Aquoso	06	26	70	27,08 <sup>a</sup>
	Água	06	01	50	1,96 <sup>b</sup>
	Etanólico	06	06	68	8,11 <sup>b</sup>
	Diluyente	06	02	53	3,64 <sup>b</sup>
	Piperazina	06	498	07	98,61 <sup>c</sup>

Médias com letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Student ( $P > 0,05$ ).

### **3. CAPÍTULO II\***

---

\* Apresentado segundo as normas da Revista Brasileira de Plantas Medicinais

## **Efeito anti-helmíntico da folha da *Morinda citrifolia* (noni) sobre *Ascaridia galli***

**BRITO, D. R. B<sup>1</sup>.; FERNANDES, R. M<sup>2</sup>.; LIMA, D. C. P<sup>3</sup>.; SANTOS, R. S<sup>4</sup>.  
FERNANDES, M. Z. L. C. M<sup>5</sup>.; DINIZ, B. L. M<sup>6</sup>.**

<sup>1,2,3,4,6</sup> Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrárias (CCA), Universidade Federal do Piauí (UFPI), Campus Agrários da Socopo, CCA, S/N, 64.049-550. Teresina-PI; <sup>5</sup> Universidade Estadual do Piauí, Rua João Cabral, 2231 Pirajá, CEP 64002-150 Teresina-PI. Sob os auspícios da UFPI, CNPq e FAPEMA.

**Resumo:** O efeito anti-helmíntico da folha da *Morinda citrifolia* (noni) sobre *Ascaridia galli* foi avaliada em aves poedeiras naturalmente infectadas. A atividade anti-helmíntica in vitro foi determinada em helmintos adultos colocados em placas de petri descartáveis, contendo solução Tyrode pré-aquecida, a qual foi adicionado o extrato aquoso e etanólico e mantidos numa BOD a uma temperatura de 37° C ( $\pm 1$ ). Os extratos aquoso e etanólico foram usados nas seguintes concentrações: 0,87; 1,74; 3,48; 6,96 e 13,92 mg/mL e 4,17; 8,34; 16,68; 33,36 e 66,72 mg/mL, respectivamente. Como controle positivo usou-se uma solução de citrato de piperazina tetrahidratada na concentração de 50 mg/mL. A atividade anti-helmíntica in vivo foi determinada em aves, com peso médio de 1,5 Kg, divididas em grupos com 6 animais, administrando durante três dias consecutivos o extrato aquoso e etanólico (10 mL/Kg). As fezes foram coletadas durante quatro dias por grupo, em seguida lavadas em água corrente e peneiradas. No quinto dia de tratamento, as aves foram sacrificadas e necropsiadas, para contagem e identificação dos helmintos remanescentes. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando o teste t de "Student". No teste in vivo, não houve diferença significativa entre o extrato aquoso (concentração de 10%) e o grupo controle (água) ( $P > 0,05$ ) na eliminação do *A. galli*. O extrato etanólico apresentou um percentual de eliminação de 30,1%, diferindo estatisticamente do grupo controle ( $P < 0,05$ ). Na concentração 13,92 mg/mL, para o teste in vitro, o extrato aquoso apresentou percentagem de mortalidade de 96,67%, semelhante ao obtido pela piperazina (100%), diferindo estatisticamente do controle negativo ( $P < 0,05$ ). Nas concentrações 33,36 e 66,72 mg/mL, o extrato etanólico apresentou percentagem de mortalidade de 83,33 e 90%, respectivamente, havendo diferença estatisticamente significativa do controle negativo ( $P < 0,05$ ). Conclui-se que a atividade anti-helmíntica da folha do noni apresentou no teste in vitro resultados satisfatórios, havendo necessidade de estudos com maiores concentrações no teste in vivo.

**Palavras-chave:** *Morinda citrifolia*, folha, atividade anti-helmíntica, *Ascaridia galli*

**ABSTRACT: Anthelmintic effect of *Morinda citrifolia* (noni) leaf on *Ascaridia galli*.** The anthelmintic effect of *Morinda citrifolia* (noni) leaf on *Ascaridia galli* was evaluated in chicken naturally infected. The anthelmintic activity in vitro was determined in adults helminthes in disposable Petri dishes, containing Tyrode solution, pre warmed in which aqueous and ethanolic extracts were added. The material was maintained in a BOD at 37°C ( $\pm 1$ ). The aqueous and ethanolic extracts presented the following concentrations: 0.87; 1.74; 3.48; 6.96 e 13.92 mg/mL e 4.17; 8.34; 16.68; 33.36 e 66.72 mg/mL, respectively. As a positive control a solution of tetrahydrate citrate of piperazin in the concentration of 50mg/ml was used. The anthelmintic activity in vivo was determined by the administration of the aqueous and ethanolic extracts (10 mL/Kg) during three consecutive days. The feces were collected during four days in each group, washed in water and sifted. In the fifth day of treatment, the chicken were euthanized and necropsy was performed in order to count and identify remaining the helminthes. The data were analyzed by the Student test. In the in vivo test there was no significative difference between the aqueous extract and the control group (water) ( $P > 0.05$ ) in the elimination of *A. galli*. The ethanolic extract presented an elimination of 30.1%, differing stastically from the control group ( $P < 0.05$ ). In the concentration of 13.92 mg/mL, for the in vitro test, the aqueous extract presented a mortality of 96.67%, almost the same obtained by piperazin (100%), differing statistically from form the negative control ( $P < 0.05$ ). In the concentrations of 33.36 and 66.72 mg/mL, the ethanolic extract showed a mortality of 83.33 and 90%, respectively, there was a significative statistical difference from the negative control ( $P < 0,05$ ). It follows that the anthelmintic activity noni leaf of the test showed satisfactory results in vitro, there is a need for studies in higher concentrations in the test in vivo.

**KEY WORDS:** *Morinda citrifolia*, leaf, anthelmintic activity, *Ascaridia galli*

## INTRODUÇÃO

O gênero *Morinda*, da família das Rubiaceae, inclui aproximadamente 80 espécies, das quais pelo menos 20 espécies são reconhecidas. A espécie *Morinda citrifolia* L., é suprema em características notáveis, de uso múltiplo e distribuição (Morton, 1992). Normalmente conhecida por noni, é uma pequena árvore originária do Sudoeste da Ásia, tendo sido difundida pelo homem através da Índia, e do Oceano Pacífico até às ilhas da Polinésia Francesa, onde se situa o Taiti (Nelson, 2003).

