



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ALLANA BRUNNA SUCUPIRA DUARTE

**DESENVOLVIMENTO DE UMA FORMULAÇÃO PEDIÁTRICA
ANTI-HELMÍNTICA: SUPOSITÓRIO CONTENDO EXTRATO DE *Operculina
macrocarpa***

CAMPINA GRANDE

2017

ALLANA BRUNNA SUCUPIRA DUARTE

**DESENVOLVIMENTO DE UMA FORMULAÇÃO PEDIÁTRICA
ANTI-HELMÍNTICA: SUPOSITÓRIO CONTENDO EXTRATO DE *Operculina
macrocarpa***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, para o curso de Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Gonçalves Dias Diniz

Coorientadora: Profa. Dra. Francinalva Dantas de Medeiros

CAMPINA GRANDE

2017

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

D812d Duarte, Allana Brunna Sucupira.

Desenvolvimento de uma formulação pediátrica anti-helmíntica [manuscrito] : supositório contendo extrato de Operculina macrocarpa / Allana Brunna Sucupira Duarte. - 2017.
53 p. : il. color.

Digitado.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2017.

"Orientação: Prof. Dr. Paulo Henrique Gonçalves Dias Diniz, Departamento de Farmácia".

1. Operculina macrocarpa. 2. Atividade anti-helmíntica. 3. Fitoterapia. 4. Plantas medicinais. I. Título.

21. ed. CDD 615.321

ALLANA BRUNNA SUCUPIRA DUARTE

DESENVOLVIMENTO DE UMA FORMULAÇÃO PEDIÁTRICA ANTI- HELMÍNTICA: SUPOSITÓRIO CONTENDO EXTRATO DE *Operculina macrocarpa*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, para o curso de Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 21/02/2017

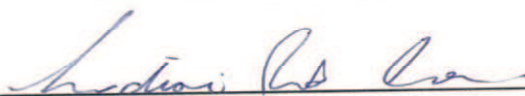
Banca Examinadora



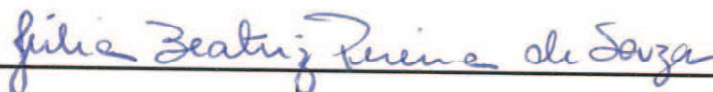
Prof. Dr Paulo Henrique Gonçalves D. Diniz – Orientador
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr^a. Francinalva Dantas de Medeiros – Coorientadora
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Dr^a. Lidiane Pinto Correia – Examinadora Interna
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr^a. Julia Beatriz Pereira de Souza – Examinadora Externa
Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

AGRADECIMENTOS

A Deus que esteve, está e sempre estará abençoando meu caminho;

Ao professor e orientador Paulo Henrique Gonçalves Dias Diniz, pela paciência, incentivo e confiança;

A Francinalva Dantas de Medeiros pela disponibilidade, apoio e incentivo;

Ao amigo Cleildo Pereira de Santana pela ajuda, apoio e dedicação durante a execução de todo o trabalho;

A Carpejane Ferreira pelo auxílio e disponibilidade durante o desenvolvimento do projeto;

Ao Núcleo de Extensão e Pesquisa em Desenvolvimento Territorial para o Eixo Aglutinados da Caprinovinocultura do Território do Médio Sertão Paraibano pelo teste de atividade farmacológica realizado;

À todos os amigos da turma, mas especialmente, Adriana, Karoll, Isabelly, René, Elaine e Alinne por compartilhar experiências e pela ótima convivência;

Ao meu amor Caio Victor, que de forma especial e carinhosa me deu força e coragem, me apoiando nos momentos de dificuldades;

E por último, porque em destaque, agradeço à minha família, mas, em especial a minha mãe Benedita, meu tio Antônio, minhas tias, Irene, Socorro e Nita e a minha irmã Andressa pelo amor incondicional e apoio em todas as fases da minha vida.

“Ninguém ignora tudo. Ninguém sabe tudo. Todos nós sabemos alguma coisa. Por isso aprendemos sempre.”

Paulo Freire

RESUMO

As parasitoses intestinais causadas por helmintos estão entre os mais frequentes agravos de saúde pública e afetam principalmente as crianças. O tratamento convencional dessas doenças é realizado com antiparasitários que apresentam diversos efeitos adversos e estão disponíveis nas formas farmacêuticas de comprimidos, xaropes e suspensões, as quais apresentam desvantagens no uso pediátrico como a incapacidade de deglutição e sabor desagradável. Dentre as diversas formas de tratamento a fitoterapia tem se destacado pela utilização de plantas medicinais como uma excelente alternativa para o tratamento de helmintoses. Desta forma, esse estudo se propôs a obter uma formulação na forma de supositório contendo extrato nebulizado do tubérculo *Operculina macrocarpa*. Oitenta e um extratos foram produzidos utilizando-se diferentes técnicas de extração, concentrações hidroalcoólicas e quantidades de material vegetal, seguindo um Planejamento Fatorial 3³, de modo a se determinar o extrato de melhor rendimento. Todos os extratos foram caracterizados quanto à sua composição de polifenóis, taninos condensados e flavonoides. O extrato com maior quantidade de fitoconstituintes foi selecionado para os demais estudos e desenvolvimento da formulação, uma vez que não houve diferença estatística em relação ao rendimento. Assim, foi selecionado o extrato produzido por maceração, utilizando 10 g de material vegetal dissolvido em 100 mL de solução de etanol/água a 50% (v/v). O extrato não apresentou citotoxicidade em eritrócitos. O teste de atividade anti-helmíntica realizado em caprinos demonstrou que 14 dias após a administração do tratamento houve uma redução na média do número de ovos por gramas de fezes (OPG) de 79,40% comparado ao dia zero. Os dados térmicos demonstraram que os excipientes farmacêuticos manteiga de cacau, o EDTA e a mistura de metilparabeno e propilparabeno não apresentaram incompatibilidade com o extrato nebulizador de *O. macrocarpa* e suas misturas binárias, sendo estes, portanto, selecionados para a manipulação dos supositórios. Sendo assim, a formulação pediátrica anti-helmíntica proposta foi obtida com êxito e apresentou características organolépticas, peso médio e tempo de desintegração adequados.

Palavras-chave: *Operculina macrocarpa*. Atividade anti-helmíntica. Fitoterapia. Estudo de compatibilidade.

ABSTRACT

Intestinal parasites caused by helminths are among the most frequent public health problems and affect mainly children. Conventional treatment of such diseases is carried out with antiparasitics having various adverse effects and are available in the dosage forms of tablets, syrups and suspensions which have disadvantages in pediatric use such as inability to swallow and unpleasant taste. Among the various forms of treatment, phytotherapy has been highlighted by the use of medicinal plants as an excellent alternative for the treatment of helminthes. In this way, this study proposed to obtain a formulation in the form of suppository containing nebulized extract of the tuber *Operculina macrocarpa*. Eighty-one extracts were produced using different extraction techniques, hydroalcoholic concentrations and quantities of plant material, following a Factorial Planning 3³, in order to determine the best yield extract. All extracts were characterized for their composition of polyphenols, condensed tannins and flavonoids. The extract with the highest amount of phytochemicals was selected for the other studies and development of the formulation, since there was no statistical difference in relation to yield. Thus, the extract produced by maceration was selected using 10 g of vegetal material dissolved in 100 mL of 50% (v/v) ethanol/water solution. The extract did not present cytotoxicity in erythrocytes. The anti-helminth activity test performed in goats showed that 14 days after treatment administration there was a reduction in the mean number of eggs per gram of faeces (OPG) of 79,40% compared to day zero. Thermal data demonstrated that the pharmaceutical excipients cocoa butter, EDTA and the mixture of methylparaben and propylparaben did not present incompatibility with the *O. macrocarpa* nebulizer extract and its binary mixtures, and these were therefore selected for the manipulation of suppositories. Therefore, the proposed anti-helminthic pediatric formulation was successfully obtained and had adequate organoleptic characteristics, average weight and disintegration time.

Keywords: *Operculina macrocarpa*. Anthelmintic activity. Phytotherapy. Compatibility study.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Operculina macrocarpa</i>	15
Figura 2 - Raiz da <i>Operculina macrocarpa</i>	16
Figura 3 - Esquema representativo da absorção retal.....	25
Figura 4 - Perfis de DTA do extrato nebulizado EXT (A) e misturas binárias com excipientes farmacêuticos: miristrato de isopropila (B), tween 80 (C), base pronta (D), polietilenoglicol 4000 (E) e manteiga de cacau (F).....	39
Figura 5 - Perfis DTA das misturas binárias do extrato nebulizado (EXT) com excipientes farmacêuticos: metilparabeno (A), propilparabeno (B), Nipagin [®] + Nipazol [®] (C), EDTA (D), BHT (E), ácido esteárico (F).....	41
Figura 6 - Supositórios formulados com o extrato de <i>O. macrocarpa</i>	44
Figura 7 - Dados do ensaio de peso médio.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Organização das variáveis e dos níveis, segundo o planejamento fatorial 3 ³	29
Tabela 2 - Teor de resíduo seco dos extratos.....	34
Tabela 3 - Concentrações de fitoconstituintes nos extratos de <i>Operculina macrocarpa</i>	36
Tabela 4 - Pontecial hemolisante da solução testada.....	37
Tabela 5 - Percentual de eficiência do extrato de <i>O.macrocarpa</i> sobre a redução do número de OPG de nematoides gastrointestinais em fezes de caprinos, 7 e 14 dias após o tratamento (DAT).....	37
Tabela 6 - Dados DTA do extrato nebulizado de <i>Operculina macrocarpa</i> e suas misturas binárias com excipientes farmacêuticos.....	43
Tabela 7 - Formulação desenvolvida.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A.E. - ácido esteárico

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

B.P. - base pronta para supositórios

BHT - dir-terc-butyl fenol

CLAE - cromatografia líquida de alta eficiência

CEUA- Comitê de Ética no Uso de Animais

CSTR – Centro de Saúde e Tecnologia Rural

DAT – dias pós o tratamento

DL – dose letal

DSC - calorimetria exploratória diferencial

DTA - Análise térmica diferencial

EDTA - ácido etilenodiamino tetra-acético

EXT - extrato

LDPAD – Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos

M.C. - manteiga de cacau

M.I. - miristrato de isopropila

O. macrocarpa - Operculina macrocarpa

OPG - Ovos por gramas de fezes

PEG 4000 - polietilenoglicol 4000

Ph – potencial hemolisante

PNPIC – Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

rpm – Rotação por minuto

SPRD - sem padrão racial definido

SUS – Sistema Único de Saúde

TG - Termogravimetria

UEPB – Universidade Estadual da Paraíba

UFCG – Universidade Federal de Campina Grande

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
2.1 Fitoterapia	14
2.2 <i>Operculina macrocarpa</i>	15
2.3 Fitoquímica	17
2.4 Helmintoses	18
2.5 Testes de atividade anti-helmíntica	19
2.5.1 Testes <i>in vitro</i>	19
2.5.1.1 Teste de inibição da eclodibilidade dos ovos	19
2.5.1.2 Teste da inibição da alimentação de L1.....	20
2.5.1.3 Teste da inibição da perda da cutícula de L3.....	20
2.5.1.4 Teste de inibição do desenvolvimento das larvas.....	20
2.5.2 Testes <i>in vivo</i>	20
2.5.2.1 Teste de redução de OPG e coprocultura	21
2.5.2.2 Teste controlado	21
2.6 Formas farmacêuticas	22
2.6.1 Comprimidos	22
2.6.2 Xaropes.....	23
2.6.3 Suspensões.....	23
2.6.4 Supositórios	24
2.7 Estudo de pré-formulação	26
2.8 Planejamento Experimental	27
3. OBJETIVOS	28
3.1 Objetivo geral	28
3.2 Objetivos específicos	28
4. METODOLOGIA	29
4.1 Material Vegetal	29
4.2 Planejamento Experimental	29
4.3 Obtenção dos extratos fluidos	29
4.4 Determinação do teor de resíduo seco	30
4.5 Prospecção fitoquímica	30
4.6 Citotoxicidade em eritrócitos do extrato fluido	30
4.7 Teste de atividade anti-helmíntica in vivo	31
4.8 Obtenção do extrato nebulizado	32
4.9 Estudo de pré-formulação	32

4.9.1 Misturas binárias	32
4.9.2 Análise térmica	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1 Planejamento Experimental	34
5.2 Prospecção fitoquímica	35
5.3 Citotoxicidade em eritrócitos.....	37
5.4 Teste de atividade anti-helmíntica <i>in vivo</i>	37
5.5 Estudo de pré-formulação	38
5.6 Desenvolvimento da formulação	44
5.7 Controle de qualidade da formulação	44
5.7.1 Características Organolépticas	44
5.7.2 Determinação do peso médio dos supositórios	45
5.7.3 Determinação do tempo de desintegração	45
6. CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS	47
ANEXO A - Declaração do Comitê de Ética.....	53

1. INTRODUÇÃO

As parasitoses intestinais causadas por helmintos e protozoários estão entre os mais frequentes agravos do mundo e afetam cerca de 3,5 bilhões de pessoas, principalmente em países menos desenvolvidos, causando morbidade e mortalidade. As elevadas taxas de morbidade e mortalidade, que podem advir das infecções por enteroparasitas, e os custos sociais relacionados à assistência médica ao indivíduo, demonstram que as parasitoses humanas representam expressivo problema de saúde pública (MELO, FERRAZ e ALEIXO, 2010; BELO et al., 2012).

