

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA**

**WELLINGTON BARBOSA DE PAIVA**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTI-HELMÍNTICO DE COMPOSTOS BIOATIVOS  
EM ANCILOSTOMÍDEOS DE ANIMAIS DE COMPANHIA**

**UBERLÂNDIA**

**2023**

**WELLINGTON BARBOSA DE PAIVA**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTI-HELMÍNTICO DE COMPOSTOS BIOATIVOS  
EM ANCILOSTOMÍDEOS DE ANIMAIS DE COMPANHIA**

Trabalho apresentado à Comissão de estágio e TCC (CETCC) do curso de graduação em Biomedicina e a banca de avaliação como critério para aprovação na disciplina de TCCII, sob orientação do Professor Doutor Rodrigo Rodrigues Cambraia de Miranda.

**UBERLÂNDIA  
2023**

*Eu me lembro da primeira vez que eu abri um livro de parasitologia, na sua dedicatória tinha um poema, acho que foi neste momento que me encontrei dentro desta ciência. Dedico este trabalho aos meus avós, que tanto me inspiram poesia e sede de conhecimento.*

## AGRADECIMENTOS

Desde pequeno, ainda que bastante tímido, sempre fui uma criança curiosa, tal curiosidade com certeza foi o que me fez escolher o caminho das ciências como minha carreira. Não poderia deixar de agradecer todas as pessoas que de maneira direta ou indireta me trouxeram até esta fase da minha vida.

Agradeço, antes de tudo e sobre todas as coisas, a Deus e a minha Nossa Senhora do Carmo, pela oportunidade de executar este trabalho;

Aos meus pais, Solange e Givanildo, por não medirem esforços em prol da minha educação e desenvolvimento e à minha família, pela rede de apoio durante a minha graduação, em especial meus irmãos, Claiton e Lorrane e meus avós, Geralda, José Assis, Mirtes e Jaques;

Aos meus amigos de sempre, Adler, Ritinha, Melissa, Priscila e Larissa, por estarem junto comigo desde a infância; e aos amigos que a UFU me deu, Isabela, Aurea, Anna Clara, Samu, Dudão, Lopes, Giovanna, Ana Laura, Laura, Xande, Tainá, Thomas, Mário, Violeta, Izabella, Lorena e Rebeca, por todo o companheirismo nos bons e maus momentos;

Ao meu orientador, Professor Dr. Rodrigo Cambraia, por todo o incentivo, auxílio e direcionamento na execução deste trabalho e de minha vida acadêmica e À Professora Dr<sup>a</sup>. Natália Pinheiro, por abrir as portas para mim no laboratório e na Parasitologia;

À minha professora de Biologia do Ensino Médio, Me. Patrícia Medeiros, por acreditar em mim e despertar meu interesse pelas Ciências Biomédicas e à minha professora de Língua Portuguesa do Ensino Médio, Dona Gislene Vidal, por tudo que fez e faz por mim em nome da minha formação acadêmica;

Aos meus demais professores, da graduação e de antes dela, que me moldaram a sempre buscar mais e mais conhecimentos;

Aos meus colegas de laboratório, em especial Lara, Maju e Mococa, por desde o início desta pesquisa me acompanharem;

Aos Técnicos de Laboratório do Departamento de Parasitologia, em especial o Dr. Paulo Vitor, por sempre estar disposto a contribuir com a minha pesquisa;

À Sinérgica Empresa Júnior e ao Núcleo Triângulo de Empresas juniores, por mediarem meu desenvolvimento pessoal e profissional ao longo desses anos;

Ao CNPq, a UFU, ao ICBIM e ao DEPAR, por proporcionarem a estrutura necessária para a consolidação desta pesquisa.

## RESUMO

As doenças causadas por helmintos transmitidos pelo solo (HTS) estão entre as doenças infecciosas mais prevalentes do mundo. Estima-se que mais de 900 milhões de pessoas estejam infectadas por algum helminto. Dentre estes, os Ancilostomídeos estão entre os mais prevalentes, com cerca de 500 milhões de infectados em todo o mundo. No Brasil, a prevalência nos cães domiciliados é de 25%, enquanto em cães não domiciliados ultrapassa 57%. As principais espécies que causam Ancilostomíase em humanos são *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus* e *A. ceylanicum* enquanto em cães as espécies são *A. ceylanicum*, *A. caninum*, *A. braziliense* sendo que esta última a principal espécie associada aos quadros de larva migrans cutânea em humanos. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia do extrato de própolis verde, do ácido tânico e de extratos aquosos de copaíbas na eclodibilidade de ovos de ancilostomídeos. Para isso, amostras de fezes de cães naturalmente infectados foram coletadas para recuperação de ovos de ancilostomídeos. Posteriormente, foram realizados testes de inibição da eclodibilidade desses parasitos frente aos compostos testados a fim de avaliar o potencial anti-helmíntico dos compostos bioativos. Os ensaios demonstraram que o ácido tânico e os extratos aquoso de *Copaifera lucens*, *C. multijuga* e *C. oblongifolia* conseguem inibir mais de 90% da eclodibilidade dos ovos em determinadas concentrações, com valores de IC<sub>50</sub> de 14,74 mg/mL, 22,09 mg/mL, 4,71 mg/mL e 4,79 mg/mL, respectivamente. Tais resultados permitem inferir que estes compostos possuem potencial para serem utilizados em pesquisas que avaliam outros estágios do ciclo de vida dos ancilostomídeos. Podendo, desta maneira, propiciar o desenvolvimento de novos fármacos.

