



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



THALITA CRISTINA MARQUES CERVEZAN

**PERFIL FITOQUÍMICO DE *Artemisia annua* L. EM DIFERENTES TIPOS DE
MANEJO PÓS-COLHEITA**

BOTUCATU/SP

2017

THALITA CRISTINA MARQUES CERVEZAN

**PERFIL FITOQUÍMICO DE *Artemisia annua* L. EM DIFERENTES TIPOS DE
MANEJO PÓS-COLHEITA**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP - Campus de Botucatu, como um dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Agronomia (Energia na Agricultura)

Orientador: Fernando Broetto

Coorientadora: Glyn Mara Figueira

BOTUCATU/SP

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

C419p Cervezan, Thalita Cristina Marques, 1984-
Perfil fitoquímico de *Artemisia annua* L. em diferentes tipos de manejo pós-colheita / Thalita Cristina Marques Cervezan.- Botucatu :[s.n.], 2017
108 p.: il. color. grafs., tabs.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2017

Orientador: Fernando Broetto
Coorientadora: Glyn Mara Figueira
Inclui bibliografia

1. Plantas medicinais. 2. Compostos bioativos. 3. Metabólitos secundários. 4. *Artemisia*. I. Broetto, Fernando. II. Figueira, Glyn Mara. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. IV. Título.

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte"

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO: "PERFIL FITOQUÍMICO DE *Artemisia annua* L. EM DIFERENTES TIPOS DE MANEJO PÓS-COLHEITA."

AUTORA: THALITA CRISTINA MARQUES CERVEZAN

ORIENTADOR: FERNANDO BROETTO


COORIENTADORA: GLYN MARA FIGUEIRA

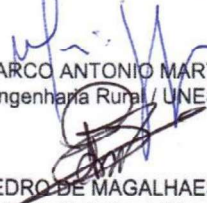
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (ENERGIA NA AGRICULTURA), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. FERNANDO BROETTO
Depto de Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu

Prof. Dr. ROGÉRIO LOPES VIEITES
Depto de Horticultura / Faculdade de Ciências Agrônomicas - UNESP

Doutor JOSÉ ABRAMO MARCHESI
Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Vegetal / UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANA


Prof. Dr. MARCO ANTONIO MARTIN BIAGGIONI
Depto de Engenharia Rural / UNESP - Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu


Prof. Dr. PEDRO DE MAGALHAES PADILHA
Departamento de Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP

Botucatu, 29 de maio de 2017.

**Dedico esta tese para a minha
avó Carolina Talarico Marques,
por sua fé e sabedoria.**

"In Memoriam"

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus.

Aos meus pais Catarina Conceição Marques Cervezan e Jader Cervezan pelo apoio, incentivo profissional, paciência e amor.

A Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior - CAPES pela bolsa concedida.

Aos professores Dr. Fernando Broetto pela orientação, ensinamentos e amizade; a Dra. Glyn Mara Figueira pela coorientação, disponibilidade e oportunidades; e a Dra. Pamela J. Weathers pela dedicação, ensinamentos e comprometimento.

Ao Laboratório Agrotecnologia do Centro de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas - CPQBA/UNICAMP por permitir a execução do presente trabalho. Agradeço em especial ao Dr. Pedro Mellilo Magalhães pelo auxílio.

Ao Instituto Politécnico de Worcester, WPI, pela oportunidade e por me receber no Doutorado Sanduiche. Sou grata ao Departamento de Biologia e Biotecnologia da WPI por permitir a realização das análises em seu laboratório. Agradeço especialmente a Melissa J. Towler e o Matthew R Desrosiers pelo auxílio, ensinamento e disponibilidade.

Ao Centro de Tecnologia das Radiações (CTR) do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN, da Universidade de São Paulo, pela parceria nas análises.

As minhas amigas Aline Cristina Rabonato, pela amizade, companheirismo e dedicação; e a Paula Bertuso, pela contribuição e incentivo na execução do trabalho.

Aos membros da banca examinadora Dr. Marcos Antônio M. Biaggioni, Dr. Rogerio Viettes, Dr. Pedro de Magalhães Padilha, Dr. José Abramo Marchese e Dr. Fernando Broetto pelos ensinamentos, disponibilidade, sugestões e contribuição.

E a todos meus amigos e familiares que me apoiaram e incentivaram a execução deste trabalho.

**“Em seu coração o homem planeja o seu caminho, mas o Senhor
determina os seus passos.”**

Bíblia Sagrada. Provérbios 16:9

RESUMO

A malária é considerada uma doença infecciosa grave que atinge milhares de pessoas, principalmente em países tropicais e subtropicais. O controle dessa doença pode ser feito através de alguns tipos de medicamentos semissintéticos e bioativos naturais, entre eles os derivados da espécie *Artemisia annua* L.. Os principais derivados bioativos de *A. annua* L. são a artemisinina, diidroartemisinina, deoxiartemisinina, ácido artemisínico e arteanuina B. Com o aumento do valor dos princípios ativos naturais, estudos relacionados à pós-colheita e secagem de material vegetal tornam-se importantes para melhor conservação de suas propriedades fitoterápicas. O presente estudo teve como objetivos avaliar o efeito de diferentes tipos de processamento pós-colheita sobre a qualidade do fármaco e seus derivados. Folhas de *A. annua* L. foram submetidas a quatro tratamentos de desidratação sendo eles: campo em pleno Sol, campo na sombra, estufa de circulação de ar a temperatura de 28°C +/-2 e câmara de crescimento 15°C +/-2, por 29 dias. Foram realizadas as análises de teor de umidade, flavonoides, rendimento e quantificação de óleo essencial, avaliação do teor de artemisinina, diidroartemisinina, deoxiartemisinina, ácido artemisínico e arteanuina B. Cada tratamento apresentou influência distinta sobre o acúmulo de bioativos estudados. Entretanto, quando a biomassa foi processada em estufa com temperatura controlada, houve maior estabilidade para a maioria dos princípios ativos avaliados, com exceção da artemisinina.

Palavras-chave: artemisinina, compostos bioativos, metabólitos secundários, plantas medicinais, secagem.

ABSTRACT

Malaria is considered a serious infectious disease that affects thousands of people, occurring in tropical and subtropical countries. Disease control can be done through some types of semi-synthetic and bioactive natural drugs, including them the derivatives of the species *Artemisia annua* L.. Some major bioactive derivatives of *A. annua* L. are artemisinin, dihydroartemisinin, deoxyartemisinin, artemisinic acid and arteanuin B. With the increase in the value of the natural active principles, studies related to post-harvesting and drying of plant material become important for better conservation of its phytotherapeutic properties. The present study aims to evaluate the effect of different types of post-harvest processing on the quality of the drug and its derivatives. The leaves of *A. annua* L. were submitted to 4 post-harvest treatments: Leaves of *A. annua* L. were submitted to 4 post-harvest treatments: field in full sun, field shaded, air circulation oven dry at 28 °C +/-2 and grown chamber 15 °C +/-2 for 29 days. The analysis of moisture content, flavonoids, quantification of essential oil yield, evaluation of the artemisinin, dihydroartemisinin, deoxyartemisinin, artemisinic acid and arteanuin B contents were carried out. Were analyzed treatment had a different influence on the bioactives under study, however, the oven dry demonstrated to have greater stability in most of the active principles with the exception of artemisinin.

Keywords: artemisinin, bioactive, secondary metabolites, medicinal plants, drying.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	páginas
Figura 1. Fluxograma de rota metabólica (adaptado Silva, 2005)	25
Figura 2. Espécie <i>Artemisia annua</i> L. (adaptado Vuyck, 1697).....	28
Figura 3. Morfologia floral de <i>A. annua</i> L.: (A) Capítulo; (B) Capítulo expandido (adaptado de Ferreira, 1994).....	29
Figura 4. Morfologia floral de <i>A. annua</i> L.: (C) Detalhes das flores hermafroditas; (D) Tricoma (adaptado de Ferreira, 1994).	30
Figura 5. Via biossintética da artemisinina simplificada. ADS, Amorfa-4, 11-sintase-dieno, ALDH1-aldeído desidrogenase; CYP71AV1 citocromo P450 mono-oxigenase; DBR2, ligação dupla redutase 2; RED1, diidroartemisínico aldeído redutase. (adaptado de TOWLER; WEATHERS, 2012).	34
Figura 6. Estrutura genérica de flavonoides (adaptado Sandhar et al, 2011).....	39
Figura 7. Representação da secagem em cabana de <i>A. annua</i> L. a pleno sol com circulação de ar e exposição a fatores ambientais. (Fonte: CPQBA/UNICAMP)	53
Figura 8. Representação da secagem em cabana de <i>A. annua</i> L. a sombra com circulação de ar natural e pouca exposição a fatores ambientais. (Fonte: CPQBA/UNICAMP).....	54
Figura 9. Representação da desidratação em sombrite de <i>A. annua</i> L. a estufa com sistema de circulação de ar quente forçado. (Fonte: CPQBA/UNICAMP)	54
Figura 10. Representação da desidratação em sombrite de <i>A. annua</i> L. em Câmara de Crescimento com sistema de circulação de ar frio forçado e ausência de luz. (Fonte: CPQBA/UNICAMP).....	55
Figura 11. Sistema de hidrodestilação de bancada.....	57
Figura 12. Cinética de teor de água da <i>Artemisia annua</i> L. nos tratamentos de secagem e desidratação em câmara de crescimento, campo sombra, campo pleno sol e estufa ao decorrer de 29 dias: (A) Campo Sol; (B) Campo Sombra; (C) Estufa de Circulação de Ar; (D) Câmara de Crescimento.	65
Figura 13. Cinética dos rendimentos médio em óleo essencial da <i>Artemisia annua</i> L. dos tratamentos de secagem e desidratação em câmara de crescimento, campo	

sombra, campo pleno sol e estufa ao decorrer de 29 dias: (A) Campo Sol; (B) Campo Sombra; (C) Estufa de Circulação de Ar; (D) Câmara de Crescimento. 68

Figura 14. Cinética do teor de Ácido Diidroartemisínico (DHAA) nos tratamentos de secagem e desidratação em câmara de crescimento, campo sombra, campo pleno sol e estufa no decorrer de 29 dias. D.W.: Teor de água.: (A) Campo Sol; (B) Campo Sombra; (C) Estufa de Circulação de Ar; (D) Câmara de Crescimento. 76

Figura 15. Cinética do teor de Artemisinina (ART) na *Artemisia annua* L. nos tratamentos de secagem e desidratação em câmara de crescimento, campo sombra, campo pleno sol e estufa no decorrer de 29 dias. D.W.: Teor de água.: (A) Campo Sol; (B) Campo Sombra; (C) Estufa de Circulação de Ar; (D) Câmara de Crescimento. 78

Figura 16. Cinética do teor de Deoxiartemisínico (deoxyAN) na *Artemisia annua* L. nos tratamentos de secagem e desidratação em câmara de crescimento, campo sombra, campo pleno sol e estufa no decorrer de 29 dias. D.W.: Teor de água.: (A) Campo Sol; (B) Campo Sombra; (C) Estufa de Circulação de Ar; (D) Câmara de Crescimento. 80

Figura 17. Cinética do teor de Ácido Artemisínico (AA) na *Artemisia annua* L. entre os tratamentos de secagem e desidratação em câmara de crescimento, campo sombra, campo pleno sol e estufa no decorrer de 29 dias. D.W.: Teor de água.: (A) Campo Sol; (B) Campo Sombra; (C) Estufa de Circulação de Ar; (D) Câmara de Crescimento. 82

Figura 18. Cinética do teor de Arteanuina B (AB) na *Artemisia annua* L. nos tratamentos de secagem e desidratação em câmara de crescimento, campo sombra, campo pleno sol e estufa no decorrer de 29 dias. D.W.: Teor de água.: (A) Campo Sol; (B) Campo Sombra; (C) Estufa de Circulação de Ar; (D) Câmara de Crescimento. 84

Figura 19. Cinética do teor de Flavonoides na *Artemisia annua* L. nos tratamentos de secagem em câmara de crescimento, campo sombra, campo pleno sol e estufa no decorrer de 29 dias.: (A) Campo Sol; (B) Campo Sombra; (C) Estufa de Circulação de Ar; (D) Câmara de Crescimento. 86

LISTA DE TABELAS

páginas

Tabela 1. Dados meteorológicos da região de Paulínia/SP avaliados durante os 29 dias de secagem. (Fonte: CEPAGRI/Unicamp).....	62
Tabela 2. Comparação média do teor de água percentual da <i>Artemisia annua</i> L. entre os tratamentos de secagem e desidratação no decorrer dos 29 dias.	63
Tabela 3. Comparação percentual de rendimento em óleo essencial na <i>Artemisia annua</i> L. dos tratamentos no decorrer do período de 29 dias.....	67
Tabela 4. Composição química dos óleos essenciais (%) extraídos do tratamento de secagem e desidratação no campo pleno sol (CPS).	71
Tabela 5. Composição química dos óleos essenciais extraídos do tratamento de secagem e desidratação no campo sombra (CSM).	73
Tabela 6. Composição química dos óleos essenciais extraídos do tratamento de secagem e desidratação na câmara de crescimento (Câmara).....	74
Tabela 7. Composição química dos óleos essenciais extraídos do tratamento de secagem na estufa (EST).....	75
Tabela 8. Quantificação do teor ($\mu\text{g/g}$) de Ácido Diidroartemisínico na <i>Artemisia annua</i> L. entre os tratamentos de secagem e desidratação, no decorrer de 29 dias.	77
Tabela 9. Quantificação do teor ($\mu\text{g/g}$) de Artemisinina na <i>Artemisia annua</i> L. entre os tratamentos de secagem e desidratação, no decorrer de 29 dias.	78
Tabela 10. Quantificação do teor ($\mu\text{g/g}$) de Deoxiartemisina na <i>Artemisia annua</i> L. entre os tratamentos de secagem e desidratação, no decorrer de 29 dias.	80
Tabela 11. Quantificação do teor ($\mu\text{g/g}$) de Ácido Artemisínico na <i>Artemisia annua</i> L. entre os tratamentos de secagem e desidratação, no decorrer de 29 dias.	82
Tabela 12. Quantificação do teor ($\mu\text{g/g}$) de Arteanuina B na <i>Artemisia annua</i> L. entre os tratamentos de secagem e desidratação, no decorrer de 29 dias.	84
Tabela 13. Quantificação no teor de Flavonoides na <i>Artemisia annua</i> L. entre os tratamentos de secagem e desidratação, no decorrer de 29 dias.	85

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	21
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	23
2.1 PRODUTOS NATURAIS DE AÇÃO MEDICINAL.....	23
2.2 ESPÉCIE <i>ARTEMISIA ANNUA</i> L.	27
2.2.1 <i>Artemisinina e derivados bioativos</i>	31
2.2.1.1 Terapias Combinatórias com Artemisinina	35
2.2.1.2 Flavonoides	38
2.2.1.3 Óleos Essenciais	41
2.3 MANEJO PÓS COLHEITA.	43
2.3.1 <i>Pré Colheita</i>	43
2.3.2 <i>Pós Colheita</i>	44
2.3.3 <i>Secagem e Desidratação</i>	46
2.3.4 <i>Armazenamento</i>	47
2.3.5 <i>Irradiação</i>	48
2.4 MALÁRIA.	50
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	52
3.1 MATERIAL VEGETAL	52
3.1.1 <i>Condições e tratamentos pós-colheita</i>	52
3.1.2 <i>Determinação do teor de água</i>	56
3.1.3 <i>Extração do óleo essencial</i>	57
3.2 EXTRAÇÃO DOS METABÓLITOS DAS FOLHAS	58
3.2.1 <i>Quantificação dos principais bioativos</i>	59
3.2.2 <i>Determinação de flavonoides totais</i>	60
3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.	60
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
4.1 DADOS METEOROLÓGICOS	61
4.2 TEOR DE ÁGUA.....	63
4.3 RENDIMENTO EM ÓLEO ESSENCIAL.....	66
4.3.1 <i>Composição Química</i>	70
4.4 QUANTIFICAÇÃO DOS PRINCIPAIS BIOATIVOS DA <i>ARTEMISIA ANNUA</i> L.....	76

4.4.1	Ácido Diidroartemisínico (DHAA), Artemisinina (ART) e Deoxiartemisinina (deoxyAN)	76
4.4.2	Arteanuina B (AB) e Ácido Artemisínico (AA).....	81
4.5	FLAVONOIDES.....	85
5.	CONCLUSÃO	87
6.	REFERÊNCIAS.....	88

1. INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, o *Plasmodium* vem adquirindo resistência a drogas comerciais usadas para o tratamento da malária. Em busca por tratamentos alternativos, descobriu-se que a espécie medicinal identificada por *Artemisia annua* L. apresenta um composto químico com atividade antimalárica. Testes farmacológicos confirmaram a ação fitoterápica e ainda, ressalta a ação rápida e eficaz sobre as formas de malária resistente (RODRIGUES et al, 2006). No entanto, o uso regular do composto artemisinina derivado de *A. annua* L., contribuiu para a formação de novas cepas resistentes a doença. Desde modo, outros compostos derivados da síntese de artemisinina têm apresentado a mesma ação antimalárica, o qual incentiva estudos correlacionados a inibição da doença. Novos tratamentos combinatórios a base de artemisinina e de seus derivados têm sido empregados para aumentar a eficiência do fitoterápico (WHO, 2015; NOSTEN; WHITE, 2007). A resistência à eficácia de um medicamento pode ser desenvolvida em nível metabólico, uma vez que as células apresentam grande capacidade mutacional. Em sua maioria, as vias bioquímicas relacionadas ao crescimento celular são afetadas pelos medicamentos, ocasionando a diminuição da capacidade imunológica (BAPTISTA, 2013).

A tolerância à droga pode ocorrer em todos os organismos vivos, notadamente em vírus e bactérias, como por exemplo, em cepas parasitárias do gênero *Plasmodium*, principalmente, com a espécie *P. vivax* (RODRIGUES et al, 2006).

As drogas sintetizadas com a combinação entre artemisinina e seus derivados com outros compostos químicos, estão disponíveis no mercado farmacêutico há algum tempo. A novidade é que também existem relatos de ação antiplasmodial relativo ao óleo essencial de *A. annua* L., atribuída à presença de cânfora em sua composição. No entanto, a atividade pode estar relacionada com combinação de outros constituintes químicos (MILHAU et al, 1997, FUJISAKI et al, 2012; CHERNEVA et al, 2012). Devido a este potencial antiplasmodial, esta espécie medicinal vem sendo investigada para melhorar a produção da molécula e seus derivados visando manter a qualidade desses compostos de interesse no período pós-colheita. Os procedimentos inadequados durante a pós-colheita podem desencadear reações de oxidação, hidrólise, ataques de

microorganismos, etc., afetando as características físico-químicas e biológicas das plantas e, portanto, o princípio ativo. O processo de secagem ou desidratação correto de um material vegetal diminuem a atividade dos processos metabólicos mantendo uma maior estabilidade química, preservando a qualidade do produto.

Existe uma grande preocupação na obtenção de moléculas quali quantitativas, com ação antiplasmodiais, incluindo métodos de cultivos, fatores de pré-colheita, pós-colheita e armazenamento das drogas vegetais. Fatores esses tornam-se essenciais para melhorar a tecnologia de produção desses ativos em potencial (MESHNICK et al, 1996). E assim, buscar técnicas para otimizar e garantir a eficácia dessas substâncias ativas, proporcionando ao longo da produção e manejo pós-colheita a preservação da qualidade da droga vegetal.

Este trabalho teve como objetivo estudar parte do metabolismo de *A. annua* em relação à preservação de seus componentes fitoterápicos, nos procedimentos de pós-colheita. O material vegetal foi submetido a diferentes métodos de conservação pós-colheita, no qual avaliou o perfil químico do óleo essencial e suas perdas durante o armazenamento; Além disso, verificou-se a preservação de qualidade da artemisinina, diidroartemisinina, deoxiartemisinina, ácido artemisínico, arteanuina B e flavonoides.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Produtos naturais de ação medicinal

Os produtos naturais são utilizados por diversas gerações desde a antiguidade, sendo em grande parte, destinados para alimentação e tratamentos de doenças. Em sua maioria, os produtos naturais eram, inicialmente, consumidos de formas mais simples como, por exemplo, através da ingestão de ervas e folhas. Esse método degustativo empregado pelos povos primitivos e grupos indígenas é considerado fator primordial para o descobrimento de substâncias tóxicas e medicamentosas ao longo do tempo. Conseqüentemente, o aprendizado sobre as reações pós-consumo, juntamente com a convivência entre diversas culturas e regiões, proporcionaram valiosas contribuições para os avanços das pesquisas em produtos naturais. Ao decorrer dos séculos, com o desenvolvimento das civilizações, a utilização de recursos naturais na medicina foi evoluindo proporcionalmente, destacando-se de forma significativa no Ocidente e Oriente (VIEGAS JUNIOR; BOLZANI, 2006)

Na China, a medicina tradicional desenvolveu-se com excelência que, até hoje, muitas espécies e extratos vegetais são alvos de estudos na compreensão de seu mecanismo de ação e produção de compostos ativos. Os produtos naturais são produzidos a partir de uma variedade de fontes biológicas ricas em compostos químicos diversos e em propriedades biológicas (VIEGAS JUNIOR; BOLZANI, 2006). Todos os vegetais sintetizam substâncias químicas em seu metabolismo, formando diversos compostos químicos. Alguns desses compostos apresentam princípios ativos, os quais conferem ações terapêuticas às plantas medicinais e, conseqüentemente, fontes que caracterizam os medicamentos fitoterápicos (SILVA, 2005). Tais riquezas proporcionaram a compreensão de muitos fenômenos relacionados a estudos eletrofisiológicos, citológicos e moleculares, os quais permitiram que diversas estruturas biológicas fossem conhecidas, isoladas e purificadas. Isso possibilitou que o mercado farmacêutico obtivesse matérias-primas derivadas de produtos naturais para o desenvolvimento de moléculas sintéticas complexas de interesse farmacológico (CALIXTO, 2003). Essa vasta complexidade de recursos instigou o setor medicinal à

descoberta de novas técnicas de pesquisas, de modo que, nas últimas três décadas, houve um crescente desenvolvimento de novos conceitos e possibilidades de descobertas e criações de novos fármacos (VIEGAS JUNIOR; BOLZANI, 2006).

A grande maioria das substâncias orgânicas conhecidas é derivada de fontes naturais, entretanto é o reino vegetal que tem contribuído de forma mais significativa para esse arsenal terapêutico, devido a grande produção e fornecimento de metabólitos secundários. As espécies vegetais se destacam por conter grande capacidade biossintética dos metabólitos secundários com ação farmacológica, tanto em relação à quantidade de substâncias dentro de uma mesma espécie, quanto pela sua complexidade sintética. Os vegetais produzem a maior diversidade de compostos ativos usados na terapêutica, uma vez que, um extrato vegetal pode conter milhares de substâncias com propriedades físico-químicas diversificadas (PHILLIPSON; ANDERSON, 1898; HAMBURGUER; HOSTETTMANN, 1991; MONTANARI, 2001).

Os constituintes químicos resultantes do metabolismo vegetal são ativamente responsáveis por suas funções terapêuticas e ações toxicológicas. O metabolismo é constituído de reações químicas decorrentes no interior das células, sendo divididos em primário e secundário. Os metabólitos primários exercem a função ativa nos processos de fotossínteses, respiração e assimilação de nutrientes, enquanto os metabólitos secundários correspondem intimamente às estratégias de defesa das plantas (NASS, 2007; SILVA et al, 2010).

Por muito tempo, os metabólitos secundários das plantas foram considerados produtos de excreção vegetal, que possuíam algumas vezes estruturas químicas e propriedades biológicas interessantes. Essas considerações foram contestadas pela imensa diversidade química e vasta variação de atividades farmacológicas (GANDHI et al, 2014). Atualmente, muitas substâncias pertencentes ao metabolismo secundário já tiveram suas funções reconhecidas como, por exemplo, o controle e inibição de microrganismos, a utilização de feromônios para atração de polinizadores ou animais, em dispersores de sementes e a participação em processos alelopáticos (SANTOS, 2010; PINTO 2015).

Os metabólitos secundários podem ser divididos em três grandes grupos principais sendo eles, os compostos fenólicos, os terpenos e os compostos

nitrogenados – alcaloides. Os compostos fenólicos, tais como flavonoides, taninos e ligninas, são substâncias aromáticas formadas pela rota do ácido chiquímico ou ácido acético (Figura 1). Os terpenos, como óleos essenciais, saponinas, carotenoides e a maioria dos fitoreguladores, no entanto, são sintetizados pela rota do ácido mevalônico, no citoplasma, ou do piruvato e 3-fosfoglicerato, no cloroplasto, a partir do Acetil Coenzima A (Acetil-CoA). Por sua vez, os compostos nitrogenados, como alcaloides nicotina, cafeína e vincristina, por exemplo, são sintetizados por aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina), os quais são derivados pela rota do ácido chiquímico e de aminoácidos alifáticos (ornitina, lisina) (ALVES, 2001; PERES, 2004; SILVA, 2005; TAIZ; ZEIGER, 2009).

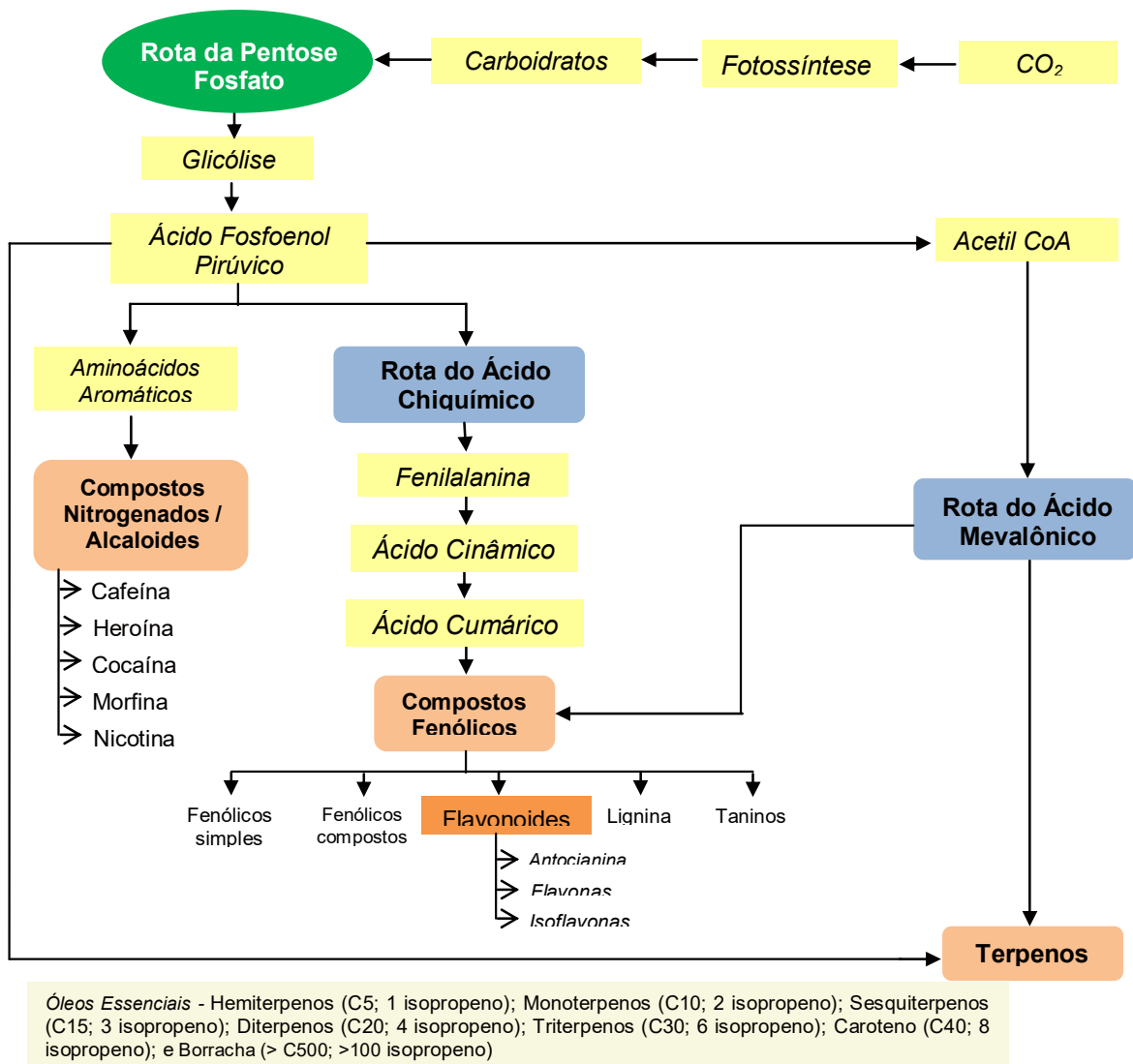


Figura 1. Fluxograma de rota metabólica (adaptado Silva, 2005)

Uma vez que os metabólitos secundários representam uma interconexão química entre as plantas e o ambiente, suas sínteses são frequentemente afetadas pelas condições ambientais. Fatores como a sazonalidade, o estágio de desenvolvimento, a idade da planta, a temperatura de exposição, a disponibilidade de água, a dosagem de nutrientes no solo, a radiação ultravioleta, a altitude, a composição atmosférica, ritmo circadiano e danos nos tecidos da planta, podem ocasionar modificações na interação de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos (LINDHROT et al, 1987; ABREU JÚNIOR, 1998; KUTCHAN, 2001; GOBBO; LOPES, 2007; TAIZ; ZEIGER, 2009). Ainda segundo os autores, fatores edafoclimáticos, as diferenciadas rotas metabólicas sofrem influências, gerando produtos das mais diversas formas e variações, com significativas mudanças nos teores totais de compostos ativos nas plantas. Assim sendo, torna-se importante conhecer o funcionamento metabólico em cada espécie a ser utilizada bem como os tipos de alterações ocasionadas na composição química das mesmas sobre as influências e variações do meio ambiente.