Neste cenário, as crianças em idade escolar são as mais atingidas e prejudicadas pelas doenças parasitárias, uma vez que seus hábitos de higiene são inadequados e sua imunidade ainda não está totalmente eficiente, ocasionando, assim, desnutrição, anemia e redução da capacidade cognitiva, fatores estes que acabam contribuindo para o baixo rendimento escolar (MELO, FERRAZ e ALEIXO, 2010; BELO et al., 2012).

O tratamento das parasitoses intestinais é realizado através do uso de antiparasitários como o metronidazol, tinidazol, secnidazol, mebendazol, albendazol, tiabendazol, niclosamida e piperazina que apresentam uma série de efeitos adversos como cefaleia, vertigem, dor abdominal, anorexia, náusea, diarreia, constipação e toxicidade ao sistema nervoso central. Esses fármacos estão disponíveis no mercado principalmente nas formas farmacêuticas de comprimidos, xaropes e suspensões (CASTIÑEIRAS e MARTINS, 2000; ANDRADE et al., 2010).

Essas formas apresentam desvantagens no uso pediátrico que variam desde a incapacidade de deglutição das crianças, no caso de comprimidos, até a sua aceitabilidade em relação ao sabor desagradável dos xaropes e suspensões, o que acaba por reduzir a adesão terapêutica. Além disso, essas preparações, em geral, envolvem o uso de medidores que podem gerar falhas na dose administrada, podendo levar a uma sub ou superdosagem incorreta ou acidental (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2013).

Outra forma farmacêutica comumente utilizada para uso pediátrico são os supositórios, que se apresentam como formulações sólidas de vários tamanhos e formatos, adaptados para introdução no orifício retal e que se fundem à temperatura corporal. Os supositórios representam uma boa alternativa para uso em crianças e demais grupos de pacientes que não conseguem engolir comprimidos ou cápsulas facilmente, como pacientes

idosos ou aqueles que estão em estado inconsciente ou apresentando vômitos (BRASIL, 2011; JANNIN et al., 2014).

Os supositórios apresentam um bom perfil de segurança em crianças e baixo custo de manipulação, fatores estes que se tornam relevantes para países em desenvolvimento que apresentam maior prevalência de doenças parasitárias e aumentam a adesão terapêutica, principalmente em crianças por evitar o uso errado ou esquecimento do medicamento no ambiente escolar (JANNIN et al., 2014).

Dentre as inúmeras formas de tratamento contra parasitoses, a Fitoterapia tem se destacado pela utilização de plantas da medicina popular que representam uma excelente alternativa para o tratamento de helmintoses (SOBRAL, BRANDÃO e ATHAYDE, 2010). A Fitoterapia constitui um tipo de terapia medicinal que vem crescendo nitidamente nos últimos anos, cujos medicamentos são obtidos e elaborados empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais com a finalidade curativa, profilática ou para fins de diagnósticos (YUNES; PEDROSA e CECHINEL FILHO, 2001; LOURES et al., 2010).

Dentre essas plantas utilizadas na medicina popular destacamos a *Operculina macrocarpa* L. Urban, conhecida popularmente como batata de purga, jalapa-brasileira ou jalapa, que é amplamente utilizada pela população como laxante, purgativa, depurativa contra moléstias da pele, tratamento da leucorreia e anti-helmíntica. (LORENZI e MATOS, 2002; LIMA et al., 2006). Ela pertence à família Convolvulaceae, que é constituída por cerca de 55 gêneros e aproximadamente 1.930 espécies, apresentando-se como uma trepadeira de aspecto ornamental (MICHELIN, 2008). A batata de purga está presente nas regiões tropicais e subtropicais, apresenta raízes tuberosas e resiníferas e pode ser facilmente cultivada pelo plantio do tubérculo ou das sementes (MICHELIN; SALGADO, 2004; LIMA et al., 2006;).

Ante o exposto, o trabalho ora descrito objetivou a coleta, extração e caracterização dos constituintes fitoquímicos da *Operculina macrocarpa* para o desenvolvimento de um supositório pediátrico como tratamento alternativo, seguro e eficaz das helmintoses em crianças.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Fitoterapia

A Fitoterapia caracteriza-se pela utilização de plantas, ou de suas partes, com a finalidade de prevenir, aliviar ou curar um processo patológico. Os medicamentos fitoterápicos são produtos farmacêuticos de origem vegetal, devidamente avaliados quanto à sua qualidade, eficácia e segurança (BETTEGA et al., 2011).

Os metabólitos secundários obtidos através de plantas medicinais são capazes de fornecer, a partir do seu isolamento, fármacos que dificilmente são obtidos por síntese química, além de poder ser usados como protótipos para desenvolvimentos de novos fármacos, através de modificações químicas, com tendência a terem uma maior eficácia, possuírem menor potencial tóxico e a apresentarem efeito terapêutico semelhante quando comparados aos fármacos sintéticos (BETTEGA et al., 2011).

Este tipo de terapia vem crescendo no Brasil, principalmente depois da implantação de políticas públicas pelo Ministério da Saúde, como a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) instituída pela Portaria do Ministério da Saúde (MS) nº 971, de 03 de maio de 2006 (SANTOS et al., 2011; BADKE et al., 2011).

A PNPIC apresenta caráter nacional e recomenda a implantação e implementação de ações e serviços no Sistema Único de Saúde (SUS), as quais incluem a fitoterapia, com o objetivo de garantir a prevenção de agravos, a promoção e a recuperação da saúde com ênfase na atenção básica à saúde. Além de propor um cuidado continuado, humanizado e integral em saúde, contribui-se para o aumento da resolubilidade do sistema com qualidade, eficácia, segurança, sustentabilidade, controle e participação social (ROSA, CÂMARA e BÉRIA, 2011).

Essas políticas públicas impulsionaram o incentivo à pesquisa e desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos, sendo esses regulamentados segundo a Resolução RDC nº 26/2014 (BRASIL, 2014), que trata do registro de medicamentos fitoterápicos e produtos tradicionais fitoterápicos. Dessa maneira, a fitoterapia destaca-se como uma alternativa de tratamento, o que vem a confirmar a importância de estudos detalhados de plantas medicinais, como a *Operculina macrocarpa* (REZENDE e COCCO, 2002).

2.2 *Operculina macrocarpa*

Operculina macrocarpa é uma espécie bianual, de amplo potencial farmacológico e muito comum no Nordeste do Brasil. É conhecida popularmente como batata de purga, jalapa-brasileira ou jalapa, e amplamente utilizada pela população como laxante, purgativa, depurativa contra moléstias da pele, tratamento da leucorreia e anti-helmíntica (LORENZI e MATOS, 2002; LIMA et al., 2006; BRASILEIRO et al., 2009).

A *O. macrocarpa* (Figura 1) é uma planta pertencente à família Convolvulaceae cujo nome deriva latim *convolvo*, que significa ‘entrelaçar-se’, referente à forma do seu crescimento, já que um elevado número destas plantas são trepadeiras volúveis, que crescem enroscadas em um suporte. Essa família é composta por cerca de 55 gêneros e aproximadamente 1.930 espécies e possui distribuição geográfica cosmopolita (PIERDONÁ, 2011).

Figura 1 - *Operculina macrocarpa*



Fonte: PIERDONÁ, 2011.

A batata de purga está presente nas regiões tropicais e subtropicais apresentando-se como uma trepadeira de aspecto ornamental que possui folhas palmatiformes, flores com corola branca, caule quadrangular, avermelhado e glabro e frutos contendo, em sua maioria, quatro sementes negras e duras. Os tubérculos desta planta são fusiformes ou napiformes,

externamente castanho-acinzentados a castanho-negros e rugosos e são muito comercializadas com finalidade terapêutica (LIMA et al., 2006; BRASILEIRO et al., 2009).

Suas raízes tuberosas e resiníferas grandes, amiláceas e lactescentes (Figura 2) são fontes de remédios da medicina popular e são utilizadas na forma de refresco preparado com a batata fresca, ralada com água ou na forma de pó feito com a fécula retirada artesanalmente da batata fresca, conhecida localmente como goma-de-batata ou, ainda, na forma de pílulas feitas manualmente com o resíduo resinoso extraído da batata (MICHELIN, 2008).

Figura 2 - Raiz da *Operculina macrocarpa*



Fonte: Lorenzi & Matos, 2012.

Os principais constituintes dos tubérculos são a fécula e a resina (12%), que é formada pela mistura complexa de substâncias de natureza glicosídica polimérica, de propriedade purgativa, sendo reconhecida como laxante ou, em doses maiores, como purgativo drástico e anti-helmíntico (BRASILEIRO et al., 2009).

A *O. macrocarpa* vem se destacando em diversos estudos em relação a sua atividade anti-helmíntica, tanto em testes *in vitro* como em *in vivo*. No estudo realizado por Silva (2014), a batata foi incorporada a blocos nutricionais e apresentou uma eficácia considerável contra helmintoses. O teste *in vitro* desenvolvido por Gomes et al., (2010) com extrato alcoólico de *O. macrocarpa* demonstrou eficácia a partir da concentração de 12% do extrato, com redução de 77,8% nas primeiras 24 horas.

Os testes *in vivo* realizados por Almeida et al. (2007) avaliaram o farelo de *O. macrocarpa* em caprinos do semiárido paraibano, observando-se redução média de 72,32%

após 60 dias de tratamento. Silva et al. (2010) avaliaram a eficácia dessa planta, por via oral, sobre nematoides gastrintestinais de caprinos, obtendo redução de ovos por gramas de fezes de 84 e 70% nos dias 7 e 25 pós-tratamento, respectivamente.

Essa planta também possui uma diversidade de metabólitos secundários que já foram relatados em pesquisas anteriores; entretanto, as glicosinas e os compostos fenólicos são os metabólitos característicos dessa família. A *O. macrocarpa* possui diversos metabólitos secundários como: ergolinas, pirrolidinas, tropanos lipofílicos e hidrofílicos, alcaloides indolizínicos e pirrolizidínicos, glicosídeos cianogênicos, taninos condensados, saponinas e flavonoides (MICHELIN, 2008; PIERDONÁ, 2011; SILVA, 2014).

2.3 Fitoquímica

Os metabólitos secundários são compostos de estrutura complexa, baixo peso molecular e são originados a partir do metabolismo da glicose, que possuem como rotas biossintéticas principais as vias do o ácido chiquímico e o do acetato. São conhecidos por desempenharem um papel importante na adaptação das plantas aos seus ambientes, estarem presentes em baixas concentrações (1% do carbono total) e possuírem atividade farmacológica marcante (FUMAGALI et al., 2008; PEREIRA e CARDOSO, 2012).

Devido a essa atividade, esses produtos secundários começaram a incitar o interesse de pesquisadores e tornaram-se a fonte de princípios ativos, apresentando elevada importância comercial na área farmacêutica. Esses compostos possuem diversas ações farmacológicas que incluem atividades anti-inflamatórias (terpenos, esteroides, flavonoides); ação laxativa e expectorante (saponinas); antimicrobianas (taninos, flavonoides, saponinas); analgésica (alcaloides e flavonoides) (PEREIRA e CARDOSO, 2012).

Desta maneira, a fitoquímica surgiu como um instrumento de estudo desses compostos destinando-se principalmente à caracterização estrutural, avaliação de propriedades e investigações biossintéticas de substâncias naturais produzidas pelo metabolismo secundário de organismos vivos (FILHO, 2010).

Os estudos fitoquímicos podem compreender as etapas de isolamento, elucidação estrutural e identificação dos constituintes mais importantes do vegetal, principalmente de substâncias originárias do metabolismo secundário, responsáveis, ou não, pela ação biológica. Para esta finalidade, são comumente utilizadas técnicas quantitativas espectrométricas, cromatográficas e ressonância magnética nuclear e qualitativas (reações de precipitação e

colorimétricas) de acordo com o objetivo e os compostos de interesse envolvidos no estudo (TOLEDO et al., 2003; SIMÕES, 2004).

2.4 Helmintoses

O parasitismo é considerado uma relação entre dois organismos, geralmente hospedeiro e parasita, que pode resultar em uma doença parasitária (DIAS et al., 2013). Essas doenças são consideradas um problema de saúde pública por diversos países e ocasionam vários danos ao indivíduo, como sangramento intestinal, desnutrição, obstrução intestinal, prolapso retal e formação de abscessos que podem levá-lo a óbito (SANTOS e MERLINI, 2010).

A prevalência de parasitoses em determinado país varia de acordo com as condições de saneamento básico, o grau de escolaridade, o nível socioeconômico, idade, os hábitos de higiene de cada indivíduo e condições climáticas que criam condições favoráveis para que o ciclo de vida deles seja completo (BIASI et al., 2009; MELO, FERRAZ e ALEIXO, 2010).

