

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – ICF
BACHARELADO EM FARMÁCIA

LILYANA WALESKA NUNES ALBUQUERQUE

**Avaliação da atividade leishmanicida de plantas medicinais de interesse ao Sistema
Único de Saúde**

Maceió

2020

LILYANA WALESKA NUNES ALBUQUERQUE

Avaliação da atividade leishmanicida de plantas medicinais de interesse ao Sistema Único de Saúde

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Farmácia do Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof^a Dr^a Aline Cavalcanti de Queiroz

Maceió

2020

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

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

A345a Albuquerque, Lilyana Waleska Nunes.

Avaliação da atividade leishmanicida de plantas medicinais de interesse ao Sistema Único de Saúde / Lilyana Waleska Nunes Albuquerque. – 2021.
82 f. : il. color.

Orientadora: Aline Cavalcanti de Queiroz.
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacêuticas. Maceió, 2020.

Bibliografia: f. 61-82.

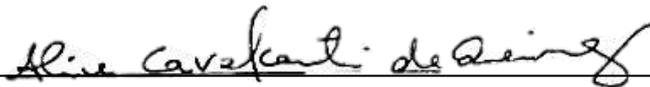
1. Leishmanicida. 2. Fatores imunológicos. 3. Leishmania. 4. Plantas medicinais. I. Título.

CDU: 615.1:616.993.161

LILYANA WALESKA NUNES ALBUQUERQUE

Avaliação da atividade leishamanicida de plantas medicinais de interesse ao Sistema Único de Saúde

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Farmácia do Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

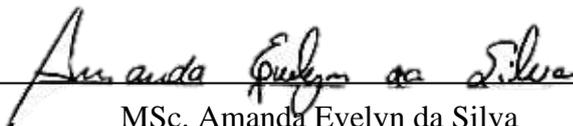


Profa. Dra. Aline Cavalcanti de Queiroz (Campus Arapiraca - UFAL)

Banca examinadora:



Profa. Dra. Magna Suzana Alexandre Moreira (ICBS - UFAL)



MSc. Amanda Evelyn da Silva

RESUMO

A leishmaniose é uma parasitose endêmica em 102 países e territórios, causada pelo protozoário do gênero *Leishmania* e transmitida pelo flebotomíneo. A doença apresenta diferentes formas clínicas, desde lesões na pele até comprometimento sistêmico. O arsenal terapêutico para o tratamento é bastante limitado, devido à baixa segurança e altos índices de resistência. Diante da necessidade de desenvolvimento de novos fármacos leishmanicidas mais eficientes e seguros, foi proposto neste trabalho investigar a atividade leishmanicida de soluções extrativas aquosas de 10 plantas medicinais mencionadas na lista da RENISUS. Para isto, foi avaliado o potencial citotóxico das plantas através do ensaio de viabilidade celular, utilizando o MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio), a atividade leishmanicida frente as formas amastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania chagasi*, a identificação da seletividade dessas plantas e o efeito imunomodulador através da produção de óxido nítrico. Os resultados obtidos foram considerados significativos quando $*p < 0.05$, e expressos como média \pm erro padrão da média. Os níveis de significância entre os grupos experimentais e controles positivos ou negativos foram avaliados no software Prisma®, utilizando o Teste t Student ou ANOVA. Os resultados do ensaio de viabilidade celular demonstraram que das 10 plantas medicinais avaliadas, apenas *Solanum paludosum* induziu efeito citotóxico para a célula hospedeira, com $CI_{50} 31,7 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$, as demais não apresentaram efeito citotóxico até a máxima concentração testada, $100 \mu\text{g/mL}$. No ensaio anti-amastigota, foram ativas contra amastigotas de *L. amazonensis* as espécies *Stryphnodendron adstringens* ($CI_{50} >100 \mu\text{g/mL}$ e efeito máximo de $53,0 \pm 4,0\%$), *Equisetum arvense* ($CI_{50} 82,3 \pm 1,5 \mu\text{g/mL}$ e efeito máximo de $51,8 \pm 0,3\%$), *Chenopodium ambrosioides* ($CI_{50} 68,4 \pm 1,9 \mu\text{g/mL}$ e efeito máximo de $60,6 \pm 1,3\%$) e *Solanum paludosum* ($CI_{50} 19,7 \pm 2,6 \mu\text{g/mL}$ e efeito máximo de $79,7 \pm 3,7\%$). Além disso, a planta *Solanum paludosum* também apresentou atividade contra *L. chagasi*, com $CI_{50} 9,3 \pm 0,9 \mu\text{g/mL}$ e efeito máximo de $73,7 \pm 3,8\%$. Quanto à produção de óxido nítrico, as plantas *Cynara scolymus*, *Passiflora alata*, *Polygonum acre*, *Solanum paludosum* e *Copaifera langsdorffii* induziram o aumento nas culturas de células infectadas com *L. amazonensis*, as plantas *Equisetum arvense* e *Chenopodium ambrosioides* induziram o aumento de óxido nítrico nas culturas de células infectadas com *L. chagasi*, e a planta *Stryphnodendron adstringens* induziu o aumento de óxido nítrico nas culturas de ambas as espécies. Vale ressaltar que os resultados obtidos até o momento, sustentam a continuidade dos estudos para uma investigação mais detalhada acerca do mecanismo de ação desses produtos naturais.

Palavras-chave: Leishmanicida. Imunomodulador. Leishmania. Plantas medicinais.

ABSTRACT

Leishmaniasis is an endemic parasitosis that afflicts 102 countries and territories, it is caused by a protozoan of the genus *Leishmania* and transmitted by the phlebotomine. The disease has different clinical forms, from skin lesions to systemic involvement. The therapeutic arsenal for the treatment of leishmaniasis is very limited, due to low security and the high resistance indices. Faced with the need to develop new leishmanicidal drugs more efficient and safer, it was proposed in this work to investigate the leishmanicidal activity of aqueous extractive solutions of 10 medicinal plants mentioned in the RENISUS list. For that, the cytotoxic potential of the plants was evaluated by cell viability assay using MTT (3- [4,5-dimethyl-thiazol-2-yl] -2,5-diphenyltetrazolium bromide), the leishmanicidal activity against the amastigote forms of *Leishmania amazonensis* and *Leishmania chagasi*, the identification of the selectivity of these plants and the immunomodulatory effect through the production of nitric oxide. The results obtained were considered significant when $* p < 0.05$, and expressed as mean \pm standard error of the mean. The significance levels between experimental groups and positive or negative controls were evaluated in the Prisma® software, utilizing the analysis of variance ANOVA and post test of Tukey. The results of the cell viability assay showed that of the 10 medicinal plants evaluated, only *Solanum paludosum* induced a cytotoxic effect on the host cell, with $IC_{50} 31.7 \pm 0.1 \mu\text{g} / \text{mL}$, the others showed no cytotoxic effect up to the maximum concentration tested, $100 \mu\text{g} / \text{mL}$. In the anti-amastigote test, were active against *L. amazonensis* amastigotes the species *Stryphnodendron astringens* ($IC_{50} > 100 \mu\text{g} / \text{mL}$ and maximum effect of $53.0 \pm 4.0\%$), *Equisetum arvense* ($IC_{50} 82.3 \pm 1.5 \mu\text{g} / \text{mL}$ and maximum effect of $51.8 \pm 0.3\%$), *Chenopodium ambrosioides* ($IC_{50} 68.4 \pm 1.9 \mu\text{g} / \text{mL}$ and maximum effect of $60.6 \pm 1.3\%$) and *Solanum paludosum* ($IC_{50} 19.7 \pm 2.6 \mu\text{g} / \text{mL}$ and maximum effect of $79.7 \pm 3.7\%$). Besides that, the *Solanum paludosum* plant also showed activity against *L. chagasi*, with $IC_{50} 9.3 \pm 0.9 \mu\text{g} / \text{mL}$ and a maximum effect of $73.7 \pm 3.8\%$. As for the production of nitric oxide, the plants *Cynara scolymus*, *Passiflora alata*, *Polygonum acre*, *Solanum paludosum* and *Copaifera langsdorffii* induced an increase in cultures of cells infected with *L. amazonensis*, the plants *Equisetum arvense* and *Chenopodium ambrosioides* induced an increase in nitric oxide in cultures of cells infected with *L. chagasi*, and the plant *Stryphnodendron* induced the increase of nitric oxide in the cultures of both species. It is worth mentioning that the results obtained so far, support the continuity of studies for a more detailed investigation about the mechanism of action of these natural products.

Keywords: Leishmanicide. Immunomodulator. *Leishmania*. Medicinal plants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Status de endemidade da leishmaniose visceral no mundo, 2018.....	14
Figura 2 - Status de endemidade da leishmaniose cutânea no mundo, 2018.....	15
Figura 3 – Flebotomíneo.....	17
Figura 4 - Forma evolutiva intracelular: amastigotas (A) e promastigotas (B) de <i>Leishmania</i> spp.....	19
Figura 5 – Ciclo biológico da leishmaniose.....	20
Figura 6 – Mecanismo imunológico na leishmaniose.....	22
Figura 7 – Lesão característica da LC.....	23
Figura 8 – Comprometimento da mucosa na LMC.....	24
Figura 9 – Leishmaniose cutânea difusa.....	25
Figura 10 – Leishmaniose visceral.....	27
Figura 11 – <i>Chenopodium ambrosioides</i> L.....	34
Figura 12 – <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.....	35
Figura 13 – <i>Cynara scolymus</i> L.....	36
Figura 14 – <i>Equisetum arvense</i> L.....	37
Figura 15 - <i>Morus alba</i> Linn.....	38
Figura 16 – <i>Passiflora alta</i> Curtis.....	39
Figura 17 – <i>Polygonum acre</i> Lan.....	40
Figura 18 - <i>Solanum paludosum</i> Moric.....	41
Figura 19 – <i>Stryphnodendron adstringens</i> Mart.....	42
Figura 20 – <i>Vernonia</i> spp.....	43
Figura 21 – Ensaio de viabilidade celular.....	46
Figura 22 – Ensaio de avaliação da carga parasitária <i>in vitro</i>	47
Figura 23 – Dosagem de óxido nítrico através da reação colorimétrica de Griess.....	48
Figura 24 - Efeito de plantas da RENISUS, pentamidina, antimoniatto de meglumina e miltefosina no aumento dos níveis de nitrito em cultura de macrófagos infectados com amastigotas de <i>L. amazonensis</i>	57
Figura 25 - Efeito de plantas da RENISUS, pentamidina, antimoniatto de meglumina e miltefosina no aumento dos níveis de nitrito em cultura de macrófagos infectados com amastigotas de <i>L. chagasi</i>	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Efeito citotóxico de plantas da RENISUS, pentamidina, antimoniato de meglumina e miltefosina em macrófagos da linhagem J774.A1.....	49
Tabela 2 - Efeito leishmanicida de plantas da RENISUS, pentamidina, antimoniato de meglumina e miltefosina contra amastigotas de <i>Leishmania amazonensis</i>	52
Tabela 3 - Efeito leishmanicida de plantas da RENISUS, pentamidina, antimoniato de meglumina e miltefosina contra amastigotas de <i>Leishmania chagasi</i>	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ATP	Trifosfato de Adenosina
APC	Célula Apresentadora de Antígeno
CD4 +	Grupamento de Diferenciação 4
CI ₅₀	Concentração Inibitória 50%
eNOS	Óxido Nítrico Sintase constitutiva
CO ₂	Dióxido de Carbono
CR1	Receptor do Tipo 1 do Complemento
CR3	Receptor do Tipo 3 do Complemento
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
ERNs	Espécies Reativas de Nitrogênio
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FcγR	Receptor para proção Fc de IgG
FnR	Receptor de Fibronectina
GSNO	S-nitrosoglutationa
IFN-γ	Interferon-gama
IgG	Imunoglobulina G
IL-2	Interleucina-2
IL-4	Interleucina-4
IL-5	Interleucina-5
IL-6	Interleucina-6
IL-10	Interleucina-10
IL-12	Interleucina 12
iNOS	Óxido Nítrico Sintase induzida
IS	Índice de Seletividade
FDA	Administração de Comidas e Remédios
GTP	Trifosfato de Guanosina
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
LC	Leishmaniose Cutânea
LCD	Leishmaniose Cutânea Difusa

LMC	Leishmaniose Mucocutânea
LV	Leishmaniose Visceral
MR	Receptor de Manos
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazólio
NO	Óxido Nítrico
NOS	Óxido Nítrico Sintase
OMS	Organização Mundial da Saúde
PSG	Substância Gelatinosa
PNPMF	Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
RFC	Reação de Fixação do Complemento
RPM	Rotações Por Minuto
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
SFB	Soro Fetal Bovino
SMF	Sistema Mononuclear fagocitário
SUS	Sistema Único de Saúde
TGF- β	Fator de transformação do crescimento beta
Th1	T Helper tipo I
Th2	T Helper tipo I
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	14
2.1	Epidemiologia.....	14
2.2	Vetores.....	16
2.3	Agentes etiológicos.....	17
2.4	Ciclo biológico.....	18
2.5	Resposta imunológica.....	20
2.6	Quadro clínico e diagnóstico.....	22
2.7	Tratamento e profilaxia.....	27
2.6.1	Antimoniais pentavalentes.....	28
2.6.2	Anfotericina B.....	29
2.6.3	Pentamidina.....	30
2.6.4	Miltefosina.....	31
2.7	Plantas de interesse ao Sistema Único de Saúde.....	31
2.7.1	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	33
2.7.2	<i>Copaifera langsdorffii</i>	34
2.7.3	<i>Cynara scolymus</i>	35
2.7.4	<i>Equisetum arvense</i>	36
2.7.5	<i>Morus alba</i>	37
2.7.6	<i>Passiflora alta</i>	38
2.7.7	<i>Polygonum acre</i>	39
2.7.8	<i>Solanum paludosum</i>	40
2.7.9	<i>Stryphnodendron adstringens</i>	41
2.7.10	<i>Vernonia spp.</i>	42
3	OBJETIVOS.....	44
3.1	Geral.....	44
3.2	Específicos.....	44
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
4.1	Obtenção dos extratos aquosos.....	45
4.2	Fármacos e reagentes.....	45
4.3	Manutenção de linhagem de macrófagos.....	45
4.4	Determinação da viabilidade celular.....	46

4.5	Avaliação da carga parasitária in vitro.....	46
4.6	Determinação do índice de seletividade (IS).....	47
4.7	Dosagem de óxido nítrico.....	47
4.8	Análise estatística.....	48
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
5.1	Avaliação do potencial citotóxico dos extratos sobre os macrófagos.....	49
5.2	Ensaio de viabilidade dos parasitos in vitro.....	52
5.3	Dosagem de óxido nítrico.....	56
6	CONCLUSÃO.....	60
7	REFERÊNCIAS.....	61

1 INTRODUÇÃO

Os últimos 50 anos foram marcados por diversas mudanças sociais, principalmente em relação ao rápido crescimento populacional, ao avanço da urbanização e diminuição da fecundidade, isto determinou alterações significativas nos padrões de morbimortalidade em todo o mundo (ROBERTS, 2011). Logo, à medida em que o desenvolvimento econômico e o acesso a melhores condições de vida foram ampliados, instaurou-se uma percepção otimista das doenças infecciosas, fazendo com que este grupo de doenças perdesse sua significância na saúde pública (FAUCI, 2005).

No entanto, a infraestrutura de países em baixo e médio desenvolvimento, tornou-se insuficiente para responder às demandas de saneamento, educação e saúde dessas populações, resultando no aumento considerável da reemergência de algumas doenças, como as leishmanioses (MOORE et al., 2003; FAUCI; MORENS, 2012; WALDMAN; SATO, 2016).

Além de infecciosa e parasitária, a leishmaniose é considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) uma doença tropical negligenciada, associada à situação de pobreza, as precárias condições de vida e as iniquidades em saúde (OMS, 2012). Segundo o Ministério da Saúde (2017), as doenças negligenciadas não são atrativas para o desenvolvimento de novos fármacos, por atingirem, principalmente, populações deixadas para trás pelo progresso socioeconômico provenientes de países em desenvolvimento.

As leishmanioses são causadas por protozoários da família Trypanosomatidae, do gênero *Leishmania*. Atualmente, são conhecidas mais de 20 espécies de *Leishmania* e são transmitidas através da picada de flebotomíneos infectados. As leishmanioses são divididas em três tipos principais: leishmaniose visceral (LV), leishmaniose cutânea (LC) e leishmaniose mucocutânea (LMC) (WHO, 2017).

No ano de 2019 a leishmaniose passou a ser endêmica em 102 países e territórios, causando a morte de 20 a 30 mil pessoas por ano. Cerca de 310 milhões de pessoas vivem em áreas de alto risco de infecção das leishmanioses, e, é uma doença classificada pela OMS como uma das cinco maiores doenças parasitárias do mundo (ALVAR et al, 2012; WHO, 2017; OPAS, 2019).

Apesar de não serem totalmente elucidados, alguns fatores parecem influenciar a variabilidade clínica da leishmaniose; a cepa e espécie envolvida na infecção, a resposta imunológica do hospedeiro mamífero e as variações genéticas de ambos, hospedeiro e parasito, são importantes neste contexto (KAYE; SCOTT, 2011).

Dos três tipos principais, a LC é a forma mais comum da doença. É caracterizada por úlceras nas partes expostas do corpo, como rosto, braços e pernas. Na LMC, as lesões levam à destruição parcial ou total das mucosas do nariz, boca, garganta e tecidos circundantes. A LV, também conhecida como calazar, caracteriza-se por febre irregular, caquexia, hepatoesplenomegalia e anemia. A taxa de mortalidade nos países em desenvolvimento pode chegar a 100% em 2 anos, se não tratada (WHO, 2017).

Apesar de primariamente rurais, as leishmanioses encontram-se em expansão atingindo grandes áreas urbanas. Os contratempos no controle de reservatórios e vetores, a improficuidade dos tratamentos devido ao desenvolvimento de cepas de *Leishmania* spp. resistentes e a inexistência de vacinas humanas são fatores que contribuem para a expansão da doença (QUINNELL; COURTENAYL, 2009; SAMPAIO et al., 2010).

Além disso, a terapia medicamentosa deve ser escolhida criteriosamente, pois o combate aos parasitos leva em consideração a espécie de *Leishmania* envolvida, como também a forma clínica da doença, as características das lesões e o sistema imunológico do indivíduo (STEBUT, 2015).

Desde a década de 50 os fármacos de primeira escolha para o tratamento são os antimoniais pentavalentes (Pentostam® e Glucantime®), administrados por via parenteral. Já a segunda linha de tratamento das leishmanioses é constituída por anfotericina B (convencional ou lipossomal), pentamidina e miltefosina, sendo este último o único fármaco administrado por via oral (ALVAR et al., 2006; AMEEN, 2010; VAN-GRIENSVEN, 2012; CHÁVEZ-FUMAGALLI, 2015).

Além desses, a paromomicina tem mostrado utilidade clínica no tratamento da LC, tendo como uma das principais vantagens o seu baixo custo, cerca de 10 dólares por paciente (DAVIS; KEDZIERSKI, 2005; SUNDAR; RAI, 2005; MISHRA et al., 2009; BASTOS et al., 2016).

Entretanto, devido às limitações destes medicamentos no que se refere à baixa segurança e eficácia, altas taxas de toxicidade e custo, surge a necessidade de desenvolver novos agentes leishmanicidas mais eficazes, de alto índice terapêutico, fácil administração, seletivos e aptos para promover ativação do sistema imune adequadamente, como forma de defesa aos parasitos (ALVAR et al., 2006; AMEEN, 2010; VAN-GRIENSVEN, 2012; FREITAS-JÚNIOR et al., 2012; BASTOS, et al., 2012).

Neste estudo, foram avaliadas 10 plantas medicinais de interesse ao Sistema Único de Saúde (SUS) quanto a possível atividade leishmanicida. A análise das plantas envolveu ensaios *in vitro*. Inicialmente o potencial citotóxico sobre macrófagos fora determinado e

posteriormente a atividade leishmanicida das plantas sobre as espécies *Leishmania amazonensis* e *Leishmania chagasi*, além da avaliação do efeito das plantas no aumento da concentração de nitritos em culturas de células infectadas com *L. amazonensis* e *L. chagasi*.

2 REVISÃO DA LITERATURA

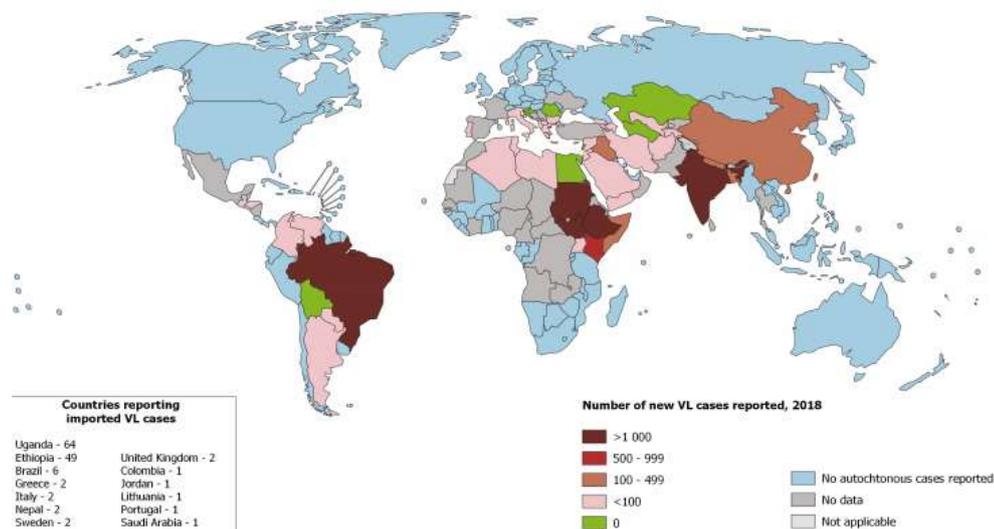
2.1 Epidemiologia

A leishmaniose é uma doença que afeta os cinco continentes. Cerca de 200 países e territórios que reportaram à OMS em 2017, 97 destes, foram endêmicos para leishmaniose, com prevalência de 12 milhões de casos e incidência anual de 2 milhões de novos casos. Nos quais, 65 países foram endêmicos tanto para a LC como para LV, 10 países endêmicos somente para LV e 22 países endêmicos apenas para LC. Neste mesmo ano, 20.792 novos casos foram notificados à OMS, nos quais 94% ocorreram em sete países: Brasil, Etiópia, Índia, Quênia, Somália, Sudão do Sul e Sudão. (WHO, 2017).

Segundo a Organização Panamericana de Saúde (2019) a leishmaniose passou a ser endêmica em 102 países e territórios, causando a morte de 20 a 30 mil pessoas por ano. Registra-se que 90% dos casos de LV no mundo estão concentrados no Brasil, Índia, Sudão do Sul, Etiópia e Quênia. Quanto a distribuição da LC, 95% dos novos casos ocorrem nas Américas, no Mediterrâneo, Ásia Central e Oriente Médio.

