

CENTRO UNIVERSITÁRIO SAGRADO CORAÇÃO

JULIANA MARQUES DA SILVA

AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA DA *Artemisia absinthium* L, *Ruta graveolens* L, E *Zingiber officinale* FRENTE AO *Trypanosoma cruzi*

BAURU

2022

JULIANA MARQUES DA SILVA

AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA DA *Artemisia absinthium* L, *Ruta graveolens* L, E *Zingiber officinale* FRENTE AO *Trypanosoma cruzi*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Farmácia - Centro Universitário Sagrado Coração.

Orientador: Prof. Dr. Danilo Antonini Alves.

BAURU

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

S5861a	<p>Silva, Juliana Marques da</p> <p>Avaliação de atividade antiparasitária da <i>Artemisia absinthium L</i>, <i>Ruta graveolens L</i>, E <i>Zingiber officinale</i> frente ao <i>Trypanosoma cruzi</i> / Juliana Marques da Silva. -- 2022. 27f. : il.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Danilo Antonini Alves</p> <p>Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Centro Universitário Sagrado Coração - UNISAGRADO - Bauru - SP</p> <p>1. Antiparasitário. 2. Doenças Tropicais. 3. Plantas Medicinais. 4. Tripanossomíase. I. Alves, Danilo Antonini. II. Título.</p>
--------	---

JULIANA MARQUES DA SILVA

AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA DA *Artemisia absinthium* L, *Ruta graveolens* L, E *Zingiber officinale* FRENTE AO *Trypanosoma cruzi*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Farmácia - Centro Universitário Sagrado Coração.

Aprovado em: ___/___/___.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Danilo Antonini Alves (Orientador)
Centro Universitário Sagrado Coração

Prof.^a M.^a Thainá Valente Bertozzo
Centro Universitário Sagrado Coração

AGRADECIMENTOS

Finalizado este trabalho, agradeço imensamente a Deus por ter iluminado o meu caminho.

Presto meus mais sinceros agradecimentos aos meus pais Carlos e Tânia, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

Ao meu professor e amigo Danilo Antonini, que com muita paciência e serenidade me orientou. Sempre compreensivo, me incentivando e apoiando diariamente, sendo um grande exemplo para mim.

Agradeço a minha professora Thainá Bertozzo, que não mediu esforços para que este trabalho fosse realizado com sucesso.

Agradeço a minha coordenadora e professora Ana Paula Trombone, que foi sempre muito compreensiva e me apoiou em todos os momentos durante a graduação.

Aos meus queridos amigos e colegas que tanto contribuíram para minha formação durante estes quatro anos de graduação.

RESUMO

Para garantir a sobrevivência da espécie no passado, o homem precisava encontrar seus recursos medicinais na natureza, e com o decorrer dos séculos, o conhecimento que era adquirido foi sendo difundido para as gerações futuras. Atualmente, mesmo com os incontáveis avanços da medicina, é um desafio garantir para a população o acesso a todos os medicamentos necessários. Junto a isso, no Brasil, todos os anos milhões de pessoas são acometidas pelas doenças tropicais negligenciadas. A doença de Chagas ainda é um problema a ser superado. Causada pelo *Trypanosoma cruzi*, protozoário que circula através de vetores conhecidos como barbeiros. Neste contexto, o presente trabalho visou investigar a presença de atividade tripanossomicida da *Artemísia absinthium* L, *Ruta graveolens* L, e *Zingiber officinalis*., três plantas medicinais comumente utilizadas no Brasil, além de evidenciar a importância dos estudos multidisciplinares. Através do estudo realizado, foi possível observar uma significativa atividade tripanossomicida nos extratos, visto que o crescimento das formas epimastigotas nos microtubos Eppendorf foi igual a zero na maioria das amostras. Porém, é importante ressaltar que, para o desenvolvimento de novos medicamentos, os estudos em relação aos alvos terapêuticos e mecanismos de ação de cada planta precisam ser aprofundados.

Palavras-chave: Antiparasitário. Doenças Tropicais. Plantas Mediciniais. Tripanossomíase.

ABSTRACT

To ensure the survival of the species in the past, man needed to find his medicinal resources in nature, and over the centuries, the knowledge that was acquired was spread to future generations. Currently, even with the countless advances in medicine, it is a challenge to guarantee the population's access to all the necessary medicines. Along with this, in Brazil, every year millions of people are affected by neglected tropical diseases. Chagas disease is still a problem to be overcome. It is caused by *Trypanosoma cruzi*, a protozoan parasite that circulates through vectors known as vinchuca bug or kissing bug. In this context, the present work aimed to investigate the presence of trypanosomicidal activity of *Artemisia absinthium L*, *Ruta graveolens L*, and *Zingiber officinalis*. Three medicinal plants commonly used in Brazil, besides highlighting the importance of multidisciplinary studies. Through the study, it was possible to observe a significant trypanosomicidal activity in the extracts, since the growth of epimastigotes forms in Eppendorf Microtubes was equal to zero in most samples. However, it is important to emphasize that, for the development of new drugs, studies regarding the therapeutic targets and action mechanisms of each plant need to be deepened.

