

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica

Busca de novos agentes terapêuticos para Doenças Tropicais
Negligenciadas com base na flora brasileira

Pamela Natsue Kusuki

Trabalho de Conclusão do Curso de Farmácia-Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Orientadora:

Profa. Dr^a Soraya da Silva Santos

São Paulo

2022

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE ABREVIATURAS	3
RESUMO	4
1.INTRODUÇÃO	6
2.OBJETIVOS	8
3.MATERIAIS E MÉTODOS	8
3.1. Critérios para seleção de artigos	8
3.1.1. Bases de Dados	8
3.1.2. Limite de Tempo	9
3.1.3. Idiomas	9
3.1.4. Termos de Busca	9
4.REVISÃO DE LITERATURA	9
4.1. Leishmaniose Visceral	9
4.1.1. Dados Epidemiológicos	10
4.1.2. Tratamento Terapêutico Atual	12
4.1.3. Agentes Terapêuticos Inovadores com Base na Flora Brasileira	13
4.1.3.1. <i>Neolignanas de Nectandra leucantha</i> Nees	13
4.1.3.2. <i>Suco clarificado de Euterpe oleracea</i> Martius	18
4.2. Doença de Chagas	20
4.2.1. Dados Epidemiológicos	21
4.2.2. Tratamento Terapêutico Atual	23
4.2.3. Agentes Terapêuticos Inovadores com Base na Flora Brasileira	24
4.2.3.1. <i>Flavonóides de Spiranthera odoratissima</i>	24
4.2.3.2. <i>Óleo Essencial de Flores de Psidium guajava</i>	27
4.3. Dengue	29
4.3.1. Dados Epidemiológicos	30

4.3.2. Tratamento Terapêutico Atual	31
4.3.3. Agentes Terapêuticos Inovadores com Base na Flora Brasileira	32
4.3.3.1. <i>Extrato Etanólico de Cissus erosa (Vitaceae)</i>	32
4.3.3.2. <i>Extrato Etanólico de Uncaria tomentosa (Willd.) DC</i>	33
5.DISSCUSSÃO	36
5.1. Leishmaniose Visceral	36
5.2. Doença de Chagas	37
5.3. Dengue	39
6.CONCLUSÃO	40
7.REFERÊNCIAS	41

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
DTN	Doenças Tropicais Negligenciadas
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
IC ₅₀	Concentração do composto capaz de reduzir 50% do crescimento parasitário
CC ₅₀	Concentração do composto capaz de reduzir 50% da viabilidade celular
EC ₅₀	Concentração do composto capaz de induzir metade do efeito máximo
ATP	Trifosfato de adenosina
GAPDH	Gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase
G3P	Gliceraldeído-3-fosfato
1,3-DPGA	1,3 bifosfoglicerato
V _{máx}	Velocidade máxima da reação
K ^m	Concentração do substrato na qual a reação acontece na metade da velocidade máxima.
MTT	3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio brometo
LLCMK ₂	Células renais de Macaco Rhesus <i>Macaca mulatta</i>

RESUMO

KUSUKI, P.N. **Busca de novos agentes terapêuticos para Doenças Tropicais Negligenciadas com base na flora brasileira.** 2022. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia-Bioquímica – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Palavras-chave: Doenças tropicais negligenciadas, produtos naturais, biodiversidade brasileira, flora brasileira.

INTRODUÇÃO: Doenças tropicais negligenciadas (DTN) são conjunto de enfermidades predominantes em regiões pobres, como países em desenvolvimento submetidos a climas tropicais e subtropicais. Atualmente, tais doenças afetam mais de um bilhão de pessoas e impactam em bilhões de dólares a economia mundial. Segundo a OMS, são doenças que recebem baixo interesse das indústrias farmacêuticas, devido ao baixo retorno financeiro proporcionado. Assim, a terapia atual consiste em medicamentos com baixa eficiência, muitos efeitos adversos, além do surgimento de cepas resistentes aos medicamentos disponíveis. Logo, a busca por novas opções terapêuticas mais eficazes e que contornem os problemas citados sobre os medicamentos atuais é importante. Neste sentido, uma possível fonte de inspiração para o planejamento de novos fármacos para essas doenças são os produtos naturais através da biodiversidade brasileira. **OBJETIVO:** Apresentar, através de uma revisão de literatura, o panorama geral de novas opções terapêuticas advindas da biodiversidade brasileira, que estão sendo pesquisadas para o tratamento das DTNs, com foco para leishmaniose, doença de Chagas e dengue. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Os artigos selecionados compreenderam os anos de 1998 e 2022. Foram utilizadas as seguintes bases de dados: SciELO, PubMed, *Web of Science*, *SciFinder* e *Cochrane Library*. **RESULTADOS:** Para leishmaniose visceral descobriu-se um derivado de neolignanas mais seletivo e potente ($IC_{50} = 105,4 \mu\text{g/mL}$; $SI > 32,8$) capaz de causar comprometimento mitocondrial descoberto a partir da *N. leucantha* Nees. Outra abordagem analisou o suco clarificado de açaí, que apresentou ação contra a forma promastigota na dose de 1:12,5, reduzindo cerca de 93,88% de promastigotas após 72 h. Quanto à doença de

Chagas, a partir do caule de *Spiranthera odoratissima* extraiu-se um tirolisídeo capaz de inibir não competitivamente a enzima GAPDH do *T. cruzi*. Outra investigação mostrou que terpenóides do óleo essencial de *Psidium guajava* L. possuem ação tripanocida satisfatória ($IC_{50} = 14,6 \mu\text{g/mL}$) e menor toxicidade em relação ao benznidazol. Já em relação à dengue, o extrato etanólico de cipó-fogo apresentou atividade antiviral resultante do efeito sinérgico entre os flavonóides e demais constituintes do extrato e apresentou índice de seletividade superior a 27,5. O extrato de unha-de-gato reduziu os antígenos virais em monócitos infectados pelo vírus da dengue, além de apresentar atividade imunomoduladora em citocinas pró-inflamatórias.

CONCLUSÃO: As pesquisas oriundas da biodiversidade brasileira estão em estágios iniciais, mas observa-se atividade potencial desses agentes terapêuticos para o tratamento de leishmaniose visceral, doença de Chagas e dengue. Para a comprovação da eficácia e segurança de tais compostos, estudos adicionais são necessários, nesse primeiro momento, ensaios *in vivo*. Portanto, considerando a ampla biodiversidade da flora brasileira e o aumento das pesquisas relacionadas ao estudo de novos compostos para o tratamento de DTNs, o cenário de pesquisa e desenvolvimento no Brasil pode ser considerado prospectivo.

1.INTRODUÇÃO

Doenças Tropicais Negligenciadas (DTN) são um conjunto de enfermidades que predominam em regiões em que a população tem escassos recursos financeiros, ou seja, locais em que as condições de pobreza são preponderantes, com falta de saneamento básico e as pessoas estão mais expostas aos vetores infecciosos. Ao todo 21 doenças são classificadas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como negligenciadas, tais como: dengue, filariose linfática, doença de Chagas, esquistossomose, hanseníase, leishmaniose, entre outras (WHO, 2021). Além disso, são doenças mais comuns nas regiões mais pobres da África, Ásia e América Latina (VALVERDE, 2013).

De acordo com a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) (2020), as DTNs preponderam em cerca de 149 países, principalmente aqueles em desenvolvimento submetidos a climas tropicais e subtropicais. Atualmente, tais

enfermidades afetam mais de um bilhão de pessoas e impactam em bilhões de dólares a economia mundial. No Brasil, entre 2010 a 2020, foram confirmados 38.634 casos de leishmaniose visceral e 2.756 casos de doença de Chagas (DATASUS, 2022). No ano de 2015, foram confirmados 104.476 casos de DTNs, sendo as maiores taxas advindas das regiões norte e nordeste do país (Ministério da Saúde, 2018).

Segundo a OMS, DTNs são doenças que recebem baixo interesse das indústrias farmacêuticas para a pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos, devido ao baixo retorno financeiro, já que tais enfermidades atingem a população de baixa renda e sem influências políticas e poder aquisitivo para a compra desses produtos. Neste sentido, a terapia atual consiste em medicamentos com baixa eficiência, com muitos efeitos adversos, além do surgimento de cepas resistentes aos medicamentos disponíveis. No período de 2012 a 2018, somente 3,1% dos medicamentos novos introduzidos no mercado eram voltados para DTNs, indicando o baixo interesse no desenvolvimento de novas terapias para o tratamento dessas enfermidades (Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2019).

Neste contexto, é fundamental buscar novas opções terapêuticas mais eficazes e que contribuam na resolução dos problemas citados sobre os medicamentos atuais, uma possível fonte de inspiração para o planejamento de novos fármacos para essas doenças é a partir dos produtos naturais. Desde o século XIX, o estudo de plantas acoplado ao desenvolvimento da química orgânica possibilitou o isolamento de princípios ativos do metabolismo secundário das plantas (FUMAGALI et al., 2008). O reino vegetal possui uma ampla diversidade química, tal fato levantou o interesse das indústrias farmacêuticas já que muitas substâncias encontradas nas plantas possuem estruturas altamente complexas, que são extremamente difíceis de serem sintetizadas em laboratório com custo aceitável. Além disso, muitas dessas substâncias são enantiomericamente puras e junto ao desenvolvimento de técnicas analíticas de separação, tais compostos podem ser isolados e ter seu potencial farmacológico explorado (BOLZANI; MONTANARI, 2001).

A biodiversidade brasileira é considerada uma das mais abundantes no mundo, sendo que possui cerca de 15% a 25% de todas as espécies vegetais disseminadas nos diferentes biomas do país. Tal riqueza biológica favorece a descoberta de

substâncias biologicamente ativas, porém a descoberta de novos fármacos a partir da flora brasileira ainda é pouco explorada, resultando na baixa comercialização de princípios ativos advindos da biodiversidade brasileira. A falta de investimentos em pesquisa científica, desde o isolamento dos princípios ativos até os estudos clínicos, é a principal razão da não evolução dessa área no Brasil (BERLINCK et al. 2011).

Os medicamentos de origem vegetal são uma oportunidade para a indústria farmacêutica brasileira buscar novas moléculas, aumentar a competitividade através de moléculas inovadoras com melhores características farmacocinéticas, mais eficazes, menor custo e menos efeitos adversos em comparação aos produtos já existentes no mercado. Além disso, o extrato de plantas medicinais podem ser empregados como medicamentos fitoterápicos (GADELHA; VILLAS BÔAS, 2007).

