



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Fábio Souza Moura

**Prospecção Tecnológica e Avaliação do Potencial Leishmanicida de  
Extratos Pirolenhosos**

Maceió

2023

FÁBIO SOUZA MOURA

**Prospecção Tecnológica e Avaliação do Potencial Leishmanicida de  
Extratos Pirolenhosos**

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas – UFAL, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Avaliação Biológica de Substâncias Bioativas e Medicamentos.

Orientador: Prof<sup>a</sup> Dra. Aline Cavalcanti de Queiroz

Coorientador: Prof<sup>a</sup> Dra. Magna Suzana Alexandre Moreira

Maceió

2023

**Catálogo na Fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

M929p Moura, Fábio Souza.

Prospecção tecnológica e avaliação do potencial leishmanicida de extratos pirolenhosos / Fábio Souza Moura. – 2023.

95 f. : il. color.

Orientadora: Aline Cavalcanti de Queiroz.

Co-orientadora: Magna Suzana Alexandre Moreira.

Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacêuticas. Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 89-95.

1. Extrato pirolenhoso. 2. Atividade leishmanicida. 3. Prospecção tecnológica.  
4. Ensaio farmacológico. I. Título.

CDU: 615:616.993.161

## AGRADECIMENTOS

A Deus por estar sempre ao meu lado guiando os meus caminhos.

À minha mãe pelo amor incondicional.

À minha esposa Andreia por todos os momentos vividos.

À minha filha Melissa pelo amor e carinho compartilhado.

À minha prima Aldivânia pela nossa e união e confiança depositada.

À minha orientadora Profa. Dra. Aline pelos ensinamentos e orientações prestadas para o desenvolvimento desta pesquisa.

À minha coorientadora Profa. Dra. Magna pela contribuição dada para a minha formação acadêmica.

Aos meus colegas, os mestrandos: Éder Rocha e Hilda Caroline; os doutorandos: João Kaycke, Márcio Thomaz e Cibelle Cavalcante pelos momentos vividos e experiências compartilhadas no laboratório.

Aos professores Dr. Ticiano Gomes e Dra. Camila Vasconcelos e também a Dra. Amanda Evelyn por terem contribuído significativamente para o enriquecimento deste trabalho.

Aos professor João Inácio Solleti e ao pesquisador Mozart Daltro Bispo pela contribuição dada no desenvolvimento desta pesquisa.

À Universidade Federal de Alagoas por oferecer ensino público de qualidade.

E a todos os meus amigos que me proporcionam momentos de descontração para encarar com mais leveza as dificuldades do dia a dia.

## EPÍGRAFE

*“A educação é o nosso passaporte para o futuro, pois o amanhã pertence às pessoas que se preparam hoje.”*

**Malcolm X**

## RESUMO

A leishmaniose ainda é uma das doenças mais negligenciadas no mundo afetando milhões de pessoas principalmente em países pobres e subdesenvolvidos. No Brasil, essa parasitose é classificada como um problema de saúde pública de restrito arsenal terapêutico. Diante desse cenário, os extratos pirolenhosos têm chamado a atenção de muitos pesquisadores, haja vista que o seu beneficiamento pode contribuir para o desenvolvimento de entidades químicas com potencial farmacológico. Esta pesquisa teve o objetivo de realizar uma prospecção tecnológica sobre o potencial terapêutico desses extratos e avaliar a sua ação citotóxica e leishmanicida. No exercício de prospecção tecnológica foram realizadas buscas de patentes depositadas em plataformas especializadas no período de 2012 – 2022. Para o estudo experimental foram utilizados sete extratos oriundos de vegetais típicos da flora brasileira. Os ensaios foram realizados em macrófagos da linhagem J774.A1 e nas formas evolutivas de promastigota das espécies *Leishmania amazonensis* e *Leishmania chagasi*. A prospecção revelou o patenteamento de tecnologias que utilizam o extrato pirolenhoso com finalidade terapêutica. Os ensaios farmacológicos demonstraram efeitos leishmanicidas ( $100\% \pm 0,00$ ) nas formas evolutivas avaliadas. O extrato do *Pennisetum purpureum* ( $95,13\% \pm 0,09$ ) foi o que apresentou maior atividade citotóxica sobre as células dos macrófagos. Os extratos da *Mimosa tenuiflora* ( $CI_{50} - 0,01\%$ ) e da *Elaeis guineenses* ( $CI_{50} - 0,03\%$ ) foram os que demonstram as maiores potências sobre as espécies *L. amazonensis* e *L. chagasi*, respectivamente. Os resultados obtidos na prospecção tecnológica associados aos apresentados nos ensaios farmacológicos indicam que estudos precisam ser implementados com o objetivo de avaliar a segurança na utilização dos extratos pirolenhosos com finalidade terapêutica.

**Palavras-chave:** extrato pirolenhoso; leishmanicida; prospecção tecnológica; ensaio farmacológico.

## ABSTRACT

Leishmaniasis is still one of the most neglected diseases in the world, affecting millions of people mainly in poor and underdeveloped countries. In Brazil, this parasitosis is classified as a public health problem with a limited therapeutic arsenal. Given this scenario, pyroligneous extracts have drawn the attention of many researchers, given that their processing can contribute to the development of chemical entities with pharmacological potential. This research aimed to carry out a technological survey on the therapeutic potential of these extracts and evaluate their cytotoxic and leishmanicidal action. In the technological prospecting exercise, searches were carried out for patents deposited on specialized platforms in the period 2012 – 2022. For the experimental study, seven extracts from plants typical of the Brazilian flora were used. The assays were carried out in macrophages of the J774.A1 lineage and in the evolutionary forms of promastigotes of the species *Leishmania amazonensis* and *Leishmania chagasi*. The survey revealed the patenting of technologies that use the pyroligneous extract for therapeutic purposes. Pharmacological assays demonstrated leishmanicidal effects ( $100\% \pm 0.00$ ) in the evaluated evolutionary forms. The *Pennisetum purpureum* extract ( $95.13\% \pm 0.09$ ) showed the highest cytotoxic activity on macrophage cells. The extracts of *Mimosa tenuiflora* (IC<sub>50</sub> - 0.01%) and *Elaeis guineenses* (IC<sub>50</sub> - 0.03%) were the ones that showed the greatest potency on the species *L. amazonensis* and *L. chagasi*, respectively. The results obtained in the technological prospecting associated with those presented in the pharmacological tests indicate that studies need to be implemented with the objective of evaluating the safety in the use of pyroligneous extracts for therapeutic purposes.

**Keywords:** pyroligneous extract; leishmanicidal; technological prospecting; pharmacological test.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Distribuição geográfica das Doenças Tropicais Negligenciadas.
- Figura 2 Classificação taxonômica da *Leishmania* e suas manifestações clínicas.
- Figura 3 Formas evolutivas de *Leishmania* spp. (A) Forma promastigota (B) Forma amastigota
- Figura 4 Ciclo de vida dos flebotomíneos com metamorfose completa.
- Figura 5 Ciclo evolutivo do parasito.
- Figura 6 Resposta Imune à infecção por *Leishmania* spp.
- Figura 7 Formas clínicas das leishmanioses: A) Leishmaniose visceral; B) Leishmaniose cutânea; C) Leishmaniose mucocutânea; D) Leishmaniose cutânea difusa.
- Figura 8 Número de casos de leishmaniose cutânea/mucosa em sub-regiões e países das Américas, 2001 – 2020.
- Figura 9 Estratificação do risco de leishmaniose visceral (A) e tegumentar (B) no Brasil, 2017 – 2019.
- Figura 10 Estruturas químicas dos principais fármacos preconizados pelo MS para o tratamento das leishmanioses.
- Figura 11 Esquema ilustrativo das etapas envolvidas no processo de P&D de novos fármacos.
- Figura 12 Etapas de produção do extrato pirolenhoso.



## LISTA DE QUADROS

- |          |   |
|----------|---|
| Quadro 1 | Classificação clínica das leishmanioses e suas espécies causadoras. |
| Quadro 2 | Problemas encontrados no tratamento das leishmanioses.              |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DTN	Doenças Tropicais Negligenciadas
EP	Extrato Pirolenhoso
GTP	Guanosina trifosfato
ICL	Índice Composto de Leishmaniose
IFN- $\gamma$	Interferon gama
IL – 10	Interleucina – 10
IL – 12	Interleucina – 12
LC	Leishmaniose Cutânea
LMC	Leishmaniose Mucocutânea
LT	Leishmaniose Tegumentar
LV	Leishmaniose Visceral
MS	Ministério da Saúde
OPAS	Organização Panamericana de Saúde
OPS	Organización Panamericana de la Salud
TNF- $\alpha$	Fator de Necrose Tumoral - Alfa
WHO	World Health Organization

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	12
<b>2 OBJETIVOS</b>	14
2.1 Objetivo Geral	14
2.2 Objetivos Específicos	14
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b>	15
3.1 Doenças Tropicais Negligenciadas	15
3.2 Aspectos Gerais da Leishmaniose	17
3.2.1 Agente Etiológico e Vetor da Leishmaniose	19
3.2.2 Ciclo de Biológico	21
3.2.3 Imunopatogênese	22
3.2.4 Classificação Clínica	24
3.2.5 Epidemiologia da Leishmaniose	27
3.2.6 Farmacoterapia	30
3.3 Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) de Novos Fármacos	32
3.4 Extratos Pirolenhosos	34
<b>4 PRODUTOS</b>	37
4.1 Extratos pirolenhosos com ação terapêutica: uma prospecção tecnológica	38
4.2 Avaliação do potencial leishmanicida dos extratos pirolenhosos	73
<b>CONCLUSÕES</b>	87
<b>REFERÊNCIAS</b>	88
<b>ANEXO</b>	95

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças tropicais negligenciadas correspondem a um grupo heterogêneo de enfermidades infecciosas que afeta as populações menos favorecidas, levando a perda de produtividade e contribuindo para o agravamento da situação de pobreza (LUNA; CAMPOS, 2020).

Essas doenças apesar de não serem exclusivas de países subdesenvolvidos despertam pouco interesse pelas grandes indústrias farmacêuticas, já que não conseguem alcançar o grande mercado consumidor dos países ricos. Hoje mais de um bilhão de pessoas vivem em áreas endêmicas para leishmaniose com risco de infecção (WHO, 2022). No Brasil, a leishmaniose é classificada como uma doença negligenciada devido ao seu perfil epidemiológico, aos dados demográficos apresentados e ao impacto da doença nas populações (SOUSA, 2019).

As leishmanioses são causadas por protozoários do gênero *Leishmania*. São transmitidas aos humanos pela picada de pequenos dípteros da subfamília Phlebotominae, conhecidos popularmente como mosquito palha, birigui, tatuquira, asa branca, caravela, entre outros (OVALLOS *et al*, 2020).

As três principais formas da doença são: a leishmaniose cutânea (LC) ou tegumentar (LT), a leishmaniose visceral (LV), também conhecida como calazar e a leishmaniose mucocutânea (LMC). A LC é mais comum, a LV é mais grave e a LMC é forma mais incapacitante da doença (WHO, 2022).

Atualmente a terapêutica contra a leishmaniose baseia-se em cinco fármacos: os antimoniais pentavalentes, a anfotericina B e sua forma lipossômica, a miltefosina, a paromomicina e a pentamidina. Esses compostos apresentam elevada toxicidade e a necessidade de um tempo prolongado de administração por via parenteral, exceto a miltefosina que é administrada por via oral (SANTIAGO, 2021).

Diante desse cenário, os extratos pirolenhosos, através do seu beneficiamento, podem contribuir para o desenvolvimento de novos compostos químicos com potencial farmacológico. Associado a isso, a sua utilização pode

contribuir para uma redução nas emissões gasosas provenientes da combustão da biomassa vegetal (VIEIRA *et al*, 2015).

Dado o exposto, pode-se evidenciar a necessidade de tratamentos mais eficazes e seguros, a fim de melhorar a adesão terapêutica, refletindo no sucesso da ação medicamentosa. Diante disso, o presente estudo visa a investigar o potencial terapêutico dos extratos através de uma prospecção tecnológica e avaliar sua atividade leishmanicida frente as formas evolutivas de promastigas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania chagasi*. Os extratos utilizados nessa pesquisa foram produzidos no LASSOP/UFAL – Laboratório de Sistema de Separação e Otimização de Processos da Universidade Federal de Alagoas – pelo Prof. Dr. João Inácio Soletti e colaboradores.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Realizar uma prospecção tecnológica sobre o potencial terapêutico dos extratos pirolenhosos e avaliar sua ação citotóxica e leishmanicida.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Realizar uma prospecção tecnológica nas principais plataformas de patentes sobre a ação terapêutica dos extratos pirolenhosos.
- Determinar a citotoxicidade de extratos pirolenhosos provenientes do bioma brasileiro em macrófagos da linhagem J774.A1 (célula hospedeira para parasitos do gênero *Leishmania*).
- Avaliar a ação dos extratos pirolenhosos sobre as formas evolutivas de promastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania chagasi*.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 Doenças Tropicais Negligenciadas

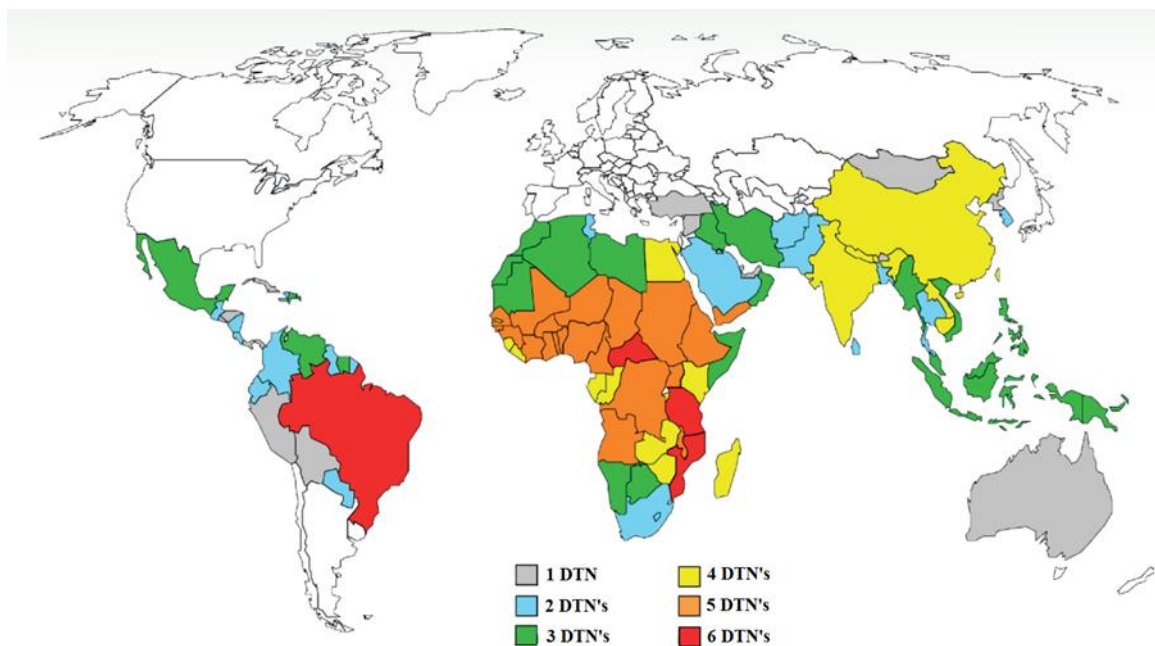
As Doenças Tropicais Negligenciadas (DTN) constituem um grupo de enfermidades que afeta mais de 1,7 bilhão de pessoas em todo mundo. Atinge, prevalentemente, as populações mais empobrecidas, não desperta o interesse comercial da indústria farmacêutica e, por isso, não enseja os esforços necessários para a Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) de novos medicamentos (FERES; SILVA, 2022).

Nessa conjuntura se faz necessário enfatizar os Determinantes Sociais da Saúde que abrangem fatores de ordem socioeconômica, culturais, étnicos e psicológicos, definindo o padrão de ocorrência de problemas de saúde da população. O reconhecimento desses determinantes é fundamental para o enfrentamento das enfermidades negligenciadas, devendo haver uma redução das desigualdades sociais e econômicas (CARVALHO; KEDE, 2022).

A Organização Panamericana de Saúde tem a meta de erradicar cerca de 30 DTN's até o ano de 2030. Vários países do continente americano já conseguiram êxito na eliminação dessas doenças em seu território. Colômbia, Equador, Guatemala e México conseguiram extinguir os casos de oncocercose; Costa Rica, Suriname e Trinidad e Tobago eliminaram a filariose linfática (OPAS, 2021).

A figura 1 demonstra a distribuição das DTN's nos cinco continentes, classificando o quantitativo por país. Conforme expresso na figura, as DTN's estão presentes em praticamente todos os países da América Latina e África e em grande parte da Ásia e Oceania com exceção para Austrália e Nova Zelândia (CDC, 2022).

Figura 1 – Distribuição geográfica das DTN's



Fonte: Adaptado de FIOCRUZ, 2019.

Países do hemisfério norte – desenvolvidos – são poupados praticamente em sua totalidade, ratificando a característica de desigualdade socioeconômica presente na epidemiologia dessas doenças quando comparados aos países do hemisfério sul (VASCONCELOS *et al*, 2016).

No Brasil, atualmente, a leishmaniose é um problema de saúde pública pela capacidade de provocar epidemias, a ampla distribuição geográfica e a complexidade para o seu controle, que é inerente as parasitoses que possuem várias espécies de vetores, diferentes agentes etiológicos e variados reservatórios (OVALLOS *et al*, 2020).



### 3.2 Aspectos Gerais da Leishmaniose

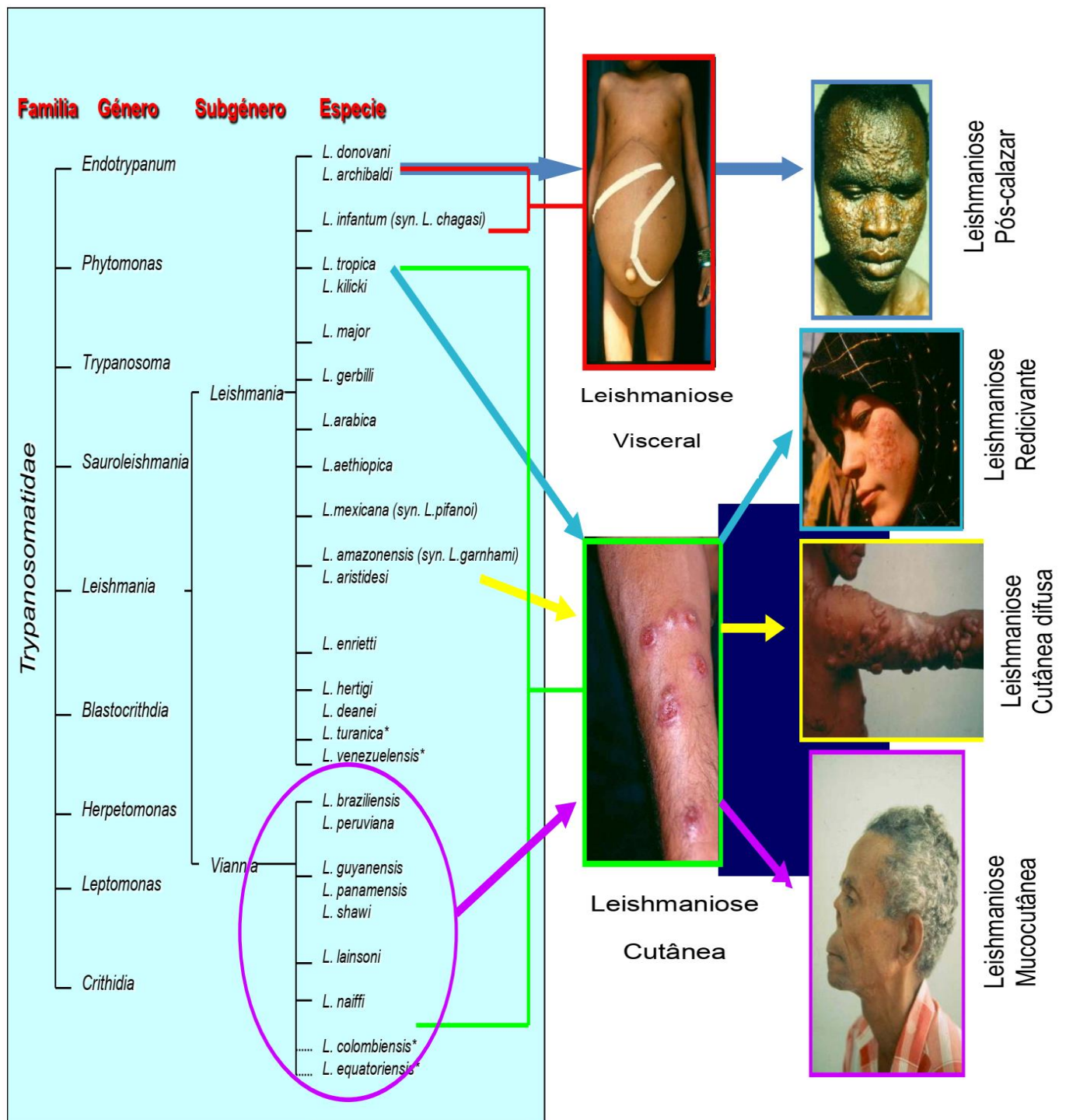
A leishmaniose é uma doença tropical causada por um parasito intracelular, protozoário do gênero *Leishmania*, subdividido nos subgêneros *Leishmania* e *Viannia*, sendo possível identificá-los de acordo com o local de desenvolvimento no interior do intestino do vetor (OVALLOS *et al*, 2020).

A apresentação clínica da doença depende da complexidade de interação do parasito com o sistema imunológico do hospedeiro. Existem dois tipos de classificação da leishmaniose segundo a localização geográfica: a “velho mundo” que se concentra na Ásia, África, na região do mediterrâneo e no Oriente Médio e a “novo mundo” que se concentra na América Central, América do Sul e no sul do Texas (BLANCO; NASCIMENTO - JÚNIOR, 2017).

Taxonomicamente fazem parte do Reino Protozoa, Filo Euglenozoa, pertencem a Ordem Kinetoplastida, Família Trypanosomatidae, que também engloba o gênero *Trypanosoma* e mais oito gêneros sendo agrupados em nove complexos (CARVALIER – SMITH, 1998; BAÑULS *et al*, 2007).

No Brasil têm sido registrado espécies agentes da LV, incluindo a *L. (Leishmania) infantum*, assim como as principais espécies associadas à ocorrência das formas dermatópicas: *L. (Viannia) braziliensis*, *L. (Viannia) guyanensis* e *L. (Leishmania) amazonensis* (OVALLOS *et al*, 2020).

Figura 2 – Classificação taxonômica da *Leishmania* e suas manifestações clínicas.

