

## ARTIGO DE PESQUISA

# Estudo da toxicidade de infusões de chás e tinturas de *Peumus boldus*, *Artemisia absinthium* e *Bidens pilosa* em *Artemia salina*

*Toxicity studies of infusions of teas and tinctures of Peumus boldus, Artemisia absinthium and Bidens pilosa in Artemia salina*

Abreu, Dayane de<sup>1</sup>; Krueger, Melissa Dominique de Sousa<sup>1</sup>; Lopes, Suelen<sup>1</sup>; Voltolini, Adrielli Tenfen<sup>1</sup>, Zimmermann, Lara Almida<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Universidade Sociedade Educacional de Santa Catarina – UniSociesc, Faculdade de Biomedicina Campus Jaraguá Park Shopping, Av. Getúlio Vargas, 268, Centro, CEP 89251-970, Jaraguá do Sul, SC, Brasil.

## Resumo

Atualmente, o uso de plantas de forma terapêutica vem se tornando muito popular. Essas plantas medicinais são mais utilizadas pela comunidade nas formas de chá por infusão e tintura. As espécies *Peumus boldus* (Boldo-do-Chile), *Artemisia absinthium* L. (Losna) e a *Bidens pilosa* (Picão Preto) são plantas medicinais que possuem diversas aplicabilidades para diferentes tratamentos. Pela falta de conhecimento da população em relação aos riscos à saúde que trazem o preparo incorreto dessas plantas, este trabalho teve como objetivo realizar uma análise toxicológica dos chás e tinturas das plantas citadas. A toxicidade foi avaliada através do bioensaio com náuplios de *Artemia salina*, teste rápido e de baixos recursos, onde observamos a morte ou atividade dos mesmos.

**Palavras-chave:** *Artemia salina*; *Artemisia absinthium*; *Bidens pilosa*; *Peumus boldus*.

## Abstract

Nowadays the use of plants in therapeutic ways has become very popular, more and more over time. The species *Peumus boldus* (Boldo), *Artemisia absinthium* L. (Absinthium) and the *Bidens pilosa* (Black Jack) are medicinal plants that have several applications for different treatments. Because of the population's lack of knowledge in relation to the health risks that the incorrect preparation of these plants brings, this work aimed to realize a toxicological analysis of the teas and tinctures of the plants mentioned. The toxicity was evaluated through the bioassay with nauplii of *Artemia salina*, fast low-resource testing, and we observed the death or activity of the nauplii.

**Keywords:** *Artemia salina*; *Artemisia absinthium*; *Bidens pilosa*; *Peumus boldus*.

## Introdução

A história do uso das plantas medicinais vem desde os tempos remotos, no período neolítico, onde a natureza era sua principal provedora para sobrevivência. Essa prática foi desenvolvida através de experimentação e observações, devido a relação que os povos primitivos tinham com a natureza (ALMEIDA et al., 2011). Durante a idade média o feudalismo estrutura o desenvolvimento do estudo das plantas medicinais, desta forma, o conhecimento popular acabou se tornando prática pagã, instituições religiosas acabaram ressignificando as doenças como pecado ou mal presente (MARQUES, 1998). Os conhecimentos sobre o uso das plantas medicinais se desenvolveram, por volta do século XVI, XVII e XVIII, quando os colonizadores que chegaram ao Brasil puderam observar a prática indígena com a diversidade de plantas presente nas regiões (MARQUES, 1998). Desde o século XVI, as plantas medicinais são amplamente utilizadas pela população como métodos alternativos de terapia. Diante deste cenário buscou-se compreender a forma como a população se relaciona hoje com o uso e indicação das plantas medicinais. Dentre as plantas amplamente utilizadas pela população destacamos o Boldo-Do-Chile, Losna e Picão Preto comumente usadas como método alternativo para tratamento ou precaução de enfermidades.

*Peumus boldus* ou Boldo-do-Chile é uma planta arbórea da família *Monimiaceae* que é oriunda das regiões Sul e Central do Chile, muito usada pelos povos indígenas. Na medicina popular é muito comum o uso das folhas de Boldo-do-Chile para chás com intuito de tratamento voltado a problemas hepáticos e digestivos. Entre seus constituintes químicos estão presentes alcaloides e flavonoides (MATSUBARA & RODRIGUEZ-AMAYA et al., 2006). Contudo, não é apenas no uso popular que vemos a utilização dos mesmos, é possível encontrar várias utilizações e descrições em farmacognósticos, extra farmacopeia e farmacopeia em países como Brasil, Chile, Alemanha, Portugal, Romênia, Espanha e Suíça (BRANDÃO et al., 2006).