No Brasil, a população de nível socioeconômico mais baixo apresenta uma maior prevalência de doenças intestinais, devido às precárias condições de saneamento básico e habitação (ORLANDINI e MATSUMOTO, 2010). Os helmintos mais frequentes são *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura* e, entre os protozoários, *Giardia lamblia* (BIASI et al., 2010).

As manifestações clínicas das infecções variam de acordo com a patogenicidade do parasita, da resposta imune e da carga parasitária do indivíduo. Os mais afetados e prejudicados por estas doenças são as crianças, uma vez que seus hábitos de higiene são inadequados e sua imunidade ainda não está totalmente eficiente para a eliminação dos parasitos ocasionando desnutrição, diarreia, anemias e redução da capacidade cognitiva, fatores estes que acabam contribuindo para o baixo rendimento escolar (MELO, FERRAZ e ALEIXO, 2010; BELO et al., 2012).

O tratamento convencional para as helmintoses intestinais baseia-se no uso de fármacos antiparasitários como o mebendazol, albendazol, tiabendazol, cambendazol, niclosamida e piperazina, que apresentam diversos efeitos adversos (CASTIÑEIRAS e MARTINS, 2000; ANDRADE et al., 2010).

Dentre as formas de tratamento contra essas patologias, a Fitoterapia tem se destacado pela utilização de plantas da medicina popular que são as principais fontes naturais para a

síntese de medicamentos e representam uma excelente alternativa para o tratamento de helmintoses (SOBRAL, BRANDÃO e ATHAYDE, 2010).

2.5 Testes de atividade anti-helmíntica

Para que uma planta venha a se tornar um fitoterápico são necessárias várias etapas que vão desde a identificação botânica aos testes de validação, que visam confirmar a sua eficácia e determinar a segurança de sua utilização em organismos vivos. Os testes que avaliam a efetividade de uma planta contra helmintos podem ser realizados *in vitro* e *in vivo* (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2005).

2.5.1 Testes *in vitro*

Os primeiros ensaios para avaliar a atividade anti-helmíntica de uma planta medicinal são os testes *in vitro*, devido à facilidade de execução, baixo custo, princípios éticos e rapidez em relação aos testes *in vivo*. Nestes ensaios as plantas ou seu extrato são colocados diretamente em contato com os estágios de ovo ou larva do parasito para avaliar seu efeito sobre a eclosão de ovos e desenvolvimento ou motilidade de larvas (MACIEL, 2004).

Os testes *in vitro* que podem ser usados para validação de uma planta anti-helmíntica são: inibição da eclodibilidade dos ovos (do inglês, *egg hatch assay*), inibição da alimentação de L1 (do inglês, *larval feeding inhibition assay*), inibição da perda da cutícula L3 (do inglês, *larval exsheathment assay*) e inibição do desenvolvimento das larvas (do inglês, *larval development assay*). Estes experimentos são muito úteis quando a identidade dos compostos responsáveis pela atividade biológica de um extrato está sendo investigado e também quando a quantidade de material disponível é limitada (MACIEL, 2004; KATIKI, 2011).

2.5.1.1 Teste de inibição da eclodibilidade dos ovos

Nesse teste, os ovos são incubados em diferentes concentrações de substância teste em seis repetições por 48 horas e, em seguida, são avaliados os números de larvas e ovos não eclodidos. A concentração do produto que é necessária para inibir 50% da eclosão dos ovos é calculada para se determinar DL50 (BIZIMENYERA et al., 2006).

2.5.1.2 Teste da inibição da alimentação de L1

O experimento determina o efeito da planta sobre o comportamento de alimentação de larvas de primeiro estágio que são expostas a diferentes concentrações do produto por um período de 2 a 4 horas. Após esta incubação, as larvas são alimentadas com *Escherichia coli* liofilizada e marcada com isotiocianato de fluoresceína. As larvas que se alimentaram podem ser facilmente identificadas com um microscópio de fluorescência pela presença de *E. coli* marcada no seu intestino (ALVAREZ-SANCHEZ et al., 2005).

2.5.1.3 Teste da inibição da perda da cutícula de L3

Este ensaio utiliza o terceiro estágio infectante das larvas em um processo que objetiva examinar o efeito das plantas testadas sobre a perda da cutícula induzida pela exposição ao hipoclorito de sódio diluído. As larvas devem apresentar uma perda de cutícula progressiva ao exame de microscópio óptico. Para o material controle, 100% das larvas devem perder a cutícula entre 60 a 70 minutos (BRUNET e HOSTE, 2006).

2.5.1.4 Teste de inibição do desenvolvimento das larvas

Este teste utiliza ovos frescos ou larvas de primeiro estágio e avalia a habilidade do parasita de se desenvolver até o estágio de larva infectante na presença da substância teste. Como a técnica envolve 5 dias de incubação, o risco de desenvolver bactérias ou fungos aumenta, então torna-se necessário a incorporação de antibióticos e antifúngicos no teste. Embora a técnica tenha vantagens, o longo período de incubação faz com que poucos laboratórios tenham utilizado este teste como uma triagem primária *in vitro* (KATIKI, 2011).

2.5.2 Testes *in vivo*

Depois que os testes *in vitro* apresentarem bons resultados contra helmintos são necessários os testes farmacológicos, que incluem os testes pré-clínicos realizados com animais de laboratório, toxicológicos e, posteriormente, são desenvolvidos os testes *in vivo* que fornecem uma noção acurada da atividade das substâncias estudadas (MACIEL, 2004; CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2005).

2.5.2.1 Teste de redução de OPG e coprocultura

O teste de redução de OPG (ovos por grama de fezes) é um método prático e rápido, que não requer o sacrifício dos animais, podendo desta forma ser implementado em nível de propriedade para determinação da eficácia dos produtos utilizados. Pode ser realizado em ruminantes, cavalos, suínos e com todos os anti-helmínticos e todas as espécies de nematódeos, cujos ovos são eliminados nas fezes (OLIVEIRA, 2003).

Esse ensaio é baseado na comparação da redução de OPG do grupo não tratado (controle) com os grupos de animais tratados, sete e quatorze dias após o tratamento. Utiliza-se a média aritmética do OPG dos grupos (OLIVEIRA, 2003). A eficácia é calculada através da fórmula:

$$\text{Eficácia} = \frac{\text{OPG médio do grupo controle} - \text{OPG médio do grupo tratado}}{\text{OPG médio do grupo controle}} \times 100$$

Quando existir a possibilidade de infecções mistas, é preciso que se faça uma coprocultura para a obtenção das larvas infectantes e identificação do(s) gênero(s), pois através da contagem de ovos isso não é possível. Esta identificação poderá apontar que gênero se destaca na população helmíntica (OLIVEIRA, 2003).

2.5.2.2 Teste controlado

Teste controlado é o procedimento mais confiável para a determinação da eficácia de anti-helmínticos em ruminantes. Testes que utilizam essa metodologia são realizados com infecções induzidas artificialmente ou em animais portadores de infecção naturalmente adquiridas (usualmente avaliados quanto ao estágio adulto). As infecções naturais são desejáveis porque os animais naturalmente infectados abrigarão, provavelmente, a variedade e a quantidade de parasitas nativos do local (VERCRUYSSSE et al., 2001).

Os animais utilizados no teste devem ser examinados individualmente com base em exame de fezes e de coprocultura para determinação dos gêneros de nematódeos presentes, sendo recomendado que as médias das contagens individuais do número de ovos de helmintos por grama de fezes dos grupos seja no mínimo de 500 ovos. Com base nos resultados obtidos, os animais serão distribuídos em grupos, um deles o controle, sem tratamento, com um

mínimo de seis animais (VERCRUYSSSE et al., 2001; OLIVEIRA, 2003). A eficácia do tratamento é determinada pela fórmula:

$$\text{Eficácia} = \frac{\text{média de nematódeos do grupo controle} - \text{média de nematódeos do grupo tratado} \times 100}{\text{média de nematódeos do grupo controle}}$$

2.6 Formas farmacêuticas

As substâncias com atividade terapêutica raramente são administrados de forma isolada, eles são fornecidos em combinação com uma ou mais substâncias inativas (excipientes) que possuem funções farmacêuticas gerais e específicas, originando, assim, as formas farmacêuticas (ALLEN, POPOVICH e ANSEL, 2013).

As formas farmacêuticas permitem que o paciente tenha acesso a uma dose correta e de modo seguro, além de apresentar várias vantagens como: proteger o fármaco da influência destrutiva do oxigênio atmosférico ou umidade, ocultar sabor amargo, obter preparações líquidas de substâncias insolúveis, permitir a ação controlada do fármaco e proporcionar a inserção de fármacos em orifícios do corpo (ALLEN, POPOVICH e ANSEL, 2013).

Os medicamentos que tratam as helmintoses estão presentes nas formas de comprimido, suspensões e xaropes (CASTIÑEIRAS e MARTINS, 2000).

2.6.1 Comprimidos

Os comprimidos são formas farmacêuticas sólidas que podem variar em tamanho, forma, peso, dureza, espessura e características de desintegração e dissolução, dependendo da sua finalidade de uso e do método de fabricação empregado. Eles podem ser obtidos por meio de três técnicas básicas: granulação por via úmida, granulação por via seca e compressão direta (ALLEN, POPOVICH e ANSEL, 2013).

Este tipo de forma farmacêutica é preferível quando os medicamentos necessitam ser administrados por via oral em adultos, pois eles são transportados com facilidade, apresentam elevada estabilidade e conservação e permitem a administração de uma dose única exata. Entretanto, essa formulação sólida apresenta limitações com relação ao uso pediátrico, pois, as crianças são simplesmente incapazes de deglutir os comprimidos (PEIXOTO et al., 2005; ALLEN, POPOVICH e ANSEL, 2013; EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2013). Outro

inconveniente que também é comum a outras formas farmacêuticas consiste na impossibilidade de administração, por via oral, de algumas substâncias ativas que, pelas suas características físicas e químicas, pela ação de enzimas digestivas ou pelo pH ácido, não são absorvidas por esta via (GOMES, 2013).

2.6.2 Xaropes

Os xaropes são considerados preparações medicinais aquosas açucaradas que apresentam alta concentração de sacarose, normalmente superior a 40% (m/v) e podem ser ou não acrescidos de fármaco (TOLEDO et al., 2003; ALLEN, POPOVICH e ANSEL, 2013).

Eles podem ser preparados por quatro métodos que dependem das características físico-químicas das matérias primas utilizadas. Esses métodos são: dissolução dos componentes com o auxílio do calor; dissolução dos componentes por agitação sem o uso de calor ou a simples mistura de componentes líquidos; adição de sacarose em uma solução medicamentosa pronta ou em líquido flavorizado; e percolação da fonte de substância ativa ou da sacarose (ALLEN, POPOVICH e ANSEL, 2013).

Para crianças e idosos a forma farmacêutica líquida é preferível à sólida pela maior facilidade de deglutição e pela flexibilidade da administração de diferentes doses. Porém, os xaropes nem sempre conseguem mascarar o sabor amargo do fármaco, o que aumenta a relutância em tomar o medicamento (GOES e KFURI, 2010; EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2013).

2.6.3 Suspensões

As suspensões são sistemas heterogêneos em que a fase externa ou contínua é líquida ou semissólida e a fase interna ou dispersa é constituída por partículas sólidas insolúveis no meio utilizado (TAGLIARI, 2008; ALLEN, POPOVICH e ANSEL, 2013).

A absorção de um fármaco a partir desse tipo de forma farmacêutica é limitada pela velocidade de dissolução. A administração de uma suspensão aquosa pela via oral significa colocar em contato imediato com os fluidos intestinais uma superfície muito grande de fármaco disperso. Isso favorece a dissolução e, conseqüentemente, a absorção do fármaco (AULTON, 2005).

Existem várias razões para se preparar uma suspensão uma delas é que determinadas substâncias são quimicamente instáveis em solução, porém estáveis em suspensão o que irá

garantir uma estabilidade química enquanto permite a administração de uma forma farmacêutica líquida (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013).

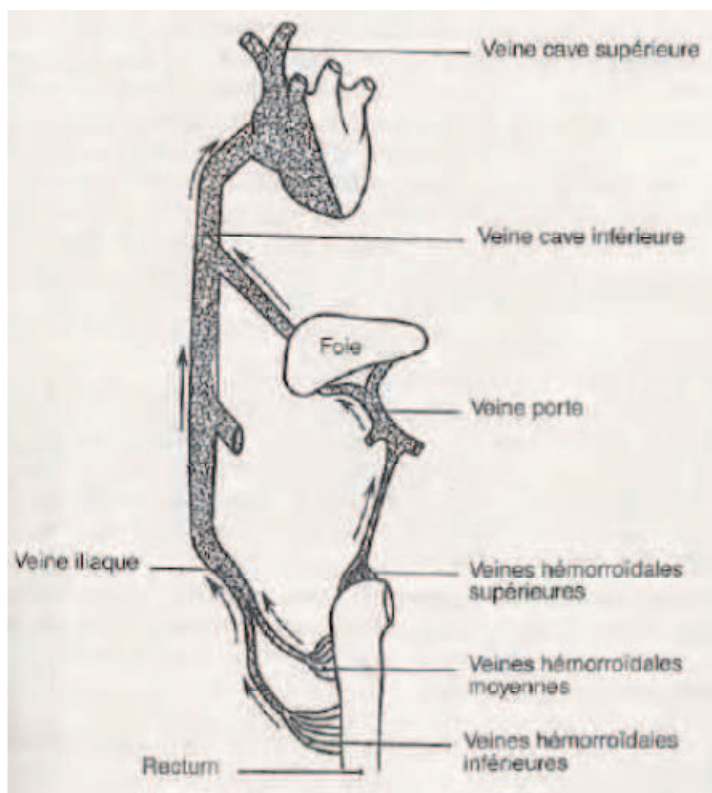
As principais propriedades desejáveis numa suspensão farmacêutica são que ela sedimente lentamente e volte a se dispersar com agitação suave do recipiente. O tamanho das partículas dispersas deve permanecer constante por longos períodos de repouso e a suspensão não deve ser muito viscosa para poder ser facilmente removida do recipiente (TAGLIARI, 2008).