**Palavras-chave:** Geohelmintos, eclodibilidade, copaíbas, ácido tânico, própolis verde.

## ABSTRACT

Diseases caused by soil-transmitted helminths (STH) are among the most prevalent infectious diseases in the world. It is estimated that more than 900 million people are infected with some helminth. Among these, Hookworms are among the most prevalent, with around 500 million infected worldwide. In Brazil, the prevalence in domiciled dogs is 25%, while in non-domiciled dogs it exceeds 57%. The main species that cause hookworm in humans are *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus* and *A. ceylanicum*, while in dogs the species are *A. ceylanicum*, *A. caninum*, *A. braziliense*, the latter being the main species associated with cutaneous larva migrans in humans. The objective of this study was to evaluate the effectiveness of green propolis extract, tannic acid and aqueous extracts of copaiba on the hatchability of hookworm eggs. For this purpose, fecal samples from naturally infected dogs were collected to recover hookworm eggs. Subsequently, tests to inhibit the hatchability of these parasites were carried out against the tested compounds in order to evaluate the anthelmintic potential of the bioactive compounds. The tests demonstrated that tannic acid and aqueous extracts of *Copaifera lucens*, *C. multijuga* and *C. oblongifolia* can inhibit more than 90% of egg hatchability at certain concentrations, with IC<sub>50</sub> values of 14.74 mg/mL, 22, 09 mg/mL, 4.71 mg/mL and 4.79 mg/mL, respectively. Such results allow us to infer that these compounds have the potential to be used in research that evaluates other stages of the hookworm life cycle. In this way, it can facilitate the development of new drugs.

**Keywords:** Geohelminths, hatchability, copaibas, tannic acid, green propolis.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Tabela 1: Concentrações dos compostos utilizados.....	11
Figura 1: Inibição da eclodibilidade de ovos de ancilostomídeos com o uso da oleorresina de <i>C. lucens</i> .....	12
Figura 2: Inibição da eclodibilidade de ovos de ancilostomídeos com o uso da oleorresina de <i>C. trapezifolia</i> .....	12
Figura 3: Inibição da eclodibilidade de ovos de ancilostomídeos com o uso da oleorresina de <i>C. multijuga</i> .....	13
Figura 4: Inibição da eclodibilidade de ovos de ancilostomídeos com o uso da oleorresina de <i>C. oblongifolia</i> .....	13
Figura 5: Figura 5: Comparação dos valores de IC <sub>50</sub> das diferentes espécies de copaíbas testadas.....	13
Figura 6: Inibição da eclodibilidade de ovos de ancilostomídeos por própolis verde e ácido tânico.....	14
Figura 7: Comparação dos valores de IC <sub>50</sub> de própolis verde e ácido tânico.....	14

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>7</b>
<b>2. JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>9</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>9</b>
3.1. Objetivo Geral:.....	9
3.2. Objetivos Específicos.....	10
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>10</b>
4.1. Obtenção das amostras de ovos.....	10
4.2. Preparação dos compostos bioativos.....	10
4.3 Teste de Inibição da eclodibilidade.....	11
4.4. Análises Estatísticas.....	11
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>12</b>
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>18</b>



## 1. INTRODUÇÃO

Os animais de companhia exercem importante papel na vida de seus tutores. Os cães estão entre os principais animais de estimação nos lares brasileiros, eles trazem benefícios físicos e psicológicos, além de melhorar a interação social de pessoas imunossuprimidas, idosos, crianças e pessoas com deficiência. Porém, a proximidade com esses animais aumenta as chances de infecção por algumas zoonoses, como aquelas causadas por helmintos (Barros *et al.*, 2019).

Os helmintos transmitidos pelo solo (HTS) ou geohelmintos estão entre as principais causas de infecções em países de clima tropical e/ou em desenvolvimento. Dados epidemiológicos estimam que em todo o mundo mais de 900 milhões de pessoas estejam infectadas por HTS (Loukas; Maizels; Hotez, 2021).

Os helmintos são organismos invertebrados muito heterogêneos pertencentes a diversos filos que dependem do meio ou de outros seres vivos para sua alimentação. O filo Nematoda é composto, majoritariamente, por espécies de vida livre que habitam vários ecossistemas aquáticos e terrestres e por vermes que podem parasitar vegetais, humanos e animais. Em relação às espécies de importância para a saúde humana, destacam-se os parasitos da família Ancilostomatidae, os quais podem causar dor abdominal, anemia ferropriva, retardo físico e cognitivo, dentre outros sinais e sintomas, especialmente em crianças e mulheres grávidas (Mitrevva *et al.*, 2005, Loukas *et al.*, 2016).

Os ancilostomídeos adultos vivem no intestino delgado de seus hospedeiros causando ancilostomíase, doença popularmente conhecida como “amarelão”. Estima-se que no mundo existam cerca de 500 milhões de pessoas infectadas (Stracke; Jex; Traub, 2020). Dentre as espécies que podem causar ancilostomíase em seres humanos, encontram-se o *Ancylostoma duodenale*, *A. ceylanicum* e o *Necator americanus*, este com maior prevalência nas Américas, África Subsaariana e Leste e Sudeste Asiático (Xu *et al.*, 2021, Ngui *et al.*, 2012). Dentre as espécies que parasitam os canídeos, *A. caninum*, *A. ceylanicum* e *A. braziliense* estão entre as principais causadoras de infecções. Entre todos, apenas *A. ceylanicum* mostrou potencial de causar infecções intestinais em humanos, tendo como reservatório cães e gatos (Furtado *et al.*, 2020; Ngui *et al.*, 2012).

Além disso, a migração das larvas de *A. caninum* e, principalmente, de *A. braziliense* pode ocorrer em tecidos humanos, causando outra doença, a larvas migrans cutânea, popularmente conhecida como “bicho geográfico”, uma dermatite que geralmente causa erupção serpiginosa na pele dos indivíduos infectados (Giudice *et al.*, 2019).

Na ancilostomíase, a infecção por estes parasitos pode ocorrer por via oral ou cutânea. A infecção oral ocorre pela ingestão de ovos contendo larvas L3 de *A. duodenale* (em humanos) ou *A. caninum* e *A. braziliense* (em cães), que irão eclodir no intestino, onde haverá a evolução para a forma adulta. Já por via cutânea, em humanos, larvas L3 de *N. americanus* e *A. duodenale*, penetram a pele, alcançando a circulação linfática e, posteriormente, a circulação sanguínea, chegando assim ao coração. Após essa etapa, alcançam os pulmões, onde poderão sofrer muda para L4 e, posteriormente, migrar para a laringe, onde, se deglutidas, voltarão ao intestino e se desenvolverão para vermes adultos (Loukas et al., 2016; Li et al., 2019; Rey, 2008)

Na ancilostomíase, vermes adultos prejudicam a mucosa do intestino, levando a uma disfunção gastrointestinal que, se não tratada, pode causar perda crônica de sangue que a longo prazo leva a casos graves de anemia. Além disso, a ancilostomíase provoca sintomas inespecíficos como desconforto epigástrico, náuseas, vômitos, diarreia e constipação (Li et al., 2019).