A *Artemisia absinthium* L, mais referida como Losna, Absinto e Erva-Santa, por suas propriedades medicinais, é utilizada há milhares de anos, segundo registros, desde o antigo Egito até a Idade Média. Esta planta tem sido amplamente aplicada para fins terapêuticos, como antimicrobiano, para indigestão e melhorar o apetite, contra diarreia, dor gástrica, abdominal, como vermífugo, dentre outros benefícios. Vários estudos também indicam que a Losna possui alta atividade antitumoral e anti cancerígena. Além disso, a Losna é utilizada na produção do licor de absinto que possui como efeitos alucinações, mudanças de personalidade e convulsões. (MENGUE et al. 2001) Esses sintomas, assim como sua toxicidade hepática e seu uso como abortivo, estão relacionados à presença de tujona, um dos componentes principais do óleo essencial.

*Bidens pilosa* é conhecida comumente como picão preto, picão ou carrapicho, porém outros nomes populares também são utilizados como: amor seco, pica-pica, amor de mulher, carrapato de mendigo, amor de burro, setas, malpica, cadillo, aceitilla, carrapicho de agulha [...] (BRASÍLIA, 2015). Possui propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antimicrobianas, antialérgicas entre outras, auxiliando inclusive no tratamento de icterícia, fazendo com que a espécie seja muito utilizada pela população para tratar doenças. Os relatos populares referenciam principalmente o combate às moléstias infecciosas de origem bacteriana, fúngica, helmíntica e viral, além da reputada ação anti-inflamatória (LUCCHETTI, 2009). Essa planta pode ser encontrada nas regiões mais quentes da América do Sul, por esse motivo é muito frequente no Brasil. O picão é constituído principalmente por flavonoides, compostos

fenólicos, fitosteróis e glicosídeos. Apesar das várias propriedades e a ampla utilização pela população, os efeitos dessa planta a curto e longo prazo ainda não estão descritos na literatura devido aos poucos estudos relacionados a sua toxicologia.

Da presente forma, a utilização de plantas para caráter medicinal é de suma importância, utilizadas em infusões de chás e tinturas. Diante da grande procura por informações de utilização destas plantas, criou-se o formulário de fitoterápicos na farmacopeia brasileira, e desde então vem sendo atualizada conforme o avanço dos estudos e necessidade da população. Fato é que nem todas as plantas são descritas neste documento mesmo sendo utilizadas pela população através de infusões e tinturas (ANVISA, 2021).

Denominado atualmente como farmácia viva em 1989, por meio da portaria Nº 18 de 13 de abril, como componente do projeto Programa de Desenvolvimento de Terapias Não Convencionais no Sistema de Saúde, os fitoterápicos foram integrados para com objetivo de opção terapêutica, além de padronizados para uso racional da população. Por meio de uma formulação elementar realizada em receituários de plantas medicinais as tinturas são preparadas com álcool e plantas com propriedades medicinais. A tintura é uma formulação muito conhecida nos receituários de plantas medicinais (MATOS, 2000; VELLOSO e PEGLOW, 2003) e consiste numa solução preparada com etanol, atuando como extrator dos metabólitos secundários presentes nas plantas. Essa solução é utilizada posteriormente para tratar doenças de acordo com as propriedades medicinais da espécie selecionada para a produção da tintura. Além disso, podem ser preparadas com uma ou mais matérias-primas, sendo assim classificadas em simples e compostas (FARMACOPÉIA, 1988). A dose recomendada para consumo depende da tintura e da planta utilizada, podendo ser encontradas no formulário de fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira. Entretanto, muitas tinturas não estão descritas neste formulário e ainda assim, são amplamente utilizadas pela população.

