

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO MATERIAL VEGETAL E DOS EXTRATOS DE *CESTRUM LAEVIGATUM* SCHLTDL (*SOLANACEAE*)

Ana Claudia Garcia Medeiros Andre¹ | Ana Paula Freitas da Silva¹ | Eduardo Motta de Vasconcelos²



RESUMO

Cestrum laevigatum Schltdl pertence à família Solanaceae e é considerada como uma das espécies mais importantes do gênero. O objetivo dessa pesquisa foi analisar as características físicas, químicas e físico-químicas dos extratos de *Cestrum laevigatum* Schltdl., cujas folhas e flores foram coletadas a partir da planta cultivada em Maceió - AL. A caracterização envolveu para o material vegetal, análise sensorial e organoléptica, presença de material estranho, determinação do teor de cinzas totais, perda por dessecação e presença de contaminantes biológicos. Para o extrato as determinações foram de resíduo seco, densidade e pH. Os resultados mostraram que o total de material estranho foi de 1,5%, a determinação do teor de cinzas totais foi de 7% e a perda por dessecação 3%. Para contaminantes biológicos a amostra analisada não apresentou esporos de fungos e desenvolvimento de bactérias. Já a determinação do resíduo seco apresentou como resultado 18%, a densidade foi de 0,8% e o pH de 5,3%. Os valores obtidos encontram-se dentro das especificações da British Herbal Pharmacopoeia, Farmacopéia Brasileira e do Ministério da Agricultura. Os procedimentos realizados nesse estudo contribuíram para o maior conhecimento das propriedades desse material que poderá ser escolhido como fonte para o desenvolvimento de uma pré-formulação fitoterápica.

PALAVRAS-CHAVE

Cestrum Laevigatum Schltdl. Caracterização Físico-química. Fitoterápico.

Cestrum laevigatum Schltl belongs to the family *Solanaceae* and is considered one of the most important species of the genus. The aim of this study was to analyze the physical, chemical and physico-chemical extracts of *Cestrum laevigatum* Schltl, whose leaves and flowers were collected from the plant grown in Maceio - AL. The characterization involved for the plant material, sensory analysis and organoleptic, presence of foreign material, determination of total ash, loss on drying and organic contaminants. To extract the determinations were dry, density, and pH. The results showed that the amount of foreign material was 1.5%, the determination of total ash content was 7% and 3% loss on drying. To the biological contaminants tested sample showed no fungal spores and bacteria development. Already determining the dry residue showed 18% as a result, the density was 0.8% and pH of 5.3%. The values obtained are within the specifications of the British Herbal Pharmacopoeia, Brazilian Pharmacopoeia and the Ministry of Agriculture. The procedures performed in this study contributed to the greater knowledge of the properties of this material which can be chosen as a source for the development of a pre-herbal formulation.

KEYWORDS

Cestrum laevigatum Schltl. Physico-chemical characterization. Phytotherapeutic.

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas para a cura de doenças é uma prática milenar, que se estende até os dias atuais. Um levantamento feito entre os anos de 1981 e 2002 mostrou que das 877 novas moléculas químicas introduzidas como drogas no mundo, 61% estão relacionadas com produtos naturais, sendo 6% os próprios produtos naturais, 27% derivados de produtos naturais, 5% compostos sintéticos com o grupo farmacofórico derivado de produtos naturais e 23% compostos sintéticos com estruturas baseadas em produtos naturais (NEWMAN et al., 2003).

Nos últimos anos, o crescimento das pesquisas acadêmicas e o fator cultural contribuíram para o crescimento do mercado mundial desses fitoterápicos. No Brasil, existem algumas indústrias farmacêuticas que estão investindo na produção de fitoterápicos. Mas, apesar desse grande avanço, existe ainda uma dependência do mercado farmacêutico brasileiro, que importa 84% dos fármacos consumidos, sendo que 78% da produção brasileira são realizadas por empresas multinacionais. Diante disso, considerando que as plantas medicinais não são apenas vistas como recurso terapêutico, mas também como fonte de recurso econômico, torna-se cada vez mais importante o estabelecimento de critérios para o desenvolvimento de fitoterápicos confiáveis (SIMÕES et al., 2000).

