



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, ALIMENTOS
E NUTRIÇÃO
FARMÁCIA - BACHARELADO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTILEISHMANIA DE
EXTRATOS DE FRUTOS SECOS NATIVOS DO MATO
GROSSO DO SUL

Campo Grande - MS
2024

MATTEUS VITTORIO RAMIRES GUEDES DA COSTA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTILEISHMANIA DE
EXTRATOS DE FRUTOS SECOS NATIVOS DO MATO
GROSSO DO SUL**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
ao Curso de Farmácia da Faculdade de
Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição
- FACFAN, da Universidade Federal do Mato
Grosso do Sul, como requisito para a
obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Thalita Bachelli Riul

Campo Grande - MS
2024

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Atividade antileishmania dos extratos de frutos secos.....	23
Figura 2 - Avaliação da citotoxicidade dos extratos de frutos secos.....	24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANFB Anfotericina B
ANOVA Análise de variância
CC₅₀ Concentração citotóxica
CI₅₀ Concentração inibitória
CV Controle de viabilidade
DMSO Dimetilsulfóxido ou sulfóxido de dimetilo
ELISA Enzyme Linked Immunono Sorbent Assay
EV Endovenosa
EUA Estados Unidos da América
FACFAN Faculdade de Ciências Farmaceuticas e Nutrição
GOV Governo
IDRM Intradermorreação de Montenegro
IFI Imunofluorescência indireta
IM Intramuscular
IS Índice de Seletividade
LaPNEM Laboratório de Produtos Naturais e Espectroscopia de Massas
LC Leishmaniose cutânea
LCD Leishmaniose cutânea difusa
LCL Leishmaniose cutânea localizada
LD Leishmaniose cutânea disseminada
LIT Liver Infusion Triptose
LM Leishmaniose cutâneo-mucosa
LPPFB Laboratório de Purificação de Proteínas e suas Funções Biológicas
LTA Leishmaniose Tegumentar Americana
LV Leishmaniose Visceral
MS Mato Grosso do Sul
NNN Neal, Navy, Nicolle
PCR Reação em cadeia da polimersase
PMM Paromomicina
OMS Organização Mundial de Saúde
SC Subcutânea

SUS Sistema Unico de Saúde

UFMS Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

RESUMO

A leishmaniose, segundo a Organização Mundial de Saúde, é uma das doenças tropicais mais negligenciadas, sendo endêmica no Brasil. Causada por protozoários do gênero *Leishmania* spp, suas principais formas clínicas são a tegumentar (LT) e a visceral (LV), sendo ocasionadas principalmente pelas espécies *Leishmania amazonensis*, *L. braziliensis* e *L. infantum*. Atualmente, os fármacos utilizados no tratamento dessa doença tem causado diversos inconvenientes em termos de segurança, toxicidade, administração, resistência e custo. Assim, o desenvolvimento de novas estratégias terapêutica para tratamento tem se tornado de alta prioridade. A utilização de extratos de produtos naturais tem sido bastante estudada em espécies de *Leishmania*, tendo sido bastante documentada a atividade antileishmania de algumas espécies, se mostrando boas alternativas para o tratamento efetivo. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antileishmania dos extratos dos frutos secos das seguintes espécies de plantas: *Cariniana legalis* (Lecythidaceae), *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae), *Cedrela fissilis* (Meliaceae), *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae) e *Microlobius foetidus* (Fabaceae). Foram realizados ensaios colorimétricos de viabilidade com formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* e fibroblastos NIH/3T3 para avaliação da atividade antileishmania e sua seletividade. Dentre os extratos analisados, destacou-se os extratos de *A. tomentosum* e *C. fissilis*, que apresentaram o maior índice de seletividade entre todos testados (6,6 e 1,2, respectivamente). Esse índice de seletividade se mostrou abaixo do proposto da literatura para compostos naturais, entretanto, indica a presença de compostos ativos antileishmania dentre os extratos testados, o que pode levar a novas perspectivas de estudos em relação a composição química e atividades biológicas dessas espécies.

Palavras chaves: Leishmaniose, *Leishmania amazonensis*, Produtos naturais, Frutos secos, Índice de seletividade, Antileishmania.

ABSTRACT

Leishmaniasis, according to the World Health Organization, is one of the most neglected tropical diseases and being endemic in Brazil. Caused by protozoa of the genus *Leishmania* spp. The main clinical forms are tegumentary (LT) and visceral (LV), mainly caused by the species *Leishmania amazonensis*, *L. braziliensis* and *L. infantum*. Currently, the drugs used to treatment of this disease have caused several inconveniences in terms of safety, toxicity, administration, resistance and cost. Therefore, the development of new therapeutic strategies for treatment has become a high priority. The use of extracts from natural products has been extensively studied in *Leishmania* species and the antileishmania activity of some species has been well documented, proving to be good alternatives for effective treatment. The aim of this study was to evaluate the antileishmanial activity of extracts from the dried fruits of the following plant species: *Cariniana legalis* (Lecythidaceae), *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae), *Cedrela fissilis* (Meliaceae), *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae) and *Microlobius foetidus* (Fabaceae). Colorimetric viability assays were performed with promastigote forms of *Leishmania amazonensis* and NIH/3T3 fibroblasts to evaluate antileishmanial activity and selectivity. Among the extracts analyzed, the extracts from *A. tomentosum* and *C. fissilis* presented the highest selectivity index among the extracts tested (6.6 and 1.2, respectively). This selectivity index was below that proposed in the literature for natural compounds, however, it indicates the presence of active antileishmania compounds among the extracts tested, which may lead to new perspectives for studies in relation to the chemical composition and biological activities of these species.

Keywords: Leishmaniasis, *Leishmania amazonensis*, Natural products, Dried fruits, Selectivity index, Antileishmania.

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	9
2.FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	10
2.1 As Leishmanioses	10
2.2 Manifestações Clínicas	11
2.3 Epidemiologia.....	12
2.4 Diagnóstico	12
2.5 Tratamento nas Leishmanioses	14
2.6 Busca por novas alternativas de tratamento e a utilização de produtos naturais	16
2.7 Plantas testadas para atividade antileishmania	17
2.7.1 <i>Cariniana legalis</i> (Lecythidaceae)	17
2.7.2 <i>Qualea grandiflora</i> Mart. (Vochysiaceae).....	18
2.7.3 <i>Cedrela fissilis</i> (Meliaceae)	18
2.7.4 <i>Aspidosperma tomentosum</i> (Apocynaceae)	19
2.7.5 <i>Microlobius foetidus</i> (Fabaceae)	19
3. OBJETIVOS	20
3.1 Objetivo Geral	20
3.2 Objetivos Específicos	20
4.METODOLOGIA	20
4.1 Material vegetal e preparação de extratos	20
4.2 Manutenção de <i>Leishmania amazonensis</i>	21
4.3 Atividade antipromastigota	21
4.4 Ensaio de citotoxicidade	22
4.5 Análise dos resultados	23
5.RESULTADOS E DISCUSSÕES	23
6.CONCLUSÃO	27
7.REFERÊNCIAS.....	29

1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença tropical complexa causada por mais de 50 espécies de protozoários parasitas do gênero *Leishmania*, 20 dos quais são patogênicos para humanos (Capela; Moreira; Lopez, 2019). Amplamente distribuída pelo mundo, estimativas sugerem que cerca de 1,6 milhões de novos casos ocorram por ano, sendo o Brasil responsável por 84% dos casos notificados nas américas. Se entendendo como um problema de saúde pública de importância mundial, a leishmaniose atualmente é considerada como uma das principais doenças negligenciadas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (Kopel, 2022; Oliveira et al., 2021; Paho, 2019; Lopez et al., 2021; WHO, 2022).

Há várias espécies de parasitos, reservatórios e vetores envolvidos na cadeia de transmissão da leishmaniose (Dias, 2018). Sua infecção é causada por protozoários flagelados unicelulares do gênero *Leishmania*, sendo as formas encontradas nos hospedeiros: i) amastigota, encontradas nas células do sistema fagocítico mononuclear dos hospedeiros vertebrados, e, ii) promastigota, localizadas na luz do trato digestivo dos hospedeiros invertebrados (vetores), que são flebotomíneos fêmeas (Lima, 2021; Azevedo; Marcili, 2020).

Existem várias manifestações clínicas da doença. Entre elas, a leishmaniose tegumentar Americana (LTA), causada pelas espécies *Leishmania amazonensis* e *Leishmania brasiliensis*, inclui as formas clínicas disseminada (LD), mucosa (LM) e cutâneo difusa (LCD) e embora apresentem baixa mortalidade, causam lesões na pele, principalmente úlceras em partes expostas do corpo, deixando cicatrizes ao longo da vida (Oliveira, 2021; Ovallos et al., 2020; Capela; Moreira; Lopez, 2019).

O Brasil é o país na América do Sul com o maior número de casos da Leishmaniose tegumentar (Lima, 2021). Segundo o DATASUS, no ano de 2020, foram notificados 16.432 novos casos da leishmaniose tegumentar americana no país, sendo esse, o maior número desde 2016 e mostrando que a doença se encontra em expansão no país (DATASUS, 2024).

Atualmente, os medicamentos utilizados na terapia contra a leishmaniose, são: os antimoniais pentavalentes, a anfotericina B e a sua formulação lipossômica, a paromomicina e a pentamidina (Santiago et al., 2021; Tiwari et al., 2018). Esses fármacos existentes apresentam sérios inconvenientes em termos de segurança, resistência, estabilidade e custo (Barros et al., 2021). Além disso, estão associados a

deficiências graves como toxicidade, administração prolongada e possível surgimento de resistência por parte do parasito (Tiwari *et al.*, 2018).

Novas formulações de medicamentos para o tratamento da leishmaniose têm sido investigadas e uma das alternativas são os metabólitos secundários provenientes de plantas e produtos naturais, já que são usadas ao longo dos tempos para o tratamento de diversas doenças durante vários séculos (Capela; Moreira; Lopez, 2019; Barros *et al.*, 2021; Atasanov, 2021). A descoberta de novos produtos naturais bioativos, tem favorecido maior sucesso para encontrar compostos com características físico-químicas adequadas para o desenvolvimento de fármacos. E, há inúmeros relatos na literatura de produtos naturais e extratos vegetais com atividade antileishmania (Barros *et al.*, 2021; Oliveira, 2021).