É inegável a importância de métodos comprobatórios da eficácia e segurança do uso de plantas medicinais como medicamentos, sendo necessária sua validação

fundamentada por evidências experimentais, exceto quando se trata de um produto tradicional fitoterápico que se enquadra no Art. 22 da RDC N° 26, de 13 de Maio de 2014. Portanto, para obter conhecimento do potencial toxicológico e então estipular o limite consumível de plantas medicinais são necessários ensaios toxicológicos, utilizando como bioindicador em ensaios *in vitro* a *Artemia Salina*, na qual se caracteriza por uma espécie de microcrustáceo de água salgada, e é utilizada em testes de toxicidade aguda para avaliação preliminar da toxicidade. (Meyer et. al, 1982) Sua grande aplicabilidade se deve ao fácil manuseio, baixo custo econômico, serve como uma alternativa a outros ensaios que utilizam animais, pois minimizando o uso de camundongos, estando de acordo com a filosofia dos 3Rs de Russel e Burch (Substituição, Redução e Refinamento, do inglês *Replacement, Reduction and Refinement*), porém são sensíveis às variações ambientais.

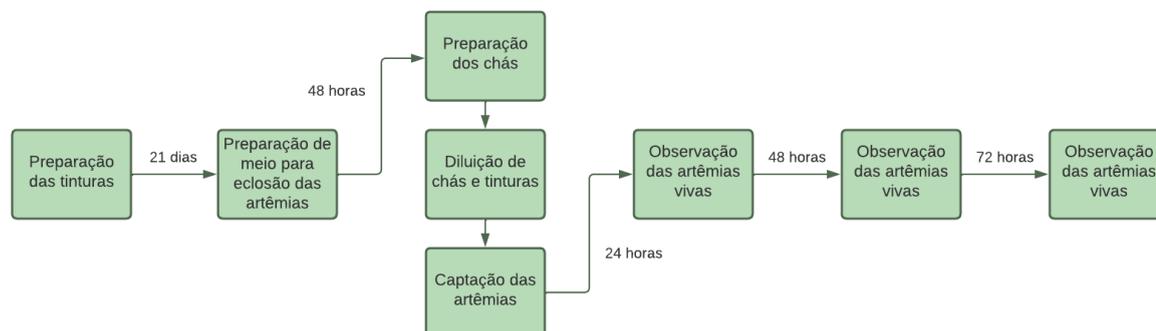
Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade de infusões (chás) e tinturas, em diferentes concentrações, das espécies *Peumus boldus* (boldo-do-chile), *Artemisia absinthium L.* (Losna) e *Bidens pilosa* (picão-preto), amplamente utilizadas na medicina popular, através do bioensaio com náuplios de *Artemia salina*.

## Materiais e métodos

Este trabalho caracteriza-se como uma pesquisa experimental, com uma abordagem aplicada, de natureza quantitativa e com um propósito explicativo. Foram avaliadas a toxicidade da infusão e tintura das espécies vegetais *Peumus boldus* (boldo-do-chile), *Bidens pilosa* (picão-preto) e *Artemisia absinthium L.* (losna). As espécies vegetais foram adquiridas em lojas de produtos naturais da região.

O fluxograma apresentado na Figura 1 apresenta todas as etapas da metodologia que será elucidada a seguir.

Figura 1: Fluxograma geral das etapas da metodologia seguida.



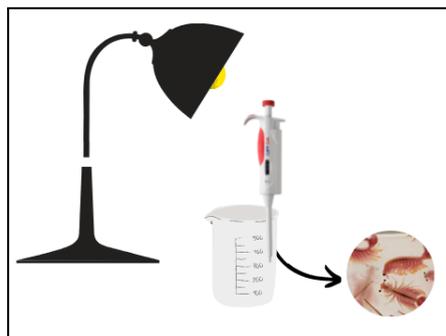
Fonte: Elaborado pelos autores.

Os chás e tinturas das espécies vegetais em estudos foram preparados conforme descrito na Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2019, pg 158). As infusões das folhas das espécies vegetais foram preparadas utilizando uma proporção de dois gramas de material vegetal para 150 mL de água. Inicialmente, o material vegetal foi pesado, em seguida adicionou-se a água previamente aquecida (100°C) sob o material vegetal em um béquer, tampou-se e foi deixado em repouso por 10 minutos. Posteriormente, o infuso foi filtrado para se obter o extrato aquoso.