Cresce tanto em florestas, como em terrenos rochosos ou arenosos. É tolerante a solos salinos e certas condições de seca. É, portanto, encontrada numa grande variedade de habitat: terrenos vulcânicos ou mesmo em terra calcária. Pode crescer até 9m de altura, e tem folhas largas, simples, de verde escuro, com veias vincadas. As flores são pequenas e brancas (McClatchey, 2002).

A *M. citrifolia* é um das raras árvores que produzem fruto durante os 365 dias do ano. O fruto é oval e pode atingir 20 cm de tamanho. Quando surge apresenta uma cor verde, mudando para amarelo e por fim, quase branco, época em que é colhido (Chunhieng et al., 2005).

A fruta noni contém um precursor natural da Xeronina, a Proxeronina. Ela é convertida no alcalóide Xeronina no corpo, através de uma enzima que se chama de Proxeroninase. A tese defendida por Heinicke (1985) é que a Xeronina é capaz de modificar a estrutura molecular das proteínas. Deste modo, a Xeronina tem uma ampla escala de atividades biológicas. Quando uma proteína, tal como uma enzima, receptora ou transdutora de sinal não está

em sua conformação apropriada, ela não desempenhará sua função corretamente. Então, a Xeronina irá interagir com a proteína e fazer com que ela retorne à sua conformação adequada. O resultado é um funcionamento correto da atividade da proteína. No caso de haver um problema estrutural da proteína, a presença da Xeronina será benéfica.

Segundo Fahs (2002), a atividade antiparasitíca é esperada na planta noni, a qual possui o poder de matar ou expelir o parasita. O controle efetivo de parasitas através de produtos químicos convencionais tem encontrado dois grandes problemas: o desenvolvimento acelerado da resistência ao princípio ativo e a preocupação da sociedade e órgãos governamentais com os resíduos nos produtos de origem animal (Vieira, 2004). Estes dois pontos têm determinado efetivamente o rumo atual das pesquisas científicas na área da parasitologia.

O uso inadequado e exagerado de vermífugos, carrapaticidas e outros, faz com que o problema dos resíduos se acentue, alarmando a sociedade consumidora. É desta forma que os produtos orgânicos, e com eles, a agricultura orgânica, têm conquistado espaço na agropecuária, indicando uma forma de uso, isolada ou associada, de substâncias naturais, que geram produtos com menos resíduos e mais valorizados no mercado (Chagas, 2004). Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade anti-helmíntica da folha da *Morinda citrifolia* em aves poedeiras naturalmente infectadas por *Ascaridia galli*.

## **MATERIAL E MÉTODO**

### **Coleta do material vegetal**

Folhas de *Morinda citrifolia* (Rubiaceae) foram coletadas no município de Altos, estado do Piauí a 31 °C 12" 21' de latitude e a 400m de altitude, no período seco do ano (julho/06). O solo local é Podzólico Vermelho Amarelo Distrófico com baixa fertilidade natural (P 5 mg/dm<sup>3</sup>, K 14 mg/dm<sup>3</sup>, Al 6 mmol/dm<sup>3</sup>, e Ca+Mg 8 mmol/dm<sup>3</sup>) e alta acidez (pH-5,3). A precipitação média anual do município é em torno de 1.297 mm, sendo que cerca de 90% das chuvas se concentram no período de novembro a maio. A temperatura média anual está em torno de 25°C e umidade relativa de 67% situado a 42 km ao nordeste da cidade de Teresina-PI.

A identificação botânica foi realizada no Núcleo de Referência em Ciências Ambientais do Trópico Ecotonal do Nordeste - TROPEN, Teresina-PI, sendo a exsicata depositada sob o número 21644 no herbário Graziela Barroso.

As folhas foram picadas, dessecadas em uma estufa de circulação forçada de ar durante 5 dias a uma temperatura máxima de 45° C ( $\pm$  1). Após esta etapa, o material foi triturado em moinho, tipo willis, obtendo-se um pó que foi acondicionado em um frasco de vidro âmbar hermeticamente fechado e identificado, onde permaneceu até o momento do preparo dos extratos.

### **Preparação dos Extratos**

O extrato etanólico foi obtido através de maceração a frio após quatro extrações sucessivas, sendo filtrado usando papel de filtro Whatman nº 1 e

este foi concentrado em evaporador rotativo sob pressão reduzida, à temperatura não superior a 45 °C e, então, liofilizado. O extrato aquoso foi obtido através de cocção, ou seja, 50g de matéria vegetal (pó) para 500mL de água destilada e em seguida deixou-se ferver por dois minutos e após o resfriamento à temperatura ambiente a solução obtida foi filtrada através de vácuo, obtendo-se então uma solução a 10%.

### **Determinação do Peso Seco**

Foi retirado uma alíquota de 1 mL de cada extrato que foi transferida para frascos limpos e desengordurados, previamente pesados e identificados, os quais foram colocados na estufa de circulação forçada de ar a uma temperatura máxima de 45 °C ( $\pm 1$ ) até a obtenção de um peso constante, procedimento realizado em triplicata. A massa média obtida referente à 1mL foi relacionada ao respectivo volume total, obtendo-se então a massa total em mg/mL. Este procedimento foi realizado para o extrato aquoso com o objetivo de determinar a massa seca do mesmo e para o extrato etanólico para avaliar o rendimento aproximado deste após a evaporação do etanol.

### **Manutenção das aves**

Durante o experimento foram adquiridas em granjas da zona rural da cidade de Teresina-PI galinhas poedeiras em fase de descarte e que não recebiam vermífugo há pelo menos três meses. Foram colocadas em um galpão composto por uma área coberta com bebedouros e comedouros, além da cama de maravalha. Sobre o telhado foi colocado uma mangueira

perfurada a laser (microfuros) que jogava água sobre a telha, mantendo assim o conforto térmico dos animais, principalmente devido às altas temperaturas alcançadas na cidade. Junto à área coberta, os animais tiveram acesso a uma área descoberta e de chão batido que sempre estava capinada, evitando que os animais tivessem acesso a outras plantas. Para determinar o grau de infecção do plantel, foram realizados exames de fezes, através da técnica Willis ligeiramente modificada (WILLIS apud UENO, 1994).