2.6.4 Supositórios

Os supositórios são uma forma farmacêutica sólida de vários tamanhos e formatos, adaptada para introdução no orifício retal, vaginal ou uretral do corpo humano, contendo um ou mais princípios ativos dissolvidos ou dispersos numa base adequada (BRASIL, 2012). Essa forma farmacêutica representa uma excelente alternativa para administração de fármacos em pacientes que não podem ingeri-los por via oral, tais como pacientes pediátricos e inconscientes ou, ainda, sujeitos a vômito (ALLEN, POPOVICH e ANSEL, 2013; JANNIN et al., 2014).

Os fármacos absorvidos pela via retal (Figura 3) desviam da circulação-porta durante sua primeira passagem até alcançarem a circulação geral. Assim, não são destruídos no fígado e podem exercer efeitos sistêmicos. As veias hemorroidais inferiores, ao redor do colo, recebem o fármaco absorvido e iniciam a sua circulação pelo corpo, evitando o fígado. Dessa forma, constituem uma alternativa para administração de medicamentos que são ineficazes quando administrados por via oral, porque são extensivamente metabolizados pela primeira passagem hepática ou que podem ser inativados pela ação dos sucos digestivos (ALLEN, POPOVICH e ANSEL, 2013; JANNIN et al., 2014).

Figura 3 – Esquema representativo da absorção retal



Fonte: Lima, 2007.

Os supositórios para uso retal apresentam cerca de 32 mm de comprimento, são cilíndricos e possuem uma ou ambas extremidades afuniladas, alguns apresentam a forma de projétil, torpedo ou dedo pequeno a depender se do tipo de efeito requerido. Os que são destinados ao uso infantil pesam cerca de 1 g, tem a forma de um lápis e devem apresentar aspecto liso, de textura e interior uniforme, sem fissuras e sem cristalização de fármaco (LIMA, 2007; ALLEN, POPOVICH e ANSEL, 2013).

Para a formulação de supositórios podem ser utilizados três tipos de bases: bases lipofílicas ou oleaginosas, bases hidrossolúveis e bases diversas que são constituídas de combinações de substâncias hidrofílicas e lipofílicas. Também podem ser escolhidos outros excipientes como abaixadores do ponto de fusão, agentes viscosificantes e redutores da higroscopicidade, que devem ser compatíveis e inertes em relação à substância ativa (ROWE et al., 2009; ALLEN, POPOVICH e ANSEL, 2013; JANNIN et al., 2014).

Os supositórios são preparados por três diferentes métodos: moldagem por fusão, compressão, rolamento e moldagem manual. O método mais empregado é a moldagem cujas etapas incluem: a fusão da base, incorporação da substância ativa, colocação da base no

molde, resfriamento da base e solidificação do supositório e, posteriormente, remoção do supositório do molde (ALLEN, POPOVICH e ANSEL, 2013).

2.7 Estudo de pré-formulação

O desenvolvimento de uma forma farmacêutica estável, segura e eficaz requer o estudo das propriedades físicas e químicas do fármaco isolado e quando associado a diversos adjuvantes. Esta etapa é denominada de estudo de pré-formulação (MAMEDE et al., 2006; ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013).

A pesquisa para o desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos se inicia com estudos etnofarmacológicos e, em seguida, seguem-se os mesmos preceitos de medicamentos sintéticos, com os estudos de pré-formulação e exigências de controle de qualidade físico-químico e microbiológico, segundo RDC nº 26/2014 (BRASIL, 2014), que trata do registro de medicamentos fitoterápicos.

O estudo de pré-formulação analisa a compatibilidade do componente ativo com o adjuvante farmacêutico, fornecendo conhecimentos tanto para o desenvolvimento de novos produtos, como para a otimização das formulações já existentes. Para a formulação de um medicamento fitoterápico eficaz e seguro é necessário que também seja realizado esse tipo de análise com o objetivo de avaliar a compatibilidade do extrato obtido de uma planta com os excipientes farmacêuticos (COSTA, 2010).

Ao se analisar extratos vegetais, o estudo de pré-formulação torna-se mais difícil, pois os marcadores disponíveis podem sofrer alterações em função do pH, polaridade dos solventes, temperatura e interações entre excipientes ou veículos utilizados (COSTA, 2010).

O estudo de pré-formulação avalia as misturas binárias entre o fármaco e excipiente através de diversas técnicas como: termogravimetria (TG, do inglês *Thermogravimetry*), calorimetria exploratória diferencial (DSC, do inglês *Differential Scanning Calorimetry*), análise térmica diferencial (DTA, do inglês *Differential Thermal Analysis*), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e espectroscopia na região do infravermelho (MAMEDE et al., 2006; COSTA, 2010).

Os métodos termoanalíticos têm sido muitos utilizados na área farmacêutica como ferramenta útil para avaliar rapidamente uma possível interação entre os componentes ativos e os excipientes em estudos de compatibilidade na pré-formulação, além de avaliar a existência de polimorfismo, compostos de inclusão e dispersões sólidas, determinação de pureza

química, estudos de reações no estado sólido, análise de formas farmacêuticas sólidas e controle de qualidade (SILVA et al., 2009).

A análise térmica apresenta diversas vantagens em relação a outros métodos na avaliação de incompatibilidade entre substâncias por permitirem a rápida obtenção de resultados, pequeno gasto de amostra e por apresentarem procedimentos experimentais relativamente simples (NETO, NOVAK e MATOS, 2009).

Assim, através dos resultados do estudo de pré-formulação, elaborase um informe que definirá a viabilidade da forma farmacêutica proposta e a metodologia a ser seguida no desenvolvimento da formulação (VILA JATO, 2001).

2.8 Planejamento Experimental

A otimização do processo de extração de um analito é essencial, visto que pequenos detalhes podem resultar em efeitos que comprometem a confiabilidade dos resultados. Para atingir esta meta com o mínimo de experimentos, planejamentos fatoriais são promissores e permitem otimizar metodologias considerando variáveis críticas para alguns tipos de amostras, avaliando seus efeitos e possíveis interações de fatores nas respostas desejadas que vêm sendo bastante utilizados também para otimização de metodologia analítica (SOUZA et al., 2009).

Neste contexto, o planejamento fatorial Box-Behnken é um planejamento experimental muito utilizado para procedimentos de otimização e o modelo consiste na repetição do ponto central para se medir a variabilidade experimental, mais um conjunto de pontos fatoriais ancorados no ponto central definindo a região de interesse. Para se avaliar se o modelo construído é adequado ao sistema em avaliação é utilizada a análise de variância (ANOVA) (NETO et al., 2005; MIGLIATO, CORRÊA e SALGADO, 2011).

Desta forma, o planejamento experimental relaciona as variáveis em estudo de maneira sistemática, proporcionando a obtenção das respostas desejadas com um mínimo de tempo, fator imprescindível para o bom andamento de uma pesquisa (OLIVER; SILVERE e MOTTA, 2007).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Desenvolver uma formulação pediátrica anti-helmíntica na forma de supositório contendo o extrato de *Operculina macrocarpa*.

3.2 Objetivos específicos

- Obter extratos dos tubérculos de *O. macrocarpa* por diferentes técnicas de extração, utilizando planejamento Box-Behnken 3³;
- Avaliação dos extratos obtidos para seleção daquele com melhor rendimento;
- Realizar a prospecção fitoquímica;
- Realizar ensaio de citotoxicidade do extrato selecionado;
- Avaliar a atividade anti-helmíntica do extrato selecionado;
- Obter o extrato nebulizado de *O. macrocarpa*;
- Avaliar o comportamento do extrato nebulizado e de suas misturas produzidas com excipientes farmacêuticos através da análise térmica diferencial (DTA);
- Desenvolver a forma farmacêutica supositório contendo extratos de *O. macrocarpa*;
- Realizar o controle de qualidade dos supositórios manipulados.

4. METODOLOGIA

4.1 Material Vegetal

Os tubérculos da planta *Operculina macrocarpa* foram coletados no município de Patos, estado da Paraíba, região nordeste do Brasil, em outubro de 2015 (coordenadas: S07°03'26,6" - W37°17'08.5"). A identificação da planta foi feita pela Profa. Dra. Fátima Araújo e depositada no Herbário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural, da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), sob o número 6096.

4.2 Planejamento Experimental

Um planejamento experimental 3^3 do tipo Box-Behnken foi realizado de modo a selecionar o melhor extrato, em relação ao rendimento, considerando três fatores: técnica extrativa (turbólise por 15 minutos, maceração por 5 dias e ultrassom por 1 hora), concentração alcoólica do solvente (solução hidroalcoólica 50, 70 e 90% v/v) e quantidade de material vegetal (10, 20 e 30g).

A Tabela 1 descreve a organização dos fatores e níveis do planejamento fatorial 3^3 , segundo o qual foram baseados os experimentos.

Tabela 1 - Organização dos fatores e dos níveis, segundo o planejamento fatorial 3^3 .

Variáveis		Concentração (C)	Droga vegetal (Q)	Técnica extrativa (T)
	-1	50%	10 g	Ultrassom
Níveis	0	70%	20 g	Maceração
	1	90%	30 g	Turbólise

Fonte: Autoria própria

4.2 Obtenção dos extratos fluidos

O material vegetal coletado foi seco em estufa de ventilação forçada à temperatura constante de 40 °C e processado em moinho de facas com granulometria de 10 mesh. Os extratos foram preparados por três métodos: maceração, turbólise (ULTRA-TURRAX® IKA T25 digital) e ultrassom (banho de ultrassom Unique USC – 2500), nas proporções de 10, 20

e 30 g de droga vegetal. Como solvente utilizou-se o etanol na forma de soluções hidroalcoólicas a 50, 70 e 90% v/v nos volumes de 100, 200 e 300 mL.

4.4 Determinação do teor de resíduo seco

Uma alíquota de 2 mL de cada extrato foi transferida para placas de Petri e, em seguida, evaporada até secar em estufa a 105 °C, por 3 horas. As amostras foram esfriadas em dessecador, sobre sílica gel, e pesados em balança analítica. O procedimento foi repetido até a estabilização da massa da amostra, sendo o cálculo do resíduo seco determinado em porcentagem sobre o volume inicial do extrato (BRASIL, 2010).

4.5 Prospecção fitoquímica

Todos os extratos obtidos foram secos e avaliados quanto à sua composição fitoquímica. Foram realizadas as quantificações de polifenóis totais e flavonoides, através de espectrofotometria na região do UV-Visível, seguindo os métodos descritos por CHAVES et al. (2013) utilizando como padrão ácido gálico e solução de quercetina respectivamente. A quantificação de taninos condensados foi realizada através do método descrito por MAKKAR e BECKER (1993) utilizando como padrão a catequina. Os ensaios foram realizados em triplicata utilizando-se um espectrofotômetro Ez Read - 2000®.

4.6 Citotoxicidade em eritrócitos do extrato fluido

A preparação das hemácias para o teste de citotoxicidade seguiu a metodologia descrita por SILVA et al. (2000), com algumas modificações. Uma amostra de sangue total foi colhida do pesquisador, tipo O+, e colocado em tubo com heparina. O plasma foi separado por centrifugação a 2500 rpm por 5 minutos. Posteriormente, a suspensão de hemácias foi lavada três vezes com solução salina 1%. As hemácias foram ressuspendidas com a mesma solução e o volume foi ajustado para 5%. Então, colocaram-se 200 µL da suspensão de hemácia a 5% juntamente com 200 µL das soluções teste nas concentrações de 1,0; 2,5 e 5,0 mg mL⁻¹ em tubos de ensaio, os quais foram deixados em repouso durante 1 hora a temperatura ambiente para que acontecesse a hemólise. Após esse período, cada tubo foi centrifugado a 2500 rpm por 10 minutos, sendo o sobrenadante retirado para leitura em espectrofotômetro (Ez Read - 2000®) em um comprimento de onda de 510 nm (SILVA et al.,

2001). O controle positivo utilizado foi a solução de Turk 1% e o negativo dimetilsulfóxido 10%. A análise foi feita em triplicata. O potencial hemolisante das substâncias em cada concentração foi calculado conforme equação abaixo:

$$Ph = \frac{Ae - Ab}{At} \times 100$$

Onde:

Ph = Potencial hemolisante (em porcentagem)

Ae = Absorbância da amostra testada

Ab = Branco da amostra testada

At = Absorbância do Controle Positivo

A partir da curva de calibração gerada com os dados de cada amostra, foi possível determinar a concentração necessária de cada extrato para causar hemólise de 50% das hemácias (IC₅₀).

