POTENCIALIDADE DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA MYRTACEAE COMO FONTE PARA OBTENÇÃO DE NOVOS CANDIDATOS A FÁRMACOS PARA O TRATAMENTO DE LEISHMANIOSES

Carla Kauffmann¹, Eduardo Miranda Ethur²

Resumo: Leishmanioses são doenças infecciosas causadas por leishmanias e transmitidas por vetores, classificadas como uma doença tropical negligenciada, as quais afetam principalmente populações pobres em países em desenvolvimento. O tratamento das leishmanioses é deficitário em eficácia e segurança, não há vacinas disponíveis e ocorre dificuldade no controle de vetores, o que impulsiona a busca por novas alternativas terapêuticas, entre as quais, plantas. Assim, este artigo apresenta a problemática das leishmanioses e estudos sobre atividade leishmanicida realizados com espécies pertencentes à família Myrtaceae.

Palavras-chave: Doenças tropicais negligenciadas. Leishmanioses. Myrtaceae. Plantas Medicinais.

POTENTIALITY OF SPECIES OF THE FAMILY MYRTACEAE AS SOURCE FOR OBTAINING NEW CANDIDATES FOR DRUGS FOR THE TREATMENT OF LEISHMANIASIS

Abstract: Leishmaniasis are infectious diseases caused by leishmania and transmitted by vectors, classified as a neglected tropical disease, which mainly affect poor people in developing countries. Treatment of leishmaniasis is deficient on efficacy and safety, there is no vaccine available and the control of vectors is difficult, which drives the search for new therapeutic alternatives, including plants. Thus, this article presents the problem of leishmaniasis and antileishmanial activity studies performed with species belonging to the Myrtaceae family.

Keywords: Leishmaniasis. Medicinal plants. Myrtaceae. Neglected tropical diseases.

1 Mestre em Ciências Farmacêuticas. Professora do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde do Centro Universitário UNIVATES. E-mail: carlakauffmann@univates.br

2 Doutor em Química. Professor do Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Desenvolvimento (PPGAD) e do Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas do Centro Universitário UNIVATES. E-mail: eduardome@univates.br

1 INTRODUÇÃO

Doenças tropicais negligenciadas (DTNs), segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), designa um grupo de enfermidades, normalmente transmissíveis, que ocorrem principalmente em regiões tropicais ou subtropicais, atingindo 149 países e que afetam populações vivendo em situação de pobreza e sem condições sanitárias adequadas. São consideradas DTNs pela OMS: dengue e Chikungunya, raiva, tracoma, úlcera de Buruli (infecção por *Mycobacterium ulcerans*), treponematoses endêmicas, hanseníase, doença de Chagas (tripanossomíase americana), doença do sono (tripanossomíase africana), leishmaniose, teníase/cisticercose, dracunculíase (infecção pelo verme da guiné), equinococose, infecções por trematódeos causadas por alimentos, filariose linfática, oncocercose (cegueira dos rios), esquistossomose, helmintíases transmitidas pelo solo e micetoma (WHO, 2016).

As DTNs acometem geralmente moradores de áreas rurais, periferias urbanas ou zonas periurbanas, sendo a população que vive com menos de dois dólares por dia, aproximadamente 2,7 bilhões de indivíduos, o alvo principal dessas doenças. Aproximadamente um sexto da população mundial, ou seja, mais de um bilhão de pessoas encontram-se infectadas com uma ou mais DTNs. O impacto das DTNs pode ser vislumbrado pelo número de óbitos, estas são a causa de 150 mil a 500 mil mortes por ano (BRASIL, 2010; GARCIA et al., 2011).

Além de acometer geralmente a parcela menos favorecida economicamente da população, as DTNs contribuem para manutenção do quadro de pobreza, uma vez que influenciam negativamente o crescimento infantil, o desenvolvimento intelectual e a produtividade do trabalho, constituindo um obstáculo ao desenvolvimento socioeconômico dos países (GARCIA et al., 2011; DIAS et al., 2013b). Cabe ressaltar que as condições de moradia, como construções e entorno precários, assim como condições de higiene inadequadas, são fatores que podem favorecer a vulnerabilidade a DTNs como doença de Chagas, leishmaniose, hanseníase, tuberculose e parasitoses intestinais. Assim, as DTNs além de prevalecerem em populações de baixa renda, contribuem para manutenção das desigualdades sociais e pobreza, pois suas morbidades prejudicam o indivíduo, dificultando o acesso a melhor qualidade de vida (BOECHAT; MAGALHÃES, 2012).

As DTNs caracterizam-se também por compartilharem a inexistência de alternativas terapêuticas para prevenção ou cura das patologias, com eficácia e segurança adequadas, demonstrando tanto a precariedade de investimentos em pesquisa e desenvolvimento (P&D) de fármacos e vacinas para estas, quanto o insucesso em pesquisas ou falta de acesso ao tratamento. Ainda, outra problemática enfrentada no caso das DTNs é a emergência de cepas resistentes às opções farmacológicas existentes. Desta forma, a solução para as DTNs é complexa, além da melhoria das condições de vida da população, há necessidade de investimentos sólidos em P&D, bem como, possibilitar o acesso à terapia preventiva ou curativa de todas as populações, inclusive

e principalmente em países em desenvolvimento (GARCIA et al., 2011; BOECHAT; MAGALHÃES, 2012; DIAS et al., 2013b).

Entre as DTNs, as leishmanioses denotam atenção, estima-se que existam 310 milhões de pessoas em risco de contrair alguma forma da doença no mundo, o que pode estar relacionado à inexistência de vacinas, dificuldade no controle de vetores e aumento de resistência à quimioterapia (WHO, 2015; GILLESPIE et al., 2016). Diferentes espécies de *Leishmania*, protozoários intracelulares no homem, em animais domésticos e silvestres, são causadoras de leishmanioses. No Brasil, *Leishmania donovani* é a responsável pela leishmaniose visceral (LV) ou calazar, enquanto *L. tropica*, *L. braziliensis*, *L. amazonensis* provocam ulcerações cutâneas e em mucosas. A transmissão das leishmanias ao homem ocorre através de flebotomíneos, os quais se infectam a partir de animais domésticos e silvestres, que desempenham o papel de reservatórios no ciclo do parasita (CAMARGO, 2008).

O emprego de plantas na terapêutica é uma prática antiga e comum, tendo sido alternativa prioritária até o advento da indústria farmacêutica. No início do século XIX, estas serviram como fonte de matéria-prima para a produção de medicamentos. Atualmente, as plantas continuam apresentando papel de destaque na terapêutica farmacológica, uma vez que 50% de todos os novos fármacos em alguma fase de seu desenvolvimento envolveram o emprego de plantas (HOSTETTMANN et al., 2008). A OMS preconiza o uso de plantas como recurso terapêutico, além disso, o Brasil é reconhecido por sua biodiversidade (BRASIL, 2009). Desta forma, a busca por novos agentes terapêuticos a partir de plantas torna-se uma alternativa atrativa em nosso país, observando-se interesse considerável na investigação de extratos vegetais como fontes potenciais de fármacos para o tratamento de leishmanioses (LUIZE et al., 2005; CECHINEL FILHO et al., 2013; RODRIGUES et al., 2013; COSTA et al., 2014).