### **Atividade anti-helmíntica in vitro**

Foi determinada em helmintos adultos, machos e fêmeas de *Ascaridia galli* coletados a partir do intestino delgado de aves necropsiadas. Os parasitas, assim obtidos, foram lavados minuciosamente com solução salina 0,9% e aqueles considerados mais ativos eram transferidos para placa de petri descartáveis (150x15mm), contendo solução Tyrode (KALEYSA RAJ, 1975) pré-aquecida totalizando 10 parasitos por placa, a qual foi adicionado o extrato aquoso e etanólico e mantidos em uma estufa BOD a uma temperatura de 37° C ( $\pm 1$ ). Os nematóides foram periodicamente examinados na 6<sup>a</sup>, 24<sup>a</sup>, 48<sup>a</sup>, 72<sup>a</sup> e 96<sup>a</sup> hora para teste de mortalidade. Aqueles com perda de motilidade mesmo após uma breve pressão com estilete foram considerados mortos (SHILASKAR; PARASAR, 1989). O experimento foi repetido três vezes para cada dose e a porcentagem de parasitas mortos em cada grupo foi calculada e analisada estatisticamente. As placas que continham alíquotas de 2, 4, 8, 16 e 32 mL dos extratos testes adicionados a 58, 56, 52, 44 e 28 mL da solução de

Tyrode respectivamente, de forma que cada placa ficasse com um volume final de 60 mL/placa (FERNANDES, 2008).

Procedimento semelhante foi feito para os grupos controles negativos, porém no lugar dos extratos aquosos colocou-se água destilada e para os extratos etanólicos usou-se uma mistura de “tween 80” a 17,5% em DMSO a 12,5% (v/v), pois através desse processo facilitou a solubilização dos compostos para posterior adição de água destilada. O bioensaio controle, indicou que os parasitos não foram afetados pela composição da mistura empregada como diluente. Como controle positivo usou-se uma solução de citrato de piperazina tetrahidratada na concentração recomendada pelo fabricante (Proverm Tortuga) e adaptada aos nossos testes, onde se diluiu a piperazina em solução de Tyrode numa concentração final de 50 mg/mL (SHIVAKUMAR et al., 1975).

### **Atividade anti-helmíntica in vivo**

Os grupos foram constituídos de um controle positivo (piperazina), dois negativos (água destilada e diluente (a mesma mistura usada na atividade in vitro)) e dois grupos testes (extrato aquoso e etanólico), sendo compostos de seis animais cada grupo, com peso médio de 1,5 Kg. Diagnosticada a infecção, as aves foram transferidas individualmente para gaiolas galvanizadas com fundo removível para facilitar a coleta das fezes, onde passaram por um período de adaptação de 72 horas, recebendo diariamente 50g de ração e água *ad libitum*. Antes do início dos testes as aves foram submetidas a um período de jejum de 6 horas, tendo disponível água à vontade. Os extratos

aquoso e etanólico foram administrados durante três dias consecutivos no volume de 10 mL/Kg, utilizando-se uma sonda intragástrica (FERNANDES et al., 2005). As fezes foram coletadas durante quatro dias por grupo, em seguida foram levadas ao laboratório, lavadas em água corrente e peneiradas em tamis USBS-50, abertura 0,297 mm e tyler 48 sob outro tamis de malha USBS-40, abertura 0,42 mm e tyler 35 colocado no fundo da pia, de modo a reter o resíduo que passasse pelo primeiro tamis. Posteriormente eram acondicionadas em frascos contendo uma solução AFA a quente (Ácido Acético, Formol e Álcool) (AMATO et al., 1991) para conservação, visando à contagem dos helmintos eliminados. No quinto dia de tratamento, as aves foram sacrificadas e necropsiadas (Resolução nº 714 de 20/06/2002 do Conselho Federal de Medicina Veterinária). A mucosa do trato gastrointestinal foi raspada e o conteúdo colocado em frascos contendo AFA quente para posterior contagem e identificação dos helmintos remanescentes. O efeito do tratamento foi avaliado pelo método crítico controlado (STEWART, 1955) adaptado ao nosso modelo experimental, e expressa em termos percentuais médios de eliminação de *A. galli*, conforme a fórmula abaixo:

$$\% \text{ de atividade Anti-helmintica} = \frac{\text{N}^\circ \text{ total de nematóides eliminados nas fezes após o tratamento}}{\text{N}^\circ \text{ total de nematóides eliminados nas fezes após o tratamento} + \text{N}^\circ \text{ total de nematóides recuperados na necropsia.}} \times 100$$

Cálculo semelhante foi aplicado aos grupos controles negativos com o objetivo de avaliar a eliminação espontânea dos helmintos e para verificar se os diluentes não interferiram na atividade dos extratos.

### **Análise estatística**

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando o teste t de "Student", com auxílio do programa InStat (Graphpad InStat: GraphPad Software Oberlin, San Diego – CA, USA). O nível de significância adotado foi  $p < 0,05$  (PIMENTEL-GOMES, 1987).

### **RESULTADO E DISCUSSÃO**

As folhas da *M. citrifolia* apresentaram no extrato etanólico um rendimento de 60g na forma de pó depois do processo de liofilização. O pH do extrato aquoso da folha do noni foi de 5,18 e do etanólico 6,53. O peso seco obtido no extrato aquoso da folha do noni foi de 20,7 mg/mL e no extrato etanólico de 11,5 mg/mL.

Após cálculos realizados com o peso seco, as concentrações dos extratos aquoso e etanólico foram: 1,69; 3,37; 6,74; 13,48 e 26,96 mg/mL e 4,17; 8,34; 16,68; 33,36 e 66,72 mg/mL, respectivamente, considerando a ordem crescente das alíquotas dos extratos testes nas placas.

Os testes *in vitro* permitem uma avaliação da existência de propriedades anti-helmínticas nos extratos vegetais, constituindo desta maneira, uma etapa preliminar à caracterização dos possíveis compostos ativos presentes nos vegetais, possibilitando a criação de novas alternativas para o controle das parasitoses (Costa et al., 2002).