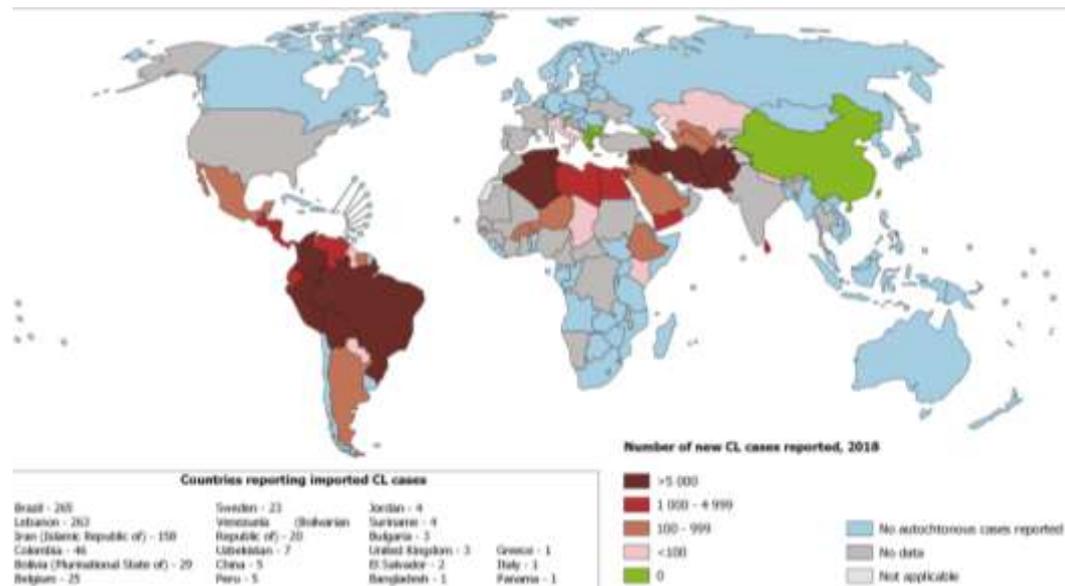
Cerca de 310 milhões de pessoas vivem em áreas de alto risco de infecção das leishmanioses, e, é uma doença classificada pela OMS como uma das cinco maiores doenças parasitárias do mundo (ALVAR et al, 2012; WHO, 2017). Desta forma, o status de endemicidade caracterizando a distribuição mundial da LV e LC estão demonstrados nas figuras 1 e 2, respectivamente.

Figura 1 – Status de endemicidade da leishmaniose visceral no mundo, 2018



Fonte: WHO, 2018

Figura 2 – Status de endemicidade da leishmaniose cutânea no mundo, 2018



Fonte: WHO, 2018

Acredita-se que os dados epidemiológicos não traduzem a real situação dos casos existentes das leishmanioses no mundo, isto, deve-se a falhas na notificação compulsória, além de diagnósticos errôneos e afecções inaparentes (MAIA-ELKHOURY et al., 2007; NEGRÃO; FERREIRA, 2014).

Nas Américas, as leishmanioses são descritas em 18 países, sendo a LC a forma mais comumente encontrada. No ano de 2016, os países Brasil, Peru e Colômbia foram responsáveis por 15% de todos os casos do mundo de LC. No período de 2001 a 2017 foram reportados 940.396 novos casos de LC e LMC por 17 dos 18 países endêmicos das Américas (OMS, 2018; OPAS, 2019).

Em 2018, foram confirmados 17.119 casos da forma tegumentar da leishmaniose no Brasil, onde 94,8% dos casos corresponderam a forma clássica da LC e 5,1% corresponderam a LMC. Quando analisados os dados de cada região brasileira, observa-se que na região Norte predomina-se o número de casos confirmados de LC (8.089), seguida pelas regiões Nordeste (4.222), Centro-Oeste (2.383), Sudeste (2.098) e Sul (237), além disso, 90 casos confirmados tiveram as regiões ignoradas. Da região Norte, os maiores números de casos confirmados de LC estão localizados nos estados Pará, Amazonas, Rondônia e Acre, e juntos correspondem a quase 40% dos casos do Brasil (BRASIL, 2018).

Quanto aos casos confirmados de LV no Brasil em 2018, observa-se um total de 3.376 casos, no entanto, o perfil de distribuição nas regiões brasileiras difere do perfil visto na LC. Na LV, a região que abrange o maior número de casos confirmados é a região Nordeste, com

1.927 casos, seguida das regiões Norte, com 761 casos, Sudeste correspondendo a 507 casos, Centro-Oeste com 171, Sul com apenas 09 casos confirmados de LV e 1 caso teve a região ignorada (BRASIL, 2018).

Os pacientes que possuem LV e coinfeção com HIV triplicam as chances de morte em relação a população em geral, podendo alcançar a taxa de letalidade de 25% nos indivíduos coinfectados. No Brasil, do número total de casos confirmados de LV em 2018, 282 indivíduos possuem coinfeção LV/HIV (SOUZA-GOMES; ROMERO; WERNECK, 2017 BRASIL, 2018).

Foram notificados em 2018 no estado de Alagoas, 105 casos confirmados de LV e 31 casos de LC. Dos 105 casos confirmados de LV no estado, 65 pacientes foram internados e 9 foram a óbito. Dos 31 casos de LC, 28 indivíduos apresentavam a forma clássica da LC e 3 destes apresentavam LMC (BRASIL, 2018).

2.2 Vetores

A transmissão da leishmaniose se dá através do repasto sanguíneo do flebotomíneo (**Figura 3**), pertencente à classe Insecta, ordem Diptera, família Psychodidae, subfamília Phlebotominae que alguns autores elevam a categoria de família (Phebotomidae) (GALATI; 2003; ANDRADE; SHIMABUKURO; GALATI, 2013). No Brasil, os flebotomíneos são popularmente conhecidos como mosquito palha, cangalinha, birigui e outros, a depender da região (COSTA, 2011).

Em 1786, na Itália, Scopolí descreveu pela primeira vez o flebotomíneo, quando reportou a espécie *Bibio papatasi*, que mais tarde teve sua nomenclatura trocada para *Phlebotomus papatasi* (PIRAJÁ; LUCHEIS, 2014). A subfamília Phlebotominae possui cinco gêneros distintos, sendo as espécies do gênero *Phlebotomus* as transmissoras da leishmaniose no continente europeu, asiático e africano (GRAMICCIA; GRADONI, 2005), enquanto os vetores das leishmanioses nas Américas pertencem ao gênero *Lutzomyia* (GONTIJO; CARVALHO, 2003.).

Cerca de 927 espécies de flebotomíneos são conhecidos no mundo, nas quais 260 delas ocorrem no Brasil (SHIMABUKURO; GALATI, 2011; DE ANDRADE; GURGEL-GONÇALVES, 2015). A maioria das espécies de flebotomíneos possuem hábitos crepuscular e noturno, e permanecem em lugares protegidos durante o dia, como nas copas ou nas bases das árvores, no chão entre as folhas secas caídas, em frestas de rochas, dentro de cavernas, dentro

de tocas de animais e outros (CASANOVA et al. 2013, SILVA et al. 2014, CAMPOS et al. 2016).

Fatores como a temperatura, chuva e umidade parecem estar relacionados ao maior aparecimento dos flebotomíneos. Apresentam em alguns lugares variação sazonal, onde estes fatores favorecem o aumento da densidade de flebotomíneos no período chuvoso (DIAS-LIMA et al., 2003; MACEDO et al., 2008).

Os flebotomíneos possuem apenas 2 a 4 mm de comprimento, e, para que os óvulos das fêmeas se desenvolvam e sejam infectados pelos parasitos de *Leishmania*, é necessário a realização do repasto sanguíneo em mamíferos infectados. O parasito demora cerca de 4 a 25 dias para se desenvolver dentro do vetor (DIAS, 2011; RODRIGUES et al., 2019)

Figura 3 – Flebotomíneo



Fonte: WHO, 2017

2.3 Agentes etiológicos

O gênero *Leishmania* é dividido em dois subgêneros, *Leishmania* e *Viannia* (WHO, 2017). No velho mundo, as espécies presentes pertencem ao subgênero *Leishmania*, já no novo mundo as espécies encontradas são referentes a ambos os subgêneros, *Leishmania* e *Viannia* como demonstrado no Quadro 1.

Quadro 1 – Taxonomia do gênero *Leishmania*

Subgênero	<i>L. (Leishmania)</i>	<i>L. (Leishmania)</i>	<i>L. (Viannia)</i>	<i>L. (Viannia)</i>
Velho Mundo	<i>L. donovani</i> <i>L. infantum</i>	<i>L. major</i> <i>L. tropica</i> <i>L. killicki</i> ¹ <i>L. aethiopica</i> <i>L. infantum</i>		
Novo Mundo	<i>L. infantum</i>	<i>L. infantum</i> <i>L. mexicana</i> <i>L. pifanoi</i> ¹ <i>L. venezuelensis</i> <i>L. garnhami</i> ¹ <i>L. amazonensis</i>	<i>L. braziliensis</i> L. <i>guyanensis</i> <i>L. panamensis</i> <i>L. shawi</i> <i>L. naiiffi</i> <i>L. lainsoni</i> <i>L. lindenbergi</i> L. <i>peruviana</i> <i>L. colombiensis</i> ²	<i>L. braziliensis</i> <i>L. panamensis</i>
Principal tropismo	Viscerotrópico	Dermotrópico	Dermotrópico	Mucotrópico

Fonte: WHO TRS 949, 2010

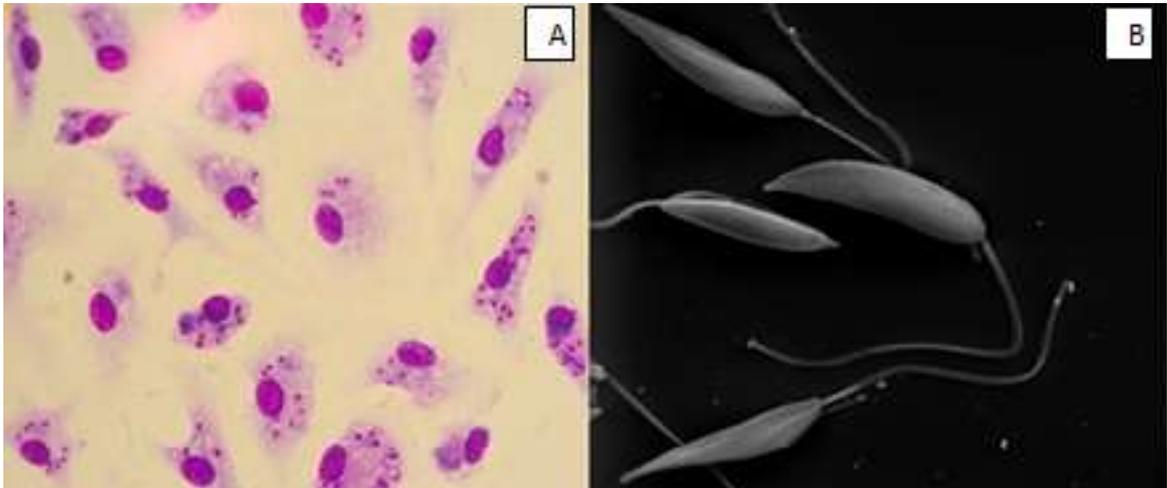
¹ Status da espécie está em discussão

² Posição taxonômica está em discussão

Os parasitos de *Leishmania* apresentam pleomorfismo, alterando sua forma entre hospedeiros invertebrado e vertebrado. No hospedeiro vertebrado, a forma encontrada é a amastigota (Figura 4A), um parasito intracelular obrigatório de aproximadamente 3 a 7 µm de comprimento, sem flagelo livre que se mantém na bolsa flagelar, núcleo grande e cinetoplasto pequeno em forma de bastonete. No trato digestivo do flebotomíneo são encontradas as formas flageladas do parasito, as promastigotas (Figura 4B), que medem aproximadamente 10 a 20 µm de comprimento, no qual o flagelo emerge a partir da bolsa flagelar, possibilitando a motilidade das mesmas (ANTINARELLI, 2013; CARLSEN et al., 2015).

Ambas as formas evolutivas apresentam moléculas de superfície cruciais para determinar a virulência, infecciosidade, sobrevivência e patogênese. As promastigotas exibem um complexo lipofosfoglicano (LPG) e a molécula GP63 na superfície, que garantem resistência à lise do sistema complemento (KAYE; SCOTT, 2011)

Figura 4 - Forma evolutiva intracelular: amastigotas (A) e promastigotas (B) de *Leishmania* spp



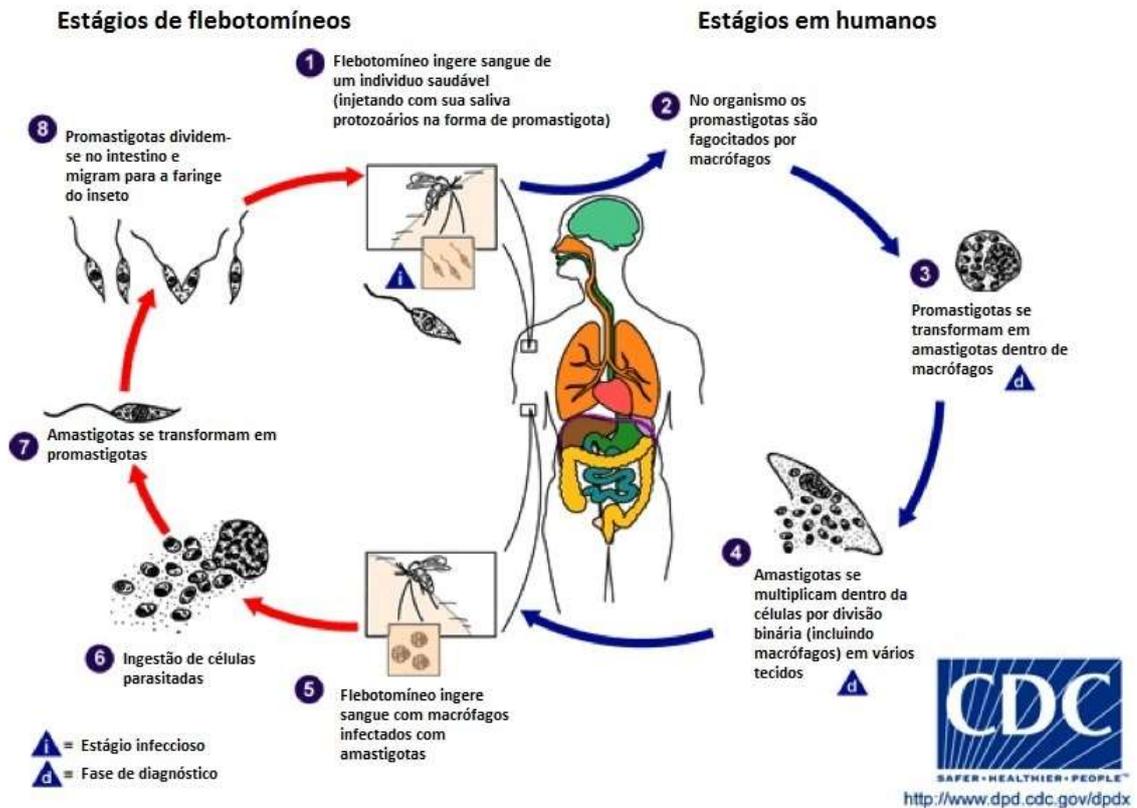
Fonte: AUTORA, 2019

2.4 Ciclo biológico

Enquanto é realizado o repasto sanguíneo, as fêmeas dos flebotomíneos infectados regurgitam as formas promastigotas metacíclicas no hospedeiro vertebrado. Em um período de 4 a 8 horas, as promastigotas são fagocitadas por células do sistema mononuclear fagocitário (SMF), em especial, os macrófagos teciduais; por interação através de receptores a entrada dos parasitos nas células é facilitada. Esta fase marca o início do ciclo intracelular dos parasitos, nos quais permanecem envoltos em vacúolo fagocitário, o fagossomo, que se funde aos lisossomos dando origem ao fagolisossomo. Posteriormente, as formas promastigotas se diferenciam em amastigotas e por divisão binária se multiplicam, até que a membrana do macrófago se rompa e o parasito passa a infectar outras células, por mecanismos semelhantes (IKEDA-GARCIA; MARCONDES, 2007; TEIXEIRA, 2013; KAYE; SCOTT, 2011).

A infecção do inseto acontece quando o repasto sanguíneo é realizado em hospedeiros vertebrados infectados, devido a ingestão de sangue contendo macrófagos parasitados por amastigotas de *Leishmania*. No estômago do inseto, os macrófagos se rompem e liberam as amastigotas que se diferenciam em formas promastigotas distintas (procíclica, nectomona, haptomona, leptomona e metacíclica). Para tornarem-se metacíclicas infectantes, as promastigotas migram para a parte anterior do tubo digestivo do inseto, até que um novo repasto sanguíneo seja realizado e as promastigotas sejam regurgitadas infectando o hospedeiro vertebrado e recomeçando o ciclo biológico do parasito (Figura 5) (IKEDA-GARCIA; MARCONDES, 2007; TEIXEIRA, 2013; AFONSO, 2013; SILVA, 2017).

Figura 5 – Ciclo biológico da leishmaniose



Fonte: Adaptado de CDC, 2020

2.4 Reposta imunológica

As primeiras horas pós infecção são cruciais para determinar a sobrevivência dos parasitos. Estes se beneficiam das propriedades da saliva do flebotomíneo para garantir a sobrevivência até que internalizem os macrófagos. A saliva do vetor possui propriedade anticoagulante, antiagregante plaquetária, além de possuir neuropeptídeos vasodilatadores que suprimem a resposta imune do hospedeiro vertebrado, como o maxalidam (MORO; LERNER, 1997; CHAGAS et al., 2014; ROSSI; FASEL, 2017).

Além de substâncias vasodilatadoras, a substância gelatinosa (PSG) regurgitada também pelo inseto, parece exacerbar a infecção por recrutamento de macrófagos e estímulo a atividade da arginase, que contribui para o aumento do catabolismo da L-arginina e a síntese de poliaminas, cruciais para a multiplicação do parasito na célula hospedeira (ROGERS et al., 2009, 2010).

Os parasitos infectantes apresentam uma série de modificações morfofisiológicas que interferem no aumento da virulência. Isto é dado pelo espessamento do glicocálice composto

por LPG, além do aumento da concentração de gp63, resultando em parasitos resistentes capazes de inativar o sistema complemento, criando um mecanismo de escape que possibilita a entrada nas células hospedeiras (SACKS; SHER, 2002; KAYE; SCOTT, 2011).

As promastigotas de *Leishmania* são internalizadas pelos macrófagos através da interação com receptores específicos da superfície da célula fagocítica, e, após a fagocitose, as promastigotas se diferenciam em amastigotas. Alguns receptores tanto para a fagocitose de promastigotas como amastigotas já foram descritos na literatura, como: receptor do tipo 3 do complemento (CR3), receptor do tipo 1 do complemento (CR1), receptor de manose (MR), receptor de fibronectina (FnR), receptor para porção Fc de IgG (FcγR) e outros (BLACKWELL et al., 1985; WILSON; PEARSON 1988; UENO; WILSON 2012).

O sistema imune do humano desenvolve uma resposta imunológica complexa para defender-se da infecção causada por *Leishmania*, isto inclui a resposta imune inata e adaptativa. Esta resposta desempenha papel crucial e definitiva, podendo culminar na cura ou na progressão da doença (DUTHIE et al., 2012).

Em estudos com camundongos, a linhagem BALB/c quando infectada com *Leishmania major* apresenta doença progressiva e visceralizante, mostrando-se susceptibilidade à infecção decorrente de uma resposta do tipo Th2. Entretanto, camundongos das linhagens C57BL/6, C3H/HeJ e CBA são capazes de controlar a infecção por *L. major*, demonstrando um perfil de resistência associado a resposta do tipo Th1 (SCOTT et al., 1988; SCOTT et al., 1989; FONSECA et al., 2003).

Embora os estudos em modelo murino tenham sido importantes para o avanço do conhecimento da imunopatologia das leishmanioses, em humanos, o padrão Th1 e Th2 não é tão bem distinguível como em camundongos. No entanto, sabe-se que em todas as formas clínicas da leishmaniose a resposta imunológica depende de células T, aceitando-se que, de fato, exista diferença entre os padrões de resposta Th1 e Th2, influenciando na resistência e susceptibilidade à infecção (REIS et al., 2006; BRELAZ et al., 2012; ALMEIDA et al., 2013).

A resistência associada a resposta Th1 envolve um padrão de citocinas específicas pró-inflamatórias, IL-2, IL-12, TNF- α e IFN- γ , sendo este último capaz de ativar os macrófagos e estimular a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), em especial o óxido nítrico (NO), como demonstrado na Figura 6 (STEBUT, 2007; ROSSI; FASEL, 2017).

Diversas células são capazes de produzir NO através de NO sintases (NOS). Até o dado momento são conhecidas três isoenzimas, duas constitutivas (cNOS) e uma induzida (iNOS),

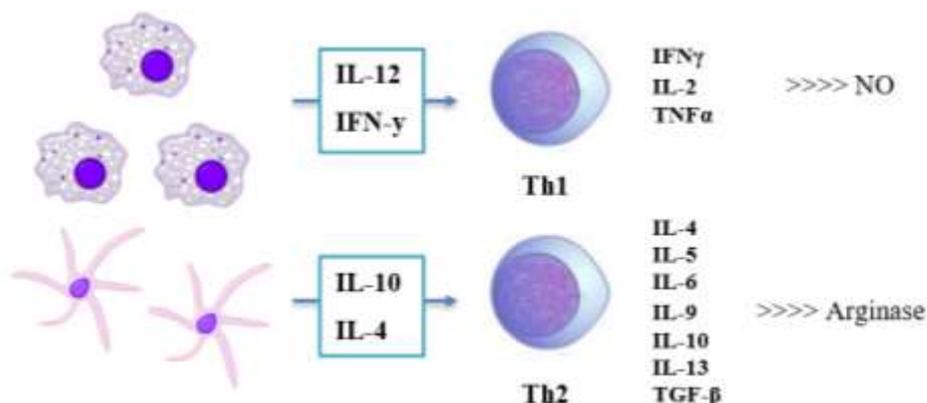
sendo esta última induzida nos macrófagos e demais células por lipopolicarídeos bacterianos ou citocinas (STUEHR et al., 1991; FLORA FILHO; ZILBERSTEIN, 2000).

Uma vez que os macrófagos são ativados, uma série de eventos intracelulares são desencadeados, como: síntese de enzimas de degradação que geram efeito tóxico direto ao parasito além de acidificar o meio, efeito oxidativo provocado pela atividade da enzima NADPH oxidase, causando o aumento do consumo de oxigênio e a produção de NO dada pelo INF- γ , no qual contribui para o aumento da expressão da iNOS nos macrófagos, capaz de eliminar a *Leishmania* no ambiente intracelular (BABIOR, 2000; GORIELY et al., 2009; VAN ASSCHE et al., 2011).

No entanto, a susceptibilidade à infecção relacionada a resposta Th2, secreta citocinas do tipo IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, TGF- β , aumentando a expressão de arginases que competem com a iNOS pela arginina e produz L-ornitina, um nutriente essencial para a sobrevivência do parasito, e, ao mesmo tempo, diminui a produção de NO parasitotóxico, levando ao agravamento do quadro infeccioso (STEBUT, 2007; ROSSI; FASEL, 2017).

Não obstante, por via autônoma, a citocina do tipo IL-10 inibe a produção de NO; quando os macrófagos fagocitam os parasitos opsonizados por IgG, há o aumento da síntese de IL-10, favorecendo ainda mais a multiplicação do parasito na célula (NOBEN-TRAUTH et al., 2003).