Keywords: Antiparasitic. Tropical Diseases. Medicinal Plants. Trypanosomiasis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Diferentes Formas do <i>Trypanosoma cruzi</i>	14
Figura 2 - Ciclo Biológico do <i>Trypanosoma cruzi</i>	15
Figura 3 - <i>Artemisia absinthium</i> L.....	16
Figura 4 - <i>Ruta graveolens</i> L.....	17
Figura 5 - Rizomas de <i>Zinziber officinale</i>	19

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Massa Em Gramas Das Placas De Petri Vazias.....	20
Tabela 2 - Massa Em Gramas Das Placas De Petri Após A Evaporação Dos Solventes.....	20
Tabela 3 – Quantidade em µl para a pipetagem de 0,5mg de extrato.....	21
Tabela 4 – Identificação Dos Microtubos Eppendorf.....	21
Tabela 5 – Massa Em mg/mL De Cada Extrato.....	22
Tabela 6 – Tabela 6. Crescimento Das Formas Epimastigotas.....	23

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 JUSTIFICATIVA.....	12
3 OBJETIVOS.....	12
3.1 Objetivo geral.....	12
3.2 Objetivos específicos.....	12
4 REVISÃO DA LITERATURA.....	13
5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
6 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	22
7 CONCLUSÃO.....	24
REFERÊNCIAS.....	25
APÊNDICE A – QUESTIONÁRIO.....	27
ANEXO A – TERMO.....	28

1 INTRODUÇÃO

O uso de espécies vegetais bioativas para curar as mais diversas enfermidades está presente na história da humanidade desde os tempos antigos. Para garantir a sobrevivência da espécie, os recursos necessários para o homem eram encontrados somente na natureza, como alimentos, armas, ferramentas, materiais de construção e ervas medicinais. Com o decorrer dos séculos, o conhecimento empírico que era adquirido sobre as propriedades curativas das plantas foi sendo difundido oralmente para as futuras gerações até o aparecimento da escrita. Deste momento em diante foram produzidos diversos manuscritos sobre a medicina tradicional, como os registros de Hipócrates, Galeno, e Dioscórides, pai da farmacognosia, que descreveu aproximadamente 600 espécies de plantas utilizadas na medicina (ROCHA *et al.*, 2015 (b)).

No Brasil, o uso das plantas para fins medicinais é cultural, não se limitando apenas às populações dos campos e florestas do país. É possível encontrar frequentemente diversas plantas sendo comercializadas nas ruas, feiras e mercados das grandes cidades (DA NÓBREGA ALVES, 2008). Além disso, a Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece que grande parte da população em países em desenvolvimento depende exclusivamente das plantas medicinais para cuidar da saúde, devido a inacessibilidade dos medicamentos alopáticos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Embora façam parte das diretrizes do Sistema Único de Saúde (SUS) desde 1990, os conceitos de universalidade, integralidade e equidade (MATTA, 2007), em regiões mais afastadas ainda é um desafio garantir para a população o acesso a todos os medicamentos necessários, sendo a menor prevalência de acesso na região Norte. O principal motivo é a indisponibilidade do medicamento no serviço público de saúde (DRUMMOND *et al.*, 2018; BOING, 2013).

Paralelo a isso, milhões de pessoas em condições menos favorecidas são afetadas pelas Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) todos os anos, devido aos aspectos geográficos, ambientais, e socioculturais do Brasil. Dentre as DTNs mais comuns, podemos citar a dengue, leishmaniose, tuberculose, hanseníase, malária, esquistossomose, raiva, e a doença de Chagas. Porém, os medicamentos desenvolvidos para tratar tais enfermidades ainda são bastante limitados devido a carência de investimentos neste campo de pesquisa. Além disso, muitos deles apresentam alta toxicidade para o paciente, e muitas das cepas existentes, apresentam resistência aos fármacos disponíveis (DIAS, 2013).

A doença de Chagas, ou tripanossomíase americana, apesar de descoberta em 1909 pelo sanitariano brasileiro Carlos Chagas, ainda é um problema a ser superado (MASSARANI, 2009). Segundo a Organização Pan-Americana de Saúde, o número estimado de indivíduos contaminados é de 6 a 8 milhões, com registros de mais de 10 mil óbitos a cada ano devido as complicações da doença (OPAS, 2021). Causada pelo *Trypanosoma cruzi*, protozoário caracterizado pela presença de flagelo e cinetoplasto, a doença circula através de vetores triatomíneos, conhecidos popularmente como barbeiros (DE SOUSA LIMA, 2019; VINHAES, 2000).

Os triatomíneos se assemelham muito aos percevejos, apresentando cabeça, tórax e abdômen. A cabeça apresenta antenas, e a região torácica é caracterizada pelas pernas e um par de asas (JURBERG, 2014).

Neste contexto, considerando os problemas de saúde enfrentados no país, o presente trabalho visa contribuir como fonte de pesquisa futuramente, investigando a presença de atividade tripanossomicida em três plantas medicinais comumente utilizadas no Brasil, além de evidenciar a importância dos estudos multidisciplinares, aliando a farmacognosia, parasitologia e etnobotânica.

2. JUSTIFICATIVA

Para tratar a doença de Chagas, só existem dois medicamentos, sendo eles o Nifurtimox, que teve sua comercialização interrompida no Brasil, e o Benzonidazol. Dessa forma, é importante investigar a presença da atividade tripanossomicida das plantas medicinais que são comumente utilizadas no Brasil e aprimorar os estudos já existentes, buscando identificar novas substâncias de interesse farmacológico para a tripanossomíase.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

O objetivo geral do presente trabalho é avaliar a atividade antiparasitária dos extratos vegetais da *Artemisia absinthium* L, *Ruta graveolens* L, e *Zingiber officinalis* frente ao *Trypanosoma cruzi* em meio de cultura 199.