A percentagem média de eficácia nos testes *in vitro* considerando a taxa de mortalidade dos parasitas adultos, usando diferentes concentrações do

extrato aquoso da *M. citrifolia* e diferentes tempos de exposição do parasita ao extrato, estão dispostos na tabela 1.

Tabela 1. Percentagem média de eficácia do extrato aquoso da folha da *Morinda citrifolia* sobre *Ascaridia galli* no teste in vitro considerando o tempo de exposição dos parasitas aos tratamentos.

	Concentração (mg/mL)	Tempo/ (%) de mortalidade				
		6 <sup>a</sup> h	24 <sup>a</sup> h	48 <sup>a</sup> h	72 <sup>a</sup> h	96 <sup>a</sup> h
	0,87	0	0	0	16,67 <sup>a</sup>	36,67 <sup>a</sup>
Extrato	1,74	0	0	10 <sup>a</sup>	36,67 <sup>b</sup>	46,67 <sup>a</sup>
Aquoso do	3,48	0	0	20 <sup>a</sup>	46,67 <sup>b</sup>	56,67 <sup>a</sup>
noni	6,96	0	6,67 <sup>a</sup>	46,67 <sup>b</sup>	73,33 <sup>c</sup>	83,33 <sup>b</sup>
	13,92	0	3,33 <sup>a</sup>	50 <sup>b</sup>	86,67 <sup>c</sup>	96,67 <sup>b</sup>
Piperazina	50	0	0	0	50 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>
Água		0	0	0,67 <sup>a</sup>	5,35 <sup>a</sup>	14 <sup>c</sup>

Médias com letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Student ( $P>0,05$ ).

O extrato aquoso da folha do noni começou a apresentar efeito contra o *A. galli* a partir da 24<sup>a</sup> hora para as concentrações de 6,96 e 13,92 mg/mL, no entanto este efeito não significativo estatisticamente em relação ao controle negativo ( $P>0,05$ ). Porém, a partir da 72<sup>a</sup> hora, as maiores concentrações 3,48, 6,96 e 13,92 mg/mL, começam demonstrar diferença estatisticamente significativa, entre o extrato aquoso da folha do noni e o controle negativo

(água), estendendo-se aos demais tempos de observação (Tabela 1).

A concentração do extrato parece ter interferido diretamente na obtenção desse resultado, pois diferenças na taxa de mortalidade somente foram observados com maior frequência nas últimas concentrações de maior valor do extrato aquoso da folha do noni. Observa-se que a taxa de mortalidade do extrato aquoso na concentração de 13,92 mg/mL na 96<sup>a</sup> hora (96,67%) é muito semelhante à taxa de mortalidade do controle positivo (piperazina) (100%) na mesma concentração e tempo de exposição, e que nas concentrações 6,96 e 13,92 mg/mL na 72<sup>a</sup> hora, a taxa de mortalidade foi maior que o controle positivo.

Hadinoto & Hadisoewignyo (2003), também observaram uma maior mortalidade para o extrato aquoso do fruto quando comparados com a piperazina. Eles avaliaram a sua atividade anti-helmíntica sobre o *A. galli* em várias concentrações (7, 9, 12, 16, e 21%) e verificaram no teste in vitro, um percentual de mortalidade do extrato aquoso do fruto do noni maior que a encontrada na piperazina, utilizada em diferentes concentrações (20, 25, 32, 40 e 50%).

Os resultados do teste in vitro do extrato etanólico do noni estão sumarizados na Tabela 2. O extrato etanólico nas concentrações 33,96 e 66,72 mg/mL, apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao controle negativo (diluente) em 72 e 96 horas de observação. Verifica-se que a taxa de mortalidade dos parasitas adultos de *A. galli* na concentração 8,34 mg/mL na 24, 48 e 72<sup>a</sup> hora foi inferior ao controle negativo. Entretanto, a taxa de mortalidade registrada para o extrato etanólico na 96<sup>a</sup> hora na concentração

de 66,72 mg/mL foi de 90%, sendo próximo da taxa de mortalidade do controle positivo (piperazina) que foi de 100%. Kaleysa Raj (1975) afirma que o extrato alcoólico de folhas da *M. citrifolia* possui atividade anti-helmíntica *in vitro* contra *Ascaris lumbricoides* humano.

Tabela 2. Percentagem média de eficácia do extrato etanólico da folha da *Morinda citrifolia* sobre *Ascaridia galli* no teste *in vitro*, considerando o tempo de exposição dos parasitas aos tratamentos.

	Concentração (mg/mL)	Tempo/ (%) de mortalidade				
		6 <sup>a</sup> h	24 <sup>a</sup> h	48 <sup>a</sup>	72 <sup>a</sup> h	96 <sup>a</sup> h
	4,17	0	0	3,33 <sup>a</sup>	20 <sup>a</sup>	6,67 <sup>a</sup>
Extrato	8,34	0	0	0	0	13,33 <sup>a b</sup>
Etanólico	16,68	0	0	0	3,33 <sup>b</sup>	23,33 <sup>b</sup>
do noni	33,36	0	3,33 <sup>a</sup>	13,33 <sup>a</sup>	50 <sup>c</sup>	83,33 <sup>c</sup>
	66,72	0	0	30 <sup>b</sup>	60 <sup>c</sup>	90 <sup>c</sup>
Piperazina	50	0	0	0	50 <sup>c</sup>	100 <sup>c</sup>
Solvente		0	0,67 <sup>a</sup>	3,33 <sup>a</sup>	6,67 <sup>b</sup>	13,33 <sup>a b</sup>

Médias com letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Student ( $P>0,05$ ).

Considerando a mortalidade acumulada ao longo das 96 horas, observa-se que o extrato aquoso apresentou um maior percentual de mortalidade do que o extrato etanólico (Fig. 1). Estes resultados sugerem que a substância responsável pela mortalidade dos parasitas esteja em maior concentração na

fração aquosa.