As atividades da fitoquímica podem contribuir significativamente para se obter avaliação mais profunda da espécie visando a investigação do conjunto de reações químicas, caracterização estrutural dos compostos e a avaliação de propriedades biossintéticas de substâncias naturais produzidas pelo metabolismo secundário de organismos vivos. Todavia, a combinação de conhecimentos entre etnobotânicos, etnofarmacólogos, médicos e fitoquímicos torna-se imprescindível para a prospecção de bioativos e, conseqüentemente, para as aplicações em diversas áreas (TORSSELL, 1997; GILANI; ATTA-UR-RAHMAN, 2005; BRAZ FILHO, 2010).

Com o desenvolvimento dos estudos em química orgânica, os produtos sintéticos foram se destacando no tratamento farmacológico, devido a maior facilidade no isolamento de compostos puros, quando comparado aos fitoterápicos. Os medicamentos naturais possuem princípios ativos pouco conhecidos, já que normalmente, as suas funcionalidades estão associados a um grupo de compostos químicos complexos, dificultando seu isolamento e purificação. No entanto, apesar dos desafios, os produtos naturais não perderam seu lugar na terapêutica, sendo crescentemente consumidos pela medicina não convencional (EISENBERG et al, 1998; CORDEIRO et al, 2005).

Um dos aspectos fundamentais dos produtos naturais consiste em se constituir em repositório de grupos estruturais importantes, como foi o caso, por exemplo, do anel beta-lactâmico das penicilinas, o qual dificilmente seria formado por síntese ao acaso. Atualmente, muitas classes farmacológicas de drogas incluem estruturas químicas derivadas de fontes naturais, como a aspirina, atropina, morfina, quinina, etc. Neste sentido, eles podem indicar grupos estruturais valiosos, que posteriormente poderiam ser melhores desenvolvidos e aplicados (YUNES; CALIXTO, 2001; GILANI; ATTA-UR-RAHMAN, 2005).

Em relação aos sintéticos, os medicamentos fitoterápicos apresentam algumas diferenças significativamente importantes como, por exemplo, o conhecimento de princípios ativos existentes e o controle de qualidade. Desse mesmo modo, o controle de qualidade e a padronização dos fitoterápicos tornam-se tarefas complexas, uma vez que, precisam de maiores cuidados do que os medicamentos sintéticos (YUNES; CALIXTO, 2001).

Com o avanço da pesquisa em derivados naturais e à medida que estudos químicos e farmacológicos confirmam suas ações terapêuticas, aumenta a demanda por matéria-prima na elaboração dos mesmos e, assim, a busca por produtos de alta qualidade torna-se maior. Para isso, os processos de beneficiamento pós-colheita são considerados etapas importantes para preservar a qualidade desses produtos. As drogas vegetais produzidas devem, necessariamente, passar por bons processos de secagem e armazenamentos a fim de atender às exigências do mercado (MARCHESE; FIGUEIRA, 2005).

2.2 Espécie *Artemisia annua* L.

A *Artemisia annua* L. (Figura 2) é uma planta herbácea, fortemente aromática, com altura variando entre 0,8 a 2,0 metros (JANICK, 1996). Possui aroma balsâmico característico e produz grande quantidade de pólen. Essa espécie é natural da Ásia, provavelmente da China, onde ocorre espontaneamente como parte da vegetação. Na China, sua procedência é localizada na região do norte, em habitat de áreas montanhosas mais baixas, com altitude variando entre 700 a 1500 metros e latitude de 40°. Está aclimatada na Europa, nas Américas e em outras regiões de climas temperadas e tropicais (DHINGRA et al, 2000). Embora originária de regiões de clima

temperado úmido, apresenta boa adaptabilidade em locais de clima tropical por meio da seleção de sementes e híbridos. Um dos fatores que contribuem para isso é a capacidade que tem em crescer em diferentes tipos de solo, embora responda favoravelmente a pH próximo a 7,0 (LAUGHLIN, 2002).



Figura 2. Espécie *Artemisia annua* L. (adaptado Vuyck, 1697)

A. annua L. pertence à família Asteraceae, caracterizadas por pequenas flores compostas e ao gênero *Artemisia*, que contém várias centenas de espécies incluindo *A. vulgaris*, *A. tridentata*, *A. absinthum*, *A. dracunculus* e *A. abrotanum* (SMITHA et al, 2014). O gênero *Artemisia* possui em torno de quatrocentas espécies e é encontrado basicamente na Europa e América do Norte. A maioria das espécies desse gênero possuem aromas fortes e sabores amargos devido à presença de terpenóides e lactonas sesquiterpênicos, desencorajando alguns herbívoros em seu uso para a alimentação (FERREIRA, 1997).

Em estudos botânicos (Figura 3 e Figura 4), a planta é caracterizada como uma erva anual, ramificada e ereta contendo, geralmente, um único tronco, de aspecto muito delgado e odor aromático doce. A espécie possui ramos sulcados com folhas simples alternadas, sendo caracterizadas como pinatisséctas, membranáceas, com pontuações glandulosas, contendo pêlos esparsos em ambas as faces, pecíolo em torno de 2,0 cm de comprimento e limbo com cerca de 5,0 a 9,0 cm de comprimento e 3,0 a 5,0 cm de largura. São exibidas em panículas contendo numerosos floretes centrais de tonalidades esverdeadas ou amareladas, podendo ser férteis ou estéreis, apresentando pequenos néctares e flores marginais de pistilo, capítulo multifloros. As flores marginais produzem numerosos aquênios com uma única semente dentro. As sementes são oblongas de coloração castanhas-amarelas, com superfície lustrosa marcada por sulcos verticais, de tamanho aproximado de 1 mm de comprimento. O pólen é tricolpado e liso, típico de espécies anemófilas. A planta é naturalmente polinizada por insetos e pela ação do vento, o que é incomum nas Asteraceae (SKAVARLA; LARSON 1965, McVAUGH, 1984; SMITHA et al, 2014).

A *A. annua* L. é considerada uma espécie invasora devido a grande quantidade de sementes produzidas e pela facilidade de disseminação. Essa espécie propaga-se bem por sementes, mas também possui boa propagação vegetativa através de micro estacas e por cultura de meristemas, permitindo a fixação de características genéticas de interesse para a seleção de parentais e obter grande quantidade de sementes híbridas.

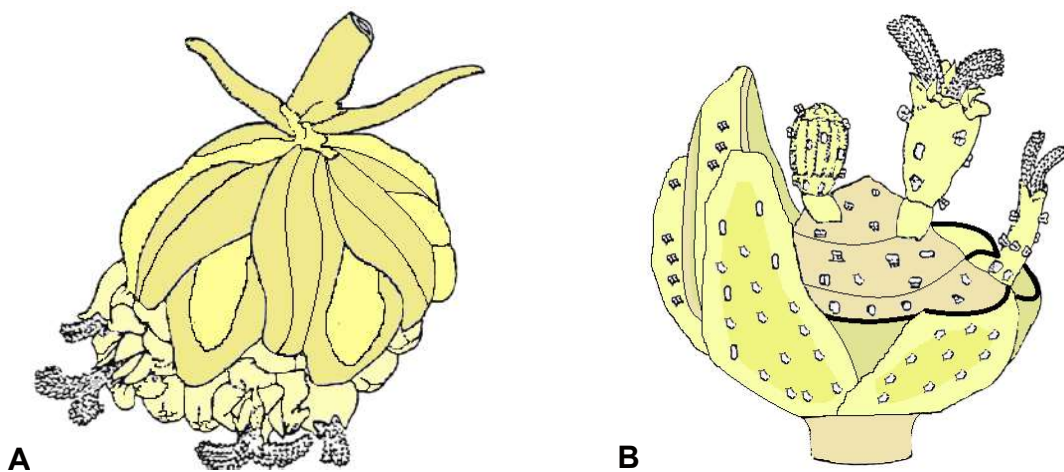


Figura 3. Morfologia floral de *A. annua* L.: (A) Capitulum; (B) Capitulum expandido (adaptado de Ferreira, 1994).

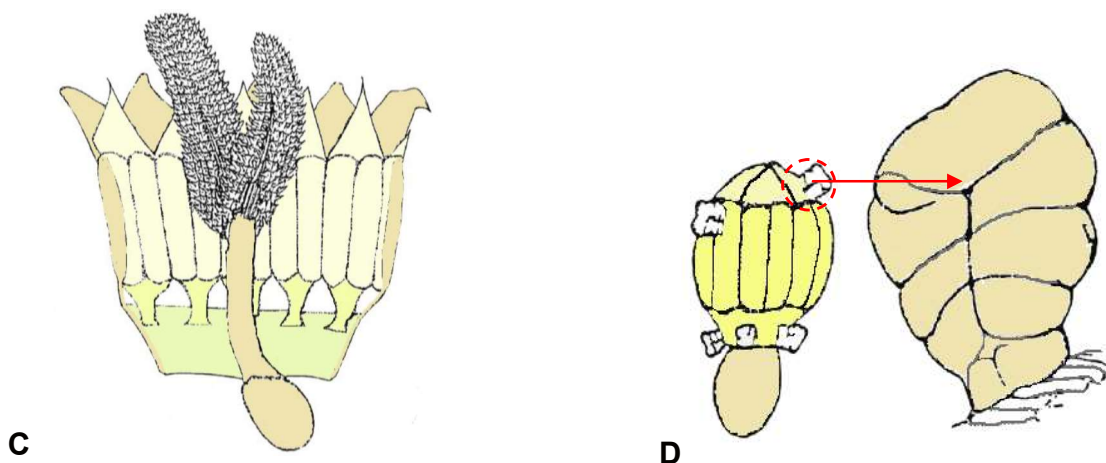


Figura 4. Morfologia floral de *A. annua* L.: (C) Detalhes das flores hermafroditas; (D) Tricoma (adaptado de Ferreira, 1994).

A semente é extremamente pequena por isso existe dificuldade em seu plantio. A semeadura pode ser realizada diretamente em tubetes e, quando as plântulas estiverem com 5 cm de altura, faz-se o processo de repicagem. Geralmente é cultivada até a fase de mudas e posteriormente, transplantada. As mudas são transferidas para campo com 10 cm de altura, em aproximadamente 60 dias pós a semeadura. A *A. annua* L. é uma cultura ideal tanto para plantação em pequena escala quanto em maiores produções (DALRYMPLE, 2012).

É uma das culturas medicinais mais importantes do mundo. O cultivo mundial de *A. annua* L. é dominado pela Ásia, destacando-se na Índia, China e Vietnã, que produzem grandes quantidades de artemisinina e seus derivados em relação à demanda global. Uma pequena quantidade é produzida pelo leste da África e em outros países como Brasil, Ghana, Kenya, Tanzânia, Uganda, Nigéria, Moçambique e Madagascar (LUTHRIA, 2010; SMITHA et al, 2014).

O uso inicial de *A. annua* L. na farmacopeia tradicional chinesa visava o tratamento de febres intermitentes e calafrios. Atualmente, a aplicação medicinal da espécie se destaca no tratamento antimalárico, uma vez que, a planta é considerada a principal constituinte de artemisinina, molécula responsável pela ação terapêutica. Por volta do ano de 1970, a artemisinina foi isolada e identificada a partir de estudos realizados no extrato de *A. annua* L. (SUBERU, 2013). Esta molécula e os análogos de trioxano simplificados constituem uma classe promissora de agentes quimioterapêuticos

antimaláricos. Nos vários sistemas sintetizados e testados, a ponte endoperoxídica comum a todos estes compostos, é fundamental para o seu mecanismo de ação (MESHNICK et al, 1996). Seus desenvolvimentos em ensaios clínicos e suas aplicações têm chamado muito a atenção de pesquisadores em todo o mundo (O'NEILL et al, 2010).

A *A. annua* L. possui grande quantidade de pelos foliares conhecidos por tricomas glandulares, que são encontrados nas folhas, caules e flores, os quais são considerados os prováveis sítios de acumulação de artemisinina e os análogos de trioxano (MARCHESE, 1999; COVELLO, 2007; CAPELIN, 2012, TING WU, 2012). Os tricomas são estruturas vegetais originados do crescimento de células epidérmicas das plantas, considerados de extrema importância na taxonomia vegetal devido a fato de sintetizarem, armazenarem e secretarem vários tipos de metabólitos secundários especializados. Os tricomas glandulares podem variar em tamanho, forma, morfologia, número de células e composição química. Como os tricomas sobressaem da epiderme e muitas vezes podem ser facilmente separados e colhidos, tornando-se acessíveis à análise. Desde modo, eles se tornam excelentes sistemas experimentais para a identificação das enzimas e caminhos responsáveis pela síntese dos metabólitos especializados (ANTHONY, 2008).

Os tricomas estão ativamente implicados em uma variedade de processos adaptativos nas plantas, incluindo a defesa contra herbívoros e microrganismos. A inibição de microrganismo e similares ocorre devido à presença de óleos essenciais, flavonoides, compostos fenólicos e terpenóides em sua estrutura. A maioria destes compostos também tem elevados valores comerciais em indústrias farmacêuticas, alimentares e cosméticas devido a resistência de pragas e doenças, a diversas atividade e aplicações farmacológicas, e propriedades organolépticas úteis (WAGNER, 2004; TING WU, 2012).

2.2.1 Artemisinina e derivados bioativos.

A *A. annua* L. é uma espécie bastante conhecida devido à variedade de compostos produzidos. Entre os grupos químicos mais usuais e respeitáveis, destacam-se os terpenos (monoterpenos, triterpenos e sesquiterpenos) e uma série de

componentes bioativos como, por exemplo, os flavonoides, as cumarinas, os esteroides, os fenóis, as purinas, os lipídios e os compostos alifáticos (BRISIBE et al, 2009). Contudo, o composto mais importante produzido pela espécie é uma lactona sesquiterpênica denominada artemisinina, o qual apresenta ação antimalárica. A concentração de artemisinina varia de acordo com o ambiente, condições de solo e desenvolvimento da planta (HIEN; WHITE 1993). A distribuição de artemisinina em *A. annua* L. começa com altas concentrações nas folhas e inflorescências, sendo seguidos por baixos teores nos talos e nenhum na raiz. Desde modo, para se obter os maiores teores de artemisinina, recomenda-se colher as folhas imediatamente antes ou durante a floração da planta (LAUGHLIN, 1994).

No Brasil, a *A. annua* L. foi introduzida nos anos 80 por pesquisadores do CPQBA/UNICAMP – Campinas, SP. Nas primeiras colheitas realizadas, o teor de artemisinina obtido foi em torno de 0,1%, devido à interferência do fotoperíodo e o precoce florescimento. Com o programa de melhoramento genético conduzido na MEDIPLANT (Suíça), foi possível explorar a variabilidade natural da espécie chegando-se a linhagens híbridas e população rica em artemisinina com 1% de rendimento, além da padronização quanto ao desenvolvimento da biomassa e florescimento tardio (DELABAYS, 1993, MAGALHÃES et al, 1997)

A artemisinina é altamente reconhecida por sua eficácia contra cepas resistentes de *Plasmodium falciparum* causador da malária cerebral (ALECRIM, 1981; RONN et al, 1996; PIMENTEL et al, 2007). À medida que as cepas de *P. falciparum* multirresistentes começaram a se espalhar, a busca por compostos ativos antimaláricos começou a crescer exponencialmente. Desde seu isolamento, vários derivados da artemisinina foram sintetizados apresentando variadas atividades farmacocinéticas (MESHNICK; DOBSON, 2001). Esses compostos constituem uma classe promissora de agentes quimioterapêuticos antimaláricos. Entre os análogos mais comuns, estão o diidroartemisinina, arteméter, arteéter e artesunato de sódio, os quais apresentam uma ponte de peróxido em suas estruturas moleculares, que é essencial para a atividade antimalárica (MANSON et al, 2009). Estes compostos sesquiterpênicos agem destruindo as formas assexuadas do parasita no sangue e limitando a transmissão para outros hospedeiros (LUO; SHEN, 1987; BALINT, 2001; HYDE, 2002; PLOYPRADITH,

2004; FRANCA et al, 2008). Os compostos artesunato e artemeter são reconhecidos por terem ação esquizotocidas rápida, atuando ainda sobre gametócitos de *Plasmodium vivax*. São indicados no tratamento da malária grave, principalmente a malária cerebral, devido a sua rapidez na redução da parasitemia (GOMES et al, 2011). Independente da gravidade da forma clínica, o artesunato age rapidamente na parasitemia, mas no entanto, não proporciona a cura parasitológica em todas elas (ALECRIM et al, 2000).

Além da artemisinina e seus análogos, existem outros compostos importantes derivados da biossíntese da mesma (Figura 5). Esses compostos são designados como ácido diidroartemisínico, ácido artemisínico, deoxiartemisinina e arteanuina B estes, têm sido estudados por contribuírem no tratamento antimalárico. O ácido diidroartemisínico e o ácido artemisínico são essenciais para a formação da artemisinina. O ácido diidroartemisínico, por ser considerado o principal precursor da artemisinina, têm despertado grande interesse comercial, uma vez que a dosagem desse composto reflete diretamente nos teores de artemisinina. No entanto, por conter uma estrutura molecular similar ao ácido diidroartemisínico, o ácido artemisínico também consegue realizar a sua conversão em artemisinina, tornando-se um derivado importante para a caracterização biossintética. Esse composto se adapta facilmente ao meio ambiente e as condições edafoclimáticas no qual se encontra e, por esse motivo, consegue influenciar a quantidade de artemisinina encontrada na planta (WALLAART et al, 2000).

A deoxiartemisinina, no entanto, tem adquirido destaque em empresas farmacêuticas ocidentais devido ao seu potencial terapêutico. Na Universidade Yansei na Coreia, pesquisadores sintetizaram um grupo de deoxiartemisinina com o qual possuíam grande ação antimalárica (MESHNICK, 2002; LAI et al, 2012). Deste modo, esse composto pode ser instigado a integrar a terapia combinatória a base de artemisinina (item 2.2.1.1.) para o tratamento da malária.

Apesar de haver poucos estudos sobre a arteanuina B, foi constatado que esse composto isoladamente não apresenta atividade antimalárica. No entanto, ele atua sinergicamente com a artemisinina, melhorando a sua eficiência (ZHANG et al, 2016). O arteanuina B consegue melhorar a ação do fármaco devido ao aumento na sensibilidade do *Plasmodium*.

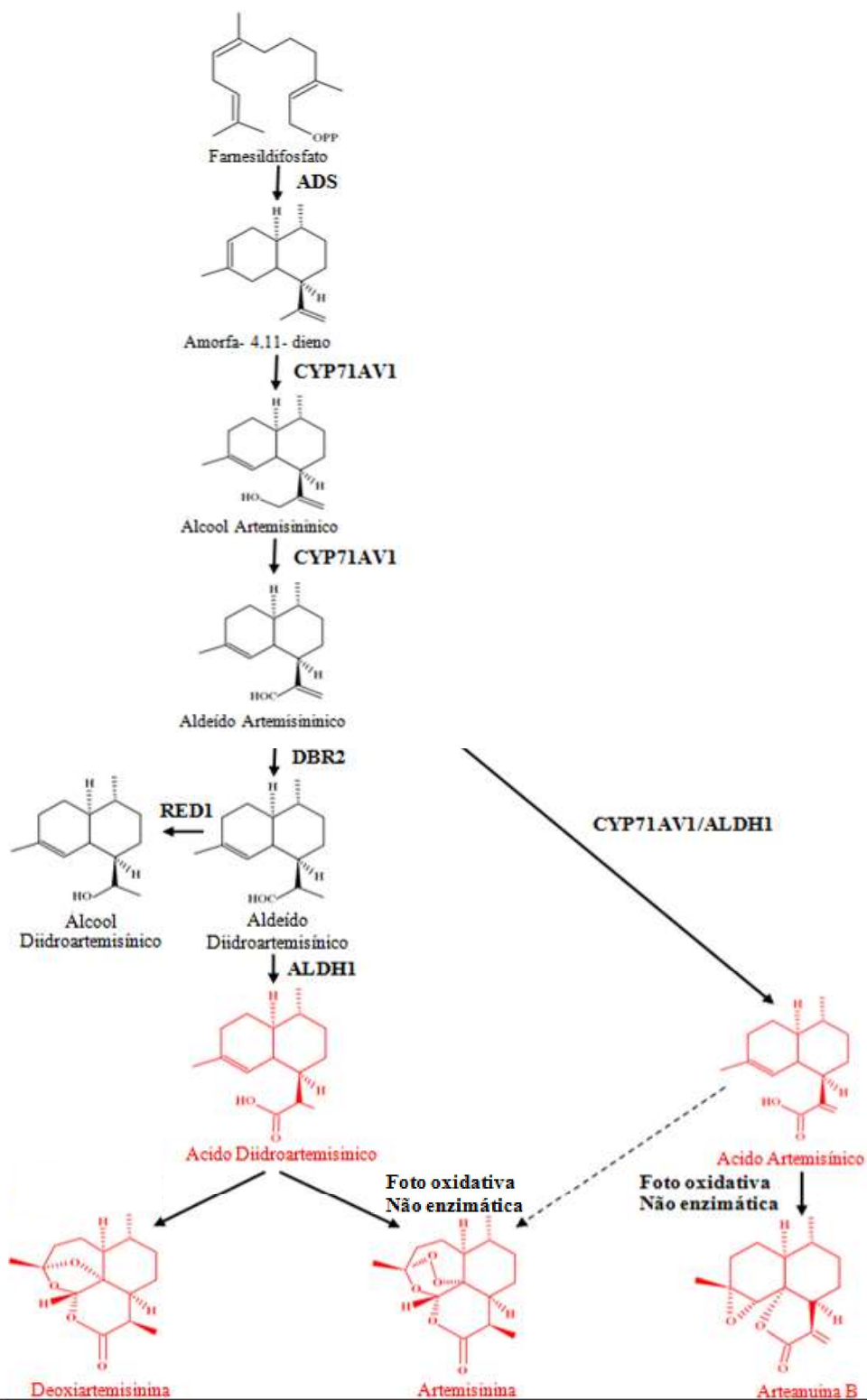


Figura 5. Via biossintética da artemisinina simplificada. ADS, Amorfa-4, 11-sintase-dieno, ALDH1-aldeído desidrogenase; CYP71AV1 citocromo P450 mono-oxigenase; DBR2, ligação dupla redutase 2; RED1, diidroartemisinínico aldeído redutase. (adaptado de TOWLER; WEATHERS, 2012).

A artemisinina possui baixa solubilidade tanto na água quanto no óleo e, por isso, os derivados semissintéticos artesunato, diidroartemisinina e arteméter, são os fármacos preferidos (FERREIRA; JANICK, 1995; DESROSIERS; WEATHERS, 2016). A diidroartemisinina (DHAA), uma forma mais solúvel em água, é facilmente metabolizada tornando-se o principal derivado da artemisinina com maior atividade (VAN AGTMAEL et al, 1999). É um composto seguro e antimalárico eficaz (CHEN et al, 2004), sendo recomendado como primeira linha antimalária de drogas com baixa toxicidade (DHINGRA et al, 2000). No entanto, algumas pesquisas indicam que, para contornar a baixa biodisponibilidade e solubilidade da artemisinina e de seu derivado, diidroartemisinina, seria importante realizar a combinação com flavonoides e outros compostos que podem agir como sinérgicos, aumentando significativamente o efeito antimalárico (STEEL, 1993).

Zhang et al, (2016) observaram que a atividade antimalárica da artemisinina melhora significativamente quando há uma combinação de arteanuina B, ácido artemisínico e escopoletina extraídos a partir de *A. annua* L.. O uso da combinação desses quatro compostos, em uma proporção de 1: 1: 1: 1 mostrou a melhor inibição de *Plasmodium* em ratos infectados com malária, atingindo o mesmo efeito antimalárico de quatro vezes a dose da artemisinina. Do mesmo modo, sem a artemisinina, a atividade antimalárica dos compostos arteanuina B, o ácido artemisínico e a escopoletina caem significativamente, tanto isoladamente ou combinados.

2.2.1.1 Terapias Combinatórias com Artemisinina

As cepas causadoras da malária estão se tornando mais resistentes aos medicamentos padrões utilizados para os tratamentos da doença. No entanto, os parasitas da espécie *P. vivax* tem causados maiores preocupações, pois, estão adquirindo resistência a artemisinina e aos seus derivados. A compreensão dos fatores que levam ao desenvolvimento e disseminação da resistência aos medicamentos é essencialmente necessária para elaborar estratégias de prevenção e de tratamento (WHO, 2016). Desde modo, para tentar controlar o avanço da doença, novas drogas estão sendo elaboradas utilizando combinações de dois ou mais fármacos. O alicerce dessas combinações está sendo a molécula da artemisinina e derivados (EDWARDS, 2001).

As terapias combinadas à base de artemisinina (TCA) têm apresentado indícios mais eficazes para o combate antimalárico, sendo de interesse para todos os países endêmicos da doença (EDWARDS, 2001).

A terapia combinada com artemisinina é considerada a primeira linha de tratamento da malária. Nos últimos anos, a utilização mundial dessa terapêutica contribuiu significativamente para a redução das mortes resultantes da malária por *P. falciparum*. Para o tratamento da doença e combate às cepas mais resistentes, a Organização Mundial da Saúde recomenda cinco tipos de combinações mais agressivas, sendo elas, o artemeter-lumefantrina, o artesunato-amodiaquina, o artesunato-mefloquina, o artesunato-sulfadoxine-pirimetamine e diidroartemisinina-piperaquina (NOSTEN; WHITE, 2007; TRAVASSOS; LAUFER, 2009). A empregabilidade de fármacos intensos para o tratamento da malária leve pode acelerar a evolução das cepas, deixando-as ainda mais resistentes.

No ano de 2015, houve trezentos e setenta e oito milhões de Terapia Combinada à base de Artemisinina com Qualidade Assegurada (QATCA) distribuídos no mundo. Estima-se que em 2017 ocorra um aumento significativo nesses números, alcançando a faixa de quatrocentos e trinta e um milhões e, para 2018, a previsão é que sejam trezentos e noventa milhões de tratamentos. Essa variação pode ocorrer devido aos programas de subsídios dos países endêmicos de malária ao qual ocasiona oscilações de oferta e, conseqüentemente, alterações nos preços da artemisinina. Caso haja reduções nos preços da terapia combinada com artemisinina e crescentes investidas de financiamentos dos fármacos, haverá um aumento na quantidade de tratamentos distribuídos e, decorrentemente, ampliarão os números de enfermos atendidos (WHO, 2016).

Em 2010, foi lançado o Mecanismo de Medicamentos Acessíveis para a Malária, ao qual, trata-se de um programa de subsídio para o tratamento da doença, visando aumentar o acesso a medicamentos antimaláricos apropriados e de baixo custo no mercado. Atualmente, a Organização Mundial da Saúde pré-qualificou fornecedores para a terapia combinada com artemisinina sendo contabilizados seis para a venda de artesunato-amodiaquina, sete para a comercialização de artemeter-lumefantrina, um

para a distribuição de diidroartemisinina-piperquina, um para a saída de artesunato-pironaridina e um para artesunato-mefloquina (WHO, 2016).

No programa piloto do Mecanismo de Medicamentos, cerca de 80% do financiamento público para terapia combinada com artemisinina foram para países efêmeros, a maioria dos quais utilizou a artemeter-lumefantrina como tratamento de primeira linha. Entre os derivados de artemisinina, o artemeter tem a maior demanda, impulsionado pelo fato de que artemeter-lumefantrina é a terapia combinada mais utilizada. A previsão é que a demanda global por artemisinina será de 227 toneladas métricas em 2017 e 232 toneladas métricas em 2018 (WHO, 2016).