A família Myrtaceae é uma das principais famílias da flora brasileira, sendo que aproximadamente 1000 espécies são encontradas distribuídas entre diferentes biomas, destacando-se a Floresta Atlântica, a Restinga e o Cerrado. A importância econômica da família verifica-se no uso de espécies na indústria de especiarias (*Syzygium aromaticum*), na indústria madeireira e para produção de papel (*Eucalyptus* spp.), indústria farmacêutica e cosmética (*Pimenta racemosa*, *Melaleuca* spp., *Callistemon* e *Leptospermum*). A família também é fonte de frutos comestíveis, como goiaba (*Psidium guajava*), jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), pitanga (*Eugenia uniflora*), guabiroba (*Campomanesia* spp.) e araçá (*Psidium cattleianum*) (GOVAERTS et al., 2008; SOUZA; LORENZI, 2012).

Espécies pertencentes à família Myrtaceae são empregadas popularmente com diferentes finalidades, por exemplo, folhas e cascas de *Myrciaria cauliflora* (jabuticabeira) são usadas no tratamento de diarreia, asma e inflamações de garganta (BOSCOLO; VALLE, 2008), folhas de *Myrciaria dubia* são empregadas no tratamento de malária (RUIZ et al., 2011), folhas de *Eugenia uniflora* (pitangueira) são utilizadas por suas propriedades antidiarreica, estimulante, antipirética e antirreumática (SIMÕES et

al., 1989). Além do uso popular, estudos têm demonstrado o potencial biológico de espécies da família, o qual é evidenciado por vários estudos publicados sobre a atividade antimicrobiana destas (DINIZ et al., 2010; MAGINA et al. 2012; MISHRA; PADHY 2013; CHAVASCO et al., 2014; FERREIRA et al., 2014; SOUSA et al., 2015).

Considerando o exposto, este artigo apresenta a problemática da leishmaniose como doença negligenciada, a ampliação do território acometido por esta devido a mudanças socioeconômicas e ambientais, bem como a necessidade de busca de novas alternativas terapêuticas para o tratamento dessa infecção. Ainda, apresenta estudos realizados com espécies pertencentes à família Myrtaceae e seu potencial como fonte para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento de leishmanioses.

2 LEISHMANIOSES

As leishmanioses são provocadas por protozoários unicelulares, heteróxeos, pertencentes à família Trypanosomatidae, gênero *Leishmania*. As leishmanias são encontradas na forma promastigota (flagelado) no trato digestivo de hospedeiros invertebrados (flebotomíneos) e na forma amastigota (semiflagelada livre) como parasito intracelular obrigatório do sistema fagocítico mononuclear de hospedeiros vertebrados (homem, animais domésticos ou silvestres) (REY, 2002; CAMARGO, 2008). As leishmanioses são classificadas como zoonoses, contudo quando acometem humanos, passam a ser consideradas antroponoses (BRASIL, 2014).

O hospedeiro invertebrado constitui-se em insetos, chamados de flebotomíneos, os quais pertencem à família Psychodidae, gênero *Lutzomyia*. No Brasil, as espécies de flebotomíneos mais frequentemente relacionadas à transmissão de leishmanioses são *Lutzomyia flaviscutellata*, *Lutzomyia whitmani*, *Lutzomyia umbratilis*, *Lutzomyia intermedia*, *Lutzomyia wellcome*, *Lutzomyia migonei*, *Lutzomyia reducta* e *Lutzomyia olmeca nociva*. Popularmente, estes flebotomíneos são denominados de mosquito palha, tatuquira ou birigui. Estes se infectam ao fazer o repasto sanguíneo em mamífero infectado (humano ou animal) com formas amastigotas presentes no sangue ou linfa intersticial. No aparelho digestório do inseto ocorre a transformação e multiplicação do parasito na forma promastigota, sendo que as formas metacíclicas se concentram na porção anterior do aparelho bucal do hospedeiro, livres ou aderidas (FIGURA 1) (MICHALICK, 2003; BRASIL, 2007).

Figura 1 – Ciclo evolutivo da leishmania

Fonte: BRASIL (2014, p. 17)

As leishmanioses de acordo com suas características clínicas podem ser dispostas em quatro grupos – leishmaniose cutânea (LC), leishmaniose mucocutânea ou cutaneomucosa (LMC), leishmaniose visceral (LV) e leishmaniose cutânea difusa (LCD) ou leishmaniose cutânea pós-calazar (PKDL). As formas cutânea, mucocutânea e cutânea difusa são agrupadas e denominadas de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) (BRASIL, 2007).

O diagnóstico das leishmanioses é realizado através de exame clínico ou por exames laboratoriais, envolvendo a Reação Intradérmica de Montenegro, testes sorológicos, testes parasitológicos ou diagnóstico molecular (BRASIL, 2011b).

2.1 Leishmaniose visceral

A leishmaniose visceral ou calazar é causada por parasitas das espécies *L. donovani* ou *L. infantum*, tendo sido relatados alguns casos causados por *L. tropica*. A maioria das infecções é assintomática, no entanto, alguns pacientes desenvolvem o quadro clínico. A LV atinge o sistema fagocítico mononuclear do baço, fígado, medula óssea e de tecidos linfoides, podendo ser fatal quando não tratada. A infecção apresenta como sintomas: febre, emagrecimento, diarreia, tosse, hepatoesplenomegalia, micropoliadenomegalias e pancitopenia. Alguns fatores, como desnutrição e imunossupressão, principalmente a infecção pelo HIV, predispoem à doença clínica. A LV pode ser endêmica, esporádica

ou epidêmica, com características clínicas diferentes em cada situação (DIETZE; CARVALHO, 2008; WHO, 2010; BRASIL, 2011a).

Mundialmente, são estimados 300.000 novos casos e mais de 20.000 mortes causadas anualmente por LV. A doença é endêmica em 65 países, sendo que 90% dos casos ocorrem em seis países: Bangladesh, Brasil, Etiópia, Índia, Sudão do Sul e Sudão. O Brasil responde por 90% dos casos registrados na América Latina, em 2014 foram 3.453 casos notificados no país, sendo as regiões Nordeste, Norte e Sudeste as mais frequentemente atingidas. No período de 2000 a 2011, a infecção foi responsável por 3.322 mortes no país. Homens (72%) e indivíduos com mais de 10 anos de idade (91,5%) são os mais acometidos pela LV, o que indica possível transmissão ocupacional (OPAS/OMS, 2012; MARTINS-MELO et al., 2014; WHO, 2016).

2.2 Leishmaniose tegumentar americana

A leishmaniose tegumentar americana acomete populações de várias regiões mundiais, sendo verificados casos do sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina nas Américas. O Brasil é considerado um país endêmico, sendo a região Norte a mais acometida pelos casos de LTA, seguida pelas regiões Nordeste e Centro-Oeste. Considerando que a LTA pode causar lesões deformantes, além da incidência, gera preocupação pelos danos psicológicos e, conseqüentemente, pelas perdas social e econômica (BRASIL, 2007; GARCIA et al., 2011).