4.7 Teste de atividade anti-helmíntica *in vivo*

Foram utilizados 12 caprinos sem padrão racial definido (SPRD), da Comunidade Catolé dos Machados, município de Teixeira, localizado no Sertão da Paraíba, com média de idade de 15 meses e peso médio de 20 kg, mantidos soltos ao pasto com água e ração *ad libitum*.

Para avaliação do efeito antiparasitário do extrato de *O. macrocarpa* foram realizadas coletas de fezes direto da ampola retal dos animais nos dias zero, 7 e 14 depois da administração do tratamento para avaliação parasitológica. O material coletado foi encaminhado ao Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos (LDPAD), do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da UFCG, para realização de Contagem de Ovos por Grama de Fezes (OPG) segundo GORDON e WHITLOCK (1939), modificada por UENO e GONÇALVES (1998), onde se recomenda a pesagem de 2 g de fezes em balança analítica. Em seguida, as fezes foram maceradas em béquer com um bastão de vidro, diluídas em 58 mL de solução salina 0,9% e imediatamente filtradas em peneira fina com dupla camada de gases. Retirou-se uma amostra da suspensão filtrada com auxílio de uma pipeta e preenchidas as duas células da câmara de MacMaster, deixando em repouso por dois minutos

para observação e contagem de ovos. A contagem de ovos dos nematoides foi feita nas duas partes da câmara usando lentes objetivas ocular com aumento de 10x. O resultado da contagem foi multiplicado por 100 para determinação da carga parasitária.

O protocolo de experimentação animal foi aprovado pelo comitê de ética e pesquisa (CEUA) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) sob n.042/2016 (ANEXO A).

4.8 Obtenção do extrato nebulizado

O extrato que apresentou maior quantidade de fitoconstituintes, no ensaio fitoquímico, foi submetido a processo de nebulização por *spray dryer* (LabMaq MSD 0.5), utilizando temperatura de entrada de 120 °C e temperatura de saída entre 90 e 95 °C. No processo de secagem foi utilizado como adjuvante farmacêutico o Aerosil 200[®], na proporção de 20% (m/m).

4.9 Estudo de pré-formulação

4.9.1 Misturas binárias

As misturas binárias foram preparadas utilizando-se o extrato nebulizado (EXT) e os seguintes excipientes: tween 80, metilparabeno, propilparabeno, dir-terc-butil fenol (BHT), ácido esteárico (AE), manteiga de cacau (MC), mistura (1:1) de Nipagin[®]+ Nipazol[®], miristrato de isopropila (MI), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), base pronta para supositórios (BP) e polietilenoglicol 4000 (PEG 4000[®]). Os estudos de compatibilidade foram obtidos usando misturas binárias na proporção 1:1 m/m.

4.9.2 Análise térmica

As curvas de DTA foram obtidas utilizando o analisador térmico simultâneo DTG-60 (Shimadzu[®]), utilizando cadinhos de alumínio, com cerca de $2 \pm 0,1$ mg, sob uma atmosfera de nitrogênio a 50 mL min⁻¹. Os experimentos foram realizados em temperatura crescente no intervalo de 25 a 450 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹. Índio (ponto de fusão 156,6 °C) foi utilizado como padrão para a calibração do equipamento. Os dados foram analisados usando o software TA60-WS.

4.10 Desenvolvimento da formulação

Após o estudo de pré-formulação os excipientes farmacêuticos foram selecionados, para integrar a formulação de um supositório, com base na sua compatibilidade com o extrato nebulizado de *Operculina macrocarpa*. Posteriormente, os supositórios foram formulados pelo método de fusão.

4.11 Controle de qualidade da formulação

4.11.1 Características Organolépticas

Todos os supositórios foram avaliados quanto a presença de rugosidade, cristalização e aspecto homogêneo interno e externo.

4.11.2 Determinação do peso médio dos supositórios

Vinte supositórios foram pesados individualmente e seu peso médio foi calculado, de acordo com as especificações da FARMACOPEIA BRASILEIRA (2010).

4.11.3 Determinação do tempo de desintegração

Para o teste de desintegração dos supositórios foi usado um desintegrador (Nova Ética[®]). Três supositórios foram depositados em um cesto de seis tubos e sobre cada um deles um disco de acrílico foi colocado e preso. O cesto foi sequencialmente imerso em água purificada a 37 °C. Durante o teste, observou-se a integridade dos supositórios, com o registro do tempo gasto para a completa desintegração de acordo com os parâmetros especificados pela FARMACOPEIA BRASILEIRA (2010).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Planejamento Experimental

De acordo com a tabela 2 os dados obtidos através do planejamento experimental não apresentaram variância quanto ao rendimento. Desta maneira, foi realizada ensaio fitoquímico quantitativo de todos os extratos para selecionar o que seria utilizado

Tabela - 2 Teor de resíduo seco dos extratos

Extrato	Teor de resíduo seco (mg/mL)
Extrato 01	0,028±2,18x10 ⁻⁴
Extrato 02	0,015±1,44x10 ⁻⁴
Extrato 03	0,026±1,26x10 ⁻⁴
Extrato 04	0,015±5,22x10 ⁻⁴
Extrato 05	0,009±4,75x10 ⁻⁴
Extrato 06	0,017±4,73x10 ⁻⁴
Extrato 07	0,016±9x10 ⁻⁴
Extrato 08	0,010±4,58x10 ⁻⁴
Extrato 09	0,006±1,47x10 ⁻³
Extrato 10	0,028±1,52x10 ⁻³
Extrato 11	0,028±5,83x10 ⁻³
Extrato 12	0,029±1,17x10 ⁻³
Extrato 13	0,028±3,12x10 ⁻⁴
Extrato 14	0,026±2,31x10 ⁻⁴
Extrato 15	0,026±5,77x10 ⁻⁴
Extrato 16	0,023±9,09x10 ⁻⁴
Extrato 17	0,019±8,25x10 ⁻⁴
Extrato 18	0,022±3,75x10 ⁻⁴
Extrato 19	0,032±1,53x10 ⁻³
Extrato 20	0,029±1,20x10 ⁻³
Extrato 21	0,027±9,67x10 ⁻⁴
Extrato 22	0,023± 6,67x10 ⁻³
Extrato 23	0,027±3,4x10 ⁻⁴
Extrato 24	0,026±5,92x10 ⁻⁴
Extrato 25	0,018±4,82x10 ⁻⁴
Extrato 26	0,019±3,21x10 ⁻⁴
Extrato 27	0,019±2,75x10 ⁻⁴

Fonte: Dados do autor

5.2 Prospecção fitoquímica

A Tabela 3 mostra os resultados da caracterização fitoquímica quantitativa dos extratos de *Operculina macrocarpa*. O extrato 10 obtido pelo método de maceração utilizando 100 mL de álcool a 50% v/v e 10 g de material vegetal apresentou maior quantidade de fitoconstituintes e foi selecionado para o desenvolvimento da pesquisa.

Os resultados da prospecção fitoquímica corroboram com os desenvolvidos por LUNA et al. (2005) que determinaram qualitativamente a presença de flavonoides, LIMA (2006) que identificou a presença de polifenóis e SILVA (2014) que determinou a presença de taninos no extrato de *O. macrocarpa*.

Os estudos fitoquímicos realizados por PIERDONÁ et al. (2014), PAGONETTE et al. (2016) e MICHELIN (2008) identificaram e quantificaram ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido gálico e o dímero do ácido cafeico em extratos de *O. macrocarpa*, o que vem justificar a elevada quantidade de polifenóis nos extratos estudados.

Tabela 3 - Concentrações de fitoconstituintes nos extratos de *Operculina macrocarpa*

Extrato	Polifenóis Totais (mg g ⁻¹)	Flavonoides Totais (mg g ⁻¹)	Taninos Condensados (mg g ⁻¹)
Extrato 01	34,90 ± 3,49	4,06 ± 0,56	ND
Extrato 02	39,22 ± 0,86	0,99 ± 0,03	ND
Extrato 03	71,77 ± 10,37	2,45 ± 0,47	1,94 ± 2,28
Extrato 04	30,92 ± 4,65	0,56 ± 0,08	ND
Extrato 05	38,76 ± 2,67	ND	ND
Extrato 06	31,96 ± 1,84	0,75 ± 0,05	ND
Extrato 07	17,39 ± 3,22	ND	ND
Extrato 08	40,46 ± 5,41	ND	ND
Extrato 09	30,98 ± 0,67	0,11 ± 0,007	ND
Extrato 10	75,56 ± 1,57	10,66 ± 0,68	4,44 ± 2,37
Extrato 11	61,18 ± 2,43	4,39 ± 0,57	1,16 ± 0,09
Extrato 12	71,90 ± 3,17	4,46 ± 1,02	4,09 ± 1,01
Extrato 13	26,93 ± 2,39	0,73 ± 0,09	ND
Extrato 14	32,42 ± 2,00	0,82 ± 0,08	ND
Extrato 15	22,75 ± 3,35	0,47 ± 0,05	ND
Extrato 16	32,29 ± 3,97	ND	ND
Extrato 17	40,40 ± 3,56	1,79 ± 0,07	ND
Extrato 18	22,09 ± 2,47	1,98 ± 0,17	ND
Extrato 19	32,49 ± 3,02	0,68 ± 0,03	ND
Extrato 20	73,21 ± 4,67	4,56 ± 0,52	ND
Extrato 21	73,60 ± 6,41	3,56 ± 0,39	ND
Extrato 22	29,54 ± 2,89	2,15 ± 0,20	ND
Extrato 23	49,49 ± 2,29	0,89 ± 0,14	ND
Extrato 24	39,22 ± 6,48	1,34 ± 0,20	ND
Extrato 25	38,69 ± 1,87	0,80 ± 0,07	ND
Extrato 26	30,59 ± 10,87	2,24 ± 0,31	ND
Extrato 27	24,25 ± 1,88	0,61 ± 0,11	ND

ND = não detectado.

5.3 Citotoxicidade em eritrócitos

Conforme a Tabela 4, o extrato selecionado (extrato 10) de *O. macrocarpa* obteve um baixo potencial hemolisante e não apresentou citotoxicidade nas diferentes concentrações testadas.

Tabela 4 - Potencial hemolisante da solução testada

Solução	Potencial Hemolisante (%)			IC ₅₀ (mg mL ⁻¹)
	1,0 mg mL ⁻¹	2,5 mg mL ⁻¹	5,0 mg mL ⁻¹	
Ext	-13,86	-8,20	-1,66	133,84

Ext: Extrato de *Operculina macrocarpa*

A ausência de toxicidade também é relatada em pesquisas anteriores com a *O. macrocarpa*. No estudo desenvolvido por PIERDONÁ (2011) foram realizados os testes de citotoxicidade em neutrófilos e de toxicidade aguda em tintura de *O. macrocarpa*, que apresentou ausência de toxicidade aguda em camundongos e uma citotoxicidade relativa. SILVA (2014) avaliou a toxicidade do farelo de *O. macrocarpa* na forma de *pellets* e não apresentou sinais de toxicidade em camundongos.

Já no trabalho de MICHELIN (2004) foi avaliada a toxicidade aguda dose única do extrato bruto e das frações diclorometano, acetato de etila, n-butanólica e final. O extrato bruto foi considerado moderadamente tóxico, o diclorometano muito tóxico e as outras frações levemente tóxicas. Posteriormente, o estudo de toxicidade aguda dose repetida do extrato etanólico nas doses de 1000 e 2000 mg kg⁻¹ sugeriram possíveis sinais de toxicidade (MICHELIN, 2008). Na pesquisa desenvolvida por LUNA et al. (2005), o extrato apresentou significativa toxicidade contra *Artemia salina*. Desta forma, a variação em relação a citotoxicidade da *O. macrocarpa* justifica-se pela diferença existente entre períodos e locais de coleta da planta em diferentes estudos.

5.4 Teste de atividade anti-helmíntica *in vivo*

A Tabela 5 apresenta o resultado do teste de atividade anti-helmíntica para o extrato de *O. macrocarpa* sobre a redução do número de OPG de nematoides gastrointestinais em fezes de caprinos, 7 e 14 dias após o tratamento.