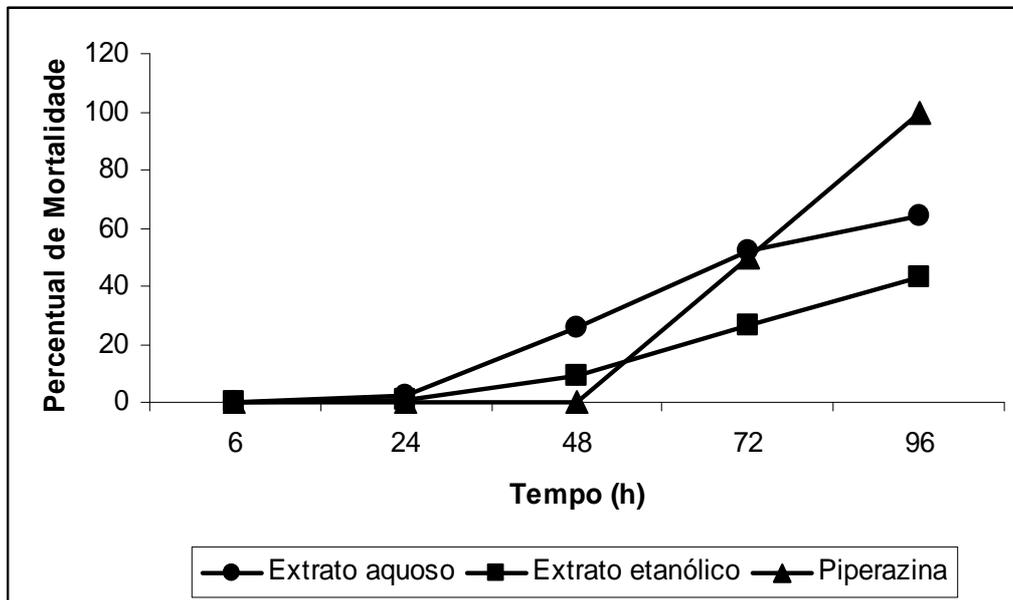


Figura 1. Percentual de mortalidade entre extrato aquoso e etanólico da folha da *Morinda citrifolia* sobre *Ascaridia galli*

Os dados da Tabela 3 mostram os percentuais de eliminação de *A. galli* em aves poedeiras naturalmente infectadas submetidas à administração de extrato aquoso de *M. citrifolia*. Comparando estatisticamente os três tratamentos, não houve diferença significativa entre o extrato aquoso e o grupo controle (água) ( $P < 0,05$ ), demonstrando a ineficiência do extrato aquoso da folha da *M. citrifolia* a 10% na eliminação do *A. galli*.

Tabela 3. Atividade anti-helmíntica do extrato aquoso obtido da folha de *Morinda citrifolia* na eliminação de *Ascaridia galli* em aves poedeiras naturalmente infectadas.

Parte usada	Tratamentos	Número de animais	Número de helmintos		Eliminação (%)
			Exame Fecal	Necropsia	
Folha	Aquoso	06	02	52	3,70 <sup>a</sup>
	Piperazina	06	498	07	98,61 <sup>b</sup>
	Controle	06	01	50	1,96 <sup>a</sup>

Médias com letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Student ( $P > 0,05$ ).

Os dados em percentuais de eliminação de *A. galli* em aves poedeiras naturalmente infectadas submetidas à administração do extrato etanólico de *M. citrifolia* estão descritos na tabela 4. Houve diferença estatística significativa entre os tratamentos extrato etanólico, controle negativo (diluente) e controle padrão (piperazina) ( $P < 0,05$ ), demonstrando certa eficiência do extrato etanólico da folha da *M. citrifolia* na eliminação do *A. galli*

Tabela 4. Atividade anti-helmíntica do extrato etanólico obtido da folha de *Morinda citrifolia* na eliminação de *Ascaridia galli* em aves poedeiras naturalmente infectadas.

Parte usada	Tratamentos	Número de animais	Número de helmintos		Eliminação (%)
			Exame Fecal	Necropsia	
Folha	Etanólico	06	31	72	30,10 <sup>a</sup>
	Piperazina	06	498	07	98,61 <sup>b</sup>
	Controle	06	02	53	3,64 <sup>c</sup>

Médias com letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Student ( $P>0,05$ ).

Considerando a eliminação do *A. galli* no teste in vivo, verifica-se que o extrato etanólico (30,1%) apresentou um maior percentual de eliminação do que o extrato aquoso (3,7%) (Fig. 2). Estes resultados sugerem que o princípio ativo responsável pela mortalidade esteja na fração etanólica.

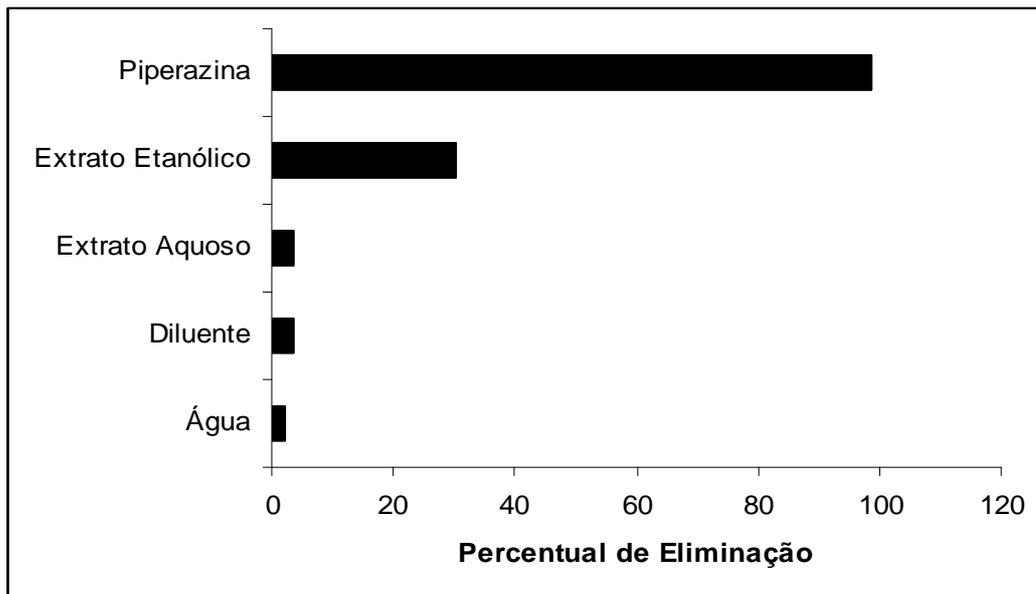


Figura 2. Percentual de eliminação comparativo entre o extrato aquoso e etanólico da *Morinda citrifolia* sobre o *Ascaridia galli* no teste in vivo.