Entre os anos de 2011 e 2013, o volume total de produção de ingredientes farmacêuticos ativos derivados de artemisinina (artemeter, artesunato, diidroartemisinina) atingiram 543,41 toneladas métricas enquanto os produtos farmacêuticos acabados totalizaram cerca de 14,79 toneladas métricas. Durante 2012 e 2014, os volumes de ingredientes farmacêuticos ativos derivados de artemisinina foram de 338,53 toneladas métricas com o valor total das exportações de US \$ 211,39 milhões. Para os produtos farmacêuticos acabados, o valor total das exportações foi de US \$ 227,17 milhões e volume de 4401,44 toneladas métricas. Em comparação, o valor das exportações dos produtos farmacêuticos acabados manteve-se num nível estável, com 14,66% em 2013 e 5,31% em 2014. Quanto às áreas de exportação, a Índia foi o maior comprador de ingredientes farmacêuticos ativos, representando cerca de metade do montante total, enquanto os produtos farmacêuticos acabados foram designados para países africanos (HUANG et al, 2016).

Em contrapartida, existe outro tratamento comumente empregado para o combate da malária. O chá da *A. annua* L. obtido por meio da infusão de folhas em água quente tem sido constantemente utilizada por pacientes infectados pela doença. A utilização do chá tem causado preocupação por ser considerado um possível desenvolvedor de resistência parasitária devido à falta de padronização de teores de artemisinina nestas preparações (WHO, 2012). Consideravelmente, a Organização Mundial de Saúde pediu "ampla investigação fundamental e clínica" na empregabilidade do chá e outras formas não convencionais do extrato de *A. annua* L. visando à eficácia e segurança para o tratamento da malária (WEATHERS et al, 2011). As maiorias dos ensaios clínicos

realizados com o chá mostraram que o controle da parasitemia é eficiente no período inicial do tratamento, mas poucas pesquisas foram realizadas em pacientes infectados por períodos mais longos. Este primeiro ensaio clínico realizado no Brasil, juntamente com ensaios toxicológicos, definiram a segurança do chá como forma de medicação (MAGALHÃES, 2016).

Suberu et al, (2013) mostraram que o chá não favorece o desenvolvimento da resistência parasitária. O composto Arteanuina B, presente no chá, interage sinergicamente com a artemisinina, melhorando a sua eficiência, incluindo a resistência à cloroquina em cepas *P. falciparum*. Esse fato também justifica a avaliação do chá de *A. annua* L. para o tratamento terapêutico da malária causada por *P. vivax*, que atualmente representa de 5% a 8% da resistência atribuída aos parasitas resistentes à cloroquina.

Além da artemisinina, os flavonoides presentes no chá tornaram-se importantes componentes bioativos com amplas atividades biológicas. Os flavonoides podem sinergizar os efeitos da artemisinina contra a malária, reafirmando a ideia de que a terapia combinada é mais eficiente do que a tradicional utilizada (FERREIRA et al, 2010).

2.2.1.2 Flavonoides

Os flavonoides constituem moléculas orgânicas sintetizadas por rotas bioquímicas a partir do aminoácido fenilalanina, sendo subdivididos em flavonas, flavonóis, flavanonas, flavanas, isoflavonoides, bioflavonoides, e antocianinas (HAVSTEEN, 2002; FERREIRA et al, 2010; SANDHAR et al, 2011). Os flavonoides são formados por três anéis fenólicos (Figura 6) comumente designados como benzênico (A) e grupo fenil (B), conectados por um anel pirona (anel C) (HAVSTEEN, 2002; TAPAS et al, 2008; BEECHER, 2003; SANDHAR et al, 2011). O anel pirona representa um dos grupos fenólicos mais importantes entre os produtos naturais, sendo responsável pela formação da maioria das diferentes classes de compostos (SIMÕES et al, 1999; SANDHAR et al, 2011). Os flavonoides impressionam mais pela sua grande variedade de elementos do que pela complexidade dos constituintes na estrutura (HAVSTEEN,

2002). Essa classe de compostos é amplamente distribuída no reino vegetal, sendo encontrados em diversas formas estruturais (SIMÕES et al, 1999).

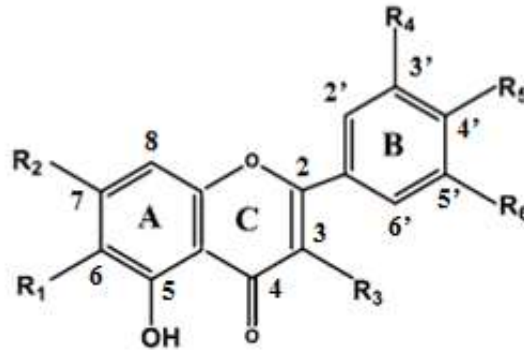


Figura 6. Estrutura genérica de flavonoides (adaptado Sandhar et al, 2011)

Os flavonoides são onipresentes em células vegetais e são comumente encontrados em todas as espécies de plantas e em todas as partes dela, incluindo caules, sementes, folhas e raízes, com misturas complexas de uma grande variedade de compostos bioquímicos (TSIMOGIANNIS et al, 2007; CUSHNIE et al, 2005).

A produção de flavonoides também parece estar associada com os tricomas glandulares. Maes et al, (2010) e Wang et al, (2009) mostraram que os genes-chave das artemisinina, terpenoides, e vias de flavonoides foram expressos em tricomas glandulares isoladas e regulada depois de elicitação de ácido jasmônico.

Muitas vezes eles estão presentes em tecidos vegetais, vacúolos das células epidérmicas, agliconas, em açúcares das folhas da planta como glicosídeos, entre outros (CROTEAU et al, 2000; HARBORNE; WILLIAMS, 2000). Os flavonoides são responsáveis pela pigmentação de plantas, em especial de flores e frutos, já que nas folhas são mascarados pelas clorofilas. Apresentam numerosos efeitos sobre a saúde, incluindo o fornecimento de proteção contra a radiação UV-B (HAVSTEEN, 2002; HARBORNE; WILLIAMS, 2000). São denominados fitonutrientes, nutrientes não tradicionais e compostos fitoquímicos ativos conhecidos e confiáveis farmacologicamente (KALE et al, 2008).

Os compostos polimetoxiflavonoides são considerados importantes em produtos naturais. Uma característica altamente específica da *A. annua* L. é a presença significativa desse flavonoide em sua composição (BHAKUNI et al, 2001). Devido ao seu elevado teor fenólico, a atividade antioxidante do extrato de *A. annua* L. é

consideravelmente elevado (BARRIGA, 2013). A *A. annua* L. pode sintetizar pelo menos 40 flavonoides diferentes, destacando-se as flavonas, flavonóis, cumarinas e ácidos fenólicos como os principais grupos produzidos (FERREIRA et al, 2010). As cumarinas proeminentes identificados a partir de *A. annua* L. são cumarina, aesculetina, iso-fracidin, escopoletina, escopolina e tomentina (LAI et al, 2006). Recentemente, foram identificados mais quatro flavonoides de *A. annua* L., sendo eles, a crisoplenetina, casticina, eupatin e artemetina (BARALDI et al, 2008).

O chá tradicional de *A. annua* L. é rico em flavonoides e artemisinina, os quais são considerados os principais responsáveis pela atividade anti-helmíntica e respostas pró-inflamatórias (TARIQ et al, 2009; BRISIBE et al, 2009). Esses compostos conseguem acentuar a assimilação de medicamentos, potencializando a atividade farmacológica e prolongando a permanência dos fármacos nos organismos efêmeros (BLANKE et al, 2008). No entanto, a ingestão do chá e do composto artemisinina e/ou derivados isolados, podem não assegurar a erradicação total da malária, ocasionando o reaparecimento dos sintomas da doença. Menard et al, (2005) explicam que esse ressurgimento pode ocorrer devido à perda da sensibilidade de fármacos e pelo tempo de exposição ao tratamento. Visto que os teores de artemisinina encontrados no chá são relativamente mais baixos do que em tratamentos atuais, alguns estudos apontam que os flavonoides poderiam ser a razão pela eficácia da bebida contra os parasitas do *Plasmodium* (HSU, 2006).

Em áreas remotas da África, onde as terapias de combinação à base de artemisinina não são usuais para o tratamento da malária, o chá é a única opção para retardar o coma induzido em pessoas infectadas pela doença, mediante a hospitalização (FERREIRA et al, 2010). Uma vez que a malária afeta principalmente as regiões mais pobres, torna-se importante inovar os métodos tradicionais de obtenção de extratos puros de *A. annua* L. a fim de adquirir uma mistura de artemisinina, flavonoides e outras substâncias potencialmente preventivas e mais eficazes contra a doença (HSU, 2006). O maior desafio, no entanto, é manter a produtividade estável, sem variação na qualidade e na quantidade de princípios ativos, visando o aumento na confiança da fitoterapia (OLIVEIRA, 2012).

2.2.1.3 Óleos Essenciais

Os óleos essenciais, também conhecidos por óleos voláteis ou óleos etéreos, são compostos orgânicos lipofílicos de estrutura química heterogênea complexa (SIMÕES; SPITZER, 1999; RADÜNZ, 2004). Possuem algumas características físico-químicas interessantes como, por exemplo, propriedade viscosa com aspecto líquido oleoso, volatilidade, baixa massa molar, aromas fortemente notáveis, insolubilidade em água e solubilidade em solventes orgânicos (SIMÕES; SPITZER, 2003).

Os óleos essenciais são substâncias originadas do metabolismo secundário das plantas, sendo constituídos basicamente por terpenos e fenilpropanóides. Os principais terpenóides encontrados podem ser subdivididos em monoterpenos (estrutura molecular simples com 10 átomos de carbono) e sesquiterpenos (caracterizados pela presença de 15 carbonos estruturais) (LOPES, 1997; GONÇALVES et al, 2003). Ambos, geralmente, ocorrem simultaneamente nos óleos essenciais, todavia, os sesquiterpenos são encontrados em quantidades menores e podem influenciar no aroma dos óleos (WATERMAN, 1993). As características sensoriais e as propriedades terapêuticas podem ser dadas pelos componentes majoritários encontrados nos óleos, sendo eles, compostos oxigenados representados por aldeídos, alcoóis, ésteres, éteres e cetonas (SILVA et al, 1997; ARAÚJO, 2004).

Normalmente, os óleos essenciais são sintetizados nas folhas, sendo armazenados em espaços extracelulares, entre a cutícula e a parede celular, e constituídos basicamente pelos terpenos. Fatores genéticos e condições ambientais como época e horário de colheita, por exemplo, influenciam diretamente na produção de óleos essenciais e, conseqüentemente, no rendimento. A quantidade de óleo essencial obtido depende de diversos fatores internos e externos, principalmente conforme o método empregado e ao tempo de extração. O rendimento em óleo essencial é avaliado com base na matéria seca (SILVA, 2005; OLIVEIRA, 2012).

Estudos bioquímicos em várias fases de desenvolvimento da planta, evidenciam que, à medida que se conhece mais o comportamento da espécie e adaptação ao ambiente, melhor será a sua produtividade em biomassa e compostos ativos (OLIVEIRA, 1997). O cultivo de espécies aromáticas tem aumentado consideravelmente, expandido o uso terapêutico de óleos essenciais por todo o mundo.

A obtenção de óleo essencial é importante para a atividade econômica por serem amplamente utilizados contra várias doenças. Por apresentarem propriedades medicamentosas, antiespasmódico, antifúngicas, antibacterianas, antivirais e inseticidas, os óleos essenciais podem ser utilizados em indústrias aromáticas, perfumarias, cosméticas e farmacêuticas (WRIGHT, 2002; BAKKALI et al, 2008; BILIA, 2014).

Várias técnicas podem ser empregadas para a obtenção de óleos essenciais. Os métodos de extração mais utilizados são os processos de hidrodestilação, destilação por arraste a vapor d'água, extração com solventes orgânicos, enfleurage, prensagem a frio e CO₂ supercrítico. No entanto, o processo mais utilizado pelas indústrias é a extração de óleo por arraste a vapor d'água, uma vez que é de fácil execução operacional, apresenta baixo custo e proporciona bom rendimento (CASTRO, 1997).

Os constituintes químicos de *A. annua* L. podem ser divididos entre substâncias não voláteis e substâncias voláteis. As principais substâncias não voláteis encontradas na espécie são os sesquiterpenos, flavonoides, cumarinas, proteínas e esteroides (OMS, 2006). A espécie também é rica em óleos essenciais com 70% de substâncias voláteis em sua composição, incluindo uma variedade de mono e sesquiterpenos (BHAKUNI et al, 2001; BILIA, 2014). Entretanto, o teor varia significativamente com a cultivar (REALE et al, 2011) e também com o estágio de desenvolvimento (RANA et al, 2013; YANG et al, 2012). Os óleos essenciais de *A. annua* L. contêm pelo menos 40 compostos voláteis e vários sesquiterpenos não voláteis (WOERDENBAG et al, 1994; FERREIRA, 1996). A análise da composição química desse óleo apresenta como constituintes majoritários a artemisia cetona com teores aproximados de 68%, a cânfora com 48%, o 1,8 cineol com 51,5% e o germacreno D com 18,9% (BILIA, 2014). Além desses compostos, outras substâncias também podem estar presentes no óleo como, por exemplos, o canfeno, β - canfeno, cetona isoartemisia, hidrato de canfeno e o cuminal (OMS, 2006).

Recentemente, alguns trabalhos têm relatado atividade antiplasmodial ao óleo essencial de *A. annua* L. (MILHAU et al, 1997, FUJISAKI et al, 2012; CHERNEVA et al, 2012). Essa característica é atribuída à presença elevada de cânfora na composição química do óleo, uma vez que, esse constituinte aumenta a disponibilidade dos

timócitos e, conseqüentemente, auxilia na imunidade da malária. A cânfora apresenta alta biodisponibilidade, o qual pode aumentar significativamente o transporte da artemisinina, ocasionando a redução do ressurgimento da doença em indivíduos tratados com *A. annua* L. (CHERNEVA et al, 2012). Outros tipos de compostos fitoquímicos podem apresentar efeitos de combinação com artemisinina, aprimorando a condução da lactona sesquiterpênica. Kohl e colaboradores (2015) avaliaram o β -pineno em estudos de transporte de artemisinina, descobrindo assim, efeito semelhante aos resultados obtidos com a cânfora. A espécie *A. annua* L. não produz o β -pineno em sua composição química, todavia, a molécula de α -pineno é encontrada, demonstrando assim, alto potencial de estudo (WEATHERS; TOWLER 2014).

2.3 Manejo Pós Colheita.

Em todo organismo vivo ocorrem diversos tipos de transformações físicas, químicas e biológicas. Tais processos podem ocasionar alterações potencialmente problemáticas, principalmente em relação a produtos naturais. De fato, os metabólitos secundários possuem interação química com o ambiente, portanto, sua síntese é constantemente afetada por condições edafoclimáticas (KUTCHAN, 2001). Os fatores resultantes dessa interação que mais preocupam são os efeitos causados na qualidade da matéria prima, no teor de princípio ativo, a presença de elementos e/ou compostos tóxicos, entre outros. Deste modo, o cultivo e os tratamentos subsequentes de colheitas em espécies vegetais, devem ter atenção e cuidados. Caso contrário, os produtos comercializados e utilizados podem atribuir sérios riscos a saúde (VIEGAS JUNIOR et al, 2005; CARVALHO, 2015).

2.3.1 Pré Colheita

Muitas espécies vegetais foram introduzidas no Brasil e, portanto, algumas plantas apresentam variações em seus metabolismos, ocasionando alterações na qualidade e quantidade dos princípios ativos (CARVALHO, 2015). Geralmente, a qualidade é obtida durante todo o processo pré-colheita em que ocorre a produção da espécie. Deste modo, torna-se primeiramente necessário conhecer os tratos culturais da planta e, então, adequar as condições ambientais de cultivo (SOUZA et al, 2006; CARVALHO, 2015).

Os fatores do ambiente que mais afetam o crescimento e o desenvolvimento das plantas são o fotoperíodo, a radiação, a temperatura e umidade (SOUZA et al, 2006; GOBBO-NETO; LOPES, 2006). A variação de incidência de luz pode proporcionar um período de dormência em plantas mais sensíveis ao dia e, em alguns casos, o fotoperíodo indutivo condiciona o não florescimento de muitas espécies (CARVALHO, 2015). Nesse mesmo sentido, as baixas temperaturas têm influências significantes nos níveis de metabólitos secundários (CHRISTIE, et al, 1994). Em períodos mais quentes e com maior disponibilidade de radiação, algumas espécies medicinais demonstraram sensibilidades à temperatura, apresentando maior produção de biomassa (CARVALHO, 2015). A grande incidência de chuvas ou a falta de água pode ocasionar o estresse hídrico do vegetal, tendo como consequências, alterações importantes nos teores de metabólitos secundários. Existem diversos trabalhos científicos comprovando que a ocorrência frequente de chuvas, geralmente, eleva a produção de vários compostos químicos (JUNG, 2004). Os fatores edafoclimáticos não podem ser facilmente controlados, mas, podem ser utilizados em favor da espécie cultivada, influenciando consideravelmente em sua produtividade (SOUZA et al, 2006).

Além dos fatores edafoclimáticos apresentados anteriormente, os teores de princípios ativos nas plantas também dependem das características da própria espécie e das condições de cultivo (SOUZA et al, 2006). Para proporcionar a melhor qualidade do fitoterápico, recomenda-se a colheita de folhas e ramos antes do florescimento da planta, pois nessa fase há uma maior concentração de princípio ativo nas partes aéreas. A colheita, preferencialmente, deve ser realizada em tempo seco, sem chuva, no início da manhã. O acúmulo de água nas folhas pode causar a diluição do princípio ativo dentro da planta, além de proporcionar reações enzimáticas oxidativas que retardam e comprometem o processamento pós-colheita (EVANS, 1996; CALIXTO, 2000; CARVALHO, 2015).

2.3.2 Pós Colheita

O manejo das culturas, a colheita e a pós-colheita de um produto agrícola não são tratados adequadamente como deveriam, ocasionando a perda na eficácia dos princípios ativos (ARAÚJO, 2009). Deste modo, o armazenamento pós-colheita é considerado o fator mais crítico para a determinação da qualidade final do produto. O

manejo visa a conservação e o aumento do valor agregado do fitoterápico a partir do conjunto de técnicas operacionais de cultivo. As etapas seguem desde a colheita, com a remoção da planta do seu ambiente de crescimento, até a chegada ao consumidor final. Os cuidados no processo incluem tanto as operações de limpeza e separação das partes indesejáveis do produto quanto o meio logístico de transporte do material, devidamente protegido do calor e à chuva. A secagem, o armazenamento e a extração de óleo essencial também requerem cuidados e atenção (SILVA et al, 2003; MARCHESE; FIGUEIRA, 2005; SMITHA et al, 2014).

O manejo pós-colheita exerce papel fundamental no atendimento às necessidades dos consumidores. Tão importante quanto o papel da produção, são as atividades de classificação, tipos de embalagens e o uso da tecnologia do frio até a deterioração ou morte do produto (SILVA et al, 2003; CORTEZ et al, 2002).

As práticas pós-colheita de *A. annua* L. incluem a secagem inicial da planta inteira em sol pleno, seguido pela separação manual dos talos e galhos mais grossos. Posteriormente, o armazenamento ocorre em embalagens à prova de umidade (SMITHA et al, 2014). A crescente demanda por artemisinina ressalva a importância de compreender como os métodos de pós-colheita podem afetar a bioquímica desse composto e capacidade antioxidante da planta. A temperatura de armazenamento e preparação de amostras podem diminuir os compostos fenólicos em plantas, mas há poucas informações sobre a forma de como os procedimentos de secagem de folhas afetam esses compostos. Além disso, há poucos relatos sobre a pós-colheita e seus efeitos na secagem de *A. annua* L., embora, tenha sido afirmado que artemisinina é relativamente estável ao calor e da luz (SIMONNET, 2001). Alguns estudos afirmam que a etapa inicial de secagem ao sol pleno, favorece o aumento do teor de artemisinina nas folhas, justamente devido a sua sensibilidade a luz. Seguindo os mesmos procedimentos de cultivo e secagem, foi observado que a artemisinina apresentou uma pequena variação em seu teor, permanecendo entre a faixa de 0,9% a 1,1% em peso seco (MAGALHÃES et al, 2016).

2.3.3 Secagem e Desidratação.

Conceitualmente, a secagem pode ser definida como sendo o processo responsável pela eliminação da água de um produto por evaporação. É um processo simultâneo de transferência de calor e umidade (massa), onde existe a troca (da pressão) de vapor de água existente sobre a superfície do produto com o ar ambiente que o envolve, até um ponto de equilíbrio. No entanto, é necessário o fornecimento de calor para retirar a umidade do produto e um agente absorvente (RESENDE, 2006; SILVA et al, 2008; MARCHESE; FIGUEIRA, 2005).

As propriedades físicas e mecânicas dos produtos agrícolas são diretamente influenciadas pelo processo de secagem. O percentual de água nas plantas colhidas geralmente é alto, em torno de 60 a 80%. Para evitar a fermentação ou degradação dos princípios ativos é necessário reduzir o teor de água e, para isso, a secagem deve ser iniciada imediatamente após a colheita. A diminuição da quantidade de água no material reduz a ação enzimática, atividades biológicas, a atividade de água e a velocidade das reações química no produto, impedindo o desenvolvimento de microrganismos (CORRÊA JUNIOR et al, 1994; RESENDE, 2006; MARTINAZO, 2006; CORREA JUNIOR; SCHEFFER, 2013). Uma secagem mal sucedida pode proporcionar a degradação de componentes químicos importantes, comprometendo significativamente o teor dos princípios ativos e conseqüentemente, a qualidade dos mesmos (MARTINAZO, 2006). A eficiência de secagem está relacionada à velocidade de deslocamento da água do interior do produto para a sua superfície, além de fatores como a umidade relativa, temperatura e do fluxo de ar empregado no ambiente (MARTINAZZO et al, 2007).

Dependendo da espécie e dos constituintes químicos presentes, pode-se utilizar um ou algumas combinações diferentes de processos de secagem (BACCHI, 1996). A escolha do método mais adequado para a secagem é aquele que apresenta mínimas perdas na composição do produto. Deste modo, têm-se o cuidado de ajustar as temperaturas, pois, em processos com graus elevados, podem danificar as membranas celulares e desnaturar proteínas (VILLELA; PESKE, 2003).

Em várias espécies foram percebidos algumas alterações na composição química de óleos, ocasionados principalmente pelo método de secagem (VENSKUTONIS,

1997). Os métodos de secagem podem ser divididos em artificial ou natural. A desidratação pode ser realizada em corrente de ar frio ou em ar aquecido (CORREA JUNIOR; SCHEFFER, 2013). É um processo tecnológico que utiliza o condicionamento do ar seco por controle da temperatura, umidade relativa e velocidade do ar de secagem. O ar quente provoca a desidratação do produto por evaporação realizando em seguida, a emissão da umidade para o ambiente. As condições do ar de secagem no processo de desidratação, não dependem de fatores climáticos, o que proporciona a obtenção de um produto e subproduto com qualidade superior em menor tempo de processamento (EMBRAPA). A secagem natural, no entanto, é realizada sem nenhum controle de velocidade do ar, temperatura e umidade relativa. É um processo mais antigo e bastante simples em que utiliza o sol como instrumento direto no local de cultivo. Tem como desvantagem o risco de perda do produto por causa das condições climáticas adversas e dos compostos ativos pela ação da radiação solar (CORREA JUNIOR; SCHEFFER, 2013).

A secagem da *A. annua* L. geralmente inicia-se no campo, as plantas inteiras são colhidas e distribuídas no próprio local sobre uma lona plástica de forma a ficarem expostos à luz solar. À noite, as partes secantes são recolhidas e cobertas com lona plástica a fim de evitar o ganho de água. No dia seguinte, as partes colhidas são expostos novamente a incidência solar. Este procedimento, repetido constantemente por duas semanas, irá aumentar o teor de artemisinina em até 15% (SIMONNET et al, 2001). Estes autores sugerem que possa haver reação foto-oxidativa de precursores da artemisinina resultando no aumento do teor do princípio ativo. Determinar o efeito da secagem pós-colheita sobre a concentração de artemisininas, ácido diidroartemisinico (DHAA), arteanuina B (AB), monoterpenos e sobre a total atividade antioxidante de *A. annua* L. é de vital importância para extração de fitoquímicos bioativos (FERREIRA; LUTRIA, 2010).

2.3.4 Armazenamento

O armazenamento deve ocorrer quando o produto agrícola seco atingir o ponto de equilíbrio com o ar ambiente não apresentando troca úmida. Após a estabilidade do produto e averiguação da perda água, o material é embalado. A escolha ideal da

embalagem depende do tipo do produto seco, da quantidade do material, logística de transporte e exigências de qualidade pelo comprador. As embalagens mais utilizadas para os produtos naturais são sacos de papel, sacos plásticos de polietileno, sacos de papel pardos do tipo Kraft, sacos de rafia e caixas de papelão (SILVA, 2005).

É altamente recomendada a utilização de embalagens de papel Kraft sobrepostas em duas camadas externas para evitar a exposição do produto à radiação solar, uma vez que, alguns compostos são sensíveis à presença de luz podendo ser degradados. Deste mesmo modo, é importante embalar o produto internamente com uma camada de polietileno atóxico, a fim de evitar a reidratação do material (SOUZA et al, 2006).

O armazenamento deve ser realizado em lugar escuro, arejado, limpo e seco, livre de pragas e outros animais domésticos. Deve-se garantir que não ocorra nenhum tipo de contaminação do produto. O produto embalado deve ser armazenado no menor tempo possível, pois pode ocorrer uma diminuição e alteração dos princípios ativos (SILVA, 2005; SOUZA et al, 2006).

Alguns autores defendem que o armazenamento realizado sob-refrigeração tem ocasionado redução na deterioração dos produtos naturais. Essa prática tem sido adotada por países em desenvolvimento, principalmente de climas tropicais e subtropicais. A temperatura de armazenamento é, portanto, um dos fatores mais importante analisados justamente por regular todos os processos fisiológicos e bioquímicos associados, retardando a senescência do produto (CHITARRA, 2005).

Segundo Silva (2000), temperaturas baixas são utilizadas a fim de retardar as ações enzimáticas e químicas e também retardar ou mesmo inibir o crescimento e atividade microbiana nos alimentos. A conservação pelo frio pode ser realizada por resfriamento seguido de armazenamento refrigerado e por congelamento, o qual deve ser armazenado congelado.

2.3.5 Irradiação

A irradiação é definida como processo físico que consiste a exposição do material a uma fonte de radiação ionizante, por determinado tempo. As fontes incidentes no processo podem ser derivadas da radiação gama, raios X ou feixe de elétrons (DULLEY, 2002; PEREDA, 2005; CENA, 2008).

O uso da irradiação em produtos agrícolas teve início nos Estados Unidos e Reino Unido, durante o período da Segunda Guerra Mundial. O processo surgiu a partir da necessidade de adquirir técnicas para conservação de alimentos por períodos de tempo mais extensos (DIEHL, 2002). A partir desse momento, o processo de irradiação foi se destacando em outros países, assim como no Brasil, tornando comumente utilizado, principalmente, em exportações de alimentos (FOOD; WATER WATCH, 2006). A fonte de irradiação mais utilizada é proveniente do Cobalto-60, pois ocasiona menores perdas nutricionais e poucas alterações no produto (DULLEY, 2002; PEREDA, 2005; CENA, 2008).

O processo de irradiação é comumente utilizado como tratamento para a inibição de microrganismos patógenos e retardar alguns efeitos fisiológicos e senescência em alimentos. Deste modo, o processo consegue limitar alguns dos principais fatores responsáveis pela deterioração precoce dos alimentos, proporcionando qualidade pós-colheita e aumento significativo na vida útil dos produtos (PEREDA, 2005). A técnica de irradiação não apresenta riscos à saúde desde que o tratamento esteja dentro dos limites determinados pela legislação, visto que, o processamento não deixa resíduo (FARKAS, 2006; ARVANITOYANNIS et al, 2009). No entanto, em alguns produtos vegetais, doses elevadas de irradiação podem proporcionar o surgimento de compostos oxidativos como aldeídos, cetonas e alcoóis, ocasionados por alterações metabólicas e químicas durante o processo de irradiação, nos quais, geram mudanças em suas propriedades sensoriais (PEREDA, 2005; STEFAVONA et al, 2010).

Entre todas as etapas da irradiação, a dose é a mais importante. Proporcionalmente, para cada quilo de material ocorre a absorção de 1 Joule de energia. No entanto, para regular a dose corretamente é necessário considerar a vida útil da fonte de energia, a distância entre a fonte e o produto e o tempo de exposição (OLSON, 1998).

Vários relatos científicos têm demonstrado contentamento na empregabilidade do processo de irradiação em produtos naturais e fitoterápicos. Martin et al, (1996), por exemplo, demonstraram que o processo de irradiação minimiza perda de pós-colheita desde que estejam dentro das especificações de doses e manipulações.

Koseki et al, (2002) trabalhando com o pó desidratado de ervas das espécies botânicas de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), agrião (*Nasturtium officinale* R. Br), alcachofra (*Cynara scolymus* L.) e manjerição doce (*Ocimum basilicum* L.), irradiadas com raios gama de Cobalto 60 aplicando doses de 0, 10, 20 e 30 kGy, constataram que os fitoterápicos mostraram ação terapêutica idêntica com os não irradiado após a exposição das dose e dos testes farmacológicos efetuados por este estudo.