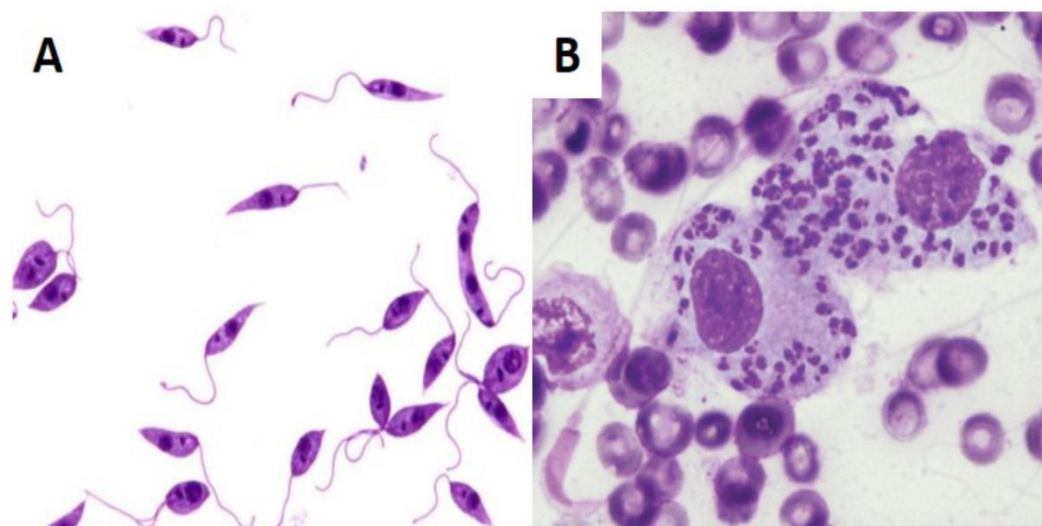


Fonte: ALVAR *et al*, 2006

### 3.2.1 Agente Etiológico e Vetor da Leishmaniose

A leishmaniose é uma doença transmitida por vetores denominados flebotomíneos e causada por protozoários intracelulares obrigatórios do gênero *Leishmania*. A infecção humana é causada por mais de 20 espécies, sendo morfológicamente indistinguíveis, mas podem ser diferenciadas por análise de isoenzimas, métodos moleculares ou anticorpos monoclonais (CDC 2022). A figura 3 apresenta as duas formas evolutivas do ciclo de vida da *Leishmania* ssp.

Figura 3 – Formas evolutivas de *Leishmania* ssp. (A) Forma promastigota. (B) Forma amastigota.

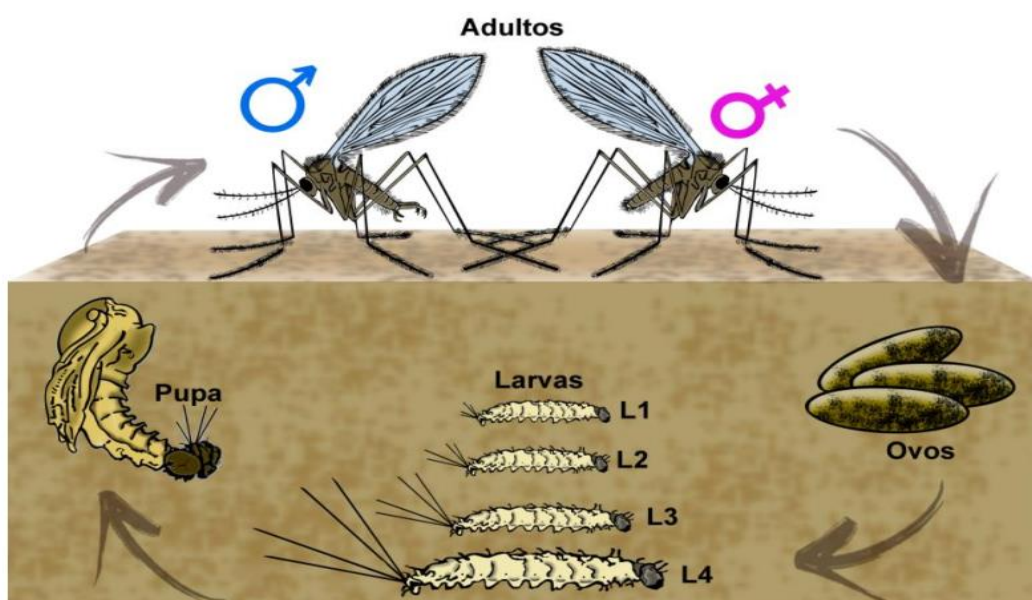


Fonte: MARTINS, 2016

Todas as espécies de *Leishmania* se desenvolvem como promastigota; forma infecciosa, com flagelos, extracelulares e medindo entre 10 e 15 $\mu$ m. A outra forma evolutiva é a amastigota; forma esférica, não flagelada, medindo entre 2 e 3 $\mu$ m e que se localizam no interior dos macrófagos do hospedeiro (MANS *et al*, 2016).

Os flebotomíneos são considerados importantes para a saúde pública em todo o mundo, especialmente nas regiões tropicais e subtropicais. São insetos hematófagos que medem de 2 a 3 milímetros de comprimento, apresentam cor amarelada ou acinzentada e suas asas permanecem abertas quando estão em repouso. São fontes de infecção para leishmaniose por apresentarem o parasito em seu tubo digestivo (BRASIL, 2021). O ciclo biológico do hospedeiro invertebrado é representado na figura 4.

Figura 4 – Ciclo de vida dos flebotomíneos com metamorfose completa.



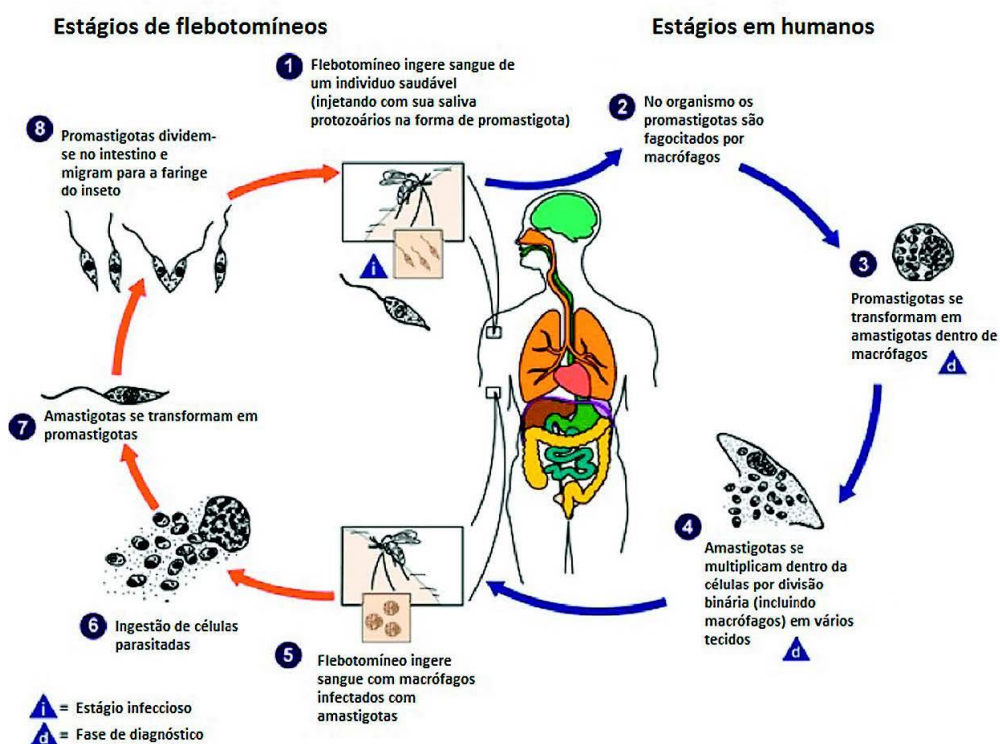
Fonte: SOUSA, 2018

O ciclo de vida passa por quatro fases: ovos, larvas, pupas e adultos (com asas). A duração do ciclo evolutivo pode variar, em média, entre 30 e 45 dias, dependendo da espécie e da influência das condições de temperatura, umidade e disponibilidade de alimento. As fêmeas podem colocar de 40 a 100 ovos, variando de acordo com a espécie. Em geral, realizam apenas uma oviposição ao longo da vida, estudos apontam que, em condições experimentais, os insetos adultos podem viver entre 20 e 30 dias (FIOCRUZ, 2022).

### 3.2.2 Ciclo Biológico

As leishmanioses são transmitidas aos hospedeiros mamíferos pela picada de insetos que se alimentaram previamente em um reservatório infectado (RYAN *et al*,1987; MANNAN *et al*, 2021). A transmissão ocorre por insetos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) através da picada durante a alimentação sanguínea. Apresentam variações cíclicas de incidência e prevalência da parasitose, as quais são influenciadas por fatores bióticos e abióticos, responsáveis pelas flutuações nas populações de flebotomíneos (ANVERSA *et al*, 2018; LACERDA *et al*, 2021). A figura 5 expressa o ciclo evolutivo do parasito no hospedeiro invertebrado (flebotomos) e hospedeiro vertebrado.

Figura 5 – Ciclo evolutivo do parasito.



Fonte: Disponível em <http://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html>

Conforme demonstrado na figura 5, as formas promastigotas presentes nas glândulas salivares das fêmeas dos flebótomos são inoculadas na junção derme – epiderme do hospedeiro vertebrado durante o repasto sanguíneo. Nesse local ocorre a fagocitose dos parasitos que irão se transformar em amastigotas no interior das células do Sistema Fagocitário Mononuclear - SFM, entre elas o macrófago. No interior dessas células as amastigotas multiplicam-se por divisão binária, provocando o rompimento das células hospedeiras e a sua liberação para o meio extracelular, durante um novo repasto sanguíneo as fêmeas dos flebotomíneos ingerem células parasitadas pela forma amastigota que no interior do seu tubo digestivo evoluem novamente para a forma evolutiva de promastigota, dando continuidade ao ciclo (CONCEIÇÃO-SILVA; ALVES, 2014).

### 3.2.3 Imunopatogênese

A imunidade celular é o principal mecanismo de defesa do hospedeiro contra os parasitos do gênero *Leishmania*. Os anticorpos e o sistema complemento podem destruir o parasito, agindo por meio da imunidade humoral. O controle da infecção por leishmaniose se faz por uma cascata de sinalização complexa e nelas estão incluídas células do sistema imune inato como os macrófagos, monócitos, neutrófilos, além dos linfócitos T CD4<sup>+</sup> da imunidade adaptativa, incluindo os seus subgrupos Th1 e Th2. O sistema imunológico pode atuar de maneiras diferentes, dependendo das espécies de *Leishmania* (OLIVEIRA *et al*, 2021).

A resposta imunitária à *Leishmania* é iniciada no local de entrada do parasito através das células sentinelas, incluindo células dendríticas e macrófagos, onde as formas promastigotas metacíclicas de *Leishmania* spp. são interiorizadas por fagocitose, formando um fagossomo que se une com lisossomos para formar um fagolisossomo (FREITAS; PINHEIRO, 2010). Os macrófagos ativados em função da interação com o parasito passam a produzir óxido nítrico, além da produção de espécies reativas de oxigênio que são



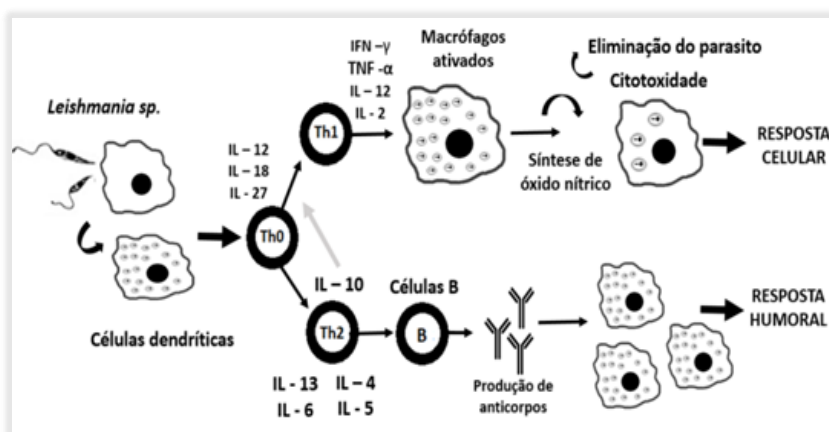
mediadas pelo interferon – gama (IFN- $\gamma$ ), sendo todo esse conjunto essencial para eliminar o parasito intracelular (OLIVEIRA *et al*, 2021).

Na leishmaniose cutânea e na leishmaniose mucosa, uma intensa resposta tipo 1, com alta produção de IFN- $\gamma$ , fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), citocinas Th1 e Interleucina 12 (IL-12) é observada. Em contraste, a imunidade humoral relacionada à resposta das células Th2 está associada à persistência de organismos intracelulares. Portanto, a resposta imune Th1 seria adequada e eficaz para destruir o parasito e promover a cura clínica. (CARVALHO *et al*, 2005; RIBEIRO *et al*, 2021).

A imunopatogênese da LV é caracterizada por uma imunidade celular deprimida e resposta imune Th1 diminuída. Além disso, a LV está associada ao aumento da produção de múltiplas citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias. O desenvolvimento da infecção pode desencadear várias mudanças no perfil da expressão gênica, incluindo microRNAs (MENEZES *et al*, 2022).

Pacientes acometidos pela LV, com sintomas clínicos, apresentam comprometimento da produção de IL-2, IFN- $\gamma$  e IL-12 por meio de células T específicas, além de também apresentarem elevação de mediadores anti-inflamatórios como a IL-10, que auxilia na multiplicação do parasito e pode interferir no controle da infecção (RODRIGUES *et al*, 2016). A figura 6 ilustra de forma resumida a resposta imune frente à infecção pelo parasito.

Figura 6 – Resposta Imune à infecção por *Leishmania* spp.



Conforme representado na figura 6, é possível constatar que o combate a leishmaniose se faz através do Sistema Imune Inato e Adaptativo. A imunidade celular elimina o parasito através da produção de espécies reativas de oxigênio, já a imunidade adaptativa atua por meio da ação de anticorpos. A LT e a LV, compartilham do mesmo mecanismo inato, correspondente ao confinamento do parasito pela atuação dos neutrófilos, monócitos e natural killer (OLIVEIRA, 2021).

### **3.2.4 Classificação Clínica**

As leishmanioses são um conjunto de enfermidades que se dividem em LT, que ataca a pele e as mucosas, e a LV que ataca os órgãos internos. As diversidades de espécies de *Leishmania*, associada à capacidade de resposta imunitária do indivíduo a infecção, está relacionada com as várias formas clínicas das leishmanioses (FIOCRUZ, 2022).

A maioria das pessoas que se infectam com o parasito não desenvolve nenhum sintoma durante a vida. Portanto, o termo leishmaniose refere-se à condição de adoecer por uma infecção por *Leishmania*, e não por estar infectado com o parasito (WHO, 2022). O quadro 1 apresenta a associação entre a forma clínica e o agente etiológico.



Quadro 1 – Classificação Clínica das leishmanioses e suas espécies causadoras

FORMA CLÍNICA	ESPÉCIES DE <i>LEISHMANIA</i>
Leishmaniose Cutânea	<i>L.(L.) amazonensis</i> , <i>L.(L.) mexicana</i> , <i>L.(L.) major</i> , <i>L.(L.) tropica</i> , <i>L.(L.) aethiopica</i> , <i>L.(V.) braziliensis</i> , <i>L.(V.) guyanensis</i> , <i>L.(V.) panamensis</i>
Leishmaniose Cutânea Difusa	<i>L.(L.) amazonensis</i> , <i>L.(L.) mexicana</i>
Leishmaniose Mucosa	<i>L.(V.) braziliensis</i> , <i>L.(V.) guyanensis</i>
Leishmaniose Visceral	<i>L.(L.) donovani</i> , <i>L.(L.) infantum</i> , <i>L.(L.) chagasi</i>

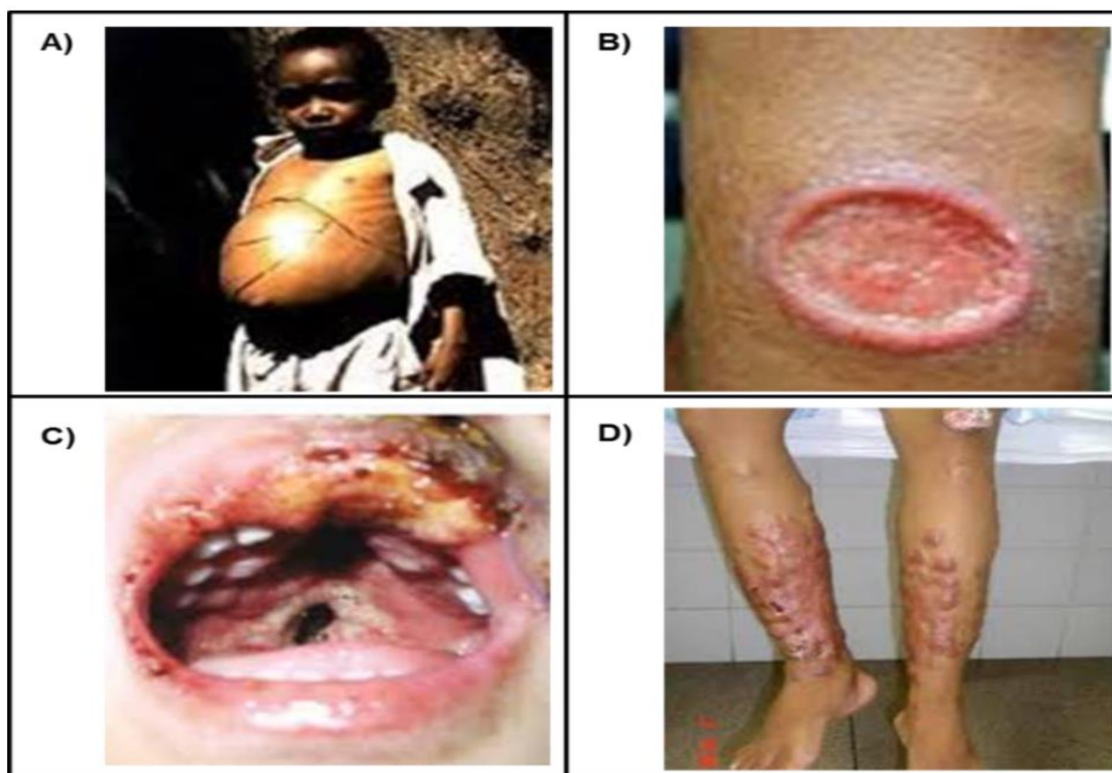
Fonte: Adaptado de BLASI, 2016

A LT é mais frequente do que a doença visceral e é caracterizada na sua forma clássica pela presença de úlcera bem delimitada de bordas elevadas. Na LT causada por *L. braziliensis*, estudos recentes têm mostrado que dias ou semanas antes do aparecimento da lesão cutânea ocorre aumento de glânglios linfáticos, próximo ao local de inoculação do parasito. A linfadenopatia é não dolorosa ou com dor leve e linfonodos com diâmetro maior que 5 cm são facilmente documentados. A LT merece atenção especial no Brasil, tendo em vista os seus complexos agravos dermatológicos e psicológicos que interferem no âmbito social e econômico (LESSA *et al*, 2007; BRASIL, 2021).

A *L.(L.) chagasi* é o protozoário causador da LV nas Américas. A maioria dos casos de LV são infecções assintomáticas ou oligossomáticas, cujos sintomas são moderados ou transitórios, sendo caracterizado por diarréia, tosse seca, adinamia, febrícula, sudorese e hepatoesplenomegalia discreta; podendo ou não evoluir para a forma clássica da doença. O calazar clássico é caracterizado por febre, hepatoesplenomegalia, com esplenomegalia pronunciada e volumosa; perda de peso, distensão abdominal; na forma tardia da doença, os pacientes podem apresentar edema e ascite (PASTORINO; *et al*, 2002; JÚNIOR *et al*; 2016).

Leishmaniose mucosa é caracterizada como uma lesão secundária por atingir especialmente a orofaringe, com o envolvimento do septo cartilaginoso e outras demais áreas relacionadas; e por fim, a forma cutânea difusa, que a princípio aparece de forma enganosa com uma lesão única, mas que depois evolui, resultando em formações de placas e múltiplas nodulações não ulceradas que recobrem uma grande parte das extensões cutâneas (LIMA, 2017). A figura 7 ilustra as principais formas clínicas causadas pela leishmaniose.

Figura 7 – Formas Clínicas das leishmanioses: A) leishmaniose visceral; B) leishmaniose cutânea; C) leishmaniose mucocutânea; D) leishmaniose cutânea difusa.



Fonte: BLASI, 2016

A manifestação clínica da leishmaniose ocorre com um espectro muito grande de sintomas, desde assintomático à forma letal. A forma com que é apresentada depende de vários fatores como o vetor da doença, o sistema imunológico do paciente, a idade, o estado nutricional e outros fatores genéticos (KEVRIC, 2015).

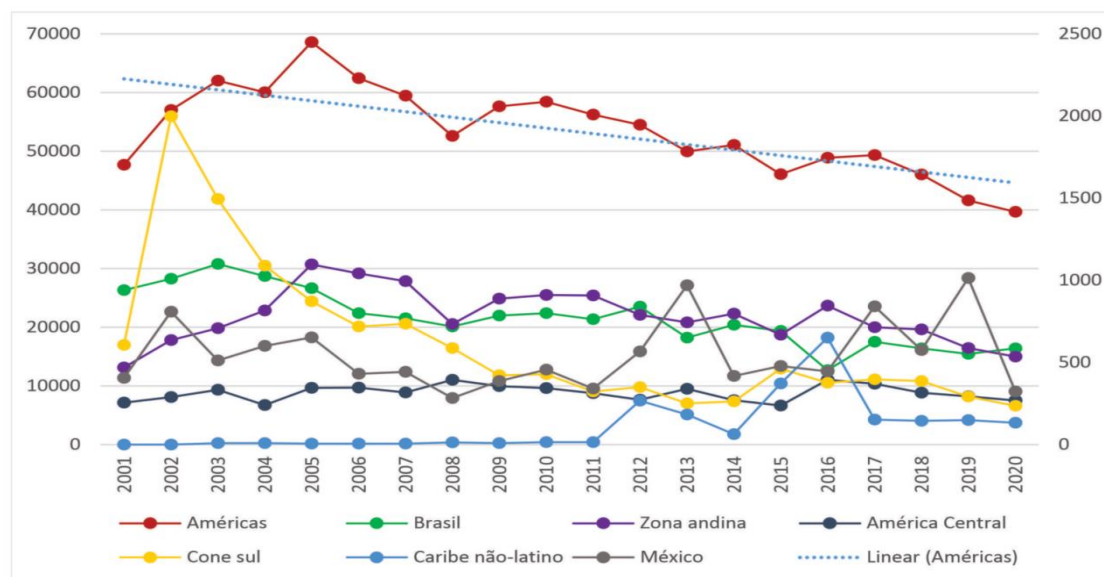
### 3.2.5 – Epidemiologia da leishmaniose

A leishmaniose ainda é uma das doenças mais negligenciadas do mundo, afetando principalmente os mais pobres nos países em desenvolvimento. Estima-se que aproximadamente 350 milhões de pessoas vivem em risco de contrair a leishmaniose, ocorrendo cerca de 2 milhões de novos casos todos os anos (WHO, 2022).

A LV é endêmica em mais de 40 países, principalmente no subcontinente indiano e no leste da África. Anualmente há entre 200 a 400 mil novos casos de calazar. Especialistas afirmam que o controle adequado da leishmaniose em todo mundo é viável com o aumento da acessibilidade aos tratamentos medicamentosos e as ferramentas de diagnósticos laboratoriais (WHO, 2022).

A alta incidência e a ampla distribuição geográfica nas américas continua sendo um desafio para os programas nacionais e regionais de combate a leishmaniose, pois requerem esforço técnico, operacional e político para manter o desenvolvimento sistemático da vigilância e controle dessa doença (OPS, 2018). A figura 08 expressa os casos de leishmaniose no continente americano no período compreendido entre 2001 a 2020.

Figura 8 – Número de casos de leishmaniose cutânea/mucosa em sub-regiões e países das Américas, 2001 – 2020.