A LTA tem como agentes causadores diversas espécies de leishmania, entre as quais: *L. braziliensis*, *L. guyanensis*, *L. amazonensis*, *L. lainsoni*, *L. naiffi*, *L. lindenbergi*, *L. shawi*. A doença pode se apresentar com diferentes formas clínicas: cutânea, mucocutânea ou cutânea difusa (BRASIL, 2007; TUON, 2008).

2.2.1 Leishmaniose cutânea

Afganistão, Argélia, Brasil, Colômbia, Irã, Paquistão, Peru, Arábia Saudita e Síria são os países em que ocorre a maior parte dos casos de leishmaniose cutânea. Em 2014, 19.042 casos de leishmaniose cutânea foram relatados em nosso país, sendo a região Norte a mais acometida pela doença. Entretanto, em 2003, casos da infecção foram relatados em todos os estados brasileiros (OPAS/OMS, 2012; WHO, 2016).

A LC se caracteriza por lesões que podem ocorrer em qualquer parte do corpo, porém frequentemente se originam no local da inoculação, como uma mácula, que se transforma em uma úlcera e pode evoluir para uma lesão nodular. As lesões podem se desenvolver em semanas, meses ou mesmo anos após a infecção. As lesões primárias podem ser únicas ou múltiplas, sendo que aquelas causadas por *L. braziliensis* e *L. guyanensis* podem curar espontaneamente após seis meses. No entanto, também podem ocorrer lesões cutâneas ou mucosas secundárias, as quais estão relacionadas,

frequentemente, à infecção por *L. braziliensis* (WHO, 2010). *L. amazonensis*, que tem roedores como reservatórios naturais, é encontrada nos estados da Bahia, Minas Gerais e Goiás, assim como em toda região Norte, sendo frequentemente associada a casos de LC e, eventualmente, a LCD. A espécie *L. guyanensis* também está relacionada a casos de LC no Brasil, porém limita-se à Região Norte. Os reservatórios deste parasito são mamíferos silvestres, como a preguiça, o tamanduá e o gambá (BRASIL, 2007).

2.2.2 Leishmaniose mucocutânea

Em países sul-americanos são observados aproximadamente 90% dos casos de LMC, afetando principalmente Bolívia, Brasil e Peru. Em 2014, foram registrados 1.016 casos de LMC em nosso país (WHO, 2016). A leishmaniose mucocutânea caracteriza-se por suas ulcerações que atingem tanto a pele, quanto mucosas, podendo provocar lesões deformantes, no entanto, raramente é letal. O acometimento das mucosas pode ocorrer de forma imediata após contato com o parasito, concomitantemente a lesões cutâneas e, ainda, de forma tardia, após tratamento para LC. A LMC apresenta como sintomas associados: obstrução nasal, eliminação de crostas, epistaxe, disfagia, odinofagia, rouquidão, dispneia e tosse. No Brasil, é comumente provocada por *L. braziliensis*, espécie identificada por Gaspar Viana, a qual provoca lesões nas mucosas bucal e faríngea, assim como destruição das cartilagens nasais. Casos de LCM foram relacionados, ainda, às espécies *L. amazonensis* e *L. guyanensis* (BRASIL, 2007; CAMARGO, 2008; TUON, 2008; WHO, 2010).

2.2.3 Leishmaniose cutânea difusa

Leishmaniose cutânea difusa caracteriza-se por causar numerosas lesões nodulares ou ulceradas, as quais podem chegar a centenas, com ou sem o envolvimento de mucosas, de forma disseminada. Na LCD observa-se a ausência de resposta imune protetora, desta forma, há uma multiplicação ilimitada de parasitos nos macrófagos, provocando uma hipertrofia e hiperplasia do sistema fagocitário mononuclear, o qual passa a atingir extensas áreas cutâneas (REY, 2002; BRASIL, 2007; WHO, 2010).

No Brasil, a LCD está associada à infecção por *L. amazonensis*, porém outras espécies, como *L. braziliensis*, *L. panamensis* e *L. guyanensis*, também são relacionadas à doença. Estudos demonstraram que a espécie *L. amazonensis* interfere no sistema imunológico do hospedeiro, impedindo uma resposta imune efetiva. Como a maioria dos casos de LCD está relacionada à infecção adquirida na infância, acredita-se que a imaturidade do sistema imune seja um fator que favoreça esta forma clínica (BRASIL, 2007).

Ainda, lesões disseminadas, com ou sem envolvimento das mucosas, podem ocorrer após tratamento e aparente cura de LV, sendo esta condição denominada leishmaniose cutânea pós-calazar (PKDL). A PKDL ocorre em todas as áreas endêmicas de *L.*

donovani, porém é mais comum no leste da África e no subcontinente indiano, onde, respectivamente, mais de 50% e 10% dos pacientes com calazar desenvolvem a condição (WHO, 2010).

2.3 Tratamento de leishmanioses

O tratamento farmacológico para a maioria das DTNs é realizado com fármacos antigos, uma vez que novas alternativas terapêuticas para estas doenças são minoria, entre 1975 e 2004, 1556 novos medicamentos foram desenvolvidos, destes, apenas 21 destinavam-se a doenças tropicais, incluindo tuberculose (CHIRAC; TORREELE, 2006). No Brasil, o Ministério da Saúde, através do Componente Estratégico da Assistência Farmacêutica, distribui os medicamentos antimoniatos de meglumina, isetionato de pentamidina, anfotericina B desoxicolato e anfotericina B lipossomal para o tratamento de leishmanioses (BRASIL, 2015).

Os fármacos de primeira escolha no tratamento das leishmanioses são os antimoniais pentavalentes, podendo ser utilizado o antimoniatos de meglumina e o estibogluconato de sódio, sendo este último não comercializado no Brasil (BRASIL, 2007; WHO, 2010; SANTOS et al., 2012). Estes medicamentos têm ação leishmanicida, interferindo em processos bioquímicos de formas amastigotas de *Leishmania*. O antimônio pentavalente é convertido no macrófago a antimônio trivalente, o qual é responsável pela ação farmacológica. Estes fármacos inibem a glicólise e a oxidação de ácidos graxos, além de reduzirem a produção de ATP e GTP. Ainda, estes compostos podem provocar aumento nos níveis de citocinas e inibirem a DNA topoisomerase I (FREITAS-JUNIOR et al., 2012). Os antimonias pentavalentes são administrados por via intramuscular ou intravenosa, bem como de forma intralesional no tratamento de leishmaniose cutânea. As reações adversas comuns com o uso destes fármacos compreendem: anorexia, vômitos, náuseas, dor abdominal, mal-estar, mialgia, artralgia, cefaleia, gosto metálico e letargia. Ainda, podem ocorrer alterações eletrocardiográficas, relacionadas à dose e tempo de duração do tratamento, com prolongamento do intervalo Q-T e arritmia. A cardiotoxicidade, representada por arritmias cardíacas, podendo ser fatal, é rara. Ainda, podem ocorrer elevação de enzimas pancreáticas e hepáticas, trombocitopenia, leucopenia e anemia (WHO, 2010; GARCIA et al., 2011).