As tinturas foram preparadas em frascos âmbar contendo 6g de planta seca e adicionado 50 mL de álcool de cereais 100% v/v, posteriormente foram deixadas por 21 dias no abrigo da luz e após este período foram filtradas com o auxílio do papel filtro.

A avaliação da toxicidade das infusões e das tinturas foram avaliados através de bioensaios de letalidade da *Artemia salina*. A metodologia utilizada foi a descrita por Meyer e colaboradores (1982), com algumas modificações. O preparo das *Artemia salina* para eclosão de náuplios foi feito em solução salina, preparada adicionando 38 gramas de sal marinho em 1000 mL de água destilada no período de 48 horas em um béquer armazenado em uma caixa escura. A manipulação das artêmias e coleta foi realizada com o auxílio de uma micropipeta e posicionando uma luminária próxima do recipiente, pois as mesmas se deslocam para a região mais iluminada. A Figura 2 representa o esquema de manipulação dos náuplios de *Artemia salina*.

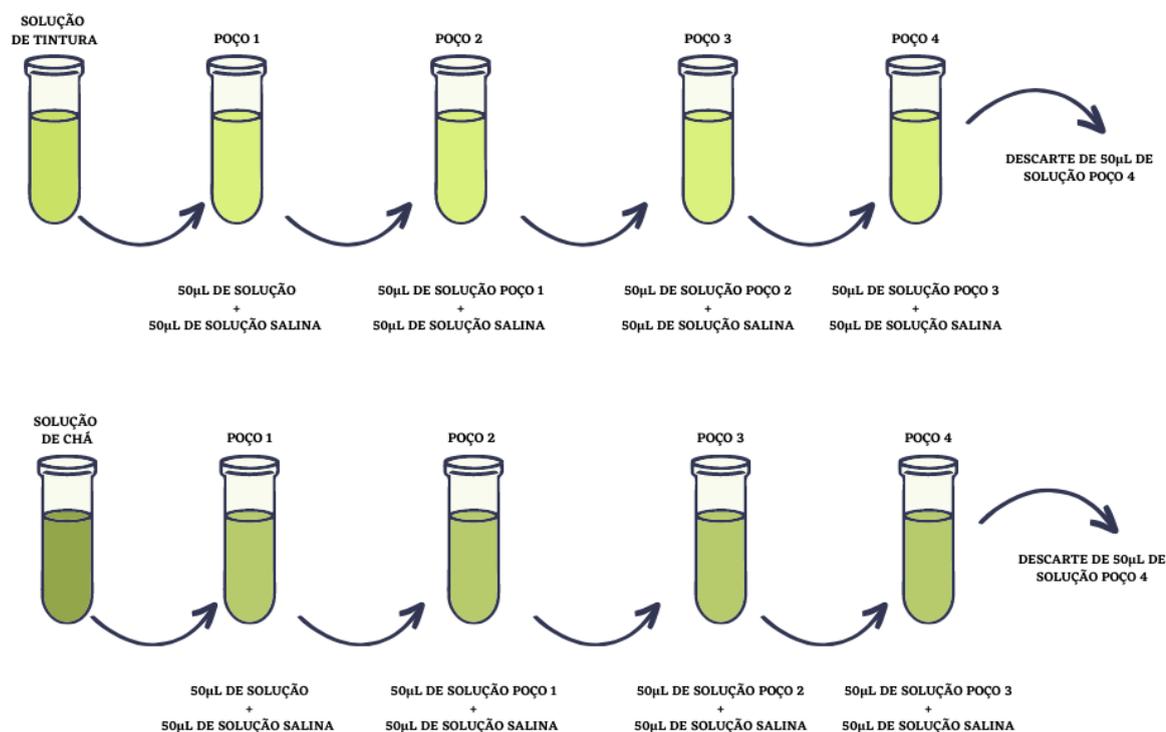
Figura 2: Esquema de manipulação dos náuplios de *Artemia Salina*.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Após a coleta das mesmas, foram adicionadas cerca de 8 a 10 náuplios em cada poço de uma placa de cultura de 24 poços com o auxílio da micropipeta. Para as avaliações da análise toxicológica, realizou-se a diluição das amostras de acordo com o fluxograma apresentado na Figura 3:

Figura 3: Fluxograma do esquema de diluição realizado nas amostras de chás e tinturas das espécies vegetais em estudo.