Tezotto-Uliana et al, (2013) ao usarem doses de radiação gama a 1,0 e 2,0 kGy em framboesas frescas, perceberam que a vida útil do produto armazenado sob refrigeração, aumentou em 8 dias. No entanto, a dose mais baixa apresentou resultados mais satisfatórios em relação aos compostos químicos e a senescência.

Fanaro (2013) estudou o uso da irradiação em chás da planta *Camellia sinensis* com diferentes valores de atividade de água. As doses utilizadas nos tratamentos foram 0; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 kGy. Foi observado que quanto menor a dose de radiação gama, maior foi a quantidade de água livre no meio. Entre todos os tratamentos, houve variações de compostos químicos e agentes microbiológicos, mas, no entanto, considerados insignificantes.

2.4 Malária.

A malária é uma doença infecciosa grave, causada por cepas parasitárias do gênero *Plasmodium* que se multiplicam nas hemácias do sangue. Apesar de ser uma doença conhecida desde a antiguidade, ainda é considerada uma problemática em nível mundial (CAMARGO, 2003; LEITE et al, 2013). No ano de 2015, 212 milhões de pessoas foram atingidas pela malária em diferentes estágios da doença, podendo ser considerados leves, moderados e graves (OMS, 2016). Ainda segundo a OMS (2016), a malária ocasionou cerca de 429 mil mortes no mundo. O continente africano é considerado a maior área de infecção, uma vez que, apresentam o percentual acima a 80% de efêmeros no mundo, com o maior índice de óbitos causado pela doença (HAY et al, 2004). As crianças e mulheres grávidas representam os maiores grupos de riscos sendo que, em 2015, a doença matou 303 mil crianças com idade inferior a 5 anos (OMS, 2016).

A malária se desenvolve rapidamente em países tropicais e subtropicais úmidos. No Brasil, as regiões Sul, Sudeste e Nordeste, tiveram redução drástica da doença, no

entanto, a região Amazônica é considerada preocupante com mais de 99% de casos registrados no país (CAMARGO et al, 1996; BRASIL, 2008; OLIVEIRA-FERREIRA et al, 2010). Fatores ambientais, socioeconômicos, biológicos e logísticos, contribuem para o agravamento do foco da doença (COSTA, 2013).

Há muito tempo, o combate à malária têm se tornado prioridade em muitos países endêmicos da doença. Entre as principais tentativas para controlar a infecção, destacam-se as investidas para controlar os mosquitos vetores das cepas parasitárias. O uso constante de inseticidas, repelentes e armadilhas com feromônios aplicados em regiões de riscos, tendem a diminuir a incidência do *Plasmodium* (OMS, 2015; OPAS, 2015). No entanto, a deficiência no controle vetorial pode ocasionar um agravante no número de casos atingidos pela doença. Recentemente, foi realizado um levantamento sobre a reincidência da malária em países afetados pela doença. Surpreendentemente, os dados revelaram que cinquenta países apresentaram o ressurgimento da infecção parasitária devido a falhas no programa de combate a doença. A deficiência no combate de vetores e a demora na detecção da doença foram consideradas fatores importantes para essa retomada (4ABC, 2011). Desde modo, diversas políticas para a erradicação da malária estão sendo implementadas (WONGSRICHANALAI et al, 2002).

Além das fases de prevenção em áreas de riscos, estão sendo desenvolvidos testes mais eficazes para diagnóstico e controle rápido da malária. No Brasil, o controle da doença é feita por uma combinação de quinina e tetraciclina para casos não complicados. Contudo, devido ao desenvolvimento de resistência do *Plasmodium* e, conseqüentemente, diminuição da sensibilidade à quinina, tem-se utilizado a artemisinina e seus derivados como tratamento (BALINT, 2001). O tratamento preventivo em gestantes e uso imediato de terapias combinatórias à base de artemisinina também estão sendo incentivados (OMS, 2015; OPAS, 2015).

Atualmente, em vários países endêmicos de malária, tem-se criado programas de incentivo para erradicar a doença. A estratégia global é que até o ano de 2020 ocorra significativa redução de mortes por malária e, até 2030, eliminação da doença (WHO, 2016).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material Vegetal

A cultivar utilizada foi a variação de Artemis, adaptada para o clima subtropical por meio de melhoramento genético em parceria com a Mediplant da Suíça. Os principais genótipos selecionados e desenvolvidos para a região de Paulínia-SP foram os híbridos CPQBA 5 x 2/39 e o CPQBA 3M x POP.

A espécie em estudo, *Artemisia annua* L., foi cultivada no campo experimental do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA), da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). O campo é localizado em Paulínia, SP, na latitude sul 22°48 min, na longitude oeste 47°0 min e altitude 669. O plantio foi realizado em solo latossolo vermelho escuro argiloso e adubação-verde realizada com mucuna.

3.1.1 Condições e tratamentos pós-colheita.

A matéria fresca da *A. annua* L. foi coletada no início de março, antes do florescimento, devido ao período em que a concentração de artemisinina é maior. As plantas foram cortadas inteiras, aleatoriamente, com auxílio de facão, apresentando alturas médias de 1,8 metros de comprimento.

Ao todo, foram colhidas 96 plantas, sendo separadas em quatro tratamentos de secagem e desidratação:

T1 - Campo sol pleno (CSP);

T2 - Campo sombra (CSM);

T3 - Estufa de circulação de ar (EST) a 28°C ± 2°C;

T4 - Câmara de crescimento (Câmara) a 15°C ± 2°C.

Cada tratamento continha quatro repetições. No campo, as plantas inteiras foram acondicionadas em formas de cabanas contendo oito plantas por parcela (Figura 7 e Figura 8) sendo, fixadas com amarras e sobrepostas em sombrite preto 50% luz (com dimensões 1,0 m x 1,0 m). O sombrite foi utilizado para minimizar possíveis perdas de material foliar ao decorrer dos dias de secagem.

Para os tratamentos de secagem e desidratação em Estufa e em Câmara de Crescimento (Figura 9 e Figura 10, respectivamente), foram separadas quatro plantas por repetição, sendo devidamente desmembradas em partes menores. O material vegetal continha apenas galhos mais finos e folhas, adensadas em sacos de sombrite preto 50%, sendo, posteriormente acondicionadas em seus âmbitos de tratamentos. Os materiais submetidos aos tratamentos mantiveram-se fixos em seus respectivos ambiente de secagem e desidratação, durante todo o período de avaliações.

Vale ressaltar que, as plantas secas na sombra e em sol pleno tiveram influências climáticas relativamente consideráveis, uma vez que, ficaram expostos há alguns fatores ambientais. Portanto, os tratamentos de secagem fixados no campo experimental, principalmente as plantas secas em pleno sol, tiveram influência constante de umidade, temperaturas, vento, entre outros.

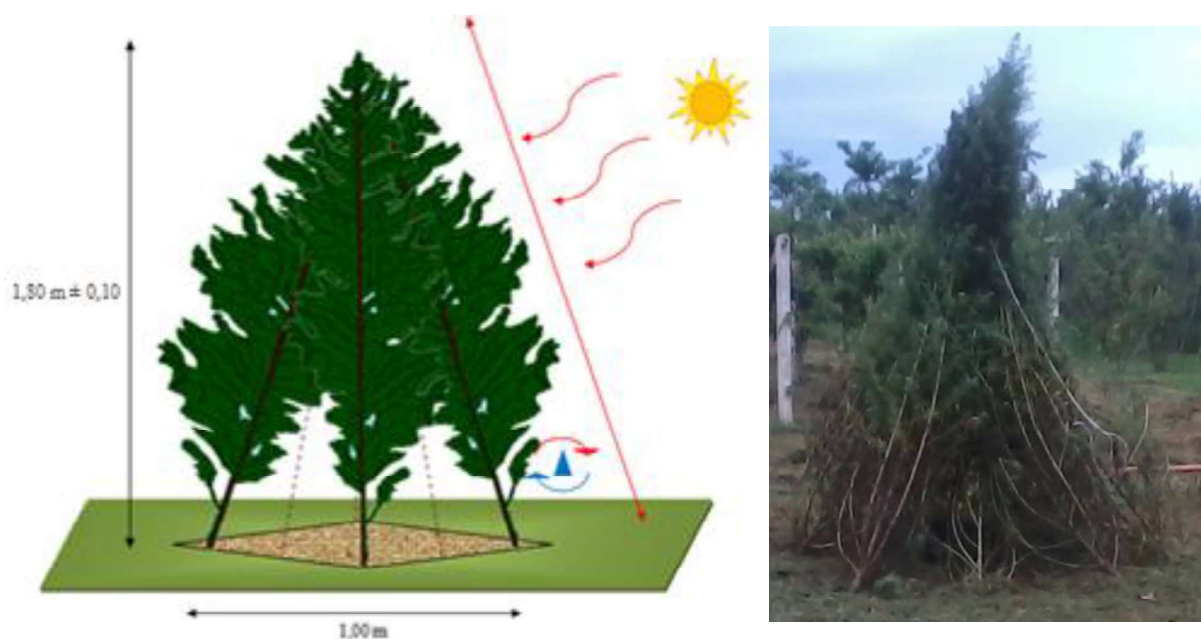


Figura 7. Representação da secagem em cabana de *A. annua L.* a pleno sol com circulação de ar e exposição a fatores ambientais. (Fonte: CPQBA/UNICAMP)



Figura 8. Representação da secagem em cabana de *A. annua* L. a sombra com circulação de ar natural e pouca exposição a fatores ambientais. (Fonte: CPQBA/UNICAMP)

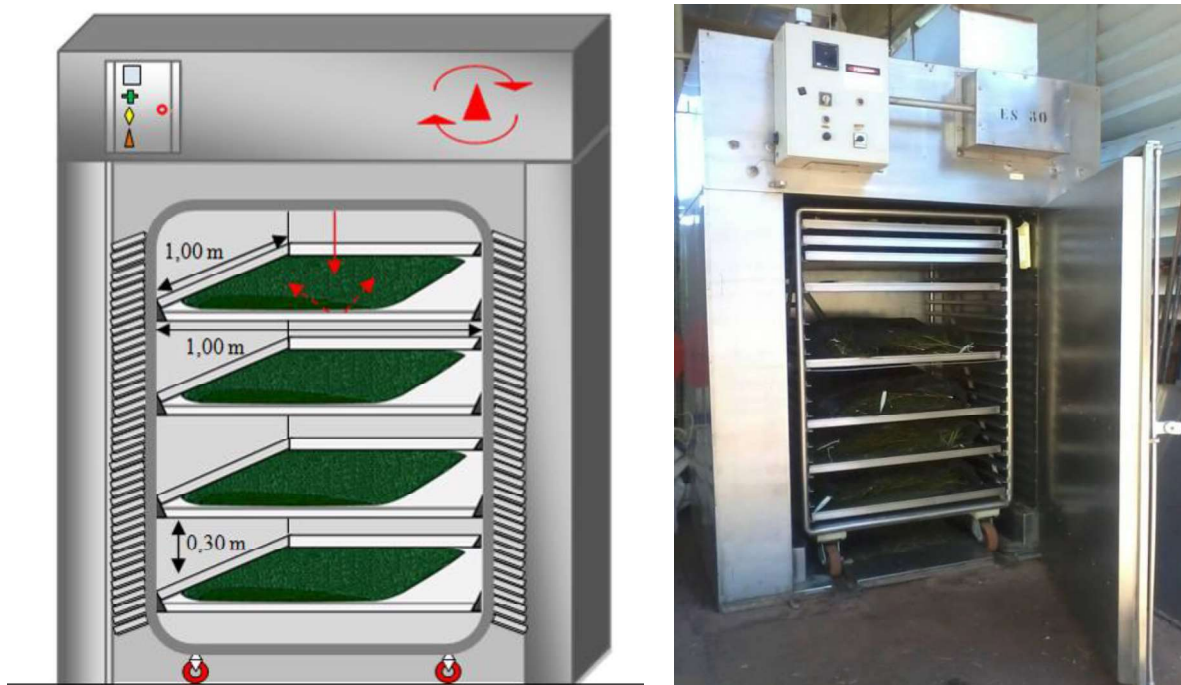


Figura 9. Representação da desidratação em sombrite de *A. annua* L. a estufa com sistema de circulação de ar quente forçado. (Fonte: CPQBA/UNICAMP)

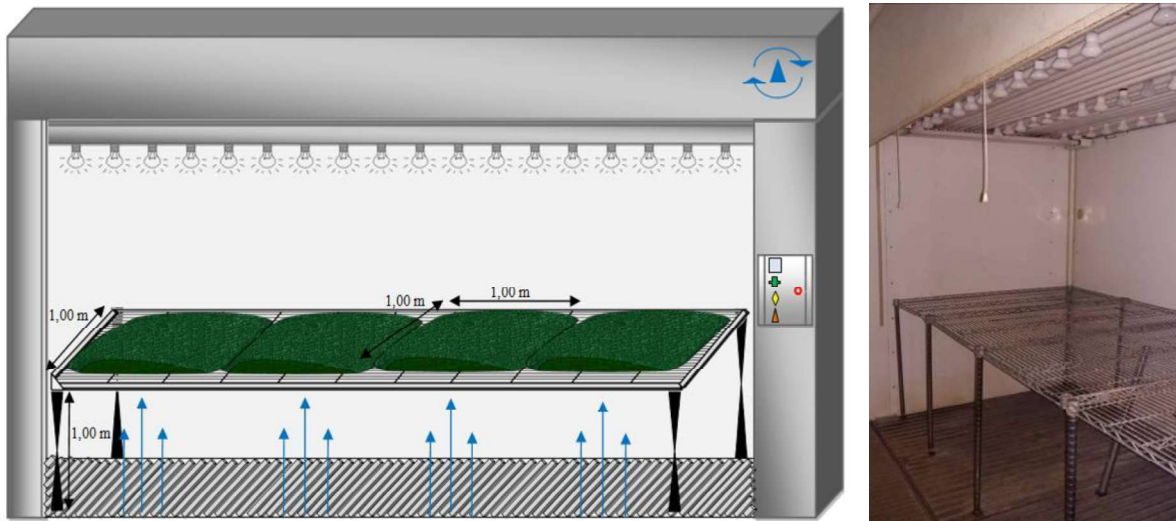


Figura 10. Representação da desidratação em sombrite de *A. annua* L. em Câmara de Crescimento com sistema de circulação de ar frio forçado e ausência de luz. (Fonte: CPQBA/UNICAMP)

Por serem ambientes com fatores ambientais variáveis, a área de estudo teve acompanhamento meteorológico em decorrer do período de 29 dias. As medições foram realizadas pela CEPAGRI, Unicamp.

Os experimentos de secagem e desidratação foram instalados no dia 12 de março e, conseqüentemente, iniciado o primeiro ponto de coleta vegetal para as análises de teor de água, rendimento e quantificação de óleo essencial, flavonoides e metabólitos (artemisinina, diidroartemisinina, deoxiartemisinina, ácido artemisínico e arteanuina B). Esse primeiro ponto de coleta, identificado como tempo zero, foi usado como material de referência padrão comparativa entre todos os tratamentos. As avaliações experimentais foram feitas uma vez por semana, durante 29 dias, no qual tiveram recolhidas mais quatro amostragens das folhas, sendo realizadas nos períodos de 5º, 12º, 19º e 29º dias de secagem e desidratação. Deste modo, foram totalizados cinco pontos de coletas, sendo o primeiro no tempo zero e os demais nas quatro semanas de acompanhamento.

As amostragens recém-coletadas foram feitas em triplicatas, sendo coletadas uniformemente, por toda a parte do vegetal. Os materiais coletados foram postos em sacos de polietino (10 cm x 20 cm) e imediatamente transportados para o processamento em laboratório. As amostragens de cada tratamento foram devidamente moídas em moinho analítico modelo A11 Basic, com rotação do motor equivalente a 28.000 rpm, o qual foi indicado por possuir a câmara fechada hermeticamente, com

perda de material praticamente zero. Após a redução granulométrica, as amostras foram novamente acondicionadas em sacos de polietileno de baixa densidade (5 cm x 15 cm) e, posteriormente, envoltas por papel do tipo Kraft. Esse processo minimiza o contato de luz com os materiais, proporcionando a menor possibilidade de degradação dos metabólitos em estudos. Todo material foi devidamente identificado, armazenados em frascos herméticos e mantidos no ultrafreezer à -80°C, por um período de 60 dias, até serem irradiadas e enviadas para análises.

A quantificação dos principais bioativos foi realizada no Departamento de Bioquímica e Biotecnologia localizado no Instituto Politécnico de Worcester (WPI) em Massachusetts, Estados Unidos. Entretanto, as análises de teor de água e rendimento em óleo essencial foram realizadas no Departamento de Agrotecnologia e o perfil químico dos óleos analisados no Departamento de Química Orgânica e Farmacêutica, ambos, localizados no Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA, Unicamp) em Campinas, São Paulo, Brasil.

3.1.2 Determinação do teor de água

A determinação do teor de água das amostras foi realizada no fim do período de 60 dias de armazenamento. Cerca de 1 g de todas as amostras obtidos nos 5 pontos de colheitas, foram pesadas em balança digital analítica em triplicada e colocadas em cadinhos de alumínio. A massa seca foi determinada colocando os cadinhos em estufa com circulação forçada a 105°C por 24 hrs (ASAE, 1991). Após este período os cadinhos foram retirados e colocados em dessecador. Depois de arrefecidas à temperatura ambiente em dessecador, foram submetidas à nova pesagem e quantificados os teores de água em percentagem de perda por dessecação, sendo:

$$p\% = \frac{P_1 - P_2}{P_1} \times 100 \quad (1)$$

em que P_1 representa o peso do cadinho contendo a amostra úmida, P_2 é o peso do cadinho contendo a amostra seca, P_1 é o peso da amostra fresca e P é o percentual de água.

O teor de água de um produto é a proporção entre a quantidade de água (em massa) existente no material e a massa seca. A determinação do teor de água é a

quantidade de água que pode ser removida do material sem alteração da estrutura molecular do sólido.

A determinação do teor de água foi realizada no Departamento de Agrotecnologia do CPQBA - Unicamp, SP.

3.1.3 Extração do óleo essencial

As folhas trituradas de *A. annua* L. foram submetidas à extração de óleo essencial pelo método de hidrodestilação de bancada (Figura 11).

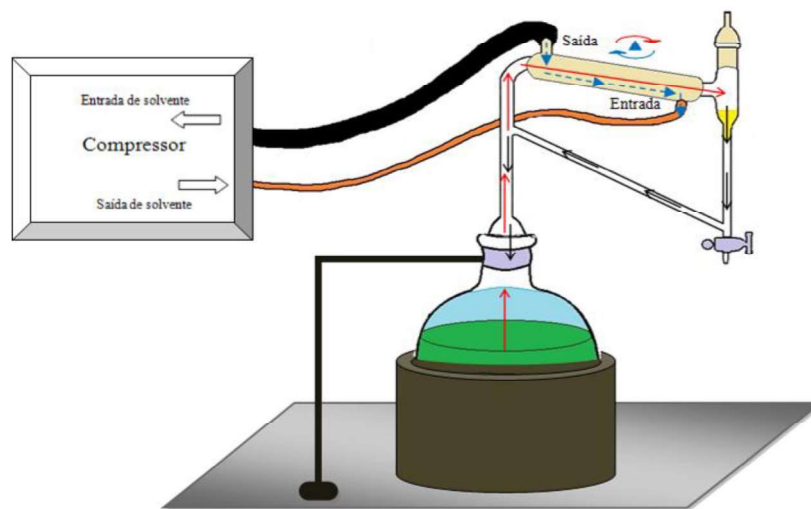


Figura 11. Sistema de hidrodestilação de bancada.

Para o método de hidrodestilação em bancada com sistema Clevenger, foram utilizados cerca de 100 g de folhas secas. As amostras já pesada foram transferidas para o balão volumétrico de 1000 mL, e, em seguida adicionado, aproximadamente, 500 mL de água destilada (H₂O), até cobrir a amostra. Após o preparo da amostra, montou-se o sistema de destilação, iniciando a extração pelo período de 2h. Ao término da extração, o óleo essencial foi recolhido com o auxílio de uma pipeta Pasteur, armazenado em vidro âmbar e verificado o rendimento. O rendimento em óleo essencial foi calculado com base na matéria seca ou base livre de umidade. Sendo:

$$R = (m_o * 100) / m_{pb}, \quad (2)$$

onde, R = rendimento de óleo essencial em %; m_o = massa de óleo essencial (g); m_{pb} = massa de planta bruta (g) (massa da planta total que foi destilada multiplicada pela

diferença de massa de planta após a secagem) e 100 = fator de conversão para percentagem. Os resultados foram expressos em % massa/massa, ou seja, massa (g) de óleo essencial por massa (g) de material vegetal seco.

A análise do perfil fitoquímico do óleo essencial dos tratamentos foi feita no Departamento de Química Orgânica e Farmacêutica do CPQBA - Unicamp, SP e, utilizando-se cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (Shimadzu, QP-5000), em triplicata. A identificação dos constituintes químicos foi feita pela análise comparativa dos espectros de massas das substâncias com o banco de dados do sistema CGEM (Nist 5.lib) cálculo do índice de retenção e literatura (ADAMS, 2007). Os índices de retenção (IR) das substâncias foram obtidos pela injeção de uma série homologa de n-alcanos (C8-C22 Sigma – Aldrich, 99%).

3.2 Extração dos metabólitos das folhas

A quantificação dos principais bioativos foi realizada no Departamento de Bioquímica e Biotecnologia localizado no Instituto Politécnico de Worcester (WPI) em Massachusetts, Estados Unidos. Todo o transporte das amostras foi feito pela DHL Express., onde permaneceram refrigeradas a $-20^{\circ}\text{C} \pm 5$, com gelo seco e em caixas de poliestireno expandido (isopor). Durante o percurso, as amostras foram monitoradas, com o auxílio de termômetro, e periodicamente, foram realizadas a manutenção do gelo para evitar o aumento da temperatura e degradação dos mesmos.

O tempo de trajeto das amostras para os Estados Unidos foi de aproximadamente 48h. No desembarco, os materiais apresentaram a temperatura final de 12 graus com $\pm 5^{\circ}\text{C}$ de variação. Todas as amostras foram armazenadas a -20°C até o início das análises.

Anteriormente, as amostras foram irradiadas pelo Centro de Tecnologia das Radiações (CTR) do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN, localizado no campus da Universidade de São Paulo (São Paulo - SP - Brasil) a fim de atender a legislação Norte-Americana e atender aos padrões de segurança. A fonte de irradiação utilizada nos tratamentos foi o Cobalto 60 na dose mínima de 10,2 kGy (1,0 Mrad), a fim de atender a legislação de fitossanidade exigidas para materiais de origem vegetais em exportação.

As análises se iniciaram com os tratamentos que apresentavam maiores teores de água, sendo o tempo zero e a câmara de crescimento. Para a extração de metabólitos, foi necessário adionar cloreto de metileno nas amostras. Para 25 mg de biomassa, foram adicionados 4 mL de diclorometano, em tubos de ensaio de vidro, e levados ao ultrassom em um banho de água gelada durante 30 minutos. Após esse tempo, houve formação de uma fase heterogênea, ao qual, o solvente decantado foi transferido para novos tubos de ensaio e secos em N₂. Em seguida, armazenada a -20 °C até à análise.

As amostras foram ressuspensas em diclorometano (1 mL) e, as alíquotas foram depois transferidas para cromatógrafo de fase gasosa acoplado a espectrômetro de massas (GC-MS) em frascos de amostra e secas.

3.2.1 Quantificação dos principais bioativos.

Para a quantificação de Artemisinina (ART), Deoxiartemisinina (deoxyAN), Arteanuina B (AB), Ácido Artemisínico (AA) e Ácido Diidroartemisinico (DHAA) foi usado a cromatografia de fase gasosa (CG) acoplada a espectrômetro de massas (CG-MS). Para que o método utilizado seja válido, é necessário aplicar as seguintes especificações: O cromatógrafo utilizado foi Agilent 7890A e MS, a Agilent 5975C, com a coluna Agilent HP-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm). O gás de arraste foi o Hélio à 1 mL/min. Volume de injeção usado é 1 mL no modo *splitless*. A temperatura da fonte de ion é 280°C; sendo a entrada de 250°C; na linha de transferência com 280°C. A temperatura do forno com 125°C realizada por 1 min, e, em seguida, aumentada para 300°C a 5°C/min.

O AA e DHAA foram analisados separadamente dos outros metabólitos, por serem equivalentes. Antes da injeção no cromatógrafo, foi primeiramente necessário a derivatização, ao qual, foi conseguido por ressuspensão em amostras de 20 µL na proporção de 1:1 de piridina:bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida (Sigma 270407 e Restek 35605, respectivamente); adicionados a 50 µL de pentano.

O padrão de AA utilizado nesta determinação foi o autêntico purificado da *A. annua L.* (Laboratório de Biotecnologia, Instituto Politécnico de Worcester, MA – USA), sendo utilizado para o cálculo das concentrações de AA e DHAA das amostras por meio da curva de calibração do referido padrão (MANNAN et al, 2010).

As amostras de AN, deoxyAN e AB foram ressuspensas em 100 μ L de pentano, antes das análises. A identificação da AN foi feita por consulta a biblioteca NIST (*National Institute of Standards and Technology*) e padrões validados, enquanto a deoxyAN e AB foram identificados apenas por comparação com padrões validados.

3.2.2 Determinação de flavonoides totais.

O procedimento para a extração dos flavonoides das folhas se iniciou nas etapas descritas anteriormente. O método utilizado para a determinação dos mesmos é descrito por Arvouet-Grand et al, (1994) adaptado por Weathers et al, (2014).

A metodologia empregada utilizou alíquotas de 1,0 mL do extrato inicial ressuspenso em Diclorometano (MeCl_2) e secas novamente em N_2 . Após a adição de 1,0 mL de solução metanólica contendo 1% de Cloreto de Prata (AlCl_3) amostrou-se 200 μ L e transferiu-se para em placas de *Elisa* (96 *well-plates*); estas foram seladas com filme adesivo transparente. Depois, foram deixadas em repouso por 20 minutos para iniciar a reação química. Ao fim do tempo de repouso, as amostras foram levadas a leitura em espectrofotômetro Wallac 1420, com programa específico para análise de dados. O teor total de flavonoides foi calculado usando a curva padrão de quercetina, em que, por serem compostos equivalentes, foi possível determinar a quantificação dos mesmos.

3.3 Análise Estatística.

A análise estatística foi organizada em desenho experimental inteiramente casualizado. O fatorial utilizado foi 5 tempos x 4 tratamentos x 3 repetições. Os dados foram analisados no programa Assistat 7.7 beta (SILVA e AZEVEDO, 2002) para análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste Tukey, ao nível de significância de 5 % de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Dados meteorológicos

Como relatado anteriormente, a área de estudo foi monitorada pelo laboratório da CEPAGRI na UNICAMP, a qual forneceu todas as informações meteorológicas relevantes para esse trabalho. O período monitorado foi de 29 dias, a partir do início das atividades experimentais.

Durante o período de secagem e desidratação, houve importantes variações nas temperaturas e umidades relativas do ar. No início da colheita houve incidência de chuva (Tabela 1), que proporcionou grande concentração de água nas folhas de *A. annua* L., refletindo na umidade do ambiente de secagem de cada tratamento (item 4.2).

Além desse, foram computados mais oito períodos de chuva ocorridos em dias alternados ao longo dos 29 dias. Portanto, no decorrer dos dias de secagem e desidratação, a umidade relativa ambiente manteve-se relativamente alto, com valores máximos próximos a 90%.

Ferreira (2005) argumenta que a variação de umidade é ocasionada pela troca de calor e massa úmida entre o produto e o ar do ambiente, no qual, passa por processos de resfriamento e de umidificação. Esse fenômeno pode ser verificado em todos os tratamentos (item 4.2).

Torna-se importante ressaltar que apesar das chuvas, houve variação constante de temperatura, ocasionando em períodos chuvosos valores de temperaturas superiores a 30°C. Em observações experimentais, foi constatado que a maioria dos períodos de maior umidade, houve ocorrência de chuva ao anoitecer.

Outro fator importante a ser considerado, é a ocorrência de ventos em alguns dias de avaliações, sendo constatados sete períodos importantes, cuja velocidade alcançou a 0,32 km/h. Para as plantas expostas no campo pleno sol e campo sombra, tal fato deve ser relevante para a análise dos resultados.