A pentamidina, devido a seus efeitos adversos, via de administração (parenteral) e eficácia comparada a outros fármacos, é utilizada como fármaco alternativo no tratamento de leishmanioses. O mecanismo de ação deste fármaco não está totalmente esclarecido, contudo, parece inibir a DNA topoisomerase I e afetar o potencial de membrana, além de atuar em outros sítios no parasita. Entre as reações adversas relacionadas ao seu uso estão dor e inflamação no local de injeção, anorexia, astenia, náusea, dor abdominal, hipoglicemia, arritmias, insuficiência renal e pancreatite, a qual pode ocasionar diabetes (WHO, 2010; GARCIA et al., 2011; SILVA-JARDIM; THIEMANN; ANIBAL, 2014).

A anfotericina B, um antibiótico poliênico, liga-se ao ergosterol presente na membrana plasmática das leishmanias, tanto formas promastigotas quanto amastigotas, alterando a permeabilidade das mesmas. O fármaco é empregado, por via parenteral, no tratamento de leishmanioses refratárias aos compostos antimoniais, e apresenta toxicidade importante, dose-dependente, podendo provocar flebite, cefaleia, calafrios, febre, astenia, artralgia, mialgia, vômitos e hipotensão. Ainda, seu uso pode causar nefrotoxicidade, hipocalcemia e miocardite. O fármaco é encontrado em formulações lipídicas ou complexado com desoxicolato, sendo que o primeiro tipo de formulação apresenta vantagens, como melhores características farmacocinéticas (biodisponibilidade, distribuição), o que leva a diminuição de reações adversas (GARCIA et al., 2011; FREITAS-JUNIOR et al., 2012; WHO, 2015).

Miltefosina foi desenvolvida como quimioterápico para o tratamento de tumores, no entanto, verificou-se seu efeito leishmanicida ao atuar sobre o metabolismo lipídico das leishmanias, causando apoptose. O fármaco pode ser empregado pela via oral, causando desconforto gástrico como reação adversa mais comum (náuseas, vômitos, anorexia, diarreia), além de ser teratogênico. Miltefosina, ainda, pode provocar dermatites, elevação de transaminases hepáticas e, raramente, insuficiência renal. Além disso, a resistência a este fármaco desenvolve-se rapidamente, o que pode estar relacionado ao seu longo tempo de meia-vida ($t_{1/2}$ 100 a 200 horas) e reduzido efeito terapêutico (WHO, 2010; FREITAS-JUNIOR et al., 2012; SILVA-JARDIM; THIEMANN; ANIBAL, 2014).

Paromomicina é um antibiótico aminoglicosídeo que interfere na síntese proteica do parasita, provocando alteração na membrana mitocondrial e disfunção respiratória, resultando em ação leishmanicida. Este fármaco é empregado topicamente no tratamento de LC e, por via intravenosa ou intramuscular, em LV. Ototoxicidade reversível, nefrotoxicidade e hepatotoxicidade têm sido relacionadas como reações adversas ao uso deste antibiótico (WHO, 2010; SEIFERT, 2011; FREITAS-JUNIOR et al., 2012).

Os fármacos leishmanicidas tem uso limitado devido à resistência, vias de administração, preços elevados, dificuldades de adesão, toxicidade e/ou teratogenicidade (BUCKNER; WATERS; AVERY, 2012). Apesar do conhecimento sobre o genoma de diferentes espécies de leishmanias e identificação de alvos em potencial para ação de fármacos, como a enzima diidrofolato redutase e a via de biossíntese de esterol, novos medicamentos com estes mecanismos não estão disponíveis. Ainda, é preciso atentar para as particularidades da infecção, uma vez que o parasita alvo se encontra em vacúolos intracelulares de macrófagos, o que pode ocasionar dificuldade de distribuição de fármacos, assim como ocorrerem possíveis interações com o sistema imunológico (FREITAS-JUNIOR et al., 2012). Além disso, buscam-se fármacos que possibilitem tratamento de curta duração com eficácia e segurança a fim de aumentar a adesão e prevenir a resistência parasitária, assim como, formulações farmacêuticas de fácil aplicação para tratamento de LC e LMC (WHO, 2015).

Outra estratégia que tem sido estudada é a terapia preventiva, através do desenvolvimento de vacinas, entretanto a padronização de antígenos de leishmanias e a seleção de um imunoadjuvante apropriado tem dificultado a obtenção da mesma. Contudo, vários candidatos a vacinas contra LC e LV encontram-se em estudos pré-clínicos e clínicos (WHO, 2015; GILLESPIE et al., 2016).

3 PLANTAS COMO FONTE PARA O DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS: O POTENCIAL DA FAMÍLIA MYRTACEAE

O interesse por fontes alternativas para a concepção de medicamentos, o uso popular de plantas medicinais e a biodiversidade brasileira são alguns fatores que favorecem o uso de plantas como fonte para o desenvolvimento de novos fármacos, desta forma, pesquisas objetivando identificar espécies vegetais com potencial leishmanicida têm sido realizadas. Entre as famílias botânicas, destaca-se a família Myrtaceae, tanto por apresentar espécies de interesse econômico, como espécies empregadas popularmente com diferentes finalidades, o que faz com esta seja alvo de pesquisas, inclusive sobre a atividade leishmanicida de suas espécies.

Blepharocalyx salicifolius é uma espécie nativa do Brasil, que em estudo bioguiado realizado com frações isoladas a partir do extrato bruto de folhas, demonstrou o potencial leishmanicida *in vitro* de oito frações contra formas amastigotas de *L. amazonensis*, em concentrações que variaram de 19 a 29 µg/mL. Ainda, os pesquisadores avaliaram a citotoxicidade destas frações em células mononucleares de sangue periférico humano e conseguiram identificar duas frações (F11 e F12) que apresentam atividade leishmanicida e baixa toxicidade celular, ou seja, promissoras para continuidade dos estudos em busca de novos fármacos para o tratamento de leishmanioses (SIQUEIRA et al., 2010).

Frutos e folhas de *Eugenia umbelliflora*, espécie nativa da flora brasileira, que ocorre da Paraíba a Santa Catarina, são utilizadas popularmente no tratamento de infecções, inflamações e diabete. Atividade leishmanicida *in vitro* contra formas promastigotas de leishmanias foi observada para o extrato hexânico de frutos de *E. umbelliflora*, o qual apresentou IC₅₀ de 14,3 µg/mL e 5,7 µg/mL contra *L. amazonensis* e *L. brasiliensis*, respectivamente. Estudos, ainda, comprovaram ação antimicrobiana, gastroprotetora e antifúngica para a espécie (CECHINEL FILHO et al., 2013).

Extratos hexânico e metanólico de folhas *Eugenia uniflora*, conhecida popularmente como pitanga, não demonstraram atividade promissora contra formas promastigotas de *L. amazonensis*, apresentando valores de IC₅₀ maiores que 200 µg/mL e 250 µg/mL, respectivamente (BRAGA et al., 2007; RIBEIRO et al., 2014). No entanto, o óleo essencial de folhas da espécie apresentou atividade leishmanicida *in vitro* contra promastigotas (IC₅₀=3,04 µg/mL) e amastigotas (IC₅₀= 1,92 µg/mL) de *L. amazonensis*, além de toxicidade preferencial para as formas amastigotas comparada aos macrófagos. O óleo essencial, constituído por 32 componentes, apresentou curzereno, γ-elemeno

e trans- β -elemenona como os principais constituintes. Também se verificou que a atividade leishmanicida do óleo pode estar relacionada à ativação de macrófagos, evidenciado pelo aumento na capacidade fagocitária e na atividade de lisossomos (RODRIGUES et al., 2013).

