

São Carlos
Junho, 2012

Autores

Ana Carolina de Souza Chagas
Márcia Cristina de Sena Oliveira
Pesquisadoras da Embrapa
Pecuária Sudeste,
São Carlos, SP
carolina@cnpse.embrapa.br
marcia@cnpse.embrapa.br

Rodney Alexandre F. Rodrigues
Mary Ann Foglio
Pedro Melillo de Magalhães
Pesquisadores do Centro
Pluri-disciplinar de Pesquisas
Químicas, Biológicas e
Agrícolas, Unicamp
rodney@cpqba.unicamp.br
foglioma@cpqba.unicamp.br
pedro@cpqba.unicamp.br

Parecer sobre a atividade antiparasitária de *Artemisia annua* sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em laboratório e a campo

O problema

O sucesso na pecuária bovina depende da aplicação de práticas adequadas de manejo nutricional, reprodutivo e sanitário. No manejo sanitário, o controle de parasitas é um grande desafio, uma vez que a criação de animais implica inevitavelmente em infestação parasitária. O Brasil possui o segundo maior rebanho bovino do mundo, estimado em 174 milhões de cabeças (ANUALPEC, 2010). O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é considerado o principal parasita responsável por perdas econômicas na pecuária bovina nacional, gerando gastos em torno de 800 milhões de reais com carrapaticidas (FURLONG et al., 2007). O controle utilizando quimioterápicos tem se tornado cada vez menos sustentável por várias razões, tais como altos custos, tempo de eficácia curto, rápido desenvolvimento da resistência, manejo inadequado, desrespeito do tempo de carência e riscos de contaminação do ambiente e dos produtos de origem animal com resíduos carrapaticidas. Em função dessa realidade, a busca por alternativas inovadoras para o controle do carrapato é de grande relevância. Dessa forma, várias pesquisas têm investigado o potencial antiparasitário de extratos vegetais e de seus bioativos sobre *R. (B.) microplus*.

Histórico de atividade antiparasitária de *A. annua*

Artemisia annua L (Asteraceae), alvo do presente estudo, bem como outras espécies do gênero, possui uma lactona sesquiterpênica denominada artemisinina, cuja atividade antimalárica já está comprovada. Além da rápida ação da artemisinina em concentrações nanomolares no controle de *Plasmodium* spp. (CREEK et al., 2005; FERREIRA et al., 2006), o gênero *Artemisia* também tem apresentado efeito sobre nematoides gastrintestinais. Doses de 2 a 30 g de *Artemisia herba-alba* foram fornecidas para caprinos artificialmente infectados por

Haemonchus contortus e observou-se redução do número de ovos por grama de fezes (OPG), de adultos no abomaso, bem como de lesões histológicas ou alterações sanguíneas (IDRIS et al., 1982). Em ovelhas que receberam o extrato bruto etanólico e o extrato metanólico de *Artemisia brevifolia* por 14 dias, a 3 g/kg de

Foto: Ana Carolina Souza Chagas



peso vivo (pv), detectou-se 67% e 62% de redução do OPG, respectivamente (IQBAL et al., 2004). Os extratos bruto aquoso e etanólico de *Artemisia absintium* também foram administrados via oral em ovinos infectados, e observou-se elevada redução do OPG: 80% na dose de 2 g/kg pv no extrato aquoso e 90% a 2 g/kg pv e 83% a 1 g/kg pv no extrato etanólico (TARIQ et al., 2009). Ovelhas que receberam o extrato de bicarbonato de sódio de *A. annua* (2 g/kg pv) e a artemisinina (100 mg/kg PV) tiveram redução do OPG de 16% e 31%, respectivamente, enquanto o OPG do grupo controle aumentou 96% (CALA et al., 2012). A artemisinina tem sido extensivamente investigada quanto ao seu mecanismo de ação, aspectos clínicos e farmacológicos em nematoides gastrintestinais, bem como em monogêneos e trematódeos (KEISER et al., 2006, 2008; EKANEM e BRISIBE, 2010). Acredita-se que o conhecimento gerado poderá esclarecer a existência de aplicabilidade no controle de outros parasitas de impacto na pecuária. Desse modo, justifica-se este estudo, uma vez que não foi encontrada literatura sobre a atividade antiparasitária de *A. annua* em *R. (B.) microplus*.

