

AVALIAÇÃO ANTIBACTERIANA E PERFIL QUÍMICO DAS FOLHAS DA *Artemisia annua* L.

BACTERIAL EVALUATION AND CHEMICAL PROFILE OF *Artemisia annua* L. LEAVES

DOI: <https://doi.org/10.16891/2317-434X.v12.e1.a2024.pp4070-4076>

Recebido em: 14.10.2023 | Aceito em: 21.04.2024

Thaís Pereira Lopes^a, Júlio César Silva^{a*}, Carlos Alonso Leite dos Santos^a, Graça Emanuela do Nascimento^b, Daniely Sampaio Arruda Tavares^c, Fabiola Fernandes Galvão Rodrigues^b

Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato – CE, Brasil^a

Centro Universitário Doutor Leão Sampaio – UNILEÃO, Juazeiro do Norte – CE, Brasil^b

Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza – CE, Brasil^c

***E-mail: juliocesar.silva@urca.br**

RESUMO

Na medicina popular é comum o uso de plantas medicinais para tratamento de enfermidades. A espécie *Artemisia annua* L. vêm sendo utilizada por apresentar ação contra protozoários, porém também apresenta atividade contra outros microrganismos. O presente trabalho tem como intuito avaliar a atividade antibacteriana através do extrato etanólico das folhas da espécie *Artemisia annua* L.. O estudo foi realizado por obtenção do extrato vegetal que foram analisados por prospecção fotoquímica. A atividade antibacteriana foi avaliada pelo método de microdiluição utilizando as seguintes espécies bacterianas: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. A atividade moduladora foi determinada frente aos antibióticos gentamicina, amicacina, candamicina e betalâmicos. Os resultados para atividade microbiana foram considerados satisfatórios prevalecendo maior ação do extrato vegetal frente as cepas Gram positivas dentre elas especialmente *S.aureus*, já as Gram negativas obtiveram resultados <1024 ug/ml. Na atividade moduladora foi observado que o extrato vegetal das folhas de *Artemisia Annua* L. atua melhor em sinergismo com antibióticos principalmente se os mesmos forem utilizados contra espécies Gram positivas. Diante dos resultados obtidos foi observado que as folhas de *Artemisia annua* L. apresentam atividade antimicrobiana, e o extrato vegetal atua com sinergismo com antibióticos aumentando sua atividade inibitória.

Palavras-chave: *Artemisia annua* L.; Bactérias; Plantas.

ABSTRACT

In folk medicine, it is common to use medicinal plants to treat illnesses. The species *Artemisia annua* L. has been used because it has action against protozoa, but it also has activity against other microorganisms. The present work aims to evaluate the antibacterial activity through the ethanolic extract of the leaves of the species *Artemisia annua* L. The study was carried out by obtaining the plant extract that was analyzed by photochemical prospecting. The antibacterial activity was evaluated by the microdilution method using the following bacterial species: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. The modulating activity was determined against the antibiotics gentamicin, amikacin, candamycin and beta-lactams. The results for microbial activity were considered satisfactory, with greater action of the plant extract prevailing against Gram positive strains, especially *S.aureus*, while Gram negative strains obtained results <1024 ug/ml. In terms of modulating activity, it was observed that the plant extract from the leaves of *Artemisia Annua* L. acts better in synergism with antibiotics, especially if they are used against Gram positive species. Given the results obtained, it was observed that the leaves of *Artemisia annua* L. have antimicrobial activity, and the plant extract acts synergistically with antibiotics, increasing their inhibitory activity.

Keywords: *Artemisia annua* L.; Bacteria; Plants.

INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais é uma prática milenar e seu uso até os dias atuais se torna uma alternativa para suprir as necessidades das populações que ainda não tem acesso a fármacos e tecnologias modernas (OLIVEIRA et al., 2018; PATRÍCIO et al., 2022). Os vegetais podem ser administrados de diversas formas como: chás, xaropes, inalações ou compressas, e as substâncias químicas presentes podem ter efeitos benéficos sobre o organismo humano combatendo microrganismos, mas também podendo causar efeitos colaterais por exemplo, a intoxicação (SILVA, 2015).