Desta forma, esse trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antileishmania do extrato de frutos secos de espécies nativas do estado do Mato Grosso do Sul, a partir de testes *in vitro* com promastigotas de *Leishmania amazonensis*, na busca por novas alternativas de tratamento da doença. As plantas cujos extratos foram utilizados neste trabalho incluem, *Cariniana legalis* (Lecythidaceae), *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae), *Cedrela fissilis* (Meliaceae), *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae) e *Microlobius foetidus* (Fabaceae), conhecidas popularmente como, Jequitibá-rosa, Pau-terra, Cedro, Peróba do campo e Pau-alho, respectivamente.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 As Leishmanioses

As leishmanioses são causadas por protozoários do gênero *Leishmania* e são transmitida por diferentes insetos vetores (flebotomíneos) da família *Psychodidae* e transmitidas por pequenos dípteros da subfamília *Phlebotominae*, conhecidos popularmente como mosquito palha, birigui, tatuquira, asa branca, caravela, entre outros (Oliveira, 2021; Ovallos *et al.*, 2020). As fêmeas do vetor são as responsáveis por manter o ciclo da doença, possuindo preferencialmente hábitos alimentares noturnos, nos quais se infectam no ato do repasto sanguíneo em um hospedeiro vertebrado infectado (Mann *et al.*, 2021).

O protozoário em seu ciclo de desenvolvimento apresenta duas formas durante o seu ciclo de vida heteroxênico: promastigota e amastigota. As promastigotas são móveis, com flagelo livre e são encontradas no tubo digestivo dos flebotomíneos, até se tornarem a forma infectante para os humanos, denominadas promastigotas metacíclicas, enquanto, as amastigotas são arredondadas, com flagelo interiorizado e são encontradas parasitando macrófagos presentes nos tecidos de mais de 70 espécies de vertebrados, entre eles os humanos (Kopel, 2022; Lima, 2017; Oliveira, 2021).

Quanto a *Leishmania*, a amastigota é um patógeno intracelular obrigatório que se replica no interior de células fagocíticas, fator que juntamente com a resposta imune do hospedeiro colabora com as diferentes manifestações clínicas e graus de gravidade da doença. O desenvolvimento das lesões se deve ao produto da interação da multiplicação do parasita, com a resposta imune do paciente (Kopel, 2022, Oliveira, 2021; Burza; Croft; Boelart, 2018).

2.2 Manifestações Clínicas

Do aspecto clínico, as leishmanioses podem ser classificadas como tegumentar americana (LTA) ou visceral (LV) (Santiago *et al.*, 2021; Ovallos *et al.*, 2020; Brasil, 2017). A forma tegumentar da leishmaniose pode ser ocasionada por diversas espécies de *Leishmania spp.*, apresentando diversas manifestações clínicas, como: Leishmaniose cutânea localizada (LCL), Leishmaniose disseminada (LD), Leishmaniose mucosa (LM) e Leishmaniose cutâneo difusa (LCD) (Lima, 2017; Vasconcelos *et al.*, 2018; Oliveira, 2021).

Na LCL, que é causada pelas espécies *L. amazonensis* e *L. brasiliensis*, é caracterizada por uma pápula eritematosa que evolui para uma úlcera com bordas elevadas e fundo recoberto por exsudato seroso, que aparece no local da picada do vetor, após um tempo de incubação que pode vir a durar vários meses. A LD, se manifesta pelo aparecimento de múltiplas lesões papulares e de aparência acneiforme que acometem vários segmentos corporais, envolvendo com frequência a face e o tronco (Uzun *et al.*, 2018; Vasconcelos *et al.*, 2018; Oliveira, 2021).

Já a LM, que é causada pela espécie *L. amazonensis*, é caracterizada por uma lesão secundária que atinge principalmente a orofaringe, com comprometimento do septo cartilaginoso e demais áreas associadas, como lábios, boca, toda a faringe e

laringe e associa-se com elevada morbidade. A LCD, que inicia-se de maneira insidiosa, com lesão única e má resposta ao tratamento, evoluindo de forma lenta com formação de placas e múltiplas nodulações não ulceradas recobrimdo grandes extensões cutâneas. Nesta ocorre a disseminação hematogênica do parasito após meses ou anos, com lesões em várias partes do corpo, como: face (nariz, regiões malares, lábio superior, orelhas) e membros (braços, antebraços, pernas, pés). (Lima, 2017; Vasconcelos *et al.*, 2018; Oliveira, 2021; Kopel, 2022; Uzun *et al.*, 2018).

Uma das formas mais graves da leishmaniose tegumentar é a LCD, que devido a imunossupressão celular específica induzida pelo parasito, apresenta um difícil controle da infecção pelo sistema imunológico do hospedeiro, resultando no caráter evolutivo crônico e tratamento dificultado (Santiago *et al.*, 2021).

2.3 Epidemiologia

Nos últimos vinte anos, a LTA apresentou um grande crescimento em todas as regiões do Brasil, tanto no número de casos como em disposição geográfica, tendo as regiões norte e nordeste apresentado o maior número de casos confirmados no país, seguidas das regiões centro-oeste e sudeste (Vasconcelos *et al.*, 2018; Gov., SC, 2021). Em 2022, foram confirmados 13.603 novos casos (maior número desde 2016) de leishmaniose tegumentar no Brasil, mostrando que a doença se encontra em expansão (DATASUS, 2024).

No Estado de Mato Grosso do Sul (MS), a leishmaniose é endêmica e é uma ameaça significativa à saúde pública, tendo um número crescente de casos. A vasta área com clima e vegetação tornam-se propensos para o desenvolvimento de vetores responsáveis pela transmissão da leishmaniose, propiciando a expansão da doença. (Oliveira, 2017; Castro *et al.*, 2016; Noro *et al.*, 2016). Entre o período de 2007 a 2022, o estado contabilizou 1.821 casos notificados de leishmaniose tegumentar americana (DATASUS, 2024).

2.4 Diagnóstico

Existem diversos testes e exames aplicados no diagnóstico da leishmaniose tegumentar americana, no entanto, não existe um exame considerado padrão-ouro para diagnóstico. Dessa forma, o diagnóstico consiste na associação de dados

epidemiológicos, junto com as características clínicas e exames laboratoriais, para a obtenção do diagnóstico final (Mendes *et al.*, 2019; Vasconcelos *et al.*, 2018; Cerutti *et al.*, 2017; Kopel, 2022; Andrade *et al.*, 2005).

A obtenção de dados epidemiológicos é o primeiro passo para a suspeita clínica de LTA. Saber se o paciente reside numa área endêmica, se esteve em contato com zonas de mata nativa ou em regiões de casos da leishmaniose é de extrema importância, uma vez que a anamnese da doença baseia-se nas características da lesão associada a dados epidemiológicos do doente (Goto; Lindoso, 2014; Gomes *et al.*, 2014; Cerutti *et al.*, 2017; Andrade *et al.*, 2005). Entretanto, somente a análise clínica não é suficiente, o diagnóstico diferencial precisa ser realizado, especialmente para doenças que apresentam as mesmas características de lesão da leishmaniose, como a hanseníase e a sífilis. Sendo assim, os exames laboratoriais são imprescindíveis para o complemento no diagnóstico final (Vasconcelos *et al.*, 2018; Andrade *et al.*, 2005).

Para o diagnóstico laboratorial são empregados alguns métodos de identificação, tais como, exame direto e histopatológico, cultura em meio específico, testes sorológicos, imunofluorescência, reação em cadeia da polimerase (PCR) e exames imunológicos, como intradermorreação de Montenegro (IDRM) (Brasil, 2017; Cerutti *et al.*, 2017). O exame direto é o procedimento de primeira escolha para a LTA, por ser rápido e barato. A técnica é simples, realizada com a escarificação da borda da lesão por uma agulha fina (PAF) ou pelo aspirado nasal, com a cotação de um esfregaço em lâmina, nos quais são utilizadas as colorações de *Giemsa* ou *Leishman* (Brasil, 2017; Cerutti *et al.*, 2017; Andrade *et al.*, 2005).

O exame histopatológico pode ser realizado a partir da biópsia, obtida por meio da técnica de “punch”, no qual é retirado fragmentos de 3 a 5 mm, para identificação. O diagnóstico de ambos procedimentos é confirmado com a visualização de formas amastigotas (arredondadas ou ovaladas, com núcleo e cinetoplasto) de *Leishmania* spp. e em ambos podem ser encontrados o parasito, tanto na sua forma livre, como dentro de macrófagos (Brasil, 2017; Cerutti *et al.*, 2017; Kopel, 2022).

O meio de cultura é o método mais específico, utilizado para a confirmação da presença do agente etiológico e a identificação da espécie de *Leishmania* spp. na sua forma promastigota. É obtido pela inoculação dos fragmentos de biópsia em meios de cultura NNN (Neal, Novy, Nicolle) associado ao LIT (Liver Infusion Tryptose), em

temperaturas de 24°C a 26°C, no qual facilita o crescimento do parasita. A amostra precisa ser observada num período de 30 dias, com a possibilidade de observação do parasito a partir do quinto dia. No entanto, é um método pouco utilizado, devido ao seu alto custo e tempo prolongado (Brasil, 2017; Cerutti *et al.*, 2017; Gomes *et al.*, 2014).

O método molecular PCR (Reação em cadeia da polimerase), baseia-se na pesquisa de DNA do parasito, podendo ser aplicado a qualquer material biológico no qual possua fragmentos de DNA de *Leishmania spp.* É um método de alta sensibilidade e que permite a identificação do gênero do agente etiológico, porém tem um custo elevado e execução complexa (Brasil, 2017; Cerutti *et al.*, 2017). Os testes sorológicos têm como base a pesquisa de anticorpos anti-leishmania presentes no soro do paciente. A identificação pode ser feita por teste imunoenzimático (ELISA) ou imunofluorescência indireta (IFI), aglutinação direta e outros; tendo a IFI como a técnica mais utilizada. Além disso, os testes sorológicos são utilizados para monitoramento dos títulos de IgM e IgG dos indivíduos infectados, como forma de atestar a progressão da doença ou a cura clínica (Andrade *et al.*, 2005; Mendes *et al.*, 2019; Cerutti *et al.*, 2017).