2.OBJETIVOS

O objetivo deste projeto foi apresentar o panorama geral das pesquisas com moléculas inovadoras e extratos vegetais advindos da biodiversidade brasileira, que estão sendo avaliados para o tratamento das DTNs, mais especificamente para a leishmaniose, doença de Chagas e dengue. Além disso, foram descritos os potenciais mecanismos de ação dos novos agentes terapêuticos, as vantagens e desvantagens em relação à terapia atual e quais são as perspectivas da pesquisa e desenvolvimento dessa área no Brasil.

3.MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Critérios para seleção de artigos

3.1.1. Bases de Dados

As buscas foram realizadas nas seguintes bases de dados: SciELO, PubMed, *Web of Science*, *SciFinder* e *Cochrane Library*. Teses, livros, dissertações e revistas científicas.

3.1.2. Limite de Tempo

Foram selecionados artigos publicados dentro do período de 1998 a 2022.

3.1.3. Idiomas

Participaram da coleta de dados artigos em português e inglês.

3.1.4. Termos de Busca

Para realização da pesquisa nas bases de dados, foram combinados os termos *leishmaniasis*, *Chagas disease* e *dengue* com os assuntos explicitados no Quadro 1.

QUADRO 1 - ASSUNTOS PESQUISADOS NAS BASES DE DADOS ATRAVÉS DA COMBINAÇÃO DOS TERMOS DAS DUAS COLUNAS

<i>Leishmaniasis</i> <i>Chagas disease</i> <i>Dengue</i>	<i>Patology; Epidemiology; Treatment;</i> <i>Herbal drug; Plants; Brazilian biodiversity;</i> <i>Pharmacology; Drug discovery.</i>
--	--

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. Leishmaniose Visceral

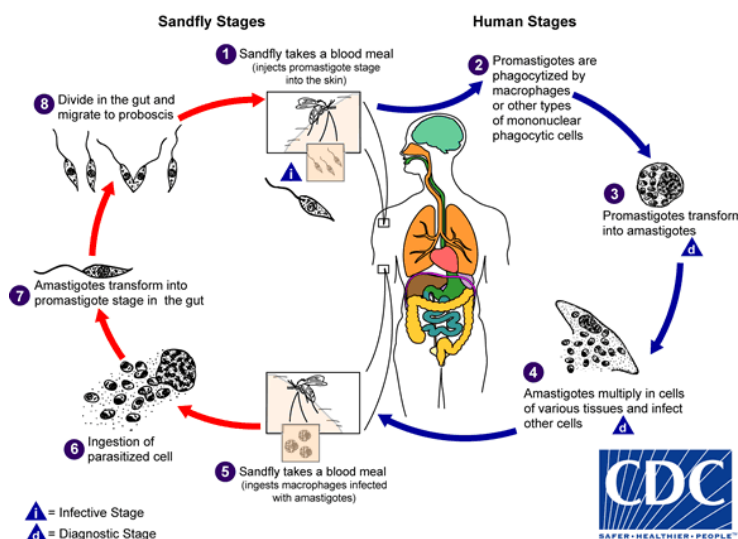
A leishmaniose é uma doença parasitária transmitida por vetores causada pelo protozoário pertencente ao gênero *Leishmania*. Várias espécies de *Leishmania* causam diferentes formas clínicas da doença, sendo descritas a leishmaniose visceral, cutânea, mucosa e mucocutânea. Os sintomas observados pelos pacientes infectados dependem, em sua maioria, das características do parasita e da resposta imunológica desenvolvida pelo paciente para combater o protozoário (JESUS et al., 1998).

A leishmaniose visceral (LV) é causada pelo agente etiológico *L. donovani* na Ásia e na África. Já na América Central e países da América do Sul, como o Brasil, é ocasionada pela *L. infantum*. Dentre as variações clínicas da leishmaniose, a visceral é

a forma mais severa e fatal quando não diagnosticada e tratada (BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018).

Esta doença é transmitida através da picada de flebotomíneos (mosquito-palha) fêmea infectados. Durante o seu ciclo de vida, o parasita possui duas formas: promastigota e amastigota (Fig. 1). A forma promastigota é flagelada e extracelular enquanto que a amastigota é intracelular e aflagelada (FREITAS, 2010).

FIGURA 1 - CICLO DE INFECÇÃO DA LEISHMANIOSE



Fonte: *Centers for Disease Control and Prevention (CDC)*, 2017.

A sintomatologia da doença é caracterizada por febre, perda de peso, hepatoesplenomegalia, glândulas inchadas ou é até mesmo assintomática. Vale ressaltar que a LV é uma infecção oportunista para pacientes portadores do vírus HIV. Um dos principais métodos de prevenção consiste no controle do vetor, através do uso de mosquiteiros e repelentes (CDC, 2017).

4.1.1. Dados Epidemiológicos

No ano de 2015, países como Brasil, Etiópia, Índia, Quênia, Somália, Sudão do Sul e Sudão registraram cerca de 90% dos casos de LV mundiais (BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018). A LV afeta cerca de 200.000 a 400.000 pessoas no mundo, porém, provavelmente, há subnotificação dos casos (MARCONDES; ROSSI, 2013).

No período de 2010 a 2020, foram registrados no Brasil 38.634 casos de LV (Tabela 1). Durante este período, nota-se maior incidência da doença na região nordeste em comparação às outras regiões do país (Tabela 2) (DATASUS, 2021). A LV acomete principalmente residentes das áreas rurais semiáridas do nordeste devido às condições socioeconômicas, porém, na última década, a doença sofreu expansão para as regiões norte, sudeste e centro-oeste do Brasil. Isso se deve ao alto índice de pobreza, além da disseminação de cães infectados e dos insetos vetores (MARCONDES; ROSSI, 2013).

TABELA 1 - DADOS EPIDEMIOLÓGICOS DE LV NO BRASIL (2010- 2020)

Ano Notificação	Casos confirmados
TOTAL	38.634
2010	3.704
2011	4.107
2012	3.269
2013	3.472
2014	3.733
2015	3.558
2016	3.455
2017	4.456
2018	3.851
2019	2.827
2020	2.202

Fonte: Ministério da Saúde/SVS - Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan Net, 2022.

TABELA 2 - CASOS CONFIRMADOS DE LEISHMANIOSE VISCERAL NO BRASIL SEGUNDO REGIÃO DE NOTIFICAÇÃO (2010- 2020)

Região de notificação	Casos confirmados
TOTAL	38.634
1 Região Norte	6.976
2 Região Nordeste	21.055
3 Região Sudeste	7.335
4 Região Sul	116
5 Região Centro-Oeste	3.152

Fonte: Ministério da Saúde/SVS - Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan Net, 2022.

Em cerca de dois anos sem tratamento, a LV é considerada fatal. O número de mortes varia de 20.000 a 50.000 de pessoas anualmente (AMARAL et al., 2019).

4.1.2. Tratamento Terapêutico Atual

O tratamento para LV é realizado através de compostos antimoniais pentavalentes (Sb^{+5}), que estão disponíveis no mercado em duas formulações: estibogluconato de sódio e o antimoniato de meglumina (Fig. 2). No Brasil, o medicamento disponível é o antimoniato meglumina, sendo distribuído gratuitamente pelo SUS na forma de ampolas de 5 mL equivalentes a 405 mg de Sb^{+5} . Seu mecanismo de ação é pouco esclarecido, mas sabe-se que o fármaco atua nas formas amastigotas, inibindo, principalmente, a atividade glicolítica e a via oxidativa de ácidos graxos do parasita (BRASIL, 2003).

FIGURA 2 - ESTRUTURA QUÍMICA DOS COMPOSTOS CONTRA LV

Fórmula estrutural proposta	Nome químico Nome comercial
$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{NHCH}_3^+ \\ \\ \text{HCOH} \\ \\ \text{HOCH} \\ \\ \text{HCOH} \\ \\ \text{HCOH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} \cdot (\text{OH})_2\text{Sb}_2\text{O}^- $	Antimoniato de N-metilglucamina ¹⁴ Glucantime®; Antimoniato de meglumina
$ \left[\begin{array}{ccc} \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{HCO} \\ \\ \text{HCO} \\ \\ \text{HCO} \\ \\ \text{COO}^- \end{array} & \begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{Sb} - \text{O} - \text{Sb} \\ \\ \text{O}^- \end{array} & \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{OCH} \\ \\ \text{OCH} \\ \\ \text{OCH} \\ \\ \text{COO}^- \end{array} \\ \end{array} \right] \cdot \text{Na}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O} $	Gluconato de antimônio (V) sódico ^{14,17} ou Estibogluconato de sódio Pentostam® Solustibosan®

Adaptado de RATH et al., 2003.

Este fármaco, também, é utilizado para o tratamento de leishmaniose cutânea e mucocutânea (RATH et al., 2003). Sua aplicação é realizada por via endovenosa ou intramuscular, uma vez ao dia por, no máximo, 40 dias, sendo utilizado em torno de 2 a 3 ampolas/dia (BRASIL, 2003). O antimoniato de meglumina é rapidamente absorvido, sendo majoritariamente excretado pelos rins (RATH et al., 2003). O antimoniato de meglumina possui efeito cardiovascular indesejável, causando arritmia devido aos

distúrbios de repolarização. Por este motivo, após o vigésimo dia de tratamento é aconselhável a realização de eletrocardiogramas semanais para a detecção de possíveis arritmias. Outros efeitos adversos consistem em artralgia, adinamia e dor no local de aplicação (BRASIL, 2003).

Existem tratamentos alternativos para a LV que consistem em diferentes formulações de anfotericina B, miltefosina e pentamidina. Estes fármacos requerem monitoramento hospitalar para sua administração. A anfotericina B age nas formas promastigotas e amastigotas do parasita, interagindo com os esteroides presentes na membrana plasmática da *Leishmania*. No entanto, efeitos adversos como cefaléia, alterações pulmonares, flebite e complicações renais são frequentes ao longo do tratamento do paciente (BRASIL, 2003). Neste sentido, os fármacos utilizados no tratamento de LV possuem certas limitações, como: via de administração; tratamentos prolongados, que requerem hospitalização; custos elevados e efeitos adversos graves. Com isso, a pesquisa e desenvolvimento de novos agentes terapêuticos para esta enfermidade é de extrema importância, principalmente, para países em desenvolvimento (AMARAL et al., 2019).

