

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

THAIS PEREIRA LOPES

**PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO
EXTRATO ETANÓLICO FOLHAS DA *Artemisia annua* L.**

Juazeiro do Norte – CE
2018

THAIS PEREIRA LOPES

**PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO
EXTRATO ETANÓLICO FOLHAS DA *Artemisia annua* L.**

Artigo científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Dra. Fabiola Fernandes Galvão Rodrigues

Juazeiro do Norte – CE
2018

THAIS PEREIRA LOPES

**PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO
EXTRATO ETANÓLICO FOLHAS DA *Artemisia annua* L.**

Artigo Científico apresentado à Coordenação do
Curso de Graduação em Biomedicina do Centro
Universitário Leão Sampaio, em cumprimento
às exigências para a obtenção do grau de
bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Dra. Fabiola Fernandes Galvão
Rodrigues

Data de aprovação: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof(a): Dra. Fabiola Fernandes Galvão Rodrigues
Orientador

Prof(a): Dra. Daiany Alves Ribeiro
Examinador 1

Prof(a): Esp. Cicero Roberto Nascimento Saraiva
Examinador 2

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por sempre abençoar todo meu percurso e ter concedido força e coragem para enfrentar os obstáculos.

A toda minha família em especial ao meu filho João Marcos por ser minha motivação diária e passar toda alegria para seguir continuando.

A minha mãe e meu pai por sempre ter confiando em mim, e acreditar que eu conseguiria tudo que almejei, ajudando nas horas mais difíceis e possibilitando que eu realizasse meus sonhos.

Aos meus melhores amigos Iorrana, Danilo e Ana Julia que mesmo com toda distancia imposta entre nossa amizade eu sei que estão sempre comigo, e torcendo por minha felicidade.

Aos meus amigos Vania e Jofry que tive a oportunidade de conhecer na faculdade e hoje são indispensáveis em minha vida, sempre estiverem do meu lado nos piores e melhores momentos.

E por fim a minha orientadora Fabiola que ajudou bastante durante a elaboração desse projeto, sempre disposta a repassar seus conhecimentos, possibilitando o conhecimento de uma nova área.

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

Thais Pereira Lopes¹, Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues²

RESUMO

Na medicina popular é comum o uso de plantas medicinais para tratamento de enfermidades. *Artemisia annua* L. vêm sendo utilizada por apresentar ação contra protozoários, porém e outros microrganismos. Nesse sentido teve como intuito avaliar a atividade antibacteriana através do extrato etanólico das folhas de *Artemisia annua* L.. O estudo foi realizado por obtenção do extrato vegetal que foram analisado 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 pneumoneae*. A atividade moduladora foi determinada frente aos antibióticos gentamicina, amicacina, cefalotina e betalâctâmicos. 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 para as Gram negativas obtiveram resultados <1024 ug/ml. Na atividade moduladora foi observado que o extrato vegetal das folhas de *Artemesia Annua* atua melhor em sinergismo com antibióticos principalmente se utilizados contra espécies Gram positivas. Diante dos resultados foi observado que as folhas de *Artemisia annua* apresentam atividade antimicrobiana significativa que seu extrato vegetal atua com sinergismo associado a antibióticos aumentando sua atividade inibitória.

Palavras chave: *Artemisia annua* L., Bactérias, Atividade antimicrobiana.

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

ABSTRACT

In popular medicine it is common to use medicinal plants for the treatment of diseases. The species *Artemisia annua* L. has been used for presenting action against protozoa, but also has activity against other microorganisms. The present work aims to evaluate the antibacterial activity through the plant extract of the leaves of the species *Artemisia annua* L. The study will be carried out by obtaining the vegetal extract that will be analyzed by photochemical prospecting. The antibacterial activity will be evaluated by the microdilution method using the following bacterial species: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoneae*. The modulatory activity will be determined against the antibiotics gentamicin, amicacin, claudamycin and beta-lactams.

¹Discente do curso de Biomedicina, thaishonorato001@gmail.com, Centro Universitário Doutor Leão Sampaio.