O método de intradermorreação de Montenegro (IDRM), é um teste imunológico que consiste na inoculação de antígenos na derme, provenientes de culturas de promastigotas de *Leishmania spp.* O teste tem como base a imunidade antileishmania desenvolvida pelo hospedeiro após o contato com o parasita, no entanto, o teste não diferencia infecções atuais de passadas. Sendo assim, mais utilizado no diagnóstico de viajantes que não vivem em regiões endêmicas (Goto; Lindoso, 2014; Andrade *et al.*, 2005; Kopel, 2022; Cerutti *et al.*, 2017).

2.5 Tratamento nas Leishmanioses

O tratamento da leishmaniose é realizado desde o início do século XX, no entanto, todas as opções de tratamento para a leishmaniose são limitadas a um pequeno número de medicamentos que, devido ao alto custo, a administração parenteral e efeitos adversos significativos, se tornam umas das grandes barreiras para o manejo clínico da doença (Holanda *et al.*, 2018; Oliveira, 2021).

Atualmente, a terapia medicamentosa baseia-se na utilização de cinco fármacos: os antimoniais pentavalentes, a anfotericina B e a sua formulação

lipossômica, a miltefosina, a paromomicina e a pentamidina. E, com exceção dos compostos antimoniais, todos os outros medicamentos não foram inicialmente desenvolvidos com ação leishmanicida (Oryan, 2015; Brasil, 2018; Santiago *et al.*, 2021).

Os antimoniais pentavalentes são os medicamentos de primeira escolha para todas as formas de leishmaniose (Kato *et al.*, 2014). Oferecidos pelo sistema Único de Saúde (SUS), possuem duas apresentações comerciais disponíveis: estibogluconato de sódio (Pentostam®) e antimoniato-N-metil-glucamina (Glucantime®), sendo este último, o medicamento de escolha para o tratamento de LTA e é realizado pelo SUS (Filho *et al.*, 2020; Santiago *et al.*, 2021). Seu manejo terapêutico e de administração é via intramuscular (IM) ou endovenosa (EV) de 10 mg-20 mg/kg/dia, e se preciso, faz-se a injeção intralesional por via subcutânea (SC) de aproximadamente 5 mL, com intervalo de 15 dias entre as sessões (Brasil, 2017; Oliveira, 2021).

A terapia com antimônio é frequentemente acompanhada por dor local durante a injeção intramuscular e por efeitos colaterais graves que incluem cardiotoxicidade, pancreatite, hepatotoxicidade e nefrotoxicidade (Santiago *et al.*, 2021; Hepburn *et al.*, 1994). Além disso, baixas dosagens e tratamentos descontínuos podem acarretar falhas na terapia e consequente aumento na resistência dos parasitas (Oliveira, 2021). Os mecanismos envolvidos na toxicidade dos antimoniais pentavalentes não estão totalmente elucidados (Kato *et al.*, 2014), no entanto, é bem aceito que resíduos em antimoniais pentavalentes, ou produzidos nos tecidos por redução pode ser o responsável por seus efeitos colaterais e pela ação antileishmania (Kato *et al.*, 2014; Frezard; Demichard; Ribeiro, 2009).

A anfotericina B (ANFB) é um metabólito antifúngico de polieno, pouco solúvel em água e com ação direta sobre ambas as formas do parasita. Ao se ligar ao ergosterol da membrana celular leva à formação de poros, o que desencadeia a permeação de íons, água e outras moléculas causando a morte do parasita. A resposta terapêutica à ANFB tem sido eficaz em até 100% dos casos, se mostrando efetiva no tratamento LTA, porém, ainda pode ocorrer séries recidivas após suspensão da mesma (Santiago *et al.*, 2021; Oliveira, 2021; Brasil, 2017).

Além disso, apesar de ser um fármaco antileishmania altamente eficaz, a ANFB apresenta efeitos secundários significativos, como nefrotoxicidade aguda; sua aplicação intravenosa, o que implica hospitalização e acompanhamento rigoroso do

paciente durante as quatro semanas de tratamento e resulta na menor adesão do paciente ao tratamento. Outra importante desvantagem adicional é o alto custo da ANFB (Capela; Moreira; Lopez, 2019; Oliveira, 2021; Hendrickx *et al.*, 2019).

A miltefosina é um análogo da alquilfosfocolina, originalmente desenvolvida como agente antitumoral e o único medicamento oral disponível para tratar leishmaniose (Tiwari *et al.*, 2018). É um medicamento promissor para o tratamento da LTA, tendo se mostrado eficaz também no tratamento da LCL, podendo servir como uma alternativa terapêutica eficaz e segura (Santiago *et al.*, 2021; Oliveira, 2021). Entretanto, devido a sua administração por via oral, pode ocasionar distúrbios gastrointestinais e toxicidade renal, o que leva o paciente à interrupção prematura do tratamento (Santiago *et al.*, 2021).

A paromomicina (PMM) é um antibiótico aminoglicosídeo possui atividade antileishmania e anti bacteriana, entretanto, este medicamento não é uma boa opção para o tratamento de pacientes com leishmaniose por conta de sua baixa absorção e administração através de injeções intramusculares (Capela; Moreira; Lopez, 2019; Tiwari *et al.*, 2018). A PMM é uma formulação parenteral de baixo custo que requer três semanas de administração intramuscular. Apresenta como efeitos adversos mais comuns a nefrotoxicidade e a hepatotoxicidade (Hendrickxy *et al.*, 2019).

Atualmente, não existe vacina para a prevenção de leishmaniose humana (Burza; Croft; Boelart, 2018). Diante da necessidade de descobrir um protótipo menos tóxico, de fácil aplicação e com elevado potencial leishmanicida, diversas pesquisas vêm sendo realizadas na busca de encontrar novas moléculas e de medicamentos que sejam eficazes com menos efeitos adversos e serem mais acessíveis (Franco *et al.*, 2021; Lima 2021; Capela; Moreira; Lopez, 2019).

2.6 Busca por novas alternativas de tratamento e a utilização de produtos naturais

A utilização de produtos naturais acontece há séculos pela humanidade e são passados através do conhecimento popular (Hellmann; Marchezan; Velasquez, 2018). Em muitos países em desenvolvimento, uma grande parte da população depende do uso de plantas para tratar suas doenças e que fazem uso de ervas para fins medicinais, sendo essa uma prática antiga (Dias, 2018; Figueiredo *et al.*, 2022; Oliveira, 2021).

Há inúmeros relatos na literatura de espécies que desempenharam alguma atividade antileishmaniana. Eles fornecem uma base para a concepção e síntese de moléculas derivadas que podem otimizar a atividade biológica e minimizar efeitos colaterais (Oliveira et al., 2021; Scotti et al., 2016; Souza, 2019). Assim, a extração de moléculas provenientes de plantas se mostra promissora, pois são compostos que apresentam uma variabilidade química (estrutural e funcional), uma vez que permitem uma maior flexibilidade e adaptação do vegetal ao estresse ambiental (Lima, 2021; Barros et al., 2021).

Extratos vegetais contendo compostos ativos com atividade biológica contra espécies de *Leishmania*, vem sendo relatados por meio de testes realizados *in vitro*, trazendo resultados de atividade leishmanicida apenas em formas promastigotas (Oliveira, 2021; Boniface; Ferreira, 2019). De exemplo, têm-se os alcaloides extraídos das cascas de caule de uma família de angiospermas conhecida como *Rutaceae*, os triterpenos, de folhas de *Moraceae*, os flavonoides extraídos da família *Leguminosae*, entre outras (Hellmann; Marchezan; Velasquez, 2018; Barros et al., 2021). Além desses, outros compostos como as lignanas, taninos, terpenóides e oxilipinas também tiveram suas ações anti-*Leishmania* descritas (Oliveira, 2021).

O Brasil é reconhecido pela imensa diversidade biológica de sua flora e é considerado um dos principais centros de diversidade genética para as espécies de frutas no mundo (Souza, 2019). Assim, o uso de medicamentos derivados de seus frutos secos vem para complementar a busca por novas terapias para a leishmaniose tegumentar, servindo como alternativa às dificuldades encontradas nos tratamentos atuais (Lima, 2021).

2.7 Plantas testadas para atividade antileishmaniana

2.7.1 *Cariniana legalis* (Lecythidaceae)

Conhecida popularmente como Jequitibá-rosa, a *Cariniana legalis* é considerada a maior árvore da Mata Atlântica. Podendo atingir até 60 metros de altura, sua madeira de alta qualidade possui utilização para a construção civil, na produção de papel e na fabricação de móveis (Flora, 2012). Suas cascas e folhas, são utilizadas para fins medicinais, pois apresentam atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, adstringente e despigmentante (Janovik, 2011; Vieira et al., 2022).

Em estudos realizados com o extrato de folhas e cascas da *C. legalis* puderam avaliar a sua atividade antimicrobiana e antifúngica, nos quais demonstraram efeitos contra os fungos *Candida krusei* e *Candida parapsilosis*, além da espécie *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus niger*, também apresentou efeito bacteriostático contra a *Escherichia coli*. Em sua composição, são encontrados flavonoides, saponinas e taninos (Janovik, 2011; Vieira et al., 2022).

2.7.2 *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae)

A *Qualea grandiflora* Mart., conhecida como Pau-terra, é uma das espécies arbóreas mais comuns no cerrado brasileiro (Almeida et al., 2021; Silva et al., 2021). Caracterizada como uma árvore de pequeno porte, é utilizada na medicina popular para o tratamento de diarreias, cólicas intestinais, faringite e afecções cutâneas (Almeida et al., 2021; Pereira, 2017; Gaspi et al., 2006). Em sua composição são encontrados triterpenos, flavonóides e polifenóis, que justificam suas atividades biológicas (Silva et al., 2021; Carnevale Neto et al., 2013).