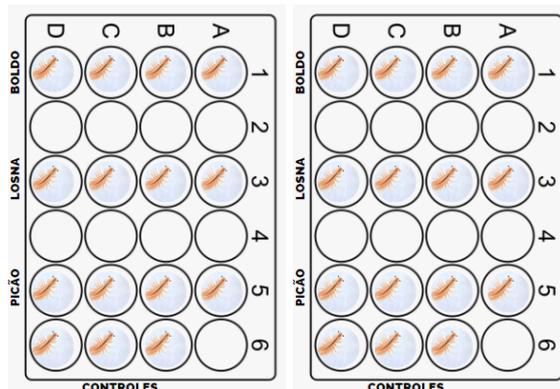
Fonte: Elaborado pelos autores.

Utilizou-se de 50µL de chá ou tintura para um total de 100 µL de solução no primeiro poço, onde foi realizado uma diluição seriada, com concentrações variadas de soluções de chás e tinturas, sendo o poço 1 o mais concentrado e o poço 4



tinturas. Para cada teste realizado, utilizou-se 2 placas, sendo uma placa para os testes contendo as soluções com os chás e uma placa contendo as soluções com as tinturas.

Figura 4: Esquema dos testes realizados nas placas de 24 poços no período de 1 semana para análise contendo as soluções de chás (esquerda) e as soluções de tinturas (direita).



Fonte: Elaborado pelos autores.

Da mesma forma, em conjunto com os testes realizados, realizou-se também a manipulação de 3 controles negativos em cada semana de teste. Para o controle negativo, adicionou-se 50 $\mu$ L de solução salina em cada poço contendo cerca de 8 a 10 náuplios por poço. Esse procedimento foi realizado em triplicata em conjunto com os demais testes.

## Resultados e discussão

*Artemia salina* L. (*Artemiidae*), a larva da artêmia, é um invertebrado utilizado no teste alternativo para determinar a toxicidade de produtos químicos e naturais. Neste estudo, a toxicidade de seis extratos de três espécies vegetais, *Peumus boldus* (boldo-do-chile), *Artemisia absinthium* L. (losna) e *Bidens pilosa* (picão-preto), foi determinada usando *Artemia salina*.

As plantas adquiridas comercialmente foram submetidas a dois processos extrativos, infusão e tintura, cada extrato em quatro diferentes concentrações expostas na Tabela 1, as quais tiveram suas toxicidades avaliadas. Após a realização dos ensaios seguindo a metodologia descrita por Meyer e colaboradores (1982) e adaptada neste artigo, a média dos resultados dos náuplios vivos a partir das

triplicatas obtidas para as infusões (chás) estão expostos na Tabela 2. Os resultados apresentados na tabela foram arredondados considerando apenas uma casa decimal.

Tabela 2. Resultado da média das triplicatas realizadas no ensaio de letalidade em *Artemia salina*, para as diferentes concentrações das substâncias de chás e quantidade de *Artemia salina* vivas observadas no período de 24, 48 e 72 horas.

Amostras - Chás	Concentração (g/L)	Quantidade de Artemia sp. (unid. vivas)											
		24 horas				48 horas				72 horas			
		T1	T2	T3	Média	T1	T2	T3	Média	T1	T2	T3	Média
Boldo	6,665	7	9	8	8	3	1	2	2	0	0	0	0
Boldo	3,332	8	10	6	8	8	8	5	7	0	0	0	0
Boldo	1,666	9	8	7	8	9	8	7	8	0	0	0	0
Boldo	0,833	7	9	8	8	2	5	5	4	0	0	0	0
Losna	6,665	6	8	7	7	1	1	1	1	0	0	0	0
Losna	3,332	4	6	5	5	2	4	3	3	0	0	0	0
Losna	1,666	6	7	5	6	1	1	1	1	0	0	0	0
Losna	0,833	7	8	6	7	7	6	5	6	0	0	0	0
Picão	6,665	8	8	8	8	4	3	5	4	0	0	0	0
Picão	3,332	5	3	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1
Picão	1,666	6	6	6	6	3	5	1	3	0	0	0	0
Picão	0,833	7	6	5	6	3	4	2	3	0	0	0	0
Controle	0	8	7	3	6	3	6	9	6	0	0	0	0

Melhores desempenhos observados: ■ BOLDO ■ LOSNA ■ PICÃO

Fonte: Elaborado pelos autores.