²Docente do curso de Biomedicina, fabiola@leaosampaio.edu.br, Centro Universitário Doutor Leão Sampaio.

The results for microbial activity were considered satisfactory, with a higher action of the plant extract compared to Gram positive strains, especially *S.aureus*, whereas Gram negative results obtained <1024 µg / ml. In the modulating activity it was observed that the leaf extract

of *Artemisia Annua* L. acts better in synergism with antibiotics especially if they are used against Gram positive species. Considering the results obtained, it was observed that the leaves of *Artemisia annua* L. present antimicrobial activity, and the vegetal extract acts with synergism with antibiotics increasing its inhibitory activity.

Key words: Plants, *Artemisia annua* L., Bacterium.

1 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. 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 varias funções como, favorecer coloração a 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 (OLIVERIA 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. O extrato vegetal é obtido principalmente através de solventes orgânicos como água e álcool. Os óleos essenciais tem 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 varias espécies de plantas medicinais usadas pela população destaca-se a *Artemisia annua* L. da família Asteraceae. 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 é o uso irracional de medicação, prescrição errada e dosagem inadequada do antibiótico. Os microorganismos envolvidos nesse processo estão 1

presente 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* pertencente a família a Asteraceae é uma planta pouco estudada, porém os metabolitos 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 artigo científico é avaliar a atividade antibacteriana das folhas de *Artemisia annua* L., elucidando quais substâncias podem ser encontradas em sua composição química.

2. MATERIAS E MÉTODOS

2.1 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).

2.2 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.

Figura 1: Folhas da espécie *Artemisia Annua* L.



Fonte: Próprio autor

2.3 PREPARAÇÃO DO EXTRATO

As folhas de *Artemisia annua* L. foram selecionadas e secas a 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 submetido 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%.

2.3.1 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.

Figura 2: Análise da composição química do extrato vegetal das folhas de *Artemisia annua* L.



Fonte: Próprio autor

2.5 AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA E CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MINIMA

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, esta suspensão foi diluída em caldo BHI a 10 % e volumes de 100 uL foi adicionados e homogeneizados 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 uL 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.

2.6 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 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 uL das soluções de antibióticos (1024 ug/ mL). Houve a realização de seguidas diluições obtendo as concentrações do antibiótico que variam de 512 a 0,5 ug/ mL.

O teste foi 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 resazurina sódica como descrito anteriormente (COUTINHO et al., 2008).

2.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os testes microbiológicos 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.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CONSTITUENTES QUÍMICOS DO EXTRATO VEGETAL

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

Tabela 1: Constituintes químicos presentes nos Extrato Etanólico das folhas de *Artemisia annua* L.

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

EEFS: 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.

Fonte: Próprio autor

Foram encontrados também flavanóides, flavonas e xantonas, que esses compostos são responsáveis por reduzir a disponibilidade de nutrientes aos microorganismos impedindo o seu crescimento (SPRENGER et al., 2016)

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 a divergência de metodologias e material vegetal que foi utilizado.

3.2 AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA E CONCENTRAÇÃO INIBITORIA MINIMA

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) obtiveram uma inibição moderada de 512 ug/mL e *S. aureus* (MR 358) de 64 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 subtilis*. A divergência de cepas utilizadas por ambos os trabalhos é possível ressaltar que as folhas de *Artemisia annua* L. apresenta uma resposta significativo quando submetidas a inibição de bactérias Gram positivas.

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 as bactérias Gram positivas obtidas pelas folhas de *A.annua* L é justificada por a grande 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.aeruginosa* (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.

6

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

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

EEFS: Extrato Etanólico das folhas de *Artemesia annua* L.