Estudos científicos sobre a atividade anti-helmíntica da *M. citrifolia* são escassos, entretanto, o conhecimento popular é lembrado em sites como o International Medicinal Plants Growers' Consortium, que cita o uso da folha da planta como anti-helmíntico.

Os resultados obtidos neste trabalho, considerando o teste in vitro, demonstraram tanto para extrato aquoso como para etanólico, uma atividade anti-helmíntica satisfatória nas duas maiores concentrações e no maior tempo de exposição. Porém, no teste in vivo, o extrato da folha (aquoso e etanólico) na concentração de 10%, demonstrou uma baixa eficiência frente ao *A. galli*, sendo, portanto, necessários testes com concentrações mais elevadas.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- AMATO, J. F. R., BOEGER, W. A., AMATO, S. B. Protocolos para laboratório - Coleta e processamento de parasitos de pescado. Imprensa Universitária, UFRRJ, Rio de Janeiro, 1991, 77p.
- CHAGAS, A. C. S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, p.156-160, suplemento 1, 2004.
- CHUNHIENG, T.; HAY, L.; MONTET, D. Detailed study of the juice composition of noni (*Morinda citrifolia*) fruits from Cambodia. **Fruits**, v.60, p. 13–24, 2005.
- COSTA, C. T. C., MORAES, S. M. E., BEVILAQUA, C. M. I., SOUZA, M. M. C., LEITE, F. K. A. Efeito ovicida de extratos de sementes de *Mangifera indica* L. sobre *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.11, n.2, p.57-60, 2002.
- FAHS, B. M. A. **Noni Needn't Taste Nasty**. Proceedings of the 2002 Hawai'i Noni Conference, University of Hawaii at Manoa, College of Tropical Agriculture and Human Resources, 2002.
- FERNANDES, M. Z. L. C. M. Estudo da atividade anti-helmíntica de extratos de plantas sobre nematóides de aves *Ascaridia galli* (Schrank, 1788) Freeborn, 1923 e *Heterakis gallinarum* (Schrank, 1788) Madsen, 1949. 83p. (Tese em Parasitologia Veterinária), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Veterinária, Rio de Janeiro, 2008.
- FERNANDES, R. M., RODRIGUES, M. L. A., BORBA, H. R., FERNANDES, M. Z. L. C. M., AMORIM, A. Atividade anti-helmíntica de plantas em frangos naturalmente infectados com *Ascaridia galli*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.2, p.264-266, 2005.
- HADINOTO, I. HADISOEWIGNYO, D. L. Potential Anthelmintic Effect of the Juice of *Morinda citrifolia* Linn. on *Ascaridia galli* In-Vitro. **Media Kedokteran Hewan**, v.20, n.2, 2003.
- HEINICKE, R. M. The pharmacologically active ingredient of Noni. Bulletin of the National Tropical Botanical Garden, 1985.
- KALEYSA RAJ, R. Screening of indigenous plants for anthelmintic action against human *Ascaris lumbricoides* Part II. **Indian Journal Physiology Pharmacology**, v.19, n.1, p.47-49, 1975.
- MCCLATCHEY, W. From Polynesian Healers to Health Food Stores: Changing Perspectives of *Morinda citrifolia* (Rubiaceae). **Integrative Cancer Therapies**, v.1, n.2, p.110-120, 2002.

MORTON, J. F. The ocean-going noni, or Indian mulberry (*Morinda citrifolia*, Rubiaceae) and some of its "colorful" relatives. **Economic Botanic**, v.46, p.241-256, 1992.

NELSON, S. C. *Morinda citrifolia* L. Permanent Agriculture Resources. 2003. Disponível em: <<http://www.ctahr.hawaii.edu/noni/>>. Acesso em 12 abr. 2006.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 12.ed., Piracicaba, Nobel, 1987, 467 p.

SHILASKAR, D.V.; PARASAR, G.C. In vivo and kymographic studies on *Psoralea corylifolia* and piper betle against avian *Ascaridia galli*. **Indian Veterinary Journal**, v.62, p.387-394, 1989.

SHIVAKUMAR, A.M.; CHANDRA, S.; SABIR, M. Studies on the anthelmintic actions of mebendazole against *Ascaridia galli*. **Indian Veterinary Journal**, v. 52, p.136-42, 1975.

STEWARD, J. S. Anthelmintic studies: I. A controlled critical entero-nemacidal test. **Parasitology**, v.45, p.231-241, 1955.

VIEIRA, L.S. *Produção orgânica de ovinos: o controle de verminose*. Disponível em: <[http://www.accoba.com.br/ap\\_info\\_dc.asp?idInfo=384&idCategoria=5](http://www.accoba.com.br/ap_info_dc.asp?idInfo=384&idCategoria=5)>. Acesso em 25 out. 2004.

WILLIS, H.H. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. In: UENO, H., GONÇALVES, P. C. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes. 3ª ed., **Japan International Cooperation Agency**, Tokyo, Japan, p.14, 1994.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A descoberta de novas substâncias com atividade anti-helmíntica em plantas tem crescido e se consolidado nos últimos anos. Os resultados encontrados com a *M. citrifolia* em nosso trabalho vêm como uma confirmação da possibilidade do isolamento de princípio ativo com ação medicinal.

Resultados satisfatórios foram obtidos no teste in vitro, onde o noni, tanto parte folha como fruto, apresentou percentuais de mortalidade do *A. galli* bastante elevados. Segundo os resultados obtidos, a *M. citrifolia* mostra-se promissora no controle de helmintíases aviárias.