Figura 6 – Mecanismo imunológico na leishmaniose



Fonte: Adaptado de HERNÁNDEZ-RUIZ; BECKER, 2006; ALEXANDER et al., 2012

2.5 Quadro clínico e diagnóstico

A grande maioria das pessoas infectadas por *Leishmania* são assintomáticas e não desenvolvem sintoma algum durante a vida, porém, o termo leishmaniose está ligado ao

processo de adoecimento proveniente do desenvolvimento dessa infecção, envolvendo sinais e sintomas característicos de cada forma da doença (WHO, 2017).

As leishmanioses possuem um amplo espectro de manifestações clínicas podendo apresentar infecções assintomáticas, sintomáticas, formas graves e até desfigurantes. Estas formas clínicas dependem da espécie do parasito e da susceptibilidade dos indivíduos, podendo variar entre a forma tegumentar (LC localizada, LMC ou a forma difusa) e a forma visceral (GRIMALDI; TESH, 1993; HASHIGUCHI et al., 2016).

A LC localizada (Figura 7) é acompanhada de lesões nas partes expostas do corpo, como os membros superiores, inferiores e rosto. A lesão pode ser única, múltiplas ou disseminadas, em formato arredondado, aspecto ulceroso, bordas bem delimitadas e elevadas, fundo granuloso e geralmente não acompanha dor (MEDEIROS; RODRIGUEZ; ROSELINO, 1999; BRASIL, 2017; BRASIL, 2019; WHO, 2017).

A quantidade de lesões depende do número de picadas do flebotomíneo ou da disseminação da *Leishmania* em áreas da pele adjacentes à picada. As lesões parecem não apresentar um padrão histopatológico, no entanto, pode ser observado um infiltrado inflamatório contendo linfócitos e macrófagos na derme, além da presença dos parasitos (RIBEIRO, 2014; DO NASCIMENTO; 2019).

Figura 7 – Lesão característica da LC



Fonte: BRASIL, 2017; WHO, 2017

Quando não tratadas, as lesões podem ser curadas espontaneamente em alguns meses ou até anos, porém, depende da espécie causadora da infecção. As lesões geralmente deixam cicatrizes permanentes que podem causar sérios preconceitos sociais ao indivíduo (PEARSON; SOUSA, 1996; REITHINGER et al., 2007) Além disso, os parasitos podem permanecer nas

cicatrizes e nos linfonodos resultando na possibilidade de reativação da LC durante um quadro de imunossupressão (BOGDAN et al., 2012).

Caracteriza-se um quadro de LMC, quando há disseminação do parasito para as mucosas. Na LMC, as lesões podem levar a destruição parcial ou total da mucosa do nariz, boca, garganta e tecidos adjacentes (Figura 8). Cerca de 3 a 5% das infecções cutâneas evoluem para a forma mucocutânea da doença. Quando as lesões são localizadas no nariz, o paciente pode apresentar sangramentos, coriza e feridas; na garganta, as lesões causam dor ao engolir, rouquidão e tosse (WHO, 2017; BRASIL, 2019).

Figura 8 – Comprometimento da mucosa na LMC



Fonte: BRASIL, 2017; WHO, 2017

Quando a LC evolui para um quadro onde há ausência na resposta celular específica para antígenos de *Leishmania*, a infecção evolui para leishmaniose cutânea difusa (LCD), um espectro raro da leishmaniose, no qual a anergia celular está estreitamente associada a exacerbada proliferação parasitária onde as lesões multiplicam-se em número e expansão (BRASIL, 2017).

No Brasil, a LCD é causada pela espécie *L. amazonensis*. Os parasitos crescem desordenadamente em lesões difusas na pele (Figura 9) e de modo geral o paciente não responde ao tratamento, sendo difícil a remissão clínica, tornando-se incurável (BARRAL; BARRAL-NETO, 2009; CASTELLUCCI et al., 2014; CHRISTENSEN et al., 2019).

Figura 9 – Leishmaniose cutânea difusa

Fonte: BRASIL, 2017

O diagnóstico da LC é bastante complexo, uma vez que diversas outras doenças podem apresentar manifestações clínicas semelhantes, sendo necessário realizar um diagnóstico diferencial. Além disso, os testes disponíveis atualmente não são considerados padrão ouro, devido à baixa precisão. Diante disso, deve-se considerar a combinação de dados epidemiológicos, exames clínicos e laboratoriais para concluir o diagnóstico de LC (GOMES et al., 2014; BRASIL, 2017).

Quando há uma suspeita diagnóstica de LC obter dados epidemiológicos é de grande importância, isto envolve relatos de viagens a áreas endêmicas ou com potencial risco, no entanto, na ausência desses dados o diagnóstico não é excluído, devido a rápida expansão territorial urbana da doença (FIELD et al., 2010; MAGALHÃES; MOURA, 2015; BRASIL, 2017).

Apesar de não ser conclusivo, o exame clínico é bastante útil pois ele definirá os testes de diagnóstico laboratoriais complementares a serem realizados. Estes não só confirmam os achados clínicos, como também auxiliam na identificação da espécie causadora da infecção. Os principais testes utilizados são: exames imunológicos, exames parasitológicos direto e indireto e exames histopatológicos (GOMES et al., 2014; BRASIL, 2017).

O exame parasitológico de demonstração direta do parasito pode ser realizado através da escarificação do bordo da lesão e biópsia com impressão do fragmento cutâneo por aposição ou punção aspirativa. O exame parasitológico direto é considerado de primeira escolha, principalmente pelo baixo custo da técnica. Já a pesquisa indireta do parasito é realizada através do isolamento em cultivo *in vitro*. É um método de confirmação de identificação da espécie de *Leishmania* envolvida (BRASIL, 2017).

Além disso, pode-se realizar ainda outras técnicas, como o isolamento *in vivo* do parasito utilizando animais, reação em cadeia da polimerase que permite amplificar o DNA do parasito encontrado na amostra e exames histopatológicos que identificam padrões histológicos das lesões causadas por LC (BRASIL, 2017; CERUTTI et al., 2017).

A forma letal da leishmaniose é a LV (Figura 10), que possui um período de incubação no homem de 10 a 24 meses. Trata-se de uma doença de caráter crônico e sistêmico, marcado por febre irregular de longa duração, perda de peso, hepatoesplenomegalia, astenia, anemia, leucopenia trombocitopenia e outros sintomas. Diante do quadro sintomático apresentado, são considerados grupo de risco crianças menores de 6 meses, idosos, desnutridos ou pacientes que apresentam comorbidades, como AIDS (BRASIL, 2006; DUARTE; BADARÓ, 2009; BRASIL, 2016).

Os parasitos migram da pele para os linfonodos, até alcançarem as vísceras onde irão induzir infiltração focal ou difusa de macrófagos não parasitados, assim também de linfócitos e plasmócitos, causando alterações esplênicas, hepáticas, sanguíneas, pulmonares e renais (DUARTE; BADARÓ, 2009).

A hepatomegalia é significativa, uma vez que é possível observar o padrão nodular pela presença de agregados de células inflamatórias. As células de kupffer demonstram hipertrofia e hiperplasia, com ou sem parasitos no citoplasma, além do infiltrado difuso de células plasmáticas e linfócitos (DUARTE; BADARÓ, 2009; AGUIAR; RODRIGUES, 2017).

O achado mais frequente é a esplenomegalia, com hipertrofia e hiperplasia do sistema reticuloendotelial, onde as células do SMF altamente infectadas formam grumos na polpa vermelha. No entanto, a polpa branca é menos parasitada e há redução do número de células T dependentes, além da identificação de áreas infartadas (LAURENTI, 2010).

Segundo Bispo (2015), uma das principais causas de letalidade da LV são complicações respiratórias, como a broncopneumonia, responsável por 66,7% dos óbitos. É observado um quadro histopatológico típico de pneumonite intersticial, aumento do volume, congestão e consistência mais elástica são achados do exame macroscópico. O processo inflamatório intersticial é a causa da tosse persistente nos pacientes acometidos por LV (ALVARENGA et al., 2010; LAURENTI, 2010).

Alterações no tecido hemocitopoéticos são observadas na fase mais tardia da doença, com desregulação da hematopoiese, refletindo na redução da produção celular. A anemia geralmente é normocítica e normocrômica, com contagem eritrocitária extremamente reduzida. Há neutropenia, resultante de redução da reserva medular, sequestro esplênico ou reações de

autoimunidade, além da ausência de eosinófilos e basófilos, caracterizando um quadro de leucopenia na contagem diferencial de leucócitos (LAURENTI, 2010; MOREIRA, 2012).

Figura 10 – Leishmaniose visceral



Fonte: WHO, 2013

Assim como na LC, na LV os critérios diagnósticos clínicos e epidemiológicos são levados em consideração. Logo, se o paciente apresentar febre baixa e recorrente, envolvimento linfático, alterações nas linhagens sanguíneas, hepatoesplenomegalia e caquexia, além do histórico epidemiológico, suspeita-se de LV. No entanto, é necessário realizar testes confirmatórios, uma vez que outras doenças podem apresentar quadro clínico semelhante (ASSIS et al., 2008; DE SOUZA et al., 2012; BRASIL, 2014).

Os exames parasitológicos de demonstração direta do parasito ou isolamento em cultura são considerados padrão ouro no diagnóstico de LV. A visualização do parasito geralmente é feita através de material de biópsia ou punção aspirativa. No entanto para evitar técnicas invasivas, testes sorológicos e imunológicos apresentam-se como boas alternativas, uma vez que na LV há grande produção de anticorpos. Os principais testes utilizados, são: método ELISA, reação de imunofluorescência indireta (RIFI), reação de fixação do complemento (RFC) e teste rápido imunocromatográfico (WHO, 2010; DRUMOND; COSTA, 2011; DE SOUZA et al., 2012; BRASIL, 2014).

2.6 Tratamento e profilaxia

O tratamento da leishmaniose foi inicialmente proposto por Gaspar de Oliveira Vianna, em 1912, onde o médico brasileiro utilizou o antimonial trivalente tártaro emético para tratar LC, constituindo por muitos anos o único fármaco para o tratamento da doença (VIANNA; 1912). No entanto, devido a toxicidade atribuída ao tártaro emético, Brahmachari em 1925,

desenvolveu o antimonial pentavalente que até então tem sido utilizado como primeira escolha no tratamento da leishmaniose, devido a melhor eficácia e segurança em relação ao tártaro emético (BRAHMACHARI, 1928).

Há décadas o tratamento das leishmanioses baseia-se no uso de antimonais pentavalentes, antimoniato de meglumina, anfotericina B e pentamidina, entretanto, estas drogas são tóxicas e podem causar efeitos adversos graves. Além disso, a falta de acesso a estes medicamentos constitui um fator importante para o aumento da letalidade, principalmente em países endêmicos em que o sistema de saúde é ineficiente, isto deve-se ao fato dos medicamentos serem relativamente caros, e, portanto, inacessíveis a população mais pobre, além do fornecimento muitas vezes ser incontinuo, causando ruptura do estoque em países endêmicos (ALVAR et al., 2006; AMEEN, 2010; WHO, 2010).

Embora ainda sejam utilizados na clínica médica, as limitações associadas aos fármacos leishmanicidas sugerem o desenvolvimento de novos fármacos mais seguros, mais eficazes, de fácil administração e acessíveis, sanando as dificuldades encontradas no tratamento atual da leishmaniose (ALVAR et al., 2006; AMEEN, 2010; VAN-GRIENSVEN, 2012; FREITAS-JÚNIOR et al., 2012; BASTOS, et al., 2012).

Medidas profiláticas podem ser adotadas para evitar o risco de transmissão da leishmaniose, incluindo o uso de repelentes, mosquiteiros, telas em portas e janelas em ambientes onde os flebotomíneos podem ser encontrados. Além disso, deve-se fazer a limpeza de quintais e terrenos, poda de árvores e descarte correto de lixo orgânico para evitar as condições favoráveis ao desenvolvimento dos vetores. Entretanto, de forma isolada, essas medidas tornam-se inúteis devido a inefetividade que apresentam na diminuição da incidência da doença (SALDANA et al., 2016; BRASIL, 2017).

Diante disso, uma vacina seria uma ferramenta bastante útil como medida preventiva para leishmaniose, uma vez que geram imunidade protetora através de antígenos e adjuvantes imunológicos, no entanto, ainda não existe nenhuma vacina antileishmanial disponível para seres humanos, apenas para os cães, porém, não possuem boa eficácia (DO NASCIMENTO et al., 2018).

2.6.1 Antimoniais pentavalentes

Os fármacos antimonais pentavalentes, estibogluconato de sódio (Pentostan) e antimoniato de meglumina (Glucantime), são as principais drogas utilizadas no tratamento das leishmanioses, sendo somente este último comercializado no Brasil e distribuído gratuitamente

pela rede pública. Estes fármacos são utilizados para o tratamento de todas as formas clínicas da doença, embora as formas mucosas possam apresentar uma resposta mais lenta e uma maior probabilidade de recidiva (FERREIRA, 2017; BRASIL; 2017).

Nas duas últimas décadas o mecanismo de ação dos antimoniais pentavalentes foi mais bem compreendido. Trata-se de uma droga leishmanicida capaz de inibir a glicólise e a oxidação dos ácidos graxos, reduzindo a síntese de ATP e GTP, interferindo, portanto, na bioenergética do parasito intracelular (CROFT; SUNDAR; FAIRLAMB, 2006).

A OMS padronizou a dose do antimonial, sendo esta, calculada em miligramas de antimônio pentavalente (Sb+5) por quilograma de peso corporal por dia (mg Sb+5/kg/dia). Cada frasco de Glucantime contendo 5 ml, dispõe de 405 mg de Sb+5, logo, a cada 1 ml há 81 mg de Sb+5, sendo administrado por via intramuscular, endovenosa ou local (BRASIL; 2017).

A dose preconizada pelo MS é de 10 mg a 20 mg Sb+5/kg/dia, sendo 3 ampolas o limite máximo diário, em um esquema terapêutico de 20 a 40 dias, no entanto, o paciente pode apresentar um ou mais efeitos adversos descritos a seguir: artralgia, mialgia, anorexia, náuseas, vômitos, plenitude gástrica, epigastria, pirose, dor abdominal, pancreatite, prurido, febre, fraqueza, cefaleia, tontura, palpitação, insônia, nervosismo, choque pirogênico, edema e insuficiência renal aguda (BRASIL; 2017)

Vale ressaltar que na dose de 20 mg Sb+5/kg/dia, o antimonial pode alcançar níveis tóxicos, levando a exacerbação de efeitos adversos principalmente cardíacos, hepáticos, pancreáticos e renais. Além disso, os antimoniais são contraindicados para gestantes, já que atravessam a barreira transplacentária, além de evidências teratogênicas já serem descritas. Além disso, não são recomendados como tratamento de primeira escolha para pacientes portadores de doenças cardíacas, hepáticas e renais (BRASIL; 2017).

Devido a necessidade de hospitalização e os diversos efeitos adversos, os pacientes por vezes interrompem o tratamento; o fenômeno da não adesão a quimioterapia leva ao insucesso terapêutico, além de contribuir para a resistência aos antimoniais. Na Índia, aproximadamente 30% dos pacientes já não respondem mais ao tratamento da LV (RATH et al., 2003; DE MELO, 2013).

2.6.2 Anfotericina B

A anfotericina B é um fármaco pertencente a classe dos antibióticos poliênicos. É utilizado como segunda linha do tratamento da leishmaniose, possuindo excelente atividade in

vitro, sendo 400 vezes mais potente que o antimonial pentavalente (FILIPPIN; SOUZA, 2006; BRASIL, 2017).

O desoxicolato de anfotericina B e as formulações lipídicas de anfotericina B são as formulações disponíveis no Brasil. A forma lipossomal da anfotericina B foi desenvolvida com o intuito de reduzir a toxicidade do fármaco original e aumentar a eficácia do mesmo, porém, o alto custo desse fármaco dificulta a possibilidade de sua aplicação em países pobres na rotina médica (BEKERSKY et al., 2002; FILIPPIN; SOUZA, 2006; BRASIL, 2017).

O mecanismo de ação da anfotericina B envolve a formação de complexos com precursores do ergosterol localizado na membrana plasmática do parasito, alterando sua permeabilidade e gerando poros capazes de facilitar a entrada de íons na célula (GOTO; LINDOSO, 2010; BRASIL, 2010).

A dose preconizada pelo MS é de 0,7 a 1,0 mg/kg/dia, com dose máxima diária de 50 mg, por via endovenosa. Os mais frequentes efeitos adversos observados são: febre, cefaleia, tremores, cianose, hipotensão, hipomagnesemia, distúrbio de comportamento, calafrios, náuseas, vômitos, hipopotassemia e flebite no local da infusão, estes efeitos podem ser mais brandos utilizando uma terapia de suporte que inclua antitérmicos, potássio e hidrocortisona 50 mg a 100 mg acrescentados ao soro (BRASIL; 2017).

2.6.3 Pentamidina

As pentamidinas (isotionato e mesilato), pertencentes às diamidinas aromáticas são utilizadas principalmente em áreas endêmicas das Américas, África e Ásia, no entanto, sua eficácia é inferior a dos antimoniais pentavalentes e anfotericina B (BRASIL, 2013; BRASIL; 2017).

O mecanismo de ação da pentamidina ainda não é totalmente elucidado, sabe-se que esta droga possui carga positiva, portanto, exerce sua atividade por interação com alvos dotados de carga negativa. A literatura descreve que há agregação ribossômica, inibição da produção de DNA e proteínas, inibição de diversas enzimas, assim como a perda do DNA do cinetoplasto, mediada provavelmente pela inibição da topoisomerase II (SINGH et al., 2014; KAUR; RAJPUT, 2014).

A dose utilizada é de 3 mg a 4 mg/kg/dia em dias alternados, de três a dez doses, não devendo ultrapassar 2 g na dose total, aplicada por via intramuscular ou endovenosa. Os efeitos adversos mais frequentes são dor, induração e abscessos estéreis na aplicação intramuscular,

além disso, são observados náuseas, vômitos, tontura, adinamia, mialgias, cefaleia, hipotensão, lipotimias, síncope, hipoglicemia e hiperglicemia (BRASIL, 2013; BRASIL; 2017).

Além disso, podem ocorrer reações mais severas, como: pancreatite, que pode levar ao aparecimento de diabetes mellitus em 10 a 15% dos casos, arritmias cardíacas, leucopenia, trombocitopenia, insuficiência renal aguda em cerca de 25% dos pacientes, hipocalcemia e taquicardia ventricular e choque anafilático (BRASIL, 2013; BRASIL; 2017).

Devido os efeitos tóxicos deste fármaco, a pentamidina possui algumas contraindicações, a saber: gestantes, lactantes, crianças menores de 1 ano, pacientes portadores de diabetes mellitus ou intolerantes à glicose, insuficiência renal e hepática, doenças cardíacas ou hipersensibilidade ao medicamento (BRASIL, 2017).

2.6.4 Miltefosina

A miltefosina (hexadecilfosfocolina) foi inicialmente produzida para o tratamento do câncer, no entanto, foi introduzida na farmacoterapia das leishmanioses, sendo o único medicamento oral eficaz contra o parasito de *Leishmania*, descartando, portanto, a necessidade de hospitalização dos pacientes (VERMA; DEY, 2004; CASTELO BRANCO. et al. 2016).

A OMS recomenda a dose de 2,5 mg/kg/dia para crianças até 12 anos, 100 mg/dia para pacientes entre 25 a 50 kg, e, acima de 50 kg recomenda-se 150 mg/ dia por 28 dias. Além da utilização em humanos, a miltefosina é utilizada para o tratamento da LV canina na Espanha, Portugal e no Brasil (DORLO et al., 2012).

A miltefosina parece alterar a composição da membrana, interferindo no metabolismo de lipídios, na síntese de glicoproteínas e causar a morte do parasito por apoptose celular. No entanto, por possuir um tempo de meia-vida longo o aparecimento de resistência pode ser favorecido (DORLO et al., 2012).

2.7 Plantas de interesse ao Sistema Único de Saúde

Evidências históricas e arqueológicas, demonstram que as faculdades curativas das plantas medicinais já eram apontadas cerca de 10.000 anos atrás, no período Neolítico (BHATTARAM, 2002). Através da observação das propriedades medicinais de produtos naturais, novos e importantes medicamentos foram descobertos na terapia moderna - caracterizada por medicamentos com ações específicas e alvos conhecidos; as plantas

medicinais contribuem como fonte natural de fármacos, por meio da obtenção de moléculas protótipos (KINGHORN, 2001; COSTA-LOTUFO, 2010).

Com isso, as plantas medicinais influenciaram diretamente na saúde, grande parte devido a expansão do conhecimento sobre fitoterápicos e a comprovação do efeito terapêutico de diversas plantas, que outrora eram usadas somente por conhecimento empírico (KLEIN et al., 2010).

A busca por terapias alternativas, apartando-se da centralização ao redor dos medicamentos sintéticos, que por vezes possuem alto custo e acarretam uma série de efeitos adversos, ganham bastante notoriedade no cenário atual, tanto nos países em desenvolvimento, quanto nos países desenvolvidos. (CALIXTO, 2000).

Mediante as vantagens que o uso de produtos naturais proporciona, principalmente a relação custo e benefício, o Brasil vem propondo integrar à terapêutica, medicamentos à base de plantas, tendo em vista que o país abriga a maior biodiversidade do mundo, possuindo um terço da flora mundial e a maior reserva de produtos naturais do planeta com cerca de 55 mil espécies catalogadas. No entanto, apesar dessas vantagens, nas duas últimas décadas, o número de informações acerca de plantas medicinais cresce somente 8% ao ano (YUNES et al., 2001; DE FRANÇA et al., 2008; FONSECA, 2012).

No Brasil, o uso de plantas medicinais tem sido enfatizado na atenção básica no SUS. Desde a década de 80, documentos vêm sendo elaborados a fim de incentivar o uso de fitoterápicos com o intuito de melhorar os serviços da saúde, aumentar a resolutividade e integrar novas abordagens terapêuticas. Logo, pesquisas relacionadas a plantas medicinais como alternativa no tratamento de doenças merece mais atenção, uma vez que inúmeros plantas parecem conter princípios ativos promissores (KLEIN, et al., 2010; CARNEIRO et al., 2014).

Com isso, o interesse acerca do estudo de produtos naturais vem ganhando popularidade em órgãos como o MS, que demonstrou incentivo à pesquisa científica de plantas medicinais através da divulgação da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS) em 2006, do Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), instituído em dezembro de 2008, e, a inclusão de fitoterápicos na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) disponíveis no Componente Básico da Assistência Farmacêutica, desde 2006 (MAYORGA BORGES et al., 2007; BRASIL, 2016 MACEDO et al., 2016).

A RENISUS traz uma lista com 71 plantas medicinais com a finalidade de orientar pesquisas e estudos, contribuindo com a assistência farmacêutica (BRASIL, 2009). Da RENISUS, 10 plantas foram selecionadas neste estudo para serem avaliadas quanto à atividade

leishmanicida e imunomoduladora, sendo elas: *Chenopodium ambrosioides*, *Copaifera langsdorffii*, *Cynara scolymus*, *Equisetum arvense*, *Morus alba*, *Passiflora alata*, *Polygonum acre*, *Solanum paludosum*, *Stryphnodendron adstringens* e *Vernonia* spp.