3.2. Objetivos específicos

Fazem parte dos objetivos específicos realizar o cultivo *in vitro* da forma epimastigota do parasita, extrair os compostos farmacológicos da *Artemísia absinthium* L, *Ruta graveolens* L, e *Zingiber officinalis*, avaliar a concentração dos constituintes extraídos, e avaliar a atividade antiparasitária dos extratos vegetais sobre o *Trypanosoma cruzi* em meio de cultura 199.

4. REVISÃO DA LITERATURA

4.1 DOENÇA DE CHAGAS

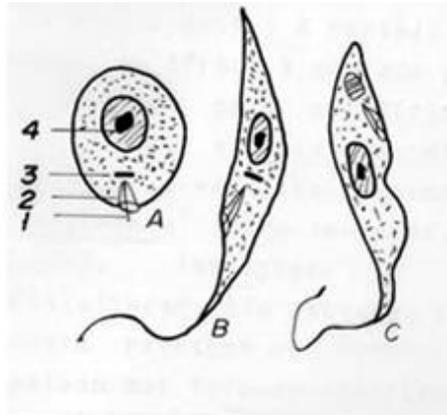
Carlos Justiniano Ribeiro Chagas, pesquisador e médico que dedicava a sua carreira em favor do combate à malária, sempre esteve atento a insetos que poderiam atuar como vetores de doenças. No dia 14 abril de 1909 ao examinar o sangue de uma criança de 2 anos de idade chamada Berenice, Chagas identificou a doença, o vetor, e a presença do protozoário da família *Trypanosomatidae*, e o nomeou *Trypanosoma cruzi* em homenagem ao seu professor Oswaldo Cruz (MASSARANI, 2009).

A tripla descoberta de Chagas foi reconhecida internacionalmente, e após a morte do sanitarista Oswaldo Cruz, em 1917, Chagas assumiu a direção do Instituto de Manguinhos no Rio de Janeiro, conhecido atualmente como Fundação Oswaldo Cruz (MASSARANI, 2009).

Esta zoonose, também conhecida como Tripanossomíase Americana pode ser transmitida de diversas formas, geralmente por via vetorial, através do inseto barbeiro, ou por via oral, a partir da ingestão de alimentos contaminados, como por exemplo o açaí. Outras formas de contágio são por transplante de órgãos, transfusão de sangue, ou via placentária, de mãe para filho (GOMES *et al.*, 2020).

O agente etiológico se trata de um parasito flagelado heteroxênico, chamado *Trypanosoma cruzi* o qual seu ciclo biológico apresenta várias formas evolutivas, dentre elas: Tripomastigotas, com formato fusiforme e alongado. Amastigotas, de formato esférico e cinetoplasto visível, epimastigotas e esferomastigotas, formas as quais não ocorrem no hospedeiro vertebrado. Os epimastigotas apresentam formato alongado e flagelos com intensa mobilidade, já os esferomastigotas possuem forma esférica e estão presentes no estômago do vetor (COSTA *et al.*, 2013).

Figura 2 – Diferentes Formas do *Trypanosoma cruzi*



A - Amastigota; B - Epimastigota; C - Tripomastigota

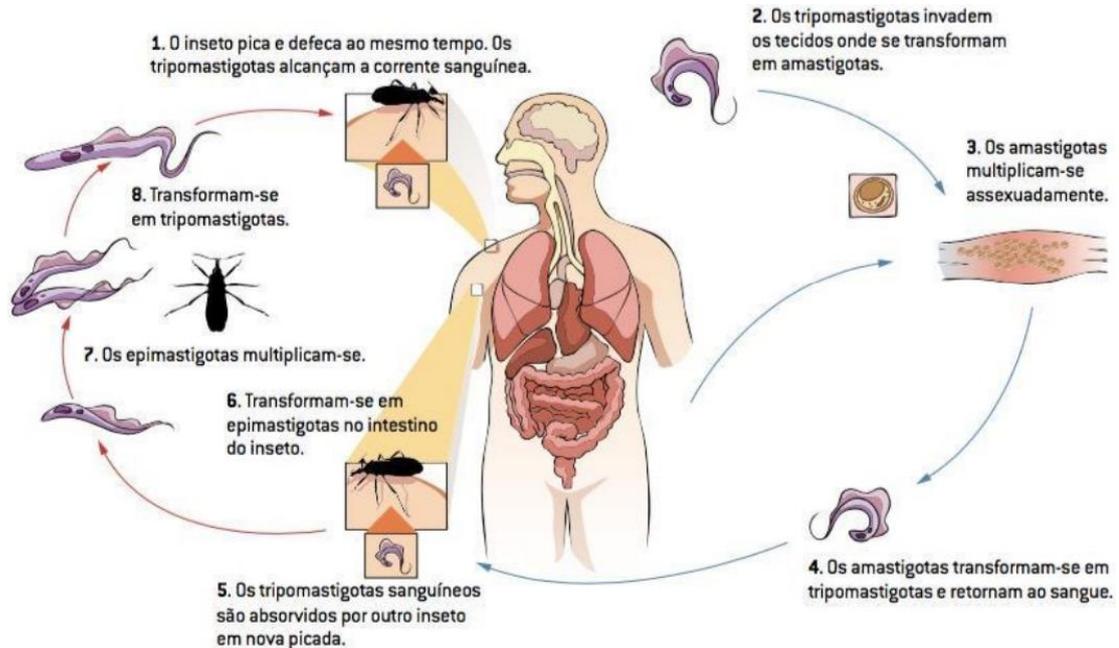
FONTE: PARASITOVET (2022).