O tratamento destes parasitos é realizado principalmente com medicamentos sintéticos, tais como benzimidazóis, ivermectina e levamisol (Buzzulinni et al., 2007; Barros et al., 2019). Uma das principais medidas de controles utilizada em diversos países é o tratamento em massa das populações que vivem em áreas endêmicas, o tratamento por vezes também é estendido a animais (Texeira et al., 2020). Esta conduta, ainda que tenha diminuído casos de endoparasitoses, traz como consequência a possibilidade de resistência anti-helmíntica, sobretudo na Medicina Veterinária, como já descrito na literatura (Medeiros, 2018; Oliveira, Lestingi, 2011). Em face a isso, pesquisas vêm sendo desenvolvidas para buscar alternativas para tal problemática, e várias consideram o potencial anti-helmíntico de plantas medicinais (Sousa et al., 2013; Fenalti et al., 2016).

Extratos e oleorresina de copaíbas, vêm sendo muito explorados na avaliação de seu potencial como fitoterápico. As copaibeiras são árvores da família das Leguminosae Caesalpinoideae, muito utilizadas na medicina popular e que já apresentam seu efeito testado, como anti-inflamatório (Dini et al., 2019), como antimicrobiano (Mendonça; Onofre, 2009) e cicatrizante (Montes et al., 2009). Entre os compostos de origem vegetal encontramos também o ácido tânico, um polifenol derivado de plantas herbáceas e lenhosas e alimentos comuns como nozes, feijões e uvas (Naus et al., 2007, Kaczmarek, 2020). Já foram relatados na literatura, trabalhos que demonstram o seu potencial antiviral e antimicrobiano (Kaczmarek, 2020). Outro composto com grande potencial medicinal é a própolis verde, produzida pelas abelhas a partir do néctar de plantas. Vários estudos já demonstraram seu

potencial como antioxidante, antimicrobiano, cicatrizante, anestésico e anti-inflamatório (Cruz *et al.*, 2021).

## **2. JUSTIFICATIVA**

As doenças parasitárias encontram-se entre as principais doenças negligenciadas do mundo. Bilhões de pessoas distribuídas entre todos os continentes, sobretudo nas regiões socioeconomicamente vulneráveis da África, América Latina e Ásia, estão infectadas ou suscetíveis às infecções por helmintos.

As infecções helmínticas, além de sintomas ligados a disfunções gastrointestinais, provocam deficiência no desenvolvimento cognitivo em crianças, o que, a longo prazo, tem consequências negativas para o trabalho e as projeções econômicas na vida adulta. Assim, como as populações mais afetadas são aquelas em condições de vulnerabilidade social e econômica, essas infecções contribuem para perpetuar a pobreza e dificultam a mobilidade social.

Sabe-se que as principais vias de transmissão de doenças helmínticas parasitárias são a oral (ingestão de ovos e/ou larvas) e a cutânea (penetração). Nesse sentido, ambientes que contam com a presença de cães ou outros animais de companhia podem ser favoráveis a infecção, uma vez que existem doenças helmínticas que podem ser zoonóticas como é o caso da larva migrans cutânea e toxocaríase humana.

O uso inadequado ou indiscriminado de medicamentos sintéticos no controle destas doenças está entre as principais causas de resistência anti-helmíntica, contribuindo para uma alta prevalência das infecções parasitárias.

Em razão da enorme biodiversidade brasileira e do potencial, ainda pouco explorado, dos compostos fitoterápicos e de outros produtos bioativos, é importante que haja pesquisas que visem desenvolver novos medicamentos para as doenças infecciosas. Nesse sentido, a execução deste estudo possibilita a investigação de novos compostos com potencial anti-helmínticos e controle de ancilostomídeos.

## **3. OBJETIVOS**

### **3.1. Objetivo Geral:**

Avaliar o potencial anti-helmíntico de compostos bioativos sobre a eclodibilidade de ovos de ancilostomídeos.

### 3.2. Objetivos Específicos

- Avaliar *in vitro* o potencial do extrato aquoso da própolis verde e do ácido tânico na inibição da eclosão de ovos de ancilostomídeos;
- Avaliar *in vitro* o potencial de Extratos Aquosos de *Copaifera multijuga*, *C. oblongifolia*, *C. trapezifolia* e *C. lucens* na inibição da eclosão de ovos de ancilostomídeos;
- Calcular os valores de IC<sub>50</sub> para todos os compostos avaliados e determinar aqueles com o maior potencial anti-helmíntico.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Obtenção das amostras de ovos

Os ovos de nematódeos gastrintestinais foram recuperados de fezes de cães da Associação de Proteção aos Animais (APA) de Uberlândia-MG, obtidas por defecação espontânea em animais naturalmente infectados. Para confirmação da infecção foi realizado exame de Willis (1991) e Faust *et al.* (1938). As amostras de fezes seguiram para passagem por três tamises de malhas de 1 mm, 105µm, 55µm, visando reter as maiores partículas do bolo fecal. O material restante passou por tamise de malha de 25µm onde os ovos ficaram retidos (Hubert, Kerboeuf, 1992).

### 4.2. Preparação dos compostos bioativos

Foram utilizados nos testes soluções de extrato aquoso de própolis verde e extrato aquoso de ácido tânico e extrato aquoso de copaíbas. O extrato aquoso de própolis foi produzido a partir da diluição de 25g de extrato de própolis em água destilada com 10% de tween 80, produzindo uma solução estoque com 100 mg/mL. Para os testes a solução aquosa de extrato foi diluída em água destilada em 6 concentrações diferentes (50, 25, 12,5, 6,25, 3,12, 1,62 mg/mL).