Diversos estudos envolvendo extratos da *Q. grandiflora* foram realizados, nos quais foram relatados variados efeitos terapêuticos, como de efeito analgésico, anticonvulsivante e anti-inflamatório; mostrou eficácia no tratamento de úlceras gástricas e também no tratamento de feridas. Além disso, testes *in vitro* do seu extrato demonstrou atividade anti-*Trypanosoma cruzi*, além de ação antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Pseudomonas aeruginosa* (Silva et al., 2021; Cordeiro et al., 2017; Almeida et al., 2021; Gaspi et al., 2006).

2.7.3 *Cedrela fissilis* (Meliaceae)

A *Cedrela fissilis* é uma espécie amplamente distribuída pelo Brasil. Conhecida popularmente como Cedro ou Cedro-rosa e podendo atingir até 40 metros de altura, a espécie é uma valiosa fonte de madeira, sendo bastante utilizada economicamente. Sua madeira leve a moderada, com boa durabilidade, é largamente usada na confecção de móveis, na marcenaria e na construção civil, naval e aeronáutica (Ambrozin et al., 2006; Vovchuk et al., 2024; Flora, 2012; Leonardo et al., 2006).

Estudos realizados com a espécie relataram diversas atividades biológicas, nos quais demonstraram ação inseticida, antifúngica, atividade antimalárica. Além disso, a espécie *Cedrela sp.* apresentou atividade anti-*Trichomonas vaginalis* (Vovchuk et al.,

2024; Silva *et al.*, 2024; Leite *et al.*, 2008; Ambrozin *et al.*, 2006). Em sua composição foram encontradas ácidos graxos, esteróis, flavonoides e triterpenos, entre eles os limonóides, substância encontrada no óleo essencial, responsável pela atividade inseticida (Nogueira *et al.*, 2020; Vovchuk *et al.*, 2024; Ambrozin *et al.*, 2006).

2.7.4 *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae)

Conhecida popularmente como Peróba do campo, a *Aspidosperma tomentosum* é uma espécie arbórea típica do cerrado brasileiro. É uma árvore ornamental, podendo atingir de 6 a 8 metros, sendo muito utilizada no paisagismo. Sua madeira pesada é empregada na construção e na confecção de móveis e instrumentos musicais. (Aquino *et al.*, 2013; Flora, 2012; Oliveira, *et al.*, 2011).

A espécie foi objeto de vários estudos ao longo dos anos para avaliar suas atividades farmacológicas. O extrato etanólico da casca e caule apresentaram em sua composição, alcalóides e flavonoides que demonstraram as seguintes ações: efeito hipotensor, ação analgésica e anti-inflamatória e atividade antiproliferativa contra células cancerosas (Pereira, 2017; Aquino *et al.*, 2013; Dolabela *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2011). Além disso, o extrato demonstrou atividade em experimentos *in vitro* contra os fungos, *Candida krusei* e *Cryptococcus neoformans* e também contra o protozoário da malária, *Plasmodium falciparum* (Dolabela *et al.*, 2012; Albernaz *et al.*, 2010).

2.7.5 *Microlobius foetidus* (Fabaceae)

Com o nome popular de Pau-alho, a *Microlobius foetidus* subsp. *paraguensis* pertence à família *Fabaceae* e ocorre na região do Pantanal no estado do Mato Grosso do Sul (Da Silva *et al.*, 2014; Santos; Filho, 2001). Podendo atingir até 18 metros de altura, a espécie é empregada em regiões degradadas por desmatamento e queimadas. Suas folhas produzem um forte odor de alho devido a presença de óleos voláteis, nos quais tem sua utilização como repelente natural (Da Silva *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2014). Alguns estudos relacionados com esses óleos presentes demonstraram atividade antineoplásica e alelopática, além de ação inseticida contra *Aedes aegypti*, todos relatados na literatura (Da Silva *et al.*, 2014).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a atividade antileishmania spp de frutos secos em formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* por ensaios colorimétricos de viabilidade.

3.2 Objetivos Específicos

- ✓ Avaliar a atividade de antileishmania spp de extratos de frutos secos de *Cariniana legalis*, *Qualea grandiflora* Mart., *Cedrela fissilis*, *Aspidosperma tomentosum*, *Microlobius foetidus* em formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*;
- ✓ Avaliar a citotoxicidade em linhagem celular de fibroblastos de camundongos NIH/3T3 dos extratos por meio de ensaios colorimétricos de resazurina para o cálculo da viabilidade;
- ✓ Calcular a concentração inibitória (CI₅₀) e concentração citotóxica (CC₅₀) dos extratos e de suas frações e os seus respectivos índices de seletividade.

4. METODOLOGIA

4.1 Material vegetal e preparação de extratos

Os frutos secos foram coletados nas cidades de Campo Grande e Ladário, no estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. Os materiais vegetais foram coletados e identificados por especialistas e depositados no herbário da UFMS. As espécies utilizadas nesse experimento foram: *Cariniana legalis* (Lecythidaceae), *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae), *Cedrela fissilis* (Meliaceae), *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae) e *Microlobius foetidus* (Fabaceae). No laboratório, os frutos coletados tiveram a retirada do seu pericarpo e então foram secos em estufas circulantes e pulverizados com um moinho de facas. Os materiais em pó foram armazenados em vácuo, sem a presença de luz na temperatura de 8°C até a sua extração.

Os extratos foram obtidos em contato com um solvente de etanol 70% por 24 horas. Após esse tempo, os materiais foram extraídos por percolação exaustiva extraídos a uma taxa de 20 gotas por minuto. Esses extratos foram concentrados em

um evaporador rotativo (Büchi® Rotavapor R-153) e então foram secos por liofilização. Dessa forma, foram obtidos extratos hidroetanólicos com os seguintes rendimentos: *C. legalis* (10.1%), *Q. grandiflora* (2.9%), *C. fissilis* (1.6%), *A. tomentosum* (18.2%), *M. foetidus* (13.9%). O procedimento para a obtenção dos extratos foi realizado pela equipe do Laboratório de Produtos Naturais e Espectroscopia de Massas (LAPNEM/ FACFAN/ UFMS), o qual gentilmente nos cederam o material para análises de atividade biológica. Os extratos obtidos foram solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO) estéril (Sigma-Aldrich) na concentração de 25 mg/mL para o uso nos ensaios biológicos *in vitro*.

4.2 Manutenção de *Leishmania amazonensis*

Foram utilizadas para os experimentos as formas promastigotas da *Leishmania (Leishmania) amazonensis* cepa PH8 (IFLA/BR/1967/PH8). Essas formas do parasito foram cultivadas em repiques realizados semanalmente em estufa a 26°C em meio de cultura Schneider (SigmaAldrich/EUA), contendo soro bovino fetal a 20% (Cultilab/ Brasil), 10 UI/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina (Sigma-Aldrich/EUA) em garrafas de cultura de 25cm² (Kasvi/Brasil). Além disso, foram utilizadas promastigotas de *L. amazonensis* em fase logarítmica de crescimento para os experimentos de viabilidade.

4.3 Atividade antipromastigota

As formas promastigotas de *L. (L.) amazonensis* cepa PH8 (IFLA/BR/67/PH8) em fase logarítmica de crescimento em meio Schneider devidamente suplementado foram distribuídas em placas de 96 poços, contendo os extratos dos frutos secos nas concentrações de 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25 e 15,625 µg/mL que foram testadas. As placas foram incubadas durante 48 horas a 26°C, depois, foram adicionados 5 µL de solução de resazurina 0,2 mg/mL (Sigma Aldrich/EUA) em cada poço e, depois as placas foram incubadas por mais 4 horas a 26°C. Controles de poços com DMSO 2,5% (v/v) e anfotericina B (Sigma-Aldrich/EUA; 1,25, 2,5, 5 e 10 µM) também foram feitos, servindo como composto de referência. Após 4 horas de incubação a 26°C, foi feita a leitura da absorbância dos poços por espectrofotometria a 570 e 600 nm (Thermo Multiskan GO – Thermo Scientific) no Laboratório de Purificação de Proteínas e suas Funções Biológicas (LPPFB/FACFAN/UFMS). A

viabilidade das células foi calculada baseando-se na fórmula fornecida no site do fabricante AlamarBlue® (Bio-Rad), no qual, calcula-se a porcentagem de oxidação de cada célula evidenciada pela resazurina e obtida a partir de sua absorbância. A fórmula para o cálculo da viabilidade está evidenciada na Equação 1, a seguir:

$$\text{Equação 1: Diferença de viabilidade (\%)} = \frac{(O2 \times A1) - (O1 \times A2)}{(O2 \times P1) - (O1 \times P2)} \times 100$$

No qual, o O1 corresponde ao coeficiente de extinção molar (ϵ) da resazurina oxidada em 570 nm, O2 o ϵ da resazurina oxidada em 600 nm, A1 corresponde a absorbância do poço teste em 570 nm, A2 a absorbância do poço teste em 600 nm, P1 a absorbância do poço controle sem tratamento em 570 nm e P2 a absorbância do poço controle sem tratamento em 600 nm. Os poços controles que tiveram o meio de cultura tiveram sua média considerada em 100% de viabilidade e assim o cálculo de viabilidade foi baseado na leitura dos controles. Os valores de concentração inibitória (CI₅₀) para cada composto foram calculados usando uma curva de regressão dose-resposta não linear gerada por Prisma 5 (GraphPad Software, EUA).