4.1.3. Agentes Terapêuticos Inovadores com Base na Flora Brasileira

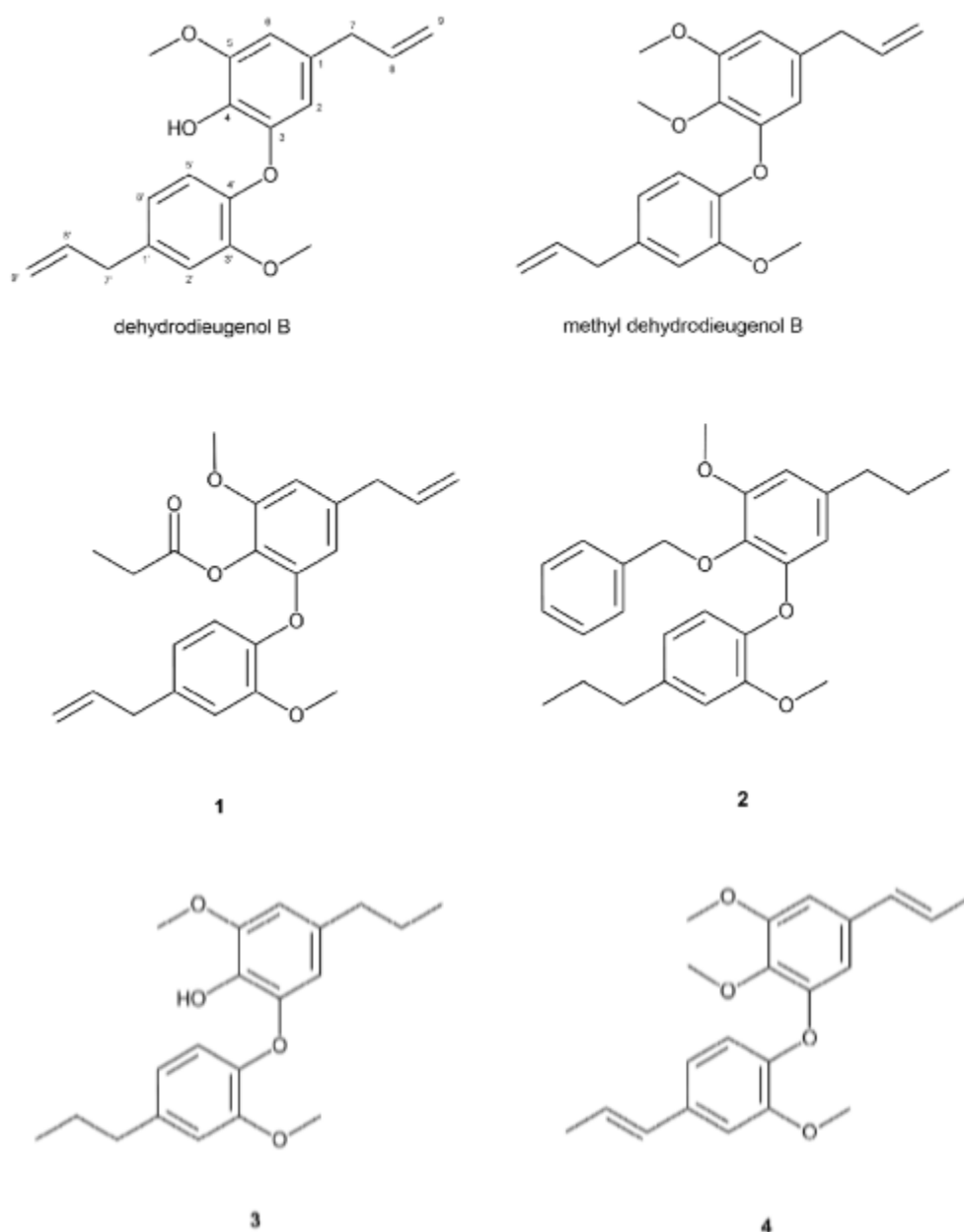
4.1.3.1. Neolignanas de *Nectandra leucantha* Nees

A canela-seca ou canela-branca (*Nectandra leucantha* Nees) é uma espécie endêmica da Mata Atlântica brasileira, sendo distribuída geograficamente nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina (GIEHL, 2021). As ligninas extraídas desta planta são componentes que conferem rigidez e resistência mecânica ao vegetal por se depositarem nos tecidos vasculares, mais precisamente na parede celular das células vegetais (SALIBA et al., 2001).

Amaral e colaboradores (2019) reportaram quatro derivados semissintéticos preparados a partir de neolignanas isoladas da canela-branca, que possuem efeitos contra a forma amastigota de *L. infantum*. As neolignanas foram extraídas e isoladas dos ramos da *N. leucantha* Nees através de técnicas de cromatografia, utilizando colunas de sílica em gel. O desidrodieugenol B foi a neolignana isolada mais seletiva e

com efeitos imunomoduladores mais promissores para o tratamento de LV. Os derivados semissintéticos (Fig. 3) foram sintetizados a partir do desidrodieugenol B e o metil desidrodieugenol B (AMARAL et al., 2019).

FIGURA 3 - ESTRUTURA QUÍMICA DAS LIGNANAS E DERIVADOS



Fonte: AMARAL et al., 2019.

Os testes *in vitro* mostraram a atividade dos derivados e sua toxicidade em mamíferos. A Tabela 3 compara os resultados desses compostos com a miltefosina, fármaco utilizado no tratamento de LV. Os derivados se mostraram eficazes com valores de IC₅₀ variando de 6,1 a 35,9 µM na forma amastigota e 29,0 a 105,4 µM na forma promastigota. Os compostos 1 e 3 mostraram-se mais citotóxicos que os demais compostos. Considerando a relação entre citotoxicidade e atividade contra amastigotas, nota-se que o composto 2 é mais potente e seletivo e por isso recebeu o foco do estudo (AMARAL et al., 2019).

TABELA 3 - ATIVIDADE E CITOTOXICIDADE DOS DERIVADOS CONTRA LV

Compound	IC ₅₀ (µM) ± SD		CC ₅₀ (µM) ± SD NCTC	SI
	Promastigote	Amastigote		
1	93.3 ± 8.4	35.9 ± 6.6	75.0 ± 13.8	2.1
2	105.4 ± 9.4	6.1 ± 1.2	>200	>32.8
3	29.6 ± 2.3	21.7 ± 1.9	57.7 ± 1.1	2.7
4	29.0 ± 0.2	34.5 ± 11.4	>200	>5.8
Miltefosine	5.1 ± 0.6	6.5 ± 3.0	119.7 ± 4.2	18.4

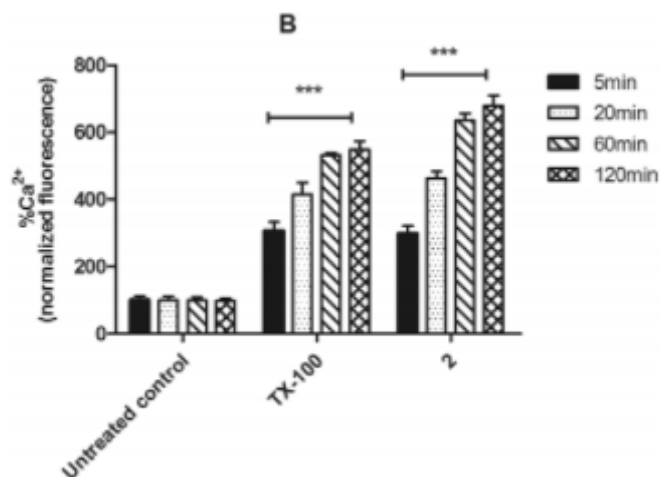
Fonte: AMARAL et al., 2019.

Foram realizadas simulações computacionais utilizando as plataformas FAF-Drugs4 e ADMETlab e foram identificadas características farmacocinéticas e toxicológicas relevantes sobre os compostos. Desta forma, todos os compostos apresentam boa biodisponibilidade oral e não são mutagênicos. O composto 2 apresentou potencial de inibir as enzimas do complexo do CP450, mas não demonstrou hepatotoxicidade. Os compostos 1 e 3 apresentaram maior toxicidade, provavelmente devido às mudanças no grupo fenol. Porém, as modificações realizadas nos compostos 2 e 4 foram bem toleradas e proporcionaram oportunidades para o planejamento de novas moléculas (AMARAL et al., 2019).

O composto 2 mostrou-se promissor por não possuir atividade hemolítica e apresentar mecanismos de ação interessantes contra o parasita, tais como induzir a despolarização transitória na membrana plasmática parasitária (AMARAL et al., 2019).