Campomanesia eugenoides, espécie nativa do Brasil, conhecida popularmente como gabirola ou guabirola, é empregada, por indígenas, no tratamento de diarreia, dor estomacal e febre. A ação leishmanicida *in vitro* dos extratos aquoso e hidroetanólico de folhas de *C. eugenoides* foi avaliada contra formas promastigotas de *L. amazonensis* apresentando valores de IC₅₀ de $388 \pm 53 \mu\text{g/mL}$ e $555 \pm 64 \mu\text{g/mL}$, respectivamente. Além dos extratos não apresentarem atividade leishmanicida promissora, a citotoxicidade foi avaliada, observando-se valores de CC₅₀ de $29 \pm 4,0 \mu\text{g/mL}$ e $73 \pm 3,5 \mu\text{g/mL}$, respectivamente, para os extratos aquoso e hidroetanólico (MOURA-COSTA et al., 2012).

Extratos de cascas e folhas de *Myrcia linearifolia*, espécie nativa do Cerrado, não apresentaram ação *in vitro* considerável contra formas promastigotas de *L. amazonensis*, com valores de IC₅₀ superiores a $100 \mu\text{g/mL}$ (COSTA et al., 2014). O potencial leishmanicida da goiabeira também foi avaliado, verificando-se que o extrato hidroetanólico de *Psidium guajava*, na concentração de $100 \mu\text{g/mL}$, inibiu o crescimento de formas amastigotas e promastigotas de *L. amazonensis*, em $65,4\% \pm 5,4$ e $52,0\% \pm 2,1$, respectivamente (LUIZE et al., 2005).

Eugenia jambolana (sinonímia *Syzygium jambolanum*), espécie cultivada no Brasil e empregada popularmente como antidiabético, também foi avaliada quanto ao seu potencial leishmanicida. Os extratos hidroetanólico, metanólico e hexânico de folhas da espécie demonstraram atividade leishmanicida *in vitro* contra formas promastigotas de *L. amazonensis* com valores de IC₅₀ de $166,6 \mu\text{g/mL}$, superior a $250 \mu\text{g/mL}$ e de $31,64 \pm 0,99 \mu\text{g/mL}$, respectivamente (BEZERRA et al., 2006; BRAGA et al., 2007; RIBEIRO et al., 2014). O óleo essencial das folhas de *E. jambolana* teve sua constituição determinada, sendo identificados α -pineno (31,85%), (Z)- β -ocimeno (28,98%) e (E)- β -ocimeno (11,71%) como os principais componentes. O óleo essencial da espécie apresentou valores de IC₅₀ de $60,0 \mu\text{g/mL}$ e $43,9 \mu\text{g/mL}$, respectivamente, contra formas promastigotas e amastigotas de *L. amazonensis*. A atividade do principal constituinte do óleo, α -pineno, demonstrou sua maior atividade, o qual apresentou valores de IC₅₀ de $19,7 \mu\text{g/mL}$ e $16,1 \mu\text{g/mL}$, respectivamente, contra promastigotas e amastigotas de *L. amazonensis* (DIAS et al., 2013a; RODRIGUES et al., 2015).

4 LEISHMANIOSE, APENAS MAIS UMA DOENÇA TROPICAL NEGLIGENCIADA?

DTNs atingem, geralmente, populações vivendo em situação de pobreza e sem condições sanitárias adequadas, principalmente em regiões tropicais ou subtropicais. As leishmanioses estão entre as doenças mais negligenciadas do mundo, atingem 98

países em três continentes, estando o Brasil entre os países em que os casos de LV, LC e LMC são mais frequentes, ou seja, é considerada área endêmica. Dados da OMS indicam que são registrados anualmente 300.000 novos casos de LV e um milhão de novos casos de LC ou LMC, perfazendo aproximadamente 1,3 milhões de pessoas atingidas pela doença. Ainda, segundo a organização, até 50.000 mortes podem ser causadas, anualmente, por leishmanioses. As áreas em que ocorre a transmissão da infecção têm se ampliado e, consequentemente, os casos notificados tem aumentado exponencialmente. Entre as causas relacionadas à disseminação desta DTN, pode-se citar condições socioeconômicas desfavoráveis, desnutrição, alterações climáticas e ambientais, aumento de fluxos populacionais, conflitos, coinfeção com o HIV que gera imunossupressão, urbanização acelerada (WHO, 2015; WHO, 2016).

A leishmaniose é uma doença sensível ao clima, sendo afetada por mudanças nas chuvas, temperatura atmosférica e umidade. Aquecimento global e degradação do solo afetam a epidemiologia da leishmaniose por uma série de mecanismos. Primeiro, as mudanças de temperatura, precipitação e umidade podem ter fortes efeitos sobre a ecologia dos vetores e hospedeiros de reservatório, alterando a sua distribuição e influenciando seu tempo de sobrevivência e a população. Segundo, pequenas mudanças de temperatura podem ter um efeito profundo sobre o ciclo do desenvolvimento das formas promastigotas de leishmania em flebotomíneos, potencialmente permitindo a transmissão do parasita em áreas não previamente endêmicas para a doença. Terceiro, seca, fome e inundação resultante de alterações nas condições de clima podem levar a deslocação maciça e a migração de pessoas para áreas com transmissão da leishmaniose, somado ao fato que a má nutrição pode comprometer a imunidade dessas populações migratórias (WHO, 2010).

No Brasil, comumente, trabalhadores rurais e aqueles que dependem do extrativismo estão mais expostos aos vetores da doença. No entanto, atualmente, verifica-se uma urbanização das áreas de transmissão, devido, entre outros fatores, à falta de saneamento básico, precariedade econômica, processo migratório do campo para as periferias urbanas, habitações construídas inadequadamente, convívio com animais ermos (GARCIA et al., 2011).

Desta forma, a LV no Brasil, atualmente, tem seu ciclo de transmissão concentrado em bairros marginais de áreas periurbanas, nos quais o ciclo silvestre pode se aproximar de habitações humanas. Ainda, a migração impulsionada por mudanças econômicas, leva indivíduos a entrarem em áreas de transmissão do parasita. Um fator agravante é o estado nutricional, que quando baseado em uma dieta pobre, aumenta a probabilidade de manifestação da doença. Outros fatores, como urbanização, domesticação do ciclo de transmissão e incursão de explorações agrícolas e assentamentos em áreas florestadas são mudanças ambientais que podem alterar a incidência da leishmaniose (WHO, 2010). A propagação da LV é um fenômeno verificado em países contíguos ao Brasil, como a Argentina, afetando áreas de divisa, inclusive com o estado do Rio do Grande do Sul, tendo sido notificados milhares de casos da doença em cães e mais de uma

centena de casos em humanos, inclusive com ocorrência de óbitos, a partir de 2006 (MERA Y SIERRA; CARGNELUTTI, 2016).