4.4 Ensaio de citotoxicidade

As células de linhagem celular NIH/3T3 (ATCC CRL-1658, linhagem de fibroblastos de camundongo) foram cultivadas em placas de 96 poços (1×10^5 células/mL) em meio 1640 RPMI (Sigma-Aldrich, EUA) e suplementado com SBF (Soro bovino fetal) 10% (Cultilab/Campinas, Brasil), 10 UI/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina (Sigma Aldrich/EUA) e aderidas durante a noite a 37° C e 5% CO₂. O meio foi substituído por RPMI fresco com concentrações dos extratos de 1000 a 15,625 µg/mL e incubado por 48 horas. Células tratadas com anfotericina B (10-1,25 µM) serviram como referência para ação antileishmania da droga. A viabilidade das células foi testada pelo método colorimétrico da resazurina. As absorbâncias foram obtidas a 570 e 600 nm e a viabilidade celular foi calculada utilizando a Equação 1 descrita na seção 4.3. A concentração máxima citotóxica (CC₅₀) de cada composto foi calculada por regressão linear, plotando o log₁₀ de cada concentração de inibidor em relação à atividade percentual com o Prism 5 (GraphPad Software, EUA) e, o índice de seletividade (IS), foi obtido entre a razão de CC₅₀ e IC₅₀ de cada extrato.

4.5 Análise dos resultados

Os experimentos foram realizados em triplicata e calculadas a média e o desvio padrão para cada uma das determinações. As variâncias foram comparadas utilizando o teste de análise de variância (ANOVA), seguido de teste paramétrico “t”, com intervalo de confiança de aproximadamente 95%. Os testes estatísticos foram realizados com auxílio do GraphPad Prism 5.0. Seu nível de significância se estabeleceu em 5%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para avaliar a atividade antileishmania dos diferentes extratos de plantas que dão frutos secos, as amostras dos extratos foram diluídas em meio Schneider devidamente suplementado, com concentrações variando de 15,625 a 1000 µg/mL, e incubadas com formas promastigotas de *L. amazonensis* por 48 horas a 26°C. Após esse período, a viabilidade das células foi avaliada por espectrofotometria pelo método da resazurina, e os resultados estão na Figura 1.

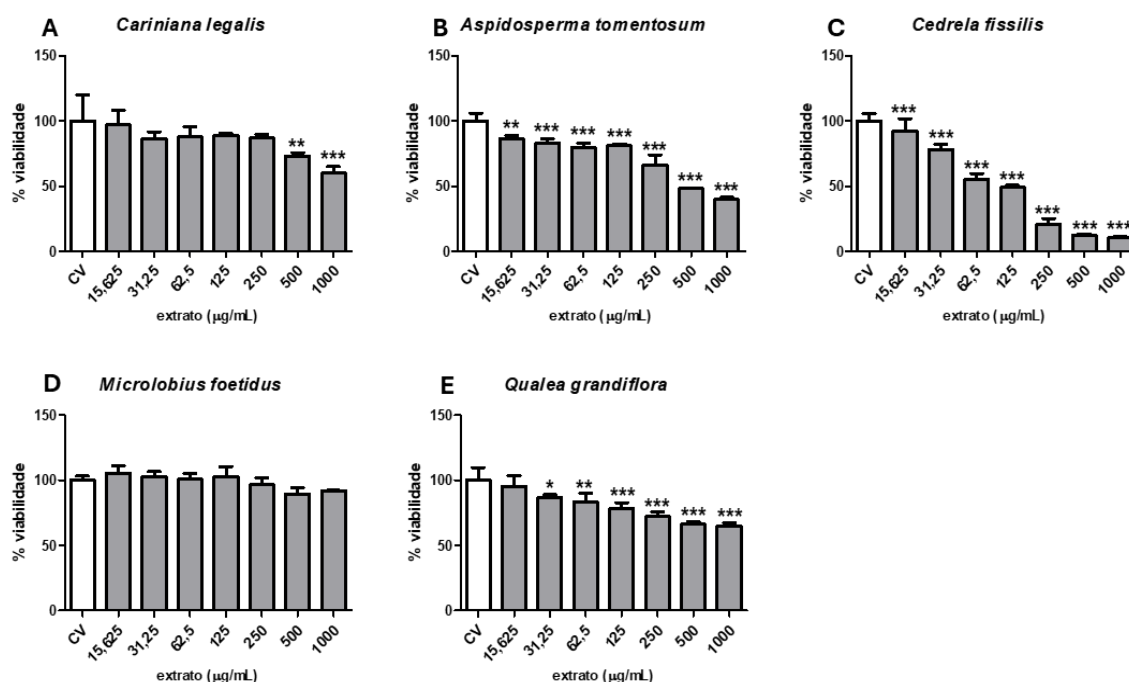


Figura 1: Atividade antileishmania dos extratos de frutos secos. Extratos de diferentes plantas que produzem frutos secos foram incubados com formas promastigotas de *L. amazonensis* por 48 horas, e a viabilidade foi avaliada por espectrofotometria. A – *C. legalis*, B – *A. tomentosum*, C – *C. fissilis*, D – *M. foetidus* e E – *Q. grandiflora*. *, ** e *** significam $p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente (One-way ANOVA seguido de pós-teste de Tukey).

Podemos observar que, com exceção do extrato dos frutos de *M. foetidus*, todos os extratos testados reduziram a viabilidade das formas promastigotas nas concentrações acima de 500 µg/mL em relação ao controle de viabilidade (CV, apenas parasitos com meio de cultura). No entanto, essa redução da viabilidade pareceu ser mais evidente e dose-dependente para as amostras de *A. tomentosum*, *C. fissilis* e *Q. grandiflora*. O extrato de *C. legalis* também reduziu a viabilidade dos parasitos nas condições testadas, porém em menor grau.

Os extratos de frutos secos também foram avaliados quanto à citotoxicidade na linhagem celular NIH/3T3, fibroblastos de camundongo. As células foram incubadas com diferentes concentrações dos extratos (de 15,625 a 1000 µg/mL) em meio RPMI devidamente suplementado por 48 horas a 37°C e 5% de CO₂. Após esse período, a viabilidade das células também foi avaliada pelo método da resazurina, e os resultados estão ilustrados na Figura 2. Podemos observar que todos os extratos apresentaram algum grau de citotoxicidade às células NIH/3T3 nas condições testadas. Os extratos de *A. tomentosum*, *C. legalis* e *M. foetidus* foram citotóxicos apenas nas concentrações maiores (acima de 500 e acima de 250 µg/mL, respectivamente). Já os extratos de *C. fissilis* e *Q. grandiflora* foram citotóxicos a partir de 62,5 e 125 µg/mL, respectivamente.

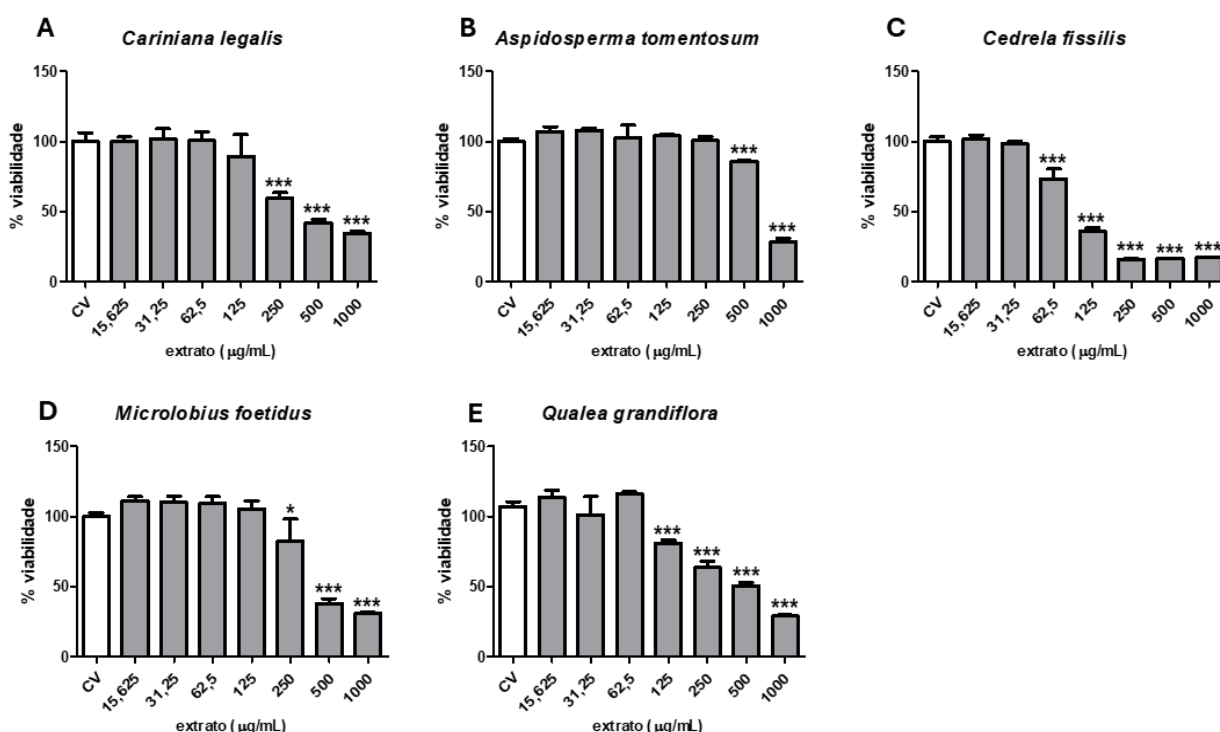


Figura 2: Avaliação da citotoxicidade dos extratos de frutos secos. Extratos de diferentes plantas que produzem frutos secos foram incubados com fibroblastos da linhagem NIH/3T3 por 48 horas, e a viabilidade foi avaliada por espectrofotometria. A – *C. legalis*, B – *A. tomentosum*, C – *C. fissilis*, D – *M. foetidus* e E – *Q. grandiflora*. *, ** e *** significam $p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente (One-way ANOVA seguido de pós-teste de Tukey).