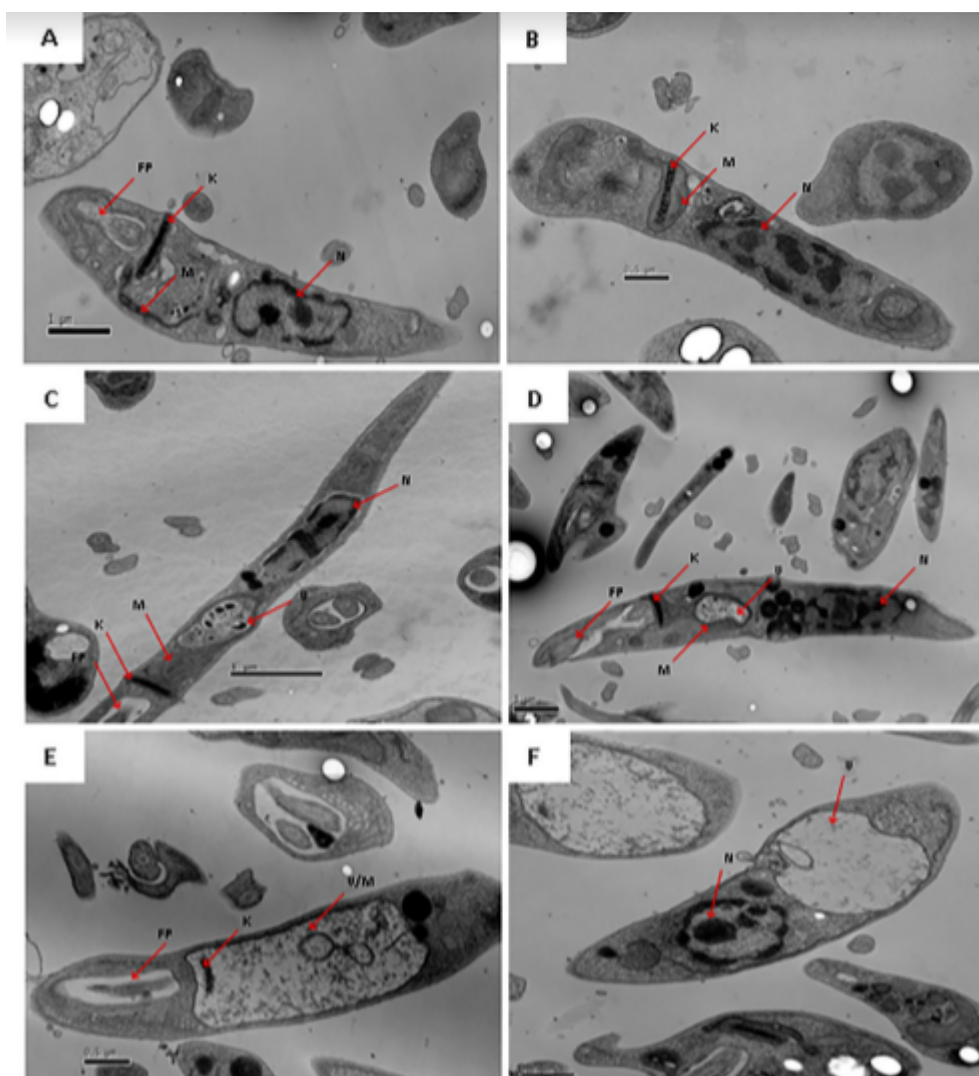
As variações no potencial elétrico da membrana geram desequilíbrio no sistema intracelular de Ca^{2+} , induzindo rápida *up-regulation* dos níveis de cálcio intracelular (Fig. 4). O excesso de Ca^{2+} pode levar a formação de canais de alta condutância por meio das membranas mitocondriais que dissipam o potencial elétrico. Portanto, a mitocôndria do protozoário acaba sendo comprometida, levando a forte despolarização da membrana mitocondrial, o que gera colapso na cadeia respiratória e diminui os níveis de ATP, resultando, conseqüentemente, na redução do metabolismo do parasita e sua morte (AMARAL et al., 2019). Assim, o composto 2 provoca danos na mitocôndria parasitária (Fig. 5). É possível identificar que de acordo com o período de incubação, a mitocôndria incha e após 1 a 2 horas há a formação de vacúolo autofágico e gotículas lipídicas ao redor do núcleo. Depois de 6 horas, percebe-se que a organela sofre danos com a perda das cristas, matriz e estruturas membranosas, que podem contribuir para a disfunção da organela parasitária (AMARAL et al., 2019).

FIGURA 4 - NÍVEIS DE CÁLCIO INTRACELULARES EM PROMASTIGOTAS



Níveis de cálcio conforme tempos de incubação em promastigotas sem tratamento, TX-100 (controle positivo) e composto 2. Fonte: AMARAL et al., 2019.

FIGURA 5 - ESTRUTURA MITOCONDRIAL DE PROMASTIGOTAS



Mudanças estruturais observadas em mitocôndrias de promastigotas. (A) Controle sem tratamento, (B) 0,5 h, (C) 1 h, (D) 2 h, (E) 4 h, (F) 6 h após incubação com o composto 2. K: cinetoplasto, M: mitocôndria, N: núcleo, V: vacúolo, FP: bolso flagelar. Fonte: AMARAL et al., 2019.

Além disso, o composto 2 provoca redução dos níveis de IL-10, TNF e MCP-1 e mesmo assim elimina 100% das amastigotas. A *down-regulation* destas citocinas pró-inflamatórias é importante para que o sistema imune não ataque os tecidos do organismo de forma exacerbada na tentativa de eliminar o parasita (AMARAL et al., 2019).

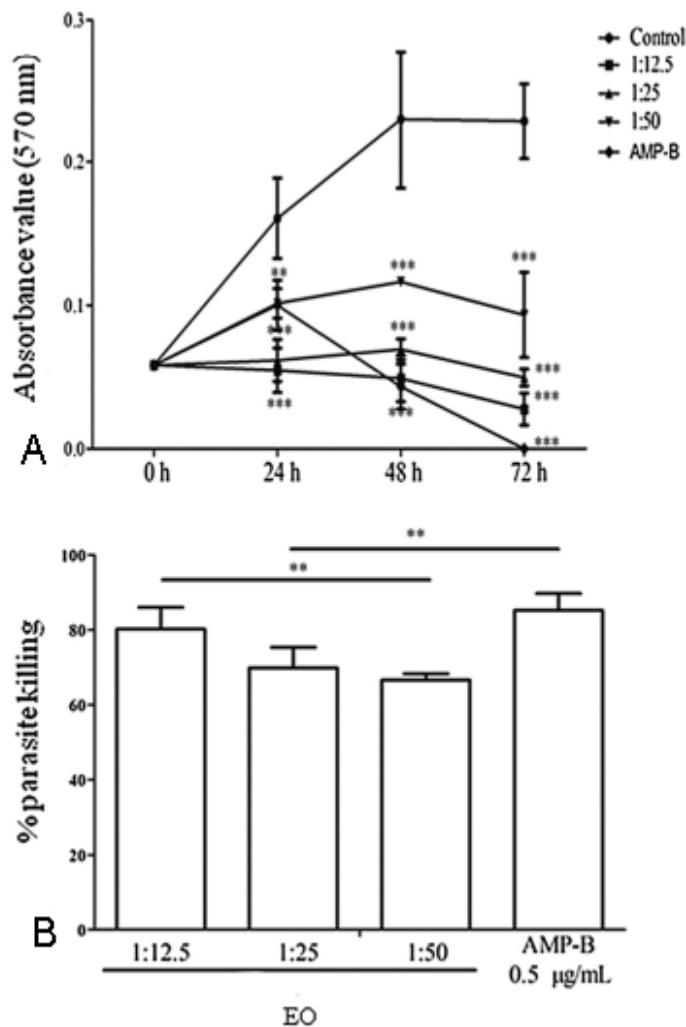
4.1.3.2. Suco clarificado de *Euterpe oleracea* Martius

A palmeira *Euterpe oleracea* Martius, mais conhecida popularmente como açazeiro, é uma espécie muito comum na região Amazônica. O seu suco é muito consumido por apresentar vários benefícios à saúde, como propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e efeitos cardioprotetores. Assim, o suco do açai é muito visado pela indústria de cosméticos e farmacêutica pela alta concentração de polifenóis e antocianinas (BICHARA; ROGEZ, 2011).

O suco clarificado (SC) de açai é preparado através da micro filtração e centrifugação das frutas frescas, este procedimento foi patenteado pela Universidade Federal do Pará (SOUZA-MONTEIRO et al., 2015). As doses de suco clarificado correspondem a 1:12,5 (80 μ L de SC em 920 μ L de meio de cultura), 1:25 (40 μ L de SC em 960 μ L de meio de cultura) e 1:50 (20 μ L de SC em 980 μ L de meio de cultura). O produto final do SC é rico em compostos polifenólicos e antocianinas (SILVA et al., 2018).

O SC possui ação contra as promastigotas de *L. amazonensis* e *L. infantum*. Após 72 h de incubação com o SC, foi observada redução no número de promastigotas de *L. infantum*, conforme as dosagens: 59,12% (1:50), 78,25% (1:25) e 93,88% (1:12,5) (Fig. 6A). Já para as formas amastigotas, os resultados após 72 h de incubação foram: 66,2% (1:50), 72,1% (1:25) e 82,9% (1:12,5) (Fig. 6B) (SILVA et al., 2018).

FIGURA 6 - RESULTADOS DA INCUBAÇÃO DE *L. infantum* COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SC



(A) Foram analisadas amostra controle, concentrações de promastigotas 1:12,5; 1:25 e 1:50 e 0.5 µg/mL de AMP-B. (B) Foram analisadas concentrações de amastigotas 1:12,5; 1:25 e 1:50 e 0.5 µg/mL de AMP-B. Adaptado de: SILVA et al., 2018.

A partir de 48 h de tratamento com o SC, percebeu-se aumento do número de células pequenas de promastigotas de *L. infantum* na diluição 1:12,5 (Fig. 7). Porém, na diluição 1:25 observou-se duas populações de células, as pequenas e alongadas, o que indica que a diluição 1:12,5 é mais promissora na redução do tamanho celular do parasita e na sua possível inibição (SILVA et al., 2018).

FIGURA 7 - EFEITOS MORFOLÓGICOS EM PROMASTIGOTAS DE *L. infantum*

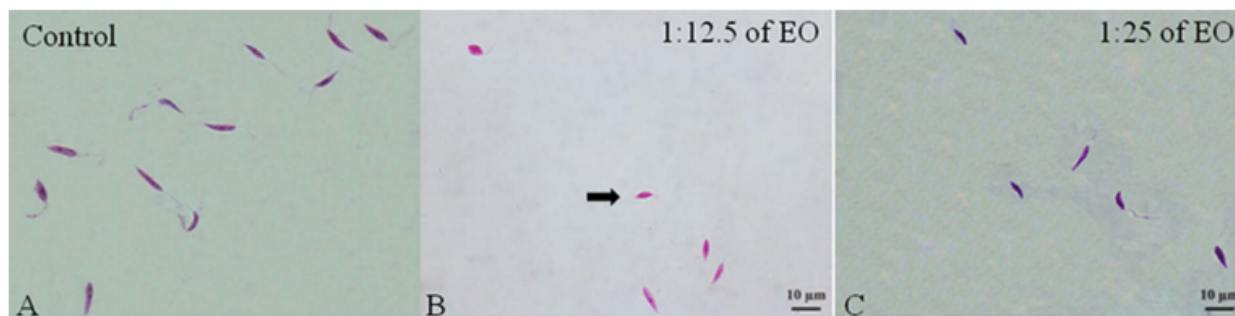


Imagem obtida por microscopia óptica. Adaptado de: SILVA et al., 2018.