Leishmania braziliensis e outras espécies, anteriormente considerados parasitas nas florestas sul-americanas, adaptaram-se ao desmatamento, encontrando novos vetores e hospedeiros de reservatório, provocando aumento no número de casos urbanos de LC e LMC no Brasil e em outros países sul-americanos (BRASIL, 2007; OMS, 2010). O fenômeno é denominado de maldição da floresta tropical, ao invadir a mata, o homem expõe-se aos vetores, ao desmatá-la interfere nos hospedeiros de reservatório e aumenta a zona geográfica de contato com os flebotomíneos. Ainda, não existem medidas eficazes para o controle da transmissão da doença, pois não é possível dedetizar toda a floresta nem eliminar os roedores e outros reservatórios (CAMARGO, 2008).

Em áreas acometidas por conflito e terrorismo, os casos de LC e LV são, respectivamente, 2,38 vezes e 6,02 vezes mais frequentes que em regiões pacíficas. Essa maior incidência de leishmaniose pode ser relacionada à instabilidade, a migração populacional e ao sistema de saúde deficitário (BERRY; BERRANG-FORD, 2016).

Ainda, a coinfeção *Leishmania*-HIV, causada pela infecção concomitante pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) e por leishmanias, tornou-se uma doença emergente tanto no Brasil, quanto em outros países localizados no sudoeste europeu, no sul da Ásia, na África Subsaariana e na América do Sul. A incidência aumentada da coinfeção pode ser relacionada à sobreposição geográfica das duas infecções, devido à urbanização das leishmanioses e à interiorização da infecção por HIV. As leishmanioses interferem na progressão da doença pelo HIV e a imunodepressão causada pelo vírus, por sua vez, promove a progressão das leishmanioses. Pacientes com a coinfeção apresentam dispersão da LC, com agressão a órgãos, caracterizando a visceralização da leishmaniose. Nos casos de coinfeção envolvendo a LV observa-se lesão a órgãos não pertencentes ao sistema fagocítico mononuclear, assim como aumento nos casos de recidivas (WHO, 2010; BRASIL, 2011b).

Outra problemática característica das DTNs é carência de medicamentos ou vacinas, com eficácia e segurança adequadas (WHO, 2015). Campos (2008), ao considerar a relação entre geografia das DTNs, da pobreza e exclusão social mundial, ponderou que há negação ao Direito Humano Fundamental à Saúde, e inferiu sobre a responsabilidade internacional de entidades governamentais e não governamentais, neste caso, principalmente das indústrias farmacêuticas transnacionais. A autora relacionou a falta de acesso ao tratamento, devido ao alto custo dos medicamentos e a carência de estudos de P&D para DTNs, uma vez que não há interesse econômico, como negativa ao direito humano à saúde e entrave ao desenvolvimento.

Entre 2001 e 2011, apenas 29 fármacos destinados a DTNs foram aprovados de um total de 756 novos medicamentos. Além disso, somente quatro eram novas entidades químicas (NCE) e, destas, três indicadas para o tratamento de malária. Outro dado alarmante refere-se aos ensaios clínicos registrados para DTNs, somente 1,4% de um total de aproximadamente 150 mil ensaios clínicos (DIAS et al., 2013b).

O Brasil, através do Ministério da Saúde, desde 2003, tem implementado ações que visam ampliar ações de P&D em DTNs, sendo que com investimentos em torno de R\$ 75 milhões ao ano, lidera a lista dos países em desenvolvimento que mais aplica recursos nessa área. A partir de dados epidemiológicos, demográficos e de impacto das doenças, foram definidas as sete doenças prioritárias para atuação, as quais são dengue, doença de Chagas, leishmanioses, hanseníase, malária, esquistossomose e tuberculose. Ressalta-se que o controle das DTNs, por atingirem principalmente populações carentes, é primordial para o cumprimento dos objetivos de desenvolvimento do milênio (ODM) da Organização das Nações Unidas (ONU) (BRASIL, 2010; GARCIA et al., 2011). A avaliação da produção científica de pesquisadores da América do Sul envolvendo a temática leishmanioses, no período de 2000 a 2011 na base de dados SCOPUS, demonstrou o comprometimento de pesquisadores brasileiros, uma vez que estes foram responsáveis por 60,7% de um total de 3.174 publicações sobre o assunto, e a Fundação Oswaldo Cruz destacou-se como principal centro de pesquisa colaborativo na América do Sul (HUAMANÍ et al., 2014).

Ainda, a expansão das áreas de exposição à doença torna necessária a readequação de medidas de controle, uma vez que a aplicação de inseticidas nos focos de vetores e sacrifício de cães soropositivos tem se mostrado insuficiente (WHO, 2015; VON ZUBEN; DONALÍSIO, 2016). O Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral do Ministério da Saúde, publicado em 2006, estabeleceu como estratégias o diagnóstico e tratamento precoce de casos em humanos; controle e redução de vetores; eliminação dos reservatórios, através da eutanásia dos cães infectados; e atividades de educação em saúde. Contudo, este programa teve sua origem no Decreto Presidencial número 51.838 de 14 de março de 1963, ou seja, considerando as características de uma endemia rural e que afetava principalmente a região Nordeste, distinta da realidade atual (VON ZUBEN; DONALÍSIO, 2016; WERNECK, 2016).

A caracterização das leishmanioses como DTNs, sua prevalência no Brasil e em países em desenvolvimento, a deficiência de medidas farmacoterapêuticas efetivas e seguras, a inexistência de vacinas, o controle falho de vetores, assim como a necessidade de desenvolvimento de programas e políticas de saúde que atendam a realidade atual, evidenciam a problemática envolvida no controle dessas enfermidades. Além disso, somam-se alterações climáticas, conflitos e terrorismo, condições socioeconômicas que também afetam o mapa de incidência das leishmanioses.

Considerando a biodiversidade disponível em nosso país, a possibilidade do uso de plantas como fonte para a busca de novos candidatos a fármacos leishmanicidas ou de possíveis inseticidas para combate aos vetores torna-se atrativa. Dentre as famílias botânicas presentes em nossa flora destaca-se a família Myrtaceae, por sua ampla distribuição e número de espécies, somando-se o fato de muitas destas, apesar do relato de uso popular, não apresentarem estudos sobre sua eficácia ou segurança. Assim, a pesquisa de potencial ação leishmanicida de espécies nativas da família Myrtaceae, inclusive da flora do Rio Grande do Sul, como o Bioma Pampa, apresenta-se como uma

alternativa interessante, principalmente por estudos com espécies congêneres terem demonstrado resultados promissores.