Os componentes existentes nas plantas podem ser classificados como metabólitos primários ou secundários. Os metabólitos secundários são substâncias sintetizadas que possuem várias funções, como favorecer a coloração da planta e proteger contra predadores. E são esses componentes que vão despertar o interesse farmacêutico pelo efeito que exerce no organismo humano apresentado atividades biológicas frente a bactérias, fungos e protozoários dentre outros (MARQUES et al., 2019; PACHECO BORGES e ALVES AMORIM, 2020). (OLIVEIRA et al., 2012).

Para conhecer as substâncias presentes nas plantas medicinais, é necessário a extração do material vegetal, as formas mais empregadas são extrato vegetal e óleo essencial (SILVA et al., 2021). O extrato vegetal é obtido principalmente através de solventes orgânicos como água e álcool. Os óleos essenciais têm como principais características serem voláteis, lipossolúveis e límpidos e a forma mais comum de extração é através da hidrodestilação (RODRIGUES; SILVA; MACEDO, 2017).

Dentre as várias espécies de plantas medicinais usadas pela população destaca-se a *Artemisia annua* L. da família Asteraceae (JÚNIOR et al., 2022). Sua origem é asiática e sua ação microbiológica é voltada principalmente contra o parasita *Plasmodium falciparum*, seus principais metabólitos secundários são flavonóides, cumarinas, ácido caféico e artemisinina. Outra ação que pode ser desempenhada por essa planta é a atividade antimicrobiana especificamente contra linhagem bacteriana Gram positiva (ZANMARIA, 2016).

Uma das problemáticas que o Brasil mais enfrenta hoje em dia é a resistência microbiana, e as principais causas são o uso irracional de medicação, prescrição errada e dosagem inadequada do antibiótico. Os microrganismos envolvidos nesse processo estão presentes principalmente em ambiente hospitalar como em meio

externo, já os antibióticos que vem apresentado resistência são os mais utilizados no cotidiano como vancomicina e penicilina. (VIEIRA; NASCIMENTO, 2017).

O Brasil apresenta uma rica biodiversidade de plantas medicinais e seu uso contínuo por a população despertou o interesse científico a fim de padronizar os componentes presentes. *Artemisia annua* L. é uma planta pouco estudada, porém os metabólitos já encontrados apresentam resultados positivos para ação antimicrobiana, sendo necessária uma melhor análise para que se encontre maior ação microbiana com outras linhagens.

O principal objetivo desse projeto de pesquisa é avaliar a atividade antibacteriana das folhas de *Artemisia annua* L., elucidando quais substâncias podem ser encontradas em sua composição química.

MATERIAS E MÉTODOS

Tipo de estudo

Trata-se de um estudo de caráter experimental e quantitativo. A pesquisa experimental e quantitativa se baseia na realização de experimentos que seguem critérios determinados por metodologias científicas, além disso é empregado técnicas estáticas que permitem resultados com maior margem de segurança objetivando assim os resultados (DALFOVO; LANA; SILVEIRA, 2008).

Material vegetal

As folhas de *Artemisia annua* L. foram coletadas no horto de plantas medicinais da Universidade Regional do Cariri (URCA) no mês de agosto de 2018. Os testes foram realizados no laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais – LPPN, da Universidade Regional do Cariri nos meses de setembro e outubro.

Preparação do extrato

As folhas de *Artemisia annua* L. foram selecionadas e secas à temperatura ambiente e em seguida trituradas, para aumentar a superfície de contato, e submersas em etanol P.A para extração a frio por um período de 72 horas, segundo a metodologia descrita por Simões et al. (2010). Após esse período a mistura foi submetida a filtração para retirada das impurezas, e a destilação do solvente ocorreu em evaporador rotativo sob pressão reduzida a temperatura controlada entre 70-80 °C, com a retirada posterior do álcool etílico excedente em banho maria. O rendimento do extrato foi calculado com

base no peso seco do extrato em comparativo com o peso das folhas antes da extração, com rendimento de 5,2%.