Foram investigados possíveis mecanismos de ação do SC contra a forma promastigota de *L. infantum* utilizando um kit de CellRox - kit de citometria de fluxo, que permite a detecção de espécies reativas de oxigênio (ERO) em células vivas. Notou-se um aumento da produção de EROs em promastigotas de *L. infantum* tratadas por 48 h com SC nas diluições 1:12,5, 1:25 e 1:50, que induziram a morte do protozoário por apoptose e redução nos níveis da citocina IL-17A (citocina importante para a proliferação do protozoário) em macrófagos infectados. Um fato interessante observado foi de que o SC provocou a morte de amastigotas de *L. infantum* mesmo com a presença de IL-10, citocina antiinflamatória. Não foram observados efeitos citotóxicos contra as células humanas durante o tratamento com o SC, evidenciando a ação mais seletiva do SC em protozoários (SILVA et al., 2018).

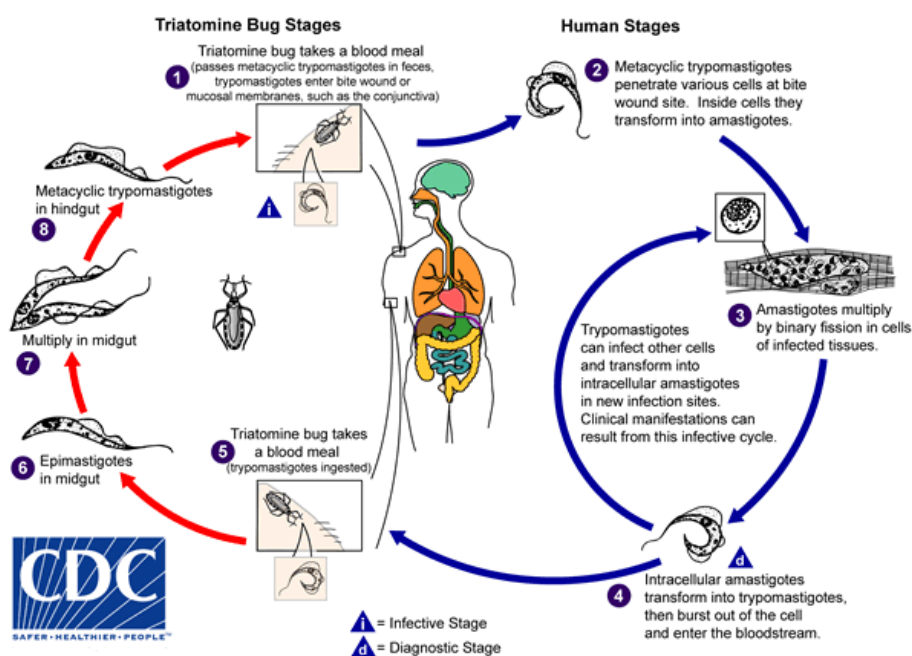
4.2. Doença de Chagas

A doença de Chagas (DC) é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. Esta antroponose possui duas fases clínicas: a fase aguda e crônica. Uma vez sem tratamento adequado, a fase aguda geralmente assintomática evolui para a fase crônica, que pode se manifestar de forma indeterminada (sem manifestações clínicas), cardíaca, digestiva ou cardiodigestiva (BRASIL, 2021).

O *T. cruzi* possui duas formas nos seres humanos. A forma tripomastigota é flagelada, esta não se divide em células sanguíneas, mas carrega a infecção pelo corpo. Já a forma amastigota não possui flagelo e se multiplica dentro das células, preferencialmente as células de origem mesenquimal (Fig. 8). Os principais

reservatórios são gambás, cachorros e tatus. Esta enfermidade é transmitida por triatomíneos, insetos mais conhecidos como barbeiros ou percevejos. Tais vetores habitam em áreas florestais e estão distribuídos pela América Latina, México, Argentina e Chile. A DC pode ser transmitida não somente pelo vetor, mas também por transfusões de sangue ou por consumo de comidas e bebidas contaminadas com as fezes do barbeiro (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018).

FIGURA 8 - CICLO DE INFECÇÃO DA DOENÇA DE CHAGAS



Fonte: Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2019.

4.2.1. Dados Epidemiológicos

A DC é uma enfermidade endêmica em 21 países da América Latina, sendo que os mais afetados são: Bolívia, Argentina e Paraguai. Esta doença era restrita em áreas rurais e pobres do continente sulamericano, porém o processo de urbanização e migração ocasionou a dispersão da doença em áreas urbanas anteriormente não afetadas (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018).

No Brasil, foram registrados 2.756 casos de DC entre 2010 e 2020 (Tabela 4). Durante esse período, a região Norte teve maior incidência do número de casos em

comparação às outras regiões (Tabela 5) (DATASUS, 2022). O estado do Pará registrou 81% de casos decorrentes de transmissão oral na região Norte entre os anos de 2001 a 2018, esta alta incidência é justificada pelo alto cultivo de açaí e bacaba na região e pelo consumo desses produtos infectados pelas fezes do triatomíneo (FIOCRUZ, 2020).

TABELA 4 - DADOS EPIDEMIOLÓGICOS DA DOENÇA DE CHAGAS NO BRASIL (2010- 2020)

Ano 1º Sintoma(s)	Casos confirmados
TOTAL	2.756
2010	136
2011	170
2012	199
2013	152
2014	209
2015	288
2016	353
2017	338
2018	383
2019	386
2020	142

Fonte: Ministério da Saúde/SVS - Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan Net, 2022.

TABELA 5 - CASOS CONFIRMADOS DE DOENÇA DE CHAGAS NO BRASIL SEGUNDO REGIÃO DE NOTIFICAÇÃO (2010- 2020)

Região de notificação	Casos confirmados
TOTAL	2.756
1 Região Norte	2.600
2 Região Nordeste	110
3 Região Sudeste	12
4 Região Sul	4
5 Região Centro-Oeste	30

Fonte: Ministério da Saúde/SVS - Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan Net, 2022.

No período de março a agosto de 2020, foram reportados 125.691 óbitos no Brasil por COVID-19, sendo que 207 indivíduos possuíam DC - comorbidade que contribuiu para a morte dos pacientes. Vale ressaltar que os casos suspeitos ou confirmados da fase aguda da doença possuem notificação compulsória (BRASIL, 2021).

4.2.2. Tratamento Terapêutico Atual

O tratamento de DC é realizado através de dois fármacos: benznidazol e nifurtimox. No Brasil, o benznidazol é o fármaco de escolha para o tratamento, sendo distribuído gratuitamente pelo SUS (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). O benznidazol tem perfil de tolerabilidade mais aceitável, maior penetração nos tecidos e, possivelmente, maior eficácia. Seu mecanismo de ação consiste na ligação de seus intermediários nitrorreduzidos em moléculas de DNA, impedindo o crescimento do parasita. Este medicamento é administrado oralmente, em duas a três doses ao dia por 60 dias (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018).

O benznidazol tem atividade considerável, 100% dos pacientes com a doença congênita são curados desde que tratados no primeiro ano de vida. Além disso, a cura sorológica é alcançada em 76% dos pacientes com doença aguda. Já na fase crônica, as taxas de cura são mais inferiores: 60 a 93% em crianças de até 13 anos e 2 a 40% em adultos com a doença crônica tratada tardiamente (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018).

O tratamento medicamentoso visa a redução da parasitemia, melhora clínica do paciente e aumento da expectativa e qualidade de vida. O tratamento de pacientes diagnosticados na forma aguda da doença deve ser imediato. Já o tratamento em pessoas na fase crônica indeterminada varia conforme a idade. O tratamento é altamente adequado em crianças e adolescentes pelo fato dos medicamentos serem bem tolerados. Para adultos com menos de 50 anos, o tratamento continua vantajoso por reduzir as chances de doenças cardíacas. Já adultos com idade superior a 50 anos o tratamento com antiparasitário é incerto, pois a incidência dos efeitos adversos aumenta para mais de 50%, afetando a qualidade de vida dos pacientes. Além disso, pacientes com cardiopatia chagásica em fase inicial ou outras alterações cardiológicas devem ponderar o tratamento antiparasitário junto ao médico devido aos altos riscos e incertezas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

Os principais efeitos adversos do uso do benznidazol consistem em: parestesias, artralguas e complicações digestivas. Também, é comum o relato de complicações dermatológicas como dermatites e rash cutâneo. Uma complicação mais grave é a depressão da medula óssea. A frequência destes eventos em pacientes é de cerca de

53%. Já o nifurtimox possui frequência de efeitos adversos em 85% dos pacientes, causando principalmente intolerância gastrointestinal e problemas reumatológicos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

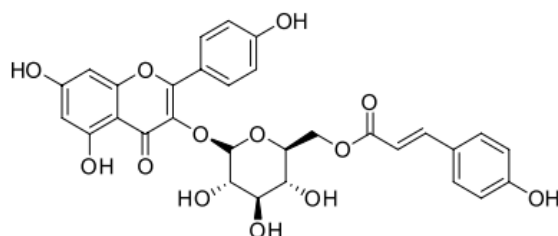
4.2.3. Agentes Terapêuticos Inovadores com Base na Flora Brasileira

4.2.3.1. Flavonóides de *Spiranthera odoratissima*

A *Spiranthera odoratissima* A. St.-Hil., mais conhecida como manacá, é um arbusto distribuído geograficamente no cerrado brasileiro, mais precisamente nos estados do Mato Grosso e Goiás. Esta planta é utilizada pela população local para o tratamento de dores musculares, reumatismo e inflamações em geral (MATOS et al., 2014).

Cornélio e colaboradores (2017) descreveram a atividade inibitória de flavonóides de *Spiranthera odoratissima* contra enzimas envolvidas na via glicolítica do *T. cruzi*. A extração do material ocorreu através do processo de maceração etanólica utilizando o caule seco do manacá. Já o processo de isolamento do flavonóide ocorreu através do fracionamento guiado por bioatividade. Por meio de extrações líquido-líquido e técnicas de cromatografia, foi possível o isolamento do tilirosídeo (canferol-3-O-(6"-O-p-cumaroil)- β -D-glucopirranose) (Fig. 9). Este tilirosídeo mostrou alta atividade inibitória contra a enzima GAPDH, enzima glicolítica que catalisa a fosforilação do G3P em 1,3-DPGA na presença de NAD⁺ e fosfato inorgânico. Esta enzima é responsável pela quebra da glicose e obtenção da energia para o protozoário (CORNÉLIO et al., 2017).