REFERÊNCIAS

- BERRY, I.; BERRANG-FORD, L. Leishmaniasis, conflict, and political terror: A spatio-temporal analysis. **Social Science & Medicine**, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.socscimed.2016.04.038>>. Acesso em: 25 ago. 2016.
- BEZERRA, J. L.; COSTA, G. C.; LOPES, T. C.; CARVALHO, I. C.D.S.; PATRÍCIO, F. J.; SOUSA, S. M.; AMARAL, F. M.M.; REBELO, J. M. M.; GUERRA, R. N.M.; RIBEIRO, M. N. S.; NASCIMENTO, F. R.F. Avaliação da atividade leishmanicida *in vitro* de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, suplemento, p. 631-637, 2006.
- BOECHAT, N.; MAGALHÃES, J. Era uma vez... Doenças Negligenciadas. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 3, p. 195-196, 2012.
- BOSCOLO, O. H.; VALLE, L.S. Plantas de uso medicinal em Quissamã, Rio de Janeiro, Brasil. **Iheringia**, v. 63, n. 2, p. 263-277, 2008.
- BRAGA, F. G.; BOUZADA, M. L. M.; FABRI, R. L.; MATOS, M. O.; MOREIRA, F. O.; SCIO, E.; COIMBRA, E. S. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 396-402, 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. 2. ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2007. 180 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Programa nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009. 136 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Ciência e Tecnologia, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde. **Revista de Saúde Pública**, v. 44, n. 1, p. 200-202, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Leishmaniose visceral: recomendações clínicas para redução da letalidade**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011a. 78 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de recomendações para diagnóstico, tratamento e acompanhamento de pacientes com a coinfeção Leishmania-HIV**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011b. 106 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. 1. ed., 5. reimpr. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2014. 120 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais**: Renome 2014. 9. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2015. 228 p.

BUCKNER, F. S.; WATERS, N. C.; AVERY, V. M. Recent highlights in anti-protozoan drug development and resistance research. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 2, p. 230-235, 2012.

CAMARGO, E. P. Doenças tropicais. **Estudos Avançados**, v. 22, n. 64, p. 95-100, 2008.

CAMPOS, T. C. Doenças Negligenciadas, Pobreza e Exclusão Social: mera coincidência geográfica? **Revista da Faculdade de Direito da Universidade de São Paulo**, v. 103, p. 793-830, 2008.

CECHINEL FILHO, V.; MEYRE-SILVA, C.; NIERO, R.; MARIANO, N. L. B.; NASCIMENTO, F. G.; FARIAS, I. V.; GAZONI, V. F.; SILVA, B. S.; GIMÉNEZ, A.; GUTIERREZ-YAPU, D.; SALAMANCA, E.; MALHEIROS, A. Evaluation of antileishmanial activity of selected brazilian plants and identification of the active principles. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 7 p., 2013. Article ID 265025. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2013/2650252013>>. Acesso em: 25 ago. 2016.

CHAVASCO, J. M.; PRADO E FELIPHE, B. H. M.; CERDEIRA, C. D.; LEANDRO, F. D.;

COELHO, L. F. L.; DA SILVA, J. J.; CHAVASCO, J. K.; DIAS, A. L. T. Evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of plant extracts from southern Minas Gerais Cerrado. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, n. 1, p. 13-20, 2014.

CHIRAC, P.; TORREELE, E. Global framework on essential health R&D. **Lancet**, v. 367, n. 9522, p.1560-1561, 2006.

COSTA, R. C.; SANTANA, D. B.; ARAÚJO, R. M.; PAULA, J. E.; NASCIMENTO, P. C.;

LOPES, N. P.; BRAZ-FILHO, R.; ESPINDOLA, L. S. Discovery of the rapanone and suberonone mixture as a motif for leishmanicidal and antifungal applications. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 135-140, 2014.

DIAS, C. N.; RODRIGUES, K. A. F.; CARVALHO, F. A. A.; CARNEIRO, S. M. P.; MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; MORAES, D. F. C. Molluscicidal and leishmanicidal activity of the leaf essential oil of *Syzygium cumini* (L.) Skeels from Brazil. **Chemistry & Biodiversity**, v. 10, n. 6, p. 1133-1141, 2013a.

DIAS, L. C.; DESOY, M. A.; GUIDO, R. V. C.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D. Doenças tropicais negligenciadas: uma nova era de desafios e oportunidades. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1552-1556, 2013b.

DIETZE, R.; CARVALHO, S. F. G. Leishmaniose visceral. In: AMATO NETO, V. et al. **Parasitologia**: uma abordagem clínica. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p. 117-126.

DINIZ, D. N.; MACÊDO-COSTA, M. R.; PEREIRA, M. S. V.; PEREIRA, J. V.; HIGINO, J. S. Efeito antifúngico *in vitro* do extrato da folha e do caule de *Myrciaria cauliflora* berg. sobre microrganismos orais. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 39, n. 3, p. 151-156, 2010.

FERREIRA, F. P. S.; MORAIS, S. R.; BARA, M. T. F.; CONCEIÇÃO, E. C.; PAULA, J. R.; CARVALHO, T. C.; VAZ, B. G.; COSTA, H. B.; ROMÃO, W.; REZENDE, M. H. *Eugenia calycina* Cambess extracts and their fractions: Their antimicrobial activity and the identification of major polar compounds using electrospray ionization FT-ICR mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 99, p. 89-96, 2014

FREITAS-JUNIOR, L. H.; CHATELAIN, E.; KIM, H. A.; SIQUEIRA-NETO, J. L. Visceral leishmaniasis treatment: What do we have, what do we need and how to deliver it? **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 2, p. 11-19, 2012.

GARCIA, L. P.; DE MAGALHÃES, L. C. G.; AUREA, A. P.; DOS SANTOS, C. F.; DE ALMEIDA, R. F. **Epidemiologia das doenças negligenciadas no Brasil e gastos federais com medicamentos** - Texto para Discussão. Brasília, DF: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA), n. 1607, 2011.

GILLESPIE, P. M.; BEAUMIER, C. M.; STRYCH, U.; HAYWARD, T.; HOTEZ, P. J.; BOTTAZZI, M. E. Status of vaccine research and development of vaccines for leishmaniasis. **Vaccine**, v. 34, n. 26, p. 2992-2995, 2016.

GOVAERTS, R.; SOBRAL, N.; ASHTON, P.; BARRIE, F.; HOLST, B.K.; LANDRUM, L.L.; MATSUMOTO, K.; FERNANDA MAZINE, F.; NIC LUGHADHA, E.; PROENÇA, C. **World Checklist of Myrtaceae**: 1-455. Kew Publishing, Royal Botanic Gardens, Kew, 2008.

HOSTETTMANN, K.; GUPTA, M. P.; MARSTON, A.; QUEIROZ, E. F. **Handbook of strategies for the isolation of bioactive natural products**. Bogota: Iberoamerican program of Science and technology, 2008. p.13-14.

HUAMANÍ, C.; ROMANÍ, F.; GONZÁLEZ-ALCAIDE, G.; MEJIA, M. O.; RAMOS, J. M.; ESPINOZA, M.; CABEZAS, C. South american collaboration in scientific publications on leishmaniasis: bibliometric analysis in Scopus (2000-2011). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, n. 5, p. 381-390, 2014.

LUIZE, P. S.; TIUMAN, T. S.; MORELLO, L. G.; MAZA, P. K.; UEDA-NAKAMURA, T.; DIAS FILHO, B. P.; CORTEZ, D. A. G.; MELLO, J. C. P. M.; NAKAMURA, C. V. Effects of medicinal plant extracts on growth of *Leishmania (L.) amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n.1, p. 85-94, 2005.