No teste in vivo, apresentaram um percentual de eliminação abaixo do que é preconizado pela World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.), para que um produto seja considerado pelo menos pouco efetivo. Estes resultados não descartam a possibilidade da *M. citrifolia* ter atividade anti-helmíntica efetiva, pois testes com concentrações maiores devem ser estudados, podendo dessa forma, comprovar tal atividade esperada pelo noni.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, I. A. The geographic origin of the plants most commonly used for medicine by Hawaiians. **Journal of Ethnopharmacol**, v.14, p.213-222, 1985.
- AKERELE, O.; *Herbal Gram* 1993, 28, 13.
- AKHTAR, M. S., RIFFAT, S. Evaluation of *Melia azedarach* Linn. Fruit (Bakain) against *Ascaridia galli* infection chickens. **Pakistan Veterinary Journal**, v.5, n.1, p.34-37, 1985.
- AMORIM, A., RODRIGUES, M. L. A., BORBA, H. R. Ação anti-helmíntica de plantas XII. Influência de extratos vegetais in vitro na viabilidade de larvas de nematódeos gastrintestinais de bovinos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.77, p.47-48, 1996.
- ASSIS, L. M. et al. Ovicidal and larvicidal activity in vitro of *Spigelia anthelmia* Linn extracts on *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v.117, n.1-2, p.43-49, 2003.
- ASUZU, I. U., NJUCO, C. J. The anthelmintic effect of *Alstonia boonei* bark and *Nauclea latifolia* leaf aqueous extracts on *Trichostrongylus* infective larvae. **Fitoterapia**, v.67, p.220-222, 1996.
- BATISTA, L. M. et al. In vitro ovicidal and larvicidal effect of the plants *Spigelia anthelmia* and *Momordica charantia* against the nematode *Haemonchus contortus*. **Ciência Animal**, v.9, p.67-73, 1999.
- BETZ, J. **Noni: Polynesia's natural pharmacy**. Pride Publishing, 1997. p.13.
- BORBA, H. R., AMORIM, A. Ação anti-helmíntica de plantas XIV. Avaliação da atividade de extratos aquosos de *Chenopodium ambrosioides* L. (erva-de-santa-maria) em camundongos naturalmente infectados com *Syphacia obvelata* e *Aspiculuris tetraptera*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, n.4, p.133-136, 2004.
- BUSHNELL, O. A., FUKUDA, M., MAKINODIAN, T. The antibacterial properties of some plants found in Hawaii. **Pacific Science**, v.4, p.167-183, 1950.
- CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F., MORAIS, S. M., SANTOS, L. F. L., ROCHA, M. F. G., BEVILAQUA, C. M. L. Validação de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.7, n.3, p.97-106, 2005.
- CARNEIRO, V. S. **Composição e estrutura da comunidade de helmintos parasitos de galinhas, Gallus domesticus (L.), no município de Seropédica, estado do Rio de Janeiro**. 2001. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001.

COSTA, C. T. C., MORAES, S. M. E., BEVILAQUA, C. M. I., SOUZA, M. M. C., LEITE, F. K. A. Efeito ovicida de extratos de sementes de *Mangifera indica* L. sobre *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.11, n.2, p.57-60, 2002.

DAHL, C. et al. The effect of concurrent infections with *Pasteurella multocida* and *Ascaridia galli* on free range chickens. **Veterinary Microbiology**, v.86, p.313-324, 2002.

FAHS, B. M. A. **Noni Needn't Taste Nasty**. Proceedings of the 2002 Hawai'i Noni Conference, University of Hawaii at Manoa, College of Tropical Agriculture and Human Resources, 2002.

FERNANDES, R.M. Avaliação da atividade anti-helmíntica de planta em frangos de corte naturalmente infectados com *Ascaridia galli* (Schrank, 1788) e *Heterakis gallinarum* (Schrank, 1788) Madsen, 1949. Tese Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1998.

FERNANDES, M. Z. L. C. M. et al. Avaliação da atividade anti-helmíntica "in vitro" do extrato aquoso da *Himatanthus sucuuba* sobre helmintos de galinha caipira (*Gallus gallus domesticus*, L.). Anais do X Seminário de Iniciação Científica da UFPI, Teresina-PI, p.9, 2001.

FERNANDES, R. M. et al. Ausência da atividade anti-helmíntica de plantas em frangos de corte naturalmente infectados com *Heterakis gallinarum* (Schrank, 1788) Madsen, 1949. **Ciência Rural**, v.34, n.5, p.1629-1632, 2004.

FREITAS, M. G. **Helmintologia Veterinária**. Belo Horizonte: Rabelo & Brasil, 1977. p.397.

FURUSAWA, E. et al. Antitumour potential of a polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (noni) on sarcoma 180 ascites tumour in mice. **Phytother Research**, v.17, n.10, p.1158-1164, 2003.

GIRÃO, E. S. et al. Avaliação de plantas medicinais com efeito anti-helmíntico para caprinos. Embrapa: Pesquisa em Andamento, n.78, 1998. 9p.

GITHIGIA, S. M. et al. Impact of gastrointestinal helminths on production in goats in Kenya. **Small Ruminant Research**, v. 42, p.21-29, 2001.

HADINOTO, I. HADISOEWIGNYO, D. L. Potential Anthelmintic Effect of the Juice of *Morinda citrifolia* Linn. on *Ascaridia galli* In-Vitro. **Media Kedokteran Hewan**, v.20, n.2, 2003.

HAMMOND, J. A., FIELDING, D., BISHOP, S. C. Prospects for plant anthelmintics in tropical veterinary medicine. **Veterinary Research Communications**, v.21, p.213-228, 1997.

HEINICKE, R. M. The pharmacologically active ingredient of Noni. Bulletin of the National Tropical Botanical Garden, 1985

HERD, P. R. Equine parasite control keeping up with evolution. **Veterinary Medicine**, v.90, p.447-480, 1995.

HIRAZUMI, A., FURUSAWA, E. An immunomodulatory polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (noni) with antitumour activity. **Phytother Research**, v.13, n.5, p.380-387, 1999.

HORNICK, C. A. et al. Inhibition of angiogenic initiation and disruption of newly established human vascular networks by juice from *Morinda citrifolia* (noni). **Angiogenesis**, v.6, n.2, p.143-149, 2003.

JOSHI, A. R., JOSHI, K. Indigenous knowledge and uses of medicinal plants by local communities of the Kali Gandaki watershed area, Nepal. **Journal of Ethnopharmacology**, v.73, p.175-183, 2000.

KALEYSA RAJ, R. K. Screening of indigenous plants for anthelmintic action against human *Ascaris lumbricoides*: Part--II. **Indian Journal Physiology Pharmacology**, v.19, n1, p.47-49, 1975.