As etapas para a obtenção de um medicamento fitoterápico são parte de um grande trabalho multidisciplinar que envolve várias disciplinas das ciências biológicas, químicas, farmacêuticas e da saúde, assim como a realização do controle de qualidade em todas as etapas do processo é requisito fundamental para a obtenção de um medicamento seguro e eficaz.

Sendo assim, um conhecimento prévio da utilização de determinada espécie vegetal como planta medicinal, o aperfeiçoamento de métodos para a obtenção de seus extratos,

o conhecimento de suas características físicas e químicas e o desenvolvimento de uma formulação com esse material vegetal, podem ser ferramentas de grande utilidade para o desenvolvimento de um novo fitoterápico.

A espécie estudada foi *Cestrum laevigatum* Schltl. que pertence à família Solanaceae. Esta família é a mais ampla e complexa entre as Angiospermas, possui mais de 3.000 espécies, organizadas em 92 gêneros e 6 subfamílias. Várias de suas espécies são pesquisadas no país devido a sua constante importância econômica, seu valor toxicológico e medicinal (HAWKES et al., 1991; VAZ, 2008).

A família Solanaceae está incluída na subclasse Asteridae, ordem Solanales, sendo distinta das outras famílias que compõem esta ordem por possuir características como: óvulos e sementes numerosas, dois carpelos obliquamente orientados, ausência de látex, estilete simples e estigma único, pouco ou nada lobado (CRONQUIST, 1988).

Algumas espécies de solanáceas são muito conhecidas como o tabaco (*Nicotiana* spp.); o tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) e outros tipos de pimenta (gênero *Capsicum* L.). Na medicina, a espécie *Atropa belladonna* L. é bastante utilizada para a produção do alcalóide atropina, empregado em tratamentos oftalmológicos (VAZ, 2008; HAWKES et al., 1991; HUNZIKER, 2001), já a *Solanum lycocarpum* St.Hil. é empregada na produção de um fitoterápico chamado polvilho-de-lobeira, amplamente usado no controle de diabetes, obesidade e diminuição do nível do colesterol (MARTINS, 2005).

O gênero *Cestrum*, pertence à subfamília Cestroideae, sendo este o maior gênero da subfamília e o terceiro maior gênero da família (HUNZIKER, 1976). Este gênero é tipicamente americano e está distribuído nas regiões tropicais e em zonas subtropicais da América do Sul e do Norte, sendo também encontrada na África (HUNZIKER, 2001).

A maioria dos representantes do gênero *Cestrum* são arbustos e pequenas árvores distribuídas nas regiões tropical e subtropical das Américas (FERNANDES, 2007; NEE et al., 1999). A região norte da Argentina, do Peru e a região andina da Bolívia são consideradas as maiores em diversidade, onde ocorrem aproximadamente 100 espécies, seguida do Brasil com 50 espécies. No Brasil a maior diversidade se localiza em dois biomas a Mata Atlântica e o Cerrado (SOARES, 2006).

Algumas espécies de *Cestrum* são de importância econômica, já que fornecem a base para a extração de compostos ativos como alcalóides, esteróides, saponinas e taninos; além de serem utilizadas em programas de reflorestamento (SCHULTES; RAFFAUF, 1991).

A espécie *Cestrum laevigatum* Schltl. é considerada por muitos pesquisadores como a mais importante do gênero, conhecida popularmente como: "coerana", "anilão", "dama da noite", "pimenteira"; "coerana-branca" e "mata-boi"; é um arbusto com até 3 metros de altura encontrado no Brasil nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste (SILVA, 2009).

Esta espécie tem características morfológicas como: forma subprostrata, área polar pequena, fastígio ausente e a ornamentação da exina estriada. Outras características que estão presentes são os grãos de pólen tipicamente 3-colporados, com ectoaberturas longas e com endoaberturas alongadas (SILVA; CARVALHO; SANTOS, 2003). Ela é reconhecida pelo seu emprego na medicina popular ou por serem responsáveis por intoxicações e morte de animais, sendo alvo de estudos químicos e farmacológicos (SOARES, 2006).