Objetivo do Estudo

Avaliar a ação dos extratos de *A. annua* sobre *R. (B.) microplus*, bem como identificar e quantificar seus constituintes, gerando conhecimento inédito quanto à possibilidade de uso desse fitoterápico contra ectoparasitas.

Metodologia

Obtenção dos extratos de *A. annua* para os testes *in vitro* (laboratoriais)

Utilizou-se toda a parte aérea da planta, genótipo Ch x Viet55, selecionado e cultivado no Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) da UNICAMP (MAGALHÃES et al., 1997). Para a extração dos princípios ativos utilizou-se o método clássico empregando-se 1 kg de material vegetal seco e moído em moinho de facas. Esse material foi submetido à extração com etanol 96° GL, à temperatura ambiente, com o auxílio de agitação mecânica (3 x de 1 ½ h). Os extratos obtidos foram filtrados e concentrados,

gerando o extrato bruto (EBC), que foi submetido à evaporação em rotaevaporador sob vácuo a 45 °C. Desse extrato foram produzidos a frio outros quatro extratos, conforme Simões et al. (2004). Para tanto, utilizaram-se diferentes solventes para extração não sequencial em: 1) água, seguida de liofilização; 2) água basificada com bicarbonato de sódio a 0,1%; 3) etanol 96 °GL, seguida de concentração em rotaevaporador; 4) diclorometano, seguida de concentração em rotaevaporador.

Quantificação de bioativos dos extratos de *A. annua*

A quantificação de bioativos dos extratos de *A. annua* foi realizada no CPQBA, no laboratório de fitoquímica. Os extratos foram suspensos com metanol grau cromatográfico, filtrados e analisados por cromatografia líquida de alta eficiência - Índice de Refração (CLAE-IR). No preparo da fase móvel, utilizou-se mistura de solventes (água: metanol) na proporção de 60:40, que foi filtrada e sonificada sob vácuo. Para o preparo da curva analítica, pesaram-se 65 mg dos extratos, que foram diluídos em 25 mL de metanol, obtendo-se a concentração de 2,444 µg/mL, com padrão analítico com 94% de pureza. Os sete pontos da curva analítica foram injetados em triplicata, com concentrações de 50 a 1250 µg/mL, obtendo-se a curva através do software Empower®. Utilizou-se cromatógrafo equipado com detector de ionização e coluna capilar CN 100A° Luna Phenomenex® (250 mm x 4,6 mm x 5 µm), volume de injeção de 20 µL e fluxo de 1 mL/min. A quantificação do teor de artemisinina (tempo de retenção de 7 min) e deoxiartemisinina (6,5 min) dos extratos utilizou a metodologia de Celeghini et al. (2009).

Sensibilidade das larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em papéis impregnados

Utilizaram-se larvas de *R. (B.) microplus* de 14 a 21 dias provenientes de fêmeas ingurgitadas coletadas de bovinos da Embrapa Pecuária Sudeste (CPPSE). Os extratos foram testados em 5 concentrações e em triplicata. Os extratos etanólicos foram solubilizados em Tween 80 a 0,3% e etanol a 10%, sendo um dos controles constituído por água destilada e o outro por água destilada e demais

solventes nas mesmas concentrações. Os testes foram realizados com papel filtro impregnado. Para a execução do teste, contagem das larvas e cálculo da mortalidade média, adotou-se a metodologia descrita por Chagas et al. (2002).

Sensibilidade das fêmeas ingurgitadas em teste de imersão

Fêmeas ingurgitadas sem resíduo carrapaticida foram coletadas dos bovinos do CPPSE. Como a eficácia esperada não foi obtida com larvas, foram definidas concentrações maiores para este teste. Os grupos homogêneos de 10 fêmeas foram imersos por 5 minutos nos extratos vegetais (DRUMMOND et al., 1973). As fêmeas foram secas e acondicionadas em estufa climatizada (27°C e UR > 80%) em placas de Petri. Após o período de postura, os ovos foram pesados, transferidos para seringas vedadas e acondicionados em estufa, para posterior verificação da eclodibilidade das larvas. Foram utilizados os mesmos solventes, controles, número de concentrações e repetições supracitados. Os limites de toxicidade dos solventes já haviam sido determinados (CHAGAS et al., 2003). A porcentagem de eficácia dos extratos foi calculada segundo Drummond et al. (1973). Os resultados dos testes *in vitro* foram submetidos à análise estatística usando o Probit do Programa SAS para determinação da CE_{50} e da CE_{99} . Os dados foram comparados usando-se o teste de Tukey.