A contagem dos náuplios vivos foi realizada nos períodos de 24, 48 e 72 horas de incubação, avaliando a motilidade dos náuplios sob a luz incidente.

Observa-se para as diferentes concentrações de chás avaliadas no período de 24 horas de incubação, que para as espécies boldo e losna praticamente todos os animais permaneceram vivos em todas as concentrações testadas. Com relação ao Picão na concentração de 6,665 g/L apresentaram melhores resultados pois apresentaram menos mortes de náuplios no período de tempo observado, sugerindo neste caso uma mínima concentração seria suficiente para matar os organismos.

Já no período de 48 horas de incubação, sugere-se um aumento gradativo de mortes quanto maior a concentração. Fato esse observado tanto para o boldo quanto para losna, quanto menor a concentração mais sobreviventes, sendo a concentrações com melhores desempenho 1,666 g/L para o Boldo, 0,833 g/L para a Losna e para o Picão 6,665 g/L.

No período final dos chás de 72 horas, foi observada uma tendência a um maior número de mortes, apenas o Picão na concentração de 3,332 g/L sobrevivente, as demais plantas e concentrações não trouxeram resultados consideráveis.

A média dos resultados dos náuplios vivos a partir das triplicatas obtidas para as soluções de tinturas estão expostos na Tabela 3. Os resultados apresentados na tabela foram arredondados considerando apenas uma casa decimal.

Tabela 3. Resultado da média das triplicatas realizadas no ensaio de letalidade em *Artemia salina*, para as diferentes concentrações das tinturas em estudo e quantidade de *Artemia salina* observadas vivas no período de 24, 48 e 72 horas.

Amostras - Tintura	Concentração (g/L)	Quantidade de Artemia sp. (unid. vivas)											
		24 horas				48 horas				72 horas			
		T1	T2	T3	Média	T1	T2	T3	Média	T1	T2	T3	Média
Boldo	60	7	9	8	8	8	8	8	8	0	0	0	0
Boldo	30	9	8	7	8	6	7	8	7	0	0	0	0
Boldo	15	8	8	8	8	6	5	7	6	0	0	0	0
Boldo	7,5	8	9	7	8	1	1	4	2	0	0	0	0
Losna	60	7	9	8	8	8	9	7	8	0	0	0	0
Losna	30	6	6	6	6	5	4	3	4	0	0	0	0
Losna	15	8	8	8	8	5	7	6	6	0	0	0	0
Losna	7,5	8	9	7	8	8	6	4	6	0	0	0	0
Picão	60	9	7	8	8	4	3	2	3	0	0	0	0
Picão	30	9	8	7	8	2	6	4	4	0	0	0	0
Picão	15	9	9	6	8	7	5	6	6	0	0	0	0
Picão	7,5	8	7	9	8	6	5	7	6	0	0	0	0
Controle	0	8	8	8	8	8	8	8	8	0	0	0	0

Melhores desempenhos observados: ■ BOLDO ■ LOSNA ■ PICÃO

Fonte: Elaborado pelos autores.

Referente aos resultados observados para o teste de toxicidade com as tinturas no período de 24 horas de incubação, as mesmas não apresentaram efeitos tóxicos sobre o microcrustáceo. As plantas com melhores resultados quanto às concentrações expostas foram: Boldo em todas as concentrações, Losna em todas as concentrações com exceção da concentração de 30 g/L e Picão em todas as concentrações.

Considerando o período de 48 horas de incubação, pode-se verificar que as tinturas avaliadas apresentaram maior toxicidade quando comparadas à solução salina, essa diferença era esperada, pois a solução salina é o meio em que a *Artemia salina* vive. Observa-se que as concentrações de 60 g/L para o Boldo e para a Losna foram as que apresentaram a maior quantidade de sobreviventes. A tintura do picão demonstrou-se dose dependente, quanto maior a dose menor o número de sobreviventes, sendo observado um maior número de sobreviventes nas concentrações de 15 g/L e 7,5 g/L. No período de 72 horas de incubação, todas as concentrações não apresentaram resultados pois já não havia náuplios vivos.