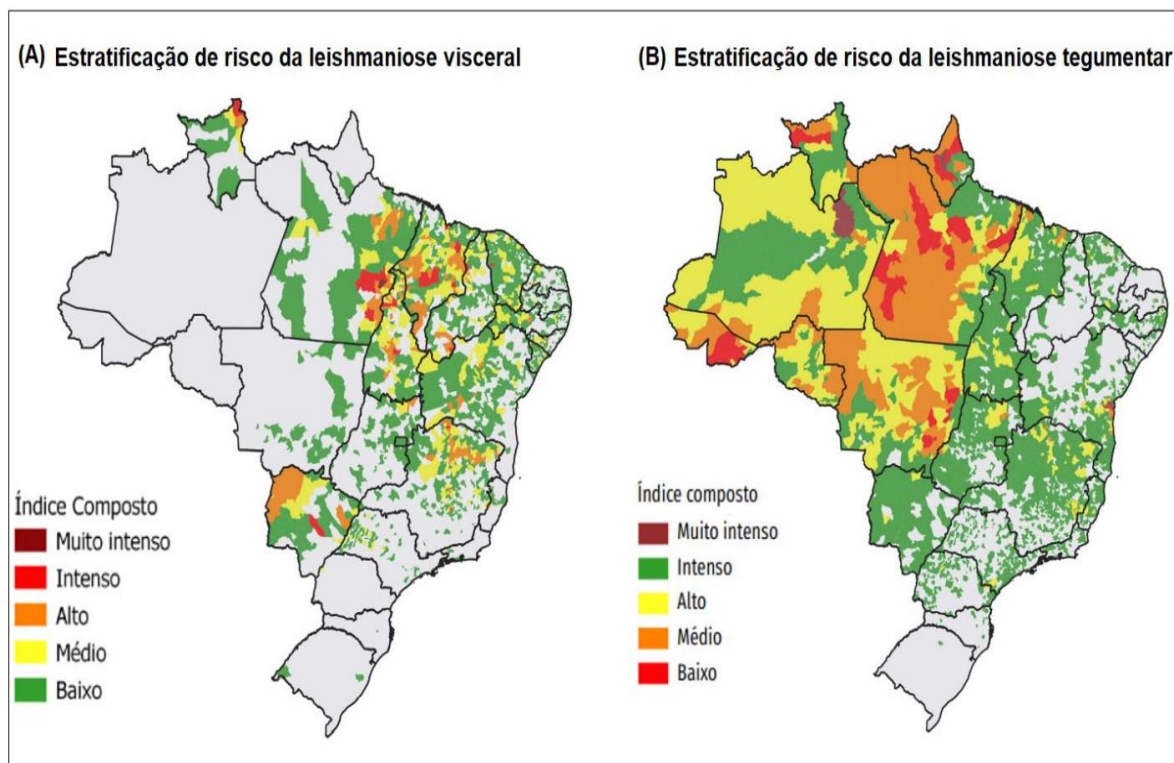


Nota: Região das Américas, América Central, Brasil e Zona Andina no eixo esquerdo; Cone Sul, Caribe não latino e México no eixo direito. Fonte: OPAS, 2021

A figura 8 apresenta uma tendência de declínio no número de casos ao longo dos anos. Em 2020 os países que mais notificaram foram Brasil (16.432), Colômbia (6.161), Peru (4.178), Nicarágua (3.443) e Bolívia (2.059), que juntos representam 81% dos casos da região. Alguns países apresentaram uma redução no número de casos por 100.000 habitantes, como El Salvador (8,21), Colômbia (23,34), Guiana (2,09) e México (5,81), ou seja, uma redução na incidência de 83%, 75%, 63% e 56%, respectivamente. Esta significativa redução pode estar relacionada à interrupção total ou parcial das atividades de vigilância e assistência em decorrência da pandemia por COVID - 19 (OPAS 2021).

No Brasil, desde 2017, a classificação epidemiológica das LT e LV são realizadas de acordo com a proposta da OPAS que desenvolveu o Índice Composto de Leishmaniose (ICL) para classificar as áreas de transmissão em cinco estratos (muito intenso, intenso, alto, médio e baixo). Esse indicador leva em consideração o número absoluto de casos novos e a taxa de incidência dos últimos três anos (BRASIL, 2021). A figura 9 expressa o nível de transmissão no território brasileiro da LV e LT de 2017 a 2019.

Figura 9 – Estratificação do risco de leishmaniose visceral (A) e tegumentar (B) no Brasil, 2017 – 2019.



Fonte: Sinan / Ministério da Saúde (BRASIL, 2021).

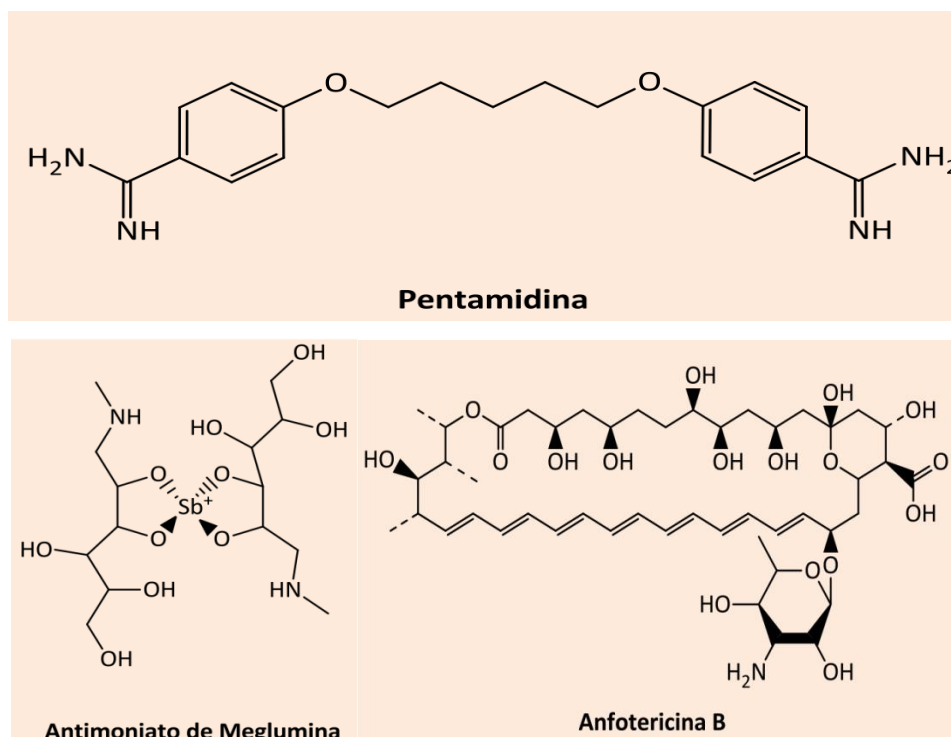
Na região Norte do país ocorre o predomínio de casos de LT, já o Nordeste apresenta um alto índice de casos notificados de LV, o que coloca a região em destaque no tocante a epidemiologia da doença. O estado de Alagoas, por sua vez, ganha relevância em função da constante notificação desses agravos com relação ao tamanho de sua população e território, o que caracteriza uma área endêmica de leishmaniose (ROCHA *et al*, 2015).

Um estudo realizado por BISPO *et al* (2022) observou que os casos de leishmanioses se encontram distribuídos por todo território alagoano, com heterogeneidade espacial para LV e LT, concentrando-se na população com menor grau de escolaridade, sexo masculino, havendo uma distinção apenas referente a faixa etária, em que os indivíduos acometidos por LV eram crianças e a população em idade ativa foram os mais acometidos por LT, essa característica pode ser atribuída a resposta imunológica do indivíduo acometido, onde as crianças são mais susceptíveis a forma mais grave da doença.

### 3.2.6 Farmacoterapia

Os medicamentos ultimamente preconizados pelo Ministério da Saúde (MS) para o tratamento da leishmaniose LT e LV são o antimoníato de meglumina, isetionato de pentamidina e anfotericina B (desoxicolato e liposomal). Além desses medicamentos foi incorporada a pentoxifilina como opção terapêutica para os casos de leishmaniose mucosa, em associação com o antimoníato de meglumina (SOUSA, 2019).

Figura 10 – Estruturas químicas dos principais fármacos preconizados pelo MS para o tratamento das leishmanioses



Fonte: Adaptado de BASTOS *et al*, 2016

Atualmente o antimoníato de meglumina tem sido utilizado como medicamento de primeira escolha. O tratamento necessita de três semanas, onde o paciente recebe 20mg/kg/dia, sendo aplicado por via intramuscular ou intravenosa. Os efeitos colaterais vão desde dor no local de aplicação da injeção, ao mais grave, cardiotoxicidade (BLANCO; NASCIMENTO – JÚNIOR, 2017).

A ação do medicamento consiste na inibição da glicólise e da oxidação de ácidos graxos em organelas peculiares, sendo que esta inibição é seguida da redução na fabricação de adenosina (ATP) e guanosina trifosfato (GTP) no parasito (FERREIRA *et al*, 2012).

A anfotericina B é considerada como fármaco de segunda escolha quando não se obtém resposta ao tratamento com antimonial pentavalente ou na impossibilidade de seu uso. É contra-indicada a administração em cardiopatas, hepatopatas e especialmente, nefropatas. Os efeitos adversos mais frequentes são febre, náusea, vômito, hipopotassemia e flebite no local da infusão. As formulações lipossomais promovem uma diminuição da absorção da anfotericina B pelos rins diminuindo com isso a sua toxicidade. São indicadas para pacientes com hipersensibilidade ao antimonial pentavalente ou que apresentem alguma disfunção renal, cardíaca ou hepática; além de outros critérios estabelecidos pelo Ministério da Saúde. (RATH *et al* 2003; COMANDOLLI – WYREPKOWSKI *et al*, 2020).

O tratamento recomendado é por via intravenosa na dose de 3 a 5mg/kg/dia, geralmente sendo 7 doses, mas podendo variar de 2 a 10 doses. O seu mecanismo de ação está relacionado com a interação do fármaco ao ergosterol presente na membrana celular do parasito, ocasionado a formação de poros e conseqüentemente alterando o balanço iônico e a permeabilidade celular (NEVES *et al*, 2011; COMANDOLLI – WYREPKOWSKI *et al*, 2020).

A pentamidina também é utilizada como medicamento de segunda linha no tratamento, sendo muito aceito por países da América do Sul e África, devido ao seu custo mais baixo do que, por exemplo, a anfotericina B, e possuindo efeitos colaterais menos severos. O mecanismo de ação está relacionado com a inibição síntese de ácido nucleico do parasito, além de inibir o funcionamento de outras enzimas. O tratamento usualmente leva 3 semanas com um total de 300mg do medicamento (BLANCO; NASCIMENTO – JÚNIOR, 2017). O quadro 2 apresenta os principais efeitos adversos apresentados na terapia contra a leishmaniose.

Quadro 2 – Problemas encontrados no tratamento das leishmanioses.

<b>FÁRMACOS UTILIZADOS</b>	<b>PROBLEMAS ENCONTRADOS</b>
Antimoniais pentavalentes	Alto índice de resistência do parasito; necessidades de altas doses; administração via parenteral; toxicidade renal e cardíaca.
Anfotericina B	Alto custo; administração via parenteral; eficaz apenas para LV.
Pentamidina	Toxicidade renal e hepática

Adaptado de SILVA; NICOLETTI, 2013.

Novos fármacos anti-*Leishmania* capazes de reduzir a carga parasitária em áreas endêmicas são necessárias (BAPELA; KAISER; MEYER, 2017). Entretanto, apesar da pesquisa contínua de ativos contra as doenças negligenciadas a partir de fontes naturais, poucas são derivadas de plantas (SANDJO *et al*, 2016). Essa lacuna tem aumentando o interesse nos estudos de produtos naturais utilizados tradicionalmente, visto que a medicina popular é uma fonte de substâncias potencialmente úteis para o desenvolvimento de novos quimioterápicos, com melhor atividade e menos efeitos colaterais (HUBERT *et al*, 2013).

### 3.3 P&D de Novos Fármacos

A prospecção tecnológica tem grande importância para o desenvolvimento de tecnologias que preencham as lacunas existentes nos tratamentos medicamentosos atualmente disponíveis. O processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos é complexo, longo e de alto custo, tendo as suas raízes profundamente ligadas às inovações científicas e tecnológicas (GUIDO *et al*, 2010; SILVA *et al*, 2016).



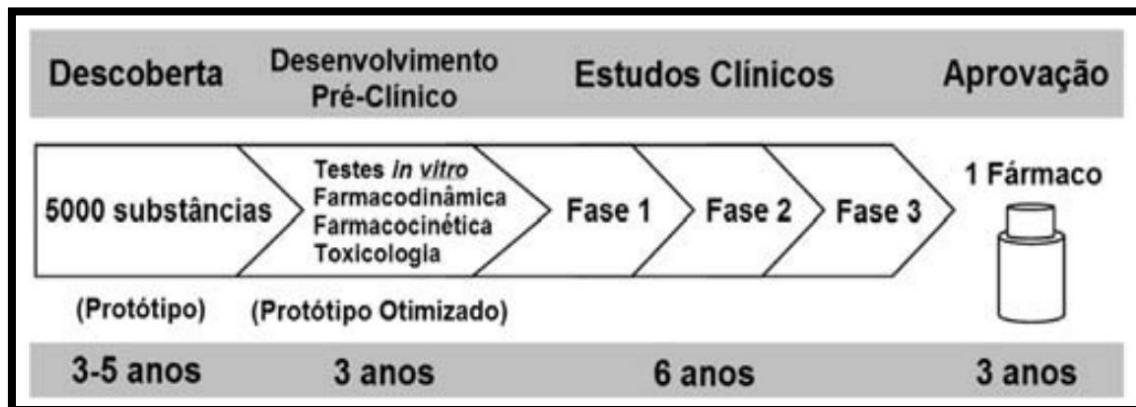
Os avanços expressivos da química, da biologia molecular e a melhor compreensão de vias bioquímicas, alvos moleculares e de mecanismos que levam ao aparecimento e desenvolvimento de doenças, tornaram possível a descoberta de inovações terapêuticas notáveis, proporcionando melhorias significativas na qualidade de vida das diversas populações do mundo. No entanto existem conflitos de interesse no desenvolvimento de fármacos, podendo influenciar negativamente na descoberta de novos medicamentos e afetando diretamente a saúde das populações (FABBRI *et al*, 2020).

O desenvolvimento de um novo fármaco é realizado em várias etapas ou estágios (Figura 11) que podem ser divididos em: (1) descoberta de um composto com atividade terapêutica; (2) estudos pré-clínicos e (3) estudos clínicos. Introduzir um novo fármaco na terapêutica é um processo que dura cerca de 15 anos em média, com pequena probabilidade de sucesso (FERREIRA *et al*, 2009).

Como alternativa à busca e ao desenvolvimento de novos medicamentos destacam-se os produtos derivados da biodiversidade. Estes representam não apenas uma alternativa a ampliação de opções terapêuticas eficazes, seguras e a preços acessíveis, mas também uma janela de oportunidade para a P&D de produtos com variadas indicações terapêuticas, devido ao alto potencial para inovações radicais e incrementais e capacidade de geração de riqueza (COSTA-LOTUFO *et al*, 2009; BOLZANI, 2016; HASENCLEVER, 2017).

A indústria farmacêutica representa o principal setor investidor das etapas de ensaios pré-clínicos e clínicos no processo de P&D de fármacos, o que, de certa forma, determina quais moléculas tem o potencial de atingir o mercado. Em 2014 o custo médio para a P&D de um novo fármaco era estimado em 2,6 bilhões de dólares, um aumento de 145% quando comparado aos preços de 2003 (COSTA – LOTUFO *et al*, 2009; SOUZA *et al*, 2022).

Figura 11 – Etapas envolvidas no processo de P&amp;D de novos fármacos



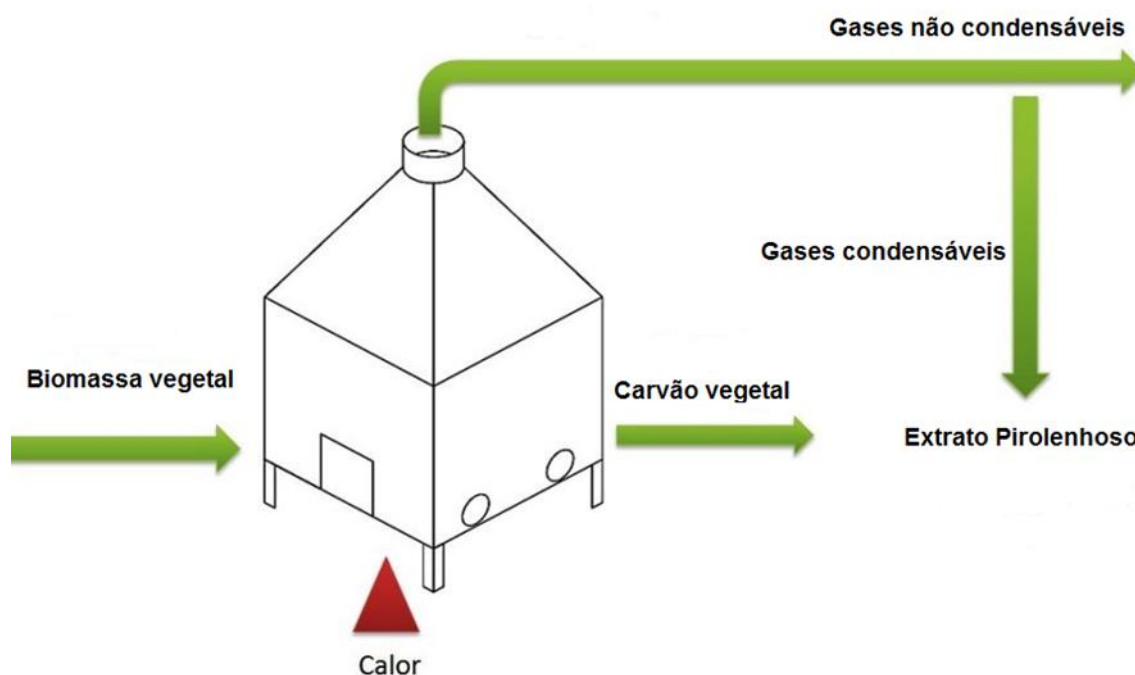
Fonte: COSTA-LOTUFO *et al*, 2009

No contexto de busca por novos fármacos os extratos pirolenhosos têm chamado a atenção da comunidade científica. Através do seu beneficiamento e padronização do método de extração, esses extratos podem contribuir com novos compostos com potencial farmacológico para o tratamento das mais diversas patologias (VIEIRA *et al*, 2015).

### 3.4 Extratos Pirolenhosos (EP)

Pirólise é o termo utilizado para caracterizar a decomposição térmica de materiais contendo carbono, na ausência de oxigênio. Assim, a madeira durante a queima se decompõe dando origem a três fases: uma sólida, o carvão vegetal; outra gasosa, e finalmente, a líquida, comumente designada de fração pirolenhosa ou EP. A figura 12 descreve o método de obtenção a partir da combustão da biomassa vegetal.

Figura 12 – Etapas de produção do EP



Fonte: adaptado de Batista *et al*, 2013.

Pode ser definido como um ácido carboxílico de mistura complexa, proveniente de compostos derivados de diversas reações químicas dos componentes da madeira (celulose, hemicelulose, lignina, compostos fenólicos, entre outros), produzidos após o aquecimento e a condensação dos vapores gerados durante a pirólise, em ambiente livre de oxigênio. (CAMPOS, 2007, 2018).

O EP consiste em 3 três fases: óleos vegetais e água (10%), ácido pirolenhoso (60 a 75%) e alcatrão (20 a 30%). O processo de purificação do ácido pirolenhoso ocorre por sedimentação que pode variar de 3 a 6 meses. A proporção relativa entre as fases varia em função da temperatura, dos tipos de processo, de material processado e de equipamento. Parâmetros como controle de qualidade e método de produção precisam ser melhor definidos na produção à nível industrial. A variedade de materiais vegetais que pode ser empregada no processo é ampla. A literatura relata diversas biomassas vegetais como eucalipto, bambu, resíduos agrícolas como bagaço de cana, ou ainda cascas de oleaginosas (PAULINO; AFONSO, 2021).

O líquido pirolenhoso possui em sua composição mais de 200 compostos orgânicos, destacando-se o ácido acético, álcoois, cetonas, fenóis, e alguns derivados de ligninas. É utilizado principalmente na agricultura como condicionante do solo, bioestimulante vegetal, indutor de enraizamento, repelente de insetos, contribuindo com a diminuição do uso de agroquímicos na agricultura convencional (SCHNITZER *et al*, 2015).

Estudos foram realizados buscando avaliar a ação dos EP como agentes para aplicações nas áreas cosméticas e saneantes. Os compostos químicos foram identificados mediante análise de um cromatógrafo acoplado a espectômetro de massa. Nos extratos avaliados foram encontrados diversos ácidos orgânicos e composto aromáticos, restringindo a sua aplicabilidade (ALMEIDA, 2012).

Já foi observada a atividade antibacteriana e antifúngica do extrato pirolenhoso da *Mimosa tenuiflora*. O estudo demonstra que a ação antimicrobiana do extrato está relacionada ao método de obtenção. A padronização da técnica de extração influencia diretamente na composição desses extratos, acarretando no nível de substâncias com potencial farmacológico (ARAÚJO, 2018).

## **4 PRODUTOS**

1.0 Extratos pirolenhosos com a ação farmacológica: uma prospecção tecnológica.

2.0 Avaliação do potencial leishmanicida de extratos pirolenhosos.

## EXTRATOS PIROLIGNEOSOS COM AÇÃO TERAPÊUTICA: UMA PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA

**Fábio Souza Moura** <sup>1,5</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-7705-0159>

**Éder da Silva Rocha Santos** <sup>3,5</sup>, <https://orcid.org/0009-0005-0333-4078>

**Márcio Thomaz dos Santos Varjão** <sup>2,5</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-9916-1490>

**Hilda Caroline do N. Santos** <sup>1,5</sup>, <https://orcid.org/0009-0002-7322-7380>

**Andressa Letícia Lopes da Silva** <sup>1,5</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-0952-7613>

**João Inácio Soletti** <sup>4,7</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-7758-9939>

**Sandra Helena Vieira de Carvalho** <sup>4,7</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-2891-38590>

**Alysson Wagner F. Duarte** <sup>3,6</sup>, <https://orcid.org/0000-0001-9626-7524>

**Magna Suzana Alexandre Moreira** <sup>2,5</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-9979-1994>

**Aline Cavalcanti de Queiroz** <sup>1,3,5,6 \*</sup>

### Afiliação

1 – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Instituto de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alagoas – UFAL.

2 – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas – UFAL.

3 – Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Alagoas – UFAL.

4 – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Centro Tecnológico, Universidade Federal de Alagoas – UFAL.

5 – Laboratório de Farmacologia e Imunidade, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas – UFAL.

6 – Laboratório de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Complexo de Ciências Médicas, Universidade Federal de Alagoas – UFAL.

7 – Laboratório de Sistemas de Separação e Otimização de Processos, Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Alagoas – UFAL.

**Autor correspondente \***

Telefone: +55 (82) 99669-7317. E-mail: [aline.queiroz@arapiraca.ufal.br](mailto:aline.queiroz@arapiraca.ufal.br)

Universidade Federal de Alagoas, Campus Arapiraca, Alagoas, Brasil.

CEP 57309-005, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6362-2726>.

## RESUMO

O extrato pirolenhoso é um produto proveniente da combustão de biomassa vegetal com aplicações na área da saúde, química industrial e agricultura. A descoberta de novas moléculas com potencial terapêutico e de origem natural continua sendo um dos grandes desafios para centros de pesquisa em todo o mundo. O seguinte trabalho visa a analisar, por meio de uma prospecção tecnológica, o uso de extratos pirolenhosos para fins terapêuticos. Para realizar o estudo foram realizadas buscas em documentos depositados no Brasil, Europa, Estados Unidos e em plataformas especializadas em patentes. O número de invenções utilizando extrato pirolenhoso com aplicações terapêuticas ainda é incipiente, entretanto, inovações têm sido observadas para o tratamento de doenças de grande relevância clínica como o câncer e a hipertensão. O mapeamento sistemático de inovações é de grande importância para o desenvolvimento de novas tecnologias.