Prospecção fitoquímica

A avaliação fitoquímica foi realizada de acordo com a metodologia de Matos (2009) e Simões et al. (2010) com o intuito da elucidação de classes de metabólitos secundários como flavonóides, alcalóides e taninos. Esse teste baseia-se na observação visual, intensificação da cor ou formação de precipitado após adição de reagentes específicos nas soluções das amostras.

Avaliação antimicrobiana e concentração inibitória mínima

A atividade antimicrobiana foi realizada através do método de microdiluição com base no Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2012). Foram utilizadas as bactérias padrão, sendo três Gram (+): *Staphylococcus aureus* (ATCC 12624), *Streptococcus mutans* (ATCC 0446) e *Bacillus cereus* (ATCC 33018) e três Gram (-): *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4352). Todas as linhagens foram concedidas pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz).

As linhagens bacterianas foram ativadas em meio Brain Heart Infusion Broth (BHI 3,8 %) e mantidas na estufa por 24 horas. Após o primeiro cultivo o inóculo foi padronizado a partir de uma suspensão com concentração de aproximadamente de 1×10^8 UFC/mL (turbidez da escala de McFarland). Em seguida, essa suspensão foi diluída em caldo BHI a 10 % e volumes de 100 μ L foi adicionado e homogeneizado nos poços de uma placa de microdiluição acrescido de uma concentração do extrato. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Os experimentos foram realizados em triplicata.

A atividade antibacteriana foi detectada através do método colorimétrico utilizando 25 μ L de resazurina sódica (0,01%) após o período de incubação. A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada como a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento bacteriano.

Avaliação da atividade moduladora

O teste de modulação foi realizado na presença e na ausência do extrato vegetal através de microdiluição em

triplicata. Para avaliar a atividade moduladora foi utilizada a CIM, do extrato etanólico e óleo essencial frente aos antibióticos da classe aminoglicosídeos (cefalotina, gentamicina e amicacina) e Betalactâmicos (benzilpenicilina).

Os inóculos bacterianos em BHI a 10 % foram distribuídos na placa, seguido da microdiluição de 100 μ L das soluções de antibióticos (1024 μ g/ mL). Houve a realização de seguidas diluições obtendo as concentrações do antibiótico que variam de 512 a 0,5 μ g/ mL.

O teste será monitorado com um controle positivo contendo apenas os antibióticos e os microrganismos. As placas microdiluídas foram incubadas a 37 °C por 24 horas e a leitura foi procedida com auxílio de resazurina sódica como descrito anteriormente (COUTINHO et al., 2008).

Análises estatísticas

Os testes microbiológicos e toxicológicos foram analisados pelo ANOVA bidirecional seguida pelo teste de Bonferroni utilizando software GraphPad Prism 6.0. Os resultados em $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No estudo em questão foram encontrados alguns metabólitos secundários, como é possível observar na Tabela 1. Na determinação química realizada com o extrato vegetal das folhas de *Artemisia annua* L. obteve resultados positivos para a presença de taninos condensados, o mesmo composto foi obtido na metodologia utilizada por Sprenger (2013), como principal componente identificado.

Foram encontrados também flavonoides, flavonas e xantonas, confirmando o que foi descrito por Sprenger et al. (2016), que esses compostos são responsáveis por reduzir a disponibilidade de nutrientes aos microrganismos impedindo o seu crescimento.

Outros compostos como antocianinas e antocianidinas e catequinas foram evidenciados, porém não corroboram com os descritos na literatura científica como exemplo Favero (2015). Seus estudos apontaram como principal componente a lactonas sesquiterpênicas o que difere dos resultados que foram encontrados, que pode ser explicado por divergência de metodologias e material vegetal que foi utilizado.