Os resultados obtidos para a planta boldo e para o picão anuem o que está descrito no formulário terapêutico da farmacopeia brasileira, onde indica que a dose diária recomendada é de 4g à 8g para o boldo e 0,4g a 2g para o picão como doses diárias. No que tange os resultados obtidos para a losna, a mesma não está descrita no formulário e não tínhamos conhecimento sobre a toxicidade da mesma, assim, notou-se grande similaridade no perfil de toxicidade das três espécies vegetais estudadas.

As plantas possuem um teor tóxico pelo fato de produzirem metabólitos secundários, estes podem atuar tanto farmacologicamente, quanto toxicologicamente. Dessa forma, a intoxicação é um evento clínico que provém da interação entre uma ou mais substâncias químicas e um sistema biológico e sua ação biológica vai depender da via de administração, quantidade administrada, tempo de exposição e interações com outras substâncias (SOARES, 2008).

Souza e Rodrigues (2016) discorrem que o conhecimento e o uso de plantas medicinais são adquiridos de geração a geração, de maneira empírica, e embora utilizado desde os primórdios da civilização para cuidar da saúde, numerosas plantas medicinais carecem de comprovação científica de suas ações farmacológicas, bem como da segurança de seu uso, o que evidencia ainda mais a importância de estudos relacionados a plantas medicinais.

Destaca-se ainda que devido ao alto uso destes fitoterápicos pela população e que muitas vezes não possuem conhecimento sobre métodos de extração e dosagem, podem levar a uma superdosagem e o uso contínuo poderá também causar a bioacumulação no organismo do paciente. Segundo Silva et al. (2015) é importante que o profissional de saúde esteja atento ao desenvolvimento de ações que levem à sensibilização da população quanto aos riscos associados ao uso sem distinção de plantas medicinais.

Para comprovação dos resultados obtidos e maior confiabilidade dos dados, pensou-se em aplicar métodos estatísticos e obter o valor de LD<sub>50</sub>, entretanto, não obtivemos linearidade ou padrão, devido à morte inesperada dos controles. Assim, não foi possível apresentar os cálculos e resultados que determinam o valor da LD<sub>50</sub> utilizada como método de avaliação conforme a RDC N° 90, de 16 de Março de 2004, que se caracteriza pela quantidade de uma substância química que quando é administrada em uma única dose por via oral, expressa em massa da substância por massa de animal, produz a morte de 50% dos animais expostos dentro de um período de observação de 14 dias (AMARANTE et. al. 2010).

Com os resultados obtidos, observa-se que muitos fatores podem influenciar na morte dos náuplios além da toxicidade dos extratos empregados nos testes, pois tratam-se de organismos sensíveis no qual observamos mortes das mesmas nos controles e no próprio meio de cultivo dos mesmos. Alguns pesquisadores trazem ainda que diferentes condições de cultivo, como alterações de temperatura e salinidade, poderão gerar náuplios em diferentes fases de desenvolvimento. Estas diferentes fases de desenvolvimento em estado mais avançado (apenas horas a mais) são mais susceptíveis à morte que os recém eclodidos (BUENO, 2015).

E por conseguinte, é importante a divulgação para a população das informações sobre os cuidados durante a administração de plantas medicinais, pois estas sempre serão usadas nas comunidades, quer isoladamente no tratamento de determinada patologia, ou como uso complementar a medicamentos alopáticos instituídos por tratamento clínico (PINHEIRO, 2020).

## Conclusão

Com a realização desta pesquisa, foi possível observar que diversos fatores podem interferir na realização de testes de toxicidade com o bioindicador escolhido, visto que fatores como temperatura, salinidade do ambiente e eclosão dos ovos, além dos riscos de contaminações de vidrarias e substâncias presentes em laboratórios universitários de uso comum. Destaca-se também a importância para projetos futuros a realização de uma avaliação de diversos agentes que podem divergir dos resultados do teste em questão.

Portanto, este estudo trouxe ainda mais relevância a pesquisas de plantas medicinais pouco estudadas e não presentes no formulário de fitoterápicos que da mesma forma ainda são muito utilizadas pela população. Os dados encontrados sugerem que os extratos avaliados apresentam baixa toxicidade frente às larvas de *Artemia salina*, porém apesar da técnica fornecer resultados confiáveis, trata-se de uma avaliação preliminar de toxicidade, necessitando de avaliações com outras metodologias para utilização segura em humanos. Sugere-se ainda a triagem da composição química dessas espécies seria de grande valia e novos estudos devem ser realizados para caracterizar seus compostos ativos e avaliar os efeitos de cada substância sobre a *Artemia salina*.