## PALAVRAS-CHAVE

Extrato Pirolenhoso, Patente, Farmacologia

## INTRODUÇÃO

A utilização de extratos oriundos da combustão da biomassa vegetal para a descoberta de compostos de baixo custo continua sendo um grande desafio para a comunidade científica (Souza *et al.*, 2018). Através do processo de pirólise, a biomassa pode ser convertida em uma variedade de produtos através da decomposição térmica na ausência total ou parcial de oxigênio. Durante a combustão, a matéria orgânica se decompõe, dando origem a três fases: uma sólida, o carvão vegetal; outro gasoso e por fim um líquido, sendo este último denominado extrato pirolenhoso (Félix *et al.*, 2017).

Os principais países produtores de extratos pirolenhosos são Japão, China, Indonésia, Malásia, Brasil e Chile, incluindo outros no Sudeste Asiático e na América do Sul (Mueller *et al.*, 2021). Até o momento não há padronização no controle de qualidade na produção de extratos, e não há definição na especificação dos componentes e tecnologia a ser utilizada, entretanto, algumas condições básicas são determinadas pela Associação dos Produtores de

Agricultura Natural - APAN como cor, transparência, temperatura de coleta da fumaça, entre outras características (Campos, 2018).

Existem mais de 100 compostos químicos encontrados nos extratos pirolenhosos (Chiamenti *et al.*, 2016) com a predominância de água, ácido acético e fórmico, éter, álcoois metílico e etílico, cetonas e alcatrão (Santiago *et al.*, 2005). Evidências sugerem que os compostos encontrados nesses extratos possuem atividade antimicrobiana contra microrganismos patogênicos em humanos e animais, entretanto, estudos precisam ser realizados para comprovar sua eficácia clínica (Souza *et al.*, 2018).

Atualmente, os extratos pirolenhosos são utilizados principalmente na agricultura, auxiliando na absorção de nutrientes; no condicionamento do solo e em associações microbianas na rizosfera, atuando como indutor de enraizamento (Schnitzer *et al.*, 2015). Dada a sua empregabilidade na agricultura e como possível agente terapêutico, é necessário conhecer características como valor de acidez, densidade, pH e teor de alcatrão, além de análises químicas utilizando técnicas instrumentais (Vieira *et al.*, 2014).

O exercício de prospecção tem sido fundamental para orientar a criação de sistemas de inovação que respondam aos interesses da sociedade, direcionando ao desenvolvimento de pesquisas para as necessidades mais relevantes (Silva *et al.*, 2016). Desta forma, este trabalho tem como objetivo apresentar um panorama científico e tecnológico relacionado ao uso de extratos pirolenhosos com atividade terapêutica através de uma prospecção.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

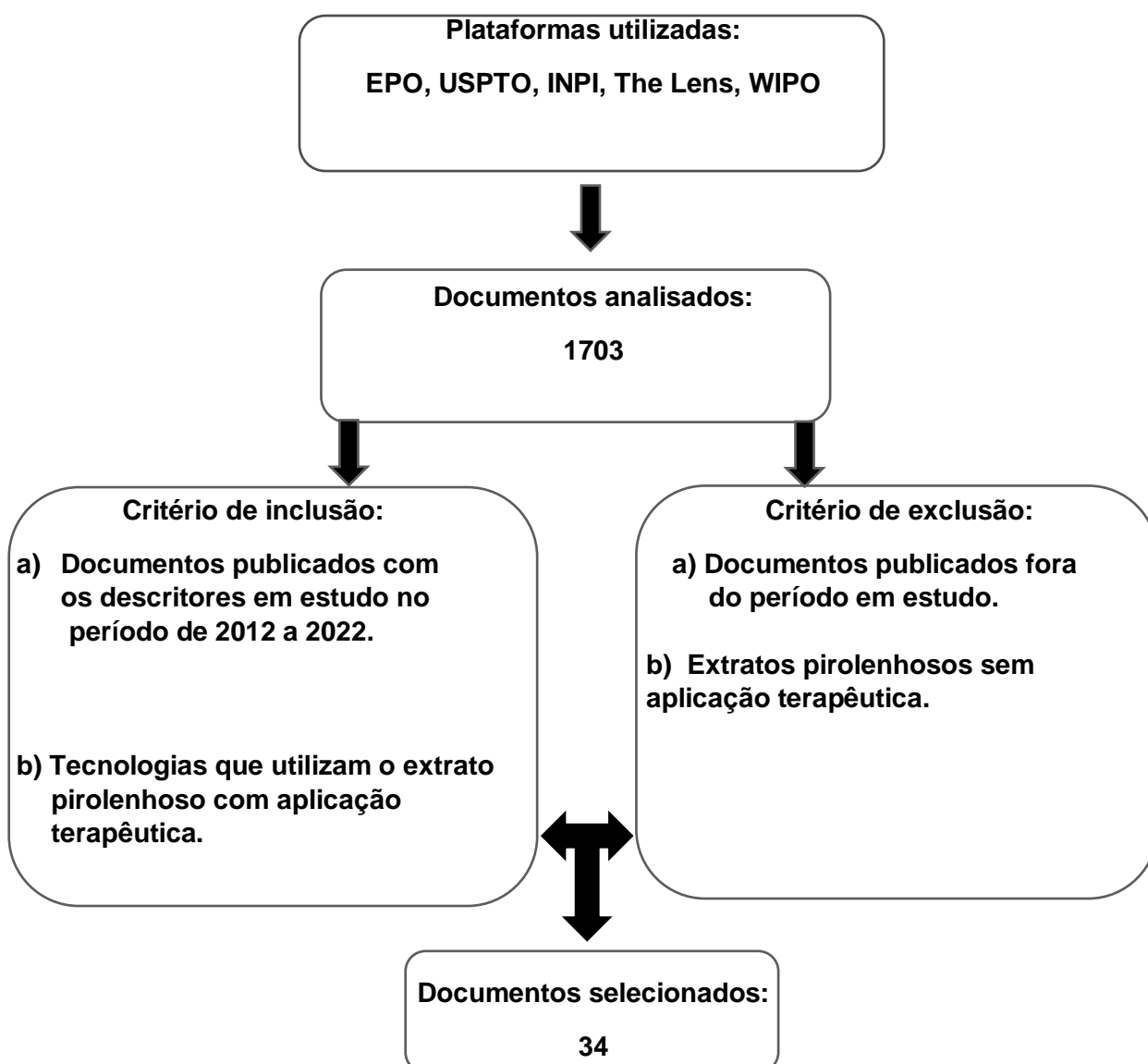
A prospecção tecnológica foi realizada por meio da busca de patentes e pedidos de patentes depositados na Europa (*European Patent Office – EPO*), nos Estados Unidos (*United States Patent and Trademark Office – USPTO*), no Brasil (*Instituto Nacional de Propriedade Industrial - INPI*) e em bancos de dados especializados em pesquisa de patentes (*The Lens / World Intellectual Property Organization - WIPO*) no período de 1º de janeiro de 2012 a 31 de dezembro de 2022.

A coleta de dados foi realizada em junho de 2023. Foi utilizada a combinação do descritor “pyroligneous” com os descritores: “pharmacological” /



“pharmaceutical” / “therapeutic” / “medicine” / “drug” / “cancer” / “hypertension” / “diabetes” / “anti-inflammatory” / “antimicrobial” / utilizando o operador booleano “AND”. A pesquisa no INPI foi realizada com descritores em língua portuguesa.

Foi realizada uma leitura exploratória de títulos e resumos, sendo selecionadas patentes e pedidos de patentes que apresentavam o uso de extratos pirolenhos para fins terapêuticos. Os documentos selecionados foram plotados manualmente no programa Microsoft Office Excel, versão 2021, excluindo-se aqueles que se repetiam nas bases de dados pesquisadas. O fluxograma da pesquisa é mostrado na figura 1.



**Figura 1** - Fluxograma da pesquisa de documentos

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foi verificado um total de 1703 patentes e pedidos de patentes nas bases de dados pesquisadas, conforme a Tabela I. Apenas um depósito foi encontrado na plataforma brasileira com a combinação dos descritores utilizados nesta pesquisa, no entanto, o Brasil e grande parte dos países da América Latina se beneficiam da ampla cobertura vegetal, o que pode favorecer pesquisas para obtenção de moléculas promissoras de produtos vegetais para o tratamento das mais diversas doenças.

A floresta amazônica oferece um verdadeiro arsenal farmacológico, podendo criar moléculas complexas e difíceis de reproduzir em laboratório (Feldmann, 2021). Nesse contexto, os extratos pirolenhosos, por meio de seu processamento, podem contribuir com inovações farmacêuticas para o tratamento das mais diversas doenças, além de reduzir o índice de emissões gasosas decorrentes da combustão da biomassa vegetal (Vieira *et al.*, 2014). As indústrias farmacêuticas, universidades e centros de pesquisa são os principais responsáveis pelo desenvolvimento de princípios ativos que possam servir de base para que um novo medicamento seja patenteado.

Tabela I – Distribuição dos resultados da pesquisa nas bases de dados de patentes

<b>Descritores</b>	<b>EPO</b>	<b>USPTO</b>	<b>The Lens</b>	<b>INPI</b>	<b>WIPO</b>
<b>pyroligneous AND farmacological</b>	26	16	20	00	00
<b>pyroligneous AND farmaceutical</b>	97	71	124	00	02
<b>pyroligneous AND therapeutic</b>	39	24	35	00	05
<b>pyroligneous AND medicine</b>	193	20	80	00	29
<b>pyroligneous AND drug</b>	140	64	121	00	09
<b>pyroligneous AND cancer</b>	48	47	62	00	03
<b>pyroligneous AND hypertension</b>	21	06	09	00	01
<b>pyroligneous AND diabetes</b>	30	24	26	00	00
<b>pyroligneous AND anti-inflammatory</b>	52	11	35	00	03
<b>pyroligneous AND antimicrobial</b>	100	37	67	01	05

Títulos e resumos foram analisados, excluindo aqueles que não estavam relacionados ao objeto de estudo. Os selecionados foram avaliados quanto à situação do registro, possibilitando saber se o exame do pedido de patente ainda está pendente, o pedido foi indeferido ou retirado, o pedido foi deferido e continua válido ou a patente concedida expirou, caducou ou foi revogada.

Conforme apresentado na Tabela II, os documentos selecionados foram categorizados em número de documento, título, ano de publicação, país de origem, código internacional de patente, inventor e situação jurídica. Por meio de sua análise descritiva, é possível verificar aspectos relevantes como a predominância de países asiáticos no número de depósitos e a prevalência do status interrompido para os documentos depositados. Os países asiáticos dominaram os depósitos de patentes em 2021, ultrapassando o patamar de dois terços do total mundial (WIPO, 2022).

Tabela II – Documentos relacionados aos extratos pirolenhosos com ação terapêutica

<b>DOCUMENTO</b>	<b>TÍTULO</b>	<b>ANO DE PUBLICAÇÃO</b>	<b>PAÍS</b>	<b>CIP</b>	<b>INVENTOR</b>	<b>STATUS</b>
<b>KR 20140021357 A</b>	Extrato de fermentação e método de fabricação	2014	KR	A61K	Parque Dong Ki, Parque Hoi Bum,	Ativo
<b>JP 2015199717 A</b>	Inibidor de Cox-2	2015	JP	A61K, A61P, A61Q	Inoue Hiroyoshi, Mori Ayako	Ativo
<b>KR 20200143725 A</b>	Produtos de higiene pessoal e seus métodos de fabricação	2020	KR	A61K, A61Q	Chong Kwik Chuah, Shin Siong Loh (Diamond Star Global Sdn BHD)	Ativo
<b>JP 2018203852 A</b>	Ácido pirolenhoso com baixo formaldeído	2018	JP	C10C	Miyaki Hiroshi, Yamaguchi Shinya, Kikuchi Toru (Centro de Pesquisa de Tecnologia Industrial da Prefeitura de Aomori)	Ativo
<b>JP 2020152709 A</b>	Agente terapêutico para doenças de pele e método de produção.	2020	JP	A61K	Hirayama Mitsuo (Toso Eco Clean)	Ativo
<b>EP 2007744 B1</b>	Método de extração térmica para produzir um extrato de taxano	2017	CA	C10C A61K	Boulard DavidGraham	Ativo

					RobertFreel Barry (Pharmatherm Chemicals Inc)	
<b>JP 2018118955 A</b>	Antifúngico contendo um novo ácido pirolenhoso como ingrediente ativo	2018	JP	A01N ; A01P	Yamagushi Shinya; Kikuchi Toru (Centro de Pesquisa de Tecnologia Industrial da Província de Aomori)	Pendente
<b>WO 2020204391 A2</b>	Uso clínico do licor pirolenhoso	2020	KR	A61K	Wang Sung Ho	Pendente
<b>BR 1020200137514 A2</b>	Extrato pirolenhoso para o tratamento de infecções microbianas	2022	BR	A61K, A61P	Tatiane L. Balliano, Mozart D. Bispo, João I. Soletti, Wedja T. Vieira, Gustavo V. Amaral, Marina B. de Farias, Sandra HV de Carvalho, Maria Anilda dos S. Araújo e Ricardo Soletti (Universidade Federal de Alagoas)	Pendente
<b>WO 2019/221593 A1</b>	Lavagem higiênica	2019	MEU	A61K	Chong Kwik Chuah, Shin Siong Loh (Diamond Star Global.SDN. BHD)	Pendente
<b>CN 111742936 A</b>	Líquido antibacteriano contendo composição pirolenhosa e método de preparação	2020	CN	A01P	Zhu Siqing (Tangshan Jinhai Novo Tapete)	Interrompido
<b>CN 111920863 A</b>	Spray contendo licor pirolenhoso de ramo de maçã e método de preparação	2020	CN	A61K	Hu Shengchun, Hunag Xiaohua , Wei Yitao (Univ Northwest A&f Shaanxi Jinjie Bioenergy Co Ltd)	Interrompido
<b>CN 105616393 A</b>	Composição para o tratamento da bromidrose	2016	CN	A61K	Hu Haixia; Zhong Si; Han Peitong, Zang Lin, Liu Haiyun; Hao Jianshe; Huang Kang, Hao Yinghe,	Interrompido

					Hao Qiangzhu, Hao Xiaozhu (Xinji Yuanxiang Green Energy Technology Co Ltd)	
<b>KR 20170023234 A</b>	Componentes para sabão contendo ervas medicinais	2017	KR	C11D	Parque Ok Gyu	Interrompido
<b>CN 105687248 A</b>	Composição para o tratamento de úlceras orais	2016	CN	A61K	Wu Haixia, Zhong Si, Han Peitong, Zhang Lin, Liu Haiyun, Hao Jianshe, Huang Kang, Hao Yinghe, Hao Xiaozhu, Hao Qiangzhu (Xinji Yuanxiang Env Prot Green Energy Tech Co Ltd)	Interrompido
<b>CN 105663175 A</b>	Composição para tratar verrugas	2016	CN	A61K	Wu Haixia, Zhong Si, Han Peitong, Zhang Lin, Liu Haiyun, Hao Jianshe, Huang Kang, Hao Yinghe, Hao Xiaozhu, Hao Qiangzhu (Xinji Yuanxiang Green Energy Tech Co Ltd)	Interrompido
<b>KR 20170041149 A</b>	Composição para melhorar a pele atópica	2017	KR	A61K	Choi yong ho	Interrompido
<b>CN 105708827 A</b>	Composição para tratar faringite aguda e crônica	2016	CN	A61K	Hu Haixia; Zhong Si; Han Peitong, Zang Lin, Liu Haiyun; Hao Jianshe; Huang Kang, Hao Yinghe, Hao Qiangzhu, Hao Xiaozhu (Xinji Yuanxiang Green Energy Technology Co Ltd)	Interrompido
<b>CN 105663377 A</b>	Composição para tratamento de hiperostose	2016	CN	A61K	Wu Haixia, Zhong Si, Han Peitong, Zhang Lin, Liu Haiyun, Hao	Interrompido

					Jianshe, Huang Kang, Hao Yinghe, Hao Xiaozhu, IHao Qiangzhu, Liu Jialong (Xinji Yuanxiang Green Energy Technology Co Ltd)	
<b>KR 20160000145 A</b>	Palmilhas de sapatos desodorizantes com filtro incorporado	2016	KR	A43B	Moon Byoung Joon; Yu Beom Sang (Daeduk College Iacf)	Interrompido
<b>CN 106039052 A</b>	Líquido de sedimentação osséa para aplicação externa e método de preparação	2016	CN	A61K	Huan Dawei	Interrompido
<b>CN 109999073 A</b>	Composição para cuidados com a saúde	2019	CN	A61K	Liu Wu (Hangzhou Bixin Biotechnology Co Ltd)	Interrompido
<b>CN 105748486 A</b>	Composição de tratamento de hemorróidas	2016	CN	A61K	Jia Xueqi, Wu Haixia, Hao Jianshe (Xinji Yuanxiang Green Energy Technology Co Ltd)	Interrompido
<b>CN105194445A</b>	Licor medicinal para o tratamento da artrite	2015	CN	A61K, A61P	Gong Canfeng	Interrompido
<b>CN 105831646 A</b>	Composição multifuncional de produtos para a saúde	2016	CN	A23L	Ye Yong	Interrompido
<b>KR 20160040924 A</b>	Método de fabricação de um sabonete de ervas medicinais	2016	KR	C11D	Pae Jung Jun	Interrompido
<b>CN 105560079 A</b>	Enxaguante bucal	2016	CN	A61K	Wu Haixia, Bai Xinfang, Huang Kang, Hao Yinghe, Hao Yunzhu, Hao Xiaozhu (Xinji Yuanxiang Green Energy Technology Co Ltd)	Interrompido
<b>CN 104083471 A</b>	Líquido oral para o tratamento da hipertensão	2014	CN	A61K, A61P	Li Yongjun	Interrompido
<b>CN 104083470 A</b>	Método de preparação da nova droga anticancerígena contendo licor	2014	CN	A61K, A61P	Li Yongjun	Interrompido

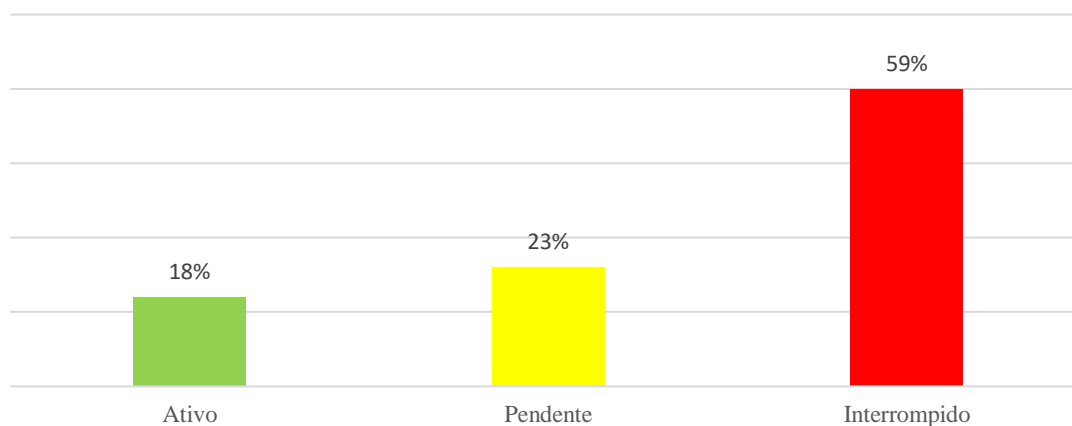
	pirolenhoso de fitoterapia chinesa					
<b>KR 20150128169 A</b>	Composição farmacêutica para prevenir ou melhorar doenças do nariz	2015	KR	A61K	Yoo Sang Ki	Interrompido
<b>CN 112190626 A</b>	Produto antibacteriano pirolenhoso para os pés e método de preparação	2021	CN	A61K	Huang Zhixin, Chen Chao (Tangshan Xinyanuo Biotecnologia)	Interrompido
<b>CN 112402370 A</b>	Agente terapêutico para dermatose de animais de estimação contendo licor pirolenhoso e método de preparação	2021	CN	A61K	Sun Qiuyan, Sun Xia, Yang Shuren, Li Yunxiang, Wang Yanling, Wang Fang, Wang Caixia, Li Ruchun (Shandong Vocational Animal Science and Veterinary College, Shandong Susha Ecological Dev Co LTD)	Interrompido
<b>CN 105497079 A</b>	Solução de tratamento de tinea pedis	2016	CN	A61K	Wu Haixia, Hao Yinghe, Huang Kang, Hao Yunzhu, Hao Xiaozhu (Xinji Yuanxiang Green Energy Technology Co Ltd)	Interrompido
<b>CN 104367754 A</b>	Medicina tradicional chinesa para o tratamento da artrite reumatóide	2015	CN	A61K	Cao Xinsheng, Wang Xiang	Interrompido

Abreviaturas: BR – Brasil. KR – Coréia do Sul. CN – China. CA – Canadá. JP – Japão.

MY – Malásia. CIP - Classificação Internacional de Patentes

## Avaliação da Situação dos Documentos Depositados

Inicialmente, foi analisada a classificação da situação jurídica dos documentos com depósitos publicados no intervalo de tempo entre 1º de janeiro de 2012 e 31 de dezembro de 2022, sendo esse resultado expresso na Figura 2.



**Figura 2 – Avaliação da Situação Jurídica**

Nesse período, houve predominância de documentos com status Interrompido (59%), em que o inventor não manifestou interesse em prorrogar a concessão por não ter iniciado o uso ou se o uso ocorreu com modificação que implique alteração de seu caráter original ou ainda acontecendo o término do prazo, a renúncia total ou parcial. Os documentos classificados como pendentes (23%) são aqueles em que o exame do pedido de patente está em análise. As patentes ativas (18%) são todas para as quais os requisitos para a concessão foram atendidos. Ao final do prazo concedido, o interessado deverá providenciar a prorrogação do prazo caso deseje manter a concessão (INPI, 2023).

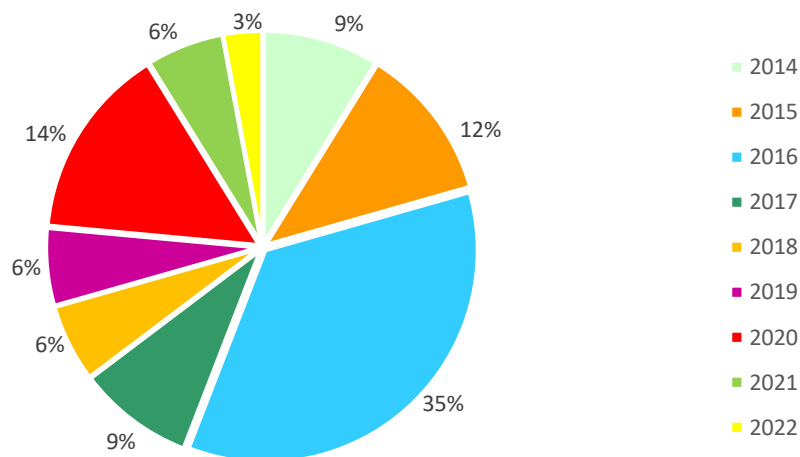
Levando em consideração o percentual de documentos com status interrompido ou pendente, podemos perceber o quanto ainda precisamos explorar o uso desses extratos na criação de tecnologias com uso medicinal. Os extratos pirolenhosos ainda permanecem um importante campo de investigação para a comunidade científica mundial. Pesquisas precisam ser implementadas com foco no campo farmacológico.

### **Distribuição Temporal de Depósitos de Documentos**

A Figura 3 mostra o percentual de depósitos divulgados no período estudado. O resultado mostra uma oscilação significativa nos índices. Não houve publicação de depósito nos anos iniciais da pesquisa (2012/2013). O ano de 2016 teve o maior percentual na publicação de documentos depositados,



perfazendo 35% do total. Houve redução quantitativa nos anos seguintes, com retomada em 2020 seguida de nova redução em 2021 e 2022.