Para uma melhor interpretação dos resultados obtidos de atividade antileishmania e citotoxicidade, foi feita uma regressão não linear dos resultados obtidos para o cálculo das concentrações inibitórias de 50% das células e concentrações citotóxicas de 50% das células (CI₅₀ e CC₅₀, respectivamente). Além disso, o índice de seletividade de cada amostra foi calculado a partir dos resultados obtidos para CI₅₀ e CC₅₀. Todos esses resultados estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1: Resultados de CI₅₀, CC₅₀ e índice de seletividade dos extratos de frutos secos

Amostra	CI ₅₀ promastigotas <i>L. amazonensis</i> (µg/mL)	CC ₅₀ fibroblastos NIH/3T3 (µg/mL)	Índice de seletividade (IS)
<i>C. legalis</i>	> 1000	214,7	< 0,2
<i>A. tomentosum</i>	120,9	803,0	6,6
<i>C. fissilis</i>	67,2	78,7	1,2
<i>M. foetidus</i>	> 1000	288,5	< 0,3
<i>Q. grandiflora</i>	> 1000	257,0	< 0,3
ANFB	0,04	39,31	982,8

CI₅₀: concentração inibitória de 50% nas células promastigotas; CC₅₀: concentração citotóxica em 50% das células NIH/3T3; IS: índice de seletividade, obtido pela razão entre CC₅₀ e CI₅₀; ANFB: anfotericina B (em µM).

Observando os resultados das Figuras 1 e 2 e da Tabela 1, podemos notar que os extratos de *A. tomentosum* e *C. fissilis* reduziram de forma significativa e dose dependente a viabilidade de formas promastigotas de *L. amazonensis* nas condições testadas: tais amostras apresentaram redução da viabilidade do parasito nas maiores concentrações testadas de forma dose-dependente, e as CI₅₀ obtidas foram as menores em relação aos demais extratos testados

Em relação à citotoxicidade das amostras frente às células NIH/3T3, a maioria apresentou CC₅₀ acima de 200 µg/mL, e somente o extrato de *C. fissilis* apresentou CC₅₀ abaixo desse valor, sendo de 78,7 µg/mL. Já o índice de seletividade (IS) de cada extrato foi obtido pela razão da CC₅₀ pela CI₅₀ de cada amostra, e encontra-se na Tabela 1. Quanto maior o IS, maior a seletividade de uma amostra em reduzir a

viabilidade da célula dos parasitos do que das células de mamíferos testadas (Bezerra *et al.*, 2021); Dessa forma, o extrato de *A. tomentosum* foi a amostra que apresentou a maior seletividade (IS de 6,6), seguida por *C. fissilis* (IS de 1,2). As demais amostras, como apresentaram um IC₅₀ estimado acima de 1000 µg/mL, demonstraram baixa seletividade. É interessante observar também os resultados obtidos para a anfotericina B, fármaco de segunda escolha para o tratamento de leishmanioses: apesar de ser bastante tóxica para as células da linhagem NIH/3T3 (CC₅₀ de 39,31 µM), esta é bastante ativa contra o parasito (CI₅₀ de 0,04 µM), o que se reflete num IS de 982,8. Esse resultado pode variar bastante de acordo com as cepas de *Leishmania*, as linhagens celulares e as condições usada em cada experimento (Torres-Guerrero *et al.*, 2017). Apesar de se tratar de um experimento *in vitro*, os efeitos tóxicos da anfotericina B para os pacientes são bem conhecidos (Fermiano *et al.*, 2024).

De certa maneira, o índice de seletividade é um parâmetro fundamental na pesquisa de produtos naturais e substâncias promissoras na criação de medicamentos antiparasitários. Ele assegura que o composto demonstra atividade específica contra o parasita, sem apresentar efeitos citotóxicos ao organismo hospedeiro (Balaña-Fouce *et al.*, 2019; Gomes *et al.*, 2014). Uma alta seletividade é um bom critério para elegibilidades de substâncias efetivas para o tratamento (Balaña-Fouce *et al.*, 2019; Oryan, 2015). Segundo a literatura, um fármaco antileishmania ou um composto natural é seguro quando seu índice de seletividade é maior que 10 (Gervazoni *et al.*, 2020; Oryan, 2015). Se considerarmos os resultados obtidos, todos os extratos analisados apresentaram índices abaixo dessa faixa. No entanto, esses são dados inéditos na literatura para essas espécies e há a possibilidade de fracionamento dos extratos em ensaios futuros de viabilidade, o que possibilita novas perspectivas para a pesquisa de compostos que tenham atividade contra a *Leishmania*.

Outro estudo realizado com extrato do caule de *Aspidosperma tomentosum* obteve significativa atividade antileishmania. Neste estudo, foi realizado o extrato do caule em dois solventes, acetato de etila e metanol, no qual foi observado atividade tanto para a forma promastigota, quanto para amastigota da espécie *L. infantum*. No qual, obtiveram um IS de 104 para a forma promastigota e de 63 para amastigota (Paula *et al.*, 2019). Extratos envolvendo a raiz também apresentaram atividade contra

o os fungos *Candida krusei* e *Cryptococcus neoformans*, além de atividade contra *Plasmodium falciparum*, o protozoário da malária (Dolabela et al., 2012; Albernaz et al., 2010). Em sua casca e caule foram encontrados alcalóides e flavonóides, componentes esses que poderiam explicar suas atividades biológicas (Paula et al., 2019; Oryan, 2015).

Extratos envolvendo diferentes partes de *Cedrela fissilis* demonstraram atividades biológicas contra os protozoários *Plasmodium falciparum* (Nogueira et al., 2020) e *Trypanossoma cruzi* (Vovchuk et al., 2024), além de ação inseticida (Nogueira et al., 2020). Já foram isolados, entre os componentes dessa espécie, ácidos graxos, esteróis, flavonóides e triterpenos, entre eles os limonóides, uma substância muito presente na família Meliaceae, obtida a partir do óleo essencial de *C. fissilis* e que já demonstrou em estudos in vitro uma relativa atividade antileishmania contra a espécie *L. infantum* (Vovchuk et al., 2024; Ngnoung et al., 2024). Além disso, óleos essenciais obtido das folhas de *Qualea grandiflora* Mart. demonstraram atividade antileishmania, especificamente contra a espécie *L. amazonensis*, a mesma espécie deste estudo (Chang et al., 2020).

Um estudo realizado por Leonel, B. (2022), com extratos de frutos secos das cinco plantas utilizadas neste estudo, avaliou suas atividades contra *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, tendo os extratos de *Cedrela fissilis*, *Microlobius foetidus*, *Q. grandiflora* Mart. demonstrado inibição na formação de biofilme da bactéria *S. aureus*. Há diversos relatos na literatura sobre as atividades biológicas desempenhadas por essas espécies e seus metabólitos secundários, no entanto, o fracionamento dos extratos testados e pesquisas com diferentes cepas do parasita, podem servir como base para novas perspectivas no tratamento da leishmaniose.

6. CONCLUSÃO

No geral, entre os cinco extratos avaliados, apenas dois deles foram considerados ativos contra as formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*. As espécies *Aspidosperma tomentosum* e *Cedrela fissilis* apresentaram resultados promissores contra promastigotas, tendo seus extratos demonstrado maior seletividade, dentre todos extratos testados. Esse resultado de atividade biológica é inédito para essas espécies. No entanto, experimentos adicionais podem ser

realizados com outras cepas de *Leishmania* e demais fracionamentos dos extratos, para se obter uma maior elucidação da atividade biológica dessas espécies.

7. REFERÊNCIAS

ALBERNAZ, L. C. et al. **Investigation of plant extracts in traditional medicine of the Brazilian Cerrado against protozoans and yeasts.** v. 131, n. 1, p. 116–121, 1 ago. 2010.

ALENCAR, B. F. F.; FIGUEIREDO, I. A. **Perfil epidemiológico dos casos de Leishmaniose Tegumentar Americana no estado do Maranhão no período de 2015 a 2017.** Rev. Investig, Bioméd. São Luís, 10(3): 243-250, 2018.

ALMEIDA, S. E. DA S. et al. **Aspectos fenológicos reprodutivos de *Qualea grandiflora* Mart. em Cerrado.** Ciência Florestal, v. 31, n. 2, p. 920–934, 1 jun. 2021.

AMBROZIN, A. R. P. et al. **Screening of Leishmania APRT enzyme inhibitors.** Die Pharmazie - An International Journal of Pharmaceutical Sciences, Volume 60, Number 10, 1 October 2005, pp. 781-784(4).

AMBROZIN, A. R. P. et al. **Limonoids from andiroba oil and *Cedrela fissilis* and their insecticidal activity.** Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 17, n. 3, jun. 2006.

ANDRADE, B. B. et al. **Métodos Diagnósticos da Leishmaniose Tegumentar: Fatos, Falácias e Perspectivas.** Gaz. méd. Bahia 2005;75:1(Jan-Jun):75-82. Disponível em: <<https://gmbahia.ufba.br/index.php/gmbahia/article/viewFile/353/342>>.

AQUINO, A. B. et al. **The Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae).** The Scientific World Journal, v. 2013, p. e218627, 28 maio 2013.

ATASANOV, A. G. **Natural products in drug discovery: advances and opportunities.** Nature. v. 20, p. 200-216, 2021.

AZEVEDO, R. C. DE F.; MARCILI, A. **Alterações cutâneas secundárias à infecção por *leishmania sp.*: revisão de literatura.** Brazilian Journal of Development, v. 6, n. 4, p. 19328–19346, 2020.

BARROS, A. M. C. et al. **Potencial dos análogos do dilapiol para uso em Doenças Negligenciadas, com ênfase para Leishmaniose Cutânea: revisão literária.** Brazilian Journal of Development – Curitiba, 2021. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1137725/1/33287-85038-1-PB.pdf>>.

BALANÍA-FOUCE, R. et al. **Walking a tightrope: drug discovery in visceral leishmaniasis.** Drug Discovery Today, v. 24, n. 5, p. 1209–1216, 1 maio 2019.

BEZERRA, É. A. et al. **Biflavones from *Platonia insignis* Mart. Flowers Promote In Vitro Antileishmanial and Immunomodulatory Effects against Internalized Amastigote Forms of *Leishmania amazonensis*.** Pathogens, v. 10, n. 9, p. 1166, 10 set. 2021.

BONIFACE, P. K.; FERREIRA, E. I. **Flavonoids as efficient scaffolds: Recent trends for malaria, leishmaniasis, Chagas disease, and dengue.**

Phytotherapy Research, v. 33, n. 10, p. 2473–2517, 2019

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar**. 2ª ed., Brasília-DF: Ministério da Saúde, 189 p., 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância em Saúde**: volume 3. 1. ed., atual. 2017. Disponível em: http://www.hc.ufu.br/sites/default/files/tmp/volume_3_guia_de_vigilancia_em_saude_2017.pdf.