Avaliação de *A. annua* em bovinos naturalmente infestados

Foram selecionadas 20 novilhas da raça Canchim com peso médio de 280 kg divididas em dois grupos experimentais. Os animais permaneceram sem tratamento carrapaticida por 40 dias antes do experimento. O grupo tratado foi mantido em piquete sub-dividido em 12 sub-piquetes com pastagem de *Panicum maximum*, manejadas em sistema rotacionado a cada 3 dias. Os animais receberam durante 30 dias 200 g de folhas moídas e secas de *A. annua* também oriunda do CPQBA, misturadas em 100 g de soja + 300 g de milho/animal em cocho coletivo, além de água e sal mineral *ad libitum*. Também foi realizada a

quantificação da artemisinina dessa nova amostra de *A. annua* conforme metodologia já descrita. O grupo controle foi mantido em piquete sob as mesmas condições, mas sem adição de *A. annua*. Os animais foram alocados em ordem decrescente pela média de 3 contagens, realizadas nos três dias anteriores ao tratamento, de fêmeas ingurgitadas presentes no lado esquerdo. Também foram realizadas contagens nos dias 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 e 56 pós-tratamento. Realizou-se avaliação da infestação por larvas de carrapato nas pastagens dos dois grupos experimentais pela técnica do quadrado (um m²), selecionados aleatoriamente em cada piquete (BASSO et al., 2005). Todas as hastes de gramínea dentro dos quadrados foram coletadas, e a altura das mesmas foi medida com trena. O material vegetal de cada piquete foi acondicionado em sacos plásticos e colocado em estufa a 85°C por 3h. Assim, as larvas mortas foram recolhidas e contadas. As coletas ocorreram nos 24 piquetes a cada 14 dias. Para acompanhamento da saúde dos animais durante o período experimental, foram feitas 2 coletas de fezes para contagem de OPG e coprocultura e 2 pesagens e 2 coletas de sangue para monitoramento do volume globular. Os valores das contagens de carrapatos foram transformados em $\log(x + 1)$ e submetidos à análise de variância em esquema fatorial de parcela subdividida no tempo, e as médias foram confrontadas pelo teste t ($p < 0,05$).

Resultados

Testes *in vitro*

As análises químicas dos quatro extratos vegetais permitiram a quantificação da artemisinina, à qual se tem atribuído ação antiparasitária, e da deoxiartemisinina, outra lactona sesquiterpênica presente nos extratos de *A. annua*. Detectou-se que o extrato diclorometano apresentou maior quantidade de artemisinina e deoxiartemisinina, seguido pelo extrato etanólico (Tabela 1).

Tabela 1. Quantificação de artemisinina e deoxiartemisinina ($\mu\text{g}/\text{mL}$) nos extratos aquoso, bicarbonato de sódio, etanólico e diclorometano de *Artemisia annua* via cromatografia líquida de alta eficiência.

Extrato	Artemisinina	Deoxiartemisinina
Aquoso	108,627	38,068
Bicarbonato	93,476	37,532
Etanólico	989,985	289,054
Diclorometano	1343,929	316,838

Todas as larvas permaneceram vivas após a exposição aos extratos em todas as concentrações avaliadas. No teste de imersão não foi observada eficácia significativa nos extratos aquoso, bicarbonato, etanólico e diclorometano. No EBC foi possível calcular as CE_{50} e CE_{90} ($P \geq 0,05$): 130,6 mg/mL (115,9-152,7) e 302,9 mg/mL (238,6-436,0), respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Eficiência reprodutiva (ER) e eficácia do extrato (EE) em fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* submetidas ao teste de imersão nos extratos de *A. annua* (mg/mL): extrato bruto concentrado (EBC), aquoso, bicarbonato de sódio, etanólico e diclorometano.