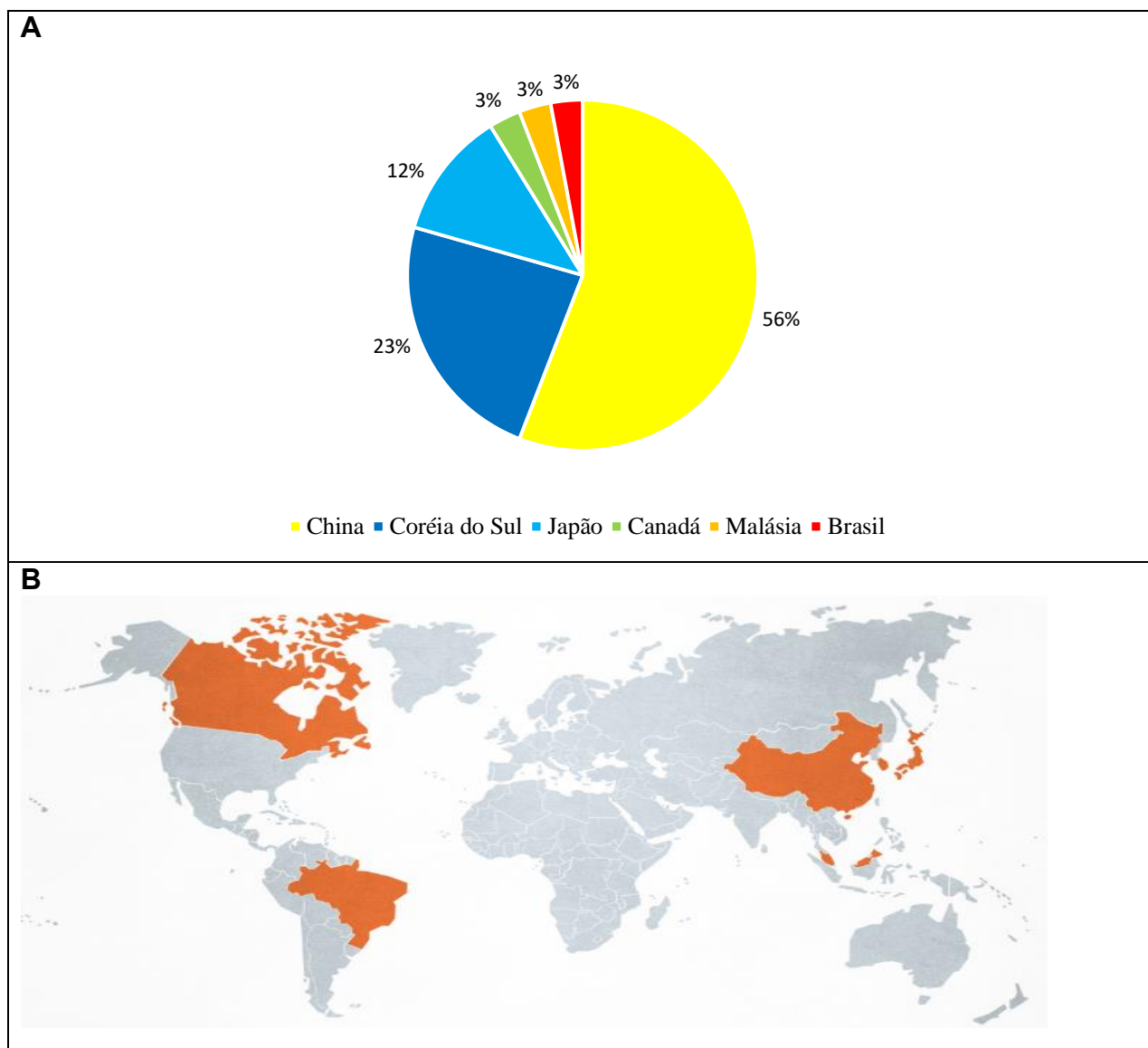
**Figura 3** – Distribuição dos depósitos

O advento da pandemia do novo coronavírus (COVID-19) declarada em 11 de março de 2020, pela Organização Mundial da Saúde (OMS, 2022) pode ter contribuído para o declínio nos anos seguintes nas pesquisas em nível global, uma vez que os esforços da comunidade científica internacional se concentraram na obtenção de vacinas que trariam resultados promissores na redução do número de novos casos e mortes decorrentes da infecção. Portanto, o índice de formulações inovadoras à base de extrato pirolenhoso com aplicabilidade terapêutica ainda é bastante incipiente. O monitoramento do índice anual de depósitos proporciona um acompanhamento do progresso científico mundial no uso de novas tecnologias, sendo essencial para a tomada de decisões.

### **Distribuição Geográfica dos Depósitos de Patentes**

A fim de esclarecer a distribuição dos depósitos por país, avaliou-se o número de pedidos de patentes publicados no período estudado, conforme apresentado na Figura 5. A Ásia tem uma representatividade significativa a nível mundial no registo de patentes, sendo impulsionada pela China, Coreia do Sul e Japão (WIPO, 2019). A China é o maior representante mundial em depósitos de

patentes com um total de 70.105 pedidos em 2022, o que representa um ligeiro aumento de 0,6% em relação ao ano anterior com um forte aumento nos campos tecnológicos relacionados à saúde (WIPO, 2023).



**Figura 4** - A) Porcentagem de depósitos por país; B) Distribuição geográfica dos depósitos.

No continente americano, apenas Brasil (3%) e Canadá (3%) apresentaram documento depositado. O Brasil tem usado extratos pirolenhosos principalmente na agricultura como fertilizante líquido; desinfetante do solo e antioxidante, proporcionando aumento do desenvolvimento vegetativo no cultivo de plantas (Silva *et al.*, 2021).

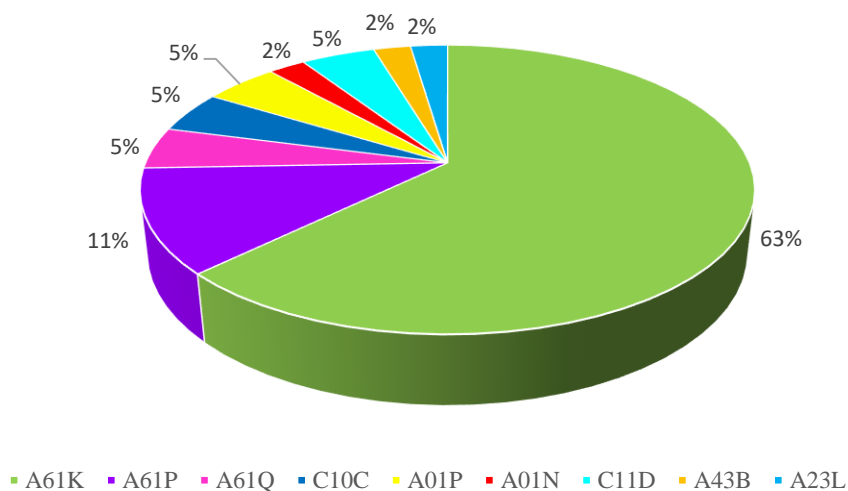
Apesar do aumento significativo de depósitos de tecnologias voltadas para a saúde no ano de 2022, os extratos pirolenhosos ainda carecem de pesquisas que busquem explorar o seu potencial terapêutico, a necessidade de padronização na obtenção desses extratos e a elaboração de protocolos para controle de qualidade são fundamentais para pesquisas que buscam patentear a ação farmacológica de determinado composto (Paulino, Afonso, 2021).

As condições geográficas e ambientais do continente americano contribuem para a disponibilidade de biomassas que podem ser utilizadas na produção e desenvolvimento de extratos das mais variadas espécies vegetais e que servem de base para a descoberta de novos compostos farmacológicos que possam ser comparados aos fármacos já utilizados (Campos, 2018).

A comunidade científica mundial está ávida por inovações farmacêuticas provenientes de produtos naturais que possam ser eficazes no tratamento de patologias que ainda possuem um arsenal terapêutico limitado (Casanova, Costa, 2017). Além disso, os extratos pirolenhosos já foram utilizados no tratamento de algumas patologias. No entanto, a segurança do uso desses extratos para fins terapêuticos ainda precisa ser melhor avaliada.

### **Patentes registradas sob a Classificação Internacional de Patentes (CIP)**

A Figura 6 expressa a distribuição das patentes e pedidos de patentes selecionados de acordo com sua classificação internacional, cujas áreas tecnológicas são divididas em classes de A a H. Dentro de cada classe, existem subclasses e grupos principais, por meio de um sistema hierárquico (INPI, 2015).



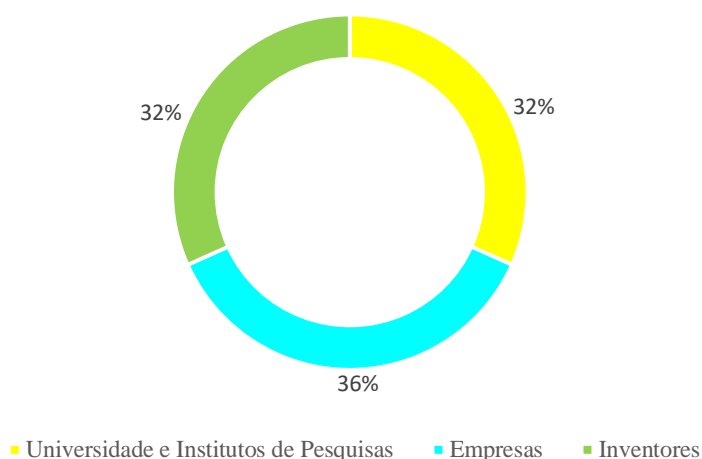
**Figura 5** – Distribuição quanto à Classificação Internacional de Patentes

A subclasse mais frequente foi A61K (63%), referente a preparações para fins médicos, odontológicos ou sanitários; seguida pela subclasse A61P (11%) destinada a preparações medicinais. As demais subclasses foram classificadas como: C61Q – cosméticos. C10C – preparação contendo ácido pirolenhoso. A01P – compostos com atividade biocida. A01N – preparações que impedem o crescimento de micro-organismos indesejados. C11D – sabão ou fabricação de sabão. A43B – artigos pessoais ou domésticos. A23L – alimento modificado.

O código CIP mais observado foi o A61K31/19 – Produtos para fins médicos, odontológicos ou sanitários que contenham ácidos carboxílicos em sua composição. A crescente preocupação na criação de quimioterápicos tem levado à criação de formulações de novos agentes antimicrobianos. Nesse contexto, tem se destacado o uso de ácidos orgânicos, substâncias com estrutura geral R-COOH e derivados de ácidos carboxílicos (Dian *et al.*, 2020). Ácidos orgânicos e compostos aromáticos predominam nos extratos pirolenhosos das mais diversas espécies vegetais. A concentração desses compostos está diretamente relacionada ao grau de toxicidade desses extratos (Campos, 2018). A análise química instrumental é de fundamental importância na identificação de compostos que possam contribuir para uma possível aplicação quimioterápica.

## Distribuição de Patentes por Depositantes

O estudo conseguiu avaliar o perfil dos depósitos selecionados, cujos resultados são apresentados na Figura 6. As empresas se destacam como as principais detentoras de pedidos de patentes, respondendo por 36% do total de documentos selecionados. A empresa “Xinji Yuan Xiang Green Energy Technology” apresentou oito pedidos de patente; foi o maior contribuinte no número de depósitos. O foco de mercado dessa empresa são produtos farmacêuticos, química de materiais básicos e tecnologia ambiental. Institutos de Pesquisa, Universidades e Inventores contribuíram com 32% do total de depósitos de documentos selecionados.



**Figura 6** – Distribuição por Depositante

A capacidade de inovar confere às empresas vantagens competitivas no comércio internacional. Nesse sentido, o desenvolvimento de atividades científicas; organizacional; financeiras e comerciais, podem levar à implementação de novas tecnologias que buscam solucionar as necessidades apresentadas pelas sociedades (Hoffmann, Coral, Jara, 2014).

## **Descrição das Patentes Concedidas e com Status Ativo**

### *Extrato de fermentação e método de fabricação*

[KR 20140021357 A]

A invenção se refere a um extrato de fermentação para o tratamento capilar. O extrato é obtido a partir da fermentação dos seguintes componentes: *Poncirus trifoliata* que promove o aumento do fluxo sanguíneo; licor pirolenhoso de bambu e gengibre que são estimulantes dos folículos pilosos; raiz da *Sephora japonica* que possui ação anti-inflamatória, além de outros componentes orgânicos que fornecem nutrientes às raízes do cabelo (Ki, Bum, 2014).

O mercado de cosméticos tem apresentado um aumento progressivo na demanda por produtos de origem natural. A utilização de ativos vegetais e sua incorporação em alimentos e produtos de higiene tem conferido alto valor econômico a diversas espécies vegetais. Nesse contexto, os extratos vegetais se destacam como importantes constituintes que agregam valor ao produto incorporado, promovendo ações terapêuticas, sustentabilidade e potencial econômico. (Silva, Santos, 2021).

### *Inibidor de COX-2*

[JP 2015199717 A]

A invenção consiste em um tônico que induz o crescimento capilar com atividade inibidora da COX-2. Possui extrato pirolenhoso de tangerina como componente ativo. A ação terapêutica consiste em inibir a apoptose celular dos folículos capilares promovendo o crescimento capilar (Hiroyoshi, Ayako, 2015).

Muitas estratégias e esquemas terapêuticos são baseados no uso de inibidores da COX-2. Esses agentes químicos são considerados mais seguros e menos tóxicos, principalmente em tratamentos prolongados, sendo considerados a classe terapêutica de primeira escolha visando a redução da formação de mediadores do processo inflamatório (Etienne *et al.*, 2021).

*Agente terapêutico para doenças de pele e método de produção*

[JP 2020152709 A]

A presente invenção refere-se a um agente terapêutico para o tratamento de patologias dermatológicas, como dermatite atópica, eczema e erupção cutânea. Os corticosteróides são as principais drogas utilizadas no tratamento de doenças de pele, mas seu uso prolongado tem apresentado uma série de efeitos colaterais. Portanto, há uma forte demanda pelo surgimento de agentes terapêuticos seguros que tenham poucos efeitos colaterais mesmo após uso prolongado e possam alcançar resultados satisfatórios (Mitsuo, 2020).

Na dermatologia, drogas com ação imunomoduladora são frequentemente utilizadas no tratamento de doenças inflamatórias da pele. Essas drogas têm como alvo citocinas, mediadores imunológicos, moléculas e receptores de superfície celular, componentes de resposta da cascata inflamatória que correspondem a elementos importantes da resposta fisiológica do corpo e controle do ciclo celular (Casanova *et al.*, 2021).

A corticoterapia é aplicada em diversas patologias e, por isso, os corticosteróides são um dos medicamentos mais prescritos em todo o mundo, movimentando cerca de 10 bilhões de dólares por ano. Apesar das vantagens desse tratamento, seu uso prolongado pode levar a efeitos adversos graves, como aumento da glicemia, retenção hídrica, acidose, hipocalcemia, aumento da pressão intraocular, entre outros (Pinto *et al.*, 2020).

Diante do exposto, a presente invenção foi concebida com o objetivo de proporcionar uma inovação farmacêutica eficaz sem proporcionar os efeitos colaterais comumente observados com o uso prolongado de corticosteroides. A formulação apresenta um extrato de *Commiphora mirra* (70%) e uma solução de ácido acético obtida a partir do extrato pirolenhoso do bambu. A invenção apresenta efeitos satisfatórios no tratamento da dermatologia, promovendo efeitos anti-inflamatórios e antibacterianos (Mitsuo, 2020).

### *Método de extração térmica para produzir um extrato de taxano*

[EP 2007744 B1]

A invenção visa a fornecer um método para obtenção de um extrato rico em taxanos por extração térmica. Os taxanos são um grupo de compostos diterpenóides, alguns dos quais demonstraram ser úteis no tratamento de câncer e outras doenças graves, como esclerose múltipla e doença renal. Da combustão à temperatura de 320°C a 400°C da biomassa vegetal do gênero *Taxus* ou *Austrotaxus*, obtém-se um extrato pirolenhoso rico em taxanos (Boulard *et al.*, 2017).

Os taxanos são amplamente utilizados no tratamento do câncer de mama com uma resposta terapêutica significativa. Eles são derivados de uma substância natural encontrada na casa do teixo, *Taxus baccata*, uma árvore que produz substâncias tóxicas (taxinas) e também medicinais (taxanos). Os taxanos (Paclitaxel e Docetaxel) são drogas com ação antimicótica, que atuam nos microtúbulos da tubulina, promovendo sua estabilização. A interrupção do equilíbrio celular altera sua estrutura e funções, resultando em apoptose. Paclitaxel e Docetaxel podem ser usados diretamente em aplicações farmacêuticas sem modificação química adicional, enquanto outros taxanos são vistos como precursores para produzir Paclitaxel e Docetaxel (Neris *et al.*, 2016).

### *Produto de higiene pessoal e seu método de fabricação*

[KR 20200143725 A]

A invenção fornece um método para obtenção de um produto de higiene pessoal usando vinagre de madeira. Esse extrato pirolenhoso é obtido pela decomposição térmica de *Rhizophora apiculata*. Sua ação consiste na inativação de micro-organismos causadores de infecções cutâneas e do trato urinário, sem causar efeitos deletérios na microbiota comensal (Chuah; Loh, 2020).

O ácido pirolenhoso é obtido pela queima de *R. apiculata* na temperatura de 240 – 500 °C. A fumaça capturada é condensada em um tubo de aço inox e o produto coletado é armazenado em recipiente de polietileno em temperatura ambiente. O extrato descrito na patente apresentou significativo efeito fungistático em baixas concentrações e fungicida em maiores concentrações para o fungo *Candida albicans*, trazendo um novo recurso para o tratamento de



infecções fúngicas com o uso de um produto de origem natural (Ibrahim *et al.*, 2013).

#### *Ácido pirolenhoso com baixo teor de formaldeído*

[JP 2018203852 A]

A invenção trata do processo de fornecimento de um ácido pirolenhoso com baixo teor de formaldeído, altas propriedades antimicrobianas e sem toxicidade significativa. A solução tem uma concentração de formaldeído inferior a 5 ppm (W/V) e um pH ácido. O extrato pode preferencialmente ser usado como um agente bacteriostático ou bactericida. A redução dos níveis de formaldeído é conseguida pela adição de triptofano ao extrato pirolenhoso fazendo com que este reaja com o formaldeído presente no ácido pirolenhoso (Hiroshi, Shinya, Toru, 2018).

O extrato pirolenhoso é uma mistura complexa de fragmentos derivados de hidrocarbonetos oxigenados das estruturas de biopolímeros. A relação entre os tipos de compostos presentes e a temperatura a que os vapores foram expostos antes da condensação é o ponto mais importante na produção do extrato pirolenhoso (Campos, 2018).

#### **Resumo dos Pedidos de Patentes com Status Pendente**

##### *Agente antifúngico contendo ácido pirolenhoso como princípio ativo*

[JP 2018118955 A]

A presente invenção fornece uma solução pirolenhosa com um efeito antifúngico significativo. A madeira de bambu é preferencialmente utilizada como matéria-prima, na qual é submetida a um processo de combustão à temperatura de 80 - 150 °C, os gases coletados são condensados, armazenados e deixados em repouso por 90 dias ou mais, com a retirada do alcatrão. No método de produção da solução de ácido pirolenhoso da presente invenção, o triptofano, que é um aminoácido, é adicionado à solução de ácido pirolenhoso para diminuir a concentração de formaldeído. O peso do triptofano adicionado é preferencialmente cerca de 12 a 14 vezes o peso do formaldeído na solução pirolenhosa (Shinya, Toru, 2018).

### *Uso clínico de licor pirolenhoso*

[WO 2020204391 A2]

A presente invenção fornece um adjuvante anticancerígeno para prevenir ou tratar o câncer. As neoplasias malignas são a segunda principal causa de morte no mundo, e métodos avançados de diagnóstico e tratamento estão melhorando o prognóstico. O câncer está associado a muitos sintomas, como fadiga, dor, perda de peso, distúrbios alimentares e náuseas. A maior parte da comunidade médica acredita que o câncer é causado por mutações no DNA. A invenção foi preparada a partir do extrato pirolenhoso que passou por uma pluralidade de processos de purificação. É composto por uma mistura complexa de água, fenol, vanilina, ácido acético, ácido fórmico e outros ácidos carboxílicos. Os ácidos orgânicos e os compostos fenólicos foram considerados os principais ingredientes biologicamente ativos da invenção (Ho, 2020).

### *Extrato pirolenhoso para o tratamento de infecções microbiana*

[BR 1020200137514 A2]

A invenção refere-se a um produto antimicrobiano na forma de solução, hidrogel, gel e aerossol, rico em compostos orgânicos com ação fungicida e bactericida, indicado para o tratamento de infecções de pele e unhas. O produto proposto compreende um tratamento tópico de curto prazo, eficaz, seguro, de baixa toxicidade e baixo custo. O produto é inovador na área dermatológica, podendo ser amplamente utilizado e de fácil administração (Balliano *et al.*, 2022).

### *Lavagem higiênica*

[WO 2019/221593 A1]

A presente invenção refere-se a um produto de higiene pessoal. O vinagre de madeira é obtido pela pirólise da madeira e das folhas de *Rhizophora apiculata*, na qual o ácido pirolenhoso tem efeito bactericida e fungicida, eficaz no tratamento de infecções dermatológicas e do trato urinário. O extrato pirolenhoso na concentração de 20% pode ser adicionado a diferentes formulações (Chuah, Loh, 2019).

## **Resumo de Patentes ou Pedidos de Patentes com Status Interrompido**

*Produto antibacteriano para os pés e seu método de preparação*  
[CN 112190626 A]

A invenção refere-se a um produto contendo licor pirolenhoso com ação antibacteriana, indicado para o tratamento dos pés. O produto é preparado a partir dos seguintes componentes em partes por massa: 20-30 partes de destilado pirolenhoso, 4-6 partes de cera de abelha, 2-4 partes de éster monoglicosídeo, 2-4 partes de óleo de parafina, 4-6 partes de Olivem 1000, 1,5-3,5 partes de monoestearato de glicerila, 1-3 partes de 305 emulsificantes de formação a frio, 1-3 partes de DMSO, 1-3 partes de borneol, 1-3 partes de mentol, 1-3 partes de BHT, 1-3 partes de azona, 0,5-1,5 partes de ácido salicílico e 0,3-0,7 partes de alantoína (Zhixin, Chao, 2021) .

*Líquido antibacteriano contendo composição pirolenhosa e método de preparação*  
[CN 111742936 A]

A invenção revela um líquido antibacteriano contendo uma composição pirolenhosa e seu método de preparação. A composição compreende as seguintes matérias-primas em partes por peso: 15 partes de um fosfolipídio, 200 partes de etanol, 2 partes de desoxicolato de sódio, 300-1000 partes de licor pirolenhoso e 3000 partes de água ultrapura. O líquido antibacteriano preparado pela invenção tem um efeito de inibição notável em várias bactérias patogênicas, é seguro e eficaz (Siqing, 2020).

*Líquido de sedimentação óssea para aplicação externa e método de preparação*  
[CN 106039052 A]

O líquido fixador ósseo é um medicamento para aplicação externa na coluna, apresenta resultados clínicos no tratamento de raquiopatia, hiperostose, rigidez da coluna vertebral e escoliose, sendo utilizado para massagem na coluna. Ele pode efetivamente suavizar o tecido ósseo hiperplásico e a fáscia muscular rígida, reduzindo o risco de lesão óssea. Contém ácido pirolenhoso e outros extratos vegetais em sua composição (Dawei, 2016).