A *Cestrum laevigatum* Schltl. é considerada pela literatura como letal aos bovinos. Durante sua investigação fitoquímica a partir de bagas verdes, foram isoladas as saponinas (gitogenina e digitogenina), sendo este grupo o princípio ativo responsável pela ação tóxica da espécie (SILVA, 2009). Existem relatos que essa espécie é utilizada em práticas de magias e misticismo, além de possuírem propriedades alucinógenas, devido à presença de alcalóides tropânicos (RODDICK, 1991).

A escolha da planta foi fundamentada na facilidade de acesso ao material, nas pesquisas que estão sendo realizadas atualmente na região de Maceió sobre a *Cestrum laevigatum* Schltl. e nos resultados obtidos dessas pesquisas. A decisão de realizar este estudo baseou-se na perspectiva de acrescentar informações sobre as análises física, química e físico-química desse material aos estudos de fitoquímica e de atividades biológicas já realizadas com a *Cestrum laevigatum* Schltl.

2 METODOLOGIA

Esse trabalho foi realizado no Laboratório de Química e Microbiologia da Faculdade Integrada Tiradentes (FITS), em Maceió-AL. A seleção do material foi realizada através de um levantamento bibliográfico de espécies encontradas na capital alagoana. A espécie *Cestrum laevigatum* Schltl. foi submetida à identificação botânica. Uma exsicata do material coletado e identificado botanicamente está arquivada no herbário da Secretaria do Meio Ambiente.

O material vegetal – folhas e flores – foi coletado a partir da planta cultivada na cidade de Maceió. A coleta foi feita no período da manhã sendo que as folhas e flores foram obtidas de mais de um exemplar da espécie.

Foi realizada uma caracterização prévia do material vegetal através da análise sensorial e organoléptica. As folhas e flores de *Cestrum laevigatum* Schltl. foram analisadas logo após a coleta, depois de secas. Esse material foi observado quanto a sua coloração à luz do dia e quanto ao seu odor, inalando o material lenta e repetidamente (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2000).

Em seguida foi verificada a presença de material estranho, onde amostras do material vegetal foram espalhadas sobre a bancada e quarteadas em divisões na vertical e horizontal, sendo analisadas a olho nu (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2000).

Após serem analisadas, as folhas e flores foram secas e trituradas para a determinação do teor de cinzas totais. Amostras de 2,0g do material vegetal triturado foram pesadas e distribuídas em cadinhos, previamente calcinados e incineradas em mufla, aumentando-se gradativamente a temperatura até 450°C durante 4 horas, sendo resfriadas em dessecador e novamente pesadas (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2000).

Para determinar a perda por dessecação, amostras de 2,0g do material vegetal triturado foram pesadas e transferidas para um pesa-filtro (previamente aquecido, resfriado e pesado), levadas à estufa a 105°C durante 5 horas, depois resfriadas em dessecador e pesadas (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2000).

Já a determinação dos contaminantes biológicos foi realizada com amostras de 1,0g do material vegetal, diluídas em 9ml de solução salina 0,9%. Aliquotas de 1ml foram transferidas sucessivamente para tubos contendo 9ml de solução salina até obtenção da concentração final de 10^{-3} g/ml. Aliquotas de 300ml de cada concentrado foram semeadas em placas de Petri contendo, separadamente, os meios: PDA ("Potato dextrose Agar"), para contagem de fungos; TCS (Tryptona caseína soja), para contagem de bactéria e "Mac Conkey" para contagem de fungos e leveduras. As placas foram colocadas em estufas bacteriológicas à 37°C para contagem de bactérias e à 30°C para contagem de fungos. As contagens foram feitas após 24 e 48 horas. Todo procedimento foi feito em duplicata na capela (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1988).