MAGINA, M.D.A.; DALMARCO, E.M.; DALMARCO, J.B.; COLLA, G.; PIZZOLATTI, M.G.; BRIGHENTE, I.M.C. Bioactive triterpenes and phenolics of leaves of *Eugenia brasiliensis*. **Química Nova**, v.35, n.6, p.1184-1188, 2012.

MARTINS-MELO, F. R.; LIMA, M. D. S.; RAMOS, A. N. JR.; ALENCAR, C. H.; HEUKELBACH, J. Mortality and case fatality due to visceral leishmaniasis in Brazil: a nationwide analysis of epidemiology, trends and spatial patterns. **PLoS ONE**, v. 9, n. 4, e93770, 2014.

MERA Y SIERRA, R.; CARGNELUTTI, D. E. Dissemination of visceral leishmaniasis to Western Argentina: When will imported canine vector-borne zoonotic diseases start being local? **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jmii.2016.05.001>>. Acesso em: 25 ago. 2016.

MICHALICK, M. S. M. Gênero Leishmania. In: NEVES, David Pereira. **Parasitologia humana**. 10. ed. São Paulo: Atheneu, 2003. p. 31-35.

MISHRA, M. P.; PADHY, R. N. *In vitro* antibacterial efficacy of 21 indian timber-yielding plants against multidrug-resistant bacteria causing urinary tract infection. **Osong Public Health Research Perspective**, v. 4, n. 6, p. 347-357, 2013.

MORAES NETO, A. H. A. PARTE 4: Promoção da Saúde na Habitação dos Trópicos e Controle de Doenças Infecciosas e Parasitárias Associadas à Pobreza. In: ROJAS, M. C.; PEREZ, C. B. **Vivienda saludable, de cara a Rio + 20**. Red Interamericana de Vivienda Saludable - Organización Panamericana de Salud e Organización Mundial de la Salud, 2012. p. 40-49.

MOURA-COSTA, G. F.; NOCCHI, S. R.; CEOLE, L. F.; MELLO, J. C. P.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P.; TEMPONI, L. G.; UEDA-NAKAMURA, T. Antimicrobial activity of plants used as medicinals on an indigenous reserve in Rio das Cobras, Paraná, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, n. 2, p. 631-638, 2012.

OPAS/OMS – ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE/ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Saúde nas Américas. Panorama regional e perfis de países**. OPAS/OMS - Publicação científica e técnica n. 636, 2012. p. 129-145.

REY, L. **Bases da parasitologia médica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 50-70.

RIBEIRO, T. G.; CHÁVEZ-FUMAGALLI, M. G.; VALADARES, D. G.; FRANCA, J. R.; LAGE, P. S.; DUARTE, M. C.; ANDRADE, P. H. R.; MARTINS, V. T.; COSTA, L. E.; ARRUDA, A. L. A.; FARACO, A. A. G.; COELHO, E. A. F.; CASTILHO, R. O. Antileishmanial activity and cytotoxicity of Brazilian plants. **Experimental Parasitology**, v. 143, p. 60-68, 2014.

RODRIGUES, K. A. F.; AMORIM, L. V.; DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C.; CARNEIRO, S. M. P.; CARVALHO, F. A. A. *Syzygium cumini* (L.) Skeels essential oil and its major constituent α -pinene exhibit anti-Leishmania activity through immunomodulation *in vitro*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 160, p. 32-40, 2015.

RODRIGUES, K. A. F.; AMORIM, L. V.; OLIVEIRA, J. M. G.; DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S.; CARNEIRO, S. M. P.; CARVALHO, F. A. A. *Eugenia uniflora* L. essential oil as a potential anti-*Leishmania* agent: Effects on *Leishmania amazonensis* and possible mechanisms of action. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 10 p., 2013. Article ID 279726. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2013/279726>>. Acesso em: 25 ago. 2016.

RUIZ, L.; RUIZ, L.; MACO, M.; COBOS, M.; GUTIERREZ-CHOQUEVILCA, A. L.; ROUMY, V. Plants used by native Amazonian groups from the Nanay River (Peru) for the treatment of malaria. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, n. 2, p. 917-921, 2011.

SANTOS, F. L. A.; LYRA, M. A. M.; ALVES, L. D. S.; SILVA, K. E. R.; ROLIM, L. A.;

GOMES, T. C. B. L.; FERRAZ, L. R. M.; LIMA, Á. A. N.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; ROLIM-NETO, P. J. Pesquisa, desenvolvimento e inovação para o controle das doenças negligenciadas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 1, p. 37-47, 2012.

- SEIFERT, K. Structures, Targets and Recent Approaches in Anti-Leishmanial Drug Discovery and Development. **The Open Medicinal Chemistry Journal**, v. 5, p. 31-39, 2011.
- SILVA-JARDIM, I.; THIEMANN, O. H.; ANIBAL, F. F. Leishmaniasis and Chagas Disease Chemotherapy: a Critical Review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 10, p. 1810-1823, 2014.
- SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN, J. R. **Plantas da Medicina Popular no Rio Grande do Sul**. 3. ed. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS, 1989. 174p.
- SIQUEIRA, E. P.; SOUZA-FAGUNDES, E. M.; SOBRAL, M. E. G.; ALVES, T. M. A.; RABELLO, A.; ZANI, C. L. Leishmanicidal activities of the extract from *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg, Myrtaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, p. 416-421, 2010.
- SOUSA, R. M. F.; DE MORAIS, S. A. L.; VIEIRA, R. B. K.; NAPOLITANO, D. R.; GUZMAN, V. B.; MORAES, T. S.; CUNHA, L. C. S.; MARTINS, C. H. G.; CHANG, R.; DE AQUINO, F. J. T.; DO NASCIMENTO, E. A.; DE OLIVEIRA, A. Chemical composition, cytotoxic, and antibacterial activity of the essential oil from *Eugenia calycina* Cambess. leaves against oral bacteria. **Industrial Crops and Products**, v. 65, p. 71-78, 2015.
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2012. p. 428-429.
- TUON, Felipe F. Leishmaniose cutânea. In: AMATO NETO, Vicente et al. **Parasitologia: uma abordagem clínica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p. 103-110.
- VON ZUBEN, A. P. B.; DONALÍSIO, M. R. Dificuldades na execução das diretrizes do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral em grandes municípios brasileiros. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, n. 6, p. e00087415, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/0102-311X00087415>>. Acesso em: 25 ago. 2106.
- WERNECK, G. L. Controle da leishmaniose visceral no Brasil: o fim de um ciclo? **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, n. 6, p. eED010616, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/0102-311X00ED010616>>. Acesso em: 25 ago. 2106.
- WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis**, Geneva, 22-26 March 2010. WHO technical report series; n. 949, 2010. p. 7; 36-46.
- WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases: third WHO report on neglected diseases 2015**. World Health Organization's Department of Control of Neglected Tropical Diseases. Geneva: WHO Document Production Services, 2015. p. 118-126.
- WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Leishmaniasis**. 2016. Disponível em: <<http://www.who.int/tdr/diseases-topics/leishmaniasis/en/>>. Acesso em: 25 ago. 2016.