Extrato	Concentrações	ER	EE	*
EBC	10	95	0	a
	20	95	0	a
	40	91	4,2	a
	80	68	28,4	b
	140	45	52,6	c
Aquoso	40	94	0,7	a
	80	92	2,7	a
	160	86	9,2	a
	220	88	6,8	a
	280	83	12,5	a
Bicarbonato	20	85	10,7	a
	40	78	17,3	a
	80	80	15,7	a
	160	84	11,7	a
	220	75	21	a
Etanólico	40	81	14,1	a
	80	65	31	a
	160	92	2,8	a
	220	78	17,5	a
	280	76	19,4	a
Diclorometano	20	88	6,8	a
	40	86	9	a
	80	75	18	a
	160	82	13,1	a
	220	91	3,5	a

* Letras diferentes na mesma coluna representam diferença estatística ($p \geq 0,5$) dentro do mesmo extrato.

Testes *in vivo*

Nos resultados da média inicial e das 9 contagens não foi observada diferença significativa entre as médias de fêmeas ingurgitadas contadas no lado esquerdo dos animais do grupo tratado (46, 2, 18, 15, 33, 23, 29, 22, 51, 41 e 30) e do grupo controle (47, 4, 14, 10, 35, 23, 35, 14, 32, 58 e 21) (Figura 1). As médias das 4 contagens de larvas nos piquetes também não diferiram entre si: grupo tratado (72, 87, 5, 78) e grupo controle: (59, 82, 6, 52). A altura das gramíneas nos respectivos grupos foi em média de 67 e 64 cm durante o período experimental. A análise fitoquímica demonstrou presença de artemisinina a uma concentração de 0,95% p/p ($\pm 0,06$) ou 479 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Isso significa que em cada 100 g de material vegetal seco, existiam 0,95 g de artemisinina. Como cada animal recebia cerca de 200 g de *A. annua* por dia, pode-se estimar que eles ingeriram cerca de 1,9 g de artemisinina por dia.

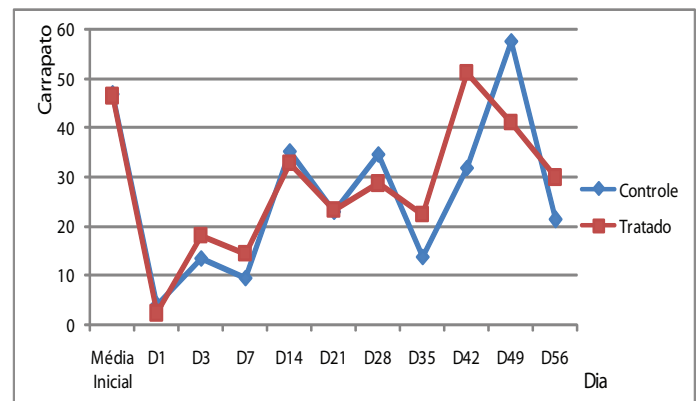


Figura 1. Média de fêmeas ingurgitadas (dia 1 ao dia 56) presentes somente do lado esquerdo de cada animal, contadas no grupo controle e no grupo tratado com 200 g de folhas secas de *Artemisia annua*/animal/dia, durante 30 dias.

O volume globular médio dos animais nos dias -7, 28 e 56 foram de 33,5, 35,1 e 37,2% no grupo controle, e de 33,0, 35,6 e 34,9% no grupo tratado, respectivamente. Com relação ao OPG, a média nos dias -7, 28 e 56 foram de 310, 215 e 185 no controle e de 155, 55 e 255 no tratado. A coprocultura geral realizada para todos os grupos apresentou, no dia -7, 72% de *Haemonchus* sp., 13% de *Oesophagostomum* sp. e 15% de *Cooperia* sp. e, no dia 56, 79% de *Haemonchus* sp., 7% de *Oesophagostomum* sp. e 14% de *Cooperia* sp.

Discussão

Apesar das drogas derivadas de artemisinina terem mostrado efeito sobre uma variedade de endoparasitas, tais como nematoides gastrintestinais, *Fasciola hepatica*, *Plasmodium* spp., *Coccidia* spp., *Babesia* spp., *Leishmania* spp., *Neospora caninum* e *Schistosoma* spp, além de estar sendo testada com sucesso no tratamento do câncer (FERREIRA, 2007), sua ação antiparasitária sobre *R. (B.) microplus* não foi comprovada.