A capacidade invasiva do *Trypanosoma cruzi* varia a depender de aspectos como cepa, forma evolutiva, e características das células alvo. As etapas da infecção podem ser classificadas como adesão, reconhecimento, sinalização e interiorização (AYALA *et al.*, 2017).

As cepas mais patogênicas, são classificadas pela sua maior capacidade de adentrar as células, apresentando maior risco de mortalidade ao hospedeiro. (TAFURI, 1987),

O protozoário pode infectar tanto células fagocitárias, como também células musculares lisas e estriadas, adipócitos e células nervosas. Quando a forma infectante tripomastigota acessa o interior das células, é formado um vacúolo parasitóforo, onde sua forma parasitária é modificada, tornando-se amastigota, que a cada 12 horas sofre divisão binária, dessa forma a célula hospedeira é preenchida com mais formas até sofrer ruptura, fenômeno também conhecido como lise citoplasmática, sendo liberadas no espaço extracelular, podendo infectar novas células. (AYALA *et al.*, 2017)

Figura 3 - Ciclo Biológico do *Trypanosoma cruzi*.



FONTE: CDC (2021)

As fases da doença de Chagas são denominadas aguda e crônica. O derrame pericárdico e a dilatação cardíaca são característicos da fase aguda. A maior parte desses casos seguem posteriormente para a fase crônica. Os sintomas mais comuns incluem febre, mal-estar, inflamação nos gânglios, olhos inchados, aumento do fígado, e baço. Geralmente, a febre é passageira, tendo a duração de poucos dias, dessa forma o indivíduo não se dá conta de que o protozoário já está alojado no organismo (DE SOUSA LIMA, 2019).

O desenvolvimento de um tratamento farmacológico destinado a tripanossomíase se iniciou logo após sua descoberta, em 1909. Compostos como o arsênico, tintura de fucsina, cloreto de mercúrio e antibióticos foram empregados com o objetivo de acabar com a doença, mas sem sucesso. Atualmente os medicamentos com atividade significativa na fase aguda são o nifurtimox e o benzonidazol. Porém o nifurtimox, na década de 80 teve sua comercialização interrompida no Brasil (SOBRINHO, 2007).

Uma das alternativas que tem sido alvo de estudo é o uso das plantas com potencial terapêutico sobre tripanossomíase, já que as mesmas vêm sendo utilizadas no tratamento de diversas doenças infecciosas e parasitárias ao longo dos anos (ALVES, 2020).

É importante ressaltar que, para o desenvolvimento de novos medicamentos com maior eficácia e especificidade, é necessário definir mais precisamente os alvos terapêuticos, para uma busca mais racional e com maior probabilidade de sucesso (SOBRINHO, 2007).

4.2. LOSNA (*Artemisia absinthium* L.):

A *Artemisia absinthium* L., também conhecida como losna, originária da Ásia e Europa (DOS SANTOS *et al.*, 2013), é uma planta arbustiva da família *Asteraceae*, conhecida por suas propriedades medicinais desde a antiguidade (LUZ, 2018).

Dentre as angiospermas, a *Asteraceae* é o grupo de maior biodiversidade, contendo aproximadamente 1.100 gêneros e 25.000 espécies. Nesta família, as espécies são em sua maioria herbáceas e arbustivas, como é o caso da losna (CAVALINI *et al.*, 2014).

As partes normalmente utilizadas são as folhas, ou as sumidades floridas, que podem ser preparadas por infusão, decocto, tintura, extrato fluido, maceração ou xarope. A losna é geralmente utilizada para tratar problemas de estômago e fígado, além de estimular o fluxo sanguíneo, possui também propriedades antissépticas, antiespasmódicas e antieméticas (FERRAZ *et al.*, 2020).

As folhas da *Artemisia absinthium* L são alternas, tripartidas e pecioladas, apresentando formato oval e coloração verde-esbranquiçada, além de possuir um rizoma lenhoso e um odor característico. A reprodução geralmente costuma ser feita por estacas, ou divisão de touceiras (GRANDI, 2014).

Figura 3 - *Artemisia absinthium* L



FONTE: FLUIDO DA VIDA (2022)

Segundo Mohammadi *et al.*, (2015) a composição química da losna varia de acordo com a fase da colheita, e o local de cultivo, devido as características do solo e aspectos

climáticos. Em um estudo realizado no Irã, os principais compostos encontrados nos óleos essenciais foram alfa-pineno, beta-pineno, alfa-felandreno, p-cimeno, sabineno e camazuleno (MOHAMMADI *et al.*, 2015). Porém, em solo brasileiro os quimiotipos em maior presença podem ser diferentes.