*Composição para o tratamento de bromidrose*

[CN 105616393 A]

A invenção fornece uma formulação para o tratamento de bromidrose. A composição é preparada a partir, em peso, de 55-75 partes de licor pirolenhoso, 0,5-5 partes de lauril sulfato de sódio, 8-25 partes de hexametáfosfato de sódio, 20-40 partes de sorbitol e 15-35 partes de água pura. Quando usada, a formulação é pulverizada na posição de bromidrose e massageada até que seja completamente absorvida. Apresenta uma boa resposta clínica, é livre de efeitos tóxicos e colaterais e é adequada para pessoas de todas as faixas etárias (Haixia *et al*, 2016 b).

*Componentes para sabonete contendo ervas medicinais*

[KR 20170023234 A]

A presente invenção refere-se a uma composição para sabonete contendo ervas medicinais com função dermatológica, sendo fabricada conforme a seguinte descrição: primeira etapa – extração do licor pirolenhoso do carvão vegetal; segunda etapa – fermentação do princípio ativo da erva medicinal para ativar o princípio ativo do absinto; terceira etapa – mistura do favo de mel com o licor pirolenhoso; quarto passo – acondicionar o absinto fermentado em um recipiente de armazenamento, adicionando água com o licor pirolenhoso misturado com mel para produzir um extrato com quantidade suficiente do princípio ativo das ervas medicinais; quinto passo – adição de base vegetal e ácido hialurônico (Gyu, 2017).

*Composição para o tratamento de úlceras orais*

[CN 105687248 A]

A invenção fornece uma composição para tratamento de úlceras orais. É preparado a partir, em peso, de 55-85 partes de licor pirolenhoso, 15-35 partes de mel, 5-25 partes de ácido aspártico e 0,5-5 partes de mentol. Tem um efeito terapêutico significativo, com baixo índice de efeitos colaterais (Haixia *et al.*, 2016d).

### *Composição para tratar verrugas*

[CN 105663175 A]

A invenção fornece uma composição para o tratamento de verrugas. É preparado a partir das seguintes matérias-primas em partes por peso: 55 a 75 partes de licor pirolenhoso, 15 a 35 partes de aldeído cinâmico, 0,5 a 4 partes de éter polioxietileno de álcool graxo e 1 a 6 partes de poliacrilamida. A formulação é aplicada diretamente na região afetada com grande efeito cicatrizante (Haixia *et al.*, 2016e).

### *Composição para melhorar a pele atópica*

[KR 20170041149 A]

A formulação é indicada para o tratamento da pele atópica. Para atingir os objetivos, a composição contém um extrato de Aronia (40-60% em peso) para decompor enzimas, um extrato de *Orosrachys malacophyllus* (40-60% em peso), e também líquido pirolenhoso de carvalho, que foi maturado por um período de 6 anos (Ho, 2017).

### *Composição para tratar faringite aguda e crônica*

[CN 105708827 A]

A invenção revela uma composição para o tratamento de faringite aguda e crônica. A composição é preparada a partir, em peso, de 65-85 partes de líquido pirolenhoso, 15-35 partes de maltitol, 15-35 partes de limoneno, 8-18 partes de ácido fumárico e 20-40 partes de água pura. A composição tem a vantagem de ter uma alta taxa de cura, livre de toxicidade e efeitos colaterais (Haixia *et al.*, 2016a).

### *Composição para o tratamento de hiperostose*

[CN 105663377 A]

A invenção fornece uma formulação para o tratamento de hiperostose. A composição compreende as seguintes matérias-primas em partes por peso: 45 a 75 partes de licor pirolenhoso, 15 a 35 partes de rutina, 10 a 25 partes de limoneno, 5 a 15 partes de óleo de zantoxilo e 20 a 40 partes de água pura. A formulação é borrifada na parte dolorida e levemente massageada com as mãos até completa absorção; a invenção mostra resultados clínicos significativos (Haixia *et al.*, 2016c).

### *Composição para cuidados de saúde*

[CN 109999073 A]

A invenção refere-se a um produto para a saúde. A formulação consiste em um adesivo que é usado nos pés. A composição é preparada a partir, em peso, de 1 a 30 partes de *Folium Artemisiae argyi*, 1-30 partes de uma solução pirolenhosa, 1-20 partes de quitina, 1-20 partes de pó ultrafino de turmalina, 1-20 partes de vitaminas C, 1-30 partes de cártamo, 1-20 partes de maracujá *incarnata* e 0,1-10 partes de melatonina. O adesivo tem a função de promover a circulação, aliviar a fadiga e promover o sono (Wu, 2019).

### *Composição para o tratamento de hemorróidas*

[CN 105748486 A]

A invenção fornece uma formulação para o tratamento de hemorróidas que são preparadas a partir, em peso, de 55-75 partes de ácido pirolenhoso, 5-15 partes de pantotenato de cálcio, 10-25 partes de ácido retinóico, 5-15 partes de glicirrizina, 8-20 partes de hidróxi etil celulose e 10-25 partes de butanodiol. O uso do produto consiste em borrifar a formulação na parte interna do ânus, sendo absorvida pela mucosa anal (Xueqi *et al.*, 2016).

### *Palmilhas desodorantes com filtro embutido*

[KR 20160000145 A]

A presente invenção refere-se a uma palmilha de sapato embebida em um filtro levemente embebido como uma solução pirolenhosa para desodorização, capaz de obter continuamente efeitos antimicrobianos e anti-inflamatórios (Joon, Sang, 2016).

### *Spray contendo licor pirolenhoso de ramo de maçã e seu método de preparação*

[CN 111920863 A]

A invenção refere-se ao campo técnico da síntese de fármacos. O vinagre de madeira de ramos de macieira é uma solução mista com componentes bastante complexos. O extrato é produzido durante a pirólise ou destilação a seco dos ramos de poda (madeira) das maçãs. O componente principal é uma mistura líquida composta por mais de 200 componentes, como água, ácidos orgânicos, fenóis, cetonas e álcoois (Shengchun, Xiaohua, Yitao, 2020).

*Licor medicinal para o tratamento de artrite*

[CN105194445A]

A invenção refere-se a um licor medicinal para o tratamento de artrite. É composto por: erva *Lophatherum comum*, *Sarcandra glabra*, soluções pirolenhosas, *Hibiscus taiwanensis*, casca de raiz de hortênsia chinesa, entre outros componentes de origem natural (Canfeng, 2015).

*Composição multifuncional de um produto de saúde*

[CN 105831646 A]

A composição do produto multifuncional para a saúde compreende, em peso, 25-30 partes de nano pó, 1-3 partes de licor pirolenhoso de casca de semente de abóbora, 2-6 partes de ginseng americano, 10-15 partes de extrato de algas marinhas, 2-6 partes de *Agaricus brasiliensis*, 2-6 partes de Cardo Sagrado e 2-6 partes de *Gynostemma pentaphylla*. O produto descrito pode reduzir e prevenir a fadiga, sendo especialmente indicado para pacientes diabéticos (Yong, 2016).

*Método de fabricação de um sabonete de ervas*

[KR 20160040924 A]

A presente invenção refere-se a um método de fabricação de um sabonete de ervas com composição capaz de exercer diversas ações farmacológicas. É composto por uma mistura de várias ervas medicinais e extrato pirolenhoso. Os efeitos farmacológicos da invenção consistem em melhorar a circulação sanguínea na pele e prevenir a atopia (Jun, 2016).

*Colutório*

[CN 105560079 A]

A invenção revela um colutório compreendendo a seguinte composição em partes em peso: 65-110 partes de licor pirolenhoso, 5-15 partes de vitamina (B2), 1-5 partes de estearato de glicerila, 1-4 partes de inositol, 8-20 partes de naringina e 80-100 partes de água pura. O licor pirolenhoso é selecionado como desodorante e agente de limpeza, e são adicionados vitamina (B2), estearato de glicerila, inositol e naringina, para que a função de higiene bucal seja aprimorada; a vitamina (B2) pode tratar doenças bucais, o inositol pode aumentar a capacidade imunológica, a naringina pode desempenhar um efeito analgésico e

o estearato de glicerila desempenha papéis auxiliares na limpeza, permeação e absorção (Haixia *et al.*, 2016f).

*Líquido oral para tratamento de hipertensão*

[CN 104083471 A]

A invenção consiste em um líquido oral para o tratamento auxiliar da hipertensão. O líquido oral compreende 50-60 partes de licor pirolenhoso, 10-20 partes de *Bidens pilosa*, 4-6 partes de *Gynostemma pentaphylla* e 8-12 partes da erva *Agrimonia hairyvein*. A formulação pode ser usada com segurança, não apresenta efeitos colaterais ou tóxicos e pode ser administrada por longos períodos (Yongjun, 2014a).

*Composição farmacêutica para prevenir ou melhorar doenças do nariz*

[KR 20150128169 A]

A invenção refere-se a uma composição destinada ao tratamento de doenças nasais, principalmente rinite alérgica, sem causar sonolência típica de produtos destinados ao tratamento de distúrbios alérgicos. A formulação tem como princípios ativos: ácido acético, extrato pirolenhoso, borneol e mentol (Ki, 2015).

*Método de preparação do novo medicamento anticancerígeno contendo licor pirolenhoso de fitoterapia chinesa*

[CN 104083470 A]

A invenção consiste em um método de preparação de um novo fármaco com potencial anticancerígeno. As etapas de preparação da formulação são descritas a seguir: extração do licor pirolenhoso, separação dos componentes da formulação, adição de extrato de ervas chinesas e filtragem da formulação. A invenção não tem efeitos colaterais ou tóxicos e tem efeitos anticancerígenos definidos (Yongjun, 2014b).



*Agente terapêutico para dermatoses de animais de estimação contendo licor pirolenhoso e modo de preparo*

[CN 112402370 A]

O agente terapêutico para dermatite de animais de estimação é composto por um licor pirolenhoso, um antioxidante, um agente complexante de íon metálico e um co-solvente. O licor pirolenhoso é preparado por um processo específico que garante um alto efeito bactericida. Os demais componentes presentes na formulação garantem um efeito sinérgico sobre o licor pirolenhoso, potencializando o efeito bactericida. Os efeitos colaterais de componentes nocivos na pele do animal também são reduzidos (Qiuyan *et al.*, 2021).

*Solução de tratamento de tinea pedis*

[CN 105497079 A]

A solução de tratamento de tinea pedis é preparada a partir, em peso, de 65-95 partes de licor pirolenhoso, 3-15 partes de perborato de sódio, 1-5 partes de alantoína, 3-20 partes de ácido pseudolárico desmetilado e 5-15 partes de ácido fítico ácido. O licor pirolenhoso é um material vegetal natural e tem fortes funções antibacterianas, sendo o principal componente o ácido acético ( Haixia *et al.*, 2016g).

*Medicina tradicional chinesa para o tratamento da artrite reumatóide*

[CN 104367754 A]

A invenção consiste em um medicamento derivado da medicina tradicional chinesa. A formulação tem a seguinte composição em partes por peso: 10-15 partes de besouro moído, 10-15 partes de centopéia, 3-8 partes de extrato pirolenhoso, 5-9 partes de rizoma de inhame, 3-6 partes de bicho-da-seda, 3-8 partes de caroço de pêssigo, além de outros componentes orgânicos. O medicamento tem o efeito de melhorar a circulação sanguínea e reduzir os sintomas da artrite reumatóide (Xinsheng, Xiang, 2014).

O aumento do número de patentes dos países asiáticos se deve principalmente ao predomínio da Ásia como continente de origem das inovações tecnológicas. Hoje, as tecnologias derivadas de produtos naturais são de grande relevância no custo-benefício dos tratamentos clínicos. Os países da América Latina, principalmente o Brasil, possuem grande potencial na produção de biomassa vegetal, o que favorece a pesquisa clínica com o uso de extratos pirolenhosos. Esses extratos ainda possuem um grande campo de exploração na busca de entidades químicas com ação farmacológica.

## **CONCLUSÃO**

Essa prospecção tecnológica revelou um panorama atual da utilização de extratos pirolenhosos com aplicações medicinais, servindo de incentivo para o crescimento de pesquisas que buscam alternativas de tratamentos com melhores custos-benefícios. Verificou-se que o número de patentes ativas ainda é incipiente em relação ao possível potencial farmacológico desses extratos. O estudo mostrou a importância da prospecção tecnológica no mapeamento sistemático de inovações, influenciando significativamente no desenvolvimento de tecnologias que impactam positivamente a sociedade.

## **REFERÊNCIAS**

Balliano TL, Bispo MD, Soletti JI, Vieira WT, Amaral GV, Farias MB, Carvalho SHV, *et al.* Extrato pirolenhoso para o tratamento de infecções microbianas. Patente: BR 1020200137514 A2. Universidade Federal de Alagoas; 2022.

Boulard D, Graham R, Free B. Método de extração térmica para produzir um extrato de taxano. Patente: EP2007744 B1. Pharmatherm Chemicals Inc; 2017.

Campos, D. Informações Técnicas sobre Extrato Pirolenhoso. Circular Técnica nº 177. Embrapa Clima Temperado. 2018.

Canfeng G. Licor medicinal para o tratamento da artrite. Patente: CN 10519445 A. Gong Canfeng; 2015.

Casanova LM, Costa SS. Interações Sinérgicas em Produtos Naturais: Potencial Terapêutico e Desafios. *Rev Virtual Quim.* 2007; 9(2):575-595.

Casanova S, Vasconcelos J, Miranda A, Mansinho K, Fernandes C. Terapias Sistêmicas Não Biológicas Infecções Associadas em Dermatologia: Como Prevenir. J Port Soc Dermatol Venereol. 2021; 79(2):121-128.

Chiamenti L, Fratta L, Picoli S, Kreutz O, Morisso F, Moura A. Ação antibacteriana do licor pirolenhoso sobre coliformes. Revista conhecimento online. 2016; 2(8):47-44.

Chuah C, Loh S. Hygiene Wash. Patente: WO2019/221593 A1. Diamond Star Global. sdn. HD; 2019.

Chuah C, Loh, S. Produtos de higiene pessoal e seus métodos de fabricação. Patente: KR 20200143725 A. Diamond Star Global Sdn HD; 2020.

Dawei H. Líquido de fixação óssea para aplicação externa e método de preparação. Patente: CN 106039052 A. Huan Dawei; 2016.

Dian PHM, Joppert PER, Kozusny-Andreani DI, Soares VE, Belo MAA, Melo GMP, Pacheco MD. Atividade antimicrobiana de ácidos orgânicos com e sem extrato vegetal no controle *in vitro* de *Escherichia coli* e *Salmonella typhi*. ARS Veterinária. 2020; 36(4):236-241.

Etienne R, Viegas FPD, Viegas JrC. Aspectos fisiopatológicos da inflamação e planejamento de drogas: uma visão geral atualizada. Rev Virtual Quim. 2020; 13: 167-191.

Feldmanm PR. África e América do Sul: O futuro passa pela biodiversidade. Estudos Avançados. 2021; 35(102):111-123.

Félix CRO, Júnior AFA, Freitas CC, Pires CAM, Teixeira V, Frety R, *et al.* Pirólise rápida da biomassa de eucalipto na presença do catalisador Al-MCM-41. Revista Matéria. 2017; 22:1-11.

Gyu P. Componentes para sabão contendo ervas medicinais. Patente: KR 20170023234. Park Ok Gyu; 2017.

Haixia W, Zhong SI, Peiton H, Zang L, Hayun L, Jianshe H, *et al.* Composição para o tratamento de faringite aguda e crônica. Patente: CN 105708827A. Xinji Yuan Xiang Green Energy Tech Co Ltd; 2016a.

Haixia W, Zhong, SI, Peitong H, Zang L, Hayun L, Jianshe H, *et al.* Composição para o tratamento da bromidrose. Patente: CN 105616393 A. Xinji Yuan Xiang Green Energy Tech Co Ltd; 2016b.

Haixia W, Zhong SI, Peitong H, Zang L, Hayun L, Jianshe H, *et al.* Composição para o tratamento de hiperostose. Patente: CN 105663377 A. Xinji Yuan Xiang Green Energy Tech Co Ltd; 2016c.

Haixia W, Zhong SI, Peitong H, Zang L, Hayun L, Jianshe H, *et al.* Composição para o tratamento de úlceras orais. Patente: CN 105687248 A. Xinji Yuan Xiang Env Prot Energy Tech Co Ltd; 2016d.

Haixia W, Zhong SI, Peitong H, Zang L, Hayun L, Jianshe H, *et al.* Composição para tratar verrugas. Patente: CN 105663175 A. Xinji Yuan Xiang Green Energy Tech Co Ltd; 2016e.

Haixia W, Zhong SI, Peitong H, Zang L, Hayun L, Jianshe H, *et al.* Colutório. Patente: CN 105560079 A. Xinji Yuan Xiang Green Energy Tech Co Ltd; 2016f.

Haixia W, Zhong SI, Peitong H, Zang L, Hayun L, Jianshe H, *et al.* Solução de tratamento de tinea pedis. Patente: CN 105497079A. Xinji Yuan Xiang Green Energy Tech Co Ltd; 2016g.

Hirayma M. Agente terapêutico de doença de pele e método de produção do mesmo. Patente: JP 2020152709 A. Toso Eco Clean; 2021.

Hiroshi M, Shinya Y, Toru K. Low Formaldehyde Pyroligneous. Patente: JP 2018203852 A. Aomori Prefectural Industrial Tech Research Center; 2021.

Hiroyoshi I, Ayako, inibidor de M. Cox-2. Patente: JP 2015199717 A. Inoue Hiroyoshi, Mori Ayako; 2015.

Ho C. Composição para melhorar a pele atópica. Patente: KR 20170041149 A. Choi Yong Ho; 2017.

Ho W. Uso clínico de licor pirolenhoso. Patente: WO2020/204391 A2. Wang Sung Ho; 2020.

Hoffmann MG, Coral E, Jara R. Relações entre P&D, patentes e exportações em empresas brasileiras ativamente inovadoras. Revista B; 2014; 19(3):75-90.

Ibrahim D, Kassim J, She-Hong L, Rusli W. Eficácia do ácido pirolenhoso de *Rhizophora apiculata* em *Candida albicans* patogênica. J of Applied Pharm Sci. 2013; 3(07):07-13.

INPI – Instituto Nacional de Propriedade Industrial. Classificação de Patentes, 2015. [citado em 10 de março de 2022]. Disponível em: <https://www.gov.br/inpi/pt-br/servicos/patentes/classificacao>.

INPI – Instituto Nacional de Propriedade Industrial. Manual de Marcas: concessão, manutenção e cancelamento do registro, 2023. [citado em 16 de março de 2022]. Disponível em: <http://manualdemarcas.inpi.gov.br>.

Joon M, Sang Y. Palmilhas desodorizantes com filtro embutido. Patente: KR 20160000145 A. Daeduk College Iacf; 2016.

Jun P. Método de Fabricação para Massageador e Próprio. Patente: KR 20160040924 A. Pae Jung Jun; 2016.

Ki PD, Bum PH. Extrato de fermentação complexo e método de fabricação do mesmo. Patente: KR 20140021327 A. Park Dong Ki, Park Hoi Bum; 2014.

Ki YS. Composição farmacêutica para prevenir ou melhorar doenças do nariz e sonolência. Patente: KR 20150128169 A. Yoo Sang Ki; 2015.

Mueller LT, Oliveira KV, Morisso FDP, Kunst SR, Carone CLP, Oliveira CT. Influência da concentração de ácido acético presente no licor pirolenhoso na anodização do nióbio. Tecnol Metal Mater Min. 2021;18:1-9.

Néris RR, Magnabosco P, Amaral PA, Ribeiro MA, Anjos ACY. Indução de dor pelo medicamento quimioterápico docetaxel em mulheres com câncer de mama. *Acta Paul Enferm.* 2016; 29(4):397-404.

Paulino JF, Afonso JC. Da fama ao ostracismo: oito reagentes que saíram do ambiente laboratorial. *Quim Nova.* 2021; 44(10):1395-1403.

Pinto BCM, Simões FA, Moreira GF, Castro MM, Coscarelli LP, Castro MB, *et al.* Corticoterapia: manifestações oculares adversas. *EJCH.* 2020; 12(11):1-7.

Qiuyan S, Sol X, Shuren Y, Yunxiang L, Yanling W, Fang W, *et al.* Agente terapêutico para dermatose de animais de estimação contendo licor pirolenhoso e método de preparação. Patente: CN 112402370 A. Shandong Susha Ecological Dev Co Ltd, Shandong Vocational Animal Science & Veterinary College; 2021.

Santiago AR, Andrade AM. Carbonização de resíduos do processamento mecânico da madeira de eucalipto. *F Ciência, Santa Maria.* 2005; 15:1-7.

Schnitzer JA, Su MJ, Ventura MU, Faria RT. Doses de extratos pirolenhosos no cultivo de orquídeas. *Rev Ceren Viçosa.* 2015; 62:101-106.

.

Shengchun, H; Xiaohua, H; Yitao, W. Spray contendo licor pirolenhoso de ramo de maçã e método de preparação. Patente: CN 111920863A. Northwest A&F Univ, Shaanxi Jinjie Bioenergy Co Ltd; 2020.

Shinya Y, Toru K. Agente antifúngico e antifúngico contendo novos ácidos pirolenhosos como ingrediente ativo. Patente: JP 2018118955 A. Aomori Prefectural Industrial Tech Research Center; 2018.

Silva DW, Canepele E, Writzl TC, Steffler AD, Stein JES, War D, *et al.* Efeito do extrato pirolenhoso no desenvolvimento inicial de plantas de milho e feijão. *Rev Eletrônica Científica da UERGS.* 2021; 7:93-102.

Silva JF, Figueredo KA, Carvalho MGFMC. Produtos naturais para o tratamento da leishmaniose: uma perspectiva tecnológica. *Rev Cuban de Farm.* 2016; 50(02):1-13.

Silva LSS, Santos JS. Aplicabilidade de óleos vegetais em tônicos capilares: uma revisão. *R Sociedade e Desenvolvimento.* 2021; 10(15):1-12.

Siqing Z. Líquido antibacteriano contendo composição pirolenhosa e método de preparação de líquido antibacteriano. Patente: CN 111742936 A. Tangshan Jinhai Novo Mat Co Ltd; 2020.

Souza JLS, Guimarães VBS, Campos AD, Lund RG. Potencial antimicrobiano de extratos pirolenhosos – revisão sistemática e prospecção tecnológica. *Braz J Microbiol.* 2018; 49:128–139.

Vieira PR, Mokochinski JB, Palma LC, Lidoio VG, Halasz MRT Caracterização química do extrato pirolenhoso da carbonização. In: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 19 – 22 de outubro de 2014; Florianópolis/SC.

WHO – Organização Mundial da Saúde. História da COVID-19, 2022. [citado em 10 de junho de 2022]. Disponível em: <https://www.paho.org/en/covid19>.

WIPO – Organização Mundial da Propriedade Intelectual. Indicadores Mundiais de Propriedade Intelectual: uma pesquisa anual de benchmark da atividade de PI em todo o mundo, 2022. [citado em 20 de abril de 2023]. Disponível em: <https://wipo.int>.

WIPO – Organização Mundial da Propriedade Intelectual. Indicadores Mundiais de Propriedade Intelectual: mesmo com um cenário desafiador em 2022, os pedidos de patentes internacionais continuam em alta, 2022. [citado em 20 de abril de 2023]. Disponível em: <https://wipo.int>.

WIPO – Organização Mundial da Propriedade Intelectual. Indicadores mundiais de propriedade intelectual: pedidos de patentes, marcas registradas, desenhos industriais atingem recordes em 2018, 2019. [citado em 16 de março de 2022]. Disponível em: <https://wipo.int>.

Wu L. Composição para cuidados com a saúde e auxílio ao sono, adesivo para os pés usando o mesmo e método de preparação do adesivo para os pés. Patente: CN 109999073 A. Hangzhou Bixin Biotechnology Co Ltd; 2019.