Tabela 5 - Percentual de eficiência do extrato de *O. macrocarpa* sobre a redução do número de OPG de nematoides gastrointestinais em fezes de caprinos, 7 e 14 dias após o tratamento (DAT)

Tratamento	Médias OPG			Redução de OPG (%)	
	0 DAT	7 DAT	14 DAT	7 DAT	14 DAT
Extrato de <i>O. macrocarpa</i>	683	783	141	-	79,40%

Fonte: Dados do autor

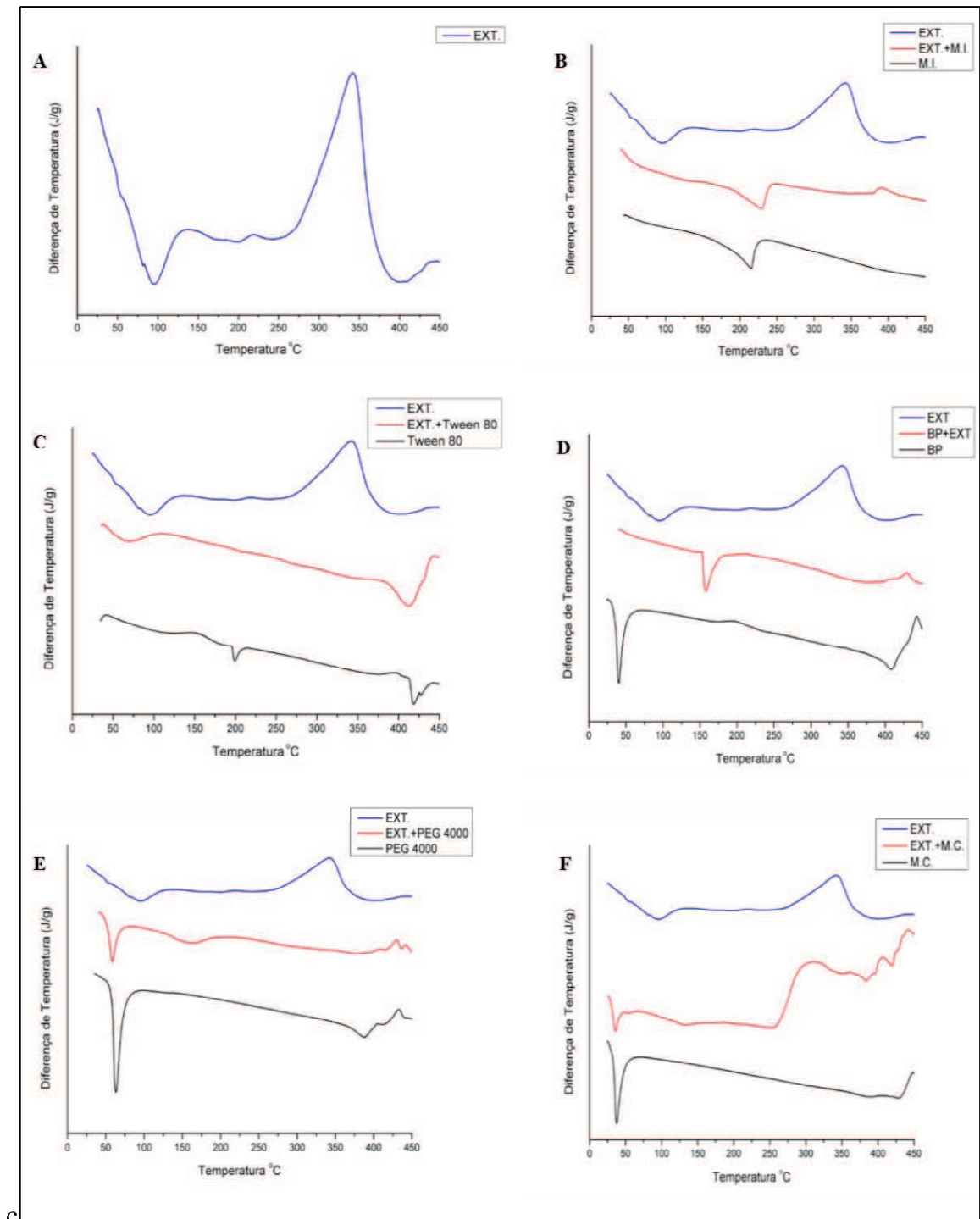
De acordo com a tabela acima, os animais apresentaram inicialmente uma média de OPG de 683 antes da administração do tratamento. Sete dias após o tratamento (DAT) a média de OPG foi de 783, demonstrando que o extrato de *O. macrocarpa* não apresentou efetividade contra os nematoides neste período de tempo. Entretanto, 14 dias após a administração do tratamento houve uma redução na média do número de OPG de 79,40% comparado ao dia zero. Essa diferença entre 7 DAT e 14 DAT está relacionada ao tempo necessário para o extrato atingir níveis terapêuticos que possam desempenhar atividade contra os nematoides.

No estudo desenvolvido por ALMEIDA et al (2007) foi avaliada a atividade anti-helmíntica de *Operculina hamiltonii* em caprinos. Os resultados demonstram um percentual de redução de OPG de 63,09% após 30 dias e de 72,32% após 60 dias, demonstrando, assim, que a planta atinge os níveis terapêuticos desejados com o passar dos dias.

5.5 Estudo de pré-formulação

Os dados térmicos do extrato nebulizado de *O. macrocarpa* e suas misturas binárias estão representados na Figura 4 e 5 e descritos na Tabela 5. A curva de DTA do extrato de *O. macrocarpa* (Figura 4A) demonstrou que os processos térmicos ocorreram entre 62,49 °C e 367,08 °C. O primeiro pico endotérmico ocorreu na temperatura de 95,43 °C ($\Delta H = 187,49$ J/g) e provavelmente está relacionado com a perda de constituintes voláteis da amostra, como a água e possivelmente o etanol, tendo em vista que o extrato nebulizado foi preparado a partir de uma solução hidroalcoólica de etanol a 50% v/v. O processo de decomposição dos compostos orgânicos ocorreu com a formação de um evento exotérmico a partir de 268,85 °C ($\Delta H = -797,52$ J/g) e continua até ao fim do intervalo analisado. Essa decomposição está associada à grande variedade de metabólitos secundários presentes no extrato, principalmente compostos fenólicos.

Figura 4 - Perfis de DTA do extrato nebulizado EXT (A) e misturas binárias com excipientes farmacêuticos: miristrato de isopropila (B), tween 80 (C), base pronta (D), polietilenoglicol 4000 (E) e manteiga de cacau (F).



O perfil DTA do miristrato de isopropila (Figura 4B) apresentou um único pico endotérmico em 215,26 °C ($\Delta H = 2,24$ J/g) e o mesmo evento ocorreu na mistura a temperatura de 229,34 °C ($\Delta H = 243,54$ J/g). Foi observado na mistura binária que o processo

exotérmico exibido no extrato à temperatura de 341,82 °C ($\Delta H = -797,52$ J/g) foi deslocado para a temperatura de 391,37 °C ($\Delta H = -39,09$ J/g), o que vem a indicar um possível retardo da degradação do extrato.

A curva DTA do tween 80 (Figura 4C) apresentou dois picos endotérmicos. O primeiro em 199,23 °C ($\Delta H = 17,01$ J/g) e o segundo em 418,35 °C ($\Delta H = 62,59$ J/g). A mistura binária também apresentou dois picos endotérmicos o primeiro em 71,73 °C ($\Delta H = 913,64$ J/g) referente à perda de umidade do extrato e o segundo em 411,94 °C ($\Delta H = 2,17$ J/g).

A análise térmica por DTA da base pronta para supositórios (Figura 4D) apresentou dois picos endotérmicos, sendo o primeiro referente à fusão da base, que ocorreu na temperatura de 40,56 °C ($\Delta H = 642,09$ J/g) e o segundo correspondente à sua decomposição, ocorreu em 408,18 °C ($\Delta H = 165,75$ J/g). Na mistura binária, o pico endotérmico correspondente à fusão da base foi deslocado para a temperatura de 158,05 °C ($\Delta H = 243,52$ J/g) e o pico exotérmico que ocorre no extrato isolado referente a sua degradação em 341,82 °C ($\Delta H = -797,52$ J/g) foi deslocado para 429,35 °C ($\Delta H = -38,28$ J/g). Desta forma, a base pronta para supositórios apresentou incompatibilidade com o extrato de *O. macrocarpa* por elevar muito a temperatura de fusão da base apresentando, assim, características indesejáveis para a formulação de um supositório.

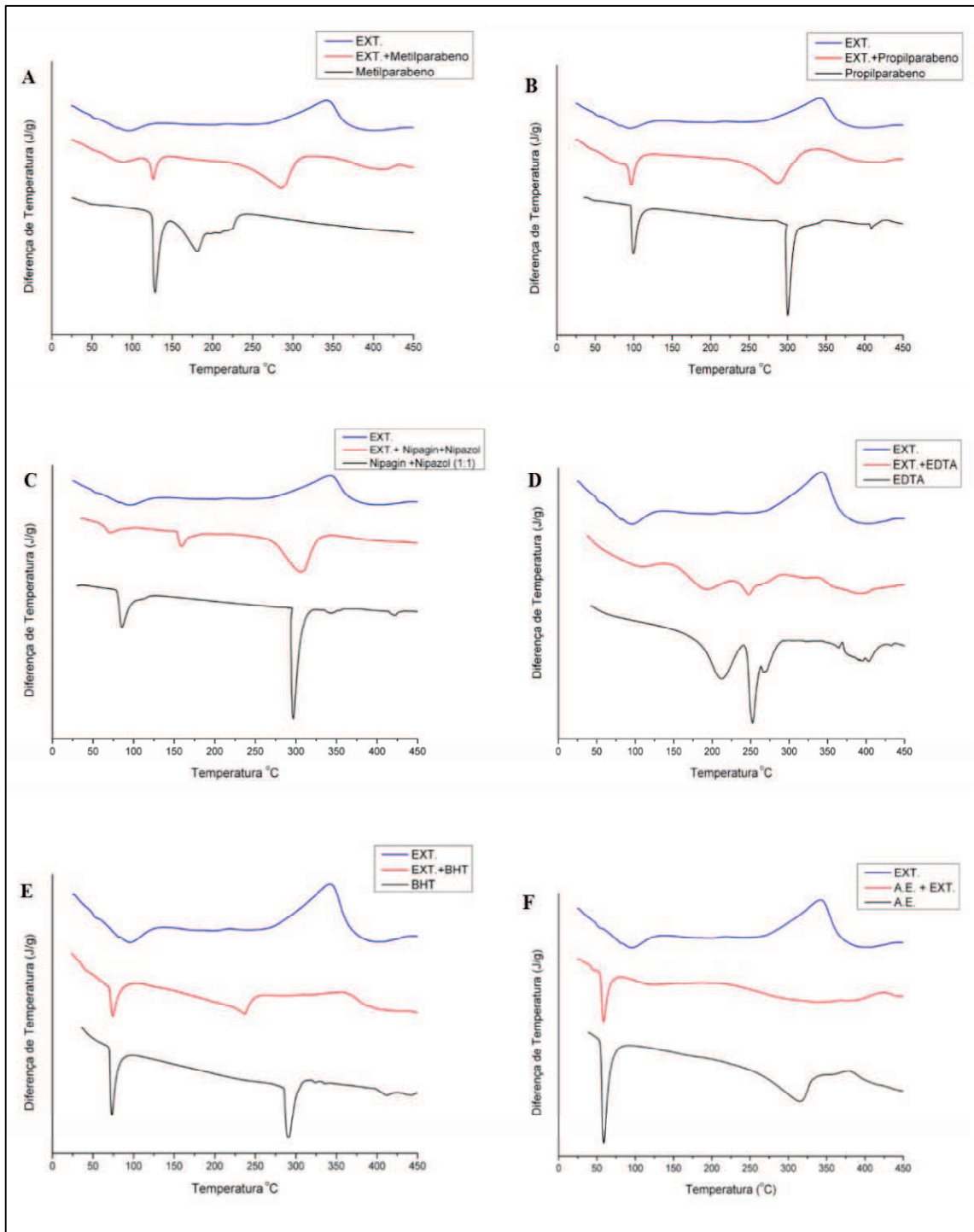
A curva DTA do polietilenoglicol 4000 e da mistura (Figura 4E) apresentaram um pico endotérmico na mesma faixa de temperatura 62,99 °C ($\Delta H = 582,36$ J/g) e 58,46 °C ($\Delta H = 331,82$ J/g), respectivamente. Na mistura binária o pico endotérmico correspondente a perda de umidade do extrato foi deslocado para a temperatura de 164,74 °C ($\Delta H = 305,25$ J/g).

Os dados térmicos da base de manteiga de cacau e da mistura binária (Figura 4F) apresentaram um primeiro pico endotérmico na mesma faixa de temperatura 37,69 °C ($\Delta H = 530,34$ J/g) e 35,75 °C ($\Delta H = 208,76$ J/g), respectivamente. A mistura apresentou um segundo pico exotérmico que se inicia na mesma faixa de temperatura do extrato isolado 262,55 °C ($\Delta H = -154,56$ J/g) e 268,85 °C ($\Delta H = -797,52$ J/g), respectivamente. Não houve antecipação de etapas, sugerindo compatibilidade entre as substâncias.

A (Figura 5A) mostra a curva DTA do metilparabeno e da mistura apresentou um primeiro pico endotérmico na mesma faixa de temperatura 128,42 °C ($\Delta H = 978,07$ J/g) e 126,25 °C ($\Delta H = 136,91$ J/g), referente à fusão do excipiente. O segundo pico endotérmico do excipiente que se iniciou na temperatura de 158,87 °C ($\Delta H = 629,73$ J/g) é deslocado na mistura para a temperatura de 285,46 °C ($\Delta H = 980,01$ J/g), o que pode significar um incremento na estabilidade deste excipiente. Observa-se que a mistura apresenta

comportamentos característicos dos dois componentes e que a última etapa de decomposição visualizada em 432,78 °C ($\Delta H = -28,77$ J/g) ocorre em uma temperatura mais alta que aquela para o extrato isolado.