Tabela 1. Dados meteorológicos da região de Paulínia/SP avaliados durante os 29 dias de secagem. (Fonte: CEPAGRI/Unicamp)

Datas das Avaliações	Temperatura do Ar Máxima do dia (°C)	Temperatura do Ar Mínima do dia (°C)	Chuva Total do dia (mm)	Umidade Máxima (%)	Umidade Mínima (%)	Radiação Incidente Total do dia (KW/m ²)	Radiação Refletida Total do dia (KW/m ²)	Veloc. máxima do Vento a 2 metros (km/h)
12/03	29,60	19,22	12,19	100,00	50,50	124,50	126,60	0,00
13/03	30,49	19,76	0,00	100,00	59,29	217,00	54,05	0,00
14/03	33,14	20,39	0,00	96,00	52,10	254,60	68,24	0,00
15/03	33,38	20,23	0,00	92,00	43,14	280,60	44,19	0,32
16/03	33,87	21,34	2,54	90,10	40,17	294,50	36,24	0,32
17/03	33,06	19,07	0,00	94,10	40,70	284,30	43,47	0,00
18/03	33,79	19,17	27,43	86,70	38,27	214,50	79,80	0,00
19/03	30,93	18,85	0,00	100,00	34,25	258,90	52,03	0,32
20/03	31,84	19,32	2,29	100,00	52,56	211,30	73,30	0,00
21/03	29,36	19,62	9,14	98,50	47,15	155,70	100,90	0,00
22/03	29,04	19,18	0,25	100,00	63,66	156,50	90,40	0,00
23/03	25,63	18,65	0,00	100,00	61,98	234,10	56,54	0,00
24/03	28,20	17,43	0,00	89,50	64,58	255,90	54,57	0,00
25/03	29,27	16,89	0,00	92,30	55,72	267,70	46,54	0,32
26/03	29,36	18,06	0,00	87,80	47,93	241,00	66,98	0,00
27/03	30,48	17,69	0,00	93,20	50,33	230,60	64,41	0,00
28/03	31,57	18,28	0,00	94,60	44,43	217,90	76,40	0,00
29/03	32,34	18,37	0,00	95,50	42,12	232,60	60,61	0,00
30/03	29,00	19,43	0,00	91,60	44,33	160,00	82,50	0,00
31/03	30,27	20,00	13,46	97,80	57,92	148,50	92,40	0,00
01/04	31,71	18,73	0,51	100,00	55,17	221,60	87,80	0,00
02/04	31,28	19,26	0,25	100,00	50,48	215,30	76,80	0,00
03/04	31,17	18,51	0,00	97,70	53,07	200,30	79,60	0,00
04/04	30,42	19,04	0,00	95,70	50,92	230,60	62,28	0,00
05/04	32,28	17,43	0,00	92,50	54,04	255,30	46,17	0,32
06/04	31,92	17,35	0,00	97,40	40,06	253,20	48,46	0,32
07/04	32,92	17,59	0,00	92,50	36,36	248,20	52,19	0,32
08/04	32,67	18,49	0,00	89,10	28,70	241,30	51,67	0,00
09/04	33,46	18,15	0,00	92,60	29,69	208,20	73,60	0,00

Obs.: Os pontos de coletas estão sombreados.

4.2 Teor de água.

O método convencional é padronizado pela Farmacopeia Brasileira 4ª edição (1988), que avalia o teor de água e cinzas por perda e dessecação. O teor máximo de água permitido para o bom armazenamento de material vegetal de plantas medicinais e aromáticas é de até 12%. Acima desse percentual, a atividade enzimática, bem como o desenvolvimento de mofo, leveduras e bactérias possuem aumentos significativos, enquanto em valores percentuais inferiores, todos esses fatores são minimizados. Como a *A. annua* L. é sempre seca em ar ambiente, este valor de 12%, às vezes, pode ser difícil de alcançar em um período de alta umidade do ar, como, por exemplo, durante a estação chuvosa (SIMONNET, 2010). De acordo com essas informações, as amostras secas de *A. annua* L. avaliadas nesse trabalho, mostram importantes variações de teor de água conforme aos tratamentos estipulados (Tabela 2). Pode-se afirmar que apenas as amostras secas em Campo Sol e em Estufa se enquadraram nos parâmetros estabelecidos.

Tabela 2. Comparação média do teor de água percentual da *Artemisia annua* L. entre os tratamentos de secagem e desidratação no decorrer dos 29 dias.

Tratamentos	Tempo Zero	5 dias (%)	12 dias (%)	19 dias (%)	29 dias (%)	Média (%)
Câmara	70,11 aA	30,23 aB	19,78 aC	20,55 aC	19,11 aC	31,96 a
Estufa	70,11 aA	8,00 cB	7,55 dB	7,45 cB	5,89 dC	19,80 d
Campo Sol	70,11 aA	10,78 bB	11,67 cB	10,78 bB	10,66 cB	22,81 c
Campo Sombra	70,11 aA	12,00 bE	17,22 bC	19,67 aB	14,55 bD	26,71 b
Média (%)	70,11 a	15,25 b	14,05 c	14,61 c	12,56 d	-

C.V% 3,11

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste Tukey ($p \leq 5\%$). Letras maiúsculas, nas linhas, são comparativas entre tempos enquanto as minúsculas, nas colunas, são comparações entre os tratamentos. O tempo zero é considerado material de referência, uma vez que, representa a planta fresca sem tratamento. C.V% = coeficiente de variação.

Na *A. annua* L. de todos os tratamentos foi possível verificar que houve redução no teor de água em decorrer dos dias de secagem e desidratação, no entanto, foi durante os cinco primeiros dias, que ocorre com maior intensidade.

É importante ressaltar que as plantas do tratamento campo sol permaneceram expostas em ambiente aberto, sem algum tipo de proteção atmosférica, recebendo chuva diretamente e, ainda, em contato com orvalho pela manhã. Tais fatores, não

apresentaram tantas influências nos teores de água encontrados nos materiais, demonstrando estabilidade durante todo o período de avaliação, permanecendo com valores aproximados de 10,7%. As amostras mantidas em estufa de circulação de ar a 28°C também apresentaram estabilidade, permanecendo com teores de água equivalentes a 7,6% em quase todos os pontos avaliados, com exceção do último dia de coleta, o qual proporcionou redução para 5,89%. Ambos os tratamentos foram considerados adequados para a redução do teor de água e, conseqüentemente aptos para manter a qualidade dos produtos secos quando armazenados.

As plantas de *A. annua* L. acondicionadas no campo sombra e câmara de crescimento, no entanto, mantiveram índice de teor de água acima dos 12% estipulados pela legislação durante todos os períodos de avaliação. Por ter sido fixado em local protegido do sol com apenas a circulação de ar como fonte de secagem e, devido à incidência de chuva, o campo sombra obteve elevado índice de umidade ambiente, com percentuais de mínima e máxima equivalente a 28,7% a 100%, respectivamente. Já para as temperaturas, a faixa de variação encontrada foi de 34°C máxima e 17°C mínima (Tabela 1). Essa variação da umidade e de temperatura possibilitou aumento significativo no teor de água nas folhas de *A. annua* L. em alguns períodos da secagem. Quando comparado com o campo sol, os valores apresentados se contrastam, uma vez que, ao serem expostas a fatores ambientais, as amostras tendem a perder mais água devido à troca de calor. No entanto, quando comparado com as amostras secas em câmara de crescimento, os valores de umidade ambiente se assemelham.

As folhas de *A. annua* L. na câmara de crescimento mantiveram os maiores índices de teor de água quando comparados com os demais tratamentos. Por ser um sistema totalmente fechado e controlado, no ambiente interno foram encontrados os valores de umidade percentuais mínimos de 34% e máxima de 90%, com temperatura constante de 15°C. Esse sistema de secagem manteve as amostras enclausuradas enquanto ocorria a desidratação das folhas, permitindo assim, a troca de massas entre as plantas e o ambiente. Ao decorrer dos 29 dias de secagem, apesar da queda no gradiente de umidade relativa do ambiente, os valores percentuais de teor de água nas folhas de *A. annua* L. se mantiveram acima dos parâmetros estabelecidos, com 19% de dosagem.

Com exceção do Campo Sombra, os demais tratamentos mantiveram estabilidade na desidratação das amostras de *A. annua* L. (Figura 12). No entanto, a alta umidade pode desencadear a proliferação de microorganismos, tornando o uso das folhas inapropriado para o consumo. Deste modo, apenas a Estufa e o Campo Sol apresentaram resultados satisfatórios, com teor de água abaixo de 12% em todos os pontos de coleta analisados.

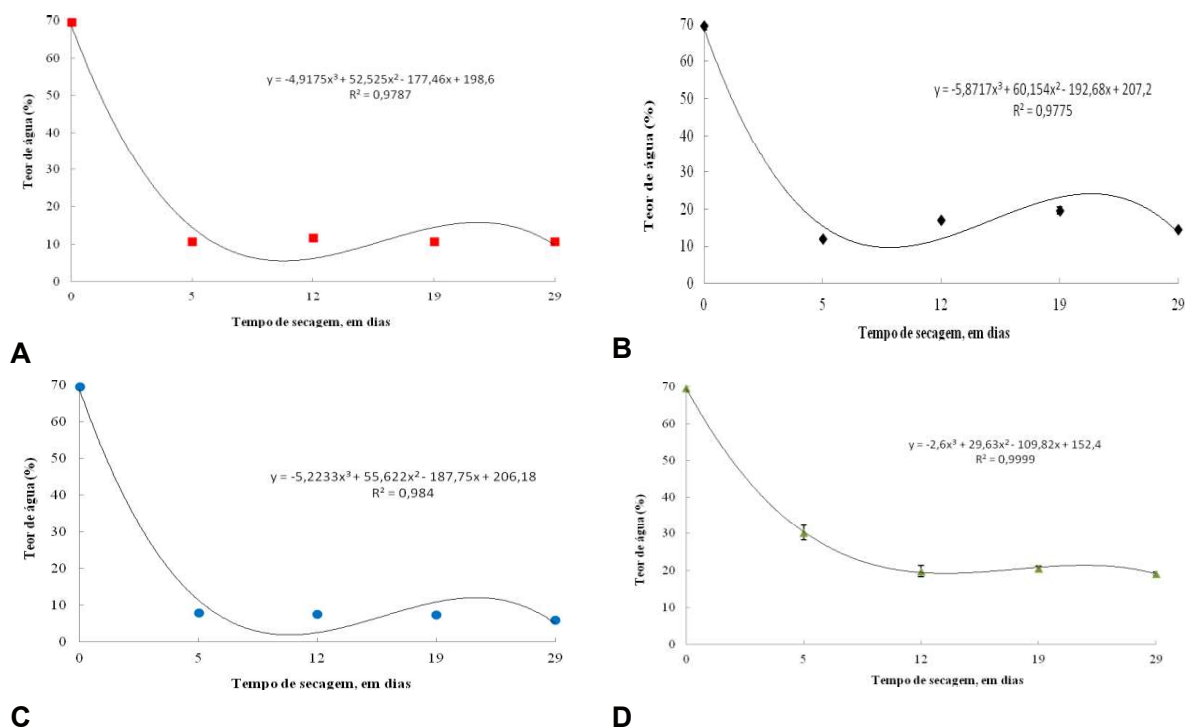


Figura 12. Cinética de teor de água da *Artemisia annua* L. nos tratamentos de secagem e desidratação em câmara de crescimento, campo sombra, campo pleno sol e estufa ao decorrer de 29 dias: (A) Campo Sol; (B) Campo Sombra; (C) Estufa de Circulação de Ar; (D) Câmara de Crescimento.

A temperatura e umidade relativa do ar são dois fatores que têm um forte impacto sobre a estabilidade do teor de água durante a secagem da planta em ambientes naturais. A baixa temperatura e a alta umidade relativa colaboraram para manter esse teor alto nas folhas de *A. annua* L. avaliadas na câmara de crescimento e no campo sombra. Esse alto percentual de umidade em plantas secas em campo aberto também foi percebido por Simonnet (2001). Ele trabalhou com vários métodos de secagem de *A.annua* L. em campo pleno sol com diferentes tipos de abordagem, sendo eles: plantas inteiras deitadas no chão em lonas, plantas de pé em forma de tendas e penduras

cabeça para baixo. Ele reportou que todos os processos de secagem em campo aberto obtiveram de 20 a 30% de água nas folhas após 8 dias. É importante destacar que as temperaturas em campo aberto podem variar muito durante esse período, assim como, a umidade devido às chuvas.

Simonnet (2001) também avaliou a secagem de plantas de *A. annua* L. cortadas e colocadas em lonas no chão sobre dois tratamentos de secagem no campo sendo descobertas e cobertas. Para as plantas descobertas, o teor de água caiu para 51% depois de 3 dias e 43% após 1 semana. O teor de água das plantas cobertas permaneceu cerca de 10% maior do que as plantas descobertas, ou seja, 61% depois de 3 dias e 56% após 1 semana. A precipitação e a temperatura caíram no final da 1ª semana/início da 2ª semana, o que contribuiu para estabilizar a umidade das plantas durante a 2ª semana de secagem. No momento da colheita, as plantas mostraram um teor de água de 64%, sem diferença perceptível entre folhas e caules.

A técnica de secagem em estufa é muito recomendada devido a sua estabilidade e garantia de qualidade do produto, mas, no entanto, a técnica natural torna-se a mais viável para pequenos produtores justamente por evitar altos investimentos, bem como à menor possibilidade de alteração da composição química (CORRÊA et al, 2004). O autor justifica a importância das investigações adequadas de processamento pós-colheita diante da diversidade de métodos de secagem e desidratação. Atualmente, a estufa de secagem se destaca pela facilidade e padronização na qualidade pós-colheita, no entanto, a secagem ao sol continua sendo altamente utilizada por baixo custo e acessibilidade.

Devido à variação de umidade nas amostras armazenadas, todos os resultados apresentados a seguir foram corrigidos conforme os seus valores do teor de água correspondentes.

4.3 Rendimento em Óleo Essencial

As amostras de todos os tratamentos de secagem foram submetidas ao processo de extração de óleo essencial e, conseqüentemente, tiveram os seus rendimentos determinados (Tabela 3) e expressos em percentual de massa seca. Após as determinações, amostras de óleo essencial foram encaminhadas para quantificação dos constituintes químicos e avaliação do perfil cromatográfico.

Tabela 3. Comparação percentual de rendimento em óleo essencial na *Artemisia annua* L. dos tratamentos no decorrer do período de 29 dias.

Tratamentos	Tempo Zero	5 dias (%)	12 dias (%)	19 dias (%)	29 dias (%)	Média (%)
Câmara	0,82 aA	0,77 bcA	0,89 aA	0,70 aA	0,83 aA	0,80 b
Estufa	0,82 aA	0,76 cA	0,33 bB	0,24 bB	0,27 bB	0,48 c
Campo Sol	0,82 aA	0,95 abA	0,36 bB	0,25 bB	0,18 bB	0,51 c
Campo Sombra	0,82 aB	1,09 aA	0,95 aAB	0,84 aB	0,84 aB	0,91 a
Média (%)	0,82 a	0,89 a	0,63 b	0,51 c	0,53 c	-
C.V% 12,16						

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste Tukey ($p \leq 5\%$). Letras maiúsculas, nas linhas, são comparativas entre tempos enquanto as minúsculas, nas colunas, são comparações entre os tratamentos. O tempo zero é considerado material de referência, uma vez que, representa a planta fresca sem tratamento. C.V% = coeficiente de variação.

Em diferentes fases de crescimento e desenvolvimento da planta, a *A. annua* L. demonstra variação no teor de rendimento em óleo, principalmente nos períodos de pré- floração, floração e pós-floração. Os rendimentos dos óleos (%p/p) obtidos por hidrodestilação das amostras secas ao ar nas diferentes fases foram da ordem de: pré- floração (0,97%), floração (1,23%) e pós- floração (0,87%) (CARVALHO, 2013).

Vários relatos sugerem que o rendimento de óleo de *A. annua* L. pode variar entre 0,02% e 0,49% na massa fresca e de 0,04% a 1,9% na massa seca (BAGCHI et al, 2003). Essa diferença é muitas vezes caracterizada pela cultivar e pelas condições de cultivo, além de diversos outros fatores.

Como relatado anteriormente, a cultivar utilizada foi uma variação de Artemis, adaptada para o clima subtropical por meio de um processo de melhoramento genético em parceria com a Mediplant da Suíça. Essa cultivar, em inflorescência, produziu o rendimento médio em óleo essencial de 1%, em boas condições de cultivo.

Muitas vezes, quando a planta é exposta a uma situação de estresse hídrico, climático ou semelhante pode, conseqüentemente, ocasionar alterações no metabolismo secundário. A temperatura é um dos fatores que exerce maior influência em seu desenvolvimento afetando, significativamente, a produção de metabólitos. No entanto, talvez pelo fato da temperatura ser uma consequência de outros fatores, como altitude e sazonalidade, não existem muitos estudos sobre sua influência isoladamente na produção de metabólitos secundários (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Alguns trabalhos realizados por Magalhães (2002) comprovaram que quando a *A. annua* L. é colhida e seca ao sol por certo tempo, o teor de artemisinina se elevou significativamente. Com base nos dados, foi possível constatar que esse perfil se confirmou para a determinação de rendimento em óleo essencial da espécie (Figura 13), logo no início da secagem.

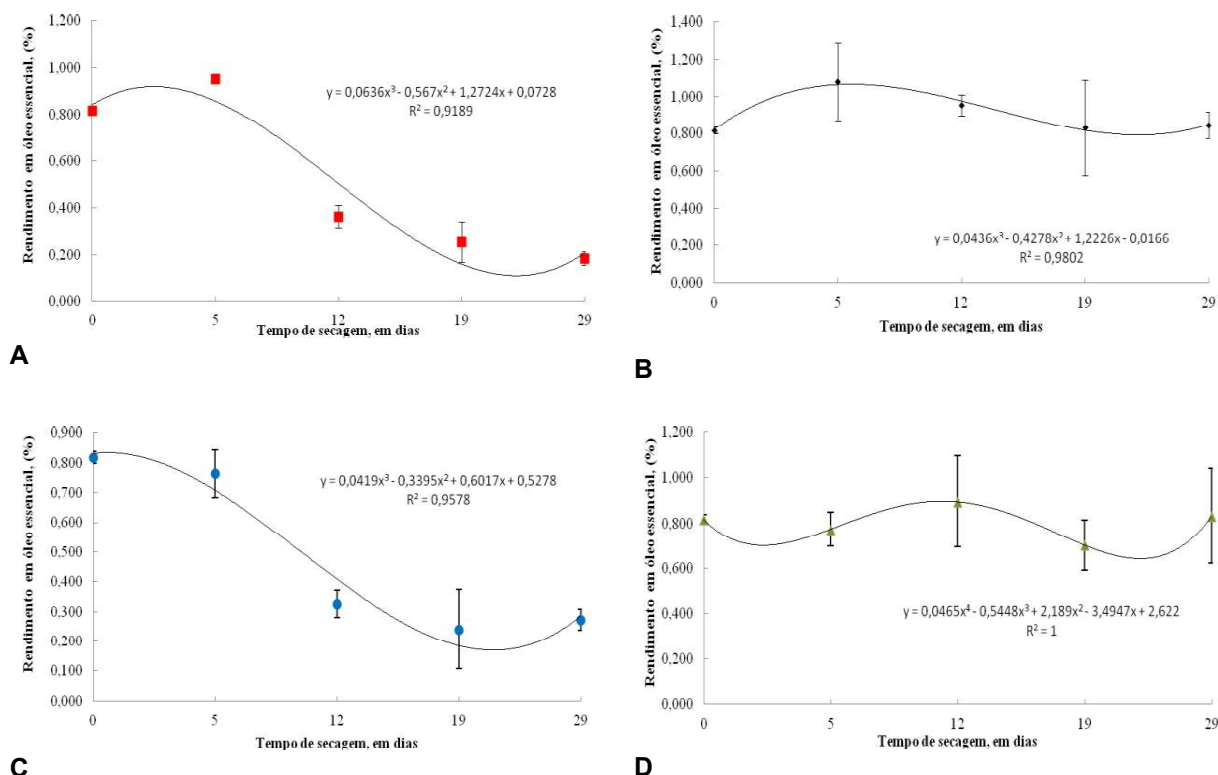


Figura 13. Cinética dos rendimentos médio em óleo essencial da *Artemisia annua* L. dos tratamentos de secagem e desidratação em câmara de crescimento, campo sombra, campo pleno sol e estufa ao decorrer de 29 dias: (A) Campo Sol; (B) Campo Sombra; (C) Estufa de Circulação de Ar; (D) Câmara de Crescimento.

Na primeira avaliação, foi observado que as amostras vegetais secas no Campo Sombra e Campo Sol tiveram o teor de óleo aumentado, quando comparado com o tempo zero. No entanto, as avaliações consequentes demonstraram perdas de óleo significativas para as folhas de *A. annua* L. submetidas ao tratamento Campo Sol. Por sua vez, o Campo Sombra apresentou estabilidade, preservando o óleo essencial em todos os pontos até o decorrer dos 29 dias, apesar das leves variações.

A Câmara de Crescimento apresentou estabilidade semelhante as folhas do Campo Sombra, sendo ambos considerados os melhores tratamentos de secagem para

a preservação do óleo aos 29 dias. Os óleos essenciais são voláteis e, portanto, à medida que a temperatura do processo de secagem aumenta a concentração deles na planta diminui. Esse fato foi constatado nos tratamentos do Campo Sol e da Estufa, confirmando que quanto maior for a exposição da planta ao calor, maior foi a perda de óleo essencial. Khangholil e Rezaeinodehi (2008) também tiveram essa percepção ao avaliarem a influência da secagem em ar ambiente e aquecido em temperaturas de 35°C, 45°C, 55°C e 65°C sobre a quantidade e qualidade do óleo essencial das folhas de *A. annua* L.. Os resultados mostraram que o aumento da temperatura do ar de secagem diminuiu o teor de óleo essencial de 1,12% em temperatura ambiente para 0,88% a 35°C, para 0,55% a 45°C, para 0,50% a 55°C e para 0,37% a 65°C. Os principais compostos encontrados na composição química do óleo essencial de *A. annua* L. são: cânfora, trans-cariofileno, germacreno D, espatulenol, alfa-pineno e artemisia-cetona.

Outros autores também apresentaram resultados comprovando a influência da secagem sobre os teores dos constituintes químicos. Pirbalouti, Salehi e Craker (2017), por exemplo, trabalharam com folhas de *Coriandrum sativum* sobre diferentes tipos de secagens, sendo secas em luz solar direta, sombra, microondas a 500 W e 700 W, liofilização, fornos mecânicos a 40° e 60°C. As amostras secas em liofilizador obtiveram o rendimento em óleo essencial mais elevado, seguido posteriormente pela secagem a sombra. Os componentes químicos principais tiveram grande variação em seus teores, obtendo a faixa de 6% a 38%, dependendo é claro, do tratamento de secagem utilizado. Os componentes majoritários como decanal e n-decanol diminuíram significativamente em amostras secas no forno a 60°C e no microondas, contrariando os demais constituintes que apresentaram importante aumento, sendo eles 1-tetradecanol, 1-eicosanol e cis-phytol. A composição do óleo essencial foi caracterizada por decanal (0-37,5%), cis-fitol (1,0-34,1%), 1-tetradecanol (traço - 31,7%), 2E-dodecenal (8,3-17,2%), dodecanal (0,5-14,8%) N-decanol (0,5-14,8%), trans-2-undecen-1-ol (tr-12,9%), 2E-dodecenal (0-11,3%), 1-eicosanol (0-6,4%) e metilcavicol (0-6,0%).

Alguns autores relatam que o horário de colheita interfere significativamente nos teores de óleo essencial das espécies medicinais e aromáticas assim como na composição de outros metabólitos. Blank et al, (2005), por exemplo, avaliaram a

influência do horário de colheita e secagem das folhas no óleo essencial de *Melissa officinallis* cultivadas em estufa agrícola e campo experimental. Os horários de colheita estipulados foram as 8h, 9h, 11h, 14h, 15h e 17h com avaliação em folhas frescas e secas a 40°C.

O horário de colheita e a secagem das folhas de *M. officinallis* influenciaram na composição química do óleo essencial, obtendo o maior teor em cultivo de campo com folhas frescas colhidas às 17 h. Deste modo, justifica-se que o período ideal para a colheita e manipulação das folhas de *A. annua* L. é matinal, sendo realizado esse processo em todos os pontos de secagem e desidratação estipulados nos 29 dias de experimento.

4.3.1 Composição Química

Não houve grande variação na composição dos óleos essenciais. No entanto, os percentuais relativos dos constituintes químicos apresentaram diferentes valores na *A. annua* L. conforme os tratamentos submetidos.

O tratamento Campo Pleno Sol induziu variação nos percentuais relativos dos constituintes ao decorrer dos 29 dias, acompanhando a queda dos resultados de rendimento médio em óleo essencial em todos os compostos majoritários em destaque.

É importante ressaltar que apesar da incidência solar direta durante os 29 dias de secagem, as plantas desidratadas continuaram apresentando óleo essencial. Alguns monoterpenos foram encontrados na composição química do óleo essencial com a Cânfora, por exemplo, que foi considerado como majoritário da *A. annua* L. nesse tratamento (Tabela 4).

Os monoterpenos são considerados altamente voláteis, justamente por possuir estrutura molecular relativamente simples quando comparados com os outros constituintes químicos do óleo.

A incidência de calor constante nesse período resultou em diminuição contínua em todos os compostos majoritários. A Cânfora, o Trans-Cariofileno e o Germacreno D apresentando a mesma tendência decrescente de percentual relativo, permanecendo todos com teores finais próximos a 6%.

Tabela 4. Composição química dos óleos essenciais (%) extraídos do tratamento de secagem e desidratação no campo pleno sol (CPS).

IR	Identificação	T. Zero	5 dias	12 dias	19 dias	29 dias	Média
1024	para-cimeno*	tr	0,44	tr	tr	tr	0,09
1030	1,8-cineol (eucaliptol)*	tr	1,42	0,73	tr	tr	0,43
1066	gama-terpineno*	tr	tr	0,35	tr	tr	0,07
1152	Canfora*	9,33	16,37	16,66	14,62	6,20	12,64
1177	Borneol*	0,85	1,02	1,57	0,76	0,56	0,95
1375	alfa-copaeno'	1,01	1,42	1,30	1,45	0,75	1,19
1418	trans-cariofileno'	11,75	14,44	10,94	8,92	5,24	10,26
1452	alfa-humuleno'	0,86	0,91	0,66	tr	tr	0,49
1458	trans-beta-farneseno'	6,24	7,41	4,89	2,34	1,89	4,56
1475	beta-chamigreno'	1,34	1,59	1,31	1,23	1,34	1,36
1482	germacreno D'	28,21	26,97	16,39	8,92	6,98	17,49
1485	beta-selineno'	1,30	1,27	1,55	1,21	1,93	1,45
1495	Biciclogermacreno'	3,51	2,44	1,51	9,21	0,98	3,53
1573	M = 218'	2,91	2,27	2,63	2,13	3,37	2,66
1576	Espatulenol'	tr	1,80	1,11	0,89	0,93	0,95
1581	óxido de cariofileno'	2,28	2,62	5,02	6,24	8,36	4,90
1622	M = 220'	2,80	2,16	3,03	6,75	6,51	4,25
1628	M = 220'	3,09	2,34	3,57	5,34	7,52	4,37
1633	cis-cadin-4-en-7-ol'	2,35	1,76	2,78	3,54	5,18	3,12
1636	M = 220'	0,46	0,96	1,92	3,42	2,14	1,78
1654	n.i.'	1,38	1,52	1,79	2,19	2,59	1,89
1656	M = 220'	1,08	0,82	1,49	1,89	2,70	1,60
1664	M = 218'	1,67	1,13	1,79	1,42	2,93	1,79
1684	germacra-4(15),5,10(14)-trien-1-alfa-ol'	2,80	2,17	5,18	5,34	5,38	4,17
1719	M = 218'	1,78	1,20	1,52	2,13	3,44	2,01
1919	M = 234'	3,60	2,23	2,66	3,25	4,43	3,23
Monoterpenos (%)		10,18	19,25	19,31	15,38	6,76	14,18
Sesquiterpenos (%)		80,42	79,43	73,04	77,81	74,59	77,05
Total identificado		90,60	98,68	92,35	93,19	81,35	91,23

(* Monoterpenos; (') sesquiterpenos; tr - traço da substância, ni – não identificado. Linhas sombreadas representam compostos majoritários.

Khangholil e Rezaeinodehi (2008) avaliaram a influência da secagem em ar ambiente e aquecido a 35°C, 45°C, 55°C e 65°C sobre o óleo essencial das folhas de *A. annua* L.. A temperatura de secagem teve efeito sobre a composição química do óleo essencial. Os principais componentes foram acetona e 1,8 cineol para temperatura ambiente e para ar aquecido a 45°C; acetona, 1,8 cineol e cânfora para ar aquecido a 35°C e 55°C; e beta-cariofileno e germacreno D para temperatura do ar de secagem a 65 °C.

Rocha et al, (2000) avaliaram a influência de cinco tratamentos de secagem no rendimento e composição química do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus*. As folhas foram submetidas a estufa de circulação de ar forçada em temperaturas de 30°C, 40°C, 50°C, 60°C e 70°C. A secagem à 60 °C apresentou os melhores resultados no rendimento de óleo. Todavia, a composição do óleo obteve variação em função dos tratamentos, sendo o neral o componente majoritário. Apenas o tratamento realizado a 50°C apresentou o citronelal como majoritário.