4.3 ARRUDA (*Ruta graveolens* L.)

A *Ruta graveolens* L. pertencente à família *Rutaceae*, a qual possui 156 gêneros e 1.800 espécies no planeta, sendo 182 espécies encontradas no país, é popularmente nomeada de arruda, uma planta originária da Europa Meridional (ROCHA *et al.*, 2015 (a)).

É uma erva muito conhecida no Brasil por suas propriedades medicinais, utilizada no combate a vermes, piolhos, e no auxílio ao processo de cicatrização. Por outro lado, o uso da arruda não é recomendado a gestantes por suas propriedades emenagogas, que estimulam o fluxo sanguíneo na região pélvica, podendo levar ao sangramento intenso, e conseqüentemente ao aborto (STEFFEN, 2010).

Figura 4 - *Ruta Graveolens* L



FONTE: PLANTSGURU (2022)

As folhas da arruda são alongadas, compostas e glaucas, apresentam coloração verde levemente azulada. É uma planta herbácea de base lenhosa e suas flores são de coloração amarela, além de apresentar um odor característico (ROCHA *et al.*, 2015 (a)).

Quimicamente, a *Ruta graveolens* apresenta os flavonoides rutina, quercetina, furocumarina e lemoninas, os quais possuem propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e citotóxicas (PARRAY, 2012).

4.4. GENGIBRE (*Zinziber officinale*)

Conhecido mundialmente por seus efeitos farmacológicos, a qual faz parte da família *Zingiberaceae*, nesta família existem mais de 1200 espécies. O gengibre é uma especiaria nativa da Índia muito valorizada ao redor do mundo (RODRIGUES E LIRA, 2013).

Seu rizoma é amplamente utilizado como antimicrobiano, anti-inflamatório, diurético, antipirético, hepatoprotetor, antioxidante e controle da glicemia, além de benéfico para os sintomas da gripe, resfriados e problemas gastrointestinais (SOUSA. 2019).

O gengibre é uma erva rizomática, herbácea e perene. Segundo Elpo e Negrelle (2004), seus rizomas são de formato alongado, de coloração marrom amarelado e os ramos fragmentados irregularmente.

Figura 5 - Rizomas de *Zingiber officinale*

FONTE: MARIA (2020)

Os compostos terapêuticos deste rizoma podem variar de acordo com o local de cultivo, porém entre seus componentes de maior presença estão os sesquiterpenos, responsáveis pela ação microbiana e seu aroma marcante. Além deles, d-canfeno, felandreno, zingibereno, cineol, citral, borneal e gingerol também são encontrados. O gengibre também é uma excelente fonte de vitaminas do complexo B e C, possui carboidratos, gorduras, ceras e uma enzima denominada zingibaína, muito benéfica para o organismo (NICÁCIO, 2018).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Obtenção das formas epimastigotas do *Trypanosoma cruzi*

As formas epimastigotas do *Trypanosoma cruzi* foram obtidas a partir de um meio cultura composto por 240ml de meio 199, 24ml de soro fetal bovino, e 480 μ g de urina masculina estéril com gentamicina. Após a preparação, o meio de cultura foi mantido em uma estufa com temperatura entre 25°C e 30°C durante 24 horas, até que obtivesse a temperatura ideal para ser utilizada.

Para a execução do repique, foi utilizado 1ml da amostra mãe no tubo Falcon com o meio de cultura.

5.2.Obtenção do Material e Derivado Vegetal

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Materiais e Tecnologias Ambientais da instituição de ensino UNISAGRADO, localizada no município de Bauru – SP. As espécies botânicas utilizadas foram escolhidas pelos critérios de popularidade e acessibilidade no país. Todas as drogas vegetais foram adquiridas pelo Grupo Rocha Saúde, sendo elas: *Artemisia Absinthium* L, LOTE CNI96, *Ruta Graveolens* L, LOTE FQGH5PD, e *Zingiber Officinale*, LOTE BSG73. Os solventes escolhidos foram álcool 70% e álcool 99,8%.

Primeiramente foram triturados em um liquidificador as três drogas vegetais, Losna; Arruda e Gengibre, e padronizadas em tâmis, com o número de abertura da malha 35. Em seguida foram separados 6 recipientes de vidro para essa finalidade, e todas as suas tampas foram envolvidas com plástico filme, para evitar a evaporação dos solventes utilizados.

Cada droga vegetal foi extraída nos 2 solventes diferentes, em uma proporção de 8:1, sendo 80g de solvente para 10g de extrato. Após o procedimento, todos os recipientes foram completamente envolvidos com plástico filme, identificados e guardados em um local protegido da luz solar durante 14 dias. Em seguida, todos os 6 extratos foram devidamente filtrados.

Com o auxílio de uma pipeta, foi colocado 2ml de extrato em Placas de Petri de plástico, as quais foram anteriormente pesadas. Após a evaporação dos solventes utilizados, as placas foram novamente pesadas, com a finalidade de obter o extrato seco das plantas desejadas.