Xinsheng C, Xiang W. Medicina tradicional chinesa para o tratamento da artrite reumatóide. Patente: CN 104367754 A. Cao Xinsheng; Wang Xiang; 2015.

Xueqi J, Haixia W, Jianshe H. Composição para tratamento de hemorróidas. Patente: CN 105748486 A. Xinji Yuan Xiang Green Energy Techology Co Ltd; 2016.

Yong Y. Composição multifuncional de produtos de saúde. Patente: CN 105831646 A. Ye Yong; 2016.

Yongium L; Líquido oral para o tratamento da hipertensão. Patente: CN 104083471 A. Li Yongium; 2014a.

Yongium L, Método de preparação da nova droga anticancerígena contendo licor pirolenhoso de fitoterapia chinesa. Patente: CN 104083470 A. Li Yongium; 2014b.

Zhixin H, Chao C. Produto antibacteriano para pé pirolenhoso e método de preparação do mesmo. Patente: CN 112190626 A. Tangshan Xinyanuo Biotechnology Co Ltd; 2021.



**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL LEISHMANICIDA DE  
EXTRATOS PIROLENHOSOS**

**Fábio Souza Moura** <sup>1,5</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-7705-0159>

**Éder da Silva Rocha Santos** <sup>3,5</sup>, <https://orcid.org/0009-0005-0333-4078>

**Márcio Thomaz dos Santos Varjão** <sup>2,5</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-9916-1490>

**João Kaycke Sarmiento da Silva** <sup>2,5</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-5962-7858>

**Camilla Amanda de O. Gomes** <sup>1,5</sup>, <https://orcid.org/0009-0001-3052-8645>

**Andressa Letícia Lopes da Silva** <sup>1,5</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-0952-7613>

**Mozart Daltro Bispo** <sup>4,7</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-9159-3811>

**Cibelle de M. B. Cavalcante** <sup>2,5</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-2641-5290>

**João Inácio Soletti** <sup>4,7</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-7758-9939>

**Sandra Helena Vieira de Carvalho** <sup>4,7</sup>, <https://orcid.org/0000-0003-2891-38590>

**Alysson Wagner F. Duarte** <sup>3,6</sup>, <https://orcid.org/0000-0001-9626-7524>

**Magna Suzana Alexandre Moreira** <sup>2,5</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-9979-1994>

**Aline Cavalcanti de Queiroz** <sup>1,3,5,6 \*</sup>

**Afiliação**

1 – *Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Instituto de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alagoas – UFAL.*

2 – *Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas – UFAL.*

3 – *Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Alagoas – UFAL.*

4 – *Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Centro Tecnológico, Universidade Federal de Alagoas – UFAL.*

5 – *Laboratório de Farmacologia e Imunidade, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas – UFAL.*

6 – *Laboratório de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Complexo de Ciências Médicas, Universidade Federal de Alagoas – UFAL.*

7 – *Laboratório de Sistemas de Separação e Otimização de Processos, Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Alagoas – UFAL.*

**autor correspondente\***

Telefone: +55 (82) 99669-7317. E-mail: [aline.queiroz@arapiraca.ufal.br](mailto:aline.queiroz@arapiraca.ufal.br)

Universidade Federal de Alagoas, *Campus Arapiraca*, Alagoas, Brasil.

CEP 57309-005, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6362-2726>.

## RESUMO

Nos últimos anos, estudos têm demonstrado que diversos compostos de origem vegetal apresentaram ação leishmanicida. A leishmaniose é uma patologia de grande significância epidemiológica e sua terapia convencional pode causar sérios efeitos colaterais sistêmicos. Em vista desse problema, o presente trabalho visa a explorar a atividade leishmanicida de extratos pirolenhosos provenientes do bioma brasileiro. Os ensaios farmacológicos demonstraram que os extratos pirolenhosos testados apresentaram um elevado efeito leishmanicida contra as formas promastigotas de *L. (L.) amazonensis* e *L. (L.) chagasi*, porém apresentaram ação citotóxica contra as células hospedeiras do parasito.

## INTRODUÇÃO

Como a variabilidade quanto à eficácia do tratamento com antimonialis na leishmaniose tem sido um problema recorrente, fármacos alternativos e novas formulações têm sido desenvolvidos. A busca de compostos que possibilitem o desenvolvimento de novos fármacos efetivos, mais seguros, com baixo custo, sem efeitos colaterais e que não induzam resistência, é essencial (Sen, Chatterjee, 2011).

Dois parâmetros principais são utilizados nessa busca por novas ações terapêuticas para compostos de origem vegetal: a avaliação de informações etnomédicas e “screening” de diversas espécies de plantas. O primeiro se apresenta mais eficaz por se basear no conhecimento popular. Numerosos compostos de origem vegetal têm-se mostrado com potenciais atividades antiparasitárias em modelos *in vitro* e *in vivo* (Gonçalves, 2017).

Vegetais, microrganismos e organismos marinhos constituem fontes valiosas de novos fármacos, sendo responsáveis direta ou indiretamente pelas novas moléculas aprovadas como agentes terapêuticos. Entidade químicas

provenientes da biodiversidade constituem fontes essenciais para o desenvolvimento de tratamentos mais acessíveis (Newman, Cragg, 2020).

Estudos têm relatado atividade leishmanicida de extratos de várias plantas, dentre as quais podemos mencionar a *Kalancho epinnata*, *Plumbago candens*, *Physalis angulata*, *Piper aduncum*, *Tabernaemontana australis* e *Phyllanthus amarus*. Esses vegetais poderão servir de base para o desenvolvimento de formulações para o tratamento da leishmaniose e representam oportunidades para a inovação em medicamentos a partir da biodiversidade brasileira (Oliveira *et al.*, 2013). A necessidade de alinhar os investimentos em pesquisas e desenvolvimento em saúde às demandas sanitárias dos países em desenvolvimento é um dos mais complexos desafios globais de saúde pública da atualidade (Lima, Dalleri, 2020).

Diante desse cenário os extratos pirolenhosos têm chamado a atenção de muitos pesquisadores, haja vista que o seu beneficiamento pode contribuir para o desenvolvimento de entidades químicas com potencial farmacológico. Junto a isto, o uso da fumaça proveniente da combustão da biomassa vegetal, utilizada para a produção do Extrato Pirolenhoso (EP), colabora de forma decisiva na redução das emissões gasosas que tanto afetam o meio ambiente (Vieira *et al.*, 2014).

EP, também chamado de ácido pirolenhoso, fumaça líquida, ou vinagre de madeira, é um condensado bruto produzido a partir da destilação da fumaça gerada na carbonização da madeira. Este extrato é uma mistura complexa de compostos derivados da decomposição química dos componentes da madeira através da condensação de vapores e gases gerados durante a pirólise em uma quantidade limitada de oxigênio. (Souza *et al.*, 2018).

O presente estudo tem o objetivo de avaliar ação citotóxica de extratos pirolenhosos provenientes do bioma brasileiro em células de macrófagos da linhagem J774.A1 e sua atividade leishmanicida contra as formas promastigotas de *L. (L.) chagasi* e *L. (L.) amazonensis*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### *EP's testados*

Foram testados 7 EP's provenientes do bioma brasileiro, conforme descrição apresentada na tabela I. As concentrações dos extratos oriundas das respectivas diluições, utilizados nos ensaios farmacológicos, estão expressos na tabela II.

Tabela I – Descrição das espécies vegetais utilizadas na produção dos extratos

<b>Nome Científico</b>	<b>Nome Popular</b>	<b>Biomassa</b>
<b><i>Cocos nucifera</i></b>	Coco	Mesocarpo do fruto
<b><i>Dipteryx alata</i></b>	Baru	Tecido lenhoso
<b><i>Elaeis guineenses</i></b>	Dendezeiro	Tecido lenhoso
<b><i>Eucalyptus</i></b>	Eucalipto	Tecido lenhoso
<b><i>Mimosa tenuiflora</i></b>	Jurema Roxa	Tecido lenhoso
<b><i>Pennisetum purpureum</i></b>	Capim Elefante	Tecido Lenhoso
<b><i>Syagrus coronata</i></b>	Ouricuri	Mesocarpo do fruto

Nota: pirólise a 400°C com taxa de aquecimento de 10°C/minuto e tempo de residência de 2 horas.

Estudos demonstram que a taxa e o tempo de aquecimento contribuem significativamente com o rendimento dos produtos provenientes da pirólise da biomassa vegetal. Em geral, a alta densidade do tecido lenhoso é uma propriedade física que costuma aumentar os rendimentos gravimétricos do carvão vegetal podendo influenciar na quantidade de EP produzido. Além disso, maior teor de lignina resulta em maior rendimento de carvão, pois a lignina é mais resistente à decomposição térmica e permanece como um resíduo sólido durante e após a pirólise (Medeiros *et al.*, 2019).

Nesse contexto, pode-se constatar que o rendimento de extrato pirolenhoso produzido durante a pirólise está diretamente relacionado com as condições de carbonização, as características químicas e físicas do tecido vegetal utilizado e ao tempo de residência durante o processo de combustão (Júnior *et al.*, 2018).

Tabela II – Concentrações dos extratos em suas respectivas diluições

<b>Nome Científico</b>	<b>1:200</b>	<b>1:400</b>	<b>1:800</b>	<b>1:1600</b>	<b>1:3200</b>	<b>1:6400</b>
<b><i>Cocos nucifera</i></b>	3867,00	1933,50	966,75	483,37	241,68	120,84
<b><i>Dipteryx alata</i></b>	4986,00	2493,00	1246,50	623,25	311,62	155,81
<b><i>Elaeis guineenses</i></b>	3847,00	1923,50	961,75	480,87	240,43	120,21
<b><i>Eucalyptus</i></b>	3780,00	1890,00	945,00	472,50	236,25	118,12
<b><i>Mimosa tenuiflora</i></b>	3694,00	1847,00	923,50	461,75	230,87	115,43
<b><i>Pennisetum purpureum</i></b>	3849,00	1924,50	962,25	481,12	240,56	120,28
<b><i>Syagrus coronata</i></b>	3798,00	1899,00	949,50	474,75	237,37	118,68

Nota: concentrações expressas em µg/ml.

#### *Análises cromatográficas*

Foi realizado a extração líquido-líquido dos principais compostos orgânicos utilizando o método adaptado por Sandes e colaboradores. Foi empregado o solvente diclorometano P.A. 99,8% pureza. Adicionou-se 2ml da fase aquosa do EP em análise e 1ml do solvente em um tubo de ensaio de 10ml. Com o auxílio de uma pipeta a solução foi homogeneizada em um agitador vórtex a 2.800 RPM e aguardou-se a separação das fases por 10 minutos. Para garantir a total extração dos compostos orgânicos, realizou-se mais 3 vezes a etapa de extração usando 1mL de diclorometano (1mL).

Após a extração líquido – líquido (ELL), as amostras foram preparadas a uma concentração de 1.000 mg/L e injetadas no cromatógrafo gasoso acoplado a espectrometria de massa para interpretação dos compostos oriundos dos EP's.

A caracterização dos EP's após ELL foram realizados por GC/MS, modelo GC/MSQP2010 PLUS, da marca Shimadzu, com uma coluna DB5 (poli-dimetil siloxano com 5% de grupos fenila) com 60 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura (J&W Scientific, Agilent Technologies, EUA). As condições cromatográficas foram otimizadas a partir da literatura, tendo por base no trabalho de Sandes *et al.*, (2021). Foram injetados 1 µL das amostras no modo *split* no injetor a 280 °C. O programa de temperatura do GC

iniciou em 40 °C por 2 min, o forno foi aquecido até 300 °C a uma taxa de 4 °C min<sup>-1</sup> permanecendo a essa temperatura por 5 min.

O processamento de dados do cromatográficos monodimensionais foi realizado pelo software GCMS-Solution (Shimadzu), e para a comparação dos compostos foi utilizada a biblioteca NIST-08, sendo considerados identificados os compostos com similaridade maior que 90%.

### **Ensaio Farmacológicos *in vitro***

#### *Manutenção da Linhagem de Macrófagos*

Células de macrófagos da linhagem J774. A1 foram mantidas em garrafas para cultura celular com 10 ml de meio RPMI (Roswell Park Memorial Institute – 1640) enriquecido com 1% de L – glutamina, 1% de piruvato, 1% de aminoácidos não essenciais, 10% de soro bovino fetal (SBF) e mantido em estufa com os parâmetros de 37°C, 95% de umidade e 5% de CO<sub>2</sub>.

#### *Manutenção das formas promastigotas de *L. amazonensis* e *L. chagasi**

As formas promastigotas de *L. chagasi* e *L. amazonensis* foram mantidas em garrafas de cultura celular com 10 ml de meio Schneider enriquecidos com 10% de SBF, 2 mM de L-glutamina, 2% de urina humana e incubadas em estufa de Demanda Bioquímica de Oxigênio (BOD) a 27°C.

#### *Ensaio da Determinação da Viabilidade Celular*

Macrófagos da linhagem J774.A1 foram cultivados em placas de 96 poços na concentração de 5x10<sup>4</sup> de células por poço e incubadas “overnight” em estufa com 37°C. Em seguida, foram retiradas as células não aderentes nos poços da placa, sendo preenchido com 200µl em triplicata com os EP's em estudo nas concentrações de 0,5% (1:200); 0,25% (1:400); 0,125% (1:800); 0,0625% (1:1600); 0,03125% (1:3200); 0,015625% (1:6400). Foi utilizado como fármaco padrão a pentamidina. A placa foi incubada por 48H. Nos poços controles havia apenas o meio de cultura necessário para o desenvolvimento celular. A viabilidade das células de macrófagos foi determinada através do ensaio de redução de MTT – 3-(4,5-dimetiltiazol-2yl) -2,5-difenil brometo de tetrazolina – realizando a leitura das absorbâncias em espectrofotômetro a 550nm.

### *Ensaio Determinação de Viabilidade de Promastigotas de Leishmania*

As formas promastigotas de *L. chagasi* e *L. amazonensis*, foram centrifugadas e posteriormente ressuspensas em meio Schneider enriquecido para se obter uma concentração de  $1 \times 10^5$  parasitos/ml. Em seguida, alíquotas de 100µl foram distribuídas na placa de 96 poços. Foram adicionados em triplicata os EP's nas concentrações de 0,5% (1:200); 0,25% (1:400); 0,125% (1:800); 0,0625% (1:1600); 0,03125% (1:3200); 0,015625% (1:6400). Foi utilizado como fármaco padrão a pentamidina. A placa foi incubada em estufa BOD a 27°C por 48H. Após esse período, o número de parasitos foi determinado com o auxílio da câmara de Neubauer, em microscópio óptico.

### **Análise Estatística**

A análise dos dados obtidos dos ensaios *in vitro* foram realizadas por meio do teste estatístico ANOVA e o teste de Turkey, utilizando o Graph Pad Prism 5 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA Statistical).

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### *Caracterização cromatográfica*

Os EP's foram caracterizados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas utilizando uma abordagem semi-quantitativa. Os constituintes foram identificados por similaridade e comparação dos espectros de massas (>90%) obtidos com os fornecidos pela biblioteca do equipamento (NIST 08). O perfil cromatográfico dos extratos em estudo está representado na figura 1.

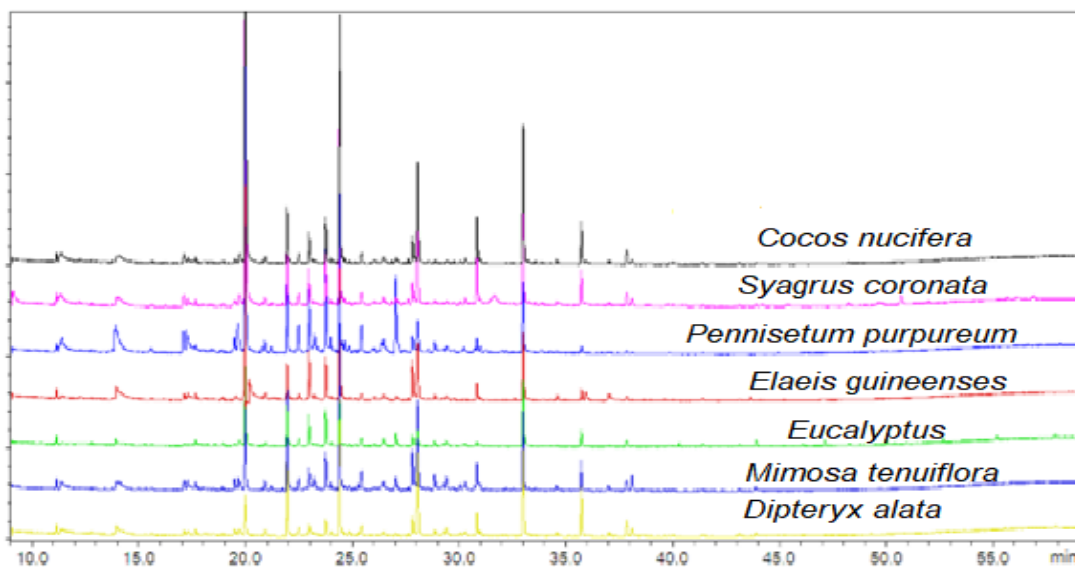


Figura 1. Análise comparativa dos perfis cromatográficos

Segundo a comparação dos cromatogramas realizada na figura 1, pode ser observado que a análise realizada por cromatografia gasosa se mostrou satisfatória com base vista na literatura, identificando classes de compostos como: ésteres, éteres, fenóis, aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos, nitrocompostos, hidrocarbonetos aromáticos, saturados e olefinas (Almeida *et al.*, 2013; Bok *et al.*, 2012). Através da análise dos percentuais das áreas de picos foi possível identificar pouca variação na concentração e composição química EP's avaliados.

Altos níveis de compostos fenólicos foram revelados pela análise dos cromatogramas. As altas concentrações dessas moléculas estão associadas a clivagem das ligações éter de lignina e carbono-carbono na biomassa lenhosa (Medeiros *et al.*, 2019). Estudos relatam que a toxicidade do líquido pirolenhoso está relacionada principalmente à presença de hidrocarbonetos aromáticos, sendo evidenciado como causadores de mutagenicidade e genotoxicidade em células somáticas *in vivo* e em bioensaios (Campos, 2018).

No entanto, os compostos fenólicos tem atraído considerável interesse visto que são reconhecidos pela ampla gama de atividades biológicas que apresentam. Entre os representantes desses compostos estão os polifenóis



como a curcumina, as cumarinas e os benzopiranos, consolidados como moléculas com atividade antioxidante e antiparasitária (Silva, 2012)

#### *Ensaio da Viabilidade Celular*

Foi realizado o ensaio de viabilidade celular dos EP's sobre macrófagos da linhagem J774.A1 através do método MTT, avaliando-se o nível de citotoxicidade para os macrófagos nas concentrações testadas. Os resultados estão expressos na tabela III

Tabela III - Efeito dos extratos pirolenhos sobre a viabilidade celular de macrófagos da linhagem J774. A1

Tratamento	CI 50 (IC 95%)	Citotoxicidade Máxima (%)
<b>EP do <i>Eucalyptus</i></b>	0,22% (0,18 - 0,25)	63,79 ± 0,28***
<b>EP da <i>Mimosa tenuiflora</i></b>	0,06% (0,05 - 0,07)	91,06 ± 0,70***
<b>EP do mesocarpo do <i>Syagrus coronata</i></b>	0,07% (0,06 - 0,08)	89,34 ± 0,38***
<b>EP do <i>Elaeis guineensis</i></b>	0,11% (0,08 - 0,14)	89,59 ± 0,25***
<b>EP <i>Dipteryx alata</i></b>	0,25% (0,13 - 0,56)	94,86 ± 0,14***
<b>EP do Mesocarpo <i>Cocos nucifera</i></b>	0,12% (0,06 - 0,24)	94,96 ± 0,36***
<b>EP do <i>Pennisetum purpureum</i></b>	0,17% (0,10 - 0,30)	95,13 ± 0,09***

Nota: CI 50 (IC 95%) consiste na concentração necessária para alcançar 50% de inibição com intervalo de confiança de 95%. Efeito máximo expresso como média ± desvio padrão da média. Os valores de efeito máximo foram considerados significativos quando \*p < 0,05, \*\*p < 0,01 e \*\*\*p < 0,001 quando comparados ao meio. O fármaco padrão (Pentamidina) apresentou citotoxicidade 44,36 ± 0,51% com CI 50 de 0,19%.

Todos os EP's utilizados no ensaio apresentaram atividade letal significativa para os macrófagos da linhagem J774.A1 nas concentrações testadas em relação às células tratadas com meio específico para o desenvolvimento celular. Os efeitos citotóxicos observados foram maiores que o apresentado pelo fármaco padrão (44,46%). O EP do *Pennisetum purpureum* (95,13%), dentre os extratos testados, foi o que apresentou maior citotoxicidade. Já o EP do *Eucalyptus* (63,79%) foi o que se apresentou com a menor ação tóxica para as células testadas.

*Ensaio de Viabilidade de Promastigotas de Leishmania*

Avaliando-se uma possível atividade leishmanicida dos EP's em estudo, foi realizado o ensaio de viabilidade de promastigota de *L. amazonensis* e *L. chagasi*. O fármaco padrão escolhido foi a pentamidina, medicamento preconizado pelo Ministério da Saúde (Brasil) para o tratamento da LV e LT. As tabelas IV e V apresentam os resultados dos ensaios farmacológicos realizados.

Tabela IV - Efeito leishmanicida dos extratos pirolenhos contra promastigota de *L. amazonensis*

Tratamento	CI 50 (IC 95%)	Efeito Máximo	Índice de Seletividade
EP do <i>Eucalyptus</i>	0,26% (0,16 – 0,44)	100% ± 0,00%	0,84
EP da <i>Mimosa tenuiflora</i>	0,01% (0,01 – 0,02)	100% ± 0,00%	6,00
EP do mesocarpo do <i>Syagrus coronata</i>	0,05% (0,02 – 0,12)	100% ± 0,00%	1,40
EP <i>Dipteryx alata</i>	0,18% (0,01 – 0,40)	100% ± 0,00%	1,38
EP do Mesocarpo <i>Cocos nucifera</i>	0,03% (0,02 – 0,05)	100% ± 0,00%	4,00
EP do <i>Pennisetum purpureum</i>	0,02% (0,01 – 0,03)	100% ± 0,00%	8,50
EP <i>Elaeis guineenses</i>	0,05% (0,02 – 0,10)	100% ± 0,00%	2,2

Nota: CI 50 (IC 95%) – concentração necessária para alcançar 50% de inibição com intervalo de confiança de 95%. Efeito máximo expresso como média ± desvio padrão da média. Os valores de efeito máximo foram considerados significativos quando \*p < 0,05, \*\*p < 0,01 e \*\*\*p < 0,001 quando comparados ao meio. Índice de Seletividade calculado a partir da razão CI 50 de macrófagos com CI 50 de promastigota de *L. amazonensis*. O fármaco padrão (Pentamidina) apresentou efeito leishmanicida (100%) com CI 50 de 1,1 ± 0,43 µM.

De acordo com os dados observados na Tabela IV, os EP's apresentaram um elevado efeito leishmanicida (100% ± 0,00%). Todos os EP's utilizados no ensaio apresentaram uma potente atividade contra *L. amazonensis* com CI<sub>50</sub> variando de 0,01% (73,80µg/ml - *Mimosa tenuiflora*) a 0,26% (1965,6 µg/ml - *Eucalyptus*).