A OMS estimula a investigação farmacológica de plantas e reconhece que grande parte da população, principalmente de países em desenvolvimento, é dependente da medicina tradicional, cerca de 80% utilizam práticas tradicionais nos cuidados básicos de saúde e 85% destes utilizam plantas ou preparações provenientes de plantas (BRASIL, 2006).

No que concerne a leishmaniose, a busca por tratamentos inéditos, menos tóxicos e facilmente acessíveis para tratar populações em vulnerabilidade social é imprescindível, pois na maioria dos casos, estas são as mais afetadas pela doença (OLIVEIRA; GILBERT; BÔAS, 2013).

A escolha de espécies vegetais para estudos geralmente baseia-se em um dado efeito já descrito *in vitro* ou *in vivo*, e, pode constituir-se num valioso atalho para a descoberta de novos fármacos (SIMÕES, et al., 2004). Com isto, estão descritas a seguir atividades farmacológicas já conhecidas das 10 espécies vegetais estudadas, configurando assim uma pré-triagem para a respectiva avaliação leishmanicida e imunomoduladora.

2.7.1 *Chenopodium ambrosioides*

No Brasil, a espécie *Chenopodium ambrosioides* L. (Figura 11) é popularmente conhecida com mastruz ou erva-de-santa-Maria. Pertencente ao gênero *Chenopodium* e família Chenopodiaceae, a planta *Chenopodium ambrosioides* é amplamente distribuída em todo o mundo (RAMOS; SOLEDADE; BAPTISTA, 2011; DA SILVA, et al., 2018).

Apesar de ser empregada principalmente como anti-helmíntico (FENALTI; 2016), *Chenopodium ambrosioides* possui outras atividades já relatadas, como atividade contra malária (CYSNE et al., 2016), ação anti-inflamatória crônica e antifibrótica (SOUZA; 2014), potencial antiedematogênico (PEREIRA et al., 2015), atividade antioxidante, efeito antitumoral (BARROS, 2013) e atividade leishmanicida (BEZERRA et al., 2006; PATRÍCIO et al., 2008; MONZOTE et al., 2014).

Diversos compostos bioativos foram encontrados em *Chenopodium ambrosioides*, incluindo compostos fenólicos, ácidos graxos insaturados, tocoferóis e alguns açúcares (BARROS, 2013). Além disso, essa espécie é abundante em flavonoides (rutina, quercetina e crisina) e terpenos (KIUCHI et al., 2002; JIN-HUI, 2005; AJAIB, 2016; JESUS et al., 2018).

Figura 11 – *Chenopodium ambrosioides* L.



Fonte: CRESPI, 2017

2.7.2 *Copaifera langsdorffii*

A *Copaifera langsdorffii* Desf. (Figura 12), é uma espécie pertencente à família Leguminosae Juss, subfamília Caesalpinoideae Kunth ou pelo sistema de classificação de Cronquist, à família Caesalpiniaceae (ALENCAR, 1982; DUARTE, 2015). É popularmente conhecida no Brasil como copaíba, bálsamo, copaibeira e outros, e, destaca-se no mercado nacional de produtos naturais. Trata-se de uma árvore de grande porte, capaz de alcançar 40 metros de altura, sendo útil no plantio em áreas degradadas por ter uma copa densa e globosa (ARAÚJO JÚNIOR et al., 2005; PEREIRA, 2011).

A *Copaifera langsdorffii* possui estruturas que sintetizam e secretam oleorresina, responsável pela atividade biológica da planta, sendo amplamente utilizada para dor de garganta e infecções urinárias, além de possuir atividade anti-inflamatória (DIAS et al., 2014), antimicrobiana (ZIMMERMAM-FRANCO et al., 2013; ABRÃO et al., 2015), antiulcerogênica, antitumoral (RODRIGUES; DE PÁDUA TEIXEIRA; MACHADO, 2011) e cicatrizante (DE LIMA SILVA et al., 2009; MASSON-MEYERS et al., 2013).

Estudos demonstram que os metabólitos encontrados nas partes aéreas são distintos dos metabólitos presentes no oleorresina. Nas partes aéreas destaca-se a presença de derivados da via do ácido chiquímico, flavonoides e ácidos galoilquínicos, nos quais já foram isolados 3-O-alfa ramnopiranosilquercetina, 3-O-alfa ramnopiranosil-canferol e canferol (MOTTA, 2014;

NOGUEIRA; FURTADO; BASTOS, 2015; CAVALCANTE; CAVALCANTE; BIESKI, 2017). Já no oleorresina, são encontrados sesquiterpenos e diterpenos como o ácido kaurenóico, ácido polialtico e ácido copálico. (VEIGA JUNIOR et al., 2007; ABRÃO et al., 2015; CAVALCANTE; CAVALCANTE; BIESKI, 2017).

Figura 12 – *Copaifera langsdorffii* Desf.



Fonte: LOPES, 2012

2.7.3 *Cynara scolymus*

A alcachofra é o nome popular empregado para *Cynara scolymus* L. (Figura 13), uma planta pertencente à família Asteraceae, e, oriunda do Mediterrâneo (BIANCO, 2000). Os principais metabólitos secundários encontrados na *Cynara scolymus* são os polifenóis, em especial os flavonoides (NOLDIN et al., 2003).

Schütz e colaboradores (2004) identificaram 22 metabólitos na *Cynara scolymus*, nos quais 11 eram ácidos cafeoilquínicos e 8 flavonoides, sendo a apigenina 7-O-glucoronídeo o principal flavonoide encontrado. Além disso, antocianinas também foram encontradas nessa espécie, sendo estes, pigmentos responsáveis pela cor roxa da planta (LATTANZZIO et al., 2009).

A *Cynara scolymus* possui diversas atividades farmacológicas, como: atividade antisséptica (HOLTMANN et al., 2003), antioxidante comparável à atividade das vitaminas C e E (JIMENES-ESCRIG et al., 2003; SCHUTZ et al., 2004), efeito antimicrobiano sobre biofilme (DE OLIVEIRA, et al., 2017), atividade hepatoprotetora, anticarcinogênica, anti-HIV, antifúngica, anti-inflamatória e probiótica (LATTANZZIO et al., 2009).

Figura 13 – *Cynara scolymus* L.



Fonte: SIROVS, 2017

2.7.4 *Equisetum arvense*

Equisetum arvense L. (Figura 14) popularmente conhecida como cavalinha, é uma espécie pertencente à família Equisetaceae, no qual abrange cerca de 15 espécies vivas. As espécies do gênero *Equisetum* são ricas em sais de potássio, magnésio, cálcio, fósforo, flúor e alumínio. São constituídas principalmente de silício, representando cerca de 15% dos constituintes totais, além de apresentarem taninos, saponinas, alcaloides, flavonoides e óleos essenciais (FERREIRA et al., 1999; BERTALOT et al., 2010; HUSBY, 2013).

No Brasil, a espécie *Equisetum arvense* é utilizada em programas do SUS para o tratamento da hipertensão arterial, por apresentar ação diurética de até 30% (FARIAS, 2016). Além disso, possui atividade cicatrizante gerando reepitelização e angiogênese no tecido conjuntivo, ação anti-inflamatória por inibição de vias da sinalização intracelular da resposta inflamatória (LOPES; 2010), ação antibacteriana e antifúngica contra cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Aspergillus niger* e *Candida albicans* (RADULOVIC; STOJANOVIĆ; PALIĆ., 2006) e atividade leishmanicida (SAEED, HASSAN, ARTEEN; 2014).

Figura 14 – *Equisetum arvense* L.



Fonte: FERREIRA, 2001

2.7.5 *Morus alba*

Pertencente à família Moraceae, *Morus* compreende um gênero que abrange uma série de 16 espécies, popularmente conhecidas com amoras. O gênero *Morus* é popular em países com clima subtropical e regiões de temperaturas altas, adaptando-se facilmente no continente europeu e na América. Dentre as espécies, destaca-se a *Morus alba* Linn. (Figura 15), popularmente conhecida como amora ou amoreira branca, amplamente utilizada na medicina popular (DORIGAN et al., 2011; CALÍN-SÁNCHEZ et al., 2013; NAIK et al., 2015).

Os principais fitoquímicos presentes nas espécies do gênero *Morus*, são os compostos fenólicos (HUANG et al., 2017). Nas folhas de *Morus alba*, observa-se a presença de alcaloides como o 1-desoxinojirimicina, flavonoides quercetina, rutina, isoquercetina, astragalina e kaempferol, chalconas como morachalconas B e C, taninos, terpenos, além de ácido ascórbico, ácido fólico, vitamina B1, vitamina D e caroteno (KIM; CHOUNG; RYU, 1999; KIMURA et al., 2004; YANG et al., 2012; SINGH et al., 2013).

A espécie *Morus alba* possui diversas atividades farmacológicas, incluindo atividade diurética, expectorante, analgésica (ZENI; DALL' MOLIN, 2010), ação anti-inflamatória (PEREIRA et al., 2013) atividade hipoglicemiante (SAENTHAWESUK et al., 2009), atividade anti-helmíntica (RAO et al., 2012), além de possuir uma fonte de proteínas inibidores de distúrbios neurodegenerativos (BUTT et al., 2008).

Figura 15 – *Morus alba* Linn.



Fonte: SIROVS, 2018

2.7.6 *Passiflora alata*

Passiflora alata Curtis (Figura 16) popularmente conhecida como maracujá doce, é uma espécie pertencente à família Passifloraceae e bem distribuída por todo neotrópico. O gênero *Passiflora* abrange aproximadamente 520 espécies, das quais 150 são nativas do território brasileiro (MESQUITA, 2019).

Em geral, o cultivo dos maracujazeiros está associado a alimentação, a ornamentação pela beleza das flores dessas plantas e a formulação de fitoterápicos, vendidos comercialmente sem receita médica; o suco de polpa e a produção de chá de *P. alata* é bastante apreciado no mundo (MACHADO et al., 2008; PAIVA, 2013; SARAVANAN; PARIMELAZHAGAN, 2014).

Os metabólitos secundários mais frequentemente descritos para *Passiflora alata* são os flavonoides vitexina, isovitexina, orientina, 2''-xilosil-vitexina (ULUBELEN et al., 1982), 2''-ramnosil-vitexina, 2''-ramnosil-escoparina, 2''-ramnosil-orientina e isoorientina (DOYAMA et al., 2005).

Birk et al. (2005), traçaram um perfil cromatográfico diferenciado de *Passiflora alata*, apresentando um perfil majoritariamente de saponinas. Cinco saponinas foram isoladas e identificadas, sendo elas: quatro saponinas triterpênicas e um esteroide (REGINATTO et al., 2001).

Alguns estudos fornecem evidências acerca do efeito sedativo e ansiolítico de *Passiflora alata* (ROMANINI et al., 2006; LEAL et al., 2016); também são descritas outras atividades farmacológicas, como a sugestão de efeito neuroprotetor, reversão de déficit cognitivo e atividade antioxidante no modelo animal de doença de parkinson induzido (SANTOS et al., 2018), além da atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (PEREIRA et al., 2015).

Figura 16 – *Passiflora alata* Curtis



Fonte: LOPES, 2012

2.7.7 *Polygonum acre*

Habitualmente conhecida como erva de-bicho, a espécie *Polygonum acre* Lan. (Figura 17) pertence à família Polygonaceae Juss que abrange cerca de 40 gêneros, nos quais 800 espécies são encontradas em regiões temperadas, tropicais e subtropicais (SILVA-BRAMBILLA; MOSCHETA, 2001; SOFIATI, 2009; BRASIL, 2014).

Polygonum acre é uma espécie de origem asiática, mas no Brasil foi adaptada em todos os estados, principalmente no Rio Grande do Sul, Pará, Maranhão, Bahia, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo, Paraná e Santa Catarina (MELO, 1991; LOPES et al., 2003; BIESKI, 2005).

Estudos fitoquímicos demonstram a presença de diversos metabólitos em *Polygonum acre*, a saber: flavonoides (rutina, quercetina e luteolina), taninos, compostos fenólicos, saponinas, terpenos, derivados cinâmicos, proantocianidinas condensadas e leucoantocianidinas (SOFIATI, 2009).

Farmacologicamente, *Polygonum acre* é descrita para desordens intestinais (HUSSAIN et al., 2010; ALVES et al., 2001), além de possuir atividade antifúngica, anti-inflamatória, diurética, anti-histamínica, (ALVES et al., 2001; MAZID et al., 2009; NARASIMHULU; REDDY; MOHAMED, 2014) e antibacteriana (PENNA et al., 2001).

Figura 17 - *Polygonum acre* Lan.



Fonte: BRASIL, 2014

2.7.8 *Solanum paludosum*

A espécie *Solanum paludosum* Moric. (Figura 18) faz parte de um grupo de aproximadamente 3000 espécies pertencentes a família Solonaceae, que abrange mais de 100 gêneros. *Solanum paludosum* é amplamente distribuída e particularmente comum na América do Sul, sendo popularmente conhecida como jurubeba (AGRA; NURIT-SILVA; BERGER, 2009; SILVA et al., 2012).

Nas espécies do gênero *Solanum*, os metabólitos mais presentes são os alcaloides e flavonoides, particularmente em *Solanum paludosum* destaca-se a presença do alcaloide esteroideal solasodina e o glicoalcaloide solamargina, além da presença dos flavonóis retusina, ramnocitrina, kumatakenina, 3-O-metilquercetina e 3,7,8,4'-tetra-O-metilgossipetina, flavonas como genkwanina, triterpenos e esteroides glicosilados (BHATTACHARYYA, 1984; SILVA et al., 2002; VÄÄNÄNEN, 2007; SILVA; CARVALHO; BRAZ-FILHO, 2009; PEREIRA; RODRIGUES; VEGA, 2016).

Estudos recentes revelam que os flavonoides presentes em *Solanum paludosum* possuem atividade leishmanicida *in vitro*, podendo tornar-se um forte candidato a fármaco (ARAÚJO et al., 2019). Além disso, a literatura descreve atividade vasodilatadora (MONTEIRO et al., 2012) e moluscicida contra *Biomphalaria glabrata* (SILVA et al., 2006).

Figura 18 – *Solanum paludosum* Moric.



Fonte: SOUZA, 2016

2.7.9 *Stryphnodendron adstringens*

Stryphnodendron adstringens Mart. (Figura 19) é uma planta popularmente conhecida como barbatimão, barba-de-timão, borãozinho-roxo, casca-da-virgindade, uabatimô, abaramotemo, casca-da-mocidade, faveiro e enche-cangalha. Pertencente à família Fabaceae, considerada uma das maiores famílias que abrange aproximadamente 650 gêneros e 18.000 espécies (OCCHIONI, 1990; GOULART, 2010).

Segundo Almeida e colaboradores (1998), o gênero *Stryphnodendron* abrange 25 espécies sendo quase exclusivo da América do Sul, onde todas as espécies pertencentes a este gênero são encontradas em território brasileiro. A espécie *Stryphnodendron adstringens* é amplamente utilizado pela população como antibacteriano, anti-inflamatório, antisséptico, adstringente (GOULART, 2010). Sendo recomendada, também, no formulário de fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira como cicatrizante na forma farmacêutica de creme (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2011).

Apesar de ser bastante utilizada na medicina popular através de conhecimento empírico, estudos científicos confirmam as atividades farmacológicas do barbatimão, como: atividade na

inibição de bactérias gram positivas, como *Staphylococcus aureus* (PEREIRA et al., 2010; ELLER et al., 2015), ação sobre biofilme dentário, prevenindo o aparecimento de cárie (SOARES et al., 2008), propriedades antigenotóxicas e antioxidantes (FILHO et al., 2011), potencial cicatrizante (MINATEL et al., 2010), ação antifúngica contra *Candida albicans* (ISHIDA et al., 2006; PEREIRA et al., 2010) e atividade antiparasitária (VINAUD et al., 2005; HOLETZ et al., 2005).

O metabolismo secundário do barbatimão gera diversos constituintes importantes e cruciais para as atividades descritas acima, como: a presença de alcaloides, terpenos, flavonoides, esteroides e o constituinte majoritário, taninos. Foram isolados diversos taninos condensados como o galocatequina, epigalocatequina, 4'-O-metil-galocatequina, epigalocatequina-3-O-galato, epigalocatequina-3-O-(3",5"- dimetil)-galato, epigalocatequina-3-O-(3"-metoxi)-4"- hidroxibenzoato, 4'-O-metil-galocatequina-(4 8)-4'-O- metil-galocatequina, 4'-O-metil-robinetinidol-(4 8)-4'-O- metil-galocatequina e 4'-O-metil-robinetinidol-(4 8)-4'- O-metil-epigalocatequina e o tanino hidrolisável ácido gálico, presentes principalmente na casca do barbatimão, no qual apresenta cerca de 30% destes metabólitos no extrato aquoso (PANIZZA et al., 1988; MELLO et al., 1999; TOLEDO, 2000 GOULART, 2010; LIMA et al., 2017).

Figura 19 - *Stryphnodendron adstringens* Mart.



Fonte: LORENZI, 1998

2.7.10 *Vernonia* spp.

Vernonia (Figura 20) é um dos maiores gêneros pertencentes a família Asteraceae, com aproximadamente 1000 espécies, configurando um táxon muito diversificado com espécies arbustivas, arbóreas, herbáceas perenes e anuais, presentes particularmente nas regiões tropicais

e subtropicais do continente americano, asiático e africano (ROBINSON, 1999; SOARES; NAKAJIMA, 2009; MAIA et al., 2010).

As espécies do gênero *Vernonia* são amplamente utilizadas na medicina popular, devido a gama de fitoquímicos com propriedades bioativas, especialmente diterpenos e triterpenos como o lupeol (KOS et al., 2006; LIANG; MIN, 2003), flavonoides (CARVALHO et al., 1999), esteroides (TCHINDA et al., 2003) e lactonas sesquiterpênicas como vernolídeo e vernodalol (BOHLMANN; JAKUPOVIC, 1990; ERASTO, GRIERSON; AFOLAYAN, 2006; BUSKUHL et al., 2010).

Estudos demonstram a atividade antifúngica, citotóxica, moluscicida, inseticida e antitumoral das lactonas sesquiterpênicas (SOBRINHO; DE SOUZA; DOS SANTOS FONTENELLE, 2015), com ênfase nos vernólidos, uma classe de lactona sesquiterpênic bastante estudada, que em estudos demonstrou possuir atividade antiplasmodial, antileishmanial e anti-esquistossomático (TOYANG; VERPOORTE, 2013). Além disso, as espécies pertencentes ao gênero *Vernonia* demonstram atividade bactericida, fungicida e anti-inflamatória (CIOFFI et al., 2004; ERASTO; GRIERSON; AFOLAYAN et al., 2006).

Figura 20 – *Vernonia* spp.



Fonte: GIACON, 2017

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar o efeito leishmanicida de plantas medicinais de interesse ao SUS *Chenopodium ambrosioides*, *Copaifera langsdorffii*, *Cynara scolymus*, *Equisetum arvense*, *Morus alba*, *Passiflora alata*, *Polygonum acre*, *Solanum paludosum*, *Stryphnodendron adstringens* e *Vernonia* spp., bem como investigar o mecanismo de ação dos produtos naturais mais ativos, com intuito de descobrir novos candidatos a fármacos leishmanicidas, que constituam opções terapêuticas mais seguras ao tratamento da leishmaniose.

3.2 Específicos

- Determinar a citotoxicidade das soluções extrativas aquosas das plantas para a célula hospedeira (macrófagos);
- Verificar a ação dos produtos naturais sobre macrófagos infectados com *Leishmania* spp. quanto à taxa de infecção e a multiplicação dos parasitas intracelulares (amastigotas de *Leishmania* spp.);
- Identificar a seletividade dos produtos naturais para diferentes espécies do gênero *Leishmania*;
- Analisar o efeito desses produtos naturais sobre macrófagos infectados com *Leishmania* spp. quanto à produção de óxido nítrico;

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Obtenção das soluções extrativas aquosas

As espécies vegetais utilizadas no estudo foram adquiridas em herbanários, e, posteriormente, passaram por processos de extração para a obtenção das soluções extrativas aquosas. Para as partes aéreas das espécies *Chenopodium ambrosioides*, *Copaifera langsdorffii*, *Cynara scolymus*, *Equisetum arvense*, *Morus alba*, *Passiflora alata*, *Polygonum acre*, *Solanum paludosum* e *Vernonia* spp., o método utilizado foi infusão, no caso da espécie *Stryphnodendron adstringens* o método extrativo utilizado foi a decocção, por ter sido utilizado a casca dessa planta.

As soluções extrativas foram filtradas e esterilizadas em membranas filtrantes estéril de 0,22 μm , e, posteriormente, foram preparados o peso seco das soluções extrativas de cada uma das espécies para determinar a massa em microgramas, e, em seguida, o volume a ser utilizado para atingir a concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$.

4.2 Fármacos e reagentes

Os fármacos utilizados neste trabalho como padrões foram: pentamidina, miltefosina e antimoniato de meglumina. Foram usados como reagentes o Meio Schneider, Soro Fetal Bovino (SFB) e meio Roswell Park Memorial Institute (RPMI), provenientes da Sigma[®]. DMSO 0,1% (Sigma) foi utilizado como veículo na preparação das soluções estoque dos fármacos.

4.3 Manutenção de linhagem de macrófagos

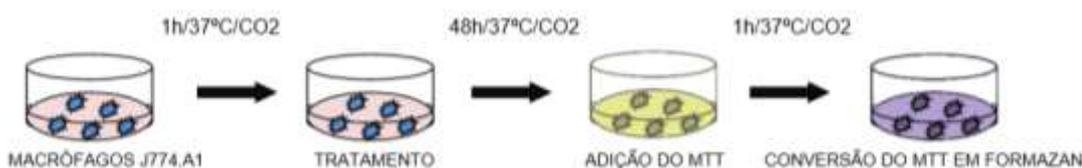
Os macrófagos da linhagem J774.A1 foram conservados em garrafas de cultura em 10 ml de meio RPMI suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB). No momento da utilização, as células foram centrifugadas por 5 minutos, em 1500 RPM a 4°C e contadas em câmara de Neubauer e, posteriormente, ajustadas em meio RPMI suplementado com SFB na concentração de 1×10^5 células/mL, no qual foram lançados 200 μL dessa suspensão em placa de 96 poços (Nunc, Denmark).

4.4 Determinação da viabilidade celular

A viabilidade celular (Figura 21) fora determinada através do ensaio de redução de MTT [3(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo]. Este ensaio consiste em medir indiretamente a viabilidade celular através da atividade enzimática mitocondrial dos macrófagos, por meio da ação da succinato desidrogenase, sucedendo a formação de cristais de formazan de coloração roxa, que contribui na quantificação no leitor de microplacas (MOSMANN, 1983).

Para isto, macrófagos da linhagem J774.A1 foram previamente cultivados em triplicatas em placas de 96 poços, na concentração de 1×10^5 células/poço e incubadas em estufa a 37 °C com atmosfera úmida contendo 57% de CO₂ por 1 hora, para que houvesse a adesão das células no fundo dos poços. Em seguida, os poços foram lavados com solução salina para a remoção dos macrófagos não aderentes e acrescentados os extratos das plantas na concentração de 100 µg/mL. Nos poços controles, as células foram cultivadas apenas com meio de cultura e 10% de SFB. A viabilidade celular das culturas tratadas com os extratos foi comparada ao padrão de morte obtido nas culturas controle.