Tabela 1. Massa Em Gramas Das Placas De Petri Vazias

Identificação da placa	Massa (g)
Álcool 70% + <i>Artemísia absinthium</i>	7,5917g
Álcool 70% + <i>Ruta graveolens</i>	7,5942g
Álcool 70% + <i>Zingiber officinale</i>	7,5948g
Álcool 99,80% + <i>Artemísia absinthium</i>	7,5927g
Álcool 99,80% + <i>Ruta graveolens</i>	7,5895g
Álcool 99,80% + <i>Zingiber officinale</i>	7,5886g

Fonte: Elaborado pela Autora

Tabela 2. Massa Em Gramas Das Placas De Petri Após A Evaporação Dos Solventes

Identificação da placa	Massa (g)
Álcool 70% + <i>Artemísia absinthium</i>	7,6335g
Álcool 70% + <i>Ruta graveolens</i>	7,6553g
Álcool 70% + <i>Zingiber officinale</i>	7,6200g
Álcool 99,80% + <i>Artemísia absinthium</i>	7,6098g
Álcool 99,80% + <i>Ruta graveolens</i>	7,6198g
Álcool 99,80% + <i>Zingiber officinale</i>	7,6029g

Fonte: Elaborado pela Autora

Para determinar a quantidade de extrato por ml, foi realizado o cálculo:

$$\frac{(\text{Placa cheia} - \text{Placa vazia})}{2}$$

Foi utilizado 0,5 mg de extrato para os testes, a pipetagem foi feita em 18 Microtubos Eppendorf.

Tabela 3. Quantidade em µl para a pipetagem de 0,5 mg de extrato

Extrato	Quantidade (µl)
Álcool 70% + <i>Artemísia absinthium</i>	23
Álcool 70% + <i>Ruta graveolens</i>	16
Álcool 70% + <i>Zingiber officinale</i>	39
Álcool 99,80% + <i>Artemísia absinthium</i>	58
Álcool 99,80% + <i>Ruta graveolens</i>	33
Álcool 99,80% + <i>Zingiber officinale</i>	69

Fonte: Elaborado pela Autora

Tabela 4. Identificação Dos Microtubos Eppendorf

Microtubo	Extrato
01 – 03	Álcool 70% + <i>Artemísia absinthium</i>
04 – 06	Álcool 70% + <i>Ruta graveolens</i>
07 – 09	Álcool 70% + <i>Zingiber officinale</i>
10 – 12	Álcool 99,80% + <i>Artemísia absinthium</i>

13 – 15	Álcool 99,80% + <i>Ruta graveolens</i>
16 – 18	Álcool 99,80% + <i>Zingiber officinale</i>
C	Controle (Sem Extrato)

Fonte: Elaborado pela Autora

5.3. Cultura das formas epimastigotas do *Trypanosoma cruzi*

Após a secagem dos solventes contidos nos tubos, foi realizada contagem das formas parasitárias para controle antes dos testes, na Câmara de Neubauer, sendo encontradas em média 35 formas parasitárias por campo.

Em seguida, foi realizada a pipetagem de 20ul da amostra da cepa y do *T. cruzi* para cada tubo Eppendorf selecionado. As amostras 3, 6, 9, 12, 15, 17 e 18 não foram testadas por falta de meio de cultura.

Finalizados estes procedimentos, os tubos com os protozoários e o extrato foram levados para uma estufa, a 30°C, durante 10 dias, tempo necessário para a proliferação das formas em meio de cultura e observação do potencial inibitório dos extratos utilizados.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 14 dias da maceração das plantas em contato com os solventes, foi determinada a quantidade de constituintes em miligramas por mL dos extratos obtidos, tendo os seguintes resultados apresentados na tabela 5:

Tabela 5. Massa Em mg/mL De Cada Extrato

Extrato	Quantidade (mg/mL)
Álcool 70% + <i>Artemísia absinthium</i>	20,900
Álcool 70% + <i>Ruta graveolens</i>	30,550
Álcool 70% + <i>Zingiber officinale</i>	12,600
Álcool 99,80% + <i>Artemísia absinthium</i>	8,5500
Álcool 99,80% + <i>Ruta graveolens</i>	15,150
Álcool 99,80% + <i>Zingiber officinale</i>	7,1500

Fonte: Elaborado pela Autora

A escolha da maceração como método de extração foi realizada por ser de simples execução, financeiramente viável, e efetivo.

Para extrair os compostos bioativos, é necessário realizar a extração com solventes de diferentes polaridades, pois não existe um solvente único, cuja extração seja satisfatória para o isolamento de uma substância, ou toda classe farmacológica, devido a diversos fatores (ANDREO, 2006)

O álcool 99,80%, por apresentar característica apolar, possui maior afinidade com os compostos clorofila, corantes, resinas, ácidos orgânicos livres, e alcaloides. Diferente do álcool 70%, que se trata de uma mistura hidroalcolica, possuindo característica mais polar, e de menor seletividade (COSTA, 1994).

Porém, segundo ANDREO (2006), a realização de mais estudos comparativos, visando selecionar os solventes ideal para cada composto ainda são muito necessários.

Ao fim dos 15 dias após a pipetagem de 0,5 mg de extrato para os testes nos Microtubos Eppendorf, foi realizada a contagem das formas parasitárias nos 4 quadrantes da Câmara de Neubauer, apresentando crescimento apenas nos tubos 4,5 e 17.

A amostra 4 apresentou 48 formas, a amostra 5 apresentou 70 formas, e a amostra 17 apresentou 7 formas parasitárias epimastigotas.