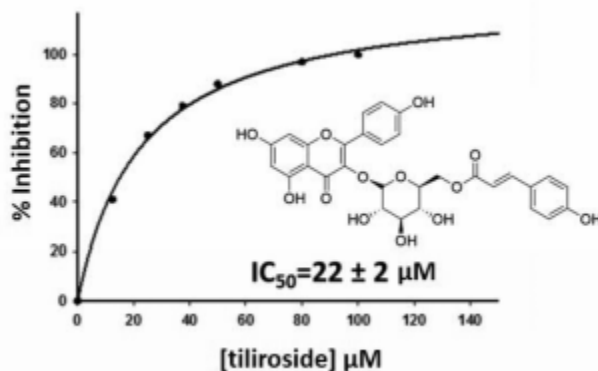
FIGURA 9 - ESTRUTURA MOLECULAR DO TILIOSÍDEO



Fonte: Cornélio et al., 2017.

O tirilosídeo apresentou atividade inibitória em enzimas recombinantes purificadas de GAPDH em *E. coli* com a inibição dose-dependente, sendo o valor de IC_{50} correspondente a $22 \pm 2 \mu\text{M}$ (Fig. 10) (CORNÉLIO et al., 2017).

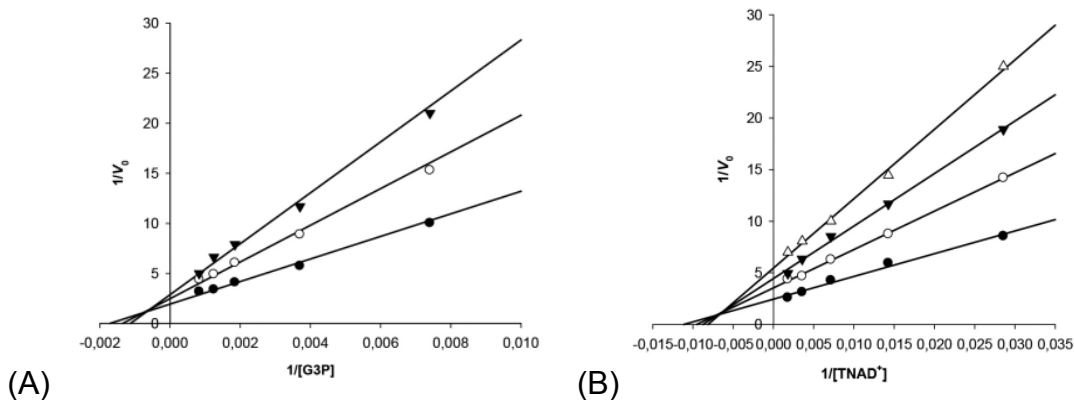
FIGURA 11 - CURVA DOSE DEPENDENTE DE TILIOSÍDEO



Adaptado de: Cornélio et al., 2017.

Para a avaliação da eficácia da inibição provocada pelo tirilosídeo, foram utilizadas três concentrações do flavonóide 5, 10 e 20 μM . A inibição da GAPDH foi avaliada na presença de doses crescentes do substrato e cofator, G3P e NAD^+ , respectivamente. É possível observar que as características farmacocinéticas como $V_{\text{máx}}$ e K^m mudam conforme ocorre o aumento das concentrações do inibidor, se comportando como inibidor não competitivo (Fig. 11). Nota-se que a $V_{\text{máx}}$ decresce com o aumento da concentração do inibidor (CORNÉLIO et al., 2017).

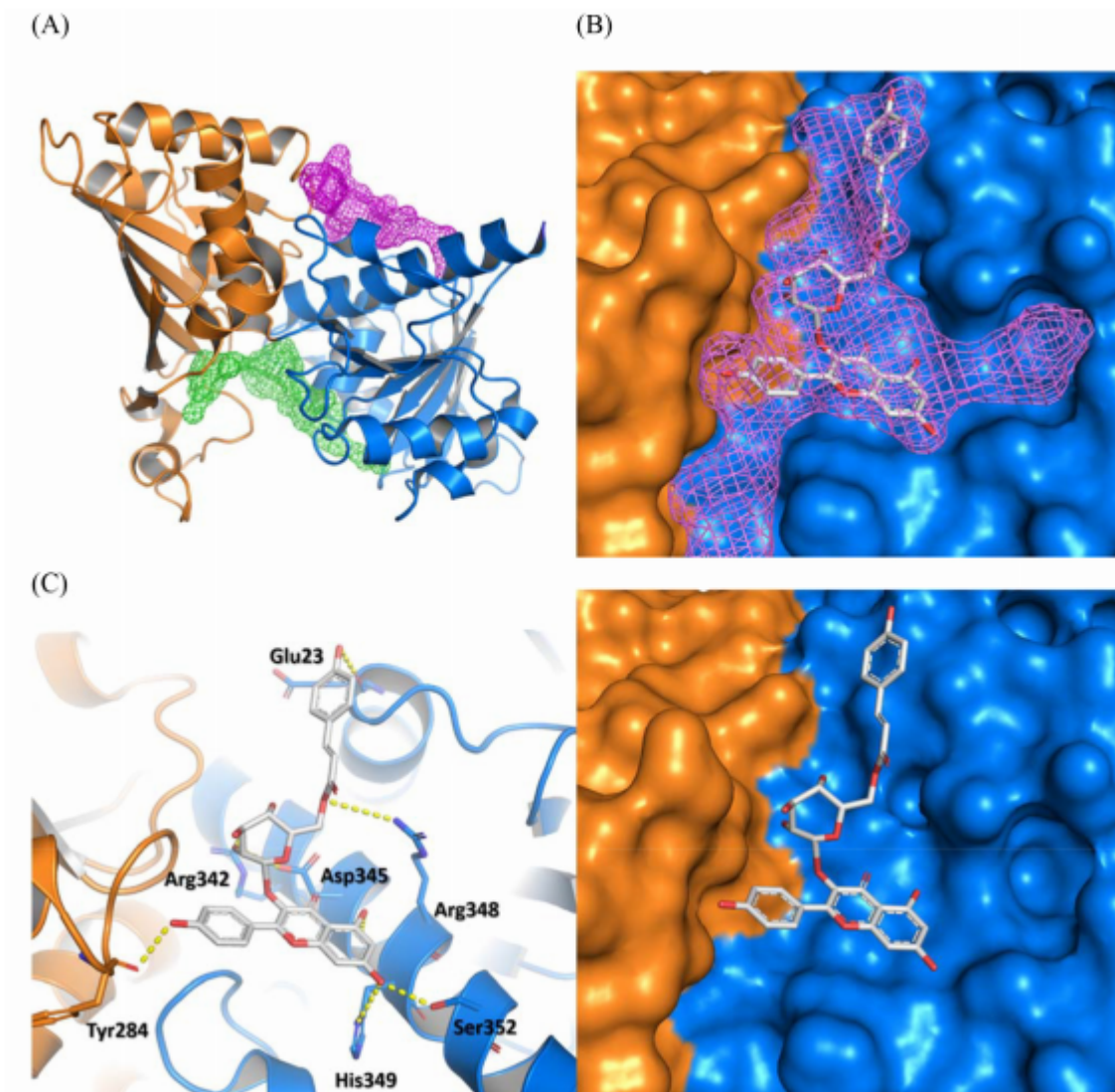
FIGURA 11 - PERFIL INIBITÓRIO NÃO COMPETITIVO DO TILIOSÍDEO



(A) Comportamento do tilirosídeo conforme aumento da concentração do substrato G3P, 5 μM (\circ), 10 μM (\square) e sem inibidor (\bullet). (B) Comportamento do tilirosídeo conforme aumento da concentração do cofator NAD^+ , 5 μM (\circ), 10 μM (\square), 20 μM (Δ) e sem inibidor (\bullet). Adaptado de: Cornélio et al., 2017.

Por modelagem molecular, foram identificados os bolsões na enzima GAPDH que possibilitam a ligação com o tilirosídeo. O mecanismo de inibição do flavonóide sugere que o seu sítio de ligação encontra-se em um bolsão diferente da ligação do substrato e do cofator. A enzima possui quatro subunidades iguais, sendo que cada monômero tem dois domínios estruturais que correspondem às regiões de ligação do NAD^+ e o sítio catalítico (Fig. 12A). Além disso, verificou-se a formação de uma região de dobradiça entre esses dois domínios que se acentua com a ligação do NAD^+ na sua região de ligação (Fig. 12B). Assim, nesta conformação o tilirosídeo estabelece ligações de hidrogênio com aminoácidos da enzima, como pode ser observada ligação de hidrogênio da 3-hidroxila do anel 4*H*-cromen-4-ona com as cadeias laterais de Ser352 e His349 (Fig. 12C). Adicionalmente, os grupos hidrofóbicos do tilirosídeo realizam interações de Van der Waals com os aminoácidos, isso garante maior estabilidade da estrutura (CORNÉLIO et al., 2017). Desta forma, o inibidor liga-se na região de dobradiça e “congela” a enzima em uma conformação que impede a mudança conformacional necessária para a ligação do substrato ao sítio catalítico. Portanto, o tilirosídeo funciona como um inibidor não competitivo, como citado anteriormente (CORNÉLIO et al., 2017).

FIGURA 12 - PERFIL DE LIGAÇÃO DO TILIOSÍDEO NA ENZIMA GAPDH



(A) Domínios estruturais da enzima, o sítio de ligação do NAD⁺ e região catalítica correspondem às cores laranja e azul, respectivamente. Já as malhas verde e magenta correspondem, respectivamente, aos locais de ligação do cofator/substrato e local da região de dobradiça. (B) Ligação do tilirosídeo na região de dobradiça. (C) Visão detalhada da ligação do inibidor ao receptor, os traços amarelos correspondem às ligações de hidrogênio. Adaptado de: Cornélio et al., 2017.

4.2.3.2. Óleo Essencial de Flores de *Psidium guajava*

A goiabeira (*Psidium guajava* L.) é uma árvore frutífera de pequeno porte, nativa da América Latina, ocorrendo espontaneamente em todo território brasileiro. Esta planta possui flores brancas ricas em óleos essenciais (ANDRADE; ZANINETTI; FERREIRA, 2015). A goiabeira possui ampla versatilidade, os seus frutos são utilizados como

alimento, já as raízes, folhas e flores são utilizados com fins terapêuticos (MORAIS-BRAGA et al., 2016).

O óleo essencial de *Psidium guajava* L. é obtido através de flores frescas. O processo de extração utiliza a técnica de hidrodestilação em um aparelho Clevenger. Os principais compostos do óleo essencial foram α -cadinol e β -cariofileno, em concentrações de 37,8% e 12,2%, respectivamente (FERNANDES et al., 2021).