Na obtenção do extrato bruto as folhas e flores de *Cestrum laevigatum* Schltld. foram secas e então trituradas. O material obtido foi submetido à extração (maceração) por 72 horas com etanol. Os macerados foram filtrados e o solvente evaporado sob pressão reduzida, obtendo-se assim o extrato bruto.

A partição do extrato bruto foi feita por um processo de partição líquido-líquido com os solventes hexano e acetato de etila.

A caracterização do extrato bruto foi realizada através de três procedimentos: determinação do resíduo seco, determinação da densidade e determinação do pH.

A determinação do resíduo seco foi realizada com três amostras de 5ml do extrato bruto que foram colocadas em pesa-filtros, previamente tarados, e aquecidas em banho-maria sob agitação constante. Após a evaporação dos solventes de cada extrato, os pesa-filtros foram resfriados em dessecador e colocados em estufa a 105°C durante duas horas. Após esse período, os pesa-filtros foram novamente resfriados em dessecador e pesados.

A determinação da densidade do extrato foi determinada pelo método do picnômetro (FARMACOPÉIA BRASILEIRA). O picnômetro é um pequeno frasco de vidro construído de forma que o seu volume seja invariável. Possui uma abertura larga e tampa esmerilhada provida de um orifício capilar longitudinal. O picnômetro utilizado foi de 10ml. O procedimento envolveu a pesagem do picnômetro vazio, picnômetro com água destilada e picnômetro com amostra. Os experimentos foram feitos a uma temperatura de 20°C.

A determinação do potencial de hidrogênio iônico (pH) dos extratos foram feitas pelo método potenciométrico, utilizando um pH metro previamente calibrado com soluções tampão 7 e 4 (FARMACOPÉIA BRASILEIRA).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise sensorial e organoléptica foi feita com o material fresco e seco. As folhas frescas de *Cestrum laevigatum* apresentaram coloração verde-escuro e odor silvestre, enquanto que as folhas secas tinham tamanho entre 2 a 3 cm aproximadamente. As flores apresentaram-se miúdas, de coloração esbranquiçada e odor silvestre mais ameno do que as folhas.

Na análise para verificar a presença de material estranho observou-se pigmentos pretos rodeados por enovelado branco com aspecto semelhante ao mofo; acúmulo de substância branca acinzentada; presença de flores, a maioria localizada na parte mais alta da

16 | planta; presença de flores que ainda não desabrocharam; presença de penas; presença de enovelado semelhante à poeira acumulada; presença de pigmentos brancos ao longo da folha; e foi encontrado um inseto semelhante ao cupim. O total de material estranho calculado foi de 1,5%. A especificação para a presença de material estranho (pedras, areia, terra, outras partes da planta ou partes de outra planta) segundo a Farmacopéia Brasileira é de no máximo 2%. Portanto, essa caracterização ficou dentro dos padrões.

A determinação do teor de cinzas totais é um ensaio utilizado para verificar impurezas inorgânicas não voláteis que podem estar presentes como contaminantes. Essa análise foi feita com o material seco triturado do vegetal. O resultado para *Cestrum laevigatum* Schltdl. foi de 7%. Segundo a *British Herbal Pharmacopoeia* (1990) a especificação para o teor de cinzas totais é de 15%.

A perda por dessecação avalia o teor de umidade do material. O valor encontrado para o material de *Cestrum laevigatum* Schltdl. foi de 3%. A especificação do Ministério da Agricultura é de no máximo 8%. O baixo conteúdo de umidade obtido mostra que o processo de secagem foi eficiente e que esse material é estável, visto que quanto menor o teor de umidade, menor a probabilidade de contaminação por fungos ou degradação enzimática dos metabólitos vegetais.

As especificações da literatura para contaminantes biológicos, segundo a Farmacopéia Brasileira (2000), determina a ausência de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter sp*, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* em 10g de material. O teor de bolores e levedura permitidos é de 5×10^3 por grama de material, e para coliformes fecais é de 10 coliformes por grama de material. A amostra analisada não apresentou esporos de fungos e desenvolvimento de bactérias. Esses resultados encontram-se dentro dos padrões estabelecidos.