As plantas submetidas ao tratamento de secagem no campo sombra não apresentaram diferenças nos percentuais relativos dos constituintes ao decorrer dos 29 dias.

Outro fator importante a ser considerado é o relativo aumento no teor da Cânfora ao longo dos dias de secagem. No período inicial da colheita, o tempo zero apresentou teor de 9,33%. Nas avaliações conseguintes, os teores foram aumentados para 15%, chegando ao máximo de 18%.

O trans-cariofileno também teve o seu teor aumentado de 11% para 14%, atingindo estabilidade nos demais pontos de colheitas avaliados.

Os compostos majoritários foram preservados, obtendo teores finais bem semelhantes. A Cânfora, o Trans-Cariofileno e o Germacreno D apresentando a mesma tendência teores finais de 15%, 14% e 28%, respectivamente.

Todos os demais constituintes químicos avaliados, também apresentaram estabilidade em todos os pontos de colheita avaliados, não demonstrando variação relevante nos teores percentuais encontrados (Tabela 5).

Pode-se afirmar que, como método de conservação de óleo essencial e de seus constituintes químicos, o campo sombra foi considerado satisfatório. No entanto, devido a alta umidade, testes microbiológicos devem ser realizados a fim de averiguar o uso desse produto como fonte de consumo alimentício, farmacêutico e cosmético.

Tabela 5. Composição química dos óleos essenciais extraídos do tratamento de secagem e desidratação no campo sombra (CSM).

IR	Identificação	T. Zero	5 dias	12 dias	19 dias	29 dias	Média
1030	1,8-cineol (eucaliptol)*	tr	0,85	1,00	0,46	0,61	0,58
1152	Canfora*	9,33	15,01	18,76	12,39	15,05	14,11
1177	Borneol*	0,85	0,80	1,00	0,71	0,69	0,81
1375	alfa-copaeno'	1,01	1,25	1,23	1,45	1,41	1,27
1418	trans-cariofileno'	11,75	13,13	12,80	14,17	14,06	13,18
1452	alfa-humuleno'	0,86	0,86	0,82	0,90	0,90	0,87
1458	trans-beta-farneseno'	6,24	7,15	5,65	7,02	7,48	6,71
1475	beta-chamigreno'	1,34	2,48	2,37	2,28	2,41	2,18
1482	germacreno D'	28,21	27,13	22,73	25,73	28,04	26,37
1485	beta-selineno'	1,30	1,42	1,27	1,40	1,26	1,33
1495	Biciclogermacreno'	3,51	2,41	1,75	2,56	2,80	2,61
1573	M = 218'	2,91	2,42	2,50	tr	2,01	1,97
1576	Espatuleno'	tr	1,60	1,87	1,59	1,26	1,26
1581	óxido de cariofileno'	2,28	2,37	3,17	2,95	2,62	2,68
1622	M = 220'	2,80	2,33	2,54	2,63	2,37	2,53
1628	M = 220'	3,09	2,61	2,88	3,00	2,77	2,87
1633	cis-cadin-4-en-7-ol'	2,35	1,82	2,25	2,29	2,04	2,15
1636	M = 220'	0,46	tr	0,77	0,88	tr	0,42
1654	n.i.'	1,38	1,74	1,77	1,77	1,42	1,62
1656	M = 220'	1,08	1,00	0,95	1,05	0,84	0,98
1664	M = 218'	1,67	1,66	1,66	1,62	1,71	1,66
1684	germacra-4(15),5,10(14)-trien-1-alfa-ol'	2,80	2,26	2,54	2,72	1,86	2,44
1719	M = 218'	1,78	1,21	1,06	1,27	1,09	1,28
1919	M = 234'	3,60	2,55	1,95	2,07	1,74	2,38
Monoterpenos (%)		10,18	16,66	20,76	13,56	16,35	15,50
Sesquiterpenos (%)		80,42	79,40	74,53	79,35	80,09	78,76
Total identificado		90,60	96,06	95,29	92,91	96,44	94,26

(*) Monoterpenos; (') sesquiterpenos; tr - traço da substância, ni – não identificado. Linhas sombreadas representam compostos majoritários.

Material vegetal tratado em câmara de crescimento apresentou perfil fitoquímico semelhante comparado do tratamento de secagem no campo sombra. Também não se observou diferenças nos percentuais relativos dos constituintes químicos ao decorrer dos 29 dias (Tabela 6). Os compostos majoritários (cânfora, trans-cariofileno e germacreno D) apresentaram valores semelhantes em todos os pontos avaliados. Essa informação agrega aos dados de rendimento em óleo, ao qual, justifica o uso desse

processo como ótima opção para tratamento de pós-colheita visando à conservação e preservação do óleo essencial.

Tabela 6. Composição química dos óleos essenciais extraídos do tratamento de secagem e desidratação na câmara de crescimento (Câmara).

IR	Identificação	T. Zero	5 dias	12 dias	19 dias	29 dias	Média
1024	para-cimeno*	tr	0,60	tr	tr	0,37	0,19
1030	1,8-cineol (eucaliptol)*	tr	1,82	0,74	0,49	1,22	0,85
1152	Canfora*	9,33	14,63	12,44	12,67	16,68	13,15
1177	Borneol*	0,85	1,03	1,02	0,87	0,80	0,91
1375	alfa-copaeno'	1,01	1,22	1,29	1,23	1,15	1,18
1418	trans-cariofileno'	11,75	14,63	15,19	15,39	14,22	14,24
1452	alfa-humuleno'	0,86	0,94	0,96	1,02	0,91	0,94
1458	trans-beta-farneseno'	6,24	7,08	6,68	6,34	6,18	6,50
1475	beta-chamigreno'	1,34	2,41	2,47	1,64	2,79	2,13
1482	germacreno D'	28,21	28,46	28,28	29,66	26,10	28,14
1485	beta-selineno'	1,30	1,17	1,19	1,14	1,24	1,21
1495	Biciclogermacreno'	3,51	2,60	2,44	2,88	3,02	2,89
1573	M = 218'	2,91	2,57	2,25	2,33	2,28	2,47
1576	Espatuleno'	tr	tr	0,84	0,77	0,84	0,49
1581	óxido de cariofileno'	2,28	1,70	2,04	2,22	1,98	2,04
1622	M = 220'	2,80	2,14	2,31	2,34	2,45	2,41
1628	M = 220'	3,09	2,38	2,57	2,68	2,87	2,72
1633	cis-cadin-4-en-7-ol'	2,35	1,89	2,02	1,65	1,89	1,96
1636	M = 220'	0,46	tr	0,31	0,36	0,37	0,30
1654	n.i.'	1,38	tr	tr	0,89	tr	0,45
1656	M = 220'	1,08	0,69	0,95	tr	0,80	0,70
1664	M = 218'	1,67	1,56	1,80	1,44	1,36	1,57
1684	germacra-4(15),5,10(14)-trien-1-alfa-ol'	2,80	1,81	2,01	1,71	1,65	2,00
1719	M = 218'	1,78	1,10	1,32	1,12	1,24	1,31
1919	M = 234'	3,60	2,61	2,55	1,78	1,81	2,47
Monoterpenos (%)		10,18	18,08	14,20	14,03	19,07	15,11
Sesquiterpenos (%)		80,42	76,96	79,47	78,59	75,15	78,12
Total identificado		90,60	95,04	93,67	92,62	94,22	93,23

(*) Monoterpenos; (') sesquiterpenos; tr - traço da substância, ni - não identificado. Linhas sombreadas representam compostos majoritários.

Plantas manejadas em Estufa apresentaram maior variação no perfil químico comparado, a *A. annua* L. dos demais tratamentos de secagem e desidratação. Houve diferença nos percentuais relativos dos constituintes químicos ao decorrer dos 29 dias (Tabela 7). Os compostos majoritários apresentaram valores decrescentes em todos os

pontos avaliados. Essa informação corrobora aos dados de rendimento em óleo essencial, ao qual, se justifica que à medida que a temperatura do processo de secagem aumentou a concentração deles na planta diminuiu. Esse fato foi constatado que quanto maior for a exposição da planta ao calor, maior foi a perda de óleo essencial e, conseqüentemente, dos constituintes químicos.

Tabela 7. Composição química dos óleos essenciais extraídos do tratamento de secagem na estufa (EST).

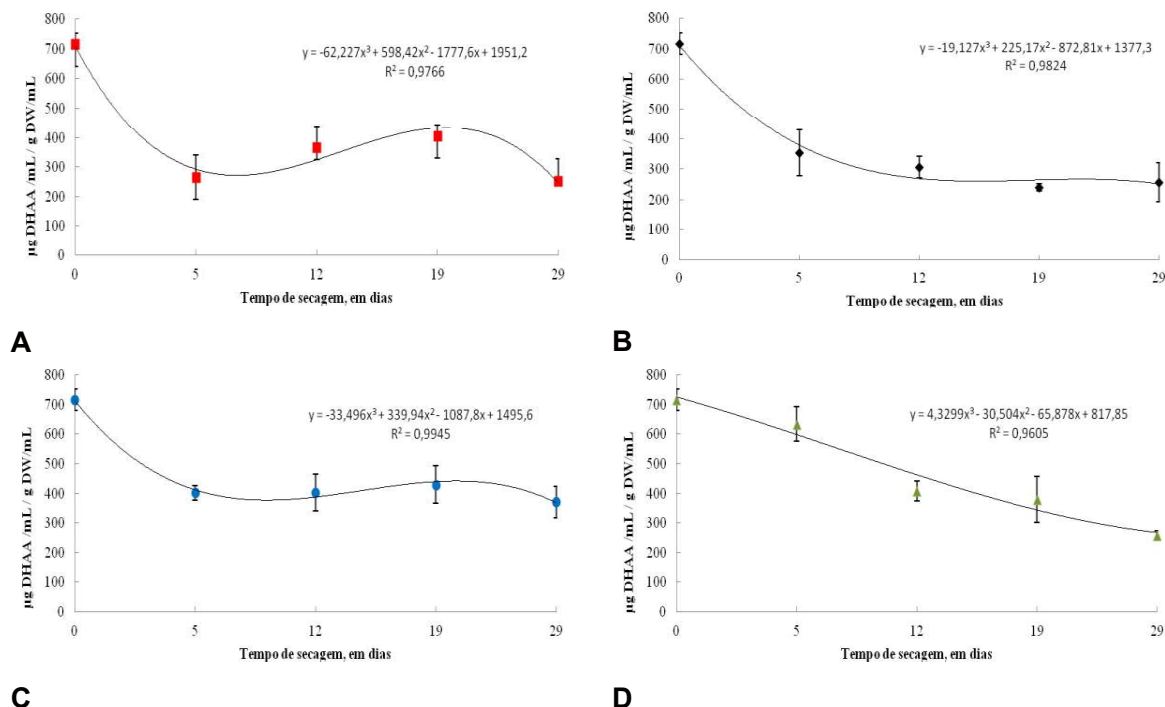
IR	Identificação	T. Zero	5 dias	12 dias	19 dias	29 dias	Média
1024	para-cimeno*	tr	0,48	tr	tr	tr	0,10
1030	1,8-cineol (eucaliptol)*	tr	1,30	0,373	tr	1,08	0,55
1152	Canfora*	9,33	10,25	8,83	0,96	0,13	5,90
1177	Borneol*	0,85	0,61	0,58	tr	1,20	0,65
1375	alfa-copaeno'	1,01	1,66	1,02	0,65	0,63	0,99
1418	trans-cariofileno'	11,75	14,50	11,28	5,66	5,75	9,79
1452	alfa-humuleno'	0,86	0,94	0,82	tr	tr	0,52
1458	trans-beta-farneseno'	6,24	7,52	4,50	1,88	1,33	4,29
1475	beta-chamigreno'	1,34	1,37	1,87	2,61	2,97	2,03
1482	germacreno D'	28,21	35,79	26,10	13,85	9,64	22,72
1485	beta-selineno'	1,30	1,00	1,44	1,95	2,37	1,61
1495	Biciclogermacreno'	3,51	4,14	3,37	2,16	1,67	2,97
1573	M = 218'	2,91	1,72	2,42	3,47	2,25	2,55
1576	Espatuleno'	tr	1,01	1,51	1,87	1,25	1,13
1581	óxido de cariofileno'	2,28	2,03	4,19	5,83	4,93	3,85
1622	M = 220'	2,80	2,07	3,85	6,99	6,08	4,36
1628	M = 220'	3,09	2,47	4,91	9,17	8,18	5,56
1633	cis-cadin-4-en-7-ol'	2,35	1,87	3,48	6,57	5,17	3,89
1636	M = 220'	0,46	tr	0,84	1,68	1,39	0,87
1654	n.i.'	1,38	tr	tr	2,95	tr	0,87
1656	M = 220'	1,08	0,67	1,27	2,18	1,74	1,39
1664	M = 218'	1,67	1,11	1,83	3,30	2,46	2,07
1684	germacra-4(15),5,10(14)-trien-1-alfa-ol'	2,80	1,54	1,96	3,03	1,95	2,26
1719	M = 218'	1,78	1,13	1,26	3,35	2,31	1,97
1919	M = 234'	3,60	1,70	2,31	4,21	3,28	3,02
Monoterpenos (%)		10,18	12,64	9,783	0,96	2,41	7,20
Sesquiterpenos (%)		80,42	84,24	80,23	83,36	65,35	78,72
Total identificado		90,60	96,88	90,01	84,32	67,76	85,92

(*) Monoterpenos; (') sesquiterpenos; tr - traço da substância, ni – não identificado. Linhas sombreadas representam compostos majoritários.

4.4 Quantificação dos Principais Bioativos da *Artemisia annua* L.

4.4.1 Ácido Diidroartemisínico (DHAA), Artemisinina (ART) e Deoxiartemisínico (deoxyAN)

A dosagem de ácido diidroartemisínico da *A. annua* L. nos tratamentos de secagem e desidratação avaliados reduziu ao longo do tempo, principalmente quando comparados com o tempo zero (Figura 14). No 5º dia de avaliação o DHAA mostrou variação em quase todos os vegetais dos tratamentos. As amostras secas na câmara de crescimento mantiveram melhor as características de DHAA, quando comparado com os demais tratamentos, não se diferenciando significativamente do tempo zero. Nos demais tratamentos houve a redução de DHAA, no entanto, ao decorrer dos dias de secagem, a concentração de DHAA demonstrou estabilidade para o campo sombra, campo sol e para a estufa. No 12º dia, o campo sombra começou a ter a queda na concentração de DHAA, mas, no entanto, a sua redução passou a ser mais acentuada no 29º (Tabela 8).



C **D**
Figura 14. Cinética do teor de Ácido Diidroartemisínico (DHAA) nos tratamentos de secagem e desidratação em câmara de crescimento, campo sombra, campo pleno sol e estufa no decorrer de 29 dias. D.W.: Teor de água.: (A) Campo Sol; (B) Campo Sombra; (C) Estufa de Circulação de Ar; (D) Câmara de Crescimento.

Tabela 8. Quantificação do teor ($\mu\text{g/g}$) de Ácido Diidroartemisínico na *Artemisia annua* L. entre os tratamentos de secagem e desidratação, no decorrer de 29 dias.

Tratamentos	Tempo Zero	5 dias	12 dias	19 dias	29 dias	Média (%)
Câmara	716,77 aA	634,82 aA	408,43 aB	379,49 aBC	258,08 abC	479,52 a
Estufa	716,77 aA	401,68 bB	402,37 aB	429,54 aB	370,55 aB	464,18 a
Campo Sol	716,77 aA	264,46 cC	360,75 aBC	405,66 aB	252,45 bC	400,02 b
Campo Sombra	716,77 aA	354,47 bcB	306,34 aB	239,80 bB	257,91 abB	375,06 b
Média (%)	716,77 a	413,86 b	369,47 b	363,62 b	284,75 c	-

C.V% 12,48

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste Tukey ($p \leq 5\%$). Letras maiúsculas, nas linhas, são comparativas entre tempos enquanto as minúsculas, nas colunas, são comparações entre os tratamentos. O tempo zero é considerado material de referência, uma vez que, representa a planta fresca sem tratamento. C.V% = coeficiente de variação.

Apesar da câmara de crescimento ter preservado o DHHA por mais tempo, o tratamento de secagem em estufa demonstrou ter melhor estabilidade na concentração de DHAA na *A. annua* L. durante todo o período. O campo sol e a estufa tiveram semelhantes perfis de secagem. Apenas o campo sombra obteve desempenho inferior aos demais, mas, no entanto, não demonstrou diferenças significativas. Outros autores relataram comportamento parecido. Ferreira e Luthria (2010), por exemplo, trabalharam com efeitos de três diferentes tipos de tratamento de secagens sendo, estufa 45°C, sol e sombra em condições de ambiente, em folhas de *A. annua* L.. Os autores observaram que não houve diferença significativa no teor de Diidroartesimico (DHAA) durante o período da *A. annua* L. de secagem e entre os tratamentos, pelo tempo avaliado. Já Weathers; Towler (2012) relatam que a secagem de *A. annua* L. em temperatura de 25°C, proporcionou aumento de DHAA em 0,19% quando comparados com as folhas frescas. O trabalho foi conduzido com 30–50% umidade relativa em sala fechada com luz e condições do ambiente.

Em relação a artemisinina, no 5º dia de coleta, a concentração de artemisinina manteve-se estável no vegetal para quase todos os tratamentos de secagem, exceto para a câmara de crescimento, no qual, houve redução no teor analisado.

A partir do 12º dia, as concentrações de ART começaram a diminuir gradativamente nos vegetais, com exceção das amostras da câmara de crescimento ao qual, mantiveram teor significativamente mais elevado. Os demais tratamentos, não apresentam diferenças importantes. A partir desse período, todos os tratamentos

apresentaram perfil de secagens constante até o final dos 29 dias (Figura 15 e Tabela 9).

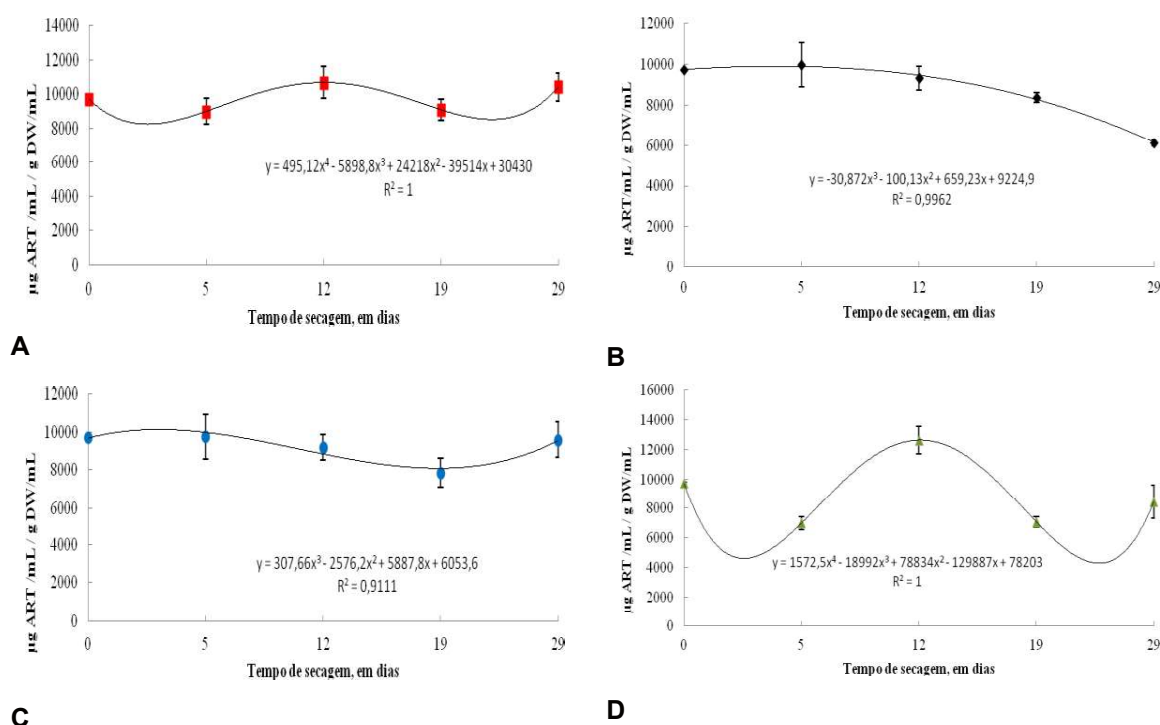


Figura 15. Cinética do teor de Artemisinina (ART) na *Artemisia annua* L. nos tratamentos de secagem e desidratação em câmara de crescimento, campo sombra, campo pleno sol e estufa no decorrer de 29 dias. D.W.: Teor de água.: (A) Campo Sol; (B) Campo Sombra; (C) Estufa de Circulação de Ar; (D) Câmara de Crescimento.

Tabela 9. Quantificação do teor ($\mu\text{g/g}$) de Artemisinina na *Artemisia annua* L. entre os tratamentos de secagem e desidratação, no decorrer de 29 dias.

Treatments	Tempo Zero	5 dias	12 dias	19 dias	29 dias	Média (%)
Câmara	9730 aB	6990 bC	12643 aA	7088 bC	8461 bBC	8983 b
Estufa	9730 aA	9756 aA	9182 bAB	7847 abB	9603 abA	9224 ab
Campo Sol	9730 aAB	9006 aB	10690 bA	9096 aAB	10421 aAB	9789 a
Campo Sombra	9730 aA	9987 aA	9330 bA	8376 abA	6136 cB	8712 b
Média (%)	9730 ab	8935 bc	10461 a	8102 d	8655 cd	-

C.V% 7,68

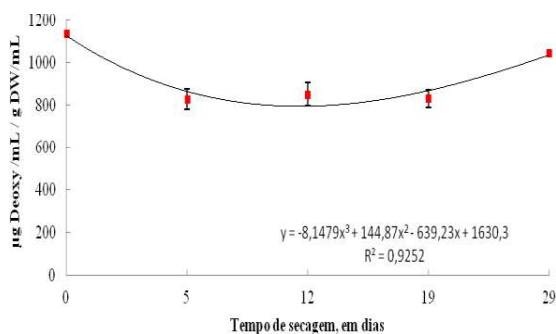
As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste Tukey ($p \leq 5\%$). Letras maiúsculas, nas linhas, são comparativas entre tempos enquanto as minúsculas, nas colunas, são comparações entre os tratamentos. O tempo zero é considerado material de referência, uma vez que, representa a planta fresca sem tratamento. C.V% = coeficiente de variação.

Essa queda no teor de artemisinina nas amostras analisadas da câmara de crescimento se deve ao fato de que, por ser tratar de uma secagem mais lenta, a grande quantidade de água ainda presente nas folhas pode ajudar na perda do princípio

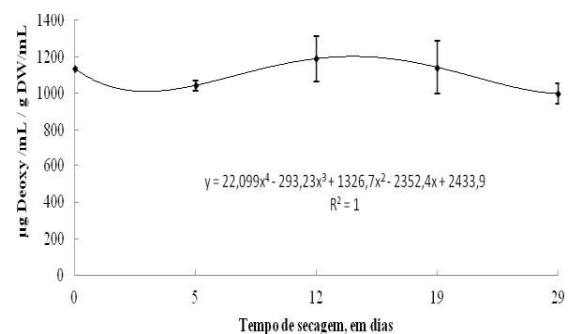
ativo, e, conseqüentemente, em sua degradação. Tal afirmação pode ser considerada ao se comparar com os resultados apresentados pelos outros tratamentos de secagem, ao qual, mantiveram o teor de artemisinina mais constante durante todo o ciclo de secagem. Outros autores não corroboram com esses resultados. Ferreira e Luthria, (2010), trabalharam com secagens de *A. annua* L. em estufa, sol e sombra, os autores observaram que a artemisinina avaliada sobre os tratamentos secos a sombra e ao sol tiveram uma melhor conservação do princípio ativo, mantendo a concentração entre 1 à 1,2 g/ 100g DW, enquanto na secagem em estufa houve pequena queda no teor de artemisinina de 1 para 0,8 g/100g DW. Os autores indicaram ainda que a secagem ao sol foi superior à secagem sombra (condições ambiente e pouca luminosidade) e em estufa (45°C 24 h), aumentando o teor artemisinina em 10%.

Simonnet, (2010) observou que, mesmo em secagem lenta de condições supostamente desfavoráveis, como por exemplo, em temperaturas baixas ($\leq 20^\circ \text{C}$) e alta umidade relativa do ar ambiente, a perda de artemisinina nas folhas não ocorreram. Deste modo, foi observado também que as plantas cortadas e deixadas para secagem no campo, por 17 dias, mostraram aumento no teor de artemisinina de quase 20%. O autor relata que a secagem lenta no campo durante 2 a 3 semanas pode, em alguns casos, resultar em aumento de 10 a 20% do teor de artemisinina. Esta ressalva também foi confirmado por Simonnet et al, (2001) e Laughlin, (2002).

O comportamento do perfil químico de deoxyAN foi semelhante ao da artemisinina. O campo sol apresentou valores mais baixos em concentração de deoxyAN. No entanto, não houve diferenças significativamente importantes entre os tratamentos avaliados. Desde mesmo modo, o campo sombra também apresentou variações, mantendo melhor estabilidade na concentração de deoxyAN (Figura 16).



A



B

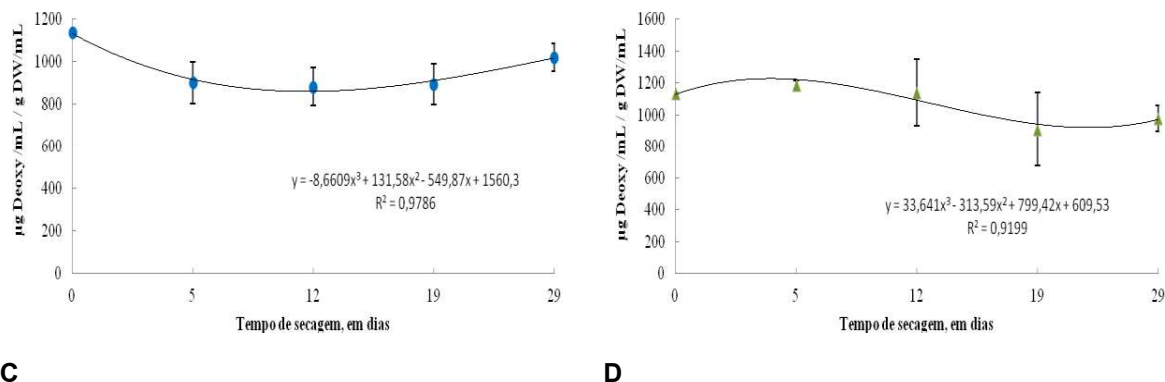


Figura 16. Cinética do teor de Deoxiartemisinina (deoxyAN) na *Artemisia annua* L. nos tratamentos de secagem e desidratação em câmara de crescimento, campo sombra, campo pleno sol e estufa no decorrer de 29 dias. D.W.: Teor de água.: (A) Campo Sol; (B) Campo Sombra; (C) Estufa de Circulação de Ar; (D) Câmara de Crescimento.

Em relação à cinética de secagem, apesar da pequena variação nos teores de deoxyAN da *A. annua* L., a estufa foi o tratamento que obteve a melhor estabilidade de concentração ao decorrer do tempo.

Tanto a câmara de crescimento, quanto o campo sombra, apresentaram melhores condições de secagem para a preservação deste composto, com diminuição apenas no 19º dia.

Ao final do período de 29 dias, todos os tratamentos apresentaram características semelhantes, não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 10).

Tabela 10. Quantificação do teor (µg/g) de Deoxiartemisinina na *Artemisia annua* L. entre os tratamentos de secagem e desidratação, no decorrer de 29 dias.

Treatments	Tempo Zero	5 dias	12 dias	19 dias	29 dias	Média (%)
Câmara	1137 aA	1191 aA	1143 aA	910 bB	980 aAB	1072 a
Estufa	1137 aA	902 bcB	884 bB	896 bB	1022 aAB	968 b
Campo Sol	1137 aA	828 cB	853 bB	832 bB	1047 aAB	940 b
Campo Sombra	1137 aA	1043 abA	1190 aA	1143 aA	999 aA	1102 a
Média (%)	1137 a	991 b	1017 b	945 b	1011 b	-
C.V% 9,38						

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste Tukey ($p \leq 5\%$). Letras maiúsculas, nas linhas, são comparativas entre tempos enquanto as minúsculas, nas colunas, são comparações entre os tratamentos. O tempo zero é considerado material de referência, uma vez que, representa a planta fresca sem tratamento. C.V% = coeficiente de variação.

Ferreira et al., (2010) avaliaram o efeito de congelamento, forno, sombreamento, secagem ao sol, tempo de secagem e intensidade de luz na concentração foliar de AN, DHAA, AA e capacidade antioxidante foliar. As amostras liofilizadas apresentaram as

menores concentrações de artemisinina em comparação com os outros métodos de secagem. A secagem de sombra durante 1, 2 e 3 semanas, sob ambiente ou pouca luz, não alterou o conteúdo de artemisinina, mas diminuiu significativamente a atividade antioxidante da folha, principalmente se secada ao sol. Os autores ainda observaram uma diminuição significativa (média de 82%) no DHAA para todos os procedimentos de secagem em comparação com a liofilização, com um aumento simultâneo e significativo da ART (média de 33%).