Figura 21 – Ensaio de viabilidade celular



Fonte: AUTORA, 2019

4.5 Avaliação da carga parasitária in vitro

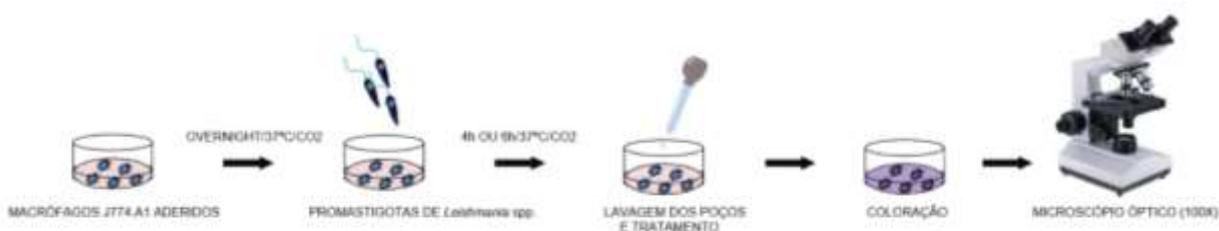
O ensaio para avaliação da ação leishmanicida também foi realizado utilizando macrófagos da linhagem J774.A1, no quais estes foram cultivados em placas de 24 poços contendo lamínulas no fundo (na concentração de 1×10^5 células/poço) e infectados com formas promastigotas de *Leishmania* spp. na fase estacionária de crescimento, numa proporção de um macrófago para 10 *Leishmanias*.

A placa foi incubada por um período de 4 horas em estufa a 37 °C com atmosfera úmida contendo 5% de CO₂, para que houvesse a interiorização dos parasitos pelos macrófagos. Após 4 horas de infecção, os poços foram lavados para remoção dos parasitos não interiorizados. Os

macrófagos infectados receberam o tratamento com os extratos e foram mantidos por um período de 24 horas em estufa a 37 °C com atmosfera úmida contendo 57% de CO₂. Após o período de *overnight*, os sobrenadantes dos poços com os macrófagos infectados foram retirados e congelados para serem utilizados na dosagem de óxido nítrico, posteriormente. As células foram fixadas às lamínulas com metanol gelado por dois minutos e, em seguida, coradas com Giemsa 3% e May-Grünwald 0,3%, previamente filtrados e montadas sobre lâminas (Figura 22).

A avaliação do número de macrófagos infectados e não infectados, assim também como o número de amastigotas em 100 macrófagos, foi realizada com auxílio de microscópio ótico com objetiva de 100X (imersão) (NUNES et al., 2005). Este ensaio serviu para determinação da atividade leishmanicida dos extratos sobre as espécies *L. amazonensis* e *L. chagasi* na concentração de 100 µg/mL.

Figura 22 – Ensaio de avaliação da carga parasitária *in vitro*



Fonte: AUTORA, 2019

4.6 Determinação do índice de seletividade (IS)

O índice de seletividade é um parâmetro crucial na investigação de substâncias leishmanicidas, pois ele pressupõe o quanto seu efeito citotóxico será seletivo para o parasito, sem implicar na morte da célula hospedeira. O índice de seletividade é calculado através da razão entre a concentração inibitória de 50% do crescimento de macrófagos e parasitos (MUYLDER et al, 2011).

4.7 Dosagem de óxido nítrico

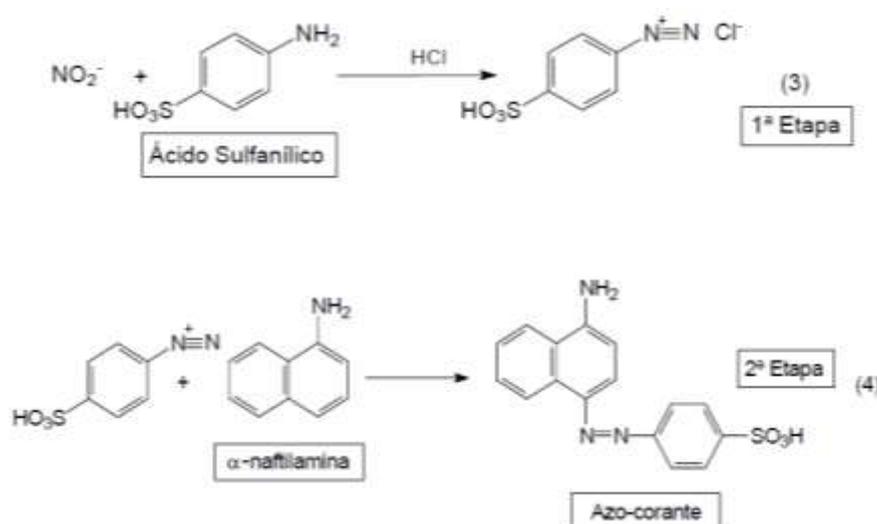
Os sobrenadantes das culturas de macrófagos infectados com *Leishmania* spp. e cultivados na presença dos extratos foram coletados e mantidos a -20°C até o momento da

utilização. A avaliação da produção de óxido nítrico (NO) foi realizada indiretamente através da medida da produção de nitrito (NO_2^-) no sobrenadante das culturas.

Através da reação colorimétrica de Griess (Figura 23), a concentração de nitrito pôde ser determinada (GRIESS, 1879). Na primeira etapa da reação, o óxido nítrico reage na presença do ácido sulfanílico formando o cátio diazônio. Na 2ª etapa, o cátio acopla-se a amina aromática (alfa-naftilamina) formando o azo-corante (TSIKAS, DIMITRIOS, 2006).

Para que a reação aconteça, utiliza-se 50 μl do reagente de Griess adicionados a 50 μl do sobrenadante e após 10 minutos a absorbância do azo-corante é determinada em leitor de ELISA (filtro de 540nm).

Figura 23 – Dosagem de óxido nítrico através da reação colorimétrica de Griess



Fonte: TSIKAS; DIMITRIOS, 2006

4.8 Análise estatística

As análises dos resultados foram realizadas no software Prisma®, onde avaliou-se os níveis de significância entre os grupos experimentais e controles positivos ou negativos, utilizando-se a análise de variância ANOVA, seguido do pós-teste de Tukey. Os valores foram considerados significativos quando $*p < 0.05$, e expressos como média \pm erro padrão da média.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação do potencial citotóxico dos extratos sobre os macrófagos

A princípio os efeitos dos extratos das plantas da RENISUS foram analisados através da investigação *in vitro* do potencial citotóxico em macrófagos da linhagem J774.A1 (Tabela 2), via método de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio). A viabilidade celular das culturas tratadas com os extratos foi comparada ao padrão de morte obtido nas culturas controle.

Tabela 1 - Efeito citotóxico de plantas da RENISUS, pentamidina, antimoniato de meglumina e miltefosina em macrófagos da linhagem J774.A1.

Substância	CI ₅₀ ^a	Efeito Máximo (%) ^b
Pentamidina	35,5 ± 3,4 µM	78,4 ± 3,7 ***
Antimoniato de meglumina	>300 µM	NA
Miltefosina	>100 µM	NA
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	>100 µg/mL	NA
<i>Copaifera. langsdorffii</i>	>100 µg/mL	NA
<i>Cynara scolymus</i>	>100 µg/mL	NA
<i>Equisetum arvense</i>	>100 µg/mL	NA
<i>Morus alba</i>	>100 µg/mL	NA
<i>Passiflora alata</i>	>100 µg/mL	NA
<i>Polygonum acre</i>	>100 µg/mL	NA
<i>Solanum paludosum</i>	31,7 ± 0,1 µg/mL	99,9 ± 0,1 ***
<i>Stryphnodendron adstringens</i>	>100 µg/mL	NA
<i>Vernonia spp.</i>	>100 µg/mL	NA

Fonte: AUTORA, 2019

^a Concentração Inibitória de 50% calculada através de curvas concentração-resposta; ^b média do efeito máximo ± erro padrão em triplicatas de um experimento representativo. Os valores de eficácia máxima foram considerados significativos quando *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 em relação ao grupo DMSO 0,1%; ^{NA} substância não apresenta atividade significativa em relação ao grupo DMSO 0,1%.

O ensaio de viabilidade celular por meio do MTT, consiste em uma técnica colorimétrica capaz de mensurar a atividade mitocondrial de células viáveis. A atividade mitocondrial é quantificada por espectrofotometria (550 nm) através da redução do MTT, catalisada pela

enzima succinato desidrogenase de células viáveis, resultando na formação de cristais de formazan. O MTT possui uma coloração amarela e ao ser metabolizado, torna-se de cor púrpura devido a formação dos cristais (MOSMANN, 1983).

Segundo Mosmann (1983), o ensaio detecta apenas células vivas, logo, pode ser aplicado para mensurar citotoxicidade, proliferação ou ativação celular. A técnica possui diversas vantagens por possuir menor tempo de processamento, ser capaz de quantificar muitas amostras com precisão, ser um teste sensível e reprodutível, de fácil realização, além de substituir outros métodos, como o teste que utiliza radioisótopos.

A investigação do efeito citotóxico das plantas demonstrou que até a máxima concentração testada, 100 µg/mL, os extratos de *Chenopodium ambrosioides*, *Copaifera langsdorffii*, *Cynara scolymus*, *Equisetum arvense*, *Morus alba*, *Passiflora alata*, *Polygonum acre*, *Stryphnodendron adstringens* e *Vernonia* spp. não induziram efeito deletério aos macrófagos, quando comparados aos grupos controle.

Valério et al. (2014) em estudos utilizando frações clorofórmica e acetato de etila de *Chenopodium ambrosioides*, observaram que os extratos não induziram ação citotóxica. No entanto, Gadano, Gurni e Carballo (2007), avaliaram a atividade do extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* em cultura de linfócitos e verificaram citotoxicidade e redução do índice mitótico com consequente indução da morte celular.

A ausência de citotoxicidade do extrato apresentada no presente estudo pode estar relacionada à linhagem celular utilizada e ao processo extrativo, como demonstrado por Queiroz et al. (2014) que ao avaliarem a atividade leishmanicida de plantas medicinais utilizadas em áreas endêmicas do Nordeste do Brasil, observaram que o extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* não exibiu efeito deletério em macrófagos murino, o que corrobora com os resultados obtidos neste estudo.

Ao determinarem o potencial citotóxico de diterpenos isolados de *Copaifera* spp. sobre células J774 de macrófagos e linfócitos, Vargas et al. (2015) observaram que os diterpenos não exibiram efeito citotóxico significativo sobre as células. Rondon et al. (2012) avaliaram o efeito citotóxico da oleorresina de *Copaifera reticulata* sobre macrófagos RAW 264.7, na qual não induziu efeito citotóxico significativo às células.

Higa et al. (2019) ao avaliarem a citotoxicidade do extrato glicólico de *Cynara scolymus* sobre macrófagos de camundongos (RAW 264.7), verificaram que no tempo de 24 horas as concentrações 0,20, 0,39, 0,78, 1,56 e 3,13 mg/mL do extrato, não inibiram significativamente a viabilidade das células.

Da Hye Kwon et al. (2016) demonstraram que o extrato aquoso de *Morus alba* não afetou a viabilidade celular de macrófagos RAW 264.7. Choi e Hwang (2005) ao verificar o efeito do extrato metanólico da folha de *Morus alba* e suas frações (clorofórmio, butanol e frações aquosas) sobre macrófagos RAW 264.7, observaram que não houve efeito citotóxico apreciável sobre as células.

São raros os testes de citotoxicidade de espécies pertencentes ao gênero *Passiflora*, tornando difícil a comparação dos resultados deste trabalho com resultados descritos na literatura. No entanto, De Araújo Delmondes et al. (2014) observaram que os extratos hidroalcoolicos das folhas, casca, sementes e caule de *Passiflora cincinnata* na concentração de 125 µg/mL não induziram efeito citotóxico em fibroblastos.

Menes (2012), observou que o extrato etanólico de *Polygonum acre* obtida comercialmente só apresentou redução de 50% do crescimento de macrófagos a partir da concentração de 1000 µg/mL, e nas concentrações inferiores não houve efeito deletério significativo.

Ribeiro et al. (2015), ao avaliarem o efeito leishmanicida de frações padronizadas do extrato de *Stryphnodendron obovatum*, verificaram que o extrato aquoso da planta só apresentou efeito inibitório de 50% em macrófagos murino em concentrações superiores a 100 µg/mL. Sper (2018), avaliou a citotoxicidade do extrato glicólico de *Stryphnodendron barbatiman* sobre macrófagos RAW 264.7 nas concentrações de 100, 50 e 25 mg/mL por 24 h, observando que nenhuma das concentrações afetou a viabilidade das células.

Kumpunya e Praputbut (2014), demonstraram que nas concentrações de 62,5 - 500 mg/mL o extrato aquoso de *Vernonia cinerea* não teve efeito na viabilidade celular de macrófagos. Ribeiro et al (2014) ao estudarem a atividade leishmanicida e citotóxica de plantas brasileiras, observaram que os extratos etanólico e hexânico das folhas de *Vernonia phosphore* não induziram efeito citotóxico em macrófagos murino.

Nos resultados demonstrados neste estudo, o único extrato que induziu efeito deletério aos macrófagos foi o extrato de *Solanum paludosum* na concentração de $31,7 \pm 0,1$ µg/mL, produzindo efeito máximo de 99,9%. Martins (2013), avaliou o efeito citotóxico de extratos e substâncias isoladas de *Solanum lycocarpum* sobre macrófagos (J774), verificando que o extrato etanólico 96 % (v/v) bruto apresentou alta citotoxicidade ($CI_{50} = 15,65 - 31,25$ µg/mL). Oliveira (2018) avaliou o efeito citotóxico de flavonoides isolados de *Solanum paludosum*, onde observou que o flavonoide 3,7-di-O-metila de kaempferol reduziu a viabilidade celular em $47,9 \pm 8,2\%$ na concentração de 100 µM.

5.2 Ensaio de viabilidade dos parasitos *in vitro*

Para a determinação da atividade leishmanicida, macrófagos da linha J774.A1 foram infectados com promastigotas de *L. amazonensis* e *L. chagasi*, e, posteriormente tratados com as soluções extrativas aquosas na concentração de 100 µg/mL. A avaliação do teste leishmanicida visa analisar a taxa de infecção e a proliferação das formas amastigotas de *Leishmania*, através da contagem dos parasitos intracelulares e do cálculo da concentração inibitória de 50% (CI₅₀).

Além do mais, foram analisados dois aspectos importantes no estudo de atividade leishmanicida de compostos, a potência através do efeito máximo e o índice de seletividade, um parâmetro crucial na investigação de substâncias leishmanicidas que pressupõe o quanto seu efeito citotóxico será seletivo para o parasito, sem implicar na morte da célula hospedeira. A Tabela 2 mostra o efeito leishmanicida das plantas avaliadas e controles utilizados sobre amastigotas de *L. amazonensis*.

Tabela 2 - Efeito leishmanicida de plantas da RENISUS, pentamidina, antimoniato de meglumina e miltefosina contra amastigotas de *Leishmania amazonensis*.

Substância	CI ₅₀ (µM) ^a	Efeito Máximo (%) ^b	Índice de seletividade ^c
Pentamidina	6,6 ± 0,1 µg/mL	68,4 ± 4,4 ***	1,8
Antimoniato de meglumina	91,9 ± 1,3 µg/mL	66,9 ± 1,4 ***	>1,9
Miltefosina	9,0 ± 0,7 µg/mL	91,0 ± 0,4 ***	>4,5
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	68,4 ± 1,9 µg/mL	60,6 ± 1,3 ***	>1,5
<i>Copaifera langsdorffii</i>	>100 µg/mL	NA	-
<i>Cynara scolymus</i>	>100 µg/mL	NA	-
<i>Equisetum arvense</i>	82,3 ± 1,5 µg/mL	51,8 ± 0,3 ***	>1,2
<i>Morus Alba</i>	>100 µg/mL	NA	-

<i>Passiflora alata</i>	>100 µg/mL	NA	-
<i>Polygonum acre</i>	>100 µg/mL	NA	-
<i>Solanum paludosum</i>	19,7 ± 2,6 µg/mL	79,7 ± 3,7 ***	1,6
<i>Stryphnodendron Adstringens</i>	>100 µg/mL	53,0 ± 4,0 ***	-
<i>Vernonia spp.</i>	>100 µg/mL	NA	-

Fonte: AUTORA, 2019

± erro padrão em triplicatas de um experimento representativo. Os valores de eficácia máxima foram considerados significativos quando *p < 0,05, **p < 0,01, , ***p < 0,001 em relação ao grupo DMSO 0,1%; ^{NA} substância não apresenta atividade significativa em relação ao grupo DMSO 0,1%; ^c índice de seletividade para amastigotas *L. amazonensis* em relação a macrófagos da linhagem J774.A1.

A partir da análise da tabela 2, os resultados demonstraram que das 10 plantas avaliadas, quatro delas apresentaram atividade significativa contra as formas amastigotas de *L. amazonensis*, sendo elas: *Chenopodium ambrosioides*, *Equisetum arvense*, *Solanum paludosum* e *Stryphnodendron adstringens*, e os demais extratos não induziram atividade significativa contra *L. amazonensis*.

Foi verificada atividade leishmanicida no extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* apresentou CI₅₀ igual a 68,4 µg/mL, com efeito máximo de 60,6 % e índice de seletividade superior a 1,5. Estes dados corroboram com o estudo realizado por Bezerra et al. (2006), onde avaliaram o efeito do extrato hidroalcoólico de *Chenopodium ambrosioides* em promastigotas de *L. amazonensis*, observando que o extrato induziu atividade leishmanicida (CI₅₀ = 151,9 µg/mL).

De Queiroz et al. (2014) avaliaram o efeito antileishmanial do extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* sobre formas promastigotas de *L. amazonensis* e verificaram atividade direta do extrato sobre as formas extracelulares do parasito, inibindo o crescimento dos parasitos em 87,4% na concentração de 100 µg/mL.

O mecanismo de ação de *Chenopodium ambrosioides* ainda não está totalmente esclarecido, mas sabe-se que há uma associação ao efeito imunomodulador. Em ensaios *in vivo*, Cruz et al. (2007) demonstraram que o extrato bruto hidroalcoólico desta espécie promoveu o

aumento do recrutamento celular para órgãos linfoides secundários, além de estimular a atividade macrofágica evidenciada pelo aumento da capacidade fagocítica da célula.

No município de Buriticupu, em Maranhão, o uso das folhas de *Chenopodium ambrosioides* sobre as lesões causadas pela LC é bastante comum (MOREIRA et al., 1998). Patrício et al. (2008), verificou que o tratamento intralesional com extrato bruto hidroalcoólico de *Chenopodium ambrosioides* foi eficiente na infecção murina por *L. amazonensis*. Logo, os resultados obtidos neste estudo parecem justificar o uso tópico da planta popularmente utilizada no tratamento de úlceras causadas por *Leishmania*.

A espécie *Equisetum arvense* também inibiu significativamente a proliferação dos parasitos, com CI_{50} igual a $82,3 \pm 1,5 \mu\text{g/mL}$ e efeito máximo de 51,8 %, sendo 1,2 vezes mais seletivo para o parasito do que para o macrófago. Saeed, Hassan e Arteen (2014), também identificaram atividade leishmanicida do extrato aquoso de *Equisetum arvense*, no entanto, sobre as formas promastigotas de *Leishmania tropica*, no qual apresentou CI_{50} igual a $1,5 \mu\text{g/mL}$. Além disso, os autores identificaram uma redução na concentração de proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos totais nas promastigotas de *L. tropica* quando tratadas na concentração de $1,5 \mu\text{g/mL}$.

O extrato de *Solanum paludosum* também induziu atividade leishmanicida, apresentando CI_{50} de $19,7 \pm 2,6 \mu\text{g/mL}$, efeito máximo de 79,7 %, sendo 1,6 vezes mais seletivo para o parasito do que para o macrófago, demonstrando-se mais eficaz e mais potente que os demais extratos e os fármacos pentamidina e antimoniato de meglumina. É válido ressaltar que a CI_{50} verificada para os parasitos foi menor que a demonstrada para os macrófagos.

Araújo et al. (2019) avaliaram a atividade leishmanicida de flavonoides isolados de *Solanum paludosum*, gossipetina 3,7,8,4'-tetra-O-metil éter (1) e kaempferol 3,7-di-O-metil éter (3). No referido estudo, observou-se que os flavonoides (1) e (3) apresentaram atividade significativa contra amastigotas de *L. amazonensis*, apresentando CI_{50} de $23,3 \pm 4,5 \mu\text{M}$ e $34,0 \pm 9,6 \mu\text{M}$, respectivamente. Logo, pode-se sugerir que a atividade leishmanicida apresentada pelo extrato aquoso de *Solanum paludosum* pode estar relacionada também aos flavonoides presentes nesta espécie vegetal.

Por fim, foi verificada atividade leishmanicida no extrato aquoso de *Stryphnodendron adstringens*, no qual apresentou efeito máximo de $53,0 \pm 4,0\%$ na inibição de amastigotas de *L. amazonensis*, na concentração de $100 \mu\text{g/mL}$. Ribeiro et al. (2014) ao avaliarem a atividade antileishmanial de frações do extrato de *Stryphnodendron obovatum* e alguns de seus compostos isolados, observaram que o ácido gálico foi o composto mais eficaz contra promastigotas de *L. amazonensis*, apresentando CI_{50} igual a $1,7 \pm 0,7 \mu\text{g/mL}$. Além disso, os

autores também identificaram atividade leishmanicida do extrato aquoso de *Stryphnodendron obovatum* que apresentou CI_{50} igual a $26,2 \pm 0,4 \mu\text{g/mL}$. Em paralelo a estes resultados, Lopes et al. (2009) ao quantificarem os taninos presentes nas espécies *Stryphnodendron polyphyllum*, *Stryphnodendron obovatum* e *Stryphnodendron adstringens*, verificaram que nesta última espécie em relação as outras duas, o ácido gálico esteve presente em uma proporção superior a 60%.

A Tabela 4 mostra os resultados da análise da atividade leishmanicida dos extratos e fármacos controle sobre as formas amastigotas de *L. chagasi*. A partir dos resultados, foi observado que das dez plantas avaliadas, a espécie *Solanum paludosum* induziu atividade leishmanicida significativa.

Tabela 3 - Efeito leishmanicida de plantas da RENISUS, pentamidina, antimoniato de meglumina e miltefosina contra amastigotas de *Leishmania chagasi*.

Substância	CI_{50} (μM) ^a	Efeito Máximo (%) ^b	Índice de seletividade ^c
Pentamidina	$22,1 \pm 1,6 \mu\text{g/mL}$	$66,4 \pm 3,7$ ***	0,5
Antimoniato de meglumina	$> 109,7 \mu\text{g/mL}$	$41,5 \pm 2,6$ ***	-
Miltefosina	$5,6 \pm 0,6 \mu\text{g/mL}$	$72,4 \pm 0,7$ ***	$> 7,2$
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	$>100 \mu\text{g/mL}$	NA	-
<i>Copaifera langsdorffii</i>	$>100 \mu\text{g/mL}$	NA	-
<i>Cynara scolymus</i>	$>100 \mu\text{g/mL}$	NA	-
<i>Equisetum arvense</i>	$>100 \mu\text{g/mL}$	NA	-
<i>Morus Alba</i>	$>100 \mu\text{g/mL}$	NA	-
<i>Passiflora alata</i>	$>100 \mu\text{g/mL}$	NA	-
<i>Polygonum acre</i>	$>100 \mu\text{g/mL}$	NA	-
<i>Solanum paludosum</i>	$9,3 \pm 0,9 \mu\text{g/mL}$	$73,7 \pm 3,8$ ***	3,4

<i>Stryphnodendron adstringens</i>	>100 µg/mL	NA	-
<i>Vernonia</i> spp.	>100 µg/mL	NA	-

Fonte: AUTORA, 2019

± erro padrão em triplicatas de um experimento representativo. Os valores de eficácia máxima foram considerados significativos quando *p < 0,05, **p < 0,01, , ***p < 0,001 em relação ao grupo DMSO 0,1%; ^{NA} substância não apresenta atividade significativa em relação ao grupo DMSO 0,1%; ^c índice de seletividade para amastigotas *L. chagasi* em relação a macrófagos da linhagem J774.A1.