## Agradecimentos

À Deus; às nossas orientadoras Prof<sup>o</sup> Dra. Lara Almida Zimmermann e nossa coorientadora Prof<sup>a</sup> Dra. Adrielli Tenfen Voltolini, pela dedicação e todo o auxílio no decorrer deste projeto; à nossa família e amigos que são sempre nossos maiores apoiadores, e à todos que contribuíram de alguma maneira para a execução desta pesquisa.

## Referências

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Formulário de Fitoterápicos: Farmacopeia Brasileira. **ANVISA**. Brasília-DF 2021. [\[Link\]](#)

Amarante CB, Müller AH, Póvoa MM, Dolabela MF. Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*). **ACTA AMAZONICA**. Manaus-AM 2010. [\[Link\]](#)

Almeida MZ. Plantas medicinais. 3rd ed. **EDUFBA**. Salvador, 2011. 221 p. ISBN 978 - 85-232-1216-2. [\[Link\]](#)

Bueno AC, Piovezan M. Bioensaio toxicológico utilizando *Artemia salina*: fatores envolvidos em sua eficácia. **IFSC**. Lages - SC 2015. [\[Link\]](#)

Farmacopéia brasileira. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988. (Parte I, IV-7)

Brandão ML, Cosenza G, Moreira R, Monte-Mor R. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**. 2006;16(3):408–20. [\[Link\]](#)

Lucchetti L, Teixeira DF, Barbi NS, Silva AJR. *Bidens pilosa* L. (Asteraceae). **Revista Fitos**. Rio de Janeiro. 2009. 4(2): 60-70. e-ISSN 2446-4775. [\[Link\]](#)

Marques VRB. Do espetáculo da natureza à natureza do espetáculo: boticários do Brasil Setecentista. Resgate: **Revista Interdisciplinar de Cultura**. 1998; 7(1):105–8. [\[Link\]](#)

Matos, F.J. de A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil**. 2.ed. Fortaleza: IU/UFC, 2000. 346 p.

Matsubara S, Rodriguez A. Conteúdo de Miricetina, Quercetina e Kaempferol em chás comercializados no Brasil. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 26(2): 380-385, abr.-jun. 2006. [\[Link\]](#)

Mengue SS, Mentz LA, Schenkel EP. Uso de plantas medicinais na gravidez. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Rio Grande do Sul. 2001; 11(1): 21-35. ISSN 0102-695X. [\[Link\]](#)

Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, et. al. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. **Journal of Medicinal Plant Research**. Indiana - EUA. 1982, vol. 45: 31-34. [\[Link\]](#)

Ministério da Saúde. Monografia da espécie *Bidens pilosa* (Picão-preto). Ministério da Saúde. Brasília - DF 2015. [\[Link\]](#)

Ministério da Saúde. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N° 26, de 13 de Maio de 2014. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **ANVISA**. [\[Link\]](#)

Pinheiro JAS, Alves DB, Passos XS, Maia YLM. Hepatotoxicidade de plantas medicinais e produtos herbais. **Revista Referências em Saúde da Faculdade Estácio de Sá de Goiás**. Goiânia - GO 2020. [\[Link\]](#)

Silva AB, Araújo CRF, Mariz SR, et al. Artigo original O Uso de plantas medicinais para idosos usuários de uma unidade. **Revista de Enfermagem UFPE On Line**, v. 9, p. 7636–7643, 2015.

Soares, C. V. S. B. A. A. M. Intoxicação por plantas no estado do Espírito Santo. **Infarma**, v. 20, n. 11/12, p. 8–11, 2008.

Souza DR, Rodrigues ECAMS. Medicinal plants: traditional healers' indications for the treatment of wounds. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, v. 29, n. 2, p. 197–203, 2016.

Velloso, C.C.; Peglow, K. **Plantas medicinais**. Porto Alegre: EMATER/RS-ASCAR, 2003. 72 p.

W.M.S. Russel, R.L. Burch. **The Principles of Humane Experimental Technique** **Methuen & Co.** London - UK 1959. [\[Link\]](#)