Na obtenção do extrato bruto o procedimento de maceração em etanol proporcionou o rendimento de aproximadamente 30%.

O processo de partição para o fracionamento dos extratos é utilizado para tentar separar os componentes dos extratos baseando-se nas polaridades dos solventes empregados. Foram obtidas três frações que correspondem ao extrato hexânico (baixa polaridade), extrato em acetato de etila (polaridade média) e extrato metanólico (alta polaridade).

Na caracterização do extrato bruto a operação de secagem para obtenção de resíduo seco pressupõe a eliminação da fase líquida, até valores residuais com uma eficiência que depende das características do líquido extrator. As principais técnicas de secagem baseiam-se na utilização de calor, associado ou não a sistemas de redução de pressão. Trata-se de uma técnica mais acessível e econômica que permite escolher o líquido extrator mais apropriado.

Os valores para o resíduo seco foram calculados como porcentual pela média de três determinações segundo a equação: $[(m_2 - m_1)/m] \times 100$, onde m_2 é a massa do pesa-filtro mais a amostra após aquecimento; m_1 é a massa do pesa-filtro vazio e m é a massa da amostra equivalente à 5ml.

A determinação do resíduo seco faz parte das diretrizes da OMS e ANVISA para o controle de qualidade de plantas medicinais e são essenciais para garantir a autenticidade, a estabilidade e a segurança tanto de plantas medicinais como de seus preparados. O

resultado foi de 18%, valor que se encontra dentro dos padrões de normalidade da Farmacopéia Brasileira (2000).

A densidade é uma propriedade física importante e pode ser utilizada para distinguir um material puro de um impuro (ou de ligas desse metal). Ela também pode ser utilizada na identificação e no controle de qualidade de um determinado produto industrial, bem como ser relacionada com a concentração de soluções. A densidade para o extrato foi calculada como porcentual pela média de três determinações segundo a equação: $(m_2 - m) / (m_1 - m)$ onde m_2 é a massa do picnômetro mais a amostra; m_1 é a massa do picnômetro mais a água e m é a massa do picnômetro vazio. O resultado foi de 0,8%.

O potencial de hidrogênio iônico é um parâmetro que está relacionado com o crescimento dos micro-organismos, segundo a Farmacopéia Brasileira (2000) o valor de referência é de 4,0 a 7,0. A maioria das bactérias apresenta caráter neutrófilo crescendo na faixa que vai de 6,0 a 8,0, mas existem grupos de bactérias que crescem também na faixa do pH ácido. A sobrevivência desses micro-organismos em larga escala de pH, requer a secreção de diferentes enzimas, que possam tornar o pH do ambiente a ser colonizado ideal para o seu crescimento. Os tecidos de plantas diferem em seu valor de pH, o que pode influenciar a colonização por micro-organismos nesses diferentes ambientes. O pH para o extrato foi calculado como a média de três determinações e o resultado foi de 5,3, valor condizente com o encontrado como referência.

4 CONCLUSÃO

Apesar de abordagens já descritas na literatura sobre *Cestrum laevigatum*, não foram encontrados trabalhos envolvendo o estudo químico, físico e físico-químico deste material desde a coleta até o produto final. Os procedimentos realizados nesse trabalho foram baseados no regulamento técnico sobre registro de medicamentos fitoterápicos. A caracterização realizada com o material vegetal mostrou resultados dentro dos padrões estabelecidos. Sendo assim, os resultados obtidos contribuíram para o maior conhecimento das propriedades desse vegetal o que poderá ser utilizado para o desenvolvimento de um possível fitoterápico com *Cestrum laevigatum* Schltld.

REFERÊNCIAS

BRITISH HERBAL PHARMACOPOEIA. Bournemouth, Dorset: British Herbal Medicine Association, v. 2, 1990.

CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 33, p. 179-189, 2000.

CORNELIUS, M.T.F. et al. Solasonina e flavonóides isolados de *Solanum crinitum* Lam. **Revista Brasileira de Farmacologia.** 85(2): 57 – 59, 2004.