A solução estoque de extrato aquoso de ácido tânico, com concentração inicial de 100 mg/mL, foi produzida com a diluição de 25 g de ácido tânico em água destilada, que também foi diluída em água destilada em 6 concentrações diferentes (50, 25, 12,5, 6,25, 3,12, 1,62 mg/mL) para a realização dos testes.

Os compostos de copaíba foram produzidos a partir da diluição de extrato de folhas em água. As espécies utilizadas foram *C. multijuga*, *C. oblongifolia*, *C. trapezifolia* e *C.*

*lucens*, as concentrações iniciais foram de 16,25 mg/mL, 30 mg/mL, 63,43 mg/mL e 65 mg/mL, respectivamente. Para realização dos testes, todos os compostos foram diluídos seis vezes, de forma seriada com fator de diluição 2.

#### 4.3 Teste de Inibição da eclodibilidade

O teste de inibição da eclodibilidade foi realizado a partir da técnica de Coles *et al.* (1992), utilizando aproximadamente 150 ovos das soluções testes em placas de polietileno de 24 poços. Em cada fileira de poços foram adicionados 500 µl de água contendo aproximadamente 150 ovos de ancilostomídeos e 500 µl da solução a ser testada. A concentração da solução foi feita por diluição seriada, de forma que cada fileira teve metade da concentração da anterior.

Para controle negativo foi confeccionada uma placa de teste contendo apenas água e ovos, e outra contendo apenas o detergente Tween 80 para Ácido Tânico e detergente DMSO para as copaíbas, utilizados para solubilizar os compostos, água e ovos. Para controle positivo foi realizado uma fileira do teste com a utilização de apenas de levamisol.

Todos os testes foram incubados por 24 horas em estufa a 28 °C e 80% UR e realizados em triplicatas. Após este período foi realizado as leituras em microscópio invertido, com a contagem dos ovos e das larvas.

Tabela 1. Concentrações dos compostos utilizados (mg/mL)

<i>C. lucens</i>	<i>C. trapezifolia</i>	<i>C. oblongifolia</i>	<i>C. multijuga</i>	Ácido Tânico	Própolis Verde
65,00	63,40	30,00	16,25	50,00	50,00
32,50	31,70	15,00	8,13	25,00	25,00
16,25	15,85	7,50	4,06	12,50	12,50
8,13	7,93	3,75	2,03	6,25	6,25
4,06	3,96	1,88	1,02	3,13	3,13
2,03	1,98	0,94	0,51	1,56	1,56

#### 4.4. Análises Estatísticas

Para as análises de inibição da eclodibilidade foi aplicado teste de normalidade seguido pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa GraphPad Prism para Windows, versão 8.0. A análise da concentração inibitória da

eclodibilidade a 50% (IC<sub>50</sub>), concentração capaz de inibir 50%, foi determinada a partir da curva dose-resposta com intervalo de confiança de 95%, utilizando o programa GraphPad Prism para Windows, versão 8.0.

## 5. RESULTADOS

O extrato aquoso de *C. lucens* demonstrou uma inibição da eclodibilidade dos ovos de ancilostomídeos de 97,1% na concentração de 65 mg/mL, 78,32% na concentração de 32,5 mg/mL, 21,50% na concentração de 16,25 mg/mL, 19,81% na concentração de 8,12 mg/mL, 17,26% na concentração de 4,06 mg/mL e 17,8% na concentração de 2,03 mg/mL. O valor de IC<sub>50</sub> encontrado foi de 22,09 mg/mL.

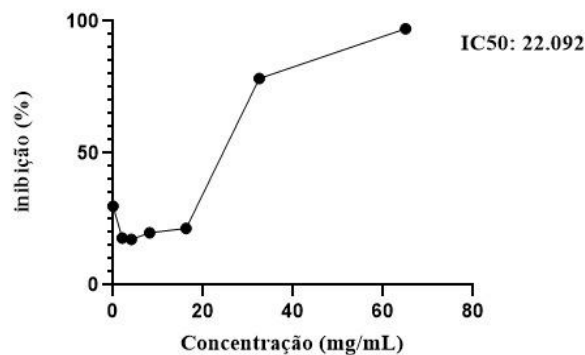


Figura 1: Inibição da eclodibilidade de ovos de ancilostomídeos com o uso do extrato aquoso de *C. lucens*.

O extrato aquoso de *C. trapezifolia* demonstrou uma inibição da eclodibilidade dos ovos de ancilostomídeos de 89,1% na concentração de 63,4 mg/mL, 77,91% na concentração de 31,7 mg/mL, 50,16% na concentração de 15,85 mg/mL, 39,35% na concentração de 7,93 mg/mL, 27,37% na concentração de 3,96 mg/mL e 24,47% na concentração de 1,98 mg/mL. O valor de IC<sub>50</sub> encontrado foi de 14,352 mg/mL.

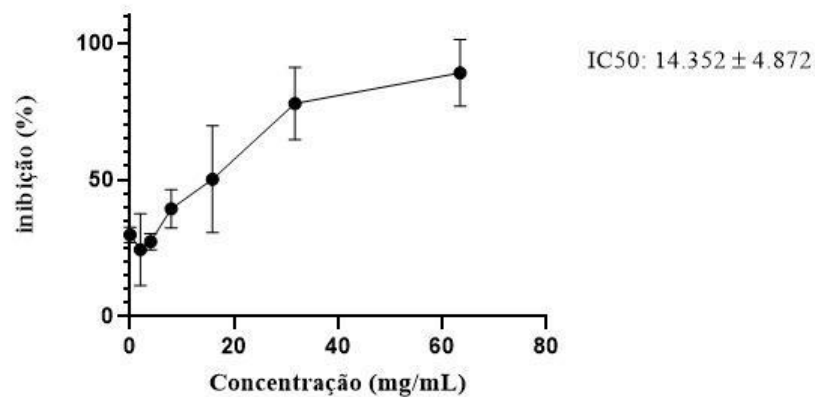


Figura 2: Inibição da eclodibilidade de ovos de ancilostomídeos com o uso do extrato aquoso de *C. trapezifolia*.