Ferreira et al., (2010) também determinaram que a bioconversão média de DHAA para artemisinina em plantas secas ao forno e sombra foi de 43% e para plantas secas ao sol foi de 94%. Os autores sugerem ainda que a secagem ao sol melhora significativamente a bioconversão de DHAA para ART. Os dados também revelam que a secagem no forno durante 24 h a 45°C podem proporcionar bons níveis de ART como de antioxidantes nas folhas.

4.4.2 Arteanuina B (AB) e Ácido Artemisínico (AA)

O Ácido Artemisínico é composto precursor da molécula de Arteanuina B. Quando o AB possui concentrações baixas, muitas vezes, a da AA se eleva e vice versa. Deste modo, ao observar os teores de AB pode-se estimar que as concentrações de AA sejam maiores. A concentração do ácido artemisínico foi maior para o tratamento de secagem em estufa, onde apresentou os maiores índices de AA. Apenas no 5º dia de coleta, o campo sol e o campo sombra apresentaram valores de concentrações significativamente maiores do que na EST. A câmara de crescimento e o tempo zero apresentaram os piores resultados neste período.

No 12º dia de coleta, a *A. annua* L. em estufa apresentou o maior pico de concentração de AA durante todo o período de secagem. A câmara de crescimento e o campo sol não se diferiam estatisticamente. No 19º dia de secagem, apesar de todos os tratamentos apresentarem diminuição nas concentrações de AA (Figura 17), a estufa continuou se destacando.

Tanto a câmara de crescimento, quanto o campo sol e o campo sombra, apresentaram índices inferiores ao tempo zero. No 29º dia de coleta, a estufa e o campo sol tiveram resultados semelhantes em que não se diferiam estatisticamente.

A câmara de crescimento e o campo sombra continuaram a ter resultados inferiores aos demais tratamentos (Tabela 11).

Tabela 11. Quantificação do teor ($\mu\text{g/g}$) de Ácido Artemisínico na *Artemisia annua* L. entre os tratamentos de secagem e desidratação, no decorrer de 29 dias.

Tratamentos	Tempo Zero	5 dias	12 dias	19 dias	29 dias	Média (%)
Câmara	490 aA	435 cAB	529 bA	251 bAB	177 bCD	372 d
Estufa	490 aD	1053 bBC	1530 aA	1265 aAB	787 aCD	1025 a
Campo Sol	490 aBC	1437 aA	810 bB	202 bC	590 aB	706 b
Campo Sombra	490 aBC	1217 abA	671 bB	177 bCD	131 bD	537 c
Média (%)	490 b	1035 a	885 a	474 b	416 b	-

C.V% 21,72

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste Tukey ($p \leq 5\%$). Letras maiúsculas, nas linhas, são comparativas entre tempos enquanto as minúsculas, nas colunas, são comparações entre os tratamentos. O tempo zero é considerado material de referência, uma vez que, representa a planta fresca sem tratamento. C.V% = coeficiente de variação.

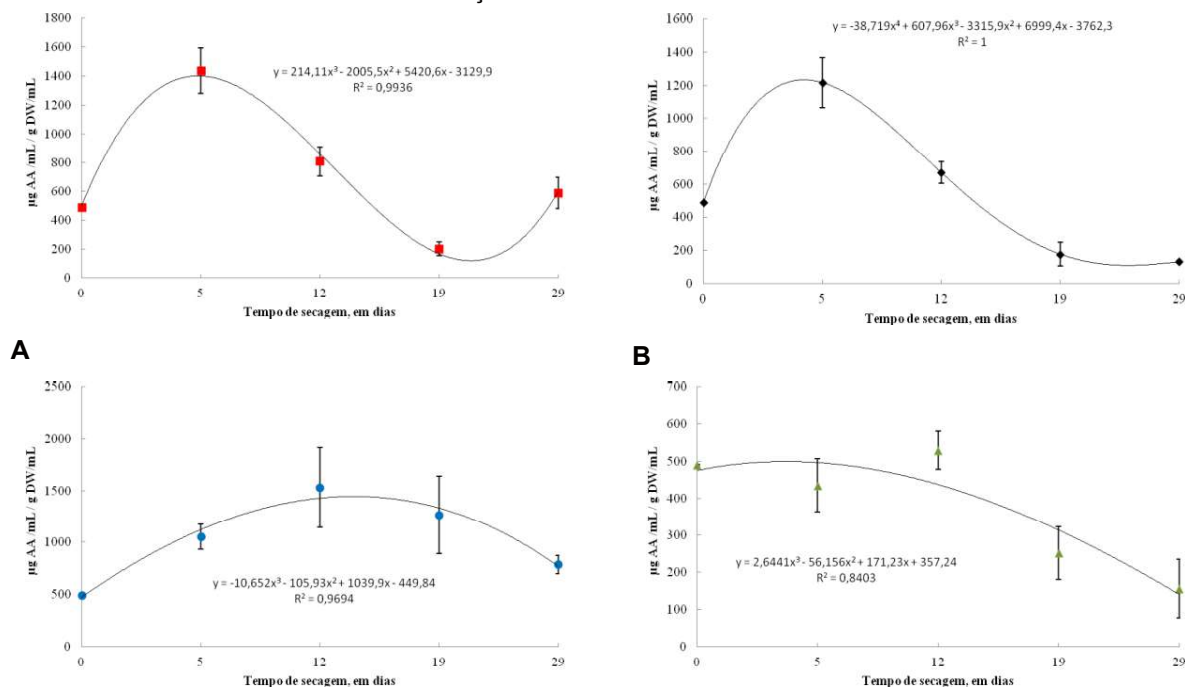


Figura 17. Cinética do teor de Ácido Artemisínico (AA) na *Artemisia annua* L. entre os tratamentos de secagem e desidratação em câmara de crescimento, campo sombra, campo pleno sol e estufa no decorrer de 29 dias. D.W.: Teor de água.: (A) Campo Sol; (B) Campo Sombra; (C) Estufa de Circulação de Ar; (D) Câmara de Crescimento.

Todos os tratamentos avaliados tiveram o perfil de cinética semelhante, em que, logo no início da secagem, apresentaram aumento nas concentrações de AA na A.

annua L.. Em seguida, os valores de AA começaram a declinar até o 19º dia e, similarmente, levemente aumentados no 29º dia de secagem.

Laughlin (2002) avaliou o teor de ácido artemisínico na *A. annua* L. em dois tipos de tratamento de secagem sendo, plantas inteiras secas à sombra e plantas inteiras secas ao sol, em condição ambiente no campo, durante 21 dias. Os efeitos de todos estes tratamentos foram comparados com as folhas secas em estufa (35°C) que haviam sido separadas imediatamente após a colheita. Durante os 21 dias, a secagem não teve qualquer efeito adverso ao teor de ácido artemisínico (AA). Os dois tratamentos apresentaram concentrações de AA semelhantes às folhas secas em estufa de secagem, com teor de (0,1 a 0,2%).

Em relação à dosagem de Arteanuina B na *A. annua* L. em todos os tratamentos, verifica-se que a concentração de AB reduz ao longo do tempo, quando comparados com o tempo zero. Apenas o campo sombra se destacou significativamente durante os primeiros pontos de coletas. No campo sombra, a concentração de AB aumentou significativamente durante quase todos os dias de secagem, demonstrando estabilidade até o 19º dia. Houve decréscimo apenas no último dia de avaliação. Em todos os outros tratamentos, houve variação do teor de AB em decorrer dos dias de secagem.

No 5º dia, a câmara, CPS e EST não se destacaram estatisticamente sobre os demais, apresentando baixas concentrações de AB nesse período (Figura 18). No 12º dia, o perfil se repete em que, o campo sombra continua se sobressaindo sobre os tratamentos enquanto a estufa, o campo sol e a câmara de crescimento, apresentam resultados semelhantes. No 19º dia de avaliação, apesar de apresentarem valores de concentrações inferiores ao de campo sombra, a câmara, EST e CPS tiveram uma alta nos teores de AA. Os tratamentos de câmara de crescimento e campo sol não se diferiram estatisticamente e, por sua vez, a estufa e o tempo zero não se distinguiram. No 29º dia de secagem, a EST, e o CPS tiveram a concentração de AA aumentada, se sobressaíram sobre o CSM (Tabela 12).

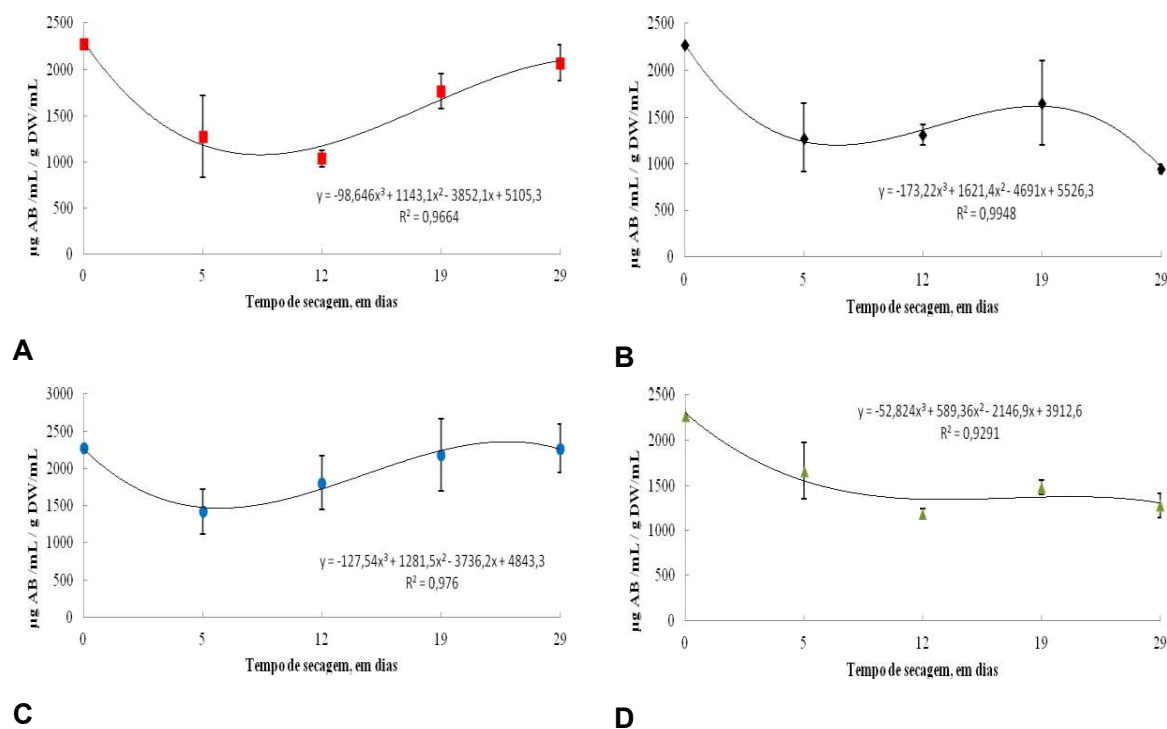


Figura 18. Cinética do teor de Arteanuina B (AB) na *Artemisia annua* L. nos tratamentos de secagem e desidratação em câmara de crescimento, campo sombra, campo pleno sol e estufa no decorrer de 29 dias. D.W.: Teor de água.: (A) Campo Sol; (B) Campo Sombra; (C) Estufa de Circulação de Ar; (D) Câmara de Crescimento.

Tabela 12. Quantificação do teor ($\mu\text{g/g}$) de Arteanuina B na *Artemisia annua* L. entre os tratamentos de secagem e desidratação, no decorrer de 29 dias.

Treatments	Tempo Zero	5 dias	12 dias	19 dias	29 dias	Média (%)
Câmara	2274,8 aA	1663 aB	1185 bB	1483 bB	1281 bB	1577 b
Estufa	2274,8 aA	1421 aB	1807 aAB	2184, aA	2270 aA	1991 a
Campo Sol	2274,8 aA	1275 aBC	1036 bC	1765 abAB	2069 aA	1684 b
Campo Sombra	2274,8 aA	1279 aBC	1317 abBC	1654 abB	946 bC	1494 b
Média (%)	2274,83 a	1409,9 cd	1336,5 d	1771,78 b	1642,0 bc	-

C.V% 15,22

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste Tukey ($p \leq 5\%$). Letras maiúsculas, nas linhas, são comparativas entre tempos enquanto as minúsculas, nas colunas, são comparações entre os tratamentos. O tempo zero é considerado material de referência, uma vez que, representa a planta fresca sem tratamento. C.V% = coeficiente de variação.

Em relação à cinética de secagem, pode observar que, durante os 29 dias de secagem o arteanuina B teve um declínio nos primeiros 5 dias em todos os tratamentos. Somente as amostras secas obtidas em campo pleno sol mantiveram o teor inicial de AB até o final dos dias de secagem avaliados. Dados observados por Weathers; Towler (2012) mostraram que o teor de arteanuina B (AB) em folhas secas de *A. annua* L. à 25

°C em uma sala com luz constante e condições de ambientes naturais, teve aumento de 0,2% em relação as folhas frescas sem qualquer tipo de tratamento pós-colheita.

4.5 Flavonoides

A quantificação de flavonoides demonstrou importante variação nas concentrações conforme a secagem utilizada. Na *A. annua* L. de todos os tratamentos, houve redução de quase 50% nos teores de flavonoides para cada ponto de colheita analisado.

Observa-se que o tratamento de secagem na câmara de crescimento demonstrou estabilidade quando analisado ao decorrer da secagem. O campo sol, apesar de ter apresentado os menores valores de concentração de flavonoides na *A. annua* L., também se manteve estável a partir do 12º dia de secagem. Apenas os tratamentos de secagem no campo sombra e na estufa apresentaram maiores variações de flavonoides ao longo do tempo de 29 dias de secagem (Figura 19). Em relação ao perfil químico, apesar da EST ter apresentado as melhores concentrações de flavonoides, quando comparado com os outros tratamentos, não houve diferença significativa entre CSM, no 5º e 12º, e Câmara de crescimento, no 12º (Tabela 13).

Tabela 13. Quantificação no teor de Flavonoides na *Artemisia annua* L. entre os tratamentos de secagem e desidratação, no decorrer de 29 dias.

Tratamentos	Tempo Zero	5 dias (%)	12 dias (%)	19 dias (%)	29 dias (%)	Média (%)
Câmara	20,33 aA	6,78 abB	7,70 aB	7,99 abB	8,07 bB	10,17 b
Estufa	20,33 aA	8,13 aCD	7,36 aD	9,51 aC	11,34 aB	11,33 a
Campo Sol	20,33 aA	6,07 bB	4,98 bB	4,98 cB	5,25 cB	8,32 c
Campo Sombra	20,33 aA	7,72 aBC	8,90 aB	6,62 bC	7,78 bBC	10,27 b
Média (%)	20,33 a	7,175 c	7,23 c	7,27 c	8,11 b	-

C.V% 7,10

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste Tukey ($p \leq 5\%$). Letras maiúsculas, nas linhas, são comparativas entre tempos enquanto as minúsculas, nas colunas, são comparações entre os tratamentos. O tempo zero é considerado material de referência, uma vez que, representa a planta fresca sem tratamento. C.V% = coeficiente de variação.

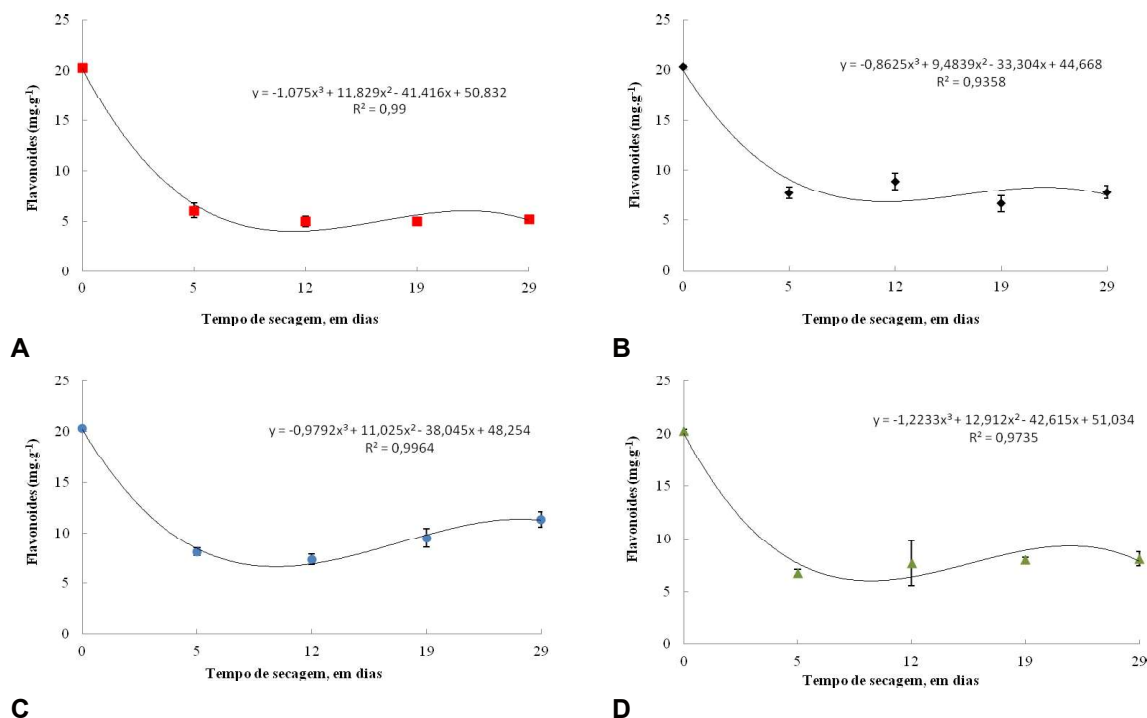


Figura 19. Cinética do teor de Flavonoides na *Artemisia annua* L. nos tratamentos de secagem em câmara de crescimento, campo sombra, campo pleno sol e estufa no decorrer de 29 dias.: (A) Campo Sol; (B) Campo Sombra; (C) Estufa de Circulação de Ar; (D) Câmara de Crescimento.

Durante os 5 primeiros dias houve queda expressiva no teor de flavonoides na *A. annua* L. de todos tratamentos, ao qual, mantiveram-se posteriormente, estáveis até o final dos 29 dias. Praticamente em todos tratamentos tiveram o mesmo comportamento em relação ao tempo de secagem, não havendo uniformidade constante durante o tempo avaliado. Borgo et al, (2009) observam maior concentração de flavonoides nas amostras secas de *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. em estufa 40° C ar forçado. Os valores encontrados foram significativamente superiores à secagem natural (local sombreado e ventilado). Sugerindo que a energia térmica envolvida no processo de secagem em estufa tenha permitido a ruptura de estruturas internas da planta, ao qual, propiciaria maior extração de compostos químicos durante o processo de obtenção de extratos. Estudo realizado por Albuquerque (2000), o autor relatou que a secagem em estufa, quando comparado ao de secagem à temperatura ambiente, provocou o aumento na incidência de membranas de pontuações rompidas em *Pinus taeda* L.. Essa afirmação justificando a utilização da secagem em estufa como método padrão eficaz para a obtenção de compostos de interesse com preservação de qualidade.

5. CONCLUSÃO

Baseado nas condições experimentais e nos resultados obtidos, concluiu-se que:

- A concentração de artemisinina se manteve mais estável em plantas de *Artemisia annua* L. submetidas ao tratamento de secagem ao sol; Por outro lado, o mesmo efeito não se observou para os seus análogos (diidroartemisinina, deoxiartemisinina, ácido artemisínico, arteanuina B);
- Os processos que apresentaram melhores condições de preservação das características químicas do óleo essencial na *Artemisia annua* L. foram os tratamentos de desidratação em câmara de crescimento e campo sombra. Para os análogos da artemisinina e flavonoides, a estufa apresentou melhor estabilidade para a sua conservação.
- Para a planta inteira (folhas e galhos) de *Artemisia annua* L., o melhor tratamento de desidratação foi à estufa de secagem a 28 °C. Este tratamento estabilizou os parâmetros qualitativos de seus constituintes ativos.
- Um tempo menor de exposição do material vegetal a método de desidratação em estufa à 28 °C, pode contribuir para conservação do rendimento e constituintes majoritários do óleo essencial.

6. REFERÊNCIAS

ADAMS, Robert P. et al. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Allured publishing corporation, 2007.

ALBUQUERQUE, C. E. C. Efeito da secagem a 100 °C em membranas de pontoações de Pinus taeda L. **Floresta Ambient**, v. 7, p. 129-136, 2000.

ALECRIM, M. G. C. **Estudo da Resistência do P. falciparum in vitro e in vivo na Amazônia brasileira**. 1981. Tese de Doutorado. Tese de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 1981.

ALECRIM, Maria das Graças Costa et al. Tratamento da malária com artesunate (retocaps®) em crianças da Amazônia brasileira. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s.l.], v. 33, n. 2, p.163-168, abr. 2000. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86822000000200001>.

ALVES, H. de M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. **Cadernos Temáticos de química nova na escola**, v. 3, p. 11-15, 2001.

SCHILMILLER, Anthony L.; LAST, Robert L.; PICHERSKY, Eran. Harnessing plant trichome biochemistry for the production of useful compounds. **The Plant Journal**, [s.l.], v. 54, n. 4, p.702-711, maio 2008. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-313x.2008.03432.x>

ARAÚJO, A.C. et al. Caracterização socio-econômico-cultural de raizeiros e procedimentos pós-colheita de plantas medicinais comercializadas em Maceió, AL. **Rev. Bras. Plantas Med.**, [s.l.], v. 11, n. 1, p.84-91, 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-05722009000100014>.

ARAÚJO, Júlio. Química de alimentos: teoria e prática. In: **Química de alimentos: teoria e prática**. UFV, 2004.

ARVANITOYANNIS, Ioannis S. et al. Irradiation Applications in Vegetables and Fruits: A Review. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [s.l.], v. 49, n. 5, p.427-462, 11 maio 2009. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408390802067936>.

ARVOUET-GRAND, A. et al. Standardization of a propolis extract and identification of the main constituents. **Journal de pharmacie de Belgique**, v. 49, n. 6, p. 462-468, 1994.ASAE. **Moisture Measurement-Forages**. St. Joseph, 1991a. p.401. (ASAE Standards, S532.2)

BACCHI, E. M. Controle de qualidade de fitoterápicos. **Plantas medicinais: arte e ciência**. São Paulo: Ed. UNESP, p. 169-186, 1996. **Backgrounder**, U.S.A, nov. 2006.

BAKKALI, Fadil et al. Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BALINT, Gabor A. Artemisinin and its derivatives: an important new class of antimalarial agents. **Pharmacology & therapeutics**, v. 90, n. 2, p. 261-265, 2001.

BARALDI, Rita et al. Distribution of artemisinin and bioactive flavonoids from *Artemisia annua* L. during plant growth. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 36, n. 5, p. 340-348, 2008.

BARRIGA, M.; **Characterization of Flavonoids from *Artemisia annua* L...** Faculty of Worcester Polytechnic Institute. Degree of Bachelor of Science, 2013

BAPTISTA, Maria Galvão de Figueiredo Mendes. **Mecanismos de Resistência aos Antibióticos**. 2013. 51 f. Tese (Doutorado) - Curso de Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, Lisboa, 2013.

BEECHER, Gary R. Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. **The Journal of nutrition**, v. 133, n. 10, p. 3248S-3254S, 2003.

BHAKUNI, R. S. et al. Secondary metabolites of *Artemisia annua* and their biological activity. **Current science**, v. 80, p. 35-48, 2001.

BLANK, A. F. et al. Influência do horário de colheita e secagem de folhas no óleo essencial de melissa (*Melissa officinalis* L.) cultivada em dois ambientes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 1, p. 73-78, 2005.

BLANKE, Christoph H. et al. Herba *Artemisia annua* L. tea preparation compared to sulfadoxine-pyrimethamine in the treatment of uncomplicated falciparum malaria in adults: a randomized double-blind clinical trial. **Tropical doctor**, v. 38, n. 2, p. 113-116, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia para profissionais de saúde sobre prevenção da malária em viajantes**. 2008. Disponível em: < http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_prevencao_malaria_viajantes.pdf > Acesso em 11 de Março de 2015.

BRAZ FILHO, Raimundo. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, [s.l.], v. 33, n. 1, p.229-239, 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422010000100040>.

BRISIBE, Ebiamadon Andi et al. Nutritional characterisation and antioxidant capacity of different tissues of *Artemisia annua* L. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 115, n. 4, p.1240-1246, ago. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.033>.

CALIXTO, João B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 55, n. 3, p. 37-39, Setembro. 2003. ISSN 2317-6660.

CAMARGO, Luis Marcelo Aranha et al. Hypoendemic Malaria in Rondonia (Brazil, Western Amazon Region): Seasonal Variation and Risk Groups in an Urban Locality. **The American Journal Of Tropical Medicine And Hygiene**, [s.l.], v. 55, n. 1, p.32-38, 1 jul. 1996. American Society of Tropical Medicine and Hygiene. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.1996.55.32>.

CAMARGO, E. P. Malária, Maleita, Paludismo. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 55, n. 1, p. 26-30, Jan/Mar. 2003. ISSN 2317-6660

CAPELIN, D. **Artemisia annua L.: produção de biomassa, artemisinina, rendimento e composição de óleo essencial em função de diferentes variedades e densidades de plantio**. 2012. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

CARVALHO, Luciana Marques de. **Orientações Técnicas para o Cultivo de Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares**. Aracaju: Embrapa, 2015. 10 p. ISSN 1678-1945

CASTRO, Daniel Melo de. **Caracterização isozimática da anatomia foliar do óleo essencial e germinação de *Leonurus sibiricus* L.** 1997. 97 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Mg, 1997.

CENA - Centro de Energia Nuclear na Agricultura. **Divulgação da tecnologia de irradiação de alimentos e outros materiais**. 2008. Disponível em: <www.cena.usp.br/irradiacao/index.asp>. Acesso em: 27 ago. 2016.

CHEN, Huan-huan et al. Antimalarial dihydroartemisinin also inhibits angiogenesis. **Cancer Chemotherapy And Pharmacology**, [s.l.], v. 53, n. 5, p.423-432, 1 maio 2004. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00280-003-0751-4>.

CHRISTIE, Peter J.; ALFENITO, Mark R.; WALBOT, Virginia. Impact of low-temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: Enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings. **Planta**, [s.l.], v. 194, n. 4, p.541-549, dez. 1994. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00714468>.

CORDEIRO, C. H. G.; CHUNG, M. C.; SACRAMENTO, L.V.S do. Interações medicamentosas de fitoterápicos e fármacos: *Hypericum perforatum* e *Piper methysticum*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s.l.], v. 15, n. 3, p.272-278, set. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-695x2005000300019>.

CORREA JUNIOR, Cirino; MING, Lin Chau; SCHEFFER, Marianne C. Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**, 1991.

CORRÊA JUNIOR, Cirino; SCHEFFER, Marianne Christina. **Boas Práticas Agrícolas (BPA) de Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares**. Curitiba: EMATER, 52 p. 2013.

CORRÊA, Ricardo Monteiro et al. Rendimento de óleo essencial e caracterização organoléptica de folhas de assa-peixe submetidas a diferentes métodos de secagem. **Ciência e Agrotecnologia**, [s.l.], v. 28, n. 2, p.339-344, abr. 2004. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1413-70542004000200013>.

CORTEZ, L. A. B. et al. **Importância do resfriamento para frutas e hortaliças no Brasil**. In: CORTEZ, L.A.B.; HONÓRIO, S.L.; MORETTI, C. L. (Ed.) *Resfriamento de frutas e hortaliças*. Campinas: UNICAMP/EMBRAPA, 2002. p.17-35.

COSTA, Elizabeth V. M, da. **Estudo etnobotânico sobre plantas utilizadas como antimaláricas no Estado do Amapá e avaliação da atividade antimalárica e toxicidade aguda de *Amasonia campestris* (Aubl.) Moldenke**. 145f. Tese (Doutorado)- Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2013.

COVELLO, Patrick S. et al. Functional genomics and the biosynthesis of artemisinin. **Phytochemistry**, [s.l.], v. 68, n. 14, p.1864-1871, jul. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.02.016>.

CROTEAU, Rodney et al. Biochemistry & Molecular Biology of Plants. In: BUCHANAN, B. **Natural Products (Secondary Metabolites)**. Rockville: American Society Of Plant Physiologists, 2000. Cap. 24. p. 1250-1318.

CUSHNIE, T.p. Tim et al. Antimicrobial activity of flavonoids. **International Journal Of Antimicrobial Agents**, [s.l.], v. 26, n. 5, p.343-356, nov. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>.