BURZA, S.; CROFT, S.; L.; BOELAERT, M. **Leishmaniasis**. The Lancet, v. 392, n. 10151, p. 951-970, set., 2018. Disponível em: <https://www.thelancet.com/action/showPdf?pii=S0140-6736%2818%2931204-2>

CASTRO, L. S. et al. **Leishmania infantum AS A CAUSATIVE AGENT OF CUTANEOUS LEISHMANIASIS IN THE STATE OF MATO GROSSO DO SUL, BRAZIL**. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, v. 58, n. 0, 1 jan. 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rimtsp/a/SXHcCjqjW4Vk5xjBLG487jx/>.

CARNEVALE NETO, F. et al. **Dereplication of Phenolic Derivatives of *Qualea grandiflora* and *Qualea cordata* (Vochysiaceae) using Liquid Chromatography coupled with ESI-QToF-MS/MS**. Journal of the Brazilian Chemical Society, 2013.

CAPELA, R.; MOREIRA, R.; LOPES, F. **An Overview of Drug Resistance in Protozoal Diseases**. National Library of Medicine, v.20(22); 2019 Nov. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6888673/>.

CERUTTI, P. H. P. et al. **Métodos diagnósticos da leishmaniose tegumentar americana: uma revisão de literatura**. Revista de Patologia do Tocantins, v. 4, n. 4, p. 55, 28 nov. 2017. Disponível em: <https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/patologia/article/view/4037/11975>.

CHANG, R. et. al. **Composition of the essential oil of leaves *Qualea grandiflora* and *Qualea multiflora* Mart. and antileishmanial activities**. Revista Pesquisas Agrárias e Ambientais, v3, c.2, p. 18-28, 2020.

CNC FLORA. ***Aspidosperma tomentosum* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2** Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em [http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Aspidosperma tomentosum](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Aspidosperma_tomentosum).

CNC FLORA. ***Cariniana legalis* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2** Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em [http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Cariniana legalis](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Cariniana_legalis)

CNC FLORA. ***Cedrela fissilis* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2** Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em [http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Cedrela fissilis](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Cedrela_fissilis).

CORDEIRA, T. M. et. al. **Brazilian cerrado *Qualea grandiflora* Mart. leaves exhibit antiplasmodial and trypanocidal activities In vitro**. Pharmacognosy Magazine, v. 13, n. 52, p. 668–668, 1 jan. 2017.

DA SILVA, C. B. et al. **Sensitivity of *Brachiaria decumbens* and *Ipomoea***

cordifolia to cyclic polysulfides from leaves of *Microlobius foetidus*.

International Allelopathy Foundation. Allelopathy Journal 33 (2): 213-226, 2014.

DIAS, E. M. F. A. **Associação de produtos naturais e anfotericina b para o tratamento da leishmaniose visceral.** Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, 2018.

DOLABELA, M. F. et al. **In vitro antimalarial activity of six *Aspidosperma* species from the state of Minas Gerais (Brazil).** An Acad Bras Cienc, v. 84, n. 4, 2012.

FARIAS, F. J. S. **Epidemiological of American tegumentary Leishmaniasis in The State of Maranhão in recent years.** Revista Multidisciplinar em Saúde, v2. nº 3, 2021. Disponível em:

<<https://editoraime.com.br/revistas/index.php/remis/article/view/1395/307>>.

FIGUEIREDO, A. S. et al. **Protease inhibitor activity of plant natural products as leishmanicidal agents.** Brazilian Journal of Development, Curitiba, v.8, n.4, p.23608-23632, apr., 2022. Disponível em:

<<https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/46033/pdf>>

FIGUEREDO, Á. S. et al. **FUNGOS ASSOCIADOS ÀS SEMENTES DE PAU-ALHO (*Microlobius foetidus* subsp. *paraguensis*).** Bol. Pesq. FI, v. 42, 2001.

FILHO, R. A. S. et al. **Tratamento das lesões causadas pela leishmaniose tegumentar.** Revista Liberum accessum. 2020 Jul; 3(1): 29-36.

FERMIANO, M. H. et al. **Selenium-Containing (Hetero)Aryl Hybrids as Potential Antileishmanial Drug Candidates: In Vitro Screening against *L. amazonensis*.** Biomedicines, v. 12, n. 1, p. 213–213, 17 jan. 2024.

FRANCO, A. M. R. et al. **A Leishmaniose tem aumentado exponencialmente a cada ano, devido ao crescimento das cidades e da população, gerando uma grande mudança na distribuição geográfica no Brasil.** Brazilian Journal of Development, t, Curitiba, v.7, n.8, p.77011-77026 aug. 2021. Disponível em: <file:///C:/Users/MATTEUS%20VITTORIO/Downloads/33912-86636-1-PB%20(1).pdf>.

FREITAS, R. C. F.; MARCILI, A. **Alterações cutâneas secundárias à infecção por *Leishmania* sp.: revisão de literatura.** Brazilian Journal of Development. 2021.

FREZARD, F.; DEMICHELI, C.; RIBEIRO, R. R. **Pentavalent antimonials: new perspectives for old drugs.** Molecules. v. 14(7) p.:2317-36, 2009 Jun 30, 2009. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19633606/>>.

GASPI, F. O. G. et al. **Pharmacological activities investigation of crude extracts and fractions from *Qualea grandiflora* Mart.** Journal of Ethnopharmacology

Volume 107, Issue 1, 11 August 2006, Pages 19-24.

GERVAZONI, L. F. O. et al. **Use of Natural Products in Leishmaniasis Chemotherapy: An Overview.** Frontiers in Chemistry, v. 8, 23 nov. 2020.

GOMES, C. M. et al. **Complementary exams in the diagnosis of american tegumentary leishmaniasis.** Anais Brasileiros de Dermatologia, v. 89, n. 5, p. 701–709, set. 2014. Disponível em <<https://www-scielo->

br.translate.google/j/abd/a/syfiBxBtk7M76QBwPWY7Zvf/?lang=en&_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=pt&_x_tr_hl=pt-BR&_x_tr_pto=sc>.

GOMES, P. R. et al. **Synthesis and evaluation of antimalarial activity of curcumin derivatives**. Química Nova, v. 37, n. 3, 2014. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/qn/a/kHcwT356Q3MFQKCRf8c3WRr/?lang=pt&format=pdf>>.

GOTO, H.; LINDOSO, J. A. L. **Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis**. Expert Review of Anti-infective Therapy, v. 8, n. 4, p. 419–433, jan. 2014. Disponível em <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20377337/>>.

GOVERNO DE SANTA CATARINA. **Guia de Orientação: Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. ed. 7, p. 1-79. 2021 Disponível em: <[https://www.dive.sc.gov.br/phocadownload/doencas-agrivos/Leishmaniose%20Tegumentar%20Americana%20\(LTA\)/Publica%C3%A7%C3%B5es/7%20-%20Guia%20de%20Orienta%C3%A7%C3%A3o%20-%20Vigil%C3%A2ncia%20da%20Leishmaniose%20Tegumentar%20Americana.pdf](https://www.dive.sc.gov.br/phocadownload/doencas-agrivos/Leishmaniose%20Tegumentar%20Americana%20(LTA)/Publica%C3%A7%C3%B5es/7%20-%20Guia%20de%20Orienta%C3%A7%C3%A3o%20-%20Vigil%C3%A2ncia%20da%20Leishmaniose%20Tegumentar%20Americana.pdf)>

HELLMANN, M. A.; MARCHESAN, E. D.; VELASQUEZ, L. G. **Leishmaniose e plantas medicinais: uma revisão**. Arq. Cienc. Saúde UNIPAR, Umuarama, v. 22, n. 3, p. 217-231, set./dez. 2018.

HENDRICKX, S., CALJON, G., & MAES, L. **Need for sustainable approaches in antileishmanial drug Discovery**. Parasitology Research. 2019.

HEPBURN, N. C. et al. **Hepatotoxicity of sodium stibogluconate therapy for American cutaneous leishmaniasis**. Trans R Soc Trop Med Hyg, v. 88, p. 453-5, Jul-Aug, 1994. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7570843/>>.

HOLANDA, V. N. et al. **Desafios e Perspectivas no Tratamento da Leishmaniose Tegumentar: Revisão de Literatura**. Revista Interfaces: saúde, humanas e tecnologia, v. 6, n. 17, p. 140-157, 2018.

KATO, K. C. et al. **Hepatotoxicity of Pentavalent Antimonial Drug: Possible Role of Residual Sb(III) and Protective Effect of Ascorbic Acid**. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. v.58, p.481. 2014.

KOPEL, G. M. **Resposta Imunológica e Leishmania amazonensis: uma revisão de literatura**. 2022. TCC (graduação em Farmácia) – Universidade Federal de São Paulo, Campus Diadema, 2022.

KULSHRESTHA, A. et al. **Validation of a simple resazurin-based promastigote assay for the routine monitoring of miltefosine susceptibility in clinical isolates of *Leishmania donovani***. Parasitol Res. v. 112., p. 825–828. 2012.

JANOVÍK, V. **Avaliação química e atividade antioxidante das cascas e triterpenóides obtidos de *Cariniana Domestica* (Mart) Miers**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Santa Maria. 2011.

LEITE, A. C. et al. **Trypanocidal Activity of Limonoids and Triterpenes from *Cedrela fissilis***. v. 74, n. 15, p. 1795–1799, 7 nov. 2008.

LEONARDO, D. et al. **Morphological and Physiological Responses of**

Cedrela Fissilis Vellozo (Meliaceae) Seedlings to Light. Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 49, n. 1, p. 171–182, 2006.

LEONEL, B.O. **Frutos secos do Cerrado como fontes de substâncias ativas contra bactérias e biofilmes.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. Campo Grande, p. 68. 2022. Resumo disponível em: <https://repositorio.ufms.br/handle/123456789/4635>

LIMA, D. S. **O uso de compostos naturais de origem vegetal no tratamento da leishmaniose tegumentar : uma análise bibliográfica.** 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2021.