Tabela 6. Crescimento Das Formas Epimastigotas

Amostra	Média	Desvio Padrão
Controle (antes)	37,25	3,30403794
Controle (depois)	101,25	38,3480447
Tubo 01	0	0
Tubo 02	0	0
Tubo 03	-	-
Tubo 04	12,00	3,82970844
Tubo 05	17,50	3,69684551
Tubo 06	-	-
Tubo 07	0	0
Tubo 08	0	0
Tubo 09	-	-
Tubo 10	0	0
Tubo 11	0	0
Tubo 12	-	-
Tubo 13	0	0

Tubo 14	0	0
Tubo 15	-	-
Tubo 16	0	0
Tubo 17	1,75	2,06155281
Tubo 18	-	-

Fonte: Elaborado pela Autora

Os tubos 3; 6; 9; 12 ; 15 e 18 ficaram fora da contagem por falta de meio, já os tubos 4,5 e 17 apresentaram baixa quantidade de formas parasitárias. Os demais não apresentaram crescimento, apontando efetividade dos extratos de *Artemisia Absinthium* L, *Ruta Graveolens* L, e *Zingiber Officinale* em contato com o protozoário.

De acordo com Martínez-Díaz et al. (2015) A *Artemisia absinthium* L, conhecida como losna, já foi testada anteriormente em formas epimastigotas da cepa Y do *T. cruzi*, demonstrando atividade tripanossomicida no protozoário, com quase 100% de mortalidade.

De acordo com TEIXEIRA et al. (2015) os extratos da *Ruta graveolens* L causaram redução significativa na multiplicação de amastigotas

Segundo SARTO et al. (2021) os testes realizados com os extratos de *Zingiber officinale* demonstraram supressão da parasitemia

Porém, segundo SOBRINHO (2007), para o desenvolvimento de novos medicamentos no futuro é válido destacar a necessidade de aprofundar os estudos em relação aos alvos terapêuticos e mecanismos de ação de cada planta no organismo humano.

7. CONCLUSÃO

O uso das plantas medicinais tem despertado cada vez mais interesse no ponto de vista farmacológico. Dessa forma, mais pesquisas neste campo são de grande relevância, visto que podem contribuir no tratamento da doença de Chagas, e outras doenças tropicais negligenciadas futuramente.

Através do estudo realizado, foi possível observar uma significativa atividade tripanossomicida nos estratos de *Artemisia absinthium* L, *Ruta graveolens* L, e *Zingiber officinale*, visto que o crescimento das formas epimastigotas nos Microtubos Eppendorf foi igual a zero em nove, de um total de doze amostras.

REFERÊNCIAS

ALVES, Natja Araújo; MACIEL, Michelline do Vale; CÂMARA, Rafael Barros Gomes da. Levantamento de plantas medicinais com atividade anti-trypanosoma cruzi. 2020.

ANDREO, Denise; JORGE, Neuza. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.)

AYALA, Edward Valencia *et al.* Caracterização da capacidade patogênica de *Trypanosoma cruzi* isolado em Arequipa-área endêmica do Peru. 2017.

BOING, Alexandra Crispim *et al.* Acesso a medicamentos no setor público: análise de usuários do Sistema Único de Saúde no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 29, p. 691-701, 2013.

CAVALINI, Sandra Cristina G.; GIANINI, Patrícia F.; PEDROSO-DE-MORAES, Cristiano. Crescimento in vitro de *Artemisia absinthium* L.(Asteraceae) em meios de cultivo simplificados. 2014.

CDC. **Centers For Disease Control And Prevention.** American Trypanosomiasis. Atlanta. 2021. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisamerican/index.html>. Acesso em: 5 ago. 2022.

COSTA, Aloísio Fernandes. **Farmacognosia**. V.2, n.4, p. 1057-1063, 1994.

COSTA, Milce *et al.* Doença de chagas: uma revisão bibliográfica. **Revista Eletrônica da Faculdade de Ceres**, v. 2, n. 1, 2013.

DA NÓBREGA ALVES, Rômulo Romeu; DA SILVA, Carla Calixto; DA NÓBREGA ALVES, Humberto. Aspectos sócio-econômicos do comércio de plantas e animais medicinais em área metropolitanas do Norte e Nordeste do Brasil. **Revista de biologia e ciências da terra**, v. 8, n. 1, p. 181-189, 2008.

DE SOUSA LIMA, Ronildo. Doença de Chagas: uma atualização bibliográfica. **RBAC**, v. 51, n. 2, p. 103-06, 2019.

DIAS, Luiz C. *et al.* Doenças tropicais negligenciadas: uma nova era de desafios e oportunidades. **Química Nova**, v. 36, p. 1552-1556, 2013.

DOS SANTOS, Camila da Silveira Brasil; GODINHO, Janaína; FARIAS, Maria Eloisa. HORTA DE CHÁS: O DESAFIO DE DAR CONTINUIDADE E DE MANTER UM PROJETO AMBIENTAL. In: **I ENCONTRO DE CIÊNCIAS EM EDUCAÇÃO PARA A SUSTENTABILIDADE**. 2013.

DRUMMOND, E. D.; SIMÕES, T. C.; ANDRADE, F. B. D. Acesso da população brasileira adulta a medicamentos prescritos. **REV. BRAS. EPIDEMIOLOGIA**: Instituto Rene Rachou - Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte (MG), Brasil, 2018.

FERRAZ, Cleidiane Vedoy; DAS CHAGAS, Juciéli Chiamulera; DORIGON, Elisangela Bini. *Artemisia absinthium* L.: Aplicabilidade na saúde humana. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 4, p. 10650-10661, 2020.