Fernandes et al. (2021) avaliaram a atividade do óleo essencial de *P. guajava* frente a forma tripomastigota do parasita nas doses que variam de 6,25 a 400 $\mu\text{g/mL}$. Os resultados obtidos mostraram que o óleo essencial foi ativo contra *T. cruzi*, ocorrendo a redução da viabilidade celular dos tripomastigotas, conforme o aumento da concentração do óleo essencial. A IC_{50} do óleo essencial foi igual a 14,6 $\mu\text{g/mL}$, enquanto que o benznidazol (controle positivo) apresentou $\text{IC}_{50} = 9,8 \mu\text{g/mL}$ (Tabela 6) (FERNANDES et al., 2021).

TABELA 6 - ATIVIDADE CONTRA TRIPOMASTIGOTAS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *P. guajava*

	% of lysis \pm S.D./concentration ($\mu\text{g/mL}$)							IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
	6.25	12.5	25	50	100	200	400	
PG-EO	17.6 \pm 4.2	58.9 \pm 4.0	57.5 \pm 0.4	79.1 \pm 4.9	96.9 \pm 0.8	99.9 \pm 0.8	99.5 \pm 0.4	14.6
PG-EO: essential oil from <i>P. guajava</i> flowers; S.D. Standard deviation; Positive control: benznidazole ($\text{IC}_{50} = 9.8 \mu\text{g/mL}$).								

Fonte: Fernandes et. al., 2021

O possível mecanismo de ação para a ação tripanomicida do óleo essencial de *P. guajava* se deve aos constituintes terpênicos que garantem caráter hidrofóbico aos óleos essenciais, permitindo que compostos como o α -cadinol possam permear pela membrana plasmática do parasita e afetar diversas vias metabólicas parasitárias. Além disso, o sinergismo entre os constituintes do óleo essencial pode contribuir para a interação com a membrana do parasita e causar mudanças fisiológicas como a perda de sua permeabilidade (BORGES et. al, 2012).

Com relação a citotoxicidade, o teste foi realizado com células LLCMK₂, sendo que o óleo essencial de *P. guajava* apresentou toxicidade moderada, apresentando $\text{CC}_{50} = 250,5 \mu\text{g/mL}$, enquanto que o benznidazol tem $\text{CC}_{50} = 147,3 \mu\text{g/mL}$ (Tabela 7) (FERNANDES et. al, 2021).

TABELA 7 - CITOTOXICIDADE DE ÓLEO ESSENCIAL DE *P. guajava* EM CÉLULAS EPITELIAIS

	% of lysis \pm S.D./concentration ($\mu\text{g/mL}$)							CC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
	6.25	12.5	25	50	100	200	400	
PG-EO	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0	86.3 \pm 2.7	62.2 \pm 0.9	35.9 \pm 1.1	15.2 \pm 4.3	250.5

PG-EO: essential oil from *P. guajava* flowers; S.D. Standard deviation.

Fonte: Fernandes et. al., 2021.

4.3. Dengue

A dengue é uma doença febril aguda causada pelo vírus da dengue, um arbovírus do gênero Flavivírus, em que atualmente são conhecidos quatro sorotipos. A forma clássica possui evolução benigna, porém, quando evolui para sua forma hemorrágica, a situação clínica é considerada grave. Esta doença é tida como um grave problema no sistema de saúde de países tropicais, como o Brasil, já que as condições ambientais presentes nesses países propiciam a proliferação dos principais vetores desta doença, os mosquitos da espécie *Aedes* - *A. aegypti* ou *A. albopictus* (BRASIL, 2002). A doença provoca gastos de aproximadamente 39 bilhões de dólares por ano com o tratamento médico, controle de vetores e produtividade perdida (FURTADO et. al., 2019).

O mosquito *Aedes* é um vetor urbano com hábitos diurnos e que se reproduz em repositórios de água. O ciclo de transmissão inicia-se quando o mosquito fêmea pica uma pessoa infectada, uma vez dentro do vetor, o vírus se reproduz no intestino do mosquito até alcançar as glândulas salivares e, conseqüentemente, a corrente sanguínea da próxima pessoa picada. No organismo humano, o vírus se reproduz em órgãos como o baço, fígado e células sanguíneas. O período de incubação desta doença varia, em média, de cinco a seis dias (FURTADO et. al, 2019).

Os aspectos clínicos desta doença variam desde infecções inaparentes até hemorragia e morte. A dengue clássica possui sintomas muito variáveis, pois depende, principalmente, do sorotipo e do paciente, os principais sintomas são febre, cefaléia, náuseas, vômitos e artralgia que duram cerca de cinco a sete dias (BRASIL, 2002). Já a dengue hemorrágica é mais grave, a sintomatologia inicial é similar à dengue clássica, mas evolui rapidamente para manifestações hemorrágicas e alteração da

permeabilidade vascular, acarretando no aumento de hematócrito e hemoconcentração resultando em choque hipovolêmico (FURTADO et. al, 2019).

As células mononucleares, como monócitos e células dendríticas, são os principais alvos do vírus da dengue no organismo humano. Uma vez que essas células são ativadas após a infecção, são produzidas citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-6, IL-8), que levam a ativação de células endoteliais e aumento da permeabilidade vascular, desencadeando as formas mais graves da doença (REIS et al., 2008).

4.3.1. Dados Epidemiológicos

Aproximadamente 4 bilhões de pessoas no mundo moram em áreas de risco de contaminação por dengue. Anualmente, 400 milhões de pessoas são infectadas pelo vírus, 100 milhões adquirem infecção e 40 mil morrem devido às complicações da dengue severa. Surtos de dengue são frequentes em diversas regiões como América do Sul e Central, África, Oriente Médio, Ásia e Ilhas do Pacífico (CDC, 2021).

Nas últimas décadas, o Brasil foi destaque em quatro grandes epidemias causadas pelos quatro tipos de sorotipos virais. Os sorotipos DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 foram evidenciados nos anos de 1998, 2008, 2002 e 2010, respectivamente (FURTADO et. al, 2019).

De acordo com o último Boletim Epidemiológico, foram notificados no Brasil no ano de 2021, 103.595 casos prováveis de dengue - redução de 74,3% dos casos em comparação ao ano de 2020 (Tabela 8). A região Sudeste apresenta o maior número de casos em comparação às outras regiões (41.320 casos), provavelmente, por ser uma área urbana densamente povoada e com alto fluxo populacional, devido às atividades econômicas e turismo, favorecendo assim, a disseminação do vírus pelo vetor. Em relação à incidência de dengue em relação ao número de casos/100 mil habitantes, a região Centro-Oeste possui maior destaque (BRASIL, 2021).

TABELA 8 - DADOS EPIDEMIOLÓGICOS DE DENGUE NO ANO DE 2021

Região/UF	Dengue SE 10		Chikungunya SE 10		Zika SE8	
	Casos	Incidência (casos/100 mil hab.)	Casos	Incidência (casos/100 mil hab.)	Casos	Incidência (casos/100 mil hab.)
Norte	15.821	84,7	361	1,9	82	0,44
Rondônia	629	35,0	109	6,1	8	0,45
Acre	11.778	1.316,8	88	9,8	31	3,47
Amazonas	2.030	48,2	16	0,4	18	0,43
Roraima	27	4,3	8	1,3	1	0,16
Pará	851	9,8	91	1,0	6	0,07
Amapá	51	5,9	6	0,7	1	0,12
Tocantins	455	28,6	43	2,7	17	1,07
Nordeste	10.564	18,4	3.528	6,1	242	0,42
Maranhão	483	6,8	18	0,3	12	0,17
Piauí	211	6,4	12	0,4	1	0,03
Ceará	1.713	18,6	153	1,7	34	0,37
Rio Grande do Norte	463	13,1	188	5,3	24	0,68
Paraíba	639	15,8	806	20,0	13	0,32
Pernambuco	1.950	20,3	653	6,8	45	0,47
Alagoas	106	3,2	8	0,2	6	0,18
Sergipe	126	5,4	229	9,9	9	0,39
Bahia	4.873	32,6	1.461	9,8	98	0,66
Sudeste	41.320	46,4	3.674	4,1	65	0,07
Minas Gerais	8.156	38,3	1.026	4,8	23	0,11
Espírito Santo ¹	1.367	33,6	350	8,6	0	0,00
Rio de Janeiro	293	1,7	79	0,5	10	0,06
São Paulo	31.504	68,1	2.219	4,8	32	0,07
Sul	15.152	50,2	89	0,3	15	0,05
Paraná	13.083	113,6	34	0,3	1	0,01
Santa Catarina	881	12,1	48	0,7	6	0,08
Rio Grande do Sul	1.188	10,4	7	0,1	8	0,07
Centro-Oeste	20.738	125,7	126	0,8	44	0,27
Mato Grosso do Sul	4.992	177,7	46	1,6	5	0,18
Mato Grosso	4.420	125,3	34	1,0	30	0,85
Goiás	9.124	128,3	30	0,4	8	0,11
Distrito Federal	2.202	72,1	16	0,5	1	0,03
Brasil	103.595	48,9	7.778	3,7	448	0,21

Fonte: Brasil, 2021.

4.3.2. Tratamento Terapêutico Atual

Atualmente, não há um tratamento específico contra o vírus da dengue. Neste sentido, o tratamento da dengue clássica consiste no uso de analgésicos e antitérmicos, como paracetamol e dipirona para o alívio dos principais sintomas. Não é recomendável a prescrição de salicilatos e antiinflamatórios não hormonais, pois o seu uso pode potencializar as manifestações hemorrágicas e aumentar os níveis de ácido no sangue. Em casos de dengue hemorrágica, os pacientes geralmente são internados a fim de se observar qualquer sinal de choque e realizar o manejo clínico apropriado

através da reidratação com soro via intravenosa e a utilização de medicamentos anti-hemorrágicos. Em ambas as formas da doença, a hidratação e o repouso são medidas que facilitam o tratamento contra o vírus da dengue no organismo (BRASIL, 2002).