Tabela 1. Constituintes químicos presentes nos Extrato Etanólico das folhas de *Artemisia annua* L.; C1: Antocianinas; C2: Antocianidinas; C3: Flavonas; C4: Flavonóis; C5: Flanonóis; C6: Xantonas; C7: Tanino Condensado; C8: Auronas; C9: Flavonas; C10: Catequinas; + Positivo; - Negativo.

| Extrato | Constituintes | | | | | | | | | |
|---------|---------------|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| | C1 | C2 | C3 | C4 | C5 | C6 | C7 | C8 | C9 | C10 |
| EEFA | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + |

As concentrações inibitórias mínimas obtidas estão representadas na Tabela 2. O extrato vegetal das folhas de *Artemisia annua* L. apresentou uma CIM para *S.aureus* (ATCC 12624) de 128 ug/mL; As demais linhagens, *S.mutans* (ATCC 0446), *B.cereus* (ATCC 33018) e *S. aureus* (MR 358) obteve uma inibição moderada de 512 ug/mL.

Estudos realizados por Duarte et al. (2004) utilizando a mesma metodologia, foi obtido resultado de 1,7 mg.Ml-1 frente ao *Bacillus subtilus*, mesmo com a divergência de cepas utilizadas por ambos os trabalhos é possível ressaltar que as folhas de *Artemisia annua* L. apresenta um resultado significativo quando submetidas a inibição de bactérias Gram postivas.

Segundo Oliveira (2016) quando utilizada em associação com outra espécie de planta medicinal como

Desinficiens coptidis as folhas de *Artemisia annua* L. apresentam efeitos antagônicos, com uma inibição incompleta frente a cepas de *S.aureus* e *E.faecalis*. Enquanto que Gadéa (2008) retrata que a atividade microbiana frente às bactérias Gram positivas obtidas pelas folhas de *A.annua* L é justificada por a imensa quantidade taninos presentes o que resulta em uma melhor interação com a parede celular, já que o teor de lipídio é menor comparada as Gram negativas.

As cepas bacterianas Gram negativas utilizadas para a CIM foram: *E.coli* (ATCC 25922), *K.pneumonie* (ATCC 4532), *P.auruginosa* (ATCC 15442) e *E.coli* (MR 27). Todas as linhagens bacterianas obtiveram uma mesma concentração inibitória mínima de ≥ 1024 ug/mL, como pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados das concentrações inibitórias mínimas do Extrato vegetal das folhas de *Artemisia annua* L.

| Bactérias testadas | CIM 1 EEFS | CIM 2 EEFS | CIM 3 EEFS |
|---|-------------------|-------------------|-------------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 12624) | 128 ug/mL | 128 ug/mL | 128 ug/mL |
| <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 0446) | 512 ug/mL | 512 ug/mL | 512 ug/mL |
| <i>Bacillus cereus</i> (ATCC 33018) | 512 ug/mL | 512 ug/mL | 512 ug/mL |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (MR 358) | 64 ug/mL | 64 ug/mL | 64 ug/mL |
| <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) | ≥ 1024 ug/mL | ≥ 1024 ug/mL | ≥ 1024 ug/mL |
| <i>Klebsiella Pneumoniae</i> (ATCC 4532) | ≥ 1024 ug/mL | ≥ 1024 ug/mL | ≥ 1024 ug/mL |
| <i>Pseudomonas. Aeruginosa</i> (ATCC 15442) | ≥ 1024 ug/mL | ≥ 1024 ug/mL | ≥ 1024 ug/mL |
| <i>Escherichia coli</i> (MR 27) | ≥ 1024 ug/mL | ≥ 1024 ug/mL | ≥ 1024 ug/mL |

Estudos realizados por Duarte et al. (2004) utilizando a mesma metodologia, foi obtido resultado de 1,7 mg.Ml-1 frente ao *Bacillus subtilus*, mesmo com a divergência de cepas utilizadas por ambos os trabalhos é possível ressaltar que as folhas de *Artemisia annua* L. apresenta um resultado significativo quando submetidas a inibição de bactérias Gram postivas.