Figura 5 - Perfis DTA das misturas binárias do extrato nebulizado (EXT) com excipientes farmacêuticos: metilparabeno (A), propilparabeno (B), Nipagin[®] + Nipazol[®] (C), EDTA (D), BHT (E), ácido esteárico (F).



A curva DTA do propilparabeno (Figura 5B) apresentou dois picos endotérmicos. O primeiro em 99,69 °C ($\Delta H = 277,13$ J/g), provavelmente relacionado à fusão do excipiente, e o segundo relacionado à sua decomposição final em 300,21 °C ($\Delta H = 548,50$ J/g). A mistura apresentou primeiro e segundo picos endotérmicos em 96,89 °C ($\Delta H = 144,13$ J/g) e 286,71 °C ($\Delta H = 332,46$ J/g) referentes ao conservante.

Na análise por DTA da mistura de conservantes (Figura 5C) foi verificado que com apenas os excipientes na proporção 1:1 ocorreram dois eventos endotérmicos em 85,58 °C ($\Delta H = 254,25$ J/g) e 196,79 °C ($\Delta H = 410,27$ J/g). Na mistura binária houve a conservação do pico endotérmico referente ao extrato vegetal na temperatura de 71,24 °C ($\Delta H = 378,58$ J/g). Os picos referentes aos conservantes foram deslocados para as temperaturas de 159,04 °C ($\Delta H = 633,11$ J/g) e 305,88 °C ($\Delta H = 4,05$ J/g), o que vem a indicar uma possível compatibilidade.

O perfil da análise térmica do EDTA (Figura 5D) demonstrou dois picos endotérmicos. O primeiro em 212,06 °C ($\Delta H = 645,64$ J/g) e o segundo em 252,42 °C ($\Delta H = 339,38$ J/g) que está relacionado a fusão deste excipiente. A mistura apresentou características do extrato e do excipiente com o surgimento de três picos endotérmicos. O primeiro em 110,92 °C ($\Delta H = 60,03$ J/g) correspondente à perda de umidade do extrato e o segundo e terceiro em 193,17 °C ($\Delta H = 143,59$ J/g) e 247,59 °C ($\Delta H = 37,61$ J/g) referentes ao excipiente.

Os dados térmicos do BHT e da mistura binária (Figura 5E) apresentaram um primeiro pico endotérmico na mesma faixa de temperatura em 73,14 °C ($\Delta H = 110,30$ J/g) e 74,29 °C ($\Delta H = 131,60$ J/g), provavelmente referente a temperatura de fusão do excipiente. Constatou-se que o segundo pico endotérmico do excipiente em 290,68 °C ($\Delta H = 125,81$ J/g) foi deslocado na mistura binária para a temperatura de 237,15 °C ($\Delta H = 54,18$ J/g), sugerindo uma incompatibilidade entre o excipiente e o extrato.

No perfil DTA do ácido esteárico (Figura 5F) foi constatado o surgimento de dois picos endotérmicos em 59,19 °C ($\Delta H = 2,19$ J/g) e 315,31 °C ($\Delta H = 2,82$ J/g). A mistura apresentou um pico endotérmico na mesma faixa de temperatura do excipiente em 58,62 °C ($\Delta H = 372,74$ J/g) e um pico exotérmico em 424,26 °C ($\Delta H = -25,32$ J/g), que ocorre em temperatura mais alta que a do extrato de maneira isolada.

Os resultados acima descritos demonstraram compatibilidade entre o extrato e os excipientes manteiga de cacau, EDTA e mistura de metilparabeno e propilparabeno. Já o ácido esteárico e PEG 4000 mesmo apresentando compatibilidade com o extrato, não devem ser utilizados devido à atividade farmacológica requerida no presente estudo.

5.6 Desenvolvimento da formulação

Os excipientes que apresentaram compatibilidade com o extrato (manteiga de cacau, EDTA e mistura de metilparabeno e propilparabeno) foram selecionados para o desenvolvimento da formulação, nas proporções indicadas na tabela 7.

Tabela 7 - Formulação desenvolvida

Excipiente	Proporção (%)
EDTA	0,005
Metilparabeno	0,18
Propilparabeno	0,02
Extrato	2,7
Manteiga de Cacau	97,00

Fonte: Dados do autor

5.7 Controle de qualidade da formulação

5.7.1 Características Organolépticas

Os supositórios apresentaram características organolépticas favoráveis de aspecto homogêneo e superfície lisa e brilhante, conforme pode ser visualizado na Figura 6.

Figura 6 – Supositórios formulados com o extrato de *O. macrocarpa*

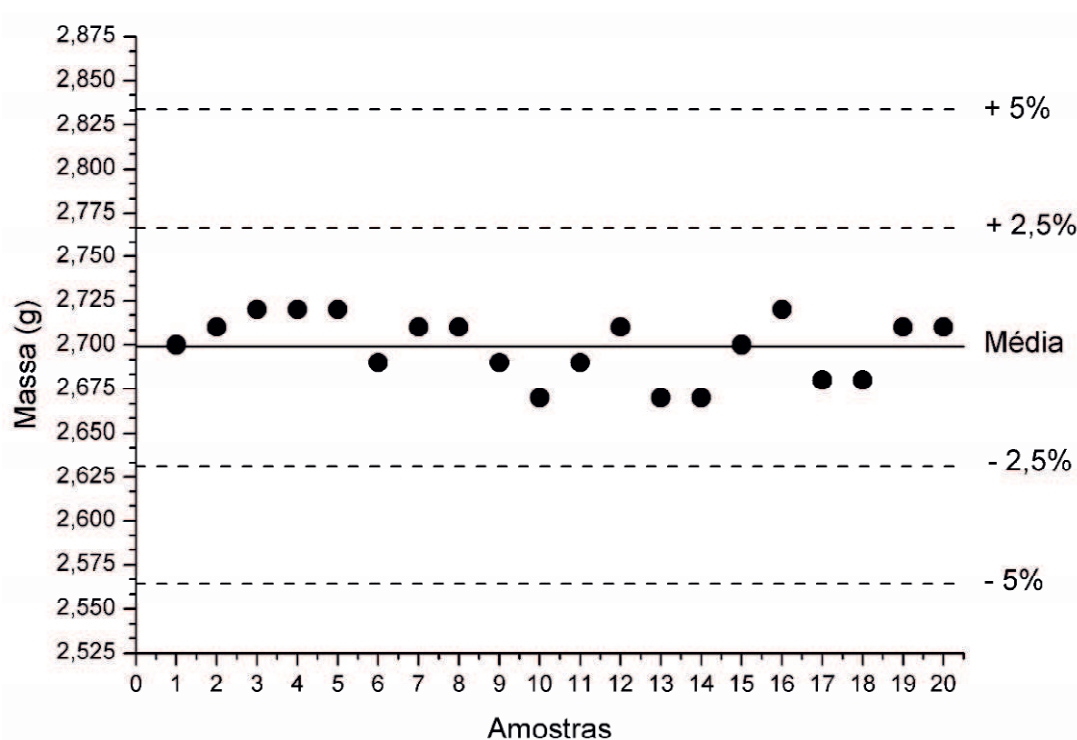


Fonte: Dados do autor

5.7.2 Determinação do peso médio dos supositórios

Vinte supositórios foram retirados para a determinação do peso médio. As medidas são apresentadas na Figura 7. O peso médio calculado dos supositórios foi igual a 2,700 g, com medidas variando de 2,670 a 2,720 g. Todos os valores encontraram-se dentro do desvio de 5%, como preconizado pela FARMACOPEIA BRASILEIRA (2010).

Figura 7 - Resultados do ensaio de peso médio dos supositórios desenvolvidos



Fonte: Dados do autor

5.7.3 Determinação do tempo de desintegração

O tempo de desintegração médio para os supositórios analisados foi igual a 15 min e 29 s, para o meio de água purificada a 37 °C. Uma vez que o estudo propõe um supositório com base hidrofóbica, este tempo de desintegração é desejável para propiciar o início do processo de dissolução num intervalo de tempo curto. A FARMACOPEIA BRASILEIRA (2010) estabelece que o tempo máximo de desintegração de supositórios com base hidrofóbica é de 30 minutos.

6. CONCLUSÃO

- Dentre os vinte e sete extratos hidroalcoólicos produzidos com os tubérculos de *Operculina macrocarpa*, o extrato 10 se destacou entre os demais por apresentar melhores resultados na prospecção fitoquímica;
- Quanto ao teste de citotoxicidade realizado em eritrócitos, o extrato apresentou um baixo potencial hemolisante;
- O teste de atividade anti-helmíntica realizado em caprinos demonstrou que o extrato apresenta uma expressiva atividade contra helmintos 14 dias após a administração do tratamento;
- Os perfis térmicos do extrato e dos excipientes utilizados na formulação dos supositórios mostraram que algumas misturas provocam antecipação da decomposição do extrato ou retardamento desta, enquanto outros mantiveram o perfil térmico tanto do extrato quanto do excipiente, não causando nenhum tipo de interação;
- Os excipientes manteiga de cacau, ácido etilenodiamino tetra-acético, mistura (1:1) de metilparabeno e propilparabeno mostraram melhor comportamento nas curvas térmicas de DTA com o extrato nebulizado, sendo os escolhidos para compor a formulação dos supositórios;
- Os supositórios apresentaram características organolépticas, peso médio e tempo de desintegração dentro dos parâmetros farmacopeicos de qualidade.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, L.V.; POPOVICH, N.G.; ANSEL, H.C. **Formas Farmacêuticas e Sistema de Liberação de Fármacos**. 9. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.
- ALMEIDA, W.V.F.; SILVA, M.L.C.R.; FARIAS, E.B.; ATHAYDE, A.C.R.; SILVA, W.W. Avaliação de plantas medicinais em caprinos da região do semi-árido paraibano naturalmente infectados por nematóides gastrintestinais. **Revista Caatinga**, v.20, n.3, p.1-7. 2007.
- ALVAREZ-SANCHEZ, M. A.; GARCÍA, J.P.; BARTLEY, D.; JACKSON, F.; VARUEZ, R. The larval feeding inhibition assay for the diagnosis of nematode anthelmintic resistance. **Experimental Parasitology**, v. 110, n. 1, p. 56-61, 2005.
- ANDRADE, E.C; LEITE, I.C.G; RODRIGUES, V.O.; CESCO, M.G. Parasitoses intestinais: uma revisão sobre seus aspectos sociais, epidemiológicos, clínicos e terapêuticos. **Revista de APS**, v. 13, n. 2, p. 231-240, 2010.
- AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2 ed., São Paulo: Artmed, 2005.
- BADKE, M. R.; BUDÓ, M.LD.; SILVA, F.M.; RESSEL, L.B. Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Escola Anna Nery Revista de Enfermagem**, v. 15, n. 1, p. 132-9, 2011.
- BELO, V. S.; OLIVEIRA, R.B.; FERNADES, P.C.; NASCIMENTO, B.W.L.; FERNANDES, F.V.; CASTRO, C.L.F.; SANTOS, W.B.; SILVA, E.S. Fatores associados à ocorrência de parasitoses intestinais em uma população de crianças e adolescentes. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 30, n. 2, p. 195-201, 2012.
- BETTEGA, P. V. C.; CZLUSNIAK, G.R.; PIVA, R.; NAMBA, E.L.; RIBAS, C.R.; GRÉGORIO, A.M.T.; ROSA, E.A.R. Fitoterapia: dos canteiros ao balcão da farmácia. **Archives of Oral Research**, v. 7, n. 1, p. 89-97, 2011.
- BIASI, L. A.; TACCA, J.A.; NAVARINI, M.; BELUSSO, R.; NARDINI, A.; SANTOLIN, J.C.; BERNARDSON, V.; JASKULSKI, M.R. Prevalência de enteroparasitoses em crianças de entidade assistencial de Erechim/RS. **Revista Perspectiva, Erechim**, v. 34, n. 125, p. 173-179, 2010.
- BIZIMENYERA, E.S.; GITHIORI, J.B.; ELOFF, J.N.; SWAN, G.E. In vitro activity of *Peltophorum africanum* Sond (Fabaceae) extracts on the egg hatching and larval development of the parasitic nematode *Trichostrongylus colubriformis*. **Veterinary Parasitology**, v. 142, n. 3, p. 336-343, 2006.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Vocabulário Controlado de Formas Farmacêuticas, Vias de Administração e Embalagens de Medicamentos**. 1.ed. Brasília: Anvisa, 2011.
- BRASIL. **Farmacopéia Brasileira**. 5ª ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira**. 2.ed. Brasília: Anvisa, 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 26 de 13 de maio de 2014**. Registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos, Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRASILEIRO, B.G.; BHERING, M.C.; VIDIGAL, D.S.; CASALI, V.W.D. Caracterização morfológica e germinação de sementes de jalapa (*Operculina macrocarpa* (L.) Urb.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 3, p. 078-086, 2009.