Os quatro extratos de *A. annua* (Tabela 1) não tiveram eficácia nas concentrações avaliadas no teste *in vitro* com larvas. Esperava-se obter melhor resultado com o diclorometano por conter maior quantidade de artemisinina (em função de sua afinidade por esse solvente), o que justificaria atividade biológica mais significativa. O fracionamento do EBC em diferentes extratos pode ter interferido nos resultados, ou seja, substâncias que agiram sinergicamente quanto à ação antiparasitária foram separadas nos quatro extratos, obtendo-se eficácias menores em relação ao EBC (Tabela 2), no qual todas as substâncias estavam presentes, bem como maior quantidade de artemisinina. No teste *in vivo* não foi observada redução significativa da carga parasitária dos bovinos tratados. Optou-se por avaliar a planta seca misturada ao alimento, pois essa pareceu ser a forma mais prática de uso futuro da tecnologia, caso os resultados fossem positivos. A quantificação de *A. annua* administrada demonstrou elevada concentração de artemisinina (1,9 g/200 g), já que esse genótipo foi selecionado no CPQBA para esse objetivo. A inexistência de baias individuais inviabilizou a medida do consumo individual, mas o objetivo prático do trabalho foi alcançado, já que a redução da carga parasitária de alguns animais provocaria a redução da média. No estudo de Cala et al. (2012), os ovinos consumiram 100 mg/kg pv em dose única e apresentaram 31% de redução do OPG, enquanto no grupo controle o OPG subiu 96%. No presente trabalho, a ingestão de 1,9 g em animais de 280 kg representa uma dose de 6,8 mg/kg pv por 30 dias consecutivos. Embora a dose possa parecer baixa em relação ao experimento de ovinos, o volume de *A. annua* utilizado durante o período experimental foi grande (60 kg para 10 animais) e nos parece inviável o fornecimento de dose superior à avaliada.

Após a ineficácia verificada *in vitro*, realizou-se levantamento quanto ao modo de ação da artemisinina, pois uma ação indireta, ou seja, não por contato com a cutícula e sim pela ingestão, justificaria a continuidade do estudo por meio de experimentos a campo. Derivados desprovidos de ligação peróxido, como a deoxiartemisinina, são considerados completamente inativos sobre parasitas. Dessa forma, o agrupamento fundamental que confere atividade à artemisinina, e mesmo às substâncias sintetizadas, é a ligação peróxido (KLAYMAN, 1985; MESHINICK et al., 1996). Os endoperóxidos são classificados como agentes esquizotocidas sanguíneos no caso do controle de *Plasmodium* spp. na malária (TARANTO et al., 2006). Supostamente a artemisinina exerce o seu efeito reagindo com os grupos heme das moléculas de hemoglobina digeridas pelos parasitas, alterando a estrutura celular e suas funções, através dos radicais livres derivados da artemisinina e, com isso, prejudica o crescimento e a reprodução dos parasitas (WRIGHT; WARHURST, 2002 *apud* FERREIRA; GONZALEZ, 2008). Dessa forma, pode-se afirmar que a ação da artemisinina ocorre em duas etapas pós-ingestão: primeiro haveria a geração do radical livre e, em seguida, a alquilação de proteínas específicas e fundamentais para a sobrevivência do parasita (SILVA, 2006). Com efeito, essa geração de radicais livres dependeria do íon ferro presente no grupo heme, sendo essa a etapa principal do mecanismo de ação, pois a formação do complexo entre o grupo heme e a artemisinina provocaria o rompimento da ponte endoperóxido por meio de redução catalítica (LA-SCALEA et al., 2007). Entretanto, além do mecanismo alimentar, que permite o rompimento da ponte peróxido, outros também podem estar envolvidos, pois constatou-se ação da artemisinina no parasita não hematófago de camundongo *Echinostoma caproni* (KEISER e UTZINGER, 2007). Se o modo de ação da artemisinina sobre o parasita fosse indireta, ou seja, prejudicando sua reprodução, por exemplo, sua eficácia sobre as fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* estaria condicionada à sua ingestão através do sangue. O mesmo foi afirmado para nematoides gastrintestinais em pequenos ruminantes (FERREIRA et al., 2006).