CRONQUIST, A. The Evolution and Classification of Flowering Plants. **The New York Botanical Garden.** New York, 1998.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed., fascículo II. São Paulo: Atheneu, 2000.

FERNANDES, Thiago. **Citogenética em espécies de *Cestrum* (Solanaceae)**: Mapeamento físico e proteínas cromossômicas. Londrina. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Estadual de Londrina, 2007.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia**: da Planta ao Medicamento. 3. ed. Florianópolis, Porto Alegre: UFSC e UFRS, 2000. cap. 1, p. 13-26.

HAWKES, J. G. et al. *Solanaceae III – Taxonomy, chemistry, evolution*. **The Royal Botanic Gardens/ The Linnean Society of London**, 1991.

HUNZIKER, A. T. Genera Solanacearum. The genera of Solanaceae illustrate, arranged according to a new system. Ruggell: A. R. G. **Gantner Verlag**. 500p. 2001.

HUNZIKER, A. T. South American Solanaceae; a synoptic survey. Em: HAWKES, J. G.; LESTER, R. N.; SKELDING. The Biology and Taxonomy of the Solanaceae, 7 ed Linnean Society Symposium Series. **Academic Press**. New York, p. 49-85, 1976.

MARTINS, Karina. **Diversidade genética e fluxo gênico via pólen e semente em populações de *Solanum lycocarpum* ST.HIL. (*Solanaceae*)** no sudeste de Goiás. Piracicaba. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz, Universidade de São Paulo, 2005.

NEE, M. et al. **Flora da Reserva Ducke**: guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central. Manaus: Inpa, 1999.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the period 1981-2002. **J Nat Prod**, v. 66, p. 1022-1037, 2003.

RODDICK, J. G. The Importance of the Solanaceae in Medicine and Drug Therapy. In HAWES, J.G., LESTER, R.N., NEE, M., ESTRADA, N.R (eds.). *Solanaceae III*. **Royal Botanic Gardens**, p. 7-23, 1991.

SAYED, K. A. E. et al. New Pyrrole Alkaloids from *Solanum sodomaeum*. **Journal of Natural Products**. 61(6): 848-850. 1998.

SCHULTES, R.; RAFFAUF, R. F. Phytochemical and Ethnopharmacological Notes on the Solanaceae of the Northwest Amazon. Em: HAWKES, J. G. et al. *Solanaceae III – Taxonomy, chemistry, evolution*. **The Royal Botanic Garden and The Linnean of London**, p. 25-49. 1991.

SILVA, R. E. S. et al. **32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. Saponinas esteroidais do caule de *Cestrum laevigatum* Schlecht. Sociedade Brasileira de Química, Ceará, 2009.

SILVA, S. N. S.; CARVALHO, A. M. V.; SANTOS, F. A. R. Morfologia polínica de doze espécies de *Cestrum* L. (*Solanaceae*) da mata higrófila na Bahia, Brasil. **Biological Science**. Maringá, v. 25, no. 2, p. 439-443, 2003.

SILVA, T. M. S. et al. Flavonoids and an Alkamide from *Solanum paludosum* Moric. **Biochemical Systematics and Ecology**. 30: 479 – 481. 2002. | 19

SOARES, Edson Luís de Carvalho. **Estudos taxonômicos em Solanaceae lenhosas no Rio Grande do Sul, Brasil**. Porto Alegre. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.

VAZ, N. P. **Alcalóides Esteroidais dos Frutos Maduros de *Solanum caavurana* Vell.** Curitiba. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal do Paraná, 2008.

Recebido em: 25 de janeiro de 2013

Avaliado em: 15 de fevereiro de 2013

Aceito em: 1 de março de 2013

1 Professora Doutora da Faculdade Integrada Tiradentes

2 Enfermeiro graduado pela Faculdade Integrada Tiradentes, responsável Técnico e Enfermeiro Supervisor da Clínica Infantil Santa Maria Sociedade Simples Ltda. e Enfermeiro Supervisor da Organização de Assistência Neuro Psiquiátrica Ltda. (ORGNEP).