Segundo Malinowski et al. (2007), a espécie de *Artemisia vulgaris* da mesma família de *Artemisia annua*

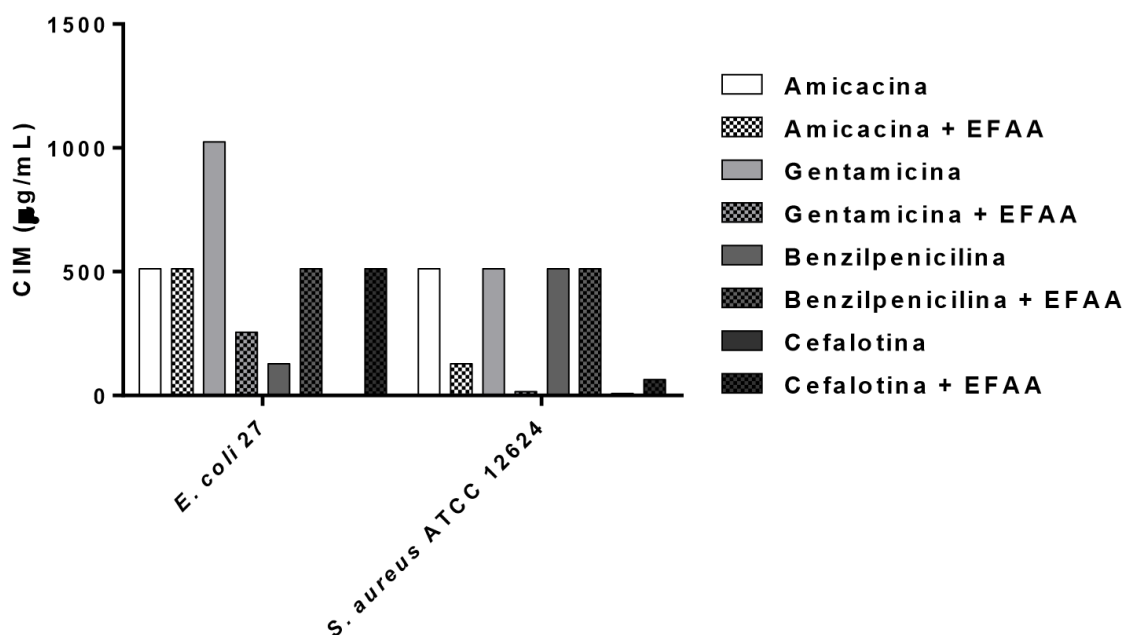
L. não apresenta resultados contra cepas bacterianas negativas em ressalva a *E.coli*, a metodologia empregada utilizava-se cilindros metálicos sobre a placa de ágar inoculada com bactéria, esses resultados corrobora com os que foram obtidos já que as CIM foram baixas e as espécies analisadas pertencem à mesma família de plantas medicinais.

Os resultados obtidos da atividade moduladora do extrato vegetal das folhas de *Artemisia annua* L. estão

disponíveis na Gráfico 1. Os antibióticos testados em conjunto com o extrato vegetal apresentaram resultados satisfatórios para a linhagem *S.aureus* (ATCC 12624), em associação com a gentamicina houve um inibição de 16

ug/mL, já para a amicacina a atividade foi de 128 ug/mL e os valores obtidos por cefalotina e benzilpenicilina foram menores correspondendo a 64 ug/mL e 512 ug/mL respectivamente.

Gráfico 1. Resultados da atividade moduladora do extrato vegetal das folhas de *Artemisia annua* L.



Os resultados microbiológicos foram expressos como média geométrica e a análise dos resultados foi realizada por ANOVA bidirecional seguida pelo pós-teste de Bonferroni, usando o software GraphPad Prism 6.0 ($p < 0,05$).

Os valores obtidos em geral apresentados por *S.aureus* demonstraram que o extrato vegetal apresentou um ótimo efeito sinérgico quando utilizado em conjunto com todos os antibióticos testados. Mesmo com os diversos estudos com *Artemisia annua* L. ainda não existe valores de atividade moduladora estabelecidos, sendo necessário comparar os resultados obtidos através de extratos pertencentes à mesma família Asteraceae.

De acordo com Ferreira et al. (2016), que realizou o estudo com *Libidibia ferrea* pertencente à família Asteraceae foram obtidos valores inibitórios de 8 ug/mL quando utilizado o extrato vegetal junto com os antibióticos amicacina e gentamicina frente a cepa de *S.aureus*, o que corrobora com os resultados do presente estudo devido ao mesmo apresentar o mesmo efeito sinérgico.