O extrato de *Solanum paludosum*, assim como no ensaio de atividade leishmanicida sobre as formas amastigotas de *L. amazonensis*, também demonstrou atividade sobre *L. chagasi*, no entanto, contra a espécie viscerotrópica apresentou CI₅₀ inferior ao ensaio utilizando a espécie dermatrópica, sendo esta, igual a $9,3 \pm 0,9$ µg/mL. Quanto ao efeito máximo, o resultado assemelha-se ao demonstrado na tabela 3, $73,7 \pm 3,8$ %, entretanto, fora 3,4 vezes mais ativo contra o parasito do que contra a célula hospedeira. Além disso, a CI₅₀ verificada para os parasitos foi menor que a concentração citotóxica nos macrófagos.

Martins (2013), ao estudar o efeito leishmanicida de *Solanum lycocarpum*, uma espécie pertencente ao mesmo gênero de *Solanum paludosum*, sobre promastigotas de *Leishmania infantum*, observou que as frações contendo os glicoalcaloides solasonina e solamargina constituintes resultantes do metabolismo secundário de *Solanum lycocarpum*, demonstraram atividade leishmanicida sobre esta espécie, no entanto, as frações que não possuíam estes metabólitos não apresentaram atividade antipromastigota.

O glicoalcaloide solamargina também pode ser encontrado na espécie *Solanum paludosum* (VÄÄNÄNEN, 2007), portanto, pode-se sugerir que a atividade demonstrada sobre amastigotas da espécie *L. chagasi*, que assim como *L. infantum* causam LV, pode estar relacionada a presença não só dos flavonoides, mas também do glicoalcaloide solamargina.

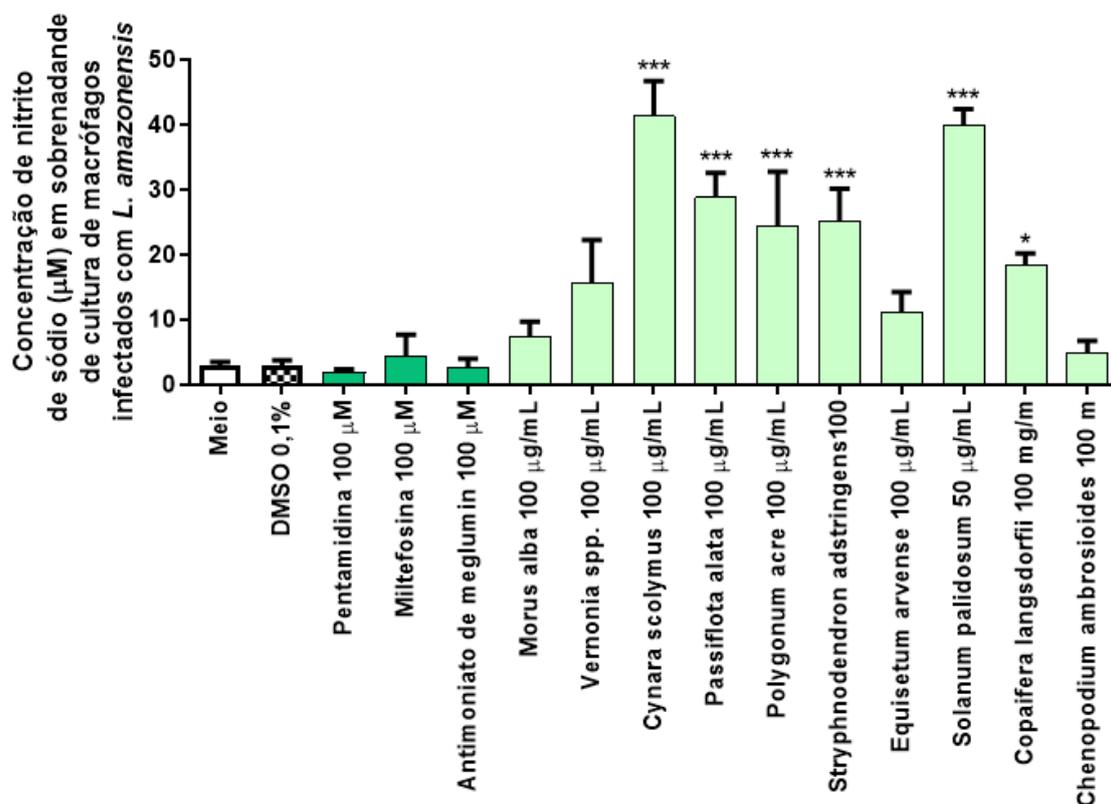
5.3 Dosagem de óxido nítrico

O NO possui papel fundamental no sistema imunológico, particularmente, por apresentar atividade antimicrobiana, antiparasitária, antiviral e antitumoral (FLORA FILHO; ZILBERSTEIN, 2000). Diante disto, é de fundamental importância pesquisar e avaliar substâncias imunomoduladoras, capazes de induzir o aumento de NO, auxiliando o próprio sistema imune destruir quaisquer que seja o microorganismo.

Com o objetivo de determinar a possível atividade imunomoduladora dos produtos naturais em questão, associada à liberação de NO, determinou-se a concentração de nitrito no sobrenadante de culturas de macrófagos infectados com *L. amazonensis* (Figura 24) e *L. chagasi* (Figura 25) tratados com os extratos.

A figura 24 apresenta o perfil dos níveis de nitrito nas culturas de macrófagos infectados com as formas amastigotas de *L. amazonensis* tratadas com os extratos estudados; após análise dos dados obtidos, foi possível observar que dos dez produtos naturais avaliados, cinco induziram significativamente o aumento de NO de forma acentuada (*Cynara scolymus*, *Passiflora alata*, *Polygonum acre*, *Stryphnodendron adstringens* e *Solanum paludosum*) e um de forma mais branda (*Copaifera langsdorffii*). Esses achados podem sugerir que a atividade leishmanicida de *Solanum paludosum* sobre *L. amazonensis* pode estar associada também ao efeito imunomodulador, evidenciado pelo aumento indireto dos níveis de NO.

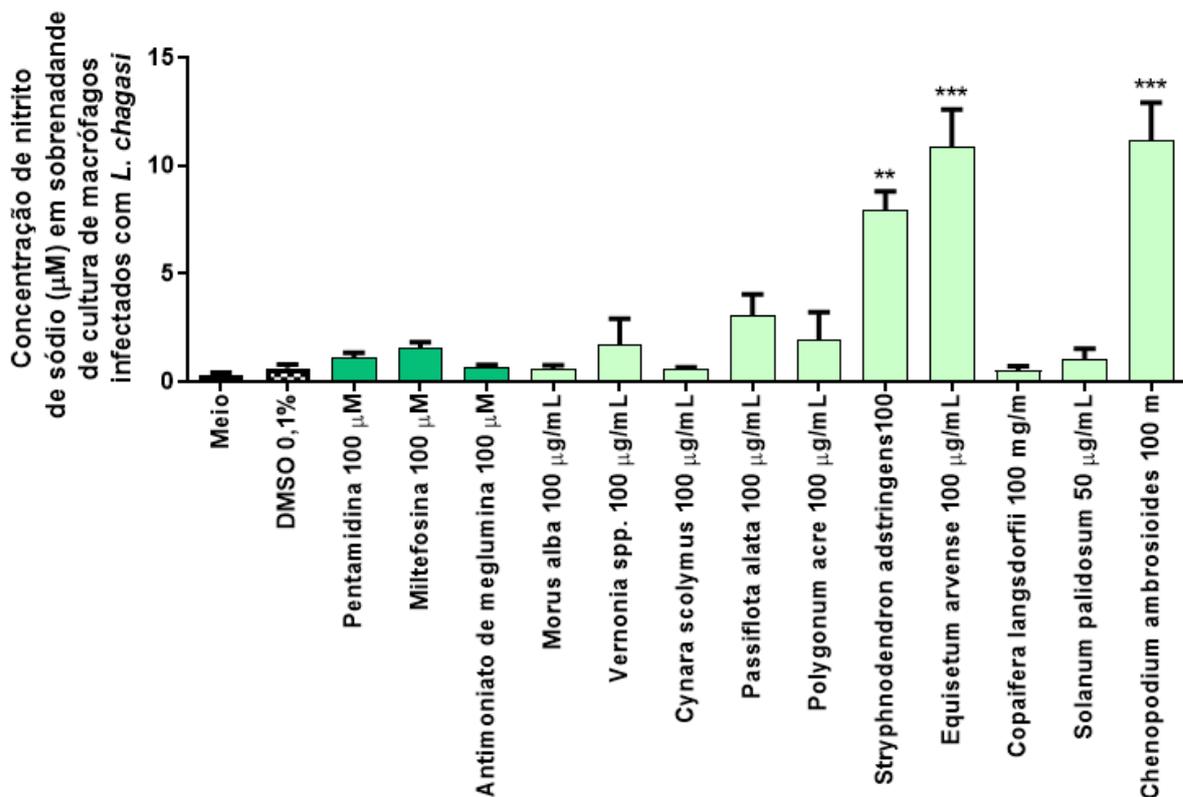
Figura 24 - Efeito de plantas da RENISUS, pentamidina, antimoniato de meglumina e miltefosina no aumento dos níveis de nitrito em cultura de macrófagos infectados com amastigotas de *L. amazonensis*.



Após a análise dos dados obtidos, nota-se na figura 25 que dos dez produtos naturais avaliados, três induziram significativamente o aumento dos níveis de nitrito em cultura de macrófagos infectados com *L. chagasi*, sendo eles: *Chenopodium ambrosioides*, *Equisetum arvense* e *Stryphnodendron adstringens*. Logo, prediz-se que há indução do aumento de NO por estas plantas na concentração de 100 µg/mL.

Vale salientar que nenhum dos fármacos utilizados neste ensaio (pentamidina, miltefosina e antimoniato de meglumina) apresentaram efeito indutor no aumento da concentração de nitrito nas culturas de macrófagos infectados com ambas as espécies de *Leishmania*.

Figura 25 - Efeito de plantas da RENISUS, pentamidina, antimoniato de meglumina e miltefosina no aumento dos níveis de nitrito em cultura de macrófagos infectados com amastigotas de *L. chagasi*.



Fonte: AUTORA, 2019

Apesar de induzirem o aumento significativo de nitrito nas culturas, a maioria dos produtos naturais não apresentaram efeito leishmanicida, isso pode estar relacionado ao fato de

que nem sempre a presença de NO será determinante para promover a ação leishmanicida, sendo necessário outras vias capazes de provocar a morte do parasito.

Um exemplo disso, é o que acontece com o composto S-nitrosoglutationa (GSNO), pertencente à família de doadores de NO denominada S-nitrosotióis. Apesar de ser um doador de NO, o efeito do GSNO sobre formas promastigotas de *L. amazonensis* deve-se à S-trans-nitrosação de proteínas do parasito e não à liberação de NO (DE SOUZA et al., 2006).

6 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que, dos dez produtos naturais testados, apenas *Solanum paludosum* induziu efeito deletério aos macrófagos da linhagem J774.A1, com CI_{50} igual a $31,7 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$ e efeito máximo de $99,9 \pm 0,1 \%$.

Além disso, *Stryphnodendron adstringens*, *Equisetum arvense*, *Solanum paludosum* e *Chenopodium ambrosioides* apresentaram efeito leishmanicida significativo sobre as formas amastigotas de *L. amazonensis*. A espécie *Solanum paludosum* também induziu atividade leishmanicida significativa contra as formas amastigotas de *L. chagasi*, demonstrando mais eficácia contra esta espécie.

A dosagem indireta de NO demonstrou que *Cynara scolymus*, *Passiflora alata*, *Polygonum acre*, *Stryphnodendron adstringens*, *Solanum paludosum* e *Copaifera langsdorffii* são importantes indutoras do aumento dos níveis de nitrito nas culturas de macrófagos infectados com *L. amazonensis* e *Stryphnodendron adstringens*, *Equisetum arvense* e *Chenopodium ambrosioides* induziram o aumento indireto de NO nas culturas de macrófagos infectados com *L. chagasi*.

Assim, em resumo, os resultados obtidos neste estudo destacam o potencial leishmanicida *in vitro* das espécies *Stryphnodendron adstringens*, *Equisetum arvense*, *Solanum paludosum* e *Chenopodium ambrosioides*, contribuindo para o suporte à pesquisa de produtos naturais ativos contra parasitos de *Leishmania* spp., expandindo a busca por novas opções terapêuticas no tratamento da leishmaniose.

Isto abre perspectivas para uma investigação mais detalhada acerca do mecanismo de ação desses produtos naturais, e, por fim, a viabilização de estudos fitoquímicos e biológicos para o isolamento e identificação de novos esqueletos moleculares que possam ser úteis na concepção de moléculas ativas contra *Leishmania* spp.

REFERÊNCIAS

- ABRÃO, F. et al. *Copaifera langsdorffii* oleoresin and its isolated compounds: antibacterial effect and antiproliferative activity in cancer cell lines. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, n. 1, p. 443, 2015.
- AFONSO, M. M. S. “Estudos sobre *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis*: hábitos alimentares, infecção natural por *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* e correlação com a expansão da leishmaniose visceral americana”. 2013. 172 p. Tese (Doutorado em Ciências na área de Saúde Pública) - Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2013.
- AGUIAR, P. F.; RODRIGUES, R. K. Leishmaniose visceral no Brasil: artigo de revisão. **Unimontes Científica**, v. 19, n. 1, p. 191-204, 2017.
- AGRA, M. F.; NURIT-SILVA, K.; BERGER, L. R. Flora of Paraíba, Brazil: *Solanum L.* (Solanaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 3, p. 826-842, 2009.
- AJAIB, M. et al. Analysis of antimicrobial and antioxidant activities of *Chenopodium ambrosioides*: an ethnomedicinal plant. **Journal of Chemistry**, 2016.
- ALENCAR, J.C. Estudos silviculturais de uma população natural de *Copaifera multijuga* Hayne-Leguminosae, na Amazônia Central. 2 - Produção de óleo-resina. **Acta Amazônica**. v. 12, n. 1, p. 75-89, jan./mar, 1982.
- ALEXANDER, J.; BROMBACHER, F. T helper 1/ T helper 2 cells and resistance/susceptibility to *Leishmania* infection: is this paradigm still relevant? *Frontiers in immunology*. **Microbiology and Immunology**., v. 3, p. 1-13, 2012.
- ALMEIDA, A. F. et al. **Avaliação da produção de citocinas Th17, Th1 e Th2 por linfócitos T em pacientes com leishmaniose tegumentar americana**. 2013. 83 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, 2013.
- ALMEIDA, S. P. et al. Cerrado: espécies vegetais úteis. **Embrapa**, Planaltina. p. 464, 1998.
- ALVAR, J.; CROFT, S.; OLLIARO, P. Chemotherapy in the treatment and control of leishmaniasis. **Advances in Parasitology**, v. 61, p. 223-274, 2006.
- ALVAR, J. et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PloS one**, v. 7, n. 5, p. 35671, 2012.
- ALVARENGA, D. G. et al. Leishmaniose visceral: estudo retrospectivo de fatores associados à letalidade. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 2, p. 194-197, 2010.
- ALVES, T. M. A. et al. Polygodial, the fungitoxic component from the Brazilian medicinal plant *Polygonum punctatum*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 6, p. 831-833, 2001.
- AMEEN, M. Cutaneous leishmaniasis: advances in disease pathogenesis, diagnostics and therapeutics. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 35, n. 7, p. 699-705, 2010.

ANDRADE, A. J, SHIMABUKURO, P. H. F; GALATI E. A. B. On the taxonomic status of *Phlebotomus breviductus* Barretto, 1950 (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Zootaxa**, v. 3734, n. 4, p. 477-484, 2013.

ANTINARELLI, L. M. R. **Atividade leishmanicida de derivados de quinolinas: 4-aminoquinolinas complexadas a esteroide e amodiaquina**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2013.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Instrução Normativa n° 04 de 18 de junho de 2014**. Determina a publicação do Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico. Brasília: ABNT, 2014.

ARAÚJO JÚNIOR, F. A. et al. Efeito do óleo de copaíba nas aminotransferases de ratos submetidos à isquemia e reperfusão hepática com e sem pré-condicionamento isquêmico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 93-99, 2005.

ARAÚJO, M. V. et al. Flavonoids induce cell death in *Leishmania amazonensis*: in vitro characterization by flow cytometry and Raman spectroscopy. **Analyst**, v. 144, n. 17, p. 5232-5244, 2019.

ASSIS, T. S. M. et al. Validação do teste imunocromatográfico rápido IT-LEISH® para o diagnóstico da leishmaniose visceral humana. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**. v. 17, n. 2, p. 107-116, 2008.

BABIOR, B. M. Phagocytes and oxidative stress. **American Journal of Medicine**. v. 109, p. 33-44, 2000.

BAGACHI, A. et al. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Morus alba* Linn.: a review. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, n. 9, p. 461-469, 2013.

BHATTACHARYYA, J. Isolation of solasodine from the fruits of *Solanum asperum* and *Solanum paludosum*. **Journal of Natural Products**, v. 47, n. 6, p. 1059-1060, 1984.

BARRAL, A.; BARRAL-NETTO, M. Aspectos imunológicos da leishmaniose cutânea difusa (LCD). **Gazeta Médica**., Bahia, v. 79, n. 3, p. 35-39, 2009.

BARROS, L. et al. Bioactivity and chemical characterization in hydrophilic and lipophilic compounds of *Chenopodium ambrosioides* L. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 4, p. 1732-1740, 2013.

BASTOS, M. M. et al. Antileishmanial Chemotherapy: A Literature Review. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6, p. 2072-2104, 2016.

BASTOS, M. M. et al. O Uso de Porfirinas em Terapia Fotodinâmica no Tratamento da Leishmaniose Cutânea. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 3, p. 257-267, 2012.

BEKERSKY, I. et al. Plasma Protein Binding of Amphotericin B and Pharmacokinetics of Bound versus Unbound Amphotericin B after Administration of Intravenous Liposomal

Amphotericin B (AmBisome) and Amphotericin B Deoxycholate. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 3, p. 834-840, 2002.

BERTALOT, M. J. A. et al. Métodos alternativos para controle de doenças fúngicas na cultura de jambu (*Spilanthes oleraceae* L.) através de *Equisetum* spp. E preparado biodinâmico 501. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 5, n. 2, p. 264-327, 2010.

BEZERRA, J. L. et al. Evaluation of the in vitro leishmanicidal activity of medicinal plants. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 631-637, 2006.

BHATTARAM, V. A. et al. Pharmacokinetics and bioavailability of herbal medicinal products. **Phytomedicine**, v. 9, p. 1-33, 2002.

BIANCO, V. V. Present situation and future potential of artichoke in the Mediterranean basin. In: **IV International Congress on Artichoke 681**. p. 39-58, 2000.

BIESKI, I. G. C. Plantas medicinais e aromáticas no sistema único de saúde da região sul de Cuiabá-MT. **Secretaria Municipal de Saúde de Cuiabá-MT**, v. 92, 2005.

BIRK, C. D. et al. TLC fingerprints of flavonoids and saponins from *Passiflora* species. **Jornal of Liquid Chromatography & Related Technologies**. v. 28, p. 2285-2291, 2005.

BISPO, A. J. B. **Assessment of pulmonary alterations in human visceral leishmaniasis**. 2015. 55 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2015.

BLACKWELL, J. M. et al. Macrophage complement and lectin-like receptors bind *Leishmania* in the absence of serum. **Journal of Experimental Medicine**, v. 1, n. 162, p. 324-331, 1985.

BOGDAN, C. Leishmaniasis in rheumatology, haematology and oncology: epidemiological, immunological and clinical aspects and caveats. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 71, p. 60-66, 2012.

BOHLMANN, D. F.; JAKUPOVIC, J. Progress in the chemistry of the *Vernonieae* (Compositae). **Research Advances in the Compositae**, Vienna, p. 3-43, 1990.

BRAHMACHARI, Upendranath et al. A Treatise on Kala Azar. **A Treatise on Kala Azar.**, 1928.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Monografia das espécies *Polygonum hydropiperoides* e *Polygonum acre* (erva-de-bicho)**. Brasília, DF, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasil, Brasília, DF, 2014, 120 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 204/2017. Dispõe sobre enquadramento na categoria prioritária, de petições de registro, pós-registro e anuência prévia em pesquisa clínica de medicamentos. **Ministério da Saúde**: Brasília, DF, 27 dez. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Política e Programa Nacional Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília, DF, 2016. 192 p.

BRASIL. Ministério Da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar**. Brasília, DF, 2013. 182 p.

BRASIL. Ministério Da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar**. Brasília, DF, 2017. 191 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sistema de Informação de Agravos de Notificação. **Casos confirmados de Leishmaniose Tegumentar, Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas**. Brasília: SINAN/SVS/MS, 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sistema de Informação de Agravos de Notificação. **Casos confirmados de Leishmaniose Visceral, Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas**. Brasília: SINAN/SVS/MS, 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Leishmaniose visceral grave: normas e condutas**, Brasília, DF, 2006.

BRASIL, RENISUS. Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. **Portal. Saúde**, 2009.

BRELAZ, M. C. A. B. et al. Antigenic fractions of *Leishmania (Viannia) braziliensis*: the immune response characterization of patients at the initial phase of disease. **Parasite Immunology**, v. 34, p. 236–239, 2012.

BUSKUH, H. et al. Sesquiterpene lactones from *Vernonia scorpioides* and their in vitro cytotoxicity. **Phytochemistry**, v. 71, n. 13, p. 1539-1544, 2010.

BUTT, M. S. et al. *Morus alba* L. nature's functional tonic. **Trends in Food Science and Technology**, v. 19, n. 10, p. 505-512, 2008.

CALÍN-SÁNCHEZ, Á. et al. Bioactive compounds and sensory quality of black and white mulberries grown in Spain. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 68, n. 4, p. 370-377, 2013.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytoterapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 33, n. 2, p. 179-189. 2000.

CAMPANELLI A. P. et al. Chemokines and chemokine receptors coordinate the inflammatory immune response in human cutaneous leishmaniasis. **Human Immunology**, v. 71, n. 12, 1220-1227, 2010.

CAMPOS, Aldenise Martins et al. Photoperiod differences in sand fly (Diptera: Psychodidae) species richness and abundance in caves in Minas Gerais State, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 54, n. 1, p. 100-105, 2016.

CARLSEN, E. D. et al. Permissive and protective roles for neutrophils in leishmaniasis. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 182, n. 2, p. 109-118, 2015.

CARNEIRO, F. M. et al. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Rev Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais**, v. 3, n. 2, p. 44-75, 2014.

CARVALHO, L. H. et al. Antimalarial activity of crude extracts from Brazilian plants studied in vivo in Plasmodium berghei-infected mice and in vitro against Plasmodium falciparum in culture. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 24, n. 11, p. 1113-1123, 1991.