O extrato aquoso de *C. multijuga* demonstrou uma inibição da eclodibilidade dos ovos de ancilostomídeos de 96,7% na concentração de 16,25 mg/mL, 85,77% na concentração de 8,12 mg/mL, 25,72% na concentração de 4,06 mg/mL, 28,27% na concentração de 2,03 mg/mL, 42,87% na concentração de 1,01 mg/mL e 32,92% na concentração de 0,50 mg/mL. O valor de  $IC_{50}$  encontrado foi de 4,71 mg/mL

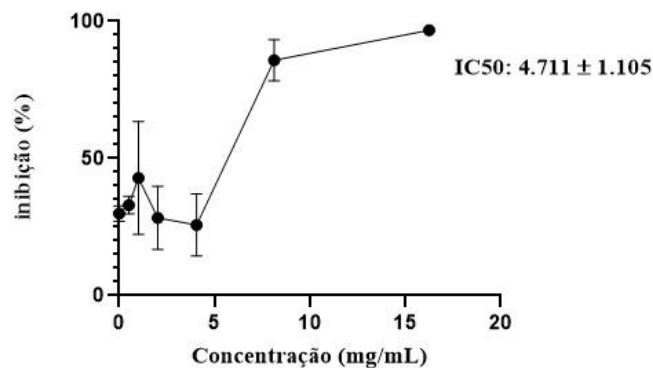


Figura 3: Inibição da eclodibilidade de ovos de ancilostomídeos com o uso do extrato aquoso de *C. multijuga*.

O extrato Aquoso de *C. oblongifolia* demonstrou uma inibição da eclodibilidade dos ovos de ancilostomídeos de 93,6% na concentração de 30 mg/mL, 92,71% na concentração de 15 mg/mL, 59,94% na concentração de 7,5 mg/mL, 48,87% na concentração de 3,75 mg/mL, 33,35% na concentração de 1,87 mg/mL e 34,63% na concentração de 0,93 mg/mL. O valor de  $IC_{50}$  encontrado foi de 4,79 mg/mL

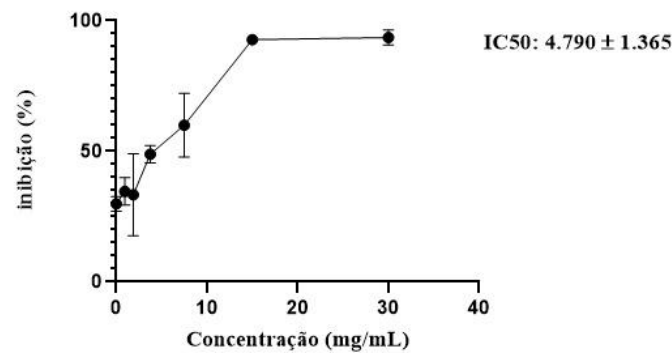


Figura 4: Inibição da eclodibilidade de ovos de ancilostomídeos com o uso do extrato aquoso de *C. oblongifolia*.

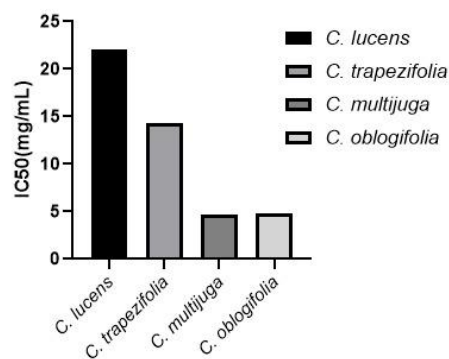


Figura 5: Comparação dos valores de IC<sub>50</sub> das diferentes espécies de copaibas testadas.

O ácido tânico foi testado nas concentrações de 50 mg/mL, 25 mg/mL, 12,5 mg/mL, 6,25 mg/mL, 3,12 mg/mL e 1,56 mg/mL, demonstrando uma inibição da eclodibilidade dos ovos de ancilostomídeos de 97,6%, 83,13%, 40,85%, 14,34%, 11,79% e 8,04%, respectivamente. Demonstrando um valor de IC<sub>50</sub> de 14,74 mg/mL. Já o extrato aquoso de própolis verde foi testado nas mesmas concentrações, mas demonstrou inibições de 59,6%, 13,70%, 11,27%, 11,59%, 11,62% e 9,36%, com um valor de IC<sub>50</sub> de 44,96 mg/mL.

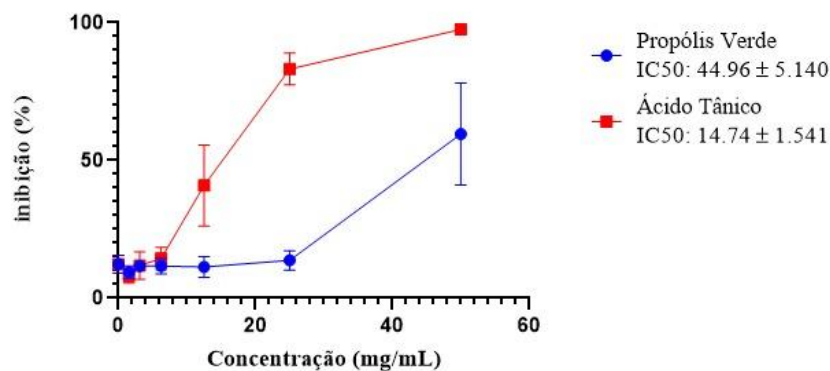


Figura 6: Inibição da eclodibilidade de ovos de ancilostomídeos por própolis verde e ácido tânico.