Já estudos realizados por Lacerda et al. (2016), com as folhas de *Bauhinia unguolata* L. pertencente à

família Asteraceae apresentaram efeitos antagônicos quando utilizado o extrato vegetal com os antibióticos amicacina e betalactâmicos, diminuindo 37% da ação dos antibióticos em associação com o extrato vegetal frente *S.aureus*.

Já para avaliação da classe Gram negativa foi selecionada a cepa de *E.coli* (MR 27), na qual houve obtenção de resultados satisfatórios quando utilizado o extrato vegetal em sinergia com os antibióticos amicacina e gentamicina, obtendo valores de 256 ug/mL e 512 ug/mL respectivamente. Já a cefalotina e o benzilpenicilina apresentaram o mesmo resultado de inibição de 512 ug/mL.

De acordo com Colares et al. (2018), seus estudos realizados com o extrato vegetal da planta medicinal *Guapira graciliflora* L. da família Asteraceae apresentaram resultados de atividade moduladora significativos frente a cepa de *E. Coli* (MR 27), os antibióticos utilizados foram amicacina e cefalotina no qual o valor de inibição foi de 512 ug/mL. Esses valores indicam que a fração de metabólitos secundários, flavonóides e taninos condensados tem a capacidade de interagir somente com a

membrana externa das bactérias, por essa razão o valor de inibição é menor.

Segundo Lacerda e colaboradores (2016), o extrato vegetal das folhas de *B. unguis* possuem efeito sinérgico de 37% quando utilizado junto com amicacina e betalactâmicos frente a cepa de *E.coli* (MR 27). Estudos descrevem que a atividade antibacteriana junto com os antibióticos pode ser explicada por razão da presença de taninos que inibe a atuação de enzimas e permite a entrada do antibiótico para o interior da parede celular das bactérias.

CONCLUSÃO

Os resultados desta pesquisa identificaram a presença de metabólitos secundários relevantes, como flavonas, flavonoides, taninos condensados e xantonas, nas folhas de *Artemisia annua* L., que são conhecidos por suas propriedades antimicrobianas. Houve uma notável inibição bacteriana, principalmente contra a cepa *S.aureus*, que é clinicamente significativa e frequentemente resistente a antibióticos. No entanto, as cepas Gram negativas não responderam bem à concentração inibitória mínima (CIM), sugerindo a necessidade de futuras pesquisas com abordagens diferentes. Além disso, o extrato das folhas de *Artemisia annua* L. exibiu efeitos sinérgicos quando combinado com antibióticos, sendo a amicacina e gentamicina os mais eficazes, especialmente contra *S.aureus*.

REFERÊNCIAS

COLARES, A. V. *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana das frações da entrecasca de *Guapira graciliflora* (Mart. Ex Shmidt) Lundell (Nyctaginaceae). **Revista Interfaces**. V.5, n.14, 2018.

COUTINHO, H. D. M. *et al.* Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. **Chemotherapy**, v. 54, n. 4, p. 1250-1318, 2008.

DALFOVO, M.S; LANA, R.A; SILVEIRA, A. Métodos quantitativos e qualitativos: um resgate teórico. **Revista Interdisciplinar Científica Aplicada**. v.2, n.1, 2008.

DUARTE, M. C. T. *et al.* Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcolóicos de espécies da coleção de plantas medicinais CPQBA/UNICAMP. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. V.14, n.1, 2004.

FAVERO, F. F. **Avaliação das atividades anticâncer, antinociceptiva e anti-inflamatória de produtos oriundos da *Artemisia Annua* L.** 2015. Tese (Doutorado em odontologia na área farmacológica, anestesiologia e terapêutica). Universidade Estadual de Campinas. Piracicaba. 2015.

FERREIRA, J. V. A. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana e moduladora do extrato etanólico de

Libidibia ferrea L. **Revista Cubana de Plantas Mediciniais**. v. 21, n. 1, 2016.

GADEÁ S. F. M. **Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato bruto e suas frações de *glischrothamnus ulei* (molluginaceae) do semi-árido baiano.** 2008. **Dissertação (Mestrado em Biotecnologia)**. Universidade Estadual de Feira de Santana. Feira de Santana. 2008.