Conclusão

Os métodos *in vitro* seriam inadequados para a efetiva avaliação de *A. annua* sobre *R. (B.) microplus* se a ingestão fosse o processo que permitisse a ação da artemisinina nesse parasita. Realizou-se, portanto, experimento *in vivo* administrando-se *A. annua* com elevado teor de artemisinina via alimentação. Foi possível então concluir que o consumo de *A. annua* na dose avaliada não demonstrou atividade sobre *R. (B.) microplus* em bovinos naturalmente infestados, elucidando a hipótese de ação indireta dessa espécie vegetal.

Agradecimentos

Apoio financeiro: Embrapa.

Colaboradores do projeto: Márcio Dias Rabelo, técnico do Laboratório de Sanidade Animal do CPPSE, Cynthia Sanches Georgetti e Karina Alves Feitosa, estudantes de graduação do Centro Universitário Central Paulista, São Carlos (SP), Ives Charlie da Silva, estudante de pós-graduação da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho de Jaboticabal (SP), Camila Olivo de Carvalho, estudante de pós-graduação em Biologia Geral e Aplicada, Universidade Estadual Paulista – UNESP Botucatu, Ilza Maria de Oliveira Sousa do CPQBA, Unicamp.

Referências

- ANUALPEC. Anuário da pecuária brasileira. São Paulo: Angra FNP Pesquisas. 2010, 360p.
- BASSO, L. M. S.; MONTEIRO, A. C.; BELO, M. A. A.; SOARES, V. E.; GARCIA, M. V.; MOCHI, D. A. Controle de larvas de *Boophilus microplus* por *Metarhizium anisopliae* em pastagens infestadas artificialmente. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 6, p. 595-600, 2005.
- CALA, A. C.; CHAGAS, A. C. S.; FERREIRA, J. F. S.; GONZALEZ, J. M.; RODRIGUES, R. A. F.; FOGGIO, M. A.; OLIVEIRA, M. C. S.; SOUSA, I. M. O.; MAGALHÃES, P. M.; BARIONI-JÚNIOR, W. Anthelmintic activity of *Artemisia annua* L. extracts and artemisinin in sheep naturally infected with gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, no prelo. 2012.
- CELEGHINI, R. M. S.; SOUSA, I. M. O.; SILVA, A. P.; RODRIGUES, R. A. F.; FOGGIO, M. A. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica por CLAE-IR para determinação de Artemisinina em *Artemisia annua* L. **Química Nova**, v. 32, p. 875-879, 2009.
- CHAGAS, A. C. S.; PASSOS, W. M.; PRATES, H. T.; LEITE, R. C.; FURLONG, J.; FORTES, I. C. P. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n. 5, p. 247-253, 2002.
- CHAGAS, A. C. S.; LEITE, R. C.; FURLONG, J.; PRATES, H. T.; PASSOS, W. M. Sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a solventes. **Ciência Rural**, v. 33, p. 109-114, 2003.
- CREEK, D. J.; CHIU, F. C. K.; PRANKED, R. J.; CHARMAN, S. A.; CHARMAN, W. N. Kinetics of ironmediated artemisinin degradation: effect of solvent composition and iron salt. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 94, p. 1820-1829, 2005.
- DRUMMOND, R. O.; ERNEST, S. E.; TREVINO, J. L.; GLADNEY, W. J.; GRAHAM, O. H. *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: laboratory tests of insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 66, n. 1, p. 130-133, 1973.
- EKANEM, A. P.; BRISIBE, E. A. Effects of ethanol extract of *Artemisia annua* L. against monogenean parasites of *Heterobranhus longifilis*. **Parasitology Research**, v. 106, p. 1135-11399, 2010.
- FERREIRA, J. F.; RITCHEY, K. D.; CASSIDA, K. A.; TURNER, K. E.; GONZALEZ, J. M. Agrotechnological aspects of the anti-malarial plant *Artemisia annua* and its potential use in animal health in Appalachia. In: INTERNATIONAL CENTER FOR AGRICULTURAL RESEARCH IN DRY AREAS, INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PERFUME, AROMATIC AND MEDICINAL PLANTS, 2006, Jerba, Tunisia. **Proceedings...** Jerba: CGIAR, 2006. p. 797-804.
- FERREIRA, J. F. Nutrient Deficiency in the Production of Artemisinin, Dihydroartemisinic Acid, and Artemisinic Acid in "*Artemisia annua*" L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 1686-1694, 2007.
- FERREIRA, J. F.; GONZALEZ, J. M. Chemical and biological stability of artemisinin in cow rumen fluid and its kinetics in goats (*Capra hircus*). **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 17, n. 1, p. 103-109, 2008.