CASANOVA, C. et al. Larval breeding sites of Lutzomyia longipalpis (Diptera: Psychodidae) in visceral leishmaniasis endemic urban areas in southeastern Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 9, p. 2443, 2013.

CASTELLUCCI, L. C. et al. Host genetic factors in American cutaneous leishmaniasis: a critical appraisal of studies conducted in an endemic area of Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 3, p. 279-288, 2014.

CASTELO BRANCO, P. V. et al. The antileishmanial drug miltefosine (Impavido®) causes oxidation of DNA bases, apoptosis, and necrosis in mammalian cells. **Mutation Research**, v. 806, n. 1, p.34–39, jun. 2016.

CAVALCANTE, J. W.; CAVALCANTE, V.; BIESKI, I. Conhecimento tradicional e etnofarmacológico da planta medicinal copaiba (*Copaifera langsdorffii* Desf.). **Biodiversidade**, v. 16, n. 2, 2017.

CDC. Centers For Disease Control And Prevention. 2020. **Leishmaniasis**. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/index.html>. Acesso em: 01 fev. 2020.

CERUTTI, P. H. P. et al. Métodos diagnósticos da leishmaniose tegumentar americana: uma revisão de literatura. **Revista de Patologia de Tocantins**, v. 4, n. 4, p. 55-59, 2017.

CHAGAS, A. C. et al. Lundep, a sand fly salivary endonuclease increases Leishmania parasite survival in neutrophils and inhibits XIIa contact activation in human plasma. **PLoS Pathogens**, v. 10, n. 2, 2014.

CHÁVEZ-FUMAGALLI, M. A. et al. New delivery systems for amphotericin B applied to the improvement of leishmaniasis treatment. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, n. 3, p. 235-242, 2015.

CHOI, E. M.; HWANG, J. K. Effects of *Morus alba* leaf extract on the production of nitric oxide, prostaglandin E2 and cytokines in RAW264. 7 macrophages. **Fitoterapia**, v. 76, n. 7-8, p. 608-613, 2005.

CHRISTENSEN, S. M. et al. Host and parasite responses in human diffuse cutaneous leishmaniasis caused by *L. amazonensis*. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 3, 2019.

CIOFFI, G. et al. New compounds from an extract of *Vernonia colorata* leaves with anti-inflammatory activity. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 3, p. 389-394, 2004.

COSTA, C.H.N. How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniasis? A critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 2, p. 232-242, 2011.

COSTA-LOTUFO, L. V. et al. A contribuição dos produtos naturais como fonte de novos fármacos anticâncer: estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 1, p. 47-58, 2010.

CRESPI, A. 2017. *Chenopodium ambrosioides*. Disponível em: <https://jb.utad.pt/multimedia/16969>. Acesso em: 09 jan. 2020.

CROFT, S. L.; SUNDAR, S.; FAIRLAMB, A. H. Drug Resistance in Leishmaniasis Drug Resistance in Leishmaniasis. **Society**, v. 19, p. 111–126, 2006.

CRUZ, G. V. B. et al. Increase of cellular recruitment, phagocytosis ability and nitric oxide production induced by hydroalcoholic extract from *Chenopodium ambrosioides* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 1, p. 148-154, 2007.

CYSNE, D. N. et al. Antimalarial potential of leaves of *Chenopodium ambrosioides* L. **Parasitology Research**, v. 115, n. 11, p. 4327-4334, 2016.

DA HYE KWON, J. M. C. et al. The immunomodulatory activity of mori folium, the leaf of *Morus alba* L., in raw 264.7 macrophages in vitro. **Journal of Cancer Prevention**, v. 21, n. 3, p. 144, 2016.

DAVIS, A. J.; KEDZIERSKI, L. Recent advances in antileishmanial drug development. **Current opinion in investigational drugs (London, England: 2000)**, v. 6, n. 2, p. 163-169, 2005.

DE ANDRADE, A. J.; GURGEL-GONÇALVES, R. New record and update on the geographical distribution of *Pintomyia monticola* (Costa Lima, 1932) (Diptera: Psychodidae) in South America. **Check List**, v. 11, n. 2, p. 1566, 2015.

DE ARAÚJO DELMONDES, G. et al. Avaliação da citotoxicidade e atividade leishmanicida e tripanocida de extratos de *Passiflora cincinnata* Mast L. **Cadernos de Cultura e Ciência**, v. 13, n. 1, p. 31-38, 2014.

DE FRANÇA, I. S. X. et al. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 61, n. 2, p. 201-208, 2008.

DE LIMA SILVA, J. J. et al. Effects of *Copaifera langsdorffii* Desf. on ischemia-reperfusion of randomized skin flaps in rats. **Aesthetic Plastic Surgery**, v. 33, n. 1, p. 104-109, 2009.

DE MELO, E. C. **Avaliação da eficácia e segurança da farmacoterapia da leishmaniose visceral**. 2013.109 p. Tese (doutorado) - Faculdade de Medicina de Botucatu Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2013.

DE MUYLDER, G. et al. A screen against *Leishmania* intracellular amastigotes: comparison to a promastigote screen and identification of a host cell-specific hit. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 7, p. e1253, 2011.

DA SILVA, M. L. et al. o Mastruz (*Chenopodium Ambrosioides* L.) como Planta Medicinal e Alimentícia: uma Revisão. **International Journal of Nutrology**, v. 11, p. 572, 2018.

DE OLIVEIRA, J. R. et al. Efeito antibiofilme do extrato de alcachofra (*cynara scolymus*) verificado sobre *Pseudomonas aeruginosa*. **Revista Univap**, v. 22, n. 40, p. 351, 2017.

DE QUEIROZ, A. C. et al. Antileishmanial activity of medicinal plants used in endemic areas in northeastern Brazil. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2014.

DE QUEIROZ SAMPAIO, M. J. A. et al. Risk factors for death in children with visceral leishmaniasis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 11, p. 877, 2010.

DE SOUZA, G. F. P. et al. Leishmanicidal activity of primary S-nitrosothiols against *Leishmania major* and *Leishmania amazonensis*: implications for the treatment of cutaneous leishmaniasis. **Nitric Oxide**, v. 15, n. 3, p. 209-216, 2006.

DE SOUZA, M. A. et al. Leishmaniose visceral humana: do diagnóstico ao tratamento. **Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança**, v. 10, n. 2, p. 61-69, 2012.

DIAS, D. et al. Copaiba oil suppresses inflammatory cytokines in splenocytes of C57Bl/6 mice induced with experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). **Molecules**, v. 19, n. 8, p. 12814-12826, 2014.

DIAS, E. S. Psychodidae. *In*: NEVES, D. P et al. **Parasitologia Humana**. Atheneu, 2011; 377-385.

DIAS-LIMA, A. G.; CASTELLÓN, E. G.; SHERLOCK, I. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) de uma floresta primária de terra firme da Estação Experimental de Silvicultura Tropical, estado do Amazonas, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 33, p. 303-316, 2003.

DIRO, E. et al. Visceral leishmaniasis and HIV coinfection in East Africa. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 6, p. 28-69, 2014

DO NASCIMENTO, J. J. Diagnóstico histopatológico diferencial entre hanseníase e leishmaniose tegumentar americana em pacientes de um hospital público em Recife-PE. **RBAC**, v. 51, n. 2, p. 127-31, 2019.

DO NASCIMENTO, L. F. M. et al. Novos adjuvantes vacinais: importante ferramenta para imunoterapia da leishmaniose visceral. **HU Revista**, v. 44, n. 3, p. 401-410, 2018.

DOYAMA, J. T. et al. Chemical investigation and effects of the tea of *Passiflora alata* on biochemical parameters in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 96, p. 371-374, 2005.

DORLO, T. P. C. et al. Miltefosine: a review of its pharmacology and therapeutic efficacy in the treatment of leishmaniasis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, n.11, p. 2576-2597, nov. 2012.

DORIGAN, C. J. et al. Nutritional assessment of mulberry (*Morus alba* L.) leaf hay in broilers. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 33, n. 4, p. 353-358, 2011.

DRUMOND, K. O, COSTA, F. A. L. Forty years of visceral leishmaniasis in the State of Piauí: a review. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 53, n, 1, p. 3-11, fev. 2011.

DUARTE, G. V. **Avaliação de sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf submetidas a dois métodos de análise do teor de umidade**. 2015. 34 p. Monografia (Bacharelado em Engenharia Florestal) - Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

DUARTE, M. I. S.; BADARÓ, R. S. Leishmaniose visceral (calazar). In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. São Paulo: Atheneu, 2009. p. 1707-1736.

DUTHIE, M. S. et al. The development and clinical evaluation of second-generation leishmaniasis vaccines. **Vaccine, Kidlington**, v. 30, n. 2, p. 134-141, 2012.

ELLER, S. C. W. S et al. Avaliação antimicrobiana de extratos vegetais e possível interação farmacológica in vitro. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 36, n. 1, p. 131-136, 2015.

ERASTO, P.; GRIERSON, D. S.; AFOLAYAN, A. J. Bioactive sesquiterpene lactones from the leaves of *Vernonia amygdalina*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 106, n. 1, p. 117-120, 2006.

FARIAS, D. Uso de plantas medicinais e fitoterápicos como forma complementar no controle da hipertensão arterial. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 12, n. 3, 2016.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. **Formulário de fitoterápicos**, 1ª Ed., ANVISA, 2011. 119 p. Acesso em: 02 jan. 2020.

FAUCI, Anthony S. Emerging and reemerging infectious diseases: the perpetual challenge. **Academic Medicine**, v. 80, n. 12, p. 1079-1085, 2005.

FAUCI, A. S.; MORENS, D. M. The perpetual challenge of infectious diseases. **New England Journal of Medicine**, v. 366, n. 5, p. 454-461, 2012.

FENALTI, J. M. et al. Diversidade das plantas brasileiras com potencial anti-helmíntico. **VITTALLE-Revista de Ciências da Saúde**, v. 28, n. 1, p. 38-49, 2016.

FERREIRA, E. P. R. **Planejamento e avaliação in sílica de análogos de lapachol em enzima alvo de *Leishmania (Leishmania) amazonensis***. 2017. 112 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, Belém, 2017.

FERREIRA I. J. L. et al, Caracterização morfo-histológica para a "cavalinha"(*Equisetum giganteum* L.)/ Morpho-histological characterization to "cavalinha" (*Equisetum giganteum* L.). **Revista de Ciências Farmacêuticas**, p. 51-7, 1999.

FIELD V., et al. Travel and migration associated infectious diseases morbidity in Europe, 2008. **BMC Infectious Diseases**. v. 10, n. 1, p. 330, 2010.

FILIPPIN, F. B.; SOUZA, L. C. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 2, abr./jun., 2006.

FILHO, P. R. S et al. Protective action against chemical-induced genotoxicity and free radical scavenging activities of *Stryphnodendron adstringens* ("barbatimão") leaf extracts. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 21, n. 6, nov. 2011.

FLORA FILHO, R.; ZILBERSTEIN, B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 265-271, 2000.

FONSECA, S. G. et al. TNF- α mediates the induction of nitric oxide synthase in macrophages but not in neutrophils in experimental cutaneous leishmaniasis. **European Journal of Immunology**, p. 2297-2306, 2003.

FREITAS-JUNIOR, L. H. et al. Visceral leishmaniasis treatment: what do we have, what do we need and how to deliver it?. **International Journal of Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 2, p. 11-19, 2012.

GADANO, A. B.; GURNI, A. A.; CARBALLO, M. A. Argentine folk medicine: genotoxic effects of Chenopodiaceae family. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, n. 2, p. 246-251, 2006.

GALATI, E. A. B. Morfologia e taxonomia: classificação de Phlebotominae. **Flebotomíneos do Brasil**, 2003.

GIACON, G. **Assa Peixe (*Vernonia polysphaera*)**. Disponível em: <<http://ciprest.blogspot.com/2017/09/assa-peixe-vernonia-polysphaera.html>>. Acesso em: 20 jan 2020.

GOMES, C. M. et al. Complementary exams in the diagnosis of American tegumentary leishmaniasis. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [s.l.], v. 89, n. 5, p. 701-711, 2014.

GONTIJO B.; CARVALHO M. L. R. Leishmaniose Tegumentar Americana. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Belo Horizonte, v. 36, n. 1, p. 71-80, jan/fev 2003.

GORIELY, S.; CAVOY, R.; GOLDMAN, M. Interleukin-12 family members and type interferons in Th17-mediated inflammatory disorders. **Allergy**, v. 64, p. 702-709, 2009.

GOTO, H.; LINDOSO, J. Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 8, p. 419-433, 2010.

GOULART, S. L. **Características anatômicas, químicas e densidade do barbatimão. Lavras**. 2010. Tese (Doutorado em ciência e tecnologia) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia da Madeira, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

GRAMICCIA, M.; GRADONI, L. The current status of zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control. **International Journal of Parasitology**, v. 35, n. 11-12, p. 1169-1180, 2005.

GRIESS, P. B. A. H. H. Weselsky und Benedikt „Ueber einige Azoverbindungen”. **Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 12, n. 1, p. 426-428, 1879.

GRIMALDI, G.; TESH, R. B. Leishmaniasis of the new world: current conceptions and implications for future research. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 6, p. 230-250, 1993.

HASHIGUCHI, Y. et al. Leishmaniasis in Ecuador: comprehensive review and current status. **Acta tropica**, v. 166, p. 299-315, 2017.

HERNÁNDEZ-RUIZ, J.; BECKER, I. CD8⁺ cytotoxic lymphocytes in cutaneous leishmaniasis. **Salud Pública de México**, v. 48, n. 5, p. 430-439, 2006.

HIGA, K. C. et al. Citotoxicidade dos extratos glicólicos de *Cynara scolymus* (alcachofra), *Myracrodruon urundeuva* (aroeira-do-sertão) e *Camellia sinensis* (chá verde). **Revisa Univap**, v. 25, n. 48, p. 77-91, 2019.

HOLETZ, F. B. et al. Biological effects of extracts obtained from *Stryphnodendron adstringens* on *Herpetomonas samuelpessoai*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 4, July 2005.

HOLTMANN, G. et al. Efficacy of artichoke leaf extract in the treatment of patients with functional dyspepsia: a six-week placebo-controlled, double-blind, multicentre trial. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 18, n. 11-12, p. 1099-1105, 2003.

HUANG, Q. H. et al. Isoprenylated phenolic compounds with PTP1B inhibition from *Morus alba*. **Fitoterapia**, v. 122, p. 138-143, 2017.

HUSBY, C. Biology and functional ecology of Equisetum with emphasis on the giant horsetails. **The Botanical Review**, v. 79, n. 2, p. 147-177, 2013.

HUSSAIN, F. et al. Antibacterial, antifungal and insecticidal activities of some selected medicinal plants of polygonaceae. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 31, p. 5032-5036, 2010.

IKEDA-GARCIA, F.A.; MARCONDES, M. Métodos de diagnóstico da leishmaniose visceral canina. **Clínica Veterinária**, São Paulo, n. 71, p. 34-42, 2007.

ISHIDA, K. et al. Influence of tannin from *Stryphnodendron adstringens* on growth and virulence factors of *Candida albicans*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 58, p. 942-949, set, 2006.

JESUS, R. S. et al. In vitro antimicrobial and antimycobacterial activity and HPLC-DAD screening of phenolics from *Chenopodium ambrosioides* L. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 2, p. 296-302, 2018.

JIMENEZ-ESCRIG, A. et al. In vitro antioxidant activities of edible artichoke (*Cynara scolymus* L.) and effect on biomarkers of antioxidants in rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 18, p. 5540-5545, 2003.

JIN-HUI, L. I. Determination of Total Flavonoid in *Chenopodium ambrosioides* [J]. **Journal of Liupanshui Teachers College**, v. 3, 2005.

JOSÉ, F. F. et al. Avaliação do poder sensibilizante da reação Montenegro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s. L.], v. 34, n. 6, p. 537 - 542, nov. 2001.

KAUR, G.; RAJPUT, B. Comparative Analysis of the Omics Technologies Used to Study Antimonial, Amphotericin B and Pentamidine Resistance in Leishmania. **Journal of Parasitology Research**, v. 2014, 2014.

KAYE, P.; SCOTT, P. Leishmaniasis: complexity at the host–pathogen interface. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 8, p. 604–615, 2011.

KIM, H. B, CHOUNG, W. Y, RYU, K. S. Sensory characteristics and blood glucose lowering effect of ice-cream containing mulberry leaf powder. **Korean J Seric Sci.**, p. 129-134, 1999.

KIMURA. T. et al. Determination of 1 Deoxynojirimycin in Mulberry Leaves Using Hydrophilic Interaction Chromatography with Evaporative Light Scattering Detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 6, p. 1415-1418, 2004.

KINGHORN, A. D. Pharmacognosy in the 21st century. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 53, n. 2, p. 135-148, 2001.

KIUCHI, F. et al. Monoterpene hydroperoxides with trypanocidal activity from *Chenopodium ambrosioides*. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 4, p. 509-512, 2002.

KLEIN, T. et al. Fitoterápicos: um mercado promissor. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 3, p. 241-248, 2010.

KOS, O. et al. Ent-kaurane glycosides and sesquiterpene lactones of the hirsutinolide type from *Vernonia triflosculosa*. **Phytochemistry**, v. 67, n. 1, p. 62-69, 2006.

KUMPUNYA, S.; PRAPUTBUT, S. Antioxidant activities of *Vernonia cinerea* L. extract on macrophages stimulated by endotoxin and cytokine. **Thai Journal of Pharmacology**, v. 36, n. 2, p. 29-43, 2014.

LATTANZIO V. et al. Globe artichoke: a functional food and source of nutraceutical ingredients. **Journal of Functional Foods**, v. 1, n. 2, p. 131-144, 2009.

LAURENTI, M. D. **Patologia e patogenia das leishmanioses**. 2010. 140 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2010.

LEAL, A. E. B. P. et al. Atividade ansiolítica e sedativa de espécies do gênero Passiflora–Um mapeamento científico e tecnológico. **Cadernos de Prospecção**, v. 9, n. 3, p. 323, 2016.

LIANG, Q. L.; MIN, Z. D. Studies on the constituents from the herb of *Vernonia patula*. **China Journal of Chinese Materia Medica**, v. 28, n. 3, p. 235-237, 2003.

LIEW, F. Y. et al. Resistance to *Leishmania major* infection correlates with the induction of nitric oxide synthase in murine macrophages. **European Journal of Immunology**, v. 21, n. 12, p. 3009-3014, 1991.

LIMA, T. C. D. et al. Breve revisão etnobotânica, fitoquímica e farmacologia de *Stryphnodendron adstringens* utilizada na Amazônia. **Revista Fitos**, [S.l.], v. 10, n. 3, p. 329-338, fev. 2017.

LOPES CORREA A. C. **Avaliação da atividade antiinflamatória da pomada e do extrato etanólico bruto da *Equisetum pyramidale* Goldn nas lesões cutâneas de ratos normais e diabéticos no processo de reparação tecidual**. 2010. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento) - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2010.

LOPES, G. C. et al. Determinação quantitativa de taninos em três espécies de *Stryphnodendron* por cromatografia líquida de alta eficiência. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 1, p. 135-143, 2009.

LOPES, G. L. 2012. Compêndio Online Gerson Luiz Lopes. Laboratório de Manejo Florestal. Disponível em: <https://sites.unicentro.br/wp/manejoflorestal/12457-2/>. Acesso em: 29 dez. 2019.

LOPES, R. C. et al. Caracterização isoenzimática de oito acessos de Erva-de-bicho. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 3, p. 433-7, 2003.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum; 1998. 189 p.

MACEDO, I. T. F. et al. Sazonalidade de flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose visceral no município de Sobral, Ceará, Brasil. **Ciência Animal**, v. 18, n. 2, 2008.

MACEDO, J. A. B. **Plantas medicinais e fitoterápicos na atenção primária à saúde: contribuição para profissionais prescritores**. 2016. 49 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Gestão da Inovação em Medicamentos da Biodiversidade) - Instituto de Tecnologia em Fármacos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2016.

MACHADO L. L. et al. Bioreduction of Aromatic Aldehydes and Ketones by Fruits Barks of *Passiflora edulis*. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 54, p. 103-108, 2008.

MAGALHÃES, S. C. M.; DE MOURA, K. V. R. A expansão da leishmaniose tegumentar americana no município de Montes Claros - Minas Gerais. **Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, Minas Gerais, v. 21, n. 11, p. 80 - 92, dez. 2015.

MAIA, A. I. V. et al. Óleos essenciais das folhas de *Vernonia remotiflora* e *Vernonia brasiliana*: composição química e atividade biológica. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 584-586, 2010.

MAIA-ELKHOURY, A. N. et al. Analysis of visceral leishmaniasis reports by the capture-recapture method. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, n. 6, p. 931-937, 2007.

MARTINS, G. Z. **Estudo Farmacognóstico e Screening Biológico de *Solanum lycocarpum* St. Hill (Solanaceae)**. 2013. 129 p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade

de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2013.

MASSON-MEYERS, D. et al. Topical treatment with *Copaifera langsdorffii* oleoresin improves wound healing in rats. **International Journal of Phytomedicine**, v. 5, n. 3, p. 378, 2013.

MAYORGA BORGES, P. E. et al. **Relação nacional de medicamentos essenciais**: Rename. 2007.;

MAZID, M. A. et al. Antinociceptive, anti-inflammatory and diuretic properties of *Polygonum barbatum* (L.) Hara var. barbata. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 3, p. 749-754, 2009.

MEDEIROS, A. C. R.; RODRIGUES, S. S.; ROSELINO, A. M. F. Comparison of the specificity of PCR and the histopathological detection of *Leishmania* for the diagnosis of American cutaneous leishmaniasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, n. 4, p. 421-424, 2002.

MELLO, J. C. P.; PETEREIT, F.; NAHRSTEDT, A. A dimeric prodelphinidin from *Stryphnodendron adstringens*. **Phytochemistry**, v. 51, n. 8, p. 1105-1107, 1999.

MELO, E. Levantamento da família Polygonaceae no estado da Bahia, Brasil: espécies do semi-árido. **Rodriguésia**, v. 50, n. 76-77, p. 19-37, 1998.

MENES, B. F. **Estudo farmacognóstico e avaliação da atividade farmacológica do extrato hidroalcoólico de *Polygonum acre* (erva-de-bicho)**. 2012. 130 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia-Bioquímica) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara.

MESQUITA, L. S. S. **Estudo de revisão e prospecção biotecnológica das espécies *Passiflora alata* Curtis e *Passiflora edulis* Sims**. 2019. 81 p. Tese (Doutorado em Ciências de Saúde) – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2019.

MINATEL, Alder DG et al. Estudo clínico para validação da eficácia de pomada contendo barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville)* na cicatrização de úlceras de decúbito. **RBM. Revista Brasileira de Medicina**, v. 67, n. 7, p. 250-256, 2010.

MISHRA, B. B. et al. Alkaloids: future prospective to combat leishmaniasis. **Fitoterapia**, v. 80, n. 2, p. 81-90, 2009.

MONTEIRO, F. S. et al. Vasorelaxant action of the total alkaloid fraction obtained from *Solanum paludosum* Moric. (Solanaceae) involves NO/cGMP/PKG pathway and potassium channels. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 141, n. 3, p. 895-900, 2012.