Fonte: Próprio autor

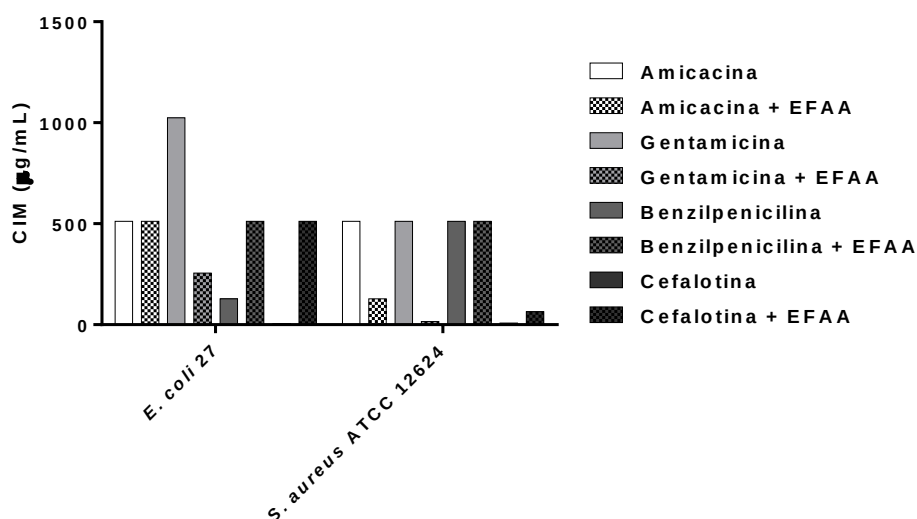
Segundo Malinowski et al (2007), a espécie de *Artemisia vulgaris* da mesma família de *Artemisia annua* L. não apresenta resultados contra cepas bacterianas negativas em ressalva a *E.coli*, a metodologia empregada utilizava-se cilindros metálicos sobre a placa de ágar inoculada com bactéria, esses resultados corrobora com os que foram obtidos já que as CIM foram baixas e as espécies analisadas pertencem a mesma família de plantas medicinais.

7

3.2 ATIVIDADE MODULADORA

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.



Fonte: Próprio autor

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. Mesmos 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 a mesma família Asteraceae.

De acordo com Ferreira et al (2016), que realizou o estudo com *Libidibia ferrea* pertencente a família Fabaceae 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 a família Fabaceae 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 bezilpenicilina apresentou o mesmo resultado de inibição de 512 ug/mL.

De acordo com Colares et al (2018), seus estudos realizados com o extrato vegetal da *Guapira graciliflora* L. da família Nyctaginaceae 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. ungula* 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 antibiótico 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.

4. CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos foi possível identificar a presença de metabolitos secundários de grande relevância como: Flavonas, Flavanoídes, taninos condensados e xantonas. No qual vários estudos apontam como principais substâncias responsáveis por possuírem efeito antimicrobiano, confirmando com o que foi observado já que as folhas de *Artemesia annua* L. apresentaram inibição bacteriana satisfatória.

Os resultados obtidos da CIM evidenciou uma melhor ação da *A.annua* L. frente a cepa de *S.aureus* já nas demais Gram positivas analisadas o efeito antimicrobiano foi menor, porém é importante salientar que *S.aureus* possui maior importância clínica como também tem se tornando multiresistente a vários antibióticos. Já as bactérias Gram negativas estudadas

não apresentaram valores de CIM satisfatórios, sendo necessário novos estudos com metodologias e material vegetal diferentes.

Já na atividade moduladora foi observado que o extrato vegetal das folhas de *Artemesia annua* L., apresentam efeito sinérgico quando utilizado com antibióticos frente a cepa de *S.aureus* e *E.coli*. Porém é notório que a amicacina e gentamicina obtiveram maior atividade moduladora principalmente frente a cepa de *S.aureus*, quando comparadas aos resultados de cefalotina e benzilpenicilina que apresentavam para a espécie efeitos antagônicos com as cepas testadas.

REFERÊNCIAS

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.

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

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 hidroalcoólicos 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 ouridos 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 Medicinais**. 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.

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

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

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

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 Medicinais**. v.18, n.2, 2012.

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.

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.

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.

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.

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

SPRENGER, L.W. **Utilização de extrato de *Artemisia annua* L. no controle de eimeria em aves e nematódeos gastrintestinais em caprinos**. 2013. Monografia (Pos graduação em ciências veterinárias). Universidade Federal de Parana. Curitiba. 2013

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.

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 da Federal de Paraná. Pato Branco. 2016.