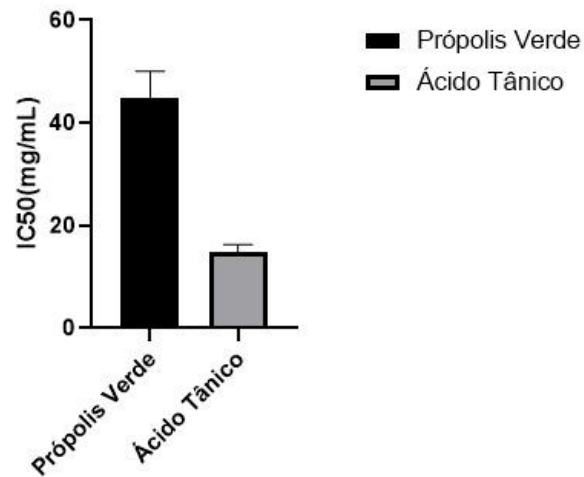


Figura 7: Comparação dos valores de IC<sub>50</sub> de própolis verde e ácido tânico.

## 6. DISCUSSÃO

Em todo o mundo, bilhões de pessoas e animais estão susceptíveis a infecções por ancilostomídeos. A principal forma de controle utilizada é o tratamento em massa das populações que vivem em áreas endêmicas, ainda que elas não tenham sido diagnosticadas com alguma parasitose, e também a melhoria das condições de saneamento básico, como relata Assis *et al.* (2013) e Toledo *et al.* (2009). Esta forma de controle, embora tenha trazido melhoras nos indicadores epidemiológicos a curto prazo, propicia o surgimento de resistência dos parasitos aos principais medicamentos utilizados (Alves, Barbosa, 2018). A resistência observada inicialmente em ruminantes (Felix *et al.*, 2021) também pode ocorrer em humanos, como descrito por Chai, Jung e Hong (2021), que revisaram diversas resistências relatadas ao uso de Albendazol e Mebendazol no controle de parasitos como os ancilostomídeos, *Trichuris spp.* e *Ascaris lumbricoides*.

Deste modo, a busca por tratamentos alternativos se faz importante. Muitos estudos exploraram o potencial anti-helmínticos de compostos de origem vegetal. Olmedo-Juarez *et al.* (2022) pesquisaram o potencial ovicida e larvicida de extratos hidroalcoólicos de frações aquosas e orgânicas de *Lippia graveolens* e *Delonix regia* contra o parasita *Haemonchus contortus*. O estudo demonstrou inibição da eclosão de ovos acima de 90%, bem como uma

mortalidade larval no mesmo nível, com uma concentração de 1,56 mg/mL e 25 mg/mL respectivamente, quando utilizadas as frações orgânicas.

Um estudo publicado em 2016 (Chama *et al.*) tinha como objetivo isolar moléculas e avaliar seu potencial como inibidor da eclosão de ovos do ancilostomídeo *N. americanus*. O principal composto de origem vegetal testado foi o extrato de *Dichapetalum filicaule*. Utilizando uma metodologia semelhante ao presente trabalho, o estudo de Chama *et al.* (2016) demonstrou uma inibição de 100% da eclosão de ovos a uma concentração de 2.500 µg/mL, demonstrando excelente potencial anti-helmíntico deste composto.

Ainda que existam vários estudos explorando potencial anti-helmíntico de compostos bioativos, não existem muitos que correlacionem ancilostomídeos com copaíbas, ácido tânico e própolis verde. Contudo, estes compostos já foram estudados em outras infecções. Um estudo de Vasconcelos, Rodrigues e Busatti (2019) visou avaliar o potencial antimicrobiano da própolis verde. Os pesquisadores chegaram a resultados que demonstraram uma inibição no crescimento do halo microbiano de *Streptococcus pyogenes* e *Staphylococcus aureus*.

As oleorresinas de diversas espécies de copaíba vêm sendo testadas quanto a sua utilização medicinal. Em 2013, Izumi e colaboradores comprovaram que diversas espécies de copaíba tinham efeito antiparasitário contra *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas, em todos os seus estágios de vida, sendo que as espécies *C. martii* e *C. officinalis* exibiram melhor atividade. Entre todas as espécies os valores de IC<sub>50</sub> variaram entre 5 µg/mL a 10 µg/mL para amastigotas intracelulares, já em epimastigotas e tripomastigotas, a inibição máxima aconteceu com IC<sub>50</sub> de 17 µg/mL e 97 µg/mL, respectivamente. Vários outros estudos demonstraram eficácia antimicrobiana, antifúngica, anti-inflamatória, entre outras (Lima *et al.*, 2021).

O ácido tânico é um tanino hidrolisável bastante utilizado em pesquisas que avaliam potencial medicinal. Várias pesquisas visando entender o efeito anti-inflamatório deste composto foram realizadas nas últimas décadas. Grande parte destes estudos demonstraram resultados bastante positivos, tendo sido evidenciado seu potencial anti-inflamatório, antioxidante, efeitos na cicatrização de feridas e lesões em órgãos, atividade neuroprotetora, entre outras (Jing *et al.*, 2022).

A ação de compostos bioativos na medicina vem sendo amplamente pesquisada, e diversos estudos corroboram a sua eficácia. Nos testes realizados demonstramos que na maior concentração testada de ácido tânico (50 mg/mL), de *C. lucens* (65 mg/mL), de *C. multijuga* (16,25 mg/mL) e de *C. oblongifolia* (30 mg/mL), a taxa de inibição da eclodibilidade dos ovos foi superior a 90%. Resultado este considerado promissor quando comparado com

pesquisas de Olmedo-Juarez *et al.* (2022) e Chama *et al.* (2016), que testaram outros compostos vegetais e também tiveram inibições altas da eclodibilidade dos ovos.

A avaliação da citotoxicidade de copaíbas como *C. reticulata*, *C. martii* e *C. multijuga*, foi revista por Cardinelli *et al.* (2023). O estudo evidencia uma lacuna nas informações referentes a compostos de outras espécies de copaíba. Entretanto, estudos *in vivo* revelaram baixa toxicidade no uso da oleorresina de *C. reticulata* em ratos com a toxicidade oral aguda superior à dose mais alta testada, sendo esta 2.000 mg/kg (Sachetti *et al.*, 2009). O estudo de Silva *et al.* (2021) confirma tais resultados, demonstrando que a dose oral de 2.000 mg/kg não induz toxicidade aguda nos animais testados. Nesse sentido, a utilização dos extratos aquosos testados, que obtiveram alta taxa de inibição da eclodibilidade, é oportuna para continuação de outros trabalhos que avaliam a ação anti-helmíntica sobre outros estágios de vida do parasito.