BRUNET, S.; HOSTE, H. Monomers of condensed tannins affect the larval exsheathment of parasitic nematodes of ruminants. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 20, p. 7481-7487, 2006.

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.

CARVALHO, A. C.B.; BALBINO, E.E.; MACIEL, A.; PERFEITO, J.P.S. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 314-319, 2008.

CASTIÑEIRAS, T. M. P.P; MARTINS, F. S.V. **Centro de Informação em Saúde para Viajantes-Cives**. 2000.

CHAVES, T.P.; SANTANA, C.P.; VÉRAS, G.; BRANDRÃO, D.O.; FELISMINO, C.D.; MEDEIROS, A.C.D.; TROVÃO, D.M.B.M. Seasonal variation in the production of secondary metabolites and antimicrobial activity of two plant species used in Brazilian traditional medicine. **African Journal of Biotechnology**, v.12, n.8, p.847-853, 2013.

COSTA, R.S. **Estudo de pré-formulação e formulação do *Heliotropium indicum* (L.) DC (Boraginaceae)**.2010.141f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Pará, Bélem, 2010.

DIAS, D. S.; MENEZES, R.A.O.; SOUZA, M.J.C.; BARBOSA, F.H.F.; ANDRADE, R.F.; SOUTO, R.N.P. Fatores de riscos que contribuem para as parasitoses intestinais em crianças de 0 a 5 anos em Macapá–Amapá, Brasil. **Ciência Equatorial**, v. 3, n. 1, 2013.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY, **Guideline on Pharmaceutical Development of Medicines for Paediatric Use**.In.; 2013.

FILHO, R.B. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.

FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R.A.C.; MACHADO, M.F.P.S.; VIDOTI, G.J.; OLIVEIRA, A.J.B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 627-641, 2008.

GOES, A. M.; KFURI, C. R. Desenvolvimento e pesquisa de suspensão pediátrica de hidróxido de alumínio. **INVESTIGAÇÃO**, v. 5, n. 1-6, 2010.

GOMES, J.D.S. **Estudo comparativo de suspensões orais de Tacrolimus para uso pediátrico**. 2013. 159f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Farmacêutica) – Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Portugal, 2013.

GOMES, R.V.R.S.; ARAÚJO, M.M.; GOMES, E.N.; VILELA, V.L.R.; ATHAYDE, C.R. Ação antiparasitária in vitro dos extratos etanólicos de *Operculina hamiltonii* (batata de purga) e *Momordica charantia* (melão de são caetano) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos do semi-árido paraibano. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.4, n.2, p.92-99, 2010.

GORDON, H.M.; WHITHLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**, v. 12, n. 1, p. 50-52, 1939.

JANNIN, V.; LEMAGNEN, G.; GUEROULT, P; LARROUTURE, D.; TULEU, C. Rectal route in the 21st Century to treat children. **Advanced drug delivery reviews**, v.73, p.34-49, 2014.

KATIKI, L.M **Atividade anti-helmíntica in vitro e in vivo de compostos fitoquímicos para o controle de nematóides gastrintestinais de ovinos**.2011. 144f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.

LIMA, E.. **Viabilidade do fabrico do supositório de paracetamol em Cabo Verde**.2007.80f. Monografia (Graduação em Farmácia) - Universidade Jean Piaget de Cabo Verde, Cidade da Praia, 2007.

LIMA, L. R.; XAVIER, H.S.; MEIRA, J.L.; NETO, P.J.R. Desenvolvimento e validação da metodologia de quantificação gravimétrica de resina glicosídica em fitoterápicos contendo *Operculina macrocarpa* (L.) Urban. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 16, p. 562-567, 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002.

LOURES, M. C. ;PORTO, C.C.; SIQUEIRA, K.M.; BARBOSA, M.A.; MEDEIROS, M.; BRASIL, V.V.; PEREIRA, M.A.D. Contribuições da fitoterapia para a qualidade de vida: percepções de seus usuários. **Revista Enfermagem UERJ**, v. 18, n. 2, p. 278-283, 2010.

LUNA, J.S.; SANTOS, A.F.; LIMA, M.R.F.; OMENA, M.C.; MENDONÇA, F.A.C.; BIEBER, L.W.; SANT’ANA, A.E.G. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, n. 2, p. 199-206, 2005.

MACIEL, M.V. **Atividade ovicida e larvicida de extratos de *Melia azedarach* sobre *Haemonchus Contortus***. 2004.74f.Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2004.

- MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Vanillin-HCl method for condensed tannins: Effect of organic solvents used for extraction of tannins. **Journal of Chemical Ecology**, n. 4, v. 19, 1993.
- MAMEDE, L. C.; CAETANO, B.L.; ROCHA, L.A.; FERREIRA, E.M.; CESTARI, A. KFURI, C.R.; CIUFFI, K.L.; CALEFI, P.S.; MELLO, C.; CUNHA, W.R.; NASSAR, E.J. Comportamento térmico de alguns fármacos e medicamentos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 27, n. 2, p. 151-155, 2006.
- MELO, E. M.; FERRAZ, F.N.; ALEIXO, D. L. Importância do estudo da prevalência de parasitos intestinais de crianças em idade escolar. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 5, n. 1, 2010.
- MICHELIN, D. C. **Estudo químico farmacológico de *Operculina macrocarpa* (L.) Urb.(Convolvulaceae)**. 2008. 144f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2008.
- MICHELIN, D. C.; SALGADO, H. R. N. Avaliação da atividade laxante de *Operculina macrocarpa* L. Urban (Convolvulaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n. 2, p. 105-109, 2004.
- MIGLIATO, K. F et al. Planejamento experimental na otimização da extração dos frutos de *Syzygium cumini* (L.) skeels. **Química Nova**, p. 695-699, 2011.
- NETO, D. C.; BUZATO, J.B.; CELLIGOI, M.A.P.C.; OLIVEIRA, M.R. Otimização da produção de etanol por *Zymomonas mobilis* na fermentação do melaço de cana-de-Açúcar. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 26, n. 1, p. 17-22, 2005.
- NETO, H. S.; NOVÁK, C.; MATOS, J. R. Thermal analysis and compatibility studies of prednicarbate with excipients used in semi solid pharmaceutical form. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, v. 97, n. 1, p. 367-374, 2009.
- OLIVEIRA, R.G. **Avaliação “in vivo” da ação anti-helmíntica de plantas consideradas medicinais como recurso potencial no controle de endoparasitos gastrintestinais de ovinos**. 2003.154f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.
- OLIVIER, S.; SILVA, V.L.; MOTTA, M. Emprego de planejamento fatorial no desenvolvimento de uma metodologia para extração de zinco de resíduos galvânicos. **Química Nova**, v. 30, n. 7, p. 1750, 2007.
- ORLANDINI, M. R.; MATSUMOTO, L. S. Prevalência de parasitoses intestinais em escolares. **Universidade Estadual do Norte do Paraná**, p. 1655-8, 2010.
- PAGANOTTE, D.M. *Operculina macrocarpa*: chemical and intestinal motility effect in mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 2016.
- PEIXOTO, M.M.; JÚNIOR, A.F.S.; SANTOS, C.A.A.; JÚNIOR, E.C. Avaliação da qualidade de comprimidos de captopril dispensados em Feira de Santana – BA. **Infarma**, v. 16, n. 13-14, p. 69-73, 2005.

PEREIRA, R.J.; CARDOSO, M.G. Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v.3, n.4, p.146-152, 2012.

PIERDONÁ, T. M. The *Operculina macrocarpa* (L.) urb.(jalapa) tincture modulates human blood platelet aggregation. **Journal of ethnopharmacology**, v. 151, n. 1, p. 151-157, 2014.

PIERDONÁ, T.M. **Avaliação das atividades antiagregante plaquetária e anticoagulante em estudo de bioprospecção de *Operculina macrocarpa* (L.) Urb.(Jalapa) em plasma humano: determinação do mecanismo de ação**. 2011. 104f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

REZENDE, H. A.; COCCO, M. I. M. The phytoterapy utilization in the rural population routine. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 36, n. 3, p. 282-288, 2002.

RODRIGUES, J. A.; CARNEIRO, W. S.; ATHAYDE, A. C. R. Infecções por helmintos gastrointestinais: perfil de crianças em escolas públicas e privadas do Sertão Paraibano. **News Lab**, v. 186, p. 128-36, 2013.

ROSA, C.; CÂMARA, S. G.; BÉRIA, J. Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, n. 1, p. 311-8, 2011.

ROWE, Raymond C. et al. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 6th edition. London: Pharmaceutical press, 2009.

SANTOS, R. L.; GUIMARAES, G.P.; NOBRE, M.S.C.; PORTELA, A.S. Análise sobre a fitoterapia como prática integrativa no Sistema Único de Saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 4, p. 486-491, 2011.

SANTOS, S. A.; MERLINI, L. S. Prevalence of enteroparasitosis in the population of Maria Helena, Paraná State. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 15, n. 3, p. 899-905, 2010.

SILVA, C.F. **Eficácia da batata de purga (*Operculina macrocarpa* (L) Urb.) incorporada a blocos multinutricionais sobre nematódeos gastrintestinais de ovinos**.2014.83f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2014.

SILVA, C.F. et al. Avaliação da eficácia de taboa (*Typha domingensis Pers.*) e batata de purga [*Operculina hamiltonii* (G. Don) D.F. Austin & Staples] *in natura* sobre nematóides gastrintestinais de caprinos, naturalmente infectados, em clima semi-árido. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.12, n.4, p.466-471, 2010.

SILVA, K.E.R.; ALVES, L.D.S.; SOARES, M.F.R.; PASSOS, R.C.S.; FARIA, A.R.; ROLIM, P.J.N. Modelos de avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos para a indústria farmacêutica. **Revista de ciências farmacêuticas básica e aplicada**, v. 30, n. 2, p. 129-135, 2009.

SILVA, M.M.C.; MADEIRA, V.M.C.; ALMEIDA, L.M.; CUSTÓDIO, J.B.A Hemolysis of human erythrocytes induced by tamoxifen is related to disruption of membrane

structure. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1464, n. 1, p. 49-61, 2000.

SILVA, M.M.C. et al. Hydroxytamoxifen interaction with human erythrocyte membrane and induction of permeabilization and subsequent hemolysis. **Toxicology in vitro**, v. 15, n. 6, p. 615-622, 2001.

SIMÕES, C.M.O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: editora da UFRGS / editora da UFSC, 2004.

SOBRAL, F. E. S.; BRANDÃO, P. A.; ATHAYDE, A.C.R. Utilização de fitoterápicos no tratamento de parasitoses em galinhas caipira criadas em sistema semi-extensivo. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 6, n. 1, 2010.

SOUZA, M. M.; RECARTE, V.M; ROCHA, M.; CIPOLATTI, E.P.; FURLONG, E.B. Estudo das condições de extração de compostos fenólicos de cebola (*Allium cepa* L.). **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 68, n. 2, p. 192-200, 2009.

TAGLIARI, M.P. **Desenvolvimento e avaliação da qualidade de suspensões farmacêuticas contendo hidroclorotiazida: avaliação de pacientes pediátricos no hospital Infantil Joana de Gusmão**. 2008. 169f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.


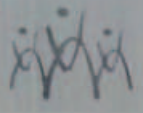
TOLEDO, A.C.O; HIRATA, L.L.; BUFFON, M.C.M.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G.. Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. **Revista Lecta**, v. 21, n. 1/2, p. 7-13, 2003.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. Japan International Cooperation Agency, 1998.

VERCRUYSSSE, J.; HOLDSWORTH, P.; LETONJA, T.; BARTH, D.; CONDER, G.; HAMAMOTO, K.; OKANO, K. International harmonization of anthelmintic efficacy guidelines. **Veterinary Parasitology**, v. 96, n. 3, p. 171-193, 2001.

VILA JATO, J. L. **Tecnologia farmacêutica: formas farmacêuticas**. Madrid. Editorial Sintesis, 2001. v.1-2.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

ANEXO A - Declaração do Comitê de Ética

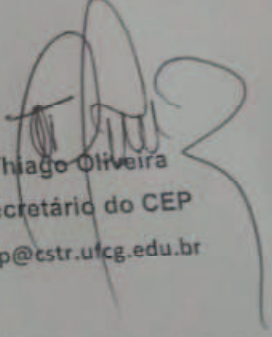
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL

Comitê de Ética em Pesquisa

Declaro a quem possa interessar que Sra. Profa. Dra. Ana Célia Rodrigues Athayde, deu entrada via eletrônica em processo para apreciação de projeto de pesquisa, como coordenadora deste, visando parecer consubstanciado, junto ao CEP/CSTR/UFMG. O projeto "Núcleo de Extensão e Pesquisa em Desenvolvimento Territorial para o eixo aglutinador da caprinovinocultura do território do médio sertão paraibano - NEPECapOvi." O referido projeto tem Nº de protocolo CEP 042/2016.

Patos, 26 de Abril de 2016.

Atenciosamente



Thiago Oliveira
Secretário do CEP
cep@cstr.ufcg.edu.br