KESEHATAN, B. L. Efek Antelmintik Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap *Ascaris suum* Invitro/Ludmilla. Disponível na internet via: [www.jkpkbppk-gdl-res-2003-budikusuma-1687-anthelmint](http://www.jkpkbppk-gdl-res-2003-budikusuma-1687-anthelmint). Arquivo consultado em 08 de janeiro de 2008.

KUSAMRAN, W. R., TEPSUWAN, A., KUPRADINUN, P. Antimutagenic and anticarcinogenic potentials of some Thai vegetables. **Mutation Research**, v.402, p.247-258, 1998.

LAVAUT, N. E. G., LAVAUT, J. A. G. *Morinda citrifolia* Linn.: potencialidades para su utilización en la salud humana. **Revista Cubana de Farmacia**, v.37 n.3, p.12-15, 2003.

LI, R. W. et al. A cross-cultural study: anti-inflammatory activity of Australian and Chinese plants. **Journal of Ethnopharmacol**, v.85, n.1, p.25-32, 2003.

MELO, A. C. F. L. et al. Nematódeos resistentes a anti-helmínticos em rebanhos de ovinos e caprinos do estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, v.33, p.339-344, 2003.

MENEZES, R. C. A. A. et al. Estudos preliminares in vitro da atividade ovicida de folhas e sementes de quatro leguminosas sobre *Haemonchus contortus* de caprinos. **Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, v.15, p.121-127, 1992.

MOKKHASHMIT, M., SWATDIMONGKOL, K., SATRAWAHA, P. Study on toxicity of Thai medicinal plants. **Bull Department of Medical Science**, v.12, p.36-65, 1971.

MOSTAFA, M. et al. Epidemiology of gastrointestinal helminth parasites in small ruminants in Bangladesh and their anthelmintic therapy. In: Sustainable parasite control in small ruminants: an international workshop sponsored by AGIAR and held in Bogor, Indonésia, p.105-108, 1996.

MUELLER, B. A. et al. Noni juice (*Morinda citrifolia*): hidden potential for hyperkalemia? **American Journal Of Kidney Diseases**, v.35, n.2, p.310-312, 2000.

MURDIATI, T.B.; ADIWINATA, G.; HILDASARI, D. To trace the active compound in mengkudu (*Morinda citrifolia*) with anthelmintic activity against *Haemonchus contortus*. **Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner (Indonesia)**, v.5, n.4, p.255-259, 2000.

PADMAJA, V.; THANKAMANY, V.; HISHAM, A. Antibacterial, antifungal and anthelmintic of root barks of *Uvaria hookeri* and *Uvaria narum*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.40, p.181-186, 1993.

PERMIN, A. et al. Ecto-, Endo- and haemoparasites in free-range chickens in the Goromonzi District in Zimbabwe. **Preventive Veterinary Medicine**, v.54, p.213-224, 2002.

PERMIN, A. et al. The prevalence of gastrointestinal helminths in different poultry production systems. **British Poultry Science**, v.40, p.439-443, 1999.

PESSOA, L. M. **Atividade ovicida in vitro de plantas medicinais contra *Haemonchus contortus***. 2001. 68f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2001.

PESSOA, L. M. et al. Avaliação, in vitro, do efeito ovicida dos óleos essenciais de *Chenopodium ambrosioides* e *Ocimum gratissimum* sobre *Haemonchus contortus*. **Ciência Animal**, v.11, suplemento 2, 2001.

PESSOA, L. M., MORAIS, S.M., BELIVAQUA, C.M.L. et al. Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn and eugenol against *Haemonchus contortus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.109, p.59-63, 2002.

PIETROSEMOLI, S. et al. Empleo de hojas de Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) en control de nematodos gastrointestinales de bovinos a pastoreo. **Revista Facultad de Agronomía (LUZ)**, v.16, n.1, p.220-225, 1999.

RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v.39, p.603-613, 2001.

RUFF, M. D. Important parasites in poultry production systems. **Veterinary Parasitology**, v.84, p.337-347, 1999.

SATRIJA, F. et al. Effect of papaya latex against *Ascaris suum* in naturally infected pigs. **Journal of Helminthology**, v.68, p.343-346, 1994.

SATRIJA, F., Y. RIDWAN, R. TIURIA, E.B. RETNANI. Dampak pemberian getah pepaya dengan dosis berulang terhadap domba yang diinfeksi *Haemonchus contortus*. **Hemera Zoa** v.81, p.9-15, 1999.

SOLOMON, N. **The tropical fruit with 101 medicinal uses, NONI juice**. 2nd ed. Woodland Publishing, 1999.

THAMSBORG, S.M.; ROEPSTORFF; LARSEN, M. Integrated and biological control of parasites in organic and conventional production systems. **Veterinary Parasitology**, v.84 n.3-4, p.169-186,1999.

VIEIRA, L.S.; CAVALCANTE, A.C.R.; PEREIRA, M.F; DANTAS, L.B.; XIMENES, L.J.F. Evaluation of anthelmintic efficacy of plants available in Ceará State, North – East Brazil, for the control of goat gastrointestinal nematodes. **Revue Medicine Veterinary**, v.150, n.5, p.447-452, 1999.

WANG, M. Y. et al. *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in noni research. **Acta Pharmacologica Sinica**, v.23, n.12, p.1127-1141, 2002.

WANG, M. Y.; SU, C. Cancer preventive effect of *Morinda citrifolia* (noni). **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.952, p.161-168, 2001.

WIDDHIASMORO, N.P. Kajian Aktivitas Anthelmintika Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap Cacing *Hymenolepis nana* pada Mencit Putih (*Mus musculus albinus*). MS Thesis. Program Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor, 2000.

WIKIPÉPIA. Noni. Disponível na internet via: < <http://pt.wikipedia.org/wiki/Noni>> Arquivo consultado em 15 de maio de 2006.

YOUNOS, C. et al. Analgesic and behavioral effects of *Morinda citrifolia*. **Plantas Medicinais**, v.56, n.5, p.430-434, 1990.

ZHAN, J., ZHOU, P.A. Simplified method to evaluate the acute toxicity of ricin and ricinus agglutinin. **Toxicology**, v.186, p.119-123, 2003.