DALRYMPLE, Dana G. et al. ., ***Artemisia annua L., Artemisinin, ACTS & Malaria Control in Africa: Tradition, Science and Public Policy***. Washington, D.C.: Politics & Prose Bookstore, 2012. 253 pp. ISBN : [9780615615998](https://doi.org/10.1007/978-0-615-998)

DELABAYS, N. et al. Selection and breeding for high artemisinin (qinghaosu) yielding strains of *Artemisia annua L.* **Acta Horticulturae**, [s.l.], n. 330, p.203-208, abr. 1993. International Society for Horticultural Science (ISHS). <http://dx.doi.org/10.17660/actahortic.1993.330.24>.

DESROSIERS, Matthew R.; WEATHERS, Pamela J. Effect of leaf digestion and artemisinin solubility for use in oral consumption of dried *Artemisia annua L.* leaves to treat malaria. **Journal of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 190, p.313-318, ago. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.06.041>.

DIEHL, Johannes Friedrich. . Food irradiation—past, present and future. **Radiation Physics And Chemistry**, [s.l.], v. 63, n. 3-6, p.211-215, mar. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0969-806x\(01\)00622-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0969-806x(01)00622-3).

DHINGRA, Vikas; RAO, K. Vishweshwar; NARASU, M. Lakshmi. Current status of artemisinin and its derivatives as antimalarial drugs. **Life Sciences**, [s.l.], v. 66, n. 4, p.279-300, dez. 1999. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0024-3205\(99\)00356-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0024-3205(99)00356-2).

DULLEY, R. D. Algumas considerações sobre alimentos irradiados. **Informações Econômicas**, v. 32, n. 8, p. 17-27, 2002.

EDWARDS, Geoffrey. Antimalarial chemotherapy: Mechanisms of action, resistance and new directions in drug discovery. **British journal of clinical pharmacology**, v. 52, n. 4, p. 464, 2001.

EISENBERG, David M. et al. Trends in Alternative Medicine Use in the United States, 1990-1997. **Jama**, [s.l.], v. 280, n. 18, p.1569-1575, 11 nov. 1998. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/jama.280.18.1569>.

EVANS, William Charles. **Trease and Evans' pharmacognosy**. Elsevier Health Sciences, 2009., 14th ed., WB Saunders Company: London, 1996, cap. 7.

FANARO, Gustavo Bernardes. **Efeito da radiação ionizante em chás da planta *Camellia sinensis* irradiados com diferentes atividades de água**. 2013. Tese de Doutorado. UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO São Paulo.

FARKAS, J. et al. Irradiation for better foods. **Trends In Food Science & Technology**, [s.l.], v. 17, n. 4, p.148-152, abr. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.003>.

FERREIRA, Jorge F.S. et al. Flavonoids from *Artemisia annua* L. as Antioxidants and Their Potential Synergism with Artemisinin against Malaria and Cancer. **Molecules**, [s.l.], v. 15, n. 5, p.3135-3170, 29 abr. 2010. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules15053135>.

FERREIRA, J. F. S. SIMOM, J; JANICK, J. *Artemisia annua* L. botany, horticulture, pharmacology. **Horticultural Reviews**. 19:319-371, 1997.

FERREIRA, Jorge F. S; LUTHRIA, Devanand L. Drying Affects Artemisinin, Dihydroartemisinic Acid, Artemisinic Acid, and the Antioxidant Capacity of *Artemisia annua* L. Leaves. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [s.l.], v. 58, n. 3, p.1691-1698, 10 fev. 2010. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jf903222j>.

FERREIRA, Jorge F.S; JANICK, Jules et al. Floral Morphology of *Artemisia annua* L. with Special Reference to Trichomes. **International Journal Of Plant Sciences**, [s.l.], v. 156, n. 6, p.807-815, nov. 1995. University of Chicago Press. <http://dx.doi.org/10.1086/297304>.

FOOD & WATER WATCH, Status of Food Irradiation Around the World, **Backgrounder**, U.S.A, nov. 2006.

FOUR ARTEMISININ-BASED COMBINATIONS (4ABC) STUDY GROUP et al. A head-to-head comparison of four artemisinin-based combinations for treating uncomplicated malaria in African children: a randomized trial. *PLoS Med*, v. 8, n. 11, p. e1001119, 2011.

FRANÇA, Tanos C. C. et al. Malária: aspectos históricos e quimioterapia. **Química Nova**, [s.l.], v. 31, n. 5, p.1271-1278, 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422008000500060>.

FUJISAKI, Ryuichi et al. In vitro and in vivo anti-plasmodial activity of essential oils, including hinokitiol. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 43, n. 2, p. 270, 2012.

GANDHI, Sumit G. et al. Changing trends in biotechnology of secondary metabolism in medicinal and aromatic plants. **Planta**, [s.l.], v. 241, n. 2, p.303-317, 31 dez. 2014. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00425-014-2232-x>.

GILANI, Anwarul Hassan; ATTA-UR-RAHMAN. Trends in ethnopharmacology. **Journal Of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 100, n. 1-2, p.43-49, ago. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2005.06.001>.

GOBBO-NETO, Leonardo; LOPES, Norberto P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 374, 2007.

GOMES, Andréia Patrícia et al. Malária grave por *Plasmodium falciparum*. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, [s.l.], v. 23, n. 3, p.358-369, set. 2011. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-507x2011000300015>.

HAMBURGER, Matthias; HOSTETTMANN, Kurt. 7. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. **Phytochemistry**, [s.l.], v. 30, n. 12, p.3864-3874, jan. 1991. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)83425-k](http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422(91)83425-k).

HARBORNE, Jeffrey B; WILLIAMS, Christine A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, [s.l.], v. 55, n. 6, p.481-504, nov. 2000. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)00235-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9422(00)00235-1).

HAVSTEEN, Bent H et al. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. ***Pharmacology & Therapeutics***, [s.l.], v. 96, n. 2-3, p.67-202, nov. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0163-7258\(02\)00298-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0163-7258(02)00298-x).

HAY, Simon I et al. The global distribution and population at risk of malaria: past, present, and future. ***The Lancet Infectious Diseases***, [s.l.], v. 4, n. 6, p.327-336, jun. 2004. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(04\)01043-6](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(04)01043-6).

HIEN, Tran Tinh et al. Qinghaosu. ***The Lancet***, [s.l.], v. 341, n. 8845, p.603-608, mar. 1993. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0140-6736\(93\)90362-k](http://dx.doi.org/10.1016/0140-6736(93)90362-k).

HSU, Elisabeth. The history of qing hao in the Chinese materia medica. ***Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and hygiene***, v. 100, n. 6, p. 505-508, 2006. PubMed: 16566952

HUANG, Yangmu et al. The production and exportation of artemisinin-derived drugs in China: current status and existing challenges. *Malaria Journal*, v. 15, n. 1, p. 365, 2016.

HYDE, John E.. Mechanisms of resistance of *Plasmodium falciparum* to antimalarial drugs. ***Microbes And Infection***, [s.l.], v. 4, n. 2, p.165-174, fev. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1286-4579\(01\)01524-6](http://dx.doi.org/10.1016/s1286-4579(01)01524-6).

JANICK, Jules. **Distribution of artemisinin in *Artemisia annua L.*** In: J. JANICK. (ed.) Arlington: Progress in new crops, p. 579-584, 1996.

JUNG, S.. Effect of chlorophyll reduction in *Arabidopsis thaliana* by methyl jasmonate or norflurazon on antioxidant systems. ***Plant Physiology And Biochemistry***, [s.l.], v. 42, n. 3, p.225-231, mar. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.01.001>.

KALE, Anup; GAWANDE, Sonia; KOTWAL, Swati. Cancer phytotherapeutics: role for flavonoids at the cellular level. **Phytother. Res.**, [s.l.], v. 22, n. 5, p.567-577, 2008. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.2283>.

KOHL, Kevin D. et al. Monoterpenes as inhibitors of digestive enzymes and counter-adaptations in a specialist avian herbivore. **Journal Of Comparative Physiology B**, [s.l.], v. 185, n. 4, p.425-434, 5 fev. 2015. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00360-015-0890-z>.

KOSEKI, Paula M. et al. Effects of irradiation in medicinal and eatable herbs. **Radiation Physics And Chemistry**, [s.l.], v. 63, n. 3-6, p.681-684, mar. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0969-806x\(01\)00658-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0969-806x(01)00658-2).

KUTCHAN, Toni M. Ecological arsenal and developmental dispatcher. The paradigm of secondary metabolism. **Plant physiology**, v. 125, n. 1, p. 58-60, 2001. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.125.1.58>

LAI, Henry; SINGH, Narendra P. Oral artemisinin prevents and delays the development of 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene (DMBA)-induced breast cancer in the rat. **Cancer letters**, v. 231, n. 1, p. 43-48, 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2005.01.019>.

LAI, Henry C.; SINGH, Narendra P.; SASAKI, Tomikazu. Development of artemisinin compounds for cancer treatment. **Investigational New Drugs**, [s.l.], v. 31, n. 1, p.230-246, 31 ago. 2012. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s10637-012-9873-z>.

LAUGHLIN, J.C. et al. Agricultural production of artemisinin—a review. **Transactions Of The Royal Society Of Tropical Medicine And Hygiene**, [s.l.], v. 88, p.21-22, jun. 1994. Oxford University Press (OUP). [http://dx.doi.org/10.1016/0035-9203\(94\)90465-0](http://dx.doi.org/10.1016/0035-9203(94)90465-0).

LAUGHLIN, J. C. Post-harvest Drying Treatment Effects on Antimalarial Constituents of *Artemisia annua* L. In: **International Conference on Medicinal and Aromatic Plants. Possibilities and Limitations of Medicinal and Aromatic Plant 576**. 2001. p. 315-320. <http://dx.doi.org/10.17660/actahortic.2002.576.47>.

LEITE, Franco Henrique Andrade et al. Malária: Dos velhos fármacos aos novos alvos moleculares. **Bbr - Biochemistry And Biotechnology Reports**, [s.l.], v. 2, n. 4, p.59-76, 29 mar. 2013. Universidade Estadual de Londrina. <http://dx.doi.org/10.5433/2316-5200.2013v2n4p59>.

LINDROTH, Richard L.; HSIA, MT Stephen; SCRIBER, J. Mark. Seasonal patterns in the phytochemistry of three *Populus* species. **Biochemical Systematics And Ecology**, [s.l.], v. 15, n. 6, p.681-686, nov. 1987. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0305-1978\(87\)90046-9](http://dx.doi.org/10.1016/0305-1978(87)90046-9).

LOPES, Norberto Peporine et al. Circadian and seasonal variation in the essential oil from *Virola surinamensis* leaves. **Phytochemistry**, [s.l.], v. 46, n. 4, p.689-693, out. 1997. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9422\(97\)00324-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9422(97)00324-5).

LUO, Xuan-de et al. The chemistry, pharmacology, and clinical applications of qinghaosu (Artemisinin) and its derivatives. **Medicinal Research Reviews**, [s.l.], v. 7, n. 1, p.29-52, jan. 1987. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1002/med.2610070103>.

MAES, Lies et al. Dissection of the phytohormonal regulation of trichome formation and biosynthesis of the antimalarial compound artemisinin in *Artemisia annua* L. plants. **New Phytologist**, [s.l.], v. 189, n. 1, p.176-189, 27 set. 2010. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03466.x>.

MAGALHÃES, Pedro M. de; DELABAYS, Nicolas; SARTORATTO, Adilson. New hybrid lines of the antimalarial species *Artemisia annua* L. guarantee its growth in Brazil. **Ciênc. cult.(São Paulo)**, v. 49, n. 5/6, p. 413-5, 1997.

MAGALHÃES, Pedro Melillo de et al. *Artemisia annua* L.: A New Version of a Traditional Tea under Randomized, Controlled Clinical Trial for the Treatment of Malaria. **Advances In Bioscience And Biotechnology**, [s.l.], v. 07, n. 12, p.545-563, 2016. Scientific Research Publishing, Inc.,. <http://dx.doi.org/10.4236/abb.2016.712049>.

MANSON, Sir Partick; COOK, Gordon Charles; ZUMLA, Alimuddin: **Epidemiology of Disease in the Tropics; Malaria; The antimalarial drugs. Manson's tropical diseases.** (pp: 23-24); (pp:1243-1248);(pp:1257-1259), 2009 Edimburgo: Saunders.

MARCHESE, José Abramo et al. Carbon isotope composition and leaf anatomy as a tool to characterize the photosynthetic mechanism of *Artemisia annua* L. **Brazilian Journal Of Plant Physiology**, [s.l.], v. 17, n. 1, p.187-190, mar. 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1677-04202005000100016>.

MARCHESE, Jose Abramo. **Produção e detecção de artemisinina em plantas de *Artemisia annua* L. submetidas a estresses abióticos.** 1999, 97 p. (Dissertação de mestrado em Ciências Biológicas). Instituto de Biologia, UNICAMP, Campinas-SP.

MARCHESE, Jose A., FIGUEIRA, Glyn M. **O uso de tecnologia pré e pós-colheita e boas práticas agrícolas na produção de plantas medicinais e aromáticas.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu,v.7, n.3, p.86-96, 2005.

MATINAZZO, Ana Paula. Secagem, armazenamento e qualidade de folhas de *Cymbopogon citratus* (D.C.). 2006. 140 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Mg, 2006.

MARTINAZZO, Ana P. et al. Análise e descrição matemática da cinética de secagem de folhas de capim-limão. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 3, p. 301-306, 2007.

MATIN, M. A. et al. Irradiation of onions, pulses and dried fish: process control, storage, test marketing and economic analysis of the process. **IAEA-TEC DOC**, v. 871, p. 19-49, 1996.

MCVAUGH, Rogers et al. **Flora Novo-Galiciana: a descriptive account of the vascular plants of western Mexico. Volume 5. Leguminosae.** University of Michigan Press, 1987.

MENARD, Didier et al. Association of failures of seven-day courses of artesunate in a non-immune population in Bangui, Central African Republic with decreased sensitivity of *Plasmodium falciparum*. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 73, n. 3, p. 616-621, 2005.

MESHNICK, Steven R. Artemisinin: mechanisms of action, resistance and toxicity. **International Journal For Parasitology**, [s.l.], v. 32, n. 13, p.1655-1660, dez. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0020-7519\(02\)00194-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0020-7519(02)00194-7).

MESHNICK, Steven R.; DOBSON, Mary J. The history of antimalarial drugs. **Antimalarial chemotherapy**, p. 15-25, 2001.

MESHNICK, Steven R.; TAYLOR, T. E.; KAMCHONWONGPAISAN, Sumalee. Artemisinin and the antimalarial endoperoxides: from herbal remedy to targeted chemotherapy. **Microbiological reviews**, v. 60, n. 2, p. 301-315, 1996.

MILHAU, Guilhem et al. In Vitro Antimalarial Activity of Eight Essential Oils. **Journal Of Essential Oil Research**, [s.l.], v. 9, n. 3, p.329-333, maio 1997. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.1997.10554252>.

MONTANARI, Carlos Alberto; BOLZANI, Vanderlan da S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 105-111, 2001.

NASS, Luciano Lourenço (Ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007.

NOSTEN, François; WHITE, Nicholas J. Artemisinin-based combination treatment of *falciparum* malaria. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 77, n. 6 Suppl, p. 181-192, 2007.

O'NEILL, Paul M. et al. The Molecular Mechanism of Action of Artemisinin—The Debate Continues. **Molecules**, [s.l.], v. 15, n. 3, p.1705-1721, 12 mar. 2010. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules15031705>.

OLIVEIRA, Ariana R. M. F. de et al. Determinação do tempo de hidrodestilação e do horário de colheita no óleo essencial de menta. **Hortic. bras**, v. 30, n. 1, 2012.

OLIVEIRA, J. E. Z. **Variabilidade isozimática e do teor de óleo essencial em acessos de Bidens pilosa L. Viçosa, MG: UFV, 1997. 72p.** 1997. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento)-Universidade Federal de Viçosa. Viçosa - MG, 1997

OLIVEIRA-FERREIRA, Joseli et al. Malaria in Brazil: an overview. **Malaria Journal**, [s.l.], v. 9, n. 1, p.115-130, 2010. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/1475-2875-9-115>.

OLSON, Dennis G. Irradiation of food. **Food technology (USA)**, 1998.

OMS, ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **World Health Organization – Guidelines for the treatment of malaria.** Disponível em: <<http://www.who.int/malaria/docs/TreatmentGuidelines2006.pdf>>. Acesso em: 11 mar. 2015.

OPAS, Organização Pan - Americana da Saúde. http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_joomlabook&task=display&id=33&Itemid=232 Acesso: 11 de Março de 2015.

PEREDA, J. A. O. **Em Tecnologia de Alimentos: Componentes dos Alimentos e Processos.** Porto Alegre: Artmed, 2005, cap. 9.

PERES, L.E.P. Metabolismo secundário. **Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, p.1-26. 2004. Disponível em: <http://docentes.esalq.usp.br/lazaropp/FisioVegGrad Bio/MetSec.pdf>. Acesso em: 12 janeiro 2017.

PIMENTEL, Lúcio Figueira et al. Nanotecnologia farmacêutica aplicada ao tratamento da malária. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, [s.l.], v. 43, n. 4, p.503-

514, dez. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-93322007000400003>.

PINTO, Graciele Fernanda Souza. Fitotoxicidade e análise fitoquímica a partir de folhas de cinco espécies de Cerrado. 2015. 66 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biociências, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista Unesp, Assis, 2015. Disponível em: <<http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/cathedra/17-06-2015/000837512.pdf>>. Acesso em: 11 mar. 2017.

PLOYPRADITH, Poonsakdi et al. Development of artemisinin and its structurally simplified trioxane derivatives as antimalarial drugs. **Acta Tropica**, [s.l.], v. 89, n. 3, p.329-342, fev. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2003.10.006>.

RADÜNZ, L.L. **Secagem de alecrim pimenta, guaco e hortelã-comum sobre diferentes temperaturas e sua influência na quantidade e qualidade dos princípios ativos**. 2004, 90p. Dissertação (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

RANA, V. S. et al. Essential oil composition of *Artemisia annua* L. at different growth stages. **Journal of Spices and Aromatic Crops**, v. 22, n. 2, 2013.

REALE, Samantha et al. Volatile fingerprints of artemisinin-rich *Artemisia annua* L. cultivars by headspace solid-phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry. **Rapid Communications In Mass Spectrometry**, [s.l.], v. 25, n. 17, p.2511-2516, 5 ago. 2011. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1002/rcm.5155>.

RESENDE, Osvaldo: **Variação das propriedades físicas e mecânicas e da qualidade do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) durante a secagem e o armazenamento**. 2006. 197f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, 2006

ROCHA, S.; MING, L. C.; MARQUES, M. Influência de cinco temperaturas de secagem no rendimento e composição do óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, p. 73-78, 2000.

RODRIGUES, Rodney Alexandre Ferreira et al. Otimização do processo de extração e isolamento do antimalárico artemisinina a partir de *Artemisia annua* L. **Química Nova**, [s.l.], v. 29, n. 2, p.368-372, abr. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422006000200030>.

RØNN, A. M. et al. High level of resistance of *Plasmodium falciparum* to sulfadoxine-pyrimethamine in children in Tanzania. **Transactions Of The Royal Society Of Tropical Medicine And Hygiene**, [s.l.], v. 90, n. 2, p.179-181, mar. 1996. Oxford University Press (OUP). [http://dx.doi.org/10.1016/s0035-9203\(96\)90129-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0035-9203(96)90129-7).

SANDHAR, Harleen Kaur et al. A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. **Internationale Pharmaceutica Scientia**, v. 1, n. 1, p. 25-41, 2011

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6. ed. Florianópolis: Editora da UFSC, 2010. cap. 16, p. 410-411

SILVA, Franceli da. **Avaliação do teor e da composição química do óleo essencial de plantas medicinais submetidas a processos de secagem e armazenamento**. 2005. 152p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola, Campinas, SP. Disponível em: <<http://libdigi.unicamp.br/document/?code=vtls000362004>>. Acesso em: 28 mar. 2017.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 4, n. 01, p. 71-78, 2002.

SILVA, T.; LIBERAL, E. M.; PESSOA, FLP. Uso do fluido supercrítico na extração de produtos naturais. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos-SBCTA**, v. 31, p. 48-61, 1997.

DA SILVA, Jaime A. Teixeira. The cut flower: postharvest considerations. **J. Biol. Sci.**, v. 3, n. 4, p. 406-442, 2003.

SILVA, João Andrade et al. **Tópicos da tecnologia de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2000.

SILVA, Marília Lordêlo Cardoso et al. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SILVA, W. P. da et al. Determinação da difusividade e da energia de ativação para feijão macassar (*Vigna unguiculata* (L.) walp.), variedade sempre-verde, com base no comportamento da secagem. **Engenharia Agrícola**, v. 28, n. 2, p. 325-333, 2008.

SIMÕES C.M O., SPITZER V. Óleos voláteis. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, p. 467-495, 2003.

SIMÕES, C. M. O. et al. Óleos Essenciais. In: *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 2ª ed. rev. Porto Alegre/ Florianópolis: Ed Universidade /UFRGS/ Ed. Universidade/ UFSC, 1999 821 p.

SIMONNET, X. et al. Field drying of *Artemisia annua* L.: increasing artemisinin content and lowering production costs. **Revue suisse de viticulture, arboriculture, horticulture (Switzerland)**, 2001.

SKVARLA, J. J., LARUN, D. A. 1965. An cl-clron microscopic study of pollen morphology in the Compositac with special referencs to the Ambrosiinae. – **Grana Palynol.** 6: 210-269.

SMITHA G. R., et al. **Cultivation of *Artemisia (Artemisia annua Linn.)***. Boriavi: Icar – Directorate Of Medicinal And Aromatic Plants Research, Boriavi, Anand – 387 310, Gujarat, 2014. Disponível em: <<http://www.dmapr.org.in/publications/bulletine/artemisia%2016-1-15.pdf> >. Acesso em: 07 mar. 2017

SOUZA et al, Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Boas Práticas Agrícolas (BPA) de plantas medicinais, aromáticas e condimentares /ed. preliminar.** – Brasília: MAPA/SDC, 2006

STEEL, J.W. et al. Pharmacokinetics and metabolism of avermectins in livestock. **Veterinary Parasitology**, [s.l.], v. 48, n. 1-4, p.45-57, jun. 1993. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0304-4017\(93\)90143-b](http://dx.doi.org/10.1016/0304-4017(93)90143-b).

STEFANOVA, Rayna et al. Irradiation of Food, Current Legislation Framework, and Detection of Irradiated Foods. **Food Analytical Methods**, [s.l.], v. 3, n. 3, p.225-252, 10 fev. 2010. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s12161-009-9118-8>.

SUBERU, John O. et al. Anti-plasmodial polyvalent interactions in *Artemisia annua* L. aqueous extract—possible synergistic and resistance mechanisms. **PLoS One**, v. 8, n. 11, p. e80790, 2013. doi:10.1371/journal.pone.0080790.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal 3 ed. **Porto Alegre: Artmed**, v. 719, 2004.

TAPAS, Ahmad R.; SAKARKAR, D. M.; KAKDE, R. B. Flavonoids as nutraceuticals: a review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 3, p. 1089-1099, 2008.

TEZOTTO-ULIANA, Jaqueline Visoni et al. Gamma radiation: An efficient technology to conserve the quality of fresh raspberries. **Scientia Horticulturae**, v. 164, p. 348-352, 2013.

TORSSELL, Kurt B. G. Natural Product Chemistry: A mechanistic, biosynthetic and ecological approach (2nd ed.), **Apotekarsocieteten-Swedish Pharmaceutical Society: Stockholm**, 1997

TRAVASSOS, Mark A.; LAUFER, Miriam K. Resistance to antimalarial drugs: molecular, pharmacologic, and clinical considerations. *Pediatr Res*. 2009 May; 65(5 Pt 2):64R-70R. doi: 10.1203/PDR.0b013e3181a0977e.

TSIMOGIANNIS, Dimitrios et al. Characterization of Flavonoid Subgroups and Hydroxy Substitution by HPLC-MS/MS. **Molecules**, [s.l.], v. 12, n. 3, p.593-606, 21 mar. 2007. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/12030593>.

VAN AGTMAEL, M et al. Artemisinin drugs in the treatment of malaria: from medicinal herb to registered medication. **Trends In Pharmacological Sciences**, [s.l.], v. 20, n. 5, p.199-205, 1 maio 1999. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0165-6147\(99\)01302-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0165-6147(99)01302-4).

VENSKUTONIS, P.r. et al. Effect of drying on the volatile constituents of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.). **Food Chemistry**, [s.l.], v. 59, n. 2, p.219-227, jun. 1997. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146\(96\)00242-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0308-8146(96)00242-7).

VIEGAS JUNIOR, Cláudio et al. Produtos naturais como candidatos a fármacos úteis no tratamento do Mal de Alzheimer. **Quim. Nova**, v. 27, n. 4, p. 655-660, 2004.

VIEGAS JUNIOR, Cláudio; BOLZANI, Vanderlan da Silva; BARREIRO, Eliezer J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, [s.l.], v. 29, n. 2, p.326-337, abr. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422006000200025>.

VILLELA, F. A. et al. Secagem de sementes. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos. Pelotas: UFPel**, p. 283-321, 2003.

VUYCK, L. Flora Batava. 22. Band. Vincent Loosjes, Haarlem. Tafel 1697

WAGNER G. J., E. WANG, R. W. SHEPHERD New Approaches for Studying and Exploiting an Old Protuberance, the Plant Trichome *Ann Bot*. 2004 Jan; 93(1): 3–11. doi: 10.1093/aob/mch011

WALLAART, T. Eelco et al. Seasonal variation of artemisinin and its biosynthetic precursors in plants of *Artemisia annua* L. of different geographical origin: proof for the existence of chemotypes. **Planta Medica**, v. 66, n. 01, p. 57-62, 2000.

WANG, Wei et al. Global characterization of *Artemisia annua* L. glandular trichome transcriptome using 454 pyrosequencing. **Bmc Genomics**, [s.l.], v. 10, n. 1, p.465-475, 2009. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-10-465>.

WATERMAN, P. G. The chemistry of volatile oils. In: HAY, Robert KM; WATERMAN, Peter G. **Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production**. Longman Scientific and Technical, 1993.

WEATHERS, Pamela J.; TOWLER, Melissa J. The flavonoids casticin and artemetin are poorly extracted and are unstable in an *Artemisia annua* L. tea infusion. **Planta medica**, v. 78, n. 10, p. 1024-1026, 2012.

WEATHERS, Pamela J. et al. Artemisinin production in *Artemisia annua* L.: studies in planta and results of a novel delivery method for treating malaria and other neglected diseases. **Phytochemistry Reviews**, [s.l.], v. 10, n. 2, p.173-183, 7 mar. 2010. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s11101-010-9166-0>.

WEATHERS, Pamela J. et al. Pharmacokinetics of artemisinin delivered by oral consumption of *Artemisia annua* L. dried leaves in healthy vs. *Plasmodium chabaudi*-infected mice. **Journal Of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 153, n. 3, p.732-736, maio 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.03.037>.

WHO (Org.). Effectiveness of Non-Pharmaceutical Forms of *Artemisia annua* L. against malaria. [s.i]: World Health Organization., 2012. Disponível em: <http://www.who.int/malaria/position_statement_herbal_remedy_artemisia_annua_l.pdf> . Acesso em: 19 fev. 2017.

WHO. World Health Organization (Org.). Global Malaria Diagnostic and Artemisinin Treatment Commodities Demand Forecast. Suíça: Unitaid, 2016. 81 p. Disponível em: <file:///F:/Artigos/Artigos
novos

2017/Global_malaria_diagnostic_and_artemisinin_treatment_commodities_demand_for_eCast_2015-2018.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2017.

WOERDENBAG, Herman et al. Artemisinin, Related Sesquiterpenes, and Essential Oil in *Artemisia annua* L. During a Vegetation Period in Vietnam. **Planta Medica**, [s.l.], v. 60, n. 03, p.272-275, jun. 1994. Thieme Publishing Group. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2006-959474>.

WONGSRICHANALAI, Chansuda et al. Epidemiology of drug-resistant malaria. **The Lancet Infectious Diseases**, [s.l.], v. 2, n. 4, p.209-218, abr. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(02\)00239-6](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(02)00239-6).

WRIGHT, Colin W. *Artemisia, Medicinal and Aromatic Plants. Industrial profiles*. New York, 2002.

YANG, Zhan-nan; ZHU, Shi-qiong; YU, Zheng-wen. Comparison of terpene components from flowers of *Artemisia annua* L.. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 7, n. 2, p. 114-119, 2012.

YUNES R. A., CALIXTO J. B.. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna: métodos de estudo, fitoterápicos e fitofármacos, biotecnologia, patente**. Chapecó: Argos, 2001.

ZHANG, C. et al. Effects of arteannuin B, arteannuic acid and scopoletin on pharmacokinetics of artemisinin in mice. **Asian Pacific Journal Of Tropical Medicine**, [s.l.], v. 9, n. 7, p.677-681, jul. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.05.004>.