MONZOTE, L. et al. Essential oil from *Chenopodium ambrosioides* and main components: Activity against *Leishmania*, their mitochondria and other microorganisms. **Experimental Parasitology**, v. 136, n. 1, p. 20-26, 2014.

MOORE, M.; GOULD, P.; KEARY, B. S. Global Urbanization and Impact on Health. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 206, n. 4-5, p. 269-78, 2003.

MOREIRA, E. A. Aspectos hematológicos de pacientes com leishmaniose visceral. **Academina de Ciência e Tecnologia**, v. 1, p. 30-39, 2012.

MOREIRA R. C. R.; COSTA J. M. L.; SALDANHA A. C.; SILVA A. R. Projeto Buriticupu Maranhão II. Plantas usadas como terapêutica da leishmaniose tegumentar americana na região de Buriticupu-Maranhão. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 1998.

MORO, O.; LERNER, E. A. Maxadilan, the vasodilator from sand flies, is a specific pituitary adenylate cyclase activating peptide type I receptor agonist. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 2, p. 70-966, 1997.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

MOTTA, E. V. S. **Desenvolvimento e validação de método analítico por CLAE-UV-DAD para quantificação e análise sazonal de derivados galoilquínicos nas folhas de *Copaifera langsdorffii***. 2014. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

NAIK, R. et al. Bioactive benzofuran derivatives: moracins A–Z in medicinal chemistry. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 90, p. 379-393, 2015.

NARASIMHULU, G.; REDDY, K. K.; MOHAMED, J. The genus Polygonum (Polygonaceae): An ethnopharmacological and phytochemical perspectives: review. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 2, p. 21-45, 2014.

NEGRÃO, G. N.; FERREIRA, M. E. M. C. Considerações sobre a leishmaniose tegumentar americana e sua expansão no território brasileiro. **Revista Percurso**, v. 6, n. 1, p. 147-168, 2014.

NOBEN-TRAUTH, N. et al. The relative contribution of IL-4 receptor signaling and IL-10 to susceptibility to *Leishmania major*. **Journal of Immunology**, v. 170, n. 10, p. 5152-5158, 2003.

NOGUEIRA, M. S.; FURTADO, R. A.; BASTOS, J. K. Flavonoids and Methoxy-galloylquinic Acid Derivatives from the Leaf Extract of *Copaifera langsdorffii* Desf. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 31, p. 6939-6945, 2015.

NOLDIN, V. F. et al. Chemical composition and biological activities of the leaves of *Cynara scolymus* L.(artichoke) cultivated in Brazil. **Quimica Nova**, v. 26, n. 3, p. 331-334, 2003.

OLIVEIRA, L. F. G.; GILBERT, B.; BÔAS, G. K. V. Oportunidades para inovação no tratamento da leishmaniose usando o potencial das plantas e produtos naturais como fontes de novos fármacos. **Revista Fitos**, v. 8, n. 1, 2013.

OLIVEIRA, M. A. R. **Atividade inibitória de flavonoides metoxilados extraídos de *Solanum paludosum* sobre a atividade da enzima topoisomerase II- α , e seus efeitos citotóxicos sobre a linhagem de glioblastoma humanos, (GBM02), in vitro**. 2018. 82 f. Tese

(Doutorado em Ciências da Saúde) – Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2018.

OLIVEIRA-SIMÕES, C. M. et al. Pharmacological investigation on *Polygonum punctatum* Elliott (= *P. acre* HBK) extracts. Part I. Tests in vivo. **Journal de Pharmacie de Belgique**, v. 44, p. 275-284, 1989.

OCCHIONI, E. M. L. Considerações taxonômicas no gênero *Stryphnodendron* Mart. (leguminosae mimosoideae) e distribuição geográfica das espécies. **Acta Botânica Brasileira**, Feira de Santana, v. 4, p. 153-158. 1990.

OMS - Organização Mundial da Saúde. Atualização global da vigilância da leishmaniose, 1998-2016. **Wkly Epidemiol Rec**. Genebra: OMS, 2018, 10 p.

OMS - Organização Mundial da Saúde. **Avanços para superar o impacto global de doenças tropicais negligenciadas**. Primeiro relatório da OMS sobre doenças tropicais negligenciadas. Brasília: OMS, 2012.

OPAS - Organização Pan-Americana da Saúde. **Leishmanioses: Informe Epidemiológico nas Américas**. Washington: OPAS/OMS, 2019. Disponível em: www.paho.org/leishmaniasis. Acesso em: 31 jan. 2020.

OPAS - Organización Panamericana de la Salud. **Manual de procedimientos para vigilancia y control de las leishmaniasis en las Américas**. Washington: OPAS, 2019. 166 p.

PAIVA, C. L. **Descritores morfológicos e marcadores microssatélites na caracterização de germoplasma de *Passiflora* spp.**. 2013. 60 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, 2013.

PANDEY, A.; TRIPATHI, S. Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 2, n. 5, 2014.

PANIZZA, S. et al. *Stryphnodendron barbadetiman* (Vell.) Martius: teor de taninos na casca e sua propriedade cicatrizante. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 10, p.101-106, São Paulo. 1988.

PATRÍCIO, F. J. et al. Efficacy of the intralesional treatment with *Chenopodium ambrosioides* in the murine infection by *Leishmania amazonensis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 115, n. 2, p. 313-319, 2008.

PENNA, C. et al. Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 77, n. 1, p. 37-40, 2001.

PEREIRA, C. B. et al. Atividade anti-inflamatória e avaliação da toxicidade do extrato hidroetanólico de *Morus alba* (Moraceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 1, p. 43-46, 2013.

PEREIRA, E. M. R. et al. In vitro Antimicrobial Activity of Brazilian Medicinal Plant Extracts against Pathogenic Microorganisms of Interest to Dentistry. **Planta Médica**, New York, jul./aug. 2010.

PEREIRA, I. S. P.; RODRIGUES, V. F.; VEGA, M. R. G. Flavonoides do gênero *Solanum*. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 4-26, 2016.

PEREIRA, Nara Luana Ferreira et al. Efeito antibacteriano e anti-inflamatório tópico do extrato metanólico de *Chenopodium ambrosioides* L.. **Revista Fitos**, [S.l.], v. 9, n. 2, p. 101-112, set. 2015.

PEREIRA, N. et al. Antimicrobial Potential of *Passiflora alata* and *Piper methysticum* hydroalcoholic extracts, Phytotherapics of Anxiolytic-like Activity. **Jornal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 2, n. 2, p. 31-33, 2015.

PEREIRA, O. N. **Reintrodução de espécies nativas em área degradada de caatinga e sua relação com os atributos do solo**. 2011. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2011.

PEARSON, R. D.; SOUSA, A. Q. Clinical spectrum of Leishmaniasis. **Clinical Infectious Diseases**. v. 22, n. 1, p. 1-13, 1996.

PIRAJÁ, G. V.; LUCHEIS, S. B. A vigilância epidemiológica de flebotomíneos no planejamento de ações de controle nas leishmanioses. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 21, n. 4, p.503-515, dez. 2014.

PIRMEZ, C. et al. Cytokine patterns in the pathogenesis of human leishmaniasis. **Journal of Clinical Investigation**, v. 91, n. 4, p. 1390-1395, 1993.

QUINNELL, R. J.; COURTENAY, O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. **Parasitology**, v. 136, n. 14, p. 1915-1934, 2009.

RADULOVIĆ, N.; STOJANOVIĆ, G. E.; PALIĆ, R. Composition and antimicrobial activity of *Equisetum arvense* L. essential oil. **Phytotherapy Research**, v.20, p. 85–88, 2006.

RAMOS, U. F.; SOLEDADE, S. C.; BAPTISTA, E. R. Utilização de plantas medicinais pela comunidade atendida no Programa Saúde da Família da Pirajá, Belém, PA. **Infarma**, v. 24, n. 5-6, p. 10-18, 2011.

RAO, S. J. A, RAMESH, C. K, MAHMOOD, R. et al. Anthelmintic and antimicrobial activities in some species of mulberry [J]. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 5, p. 335-338, 2012.

RATH, S.; et al. Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. **Química Nova**, v. 26, n.4, p. 550-555, 2003.

REGINATTO, F. H. et al. Steroidal and Triterpenoidal Glucosides from *Passiflora alata*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 12, n. 1, p. 32-36, 2001.

REIS, L. C. et al. Mecanismos imunológicos na resposta celular e humoral na leishmaniose tegumentar americana. **Revista de Patologia Tropical, São Paulo**, v. 35, n. 2, p. 103-115, maio-ago., 2006.

REITHINGER, R. et al. Cutaneous leishmaniasis. **The Lancet Infectious Diseases**. v. 7, n. 9, p. 581-96, 2007.

RIBEIRO, J. B. P. **Avaliação in vivo da eficácia do tratamento com miltefosina sistêmico associado à terapia fotodinâmica com ftalocianina cloro-alumínio de formulação lipossomal (alclft) contra o parasita *Leishmania (L.) amazonensis***. 2014. Dissertação - Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

RIBEIRO, T. G. et al. Antileishmanial activity and cytotoxicity of Brazilian plants. **Experimental Parasitology**, v. 143, p. 60-68, 2014.

RIBEIRO, T. G. et al. Antileishmanial activity of standardized fractions of *Stryphnodendron obovatum* (Barbatimao) extract and constituent compounds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 165, p. 238-242, 2015.

ROBERTS, L. “9 Billion?”. **Science**, v. 333, p. 540-543, 2011.

ROBINSON, H. E. Generic and subtribal classification of American Vernoniaeae. **Smithsonian Contributions to Botany**, n. 89, 1999.

RODRIGUES, J. A. P. et al. **Estudo da fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no Parque do Sabiá, Uberlândia-MG**. 2019. 58 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Geografia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.

RODRIGUES, T. M.; DE PÁDUA TEIXEIRA, S.; MACHADO, S. R. The oleoresin secretory system in seedlings and adult plants of copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf., Leguminosae-Caesalpinioideae). **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 206, n. 6, p. 585-594, 2011.

ROGERS, M. E. et al. *Leishmania infantum* proteophosphoglycans regurgitated by the bite of its natural sand fly vector, *Lutzomyia longipalpis*, promote parasite establishment in mouse skin and skin-distant tissues. **Microbes and Infection**, v. 12, n. 11, p. 875-879, 2010.

ROGERS, M. et al. Proteophosphoglycans regurgitated by *Leishmania*-infected sand flies target the L-arginine metabolism of host macrophages to promote parasite survival. **PLoS Pathogens**, v. 5, n. 8, 2009.

ROMANINI, C. V. et al. Avaliação da atividade ansiolítica e antidepressiva do extrato fluido e fração aquosa de folhas de *Passiflora alata* Curtis em camundongos. **Acta Scientiarum Health Sciences**, v. 28, n. 2, p. 159-164, 2006.

RONDON, F. C. M. et al. In vitro efficacy of *Coriandrum sativum*, *Lippia sidoides* and *Copaifera reticulata* against *Leishmania chagasi*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 3, p. 185-191, 2012.

ROSSI, M.; FASEL, N. How to master the host immune system? Leishmania parasites have the solutions!. **International Immunology**, v. 30, n. 3, p. 103-111, 2017.

SACKS D, SHER A. Evasion of innate immunity by parasitic protozoa. **Nature Immunology**. v. 3, n. 11, p. 1041-1047, 2002.

SAEED, B. Q.; HASSAN, H. F.; ARTEEN, H. I. Effect of Some Medical Plant Extracts on Metabolism of *Leishmania tropica* Promastigotes. **Journal of Medical Microbiology Diagnosis**, v. 3, n. 165, p. 2161-0703.1000165, 2014.

SAENTHAWEESUK, S. et al. The study of hypoglycemic effects of the *Morus alba* L. leave extract and histology of the pancreatic islet cells in diabetic and normal rats. **Thammasat Medical Journal**, v. 9, n. 2, p. 149, 2009.

SALDANA, J. R. L. et al. **Proposta de intervenção: diagnóstico, prevenção e controle da leishmaniose tegumentar americana no Programa de Saúde da Família (PSF) Tijuco em São João Del Rei, Minas Gerais**. 2016. 30 f. Trabalho de conclusão de curso (Especialização em Atenção Básica em Saúde da Família) - Universidade Federal de Minas Gerais, Juiz de Fora.

SANTOS, A. G. et al. **Avaliação do efeito do tratamento com o extrato de *Passiflora alata* no modelo animal de doença de Parkinson induzido por 6-hidroxidopamina**. 2018. 100 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas) - Programa de Pósgraduação em Ciências Biomédicas, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta grossa, 2018.

SARAVANAN S.; PARIMELAZHAGAN T. In vitro antioxidant, antimicrobial and anti-diabetic properties of polyphenols of *Passiflora ligularis* Juss. fruit pulp. **Food Science and Human Wellness**, v. 3, p. 56-64, 2014.

SCHÜTZ, K. et al. Identification and quantification of caffeoylquinic acids and flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads, juice, and pomace by HPLC-DAD-ESI/MS n. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 13, p. 4090-4096, 2004

SCOTT, P. et al. Immunoregulation of cutaneous leishmaniasis. T cell lines that transfer protective immunity or exacerbation belong to different T helper subsets and respond to distinct parasite antigens. **Journal of Experimental Medicine**, v. 168, p. 1675-1684, 1988.

SCOTT, P. et al. Role of cytokines and CD4+ T-cell subsets in the regulation of parasite immunity and disease. **Immunology Review**. v. 112, p. 161-182, 1989.

SHIMABUKURO, P. H. F.; GALATI, E. A. B. Lista de espécies de Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do Estado de São Paulo, Brasil, com comentários sobre sua distribuição geográfica. **Biota Neotropica**, v. 11, p. 685-704, 2011.

SILVA-BRAMBILLA, M. G.; MOSCHETA I. S; Anatomia foliar de Polygonaceae (Angiospermae) da planície de inundação do alto rio Paraná. **Acta Science**, v. 23, n. 2, p. 571-585, 2001.

SILVA, P. C. B. et al. Antidiarrheal activity of *Solanum asterophorum* in mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 1, p. 131-136, 2012.

SILVA, R. A. et al. Ecology of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei* in an endemic area for visceral leishmaniasis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 3, p. 320-327, 2014.

SILVA, S. C. **Estudo comparativo de cepas de Leishmania Infantum – Avaliação da susceptibilidade a antimoniais e da expressão de micrornas em macrófagos J774.A1 e camundongos Balb/c experimentalmente infectados**. 2017. 82 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Rio Preto, Minas Gerais, 2017.

SILVA, T. M. S.; CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO, R. Estudo espectroscópico em elucidação estrutural de flavonoides de *Solanum jabrense* Agra & Nee e *S. paludosum* Moric. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1119-1128, 2009

SILVA, T. M. S. et al. Constituintes químicos do extrato acetato de etila das partes aéreas de *Solanum paludosum* Moric. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 85-86, 2002.

SILVA, T. M. S. et al. Flavonoids and an alkalamide from *Solanum paludosum* Moric. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 30, n. 5, p. 479-481, 2002.

SILVA, T. M. S. et al. Molluscicidal activity of *Solanum* species of the Northeast of Brazil on *Biomphalaria glabrata*. **Fitoterapia**, v. 77, n. 6, p. 449-452, 2006.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004. 412 p.

SINGH, N. et al. Natural product based leads to fight against leishmaniasis. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 18-45, 2014.

SINGH, R. et al. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Morus alba* Linn.: a review. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, n. 9, p. 461-469, 2013.

SIROVS, M. 2018. *Morus alba* L. Disponível em: https://jb.utad.pt/especie/Morus_alba. Acesso em: 09 jan. 2020.

SIROVS, M. 2017. *Cynara scolymus*. Disponível em: <https://jb.utad.pt/multimedia/34018>. Acesso em: 09 jan. 2020.

SIT, N. W. et al. In vitro antidermatophytic activity and cytotoxicity of extracts derived from medicinal plants and marine algae. **Journal of Mycologie Medical**, v. 28, n. 3, p. 561-567, 2018.

SOARES, P. N.; NAKAJIMA, J. N. In: Diversidade e Conservação das espécies de *Vernonia* nos campos rupestres de Minas Gerais. **IX ENCONTRO INTERNO & XIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**, 2009.

SOARES, S. P. et al. Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico bruto de *Stryphnodendron adstringens* sobre microorganismos da cárie dental. **Revista Odonto Ciência**, v. 23, n. 1, p. 141-144, 2008.

SOBRINHO, A. C. N.; DE SOUZA, E. B.; DOS SANTOS FONTENELLE, R. O. Uma revisão sobre o potencial antimicrobiano de espécies do gênero *Vernonia* (Asteraceae). **Revista de Pesquisa de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 31, p. 838-850, 2015.

SOFIATI, F. T. **Estudo fitoquímico e atividades biológicas preliminares de extratos de *Polygonum Acre* (Polygonaceae) H.B.K. e *Synadenium Carinatum* (Euphorbiaceae) Boiss.** 2009. 98 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2009.

SOUZA, F. V. 2016. Jurubeba-roxa *Solanum paludosum* Moric. Disponível em: <https://faunaefloradorn.blogspot.com/2016/07/jurubeba-roxa-solanum-paludosum-moric.html>. Acesso em 09 jan. 2020.

SOUZA-GOMES M. L.; ROMERO G. A. S.; WERNECK G. L. Visceral leishmaniasis and HIV/AIDS in Brazil: Are we aware enough?. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 9, 2017.

SOUZA, J. P. J. **Efeito anti-inflamatório do extrato hidroalcoólico de folhas de *Chenopodium ambrosioides* L. na bexiga de ratos submetidos à cistotomia.** 2014. 63 p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência da Saúde) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2014.

SPER, F. L. **Atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, citotoxicidade e genotoxicidade do extrato glicólico de *Stryphnodendron barbatiman* (Vell.) Mart. (Barbatimão).** 2018. 62 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia/Imunologia) - Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos, 2018.

STEBUT, E. V. Immunology of cutaneous leishmaniasis: the role of mast cells, phagocytes and dendritic cells for protective immunity. **European journal of dermatology**, v. 17, n. 2, p. 115–122, 2007.

STEBUT, E. V. Leishmaniasis. **Journal of the German Society of Dermatology**. p. 191-202, 2015.

STUEHR, D. J. et al. Purification and characterization of the cytokine-induced macrophage nitric oxide synthase: an FAD-and FMN-containing flavoprotein. **Proceedings of The National Academy of Sciences**, v. 88, n. 17, p. 7773-7777, 1991.

SUNDAR, S; RAI, M. Treatment of visceral leishmaniasis. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 6, n. 16, p. 2821–2829, 2005.

TCHINDA, A. T. et al. Stigmastane derivatives and isovaleryl sucrose esters from *Vernonia guineensis* (Asteraceae). **Phytochemistry**, v. 63, n. 7, p. 841-846, 2003.

TEIXEIRA, D. E et al. The Cell Biology of Leishmania: How to Teach Using Animations. **PLOS Pathogens**, v. 9, n. 10, 2013.

TOLEDO, C. E. M de. **Estudos anatômico, químico e biológico de cascas e extratos obtidos de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, Leguminosae).** 2002. 115 p.

Dissertação (Mestrado Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000.

TOYANG, N. J.; VERPOORTE, R. A review of the medicinal potentials of plants of the genus *Vernonia* (Asteraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 146, n. 3, p. 681-723, 2013.

TSIKAS, D. Analysis of nitrite and nitrate in biological fluids by assays based on the Griess reaction: appraisal of the Griess reaction in the L-arginine/nitric oxide area of research. **Journal of Chromatography**, v. 851, n. 1-2, p. 51-70, 2007.

UENO, N.; WILSON, M. E. Receptor-mediated phagocytosis of *Leishmania*: implications for intracellular survival. **Trends in Parasitology**, v. 28, n. 8, p. 335-344, 2012.

ULUBELEN, A. et al. C-glycosylflavonoids from *Passiflora pittieri*, *P. alata*, *P. ambigua* and *Adenia mannii*. **Journal of Natural Products**, v. 45, n. 6, p. 783, 1982.

VÄÄNÄNEN, T. **Glycoalkaloid Content and Starch Structure in Solanum Species and Interspecific Somatic Potato Hybrids**. 2007. Dissertação - Department of Applied Chemistry and Microbiology, University of Helsinki, Helsinki, 2007.

VALÉRIO, E. S. et al. **Avaliação da atividade dos extratos hidroetanólico de *Chenopodium ambrosioides* L. e de *Eucalyptus alba* Reinw ex Blume, frente a cepas de *Mycobacterium* sp.** 2014. 102 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, Belém, 2014.

VAN ASSCHE, T. et al. *Leishmania*–macrophage interactions: Insights into the redox biology. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 51, n. 2, p. 337-351, 2011.

VAN-GRIENSVEN, J.; DIRO, E. Visceral Leishmaniasis. **Infectious Disease Clinics of North America**. v. 26, p. 309–322, 2012.

VEIGA JUNIOR, V. F V. et al. Chemical composition and anti-inflammatory activity of copaiba oils from *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke, *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera multijuga* Hayne - A comparative study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, n. 2, p. 248-254, 2007.

VARGAS, S. et al. Biological activities and cytotoxicity of diterpenes from *Copaifera* spp. oleoresins. **Molecules**, v. 20, n. 4, p. 6194-6210, 2015.

VERMA, N. K.; DEY C. S. Possible mechanism of miltefosine-mediated death of *Leishmania donovani*. **Antimicrobial Agents and Chemoter**. v. 48, n. 8, p. 3010-3015, 2004.

VIANNA, G. Tratamento da leishmaniose tegumentar por injeções intravenosas de tártaro emético. **Arquivo Brasileiro de Medicina**, v. 4, p. 426-8, 1912.

VINAUD, M. C. et al. Avaliação da atividade larvicida de plantas fitoterápicas do cerrado do gênero *Stryphnodendron* SSP. Sobre Miracídios e Cercárias de *Schistosoma mansoni*. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 34, n. 2, p. 137-143, mai./aug. 2005.

WALDMAN, E. A.; SATO, A. P. S. Path of infectious diseases in Brazil in the last 50 years: an ongoing challenge. **Revista de Saúde Pública**, v. 50, p. 68, 2016.

WILSON, M. E.; PEARSON, R. D. Roles of CR3 and mannose receptors in the attachment and ingestion of *Leishmania donovani* by human mononuclear phagocytes. **Infection and immunity**, v. 56, n. 2, p. 363-369, 1988.

WHO. World Health Organization (2010). Control of the leishmaniasis. World Health Organization Technical Report Series, n. 949, p. 21, 2010.

WHO, World Health Organization (2017). Leishmaniasis. Disponível em https://www.who.int/gho/neglected_diseases/leishmaniasis/en/. Acesso: 22 Set. 2019.

YADAV, R. et al. Pro-oxidative synergic bactericidal effect of NO: kinetics and inhibition by nitroxides. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 67, p. 248-254, 2014.

YANG, Z. Z.; WANG, Y. C.; WANG, Y. et al. Bioassay-guided screening and isolation of α -glucosidase and tyrosinase inhibitors from leaves of *Morus alba* [J]. **Food Chemistry**, v. 131, p. 617-625, 2012.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

ZENI, A. L. B.; DALL'MOLIN, M. Hypotriglyceridemic effect of *Morus alba* L., Moraceae, leaves in hyperlipidemic rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 1, p. 130-133, 2010.

ZIMMERMAM-FRANCO, D. et al. Antifungal activity of *Copaifera langsdorffii* Desf oleoresin against dermatophytes. **Molecules**, v. 18, n. 10, p. 12561-12570, 2013