*C. trapezifolia* e Extrato Aquoso de própolis verde tiveram resultados máximos de inibição menores que 90% para sua maior concentração, sendo 89,1% e 59,6%, respectivamente. Ensaio visando avaliar a citotoxicidade da própolis verde foram realizados por Pimentel *et al.* (2022), os resultados demonstraram uma baixa toxicidade em ensaios de MTT, revelando uma taxa de Concentração Citotóxica de 50% (CC50) no tempo de 48h de 8665 µg/mL, enquanto no tempo de 72h o valor foi de 6027 µg/mL. No entanto, estes resultados estão abaixo da IC<sub>50</sub> encontrada para o extrato de própolis verde, que foi de 44,96 mg/mL. Neste sentido, o composto não se revela promissor no controle de ancilostomídeos.

São necessários estudos que aprofundem avaliações de citotoxicidade do ácido tânico, entendendo que os resultados encontrados com relação a seu potencial inibidor da eclodibilidade foi satisfatório.

## 7. CONCLUSÃO

O ácido tânico e as oleorresinas de *C. multijuga*, *C. oblongifolia* e *C. lucens* demonstraram potencial promissor como inibidor da eclodibilidade de ovos de ancilostomídeos. Tais dados justificam a necessidade de pesquisas futuras que avaliem a citotoxicidade dos compostos testados, além de testes adicionais com os mesmos compostos em outros estágios do ciclo de vida dos parasitos, como ensaios *in vitro* com as larvas e também estudos *in vivo* que avaliem a ação anti-helmíntica sobre os vermes adultos.

## REFERÊNCIAS

- [1] Alves, M.S.D. e Barbosa, T.N. 2018. Capítulo 3. Resistência parasitária. *Fitoterapia e a Ovinocaprinocultura: uma associação promissora*. (2018), 49–76.  
DOI:<https://doi.org/10.7476/9786587108643.0005>
- [2] Assis, E.M. de et al. 2013. Prevalência de parasitos intestinais na comunidade indígena Maxakali, Minas Gerais, Brasil, 2009. *Cadernos de Saúde Pública*. 29, 4 (Apr. 2013), 681–690.  
DOI:<https://doi.org/10.1590/s0102-311x2013000800006>.
- [3] Barros, C.A. et al. 2022. Helminto gastrointestinal em cães e sua correlação com os principais medicamentos de controle da zoonose. *Terra & Cult*. 35, 68 (2022).
- [4] Buzzulini, C. et al. 2007. Eficácia anti-helmíntica comparativa da associação albendazole, levamisole e ivermectina à moxidectina em ovinos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 42, 6 (Jun. 2007), 891–895.  
DOI:<https://doi.org/10.1590/s0100-204x2007000600017>.
- [5] Cardinelli, C.C. et al. 2023. Toxicological Effects of Copaiba Oil (*Copaifera* spp.) and Its Active Components. *Plants*. 12, 5 (Feb. 2023), 1054–1054.  
DOI:<https://doi.org/10.3390/plants12051054>.
- [6] Chai, J.-Y. et al. 2021. Albendazole and Mebendazole as Anti-Parasitic and Anti-Cancer Agents: an Update. *The Korean Journal of Parasitology*. 59, 3 (Jun. 2021), 189–225.  
DOI:<https://doi.org/10.3347/kjp.2021.59.3.189>.
- [7] Chama, M.A. et al. 2015. Isolation, characterization, and anthelmintic activities of a novel dichapetalin and other constituents of *Dichapetalum filicaule*. *Pharmaceutical Biology*. (Jun. 2015), 1–10.  
DOI:<https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1059861>.
- [8] Coles, G.C. et al. 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*. 44, 1-2 (Sep. 1992), 35–44.  
DOI:[https://doi.org/10.1016/0304-4017\(92\)90141-u](https://doi.org/10.1016/0304-4017(92)90141-u).
- [9] Dini, V.S.Q. et al. 2019. Ação anti-inflamatória do óleo de copaíba em artrite induzida em modelo animal: Uma Revisão Sistemática. *Scientia Amazonia*. 8, 1 (2019), 1–12.
- [10] Faust, E.C. et al. 1938. A Critical Study of Clinical Laboratory Technics for the Diagnosis of Protozoan Cysts and Helminth Eggs in Feces 1. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. s1-18, 2 (Mar. 1938), 169–183.  
DOI:<https://doi.org/10.4269/ajtmh.1938.s1-18.169>.
- [11] Félix, R.C. et al. 2021. O emprego da fitoterapia como alternativa à resistência parasitária em pequenos ruminantes e preservação do meio ambiente: uma revisão. *Tópicos Integrados de Zoologia*. 3, (May 2021), 1–9. DOI:<https://doi.org/10.22533/at.ed.6642106051>.