Tabela V - Efeito leishmanicida dos extratos pirolenhosos contra promastigota de *L. chagasi*

Tratamento	CI 50 (IC 95%)	Efeito Máximo	Índice de Seletividade
EP do <i>Eucalyptus</i>	0,04% (0,02 – 0,09)	100% ± 0,00%	5,5
EP da <i>Mimosa tenuiflora</i>	0,07% (0,04 – 0,12)	100% ± 0,00%	0,85
EP do mesocarpo do <i>Syagrus coronata</i>	0,09% (0,05 – 0,14)	100% ± 0,00%	0,77
EP <i>Dipteryx alata</i>	0,22% (0,10 – 0,56)	100% ± 0,00%	1,13
EP do Mesocarpo <i>Cocos nucifera</i>	0,18% (0,09 – 0,40)	100% ± 0,00%	0,66
EP do <i>Pennisetum purpureum</i>	0,04% (0,02 – 0,08)	100% ± 0,00%	4,25
EP <i>Elaeis guineenses</i>	0,03% (0,01 – 0,07)	100% ± 0,00%	3,66

Nota: CI 50 (IC 95%) – concentração necessária para alcançar 50% de inibição com intervalo de confiança de 95%. Efeito máximo expresso como média ± desvio padrão da média. Os valores de efeito máximo foram considerados significativos quando \*p < 0,05, \*\*p < 0,01 e \*\*\*p < 0,001 quando comparados ao meio. Índice de Seletividade calculado a partir da razão CI 50 de macrófagos com CI 50 de promastigota de *L. chagasi*. O fármaco padrão (Pentamidina) apresentou efeito leishmanicida (100%) com CI 50 de 1,1 ± 0,43 µM.

Os efeitos leishmanicidas apresentados na tabela V nos ensaios farmacológicos para a forma promastigota de *L. chagasi* foram os mesmos apresentados na espécie *L. amazonensis*. Para a forma promastigota de *L. chagasi* o EP da *Elaeis guineenses* foi o que apresentou maior potência com CI 50 de 0,03% (230,82µg/ml). No entanto as suas concentrações inibitórias foram semelhantes nas espécies de promastigotas testadas. O EP do *Eucalyptus* foi o que apresentou a maior amplitude no valor da concentração inibitória apresentada, com CI 50 variando de 0,04% (302,40µg/ml) para a espécie *L. chagasi* a 0,26% (1965,60µg/ml) para a espécie *L. amazonensis*.

Já foi evidenciado na literatura ação anti-*Leishmania* de compostos fenólicos oriundos de produtos naturais. Alguns autores sugerem que a atividade leishmanicida consiste no comprometimento da funcionalidade de mitocôndrias do parasito, através da inibição do complexo respiratório II, levando ao comprometimento da produção de ATP e consequentemente danos ao metabolismo energético (Nunes *et al.*, 2021).

Diante da elevada toxicidade apresentada pelos fármacos atualmente disponíveis (Bapela *et al.*, 2017) e, em alguns casos, resistência por parte do parasito (Sandjo *et al.*, 2016), inúmeras pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de encontrar novas alternativas para o tratamento da leishmaniose. Nesse contexto, chama-se a atenção para o foco em compostos oriundos de plantas, as quais podem apresentar moléculas que tragam resultados promissores. É importante salientar que a forma de extração dos componentes pode interferir diretamente na ação farmacológica do extrato obtido (Santos *et al.*, 2016). A toxicidade do líquido pirolenhoso é dependente do método de extração (Campos, 2018).

Dado o exposto, podemos constatar a importância da implementação de pesquisas que visem a obtenção de novas moléculas com potencial terapêutico provenientes de produtos naturais. O Brasil possui um grande potencial na produção de biomassas que possam ser utilizadas em pesquisas com o objetivo de desenvolver novas tecnologias com finalidade terapêutica. Os EP's ainda permanecem um grande campo de investigação.

## **CONCLUSÃO**

Através dos ensaios realizados foi possível constatar o elevado potencial leishmanicida dos EP's testados. A alta citotoxicidade para as células de macrófagos, a baixa seletividade e a presença de compostos químicos nocivos às células dos mamíferos são fatores que atualmente inviabilizam a utilização desses extratos como possíveis candidatos a fármacos leishmanicidas.

## **REFERÊNCIAS**

Almeida TM, Bispo MD, Cardoso ART, Migliorini MV, Schena T, Campos MCV, *et al.* Preliminary Studies of Bio-oil from Fast Pyrolysis of Coconut Fibers. *J. Agric. Food Chem.* 2013; 61(28):6812–6821.

Bapela MJ, Kaiser M, Meyer JJM. South African Journal of Botany Antileishmanial activity of selected South African plant species. *South African Journal of Botany.* 2017; 108:342-245.

Bok JP, Choi HS, Choi YS, Park HC, Kim SJ. Fast pyrolysis of coffee grounds: Characteristics of product yields and bio oil crude quality. *Energy*, 2012; 47(1): 17-24.

Campos, D. Informações Técnicas sobre Extrato Pirolenhoso. Circular Técnica nº 177. Embrapa Clima Temperado. 2018

Gonçalves, T. Estudo in vitro e in vivo da atividade Leishmanicida do extrato acetato de etila de *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. frente à *Leishmania (Viannia) braziliensis*. [Tese de Doutorado]. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), 2017.

Medeiros LCD, Pimenta AS, Braga RM, Carnaval TKA, Neto PNM, Melo DMA. Effect of pyrolysis heating rate on the Chemical composition of wood vinegar from *Eucalyptus* and *Mimosa tenuiflora*. 2019. Revista *Árvore*; 43(4):1-11.

Júnior AFD, Andrade CR, Protásio TP, Melo ICNA, Brito JO, Truguilho PF. Pyrolysis and wood by-products of spicies from the Brazilian semi-arid region. *Sci. For.*, Piracicaba. 2018; 46(117):65-75.

Lima J, Dallari AS. Estratégia global sobre saúde pública, inovação e propriedade intelectual: estabelecimento de uma ordem de prioridade das necessidades de pesquisa e desenvolvimento no Brasil. *Saúde Soc.* 2020; 29(2):1-13.

Newman J. Cragg M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *J. Nat. Prod.* 2020; 83:770-803.

Nunes J. Avaliação da atividade anti-*Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* de compostos fenólicos em hamster dourado. [Tese de Doutorado]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Pós-Graduação em Fisiopatologia Experimental, 2021.

Oliveira LFG, Gilbert B, Bôas GKV. Oportunidades para inovação no tratamento da leishmaniose usando o potencial das plantas e produtos naturais como fontes de novos fármacos. *Revista Fitos.* 2013; 8(1):33-42.

Sandes LVO, Vieira WT, Albuquerque AA, Bezerra PXO, Ribeiro LMO, Carvalho SHV, *et al.* Pyrolysis of Lignocellulosic Waste from Second-Generation Ethanol Industry. *Sugar Tech.* 2021; 23:615-626.

Santos ES, Garcia FP, Outuki PM, Hoscheid J, Goes RN, Cardozo-Filho L, *et al.* Optimization of extraction method na devaluation of antileishmanial activity of oil and nanoemulsions of *Pterodon pubescens* benth. Fruit extracts. *Experimental Parasitology*. 2016; 170:252-260.

Sen R, Chatterjee M. Plant derived therapeutics for the treatment of Leishmaniasis. *Phytomedicine*. 2011; 18(12):1056-1069.

Silva F. Modificação estrutural de compostos fenólicos de origem natural e avaliação de suas atividades biológicas. [Dissertação de Mestrado]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2012.

Souza JLS, Guimarães VBS, Campos AD, Lund RG. Antimicrobial potential of pyroligneous extracts – a systematic review technological prospecting. *Brazilian journal of microbiology*. 2018; 49:128–139.

Vieira PR, Mokochinski JB, Palma LC, Lidoio VG, Halasz MRT. Caracterização química do extrato pirolenhoso da carbonização. In: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 19 – 22 de outubro de 2014; Florianópolis/SC.

## CONCLUSÕES

A prospecção tecnológica mostrou um panorama atual da utilização dos extratos pirolenhos com ação terapêutica, mostrando a importância da realização desse estudo para o incremento de novas tecnologias que busquem tratamentos mais custos-efetivos.

O ensaio experimental constatou um elevado efeito leishmanicida ( $100\% \pm 0,00$ ) dos extratos pirolenhos em estudo contra as formas promastigotas das espécies *L. amazonensis* e *L. chagasi* com uma alta concentração de compostos fenólicos. Os extratos da *Mimosa tenuiflora* ( $CI_{50} - 0,01\%$ ) e da *Elaeis guineenses* ( $CI_{50} - 0,03\%$ ) foram os que demonstram as maiores potências sobre as espécies *L. amazonensis* e *L. chagasi*, respectivamente. Além disso, o ensaio de viabilidade celular mostrou efeito citotóxico sobre as células de macrófagos da linhagem J774. A1, não apresentando efeito seletivo contra as células do parasito.

Os resultados obtidos prospecção tecnológica associados aos que foram evidenciados nos ensaios farmacológicos indicam que estudos precisam ser implementados a fim de se avaliar a segurança na utilização desses extratos com finalidade terapêutica.

## REFERÊNCIAS

ANVERSA, LA; TIBURCIO, MGS; PEREIRA, VBR; *et al.* Human leishmaniasis in Brazil: A general review. *Rev Assoc Med Bras.* 2018; 64(3): 281-289

ALMEIDA, R. Potencial do Extrato Pirolenhoso da Madeira do Eucalipto como Agente Conservante de Cosmético e Saneante. [Tese de Doutorado]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Programa: Recursos Florestais. 2012.

ALVAR, J; CROFT2, S; OLLIARO, P. Chemotherapy in the Treatment and Control of Leishmaniasis. *Adv Parasitol.* 2006; 61: 223-274.

ARAÚJO, E. Potencial antibacteriano e antifúngico do extrato pirolenhoso. [Dissertação de mestrado]. Macaíba: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Programa de Pós - Graduação em Ciências Florestais. 2018.

BAÑULS, M; HIDE, M. & PRUGNOLLE, F. Leishmania and the leishmaniasis: a parasite genetic update and advances in taxonomy, epidemiology and pathogenicity in humans. *Advances in Parasitology.* 2007; 64: 1-109.

BAPELA, MJ; KAISER, M; MEYER, JJM. South African Journal of Botany Antileishmanial activity of selected South African plant species. *South African Journal of Botany.* 2017; 108: 342-245.

BASTOS, M; BOECHAT, N; HOELZ, LVB; *et al.* Quimioterapia Antileishmania: Uma Revisão da Literatura. *Rev Virtual Quim.* 2016; 8(6): 2072-2104.

BISPO, M. Caracterização epidemiológica e análise espaço – temporal dos casos de leishmaniose visceral e tegumentar em Alagoas, Brasil. *Diversita, Journal.* 2022; 7(3): 1261 – 1274.

BOLZANI, V. Biodiversidade, bioprospecção e inovação no Brasil. *Ciênc Cult.* 2016; 68(1): 4-5.

BATISTA, CP; MENEZES, CAC; LIMA, IM. *et al.* Obtenção do ácido pirolenhoso proveniente da combustão da madeira de Eucalipto, sua aplicação como bioestimulante e influencia no solo de cultivo do feijão. Orientadora: Cleide da Silva Mariano. 2013. TCC (Graduação) – Curso de Tecnologia em Processos Químicos, Faculdade Pentágono, Santo André - SP, 2013.



BLANCO, VR; NASCIMENTO - JÚNIOR, NM. Leishmaniasis: General Aspects Related with the Disease, the Parasite Cycle, Available Drugs, Novel Prototypes and Vaccines. *Rev. Virtual Quim.* 2017; 9(3): 861-876.

BLASI, TA. Complexidade da interação *Leishmania flebotomíneo*: Do estudo de moléculas envolvidas na adesão do parasita ao tubo digestivo à análise do papel de citocinas-like na modulação da resposta imune do vetor. [Tese de Doutorado]. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, Pós Graduação em Biologia Celular e Molecular. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico. Doenças Tropicais Negligenciadas. Brasília: Ministério da Saúde, 2021.

CAMPOS, A. Técnicas para produção de extrato pirolenhoso para uso agrícola. Circular Técnica, 65. Embrapa: Clima Temperado, Pelotas, RS, 2007.

CAMPOS, A. Informação técnica sobre Extrato Pirolenhoso. Circular Técnica, 177. Embrapa: Clima Temperado, Pelotas, RS, 2018.

CARVALHO, G; KEDE, M. Doenças transmissíveis e Negligenciadas Relacionadas à Pobreza: Uma Revisão Bibliográfica. *Rev Geoconexões Online.* 2022; 1: 122-137.

CARVALHO, LP; PASSOS, ST; JESUS, AR. Imunopatogênese da Leishmaniose Tegumentar. *Gaz Méd Bahia.* 2005; 75(1): 57-65.

CAVALIER - SMITH, T. A revised six-kingdom system of life." *Biol Rev Camb Philos Soc*".1998. 73: 203-266.

CDC – Centers for Disease Control and Prevition. Leishmaniasis. [Citado em 23 de Julho de 2022]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis>

CDC – Centers for Disease Control and Prevition. Neglected Tropical Diseases [Citado em 23 de Julho de 2022]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/globalhealth/ntd/diseases/index.html>

COMANDOLLI - WYREPKOWSKI, CD; PAZ, AC; JENSEN, BB. *et al.* Aspectos farmacológicos da terapia medicamentosa utilizada para a leishmaniose cutânea: uma revisão de literatura. *REAS.* 2020; 12(8): 1-10.

CONCEIÇÃO-SILVA, F. ALVES, CR. comps. Leishmanioses: uma apresentação. In: Leishmanioses do continente americano [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2014, pp. 17-26. ISBN 978-85- 7541-568-9.

COSTA - LOTUFO, LV; WILKE, DV; JIMENEZ, PC. Organismos Marinhos como Fonte de Novos Fármacos: Históricos e Perspectivas. Quim. Nova. 2009; 32(3): 703-716.

FABBRI, A. PARKER, L; COLOMBO; *et al.* Industry funding of patient and health consumer organisations: systematic review with meta-analysis. Bmj. 2020; 368: 1-13.

FERES, MVC; SILVA, AR. As parcerias para o desenvolvimento produtivo e as doenças tropicais negligenciadas. Rev Bra de Políticas Públicas. 2022; 12(3): 322 – 354.

FERREIRA, CC; MAROCHIO, GG; PARTATA, AK. Estudo Sobre a Leishmaniose Tegumentar Americana com Enfoque na Farmacoterapia. Revista Científica do ITPAC. 2012; 5(4): 1-9.

FERREIRA, FF; POLLI, M.; OSHIMA FRANCO, Y *et al.* Drugs: from development with drawal. Rev Eletrônica de Farmácia. 2009; 6(1): 14-24.

FILHO, P. Avaliação da densidade parasitária na pele integra e níveis séricos de vitamina D em cães com infecção natural por *Leishmania infantum* submetidos ao tratamento tiazolacetilpiridina-04. [Tese de Doutorado]. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós - Graduação em Biociência Animal. 2020.

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz. Doenças Tropicais Negligenciadas, 2019. [citado em 15 de junho de 2022]. Disponível em: <http://saudeamanha.fiocruz.br>

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz. Leishmaniose, 2022. [Citado em 23 de Julho de 2022]. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/leishmaniose>

FREITAS, JCC; NUNES-PINHEIRO, DCS. Aspectos Celulares e Moleculares da Resposta Imunitária a *Leishmania spp.* RPCV. 2010; 109(573-576): 11-20.

GUIDO, RVC; ANDRICOPULO, AD; OLIVA, G. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. *Estudos Avançados*. 2010; 24(70): 81-98.

HASENCLEVER L; PARANHOS, J; COSTA, CR; *et al.* A indústria de fitoterápicos brasileira: desafios e oportunidades. *Ciênc Saúde Colet*. 2017; 22(8): 2559-2569.

HUBERT, DJ; CELINE, N; MICHEL, N; *et al.* *In vitro* leishmanicidal activity of some Cameroonian medicinal plants. *Experimental Parasitology*. 2013; 134: 304-308

JÚNIOR, LGC; WANDERLEY, AP; LEMES, MS; *et al.* Leishmaniose visceral infantil: relato de caso. *Rev Med*. 2016; 95(3):133-137.

KEVRIC, I; CAPPEL, MA; KEELING, JH. New World and Old World Leishmania Infections: A Practical Review. *Dermatologic Clinics*. 2015; 33(3): 579-593.

LACERDA, AFA; OLIVEIRA, DS; SALOMÃO, JVF; *et al.* Clinical, epidemiological and transmission cycle aspects of leishmaniasis urbanization in Barreiras, Bahia, Brazil. *Spatio-temporal Epidemiology*. 2021; 36: 1-8.

LEITE, NC; GARCIA, JL; GONÇALVES, IM. Epidemiological profile of visceral leishmaniasis in Brazil in the period from 2007 to 2017. *Rev de Patologia do Tocantins*. 2020; 7(4): 29-33.

LESSA. MM; LESSA, HA; CASTRO, TWN; *et al.* Leishmaniose mucosa: aspectos clínicos e epidemiológico. *Rev. Bras Otorrinolaringol*. 2007; 73(6): 843-847.

LIMA J. Estudo prospectivo de pacientes com leishmaniose tegumentar Americana em Manaus (AM): fatores imunológicos envolvidos no curso terapêutico com antimonial pentavalente [dissertação]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz; 2017.

LUNA, EJA; CAMPOS, SRSLCC. O desenvolvimento de vacinas contra as doenças tropicais negligenciadas. *Cad. Saúde Pública*. 2020; 36: 1-14.

MANS, DRA; BEERENS, T; MAGALI, I; *et al.* *In vitro* evaluation of traditionally used Surinamese medicinal plants for their potential antileishmanial efficacy. *Journal of Ethno pharmacology*. 2016; 180: 70-77

MENSEZES, JPB; BRODSKYN, C; GONÇALVES, R; *et al.* Editorial: Immunology and immunopathogenesis of human leishmaniasis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022; 12: 1-4.

NEVES, LO; GADELHA, EPN; GUERRA, JAO; *et al.* A randomized clinical trial comparing meglumine antimoniate, pentamidine and amphotericin B for the treatment of cutaneous leishmaniasis by *Leishmania guyanensis*. *An Bras Dermatol*. 2011; 86(6):1092-1101.

OLIVEIRA, DKF; SOARES, MEHS; BRITO, KML; *et al.* Immunological Aspects of Dermotropic and viscerotropic leishmaniasis. *Unimontes Científica*. 2021; 23(2): 1-14.

OPAS – Organização Panamericana de Saúde. Leishmaniose: Informe Epidemiológico das Américas. Número 10, dezembro de 2021. Washington, D.C, 2021. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/55386>

OPS – Organización Panamericana de la Salud: Leishmaniasis: Informe Epidemiológico en las Américas: Washington: Organización Panamericana de la Salud; 2018. Disponible en: [www.paho.org/leishmaniasis](http://www.paho.org/leishmaniasis)

GALVIS-OVALLOS, F; SILVA, RA; SILVA, VG; *et al.* Leishmanioses no Brasil: aspectos epidemiológicos, desafios e perspectivas. *Atualidades em Medicina Tropical no Brasil: Protozoários*. Ed. Stricto Sensu, 2020.

PASTORINO, AC; JACOB, CMA; OSELKA, GW; *et al.* Leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais. *J Pediatr*. 2002; 78(2): 120-127.

PAULINO, J; AFONSO, J. Da Fama ao Ostracismo: Oito Reagentes que Deixaram o Ambiente Laboratorial. *Quim Nova*. 2021; 44(10): 1395-1403.

RATH, S; TRIVELIN, LA; IMBRUNITO, TR; *et al.* Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. *Quim Nova*. 2003; 26(4): 550-555.

RIBEIRO, CS; FRANÇA, RR; SILVA, JA; *et al.* Cellular infiltrate in cutaneous leishmaniasis lesions and therapeutic outcome. *Anais Bras Dermatol*. 2021; 96(5): 544 – 550.

ROCHA, GP; PETRONI, TF. Leishmaniose Visceral e Tegumentar Americana. Rev Saúde UniToledo. 2017; 01(02): 40-55.

ROCHA, TJM; BARBOSA, ACA; SANTANA, EPC; *et al.* Aspectos epidemiológicos dos casos humanos confirmados de leishmaniose tegumentar americana no Estado de Alagoas, Brasil. Rev Pan-Amaz Saude. 2015; 6(4): 49-54.

RODRIGUES, V; CORDEIRO-DA-SILVA, A; LAFORGE, M; *et al.* Regulation of immunity during visceral *Leishmania* infection. Parasites & Vectors 9. 2016; 118: 1-13.

RYAN, L. LAINSON, R. SHAW, JJ. Leishmaniasis in Brazil. XXIV. Natural flagellate infections of sandflies (Diptera: Psychodidae) in Pará State, with particular reference to the role of *Psychodopygus wellcomei* as the vector of *Leishmania braziliensis braziliensis* in the Serra dos Carajás. T R S Tropical Medicine and Hygiene. 1987; 81(3): 353-359.

SANDJO, LP; MORAES, MH; KUETE, V; *et al.* Individual and combined antiparasitic effect of six plant metabolites against *Leishmania amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. Bioorganic and Med Chemistry Letters. 2016; 26(7): 1772-1775.

SANTIAGO, AS; PITA, SSR; GUIMARÃES, ET. Leishmaniasis treatment, current therapy limitations and new alternative requirements: A narrative review. Research, Society and Development. 2021; 10(7): 1-11.

SCHNITZER, JA; SU, MJ; VENTURA, MU; *et al.* Doses de extratos pirolenhosos no cultivo de orquídeas. Rev Ceres. 2015; 62(1): 101-106.

SILVA, JF; FIGUEIREDO, KA; CARVALHO, MGFM. Produtos naturais para tratamento da leishmaniose: uma prospecção tecnológica. Rev Cubana de Farmácia. 2016; 50(2): 1-13.

SILVA, EL; NICOLETTI, MA. Control and Treatment of Neglected Diseases in Brazil: A Current Situation View. Rev Saúde. 2013; 7(3/4): 65-81.

SOUSA, AC; ARANTES, C; OTUYAMA, LJ; *et al.* Pharmaceutical care plan for patients with american and visceral tegumentary leishmaniosis with a focus on patient safety. Braz J Hea Rev. 2019; 2(5): 4502-4518.

SOUSA, R. Leishmaniose Visceral e Leishmaniose Tegumentar Americana no município de Altos, Piauí: estudo dos vetores e sua fonte alimentar. [Dissertação de Mestrado]. Teresina: Instituto Oswaldo Cruz, Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical. 2018.

SOUZA, AF; JÚNIOR, AMR; PEREIRA, SOUZA, JHK; *et al.* Development of new drugs. Braz J of Hea Rev. 2022; 5(3): 9913-9927.

VASCONCELOS, RS; KOVALESKI, DF; JÚNIOR, ZCT. Doenças Negligenciadas: Revisão da Literatura sobre Intervenções propostas. Sau & Transf Soc. 2016; 6(2): 114-131.

VIEIRA, PR; MOKOCHINSKI, JB; PALMA, LC; *et al.* Caracterização química do extrato pirolenhoso da carbonização. In: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 19 – 22 de outubro de 2014; Florianópolis/SC.

WHO – World Health Organization. Leishmaniasis, 2022. [Citado em 23 de Julho de 2022]. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis>

## 5 ANEXO

14-Sep-2023

Comments to the Author

Dear Editor,

The manuscript deals with a technological survey on the medicinal use of pyroligneous extract between 2012 and 2022. During the survey, 1703 patents were found and analyzed, and only 34 were suitable for review. The authors concluded that despite the bioactive potential of pyroligneous extracts, the technological investment is low. The topic is relevant and the manuscript is coherent and complete, is adequate for publication.

My revisions have been placed throughout the attached manuscript for ease of review. Furthermore, the manuscript is ready for publication.

Dear Dr. de Queiroz:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Pyroligneous extracts with therapeutic action: a technological prospect" in its current form for publication in the Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,

Dr. SILVYA STUCHI MARIA-ENGLER

Editor-in-Chief, Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences

editorchiefbjps@usp.br, editorchiefbjps@usp.br