FV. **Fluido da Vida**. LOSNA 50ML (*ARTEMÍSIA ABSINTHIUM*.). São Paulo: Fluido da Vida: Manipulação e Drogaria, 2022. Disponível em: <http://fluidodavida.com.br/losna-50ml-artem%C3%ADsia-absinthium>. Acesso em: 5 ago. 2022.

GOMES, Giovanna *et al.* Perfil epidemiológico da Doença de Chagas aguda no Pará entre 2010 e 2017. **Pará Research Medical Journal**, v. 4, p. 0-0, 2020.

GRANDI, Telma Sueli Mesquita. Tratado das Plantas Medicinais: Mineiras, nativas e cultivadas. 1. ed. Belo Horizonte: Adequatio Estúdio, 2014, 1204 p.

JURBERG, José *et al.* Atlas Iconográfico dos triatomíneos do Brasil: vetores da doença de Chagas. 2014.

LUZ, Jose Magno Queiroz *et al.* Cultivo de *Artemisia absinthium* L. sob concentrações de solução nutritiva em hidroponia. **Revista Agrogeoambiental**, v. 10, n. 1, 2018.

MARIA. **Notícias De Jardim**. Plantas de gengibre hidropônico – O gengibre pode ser cultivado na água? Brasil. 2020. Disponível em: <https://www.noticiasdejardim.com/ervas/gengibre-de-planta/plantas-de-gengibre-hidroponico/>. Acesso em: 5 ago. 2022

MARTÍNEZ-DÍAZ, Rafael Alberto *et al.* Trypanocidal, trichomonacidal and cytotoxic components of cultivated *Artemisia absinthium* Linnaeus (Asteraceae) essential oil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, p. 693-699, 2015.

MASSARANI, Luisa. **Carlos Chagas, a ciência para combater doenças tropicais**. Museu da Vida COC Fiocruz, 2009.

MATTA, Gustavo Corrêa *et al.* Políticas de Saúde: organização e operacionalização do Sistema Único de Saúde. 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **POLÍTICA NACIONAL DE PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS**: Série B. Textos Básicos de Saúde. Brasília – DF: Ideal Gráfica, 2006.

MOHAMMADI, A. *et al.* Seasonal variation in the chemical composition, antioxidant activity, and total phenolic content of *Artemisia absinthium* essential oils. **Pharmacognosy research**, v. 7, n. 4, p. 329, 2015.

OPAS. **Organização Pan-Americana de Saúde**. OPAS: 70% das pessoas com Chagas não sabem que estão infectadas. Brasil. 2021. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/13->

4-2021-opas-70-das-pessoas-com-chagas-nao-sabem-que-estao-infectadas. Acesso em: 15 jul. 2022.

PARASITOVET. Diferentes Formas de Trypanosomatidae. **PARASITOLOGIA VETERINÁRIA**. [S.l.]. Parasitologia Clínica, 2022. Disponível em:

<https://sites.google.com/site/parasitovet/g%C3%AAnerotrypanossoma?tmpl=%2Fsystem%2Fapp%2Ftemplates%2Fprint%2F&showPrintDialog=1>. Acesso em: 9 set. 2022.

PARRAY, Shabir Ahmad *et al.* Ruta graveolens: from traditional system of medicine to modern pharmacology: an overview. **Am J Pharm Tech Res**, v. 2, n. 2, p. 239-52, 2012.

PLANTSGURU. **plantsguru.com**. *Ruta Graveolens* Herb of Grace. National Grape Research Center, Phursungi Phata. India. 2022. Disponível em: <https://www.plantsguru.com/ruta-graveolens>. Acesso em: 5 ago. 2022.

ROCHA, Adriano Maltezo da; MAIA, Rubens Vieira; PAULINO, Igor Lennon da. *Ruta graveolens* L.: USO POTENCIAL EM AULAS PRÁTICAS DE ANATOMIA VEGETAL. 2015.(b)

ROCHA, F. A. G.; ARAÚJO, M. F. F.; COSTA, N. D. L.; SILVA, R. P. O USO TERAPÊUTICO DA FLORA NA HISTÓRIA MUNDIAL. **HOLOS**, vol. 1, 2015, pp. 49-61. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte. Natal, Brasil. (a)

SARTO, Marcella Paula Mansano *et al.* Essential oils from *Syzygium aromaticum* and *Zingiber officinale*, administered alone or in combination with benznidazole, reduce the parasite load in mice orally inoculated with *Trypanosoma cruzi* II. **BMC complementary medicine and therapies**, v. 21, n. 1, p. 1-11, 2021.

SOBRINHO, José Lamartine Soares *et al.* Delineamento de alternativas terapêuticas para o tratamento da doença de Chagas. **Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology**, v. 36, n. 2, p. 103-118, 2007.

STEFFEN, P.C. Plantas medicinais usos populares tradicionais. São Leopoldo: Instituto Anchietano de Pesquisas, 2010.

TAFURI, Washington L. Patogenia da doença de Chagas. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 29, p. 194-199, 1987.

TEIXEIRA, Thaise L. *et al.* Potential therapeutic use of herbal extracts in trypanosomiasis. **Pathogens and global health**, v. 108, n. 1, p. 30-36, 2014.

VINHAES, Márcio C.; DIAS, João Carlos Pinto. Doença de chagas no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 16, p. S7-S12, 2000.