LIMA, J. R. **Estudo prospectivo de pacientes com leishmaniose tegumentar Americana em Manaus (AM): fatores imunológicos envolvidos no curso terapêutico com antimonaila pentavalente.** 2017. 113-119 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Biologia Parasitária, 2017.

LOPEZ, L. F. B. et al. **EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE VISCERAL NO MUNICÍPIO DE TRÊS LAGOAS - MATO GROSSO DO SUL, UMA NOVA REGIÃO ENDÊMICA NO BRASIL.** The Brazilian Journal of Infectious Diseases, v. 25, 1 jan. 2021. Disponível em: <<https://www.bjid.org.br/en-epidemiologia-da-leishmaniose-visceral-no-articulo-S1413867020303408>>.

MAGALHÃES, SANDRA C. M.; MOURA, R. VIVIANE K. **A expansão da Leishmaniose Tegumentar Americana no município de Montes Claros Minas Gerais.** Hygeia Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde, v. 11, n. 21, p. 80 92, 28 dez. 2015.

MANN, S. et al. **A Review of Leishmaniasis: Current Knowledge and Future Directions.** Current Tropical Medicine Reports, v. 8, n. 2, p. 121–132, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31441148/>

MENDES, A. P. O. et al. **American tegumentary leishmaniasis diagnosis using *L. (V.) braziliensis* fixed promastigotes: a comparative performance of serological tests and spontaneous cure identification.** BMC Infectious Diseases, v. 19, n. 1, 29 nov. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31783798/>>.

MINISTÉRIO DA SAÚDE: DATASUS. **Leishmaniose Tegumentar Americana Casos confirmados notificados no sistema de informação de agravos de notificação Brasil 2024.** DATASUS. Disponível em <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinanet/cnv/ltabr.def>>.

MINISTÉRIO DA SAÚDE: DATASUS. **Leishmaniose Tegumentar Americana Casos confirmados notificados no sistema de informação de agravos de notificação Mato Grosso do Sul, 2007-2022.** DATASUS. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinanet/cnv/ltabr.def>>

NGNOUNG, G. A. A. et al. **Antiplasmodial and Antileishmanial Activities of a New Limonoid and Other Constituents from the Stem Bark of *Khaya senegalensis*.** Molecules/Molecules online/Molecules annual, v. 28, n. 20, p. 7227–7227, 2024.

NOGUEIRA, T. S. R. et al. **Chemical Compounds and Biologic Activities: A Review of Cedrela Genus**. *Molecules*, v. 25, n. 22, p. 5401–5401, 18 nov. 2020.

NORO, V. R. et al. **Análise Espacial dos casos de Humanos de Leishmaniose Visceral no Estado do Mato grosso do Sul: estudo retrospectivo**. *Revista de Saúde Pública de Mato Grosso do Sul* – v. 6, n.1-2, p. 49-57, 2016. Disponível em : <
<https://docs.bvsalud.org/biblioref/2021/05/1222345/artigo-7-analise-espacial-dos-casos.pdf>>.

OLIVEIRA, A. K. M. **Germinação de sementes de *Aspidosperma tomentosum* Mart. (Apocynaceae) em diferentes temperaturas**. *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v. 9, n. 3, p. 392-397, jul./set. 2011.

OLIVEIRA, A. M. A. **Avaliação da Atividade Anti-Leishmania de Extratos de Espécies de Plantas nativas do Mato Grosso do Sul**. 2021. Dissertação (Mestrado em em Biotecnologia) - Universidade Federal da Mato Grosso do Sul. Programa de Pósgraduação em Biotecnologia, 2021.

OLIVEIRA, LARA.C. **Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral humana no Brasil e estados e cidades gêmeas do país, com enfoque no estado e na cidade gêmea com maior número de casos**. (55 f.). Dissertação (Mestrado em Saúde Pública em Região de Fronteira) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Orientadora: Profa. Dra. Neide Martins Moreira. Foz do Iguaçu, 2021.

OLIVEIRA, L. B. **Avaliação de Fármacos para o Tratamento da Leishmaniose Cutânea causada por *L. braziliensis***. 2021. 65 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) - Universidade Federal da Bahia. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Gonçalo Moniz, Salvador, 2021.

OLIVEIRA, T. F. **Análise Espaço-Temporal da Leishmaniose Visceral o Estado de Mato Grosso do Sul**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Mato grosso do Sul, Programa de Pós-Graduação em Saúde e desenvolvimento na Região Centro-Oeste. 2017.

OLIVEIRA, V. A. F. **Atividade Leishmanicida de Extratos e Óleos Essenciais de Plantas de Plantas Medicinais do Cerrado Brasileiro: Uma Revisão Sistemática**. 2021. 38 f. TCC (graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Barra dos Graças, 2021.

ORYAN, A. **Plant-derived compounds in treatment of Leishmaniasis**. *Iranian Journal of Veterinary Research*. v. 16, p. 1-19, 2015.

OVALLOS, F. G. et al. **Leishmaniose no Brasil: Aspectos Epidemiológicos, Desafios e Perspectivas**. *Streptu Sensu*, c. 13., p. 227- 255, 2020. Disponível em:
<https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5699259/mod_resource/content/1/Atualidades-em-Medicina-Tropical-no-Brasil-ProtozoariosCapitulo13Leishmanioses.pdf>

Pan American Health Organization. **Leishmaniasis: Epidemiological Report in the Americas**. Washington, D.C.: PAHO; 2019. Disponível em:
<https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51734/leishreport8_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

PAULA, R. C. et al. **In vitro antileishmanial activity of leaf and stem extracts of seven Brazilian plant species**. Journal of Ethnopharmacology, v. 232, p. 155–164, mar. 2019.

PEREIRA, B. A. S. ***Aspidosperma tomentosum* Mart.** Árvores do Bioma Cerrado, 2017. Disponível em:
<<https://www.arvoresdobiomacerrado.com.br/site/2017/04/17/aspidosperma-tomentosum-mart/>>

PEREIRA, B. A. S. ***Qualea grandiflora* Mart.** Árvores do Bioma Cerrado, 2017. Disponível em:
<<https://www.arvoresdobiomacerrado.com.br/site/2017/10/02/qualea-grandiflora-mart/>>.

ROLÓN, M. et al. **Development of resazurin microtiter assay for drug sensibility testing of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes**. Parasitol Res. v. 99., p. 103–107, 2006

SANTIAGO, A. S.; PITA, S. S. DA R.; GUIMARÃES, E. T. **Tratamento da leishmaniose, limitações da terapêutica atual e a necessidade de novas alternativas: Uma revisão narrativa**. Research, Society and Development, v. 10, n. 7, p. e29510716543–e29510716543, 22 jun. 2021.

SCOTTI, M. T. et al. **Natural Products as a Source for Antileishmanial and Antitrypanosomal Agents**. Combinatorial chemistry & high throughput screening, v. 19, n. 7, p. 537–53, 2016.

SILVA, C. B. **Effects of volatile oils of the *Microlobius foetidus* on trypsin, chymotrypsin and acetylcholinesterase activities in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)**. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 8(5), pp. 148-156, 8 February, 2014.

SILVA, G. et al. **Effects of *Qualea grandiflora* Extract on the Expression of MMP-14 and HIF-1 α in Cultured Fibroblasts and Preosteoblasts**. Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 64, 1 jan. 2021.

SILVA, N. F. L. et al. **The Enhanced Activity of a Plant Mixture from the Brazilian Caatinga Biome against Venereal Trichomonads Confirms the Traditional Use**. Venereology, v. 3, n. 1, p. 15–25, 6 jan. 2024

SOUZA, J. H. **Avaliação da ação tripanocida e leishmmanicida de extratos de *Eugenia pyriformis***. 54. f. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas, Programa de Pós- Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2019.

TIWARI, N. et al. **Limitations of Current Therapeutic Options, Possible Drug Targets and Scope of Natural Products in Control of Leishmaniasis**. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, Vol. 17, No. 0, , 2018. Disponível em:
<https://www.researchgate.net/profile/Mallikarjuna-Gedda-2/publication/316478480_Limitations_of_Current_Therapeutic_Options_Possible_Drug_Targets_and_Scope_of_Natural_Products_in_Control_of_Leishmaniasis/links/59706bc2aca27244e3590182/Limitations-of-Current-Therapeutic-Options-Possible-Drug-Targets-and-Scope-of-Natural-Products-in-Control-of-Leishmaniasis.pdf>.

TORRES-GUERRERO, E. et al. **Leishmaniasis: a review**. F1000Research, v. 6, n. 1, p. 750, 26 maio 2017.

UZUN, S. et al. **Clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of cutaneous leishmaniasis in Turkey.** International Journal of Dermatology, v. 57, n. 8, p. 973–982, 2018.

VASCONCELOS, J. M. et al. **Leishmaniose tegumentar americana: perfil epidemiológico, diagnóstico e tratamento.** RBAC, v. 50 p. (3):221-7, 2018. Disponível em <<http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2019/01/RBAC-vol-50-3-2018-ref-722-final.pdf>>.

VIEIRA, T. D. **Antimicrobial Activity of *Cariniana legalis* (Lecythidaceae) Seedlings Subjected to Different Light Intensities.** Revista Brasileira de Plantas Medicinais. P, 86-90, 2022.

VOVCHUK, C. S. et al. **Promising Antifungal Activity of *Cedrela fissilis* Wood Extractives as Natural Biocides against *Xylophagous Fungi* for Wood Artwork of Cultural Heritage.** Coatings, v. 14, n. 2, p. 237–237, 18 fev. 2024.

World Health Organization: WHO. **Control of Leishmaniasis** [Internet]. Who.int. World Health Organization: WHO; 2010. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44412/WHO_TRS_949_eng.pdf;jsessionid=620863AE5489E31360A6EC442A34502F?sequence=1>.

World Health Organization: WHO. **Leishmaniasis** [Internet]. Who.int. World Health Organization: WHO; 2022. Disponível em: <<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>>.