- [12] Fenalti, J.M. et al. 2016. Diversidade das plantas brasileiras com potencial anti-helmíntico. *Ciências da Saúde*. 28, (2016), 39–48.
- [13] Furtado, L.F.V. et al. 2020. Egg genotyping reveals the possibility of patent *Ancylostoma caninum* infection in human intestine. *Scientific Reports*. 10, 1 (Dec. 2020).  
DOI:<https://doi.org/10.1038/s41598-020-59874-8>.
- [14] Giudice, P. et al. 2019. Autochthonous cutaneous larva migrans in france and europe. *Acta Dermato Venereologica*. 99, 9 (2019), 805–808.  
DOI:<https://doi.org/10.2340/00015555-3217>.
- [15] Hubert, J. and Kerboeuf, D. 1992. A microlarval development assay for the detection of anthelmintic resistance in sheep nematodes. *Veterinary Record*. 130, 20 (May 1992), 442–446.  
DOI:<https://doi.org/10.1136/vr.130.20.442>.
- [16] Izumi, E. et al. 2013. Toxicity of Oleoresins from the Genus *Copaifera* in *Trypanosoma cruzi*: A Comparative Study. *Planta Medica*. 79, 11 (Jul. 2013), 952–958.  
DOI:<https://doi.org/10.1055/s-0032-1328712>.
- [17] Jing, W. et al. 2022. Pharmacological effects and mechanisms of tannic acid. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 154, (Oct. 2022), 113561.  
DOI:<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113561>.
- [18] Kaczmarek, B. 2020. Tannic Acid with Antiviral and Antibacterial Activity as A Promising Component of Biomaterials—A Minireview. *Materials*. 13, 14 (Jul. 2020).  
DOI:<https://doi.org/10.3390/ma13143224>.
- [19] Li, R. et al. 2019. A half-century studies on epidemiological features of ancylostomiasis in china: A review article. *Iranian journal of public health*. 48, 9 (Sep. 2019), 1555–1565.
- [20] Lima, C.A.S. et al. 2021. Atualizações sobre as Propriedades Medicinais do Óleo de Copaíba (*Copaifera* spp.): uma Revisão Bibliográfica. *UNICIÊNCIAS*. 25, 2 (Dec. 2021), 100–106.  
DOI:<https://doi.org/10.17921/1415-5141.2021v25n2p100-106>.
- [21] Loukas, A. et al. 2016. Hookworm infection. *Nature Reviews Disease Primers*. 2, 1 (Dec. 2016).  
DOI:<https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.88>.
- [22] Loukas, A. et al. 2021. The yin and yang of human soil-transmitted helminth infections. *International Journal for Parasitology*. (Nov. 2021).  
DOI:<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2021.11.001>.
- [23] Medeiros, C. da S. 2018. Varredura molecular de polimorfismos associados à resistência aos benzimidazóis em *Ascaris lumbricoides*. *repositorio.ufmg.br*. (Feb. 2018)
- [24] Mitreva, M. et al. 2005. Investigating hookworm genomes by comparative analysis of two *Ancylostoma* species. *BMC Genomics*. 6, 58 (Apr. 2005).  
DOI:<https://doi.org/10.1186/1471-2164-6-58>.

- [25] Montes, L.V. et al. 2009. Evidências para o uso da óleo-resina de copaíba na cicatrização de ferida – uma revisão sistemática. *Natureza Online*. 7, 2 (2009), 61–67.
- [26] Naus, P.J. et al. 2007. Tannic acid synergizes the cytotoxicity of chemotherapeutic drugs in human cholangiocarcinoma by modulating drug efflux pathways. *Journal of Hepatology*. 46, 2 (Feb. 2007), 222–229.  
DOI:<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2006.08.012>.
- [27] Ngui, R. et al. 2012. Epidemiological and genetic data supporting the transmission of ancylostoma ceylanicum among human and domestic animals. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 6, 2 (Feb. 2012).  
DOI:<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001522>.
- [28] Oliveira, R.O. and Lestingi, V. 2011. Resistência parasitária em helmintos intestinais de cães: a importância do tratamento adequado e o papel do clínico na prevenção deste problema. *Atualização em Parasitologia*. 1, 5 (2011).
- [29] Olmedo-Juárez, A. et al. 2022. In Vitro Nematocidal Properties from Two Extracts: Lippia graveolens Leaves and Delonix regia Flowers Against Eggs and Infective Larvae of Haemonchus contortus. *Journal of Medicinal Food*. 25, 3 (Mar. 2022), 329–337.  
DOI:<https://doi.org/10.1089/jmf.2021.0066>.
- [30] Pimentel, C. et al. 2022. Própolis verde brasileira: citotoxicidade e potencial anti-inflamatório in vitro. *Brazilian Journal of Development*. 8, 11 (Nov. 2022), 76609–76626.  
DOI:<https://doi.org/10.34117/bjdv8n11-394>.
- [31] Rey L. 2008. *Parasitologia : parasitos e doenças parasitárias do homem nos trópicos ocidentais*. Guanabara Koogan.
- [32] Sachetti, C.G. et al. 2009. Avaliação da toxicidade aguda e potencial neurotóxico do óleo-resina de copaíba (Copaifera reticulata Ducke, Fabaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 19, 4 (Dec. 2009), 937–941.  
DOI:<https://doi.org/10.1590/s0102-695x2009000600025>.
- [33] Silva, M.A.C. et al. 2021. Acute and a 28-repeated dose toxicity study of commercial oleoresin from Copaifera sp. in rodents. *Advances in Traditional Medicine*. 22, 4 (Jul. 2021), 739–747.  
DOI:<https://doi.org/10.1007/s13596-021-00601-7>.
- [34] Sousa, R.G. et al. 2013. Atividade anti-helmíntica de plantas nativas do continente americano: uma revisão. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 15, 2 (2013), 287–292.  
DOI:<https://doi.org/10.1590/s1516-05722013000200018>.
- [35] Stracke, K. et al. 2020. Zoonotic ancylostomiasis: An update of a continually neglected zoonosi. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 103, 1 (2020), 64–68.  
DOI:<https://doi.org/10.4269/ajtmh.20-0060>.

[36] Toledo, M.J. et al. 2009. Avaliação de atividades de controle para enteroparasitos em uma aldeia Kaingáng do Paraná. *Revista De Saude Publica*. 43, 6 (Dec. 2009), 981–990. DOI:<https://doi.org/10.1590/s0034-89102009005000083>.

[37] Vasconcelos, H.G. et al. 2019. Avaliação da eficácia antibacteriana do extrato de própolis verde em bactérias causadoras de infecções nas vias aéreas. *Revista Eletrônica Acervo Científico*. 3, (Dec. 2019), e1840. DOI:<https://doi.org/10.25248/reac.e1840.2019>.

[38] Willis, H.H. 1921. A simple levitation method for detection of hookworm ova. *Medical Journal of Australia*. 2, 18 (Oct. 1921), 375–376. DOI:<https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.1921.tb60654.x>.

[39] Xu, F.F. et al. 2021. Hookworm infection in central China: morphological and molecular diagnosis. *Parasites and Vectors*. 14, 1 (Dec. 2021). DOI:<https://doi.org/10.1186/s13071-021-05035-3>.