FURLONG, J.; Martins, J. R.; Prata, M. C. A. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar? **A Hora Veterinária**, v.159, p. 26-32, 2007.

IDRIS, U. A.; ADAM, S. E.; TAROUR, G. The anthelmintic efficacy of *Artemisia herba-alba* against *Haemonchus contortus* infection in goats. **Animal Health Quarterly**, v. 22, p. 138-143, 1982.

IOBAL, Z.; LATEEF, M.; ASHRAF, M.; JABBAR, A. Anthelmintic activity of *Artemisia brevifolia* in sheep. **Journal of Ethnopharmacology, Limerick**, v. 93, p. 265–268, 2004.

KEISER, J.; Shu-Hua, X., Tanner, M.; Utzinger, J. Artesunate and artemether are effective fasciolicides in the rat model and in vitro. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 57, p. 1139-1145, 2006.

KEISER, J.; RINALDI, L., VENEZIANO, V.; MEZZINO, L.; TANNER, M.; UTZINGER, J.; CRINGOLI, G. Efficacy and safety of artemether against a natural *Fasciola hepatica* infection in sheep. **Parasitology Research**, v. 103, p. 517–522, 2008.

KEISER, J.; UTZINGER, J. Food-borne trematodiasis: current chemotherapy and advances with artemisinins and synthetic trioxolanes. **Trends in Parasitology**, v. 23, n. 11, p. 55 – 562, 2007.

KLAYMAN, D.L. Qinghaosu (Artemisinin): na antimalarial drug from China. **Science**, v. 228, p. 1049-1055, 1985.

LA-SCALEA, M. A.; SILVA, H. S. R. C.; FERREIRA, E. I. Redução voltamétrica de artemisinina e sua interação com grupo heme (hemina). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 43, n. 3, p. 371-383, 2007.

MAGALHÃES, P. M.; DEDRUNNER, N.; DELABAYS, N. New hybrid lines of antimalarial species *Artemisia annua* L. guarantee its growth in Brazil. **Ciência e Cultura**, v. 49, p. 413-415, 1997.

MESHNICK, S. R.; JEFFORD, C. W.; POSNER, G. H.; AVERY, M. A.; PETERS, W. Second-generation antimamalarial endoperoxides. **Parasitology Today**, v. 12, p. 79-82, 1996.

SILVA, H. S. R. C. **Antimaláricos potenciais: pró-fármacos poliméricos e formas de liberação controlada de artemisinina**. 2006. 209 f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2004. p. 1102. 2004.

TARANTO, A. G.; CARNEIRO, J. W. M.; ARAUJO, M. T.; SILVA, B. M. Estudo sobre o mecanismo de ação da artemisinina e dos endoperoxídeos, a mais nova classe de agentes antimaláricos. **Sitientibus. Revista da Universidade Estadual de Feira de Santana**, v. 34, p. 47-58, 2006.

TARIQ, K. A.; CHISHTI, M. Z.; AHMAD, F.; SHAWL, A. S. Anthelmintic activity of extracts of *Artemisia absinthium* against ovine nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 160, p. 83–88, 2009.

Circular Técnica, 69

Embrapa Pecuária Sudeste
Endereço: Rod. Washington Luis, km 234, São Carlos, SP
Fone: (16) 3411-5600
Fax: (16) 3361-5754
Home Page: www.cppse.embrapa.br

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento

1ª edição on-line (2012)



Comitê de publicações

Presidente: Ana Rita de Araujo Nogueira.
Secretário-Executivo: Simone Cristina Méo Niciura.
Membros: Ane Lisye F.G. Silvestre, Maria Cristina Campanelli Brito, Milena Ambrósio Telles, Sônia Borges de Alencar.

Expediente

Editoração eletrônica: Maria Cristina C. Brito.