JÚNIOR, M. C. L. *et al.* Folhas de *Artemisia annua* L.(asterolacea) com atividade antileishmania no tratamento da leishmaniose tegumentar em humanos: *Artemisia annua* L.(asterolacea) leaves with antileishmanial activity in the treatment of tegumentary leishmaniasis in humans. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 12, p. 77764-77784, 2022.

LACERDA G.M. *et al.* Atividade moduladora sobre antibióticos pelo extrato aquoso das folhas de *Bauhinia unguilata* L.Revista Cubana de Plantas Mediciniais. v. 21, n. 3, 2016.

MALINOWSK L. R. L. *et al.* Atividade antimicrobiana dos extratos aquosos e hidroalcolóico de folhas de *Artemesia vulgaris*. **Revista Brasileira Farmacêutica**. v. 88, n. 2, 2007.

MARQUES, D. D. *et al.* Identificação dos metabólitos da espécie *Bauhinia acreana* (Fabaceae). **Scientia Naturalis**, v. 1, n. 5, 2019.

MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**, Edição UFC, Ceará, Brasil, 2009.

OLIVEIRA, J. P. B. **Possível efeito potenciador da *Artemisia annua* na atividade antimicrobiana da preparação *Desinficiens coptidis***. Dissertação (Medicina tradicional chinesa). Universidade do Porto. Patos. 2016.

OLIVEIRA, L. B. S. *et al.* Atividade antifúngica e possível mecanismo de ação do óleo essencial de folhas de *Ocimum gratissimum* (Linn.) sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 18, n. 2, 2012.

OLIVEIRA, V. B.; MEZZOMO, T. R.; MORAES, E. F., Conhecimento e uso de plantas medicinais por usuários de unidades básicas de saúde na região de Colombo, PR. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 22, n. 1, p. 57-64, 2018.

PACHECO BORGES, L.; ALVES AMORIM, V.. METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE PLANTAS. **Revista Agrotecnologia**, v. 11, n. 1, 2020.

PATRÍCIO, K. P. *et al.* O uso de plantas medicinais na atenção primária à saúde: revisão integrativa. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 27, p. 677-686, 2022.

RODRIGUES, S. L.; SILVA, A. R. A; MACÊDO M. A. A. Noni (*Morinda citrifolia* linn.): determinação fitoquímica e potencial antioxidante pelo método DPPH. **Conexões e tecnologias**. v. 11, n. 4, 2017.

SILVA, A. I. *et al.* Perfil fitoquímico de extratos etanólicos e metanólicos do *Croton blanchetianus*. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 24, n. 1, p. 134-142, 2021.

SILVA, L. V. H. **Estudo do efeito inibitório dos óleos essenciais de pimenta de macaco (*piper aduncum*) e pimenta longa (*piper hispidinervum*) contra *Trypanosoma cruzi***. 2015. Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia). Instituto Carlos Chagas. Curitiba. 2015.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia da planta ao medicamento**, 6ª ed. Florianópolis. Editora da UFSC, 2010.

SPRENGER, K.L. *et al.* Atividade ovicida e larvicida do extrato hidroalcoólico de *Artemisia annua* L. sobre *Haemonchus contortus*. **Revista Archives of Veterinary Science**. v. 21, n. 4, 2016.

SPRENGER, L.W. **Utilização de extrato de *Artemisia annua* L. no controle de eimeria em aves e nematódeos gastrintestinais em caprinos**. 2013. Monografia (Pós-graduação em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2013.

VIEIRA, P. N.; NASCIMENTO, S. L. V. Uso irracional e resistência a antimicrobianos em hospitais. **Arq. Cienc. Saúde UNIPAR**, Umuarama, v. 21, n. 3, 2017.

ZANMAARIA, L.S. **Melhoramento de *Artemisia annua* L: Indução de poliploidia, expressão gênica e seleção de genótipos de alto rendimento**. 2016. Monografia (Pós-graduação em Agronomia). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco. 2016.