4.3.3. Agentes Terapêuticos Inovadores com Base na Flora Brasileira

4.3.3.1. Extrato Etanólico de *Cissus erosa* (Vitaceae)

Cissus erosa (Vitaceae) é uma planta trepadeira amplamente distribuída desde o México até a América do Sul. No Brasil é mais conhecida como Cipó Fogo, está presente no Cerrado majoritariamente na forma arbustiva, na Amazônia em forma de lianas e em regiões de Caatinga e Mata Atlântica (ARAÚJO et al., 2020). O Cipó Fogo é uma planta medicinal utilizada principalmente para o tratamento de verrugas e úlceras externas (REIS et al., 2020).

Reis et al. (2020) avaliaram a atividade antiviral do extrato etanólico proveniente do caule e das folhas da espécie em relação aos vírus da Dengue e Zika utilizando métodos colorimétricos.

As folhas e caules da *Cissus erosa* (Vitaceae) foram coletados, separados e secos a 40 °C. Em seguida, o material vegetal foi triturado e extraído utilizando etanol a 96% a temperatura ambiente. O solvente foi removido com o auxílio de um rota-evaporador. A partir do extrato realizou-se a caracterização fitoquímica do material, utilizando técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas. A análise fitoquímica de *C. erosa* identificou a presença de diversos compostos como flavonóides, taninos e terpenóides. Os flavonóides detectados em grande proporção foram vitexina, isovitexina, orientina e isoorientina (REIS et al., 2020).

Os resultados da atividade antiviral *in vitro* contra o vírus da dengue tipo 2 foram realizados em células LLCMK₂, utilizando concentrações que variam entre 500 a 1,95 µg/mL e contra o vírus Zika em células da linhagem Vero, empregando concentrações que variam entre 400 a 1,56 µg/mL. Conforme observado na Tabela 9, o extrato proveniente das folhas apresentou EC₅₀ equivalente a 18,2 µg/ml para o vírus da

dengue e 82,8 µg/ml para o vírus do Zika. Já o extrato proveniente do caule não apresentou atividade antiviral contra o vírus da dengue, mas ainda se mostrou ativo contra o vírus do Zika. Foram utilizados dois controles positivos neste ensaio: interferon α e ribavirina. Pode-se observar as concentrações de citotoxicidade nos extratos da folha e caule, bem como o índice de seletividade (REIS et al., 2020).

TABELA 9 - ATIVIDADE ANTIVIRAL (EC₅₀) E CITOTOXICIDADE (CC₅₀) DOS EXTRATOS DE *C. erosa*

Extract / Positive control	LLCMK ₂	DENV-2	SI ^c	Vero	ZIKV	SI ^c	
	CC ₅₀ µg/mL ^a	EC ₅₀ µg/mL ^b		CC ₅₀ µg/mL ^a	EC ₅₀ µg/mL ^b		
<i>Cissus erosa</i>	Leaves	> 500.0	18.2 ± 0.7	> 27.5	309.2 ± 14.1	82.8 ± 2.4	3.7
	Stems	83.5 ± 16.9	NA ^d		387.6 ± 9.0	45.8 ± 3.1	8.5
Interferon α							2.5 × 10 ^{3c}
Ribavirin					370.4 ± 1.2	94.5 ± 2.7	3.9

^a = 50 % cytotoxic concentration; ^b = 50 % effective concentration of viral replication; ^c = SI (Selectivity index): ratio between extract CC₅₀ and EC₅₀ ;

^d = NA: No active; ^e = 80 a 100 % cytopathic effect inhibition and UI/mL concentration.

Fonte: Reis et al., 2020

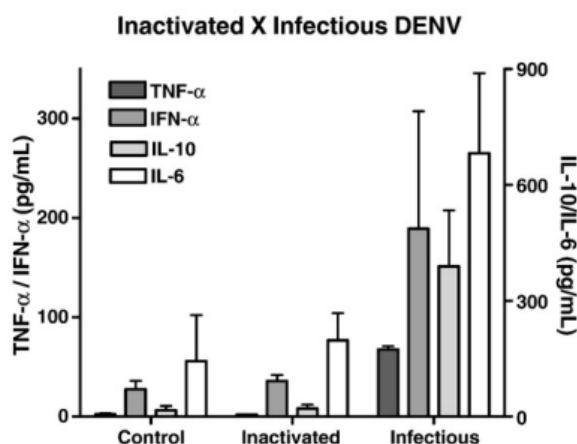
4.3.3.2. Extrato Etanólico de *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC

A *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC, conhecida popularmente como Unha-de-Gato, é uma planta encontrada nas zonas tropicais da Floresta Amazônica brasileira e demais países da América do Sul. A Unha-de-Gato é uma espécie de trepadeira, que possui este nome por ter espinhos em formato de garra de gato. Seu uso medicinal foi descoberto pelos indígenas peruanos que utilizavam as cascas, raízes e folhas para produção de chás medicinais com efeitos antiinflamatórios, antivirais e antimutagênicos (MIRANDA, 2005). Tais propriedades terapêuticas são decorrentes da presença de alcalóides indólicos, glicosídeos e flavonóides, que individualmente ou sinergicamente estimulam o organismo contra tumores, vírus e inflamações (REIS et al., 2008).

Reis e colaboradores (2008) avaliaram a atividade antiviral e imunomoduladora do extrato etanólico de Unha-de-Gato em monócitos infectados com o vírus da dengue tipo 2. Neste estudo, foi utilizado o extrato hidroetanólico de *U. tomentosa*, a partir deste foram derivadas duas frações particionadas - fração com alcalóides e sem alcalóides. As amostras foram submetidas a processos de cromatografia em camada delgada e

cromatografia líquida de alta eficiência para identificação dos compostos em ambas frações. Após a infecção do vírus da dengue nas células humanas, observou-se que o alvo principal do vírus foram as células CD14+. Através da técnica de citometria de fluxo, foi possível identificar antígenos virais nos monócitos a partir do segundo dia após a infecção, indicando a replicação viral. Com isso, foi coletado o sobrenadante da cultura celular diariamente e detectou-se a presença de oito citocinas diferentes, dentre elas as citocinas pró-inflamatórias, TNF- α , IL-6 e IL-10 (Fig.13). Logo, a partir dos dois dias de infecção, foram realizados os testes com o extrato de *U. tomentosa* (REIS et al., 2008).

FIGURA 13 - PERFIL DE CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS EM CÉLULAS INFECTADAS

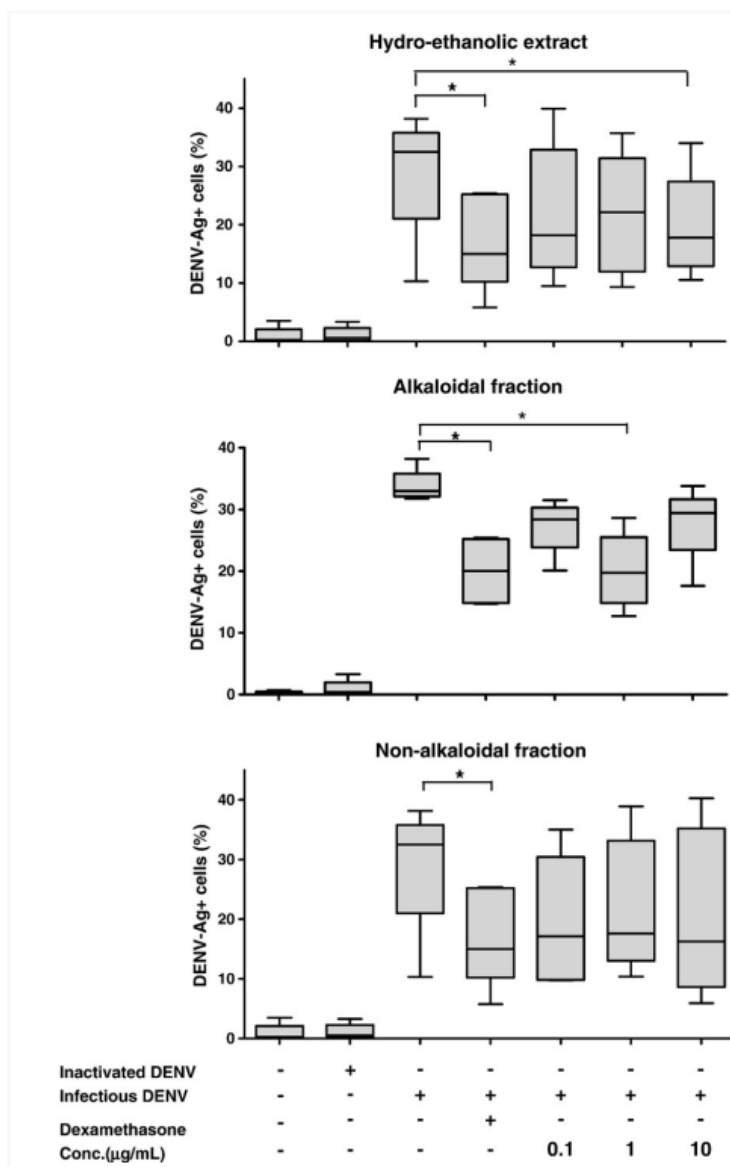


Após a infecção dos monócitos *in vitro*, nota-se o aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias no sobrenadante celular em comparação com o grupo controle e células inativadas com calor.

Fonte: Reis et. al., 2008

As culturas de monócitos infectadas pelo vírus da dengue foram tratadas com o extrato etanólico bruto de *U. tomentosa*, assim como, com as frações com alcalóide e sem alcalóide. Tais extratos foram comparados com a dexametasona após dois dias de cultura. Pode se observar que através a concentração de 10 $\mu\text{g/mL}$ de extrato etanólico bruto houve diminuição significativa da presença de antígenos em monócitos, já a fração rica em alcalóides apresentou maiores efeitos inibitórios com apenas 1 $\mu\text{g/mL}$, enquanto que nenhum efeito foi observado na fração não alcalóide. A dexametasona apresentou resultados semelhantes àquelas de *U. tomentosa* (Fig.14) (REIS et al., 2008).

FIGURA 14 - ATIVIDADE ANTIVIRAL DO EXTRATO E FRAÇÕES



A atividade inibitória foi identificada através de citometria de fluxo. Neste gráfico pode se identificar o efeito da *U. tomentosa* em células de monócitos infectadas. Fonte: Reis et. al., 2008

Além da atividade inibitória, a fração enriquecida de alcalóides apresentou, diferentemente das demais, propriedade imunomoduladora nas citocinas pró-inflamatórias. Foram medidas as concentrações de TNF- α , IL-6, IL-10 e IFN- α dos sobrenadantes das células infectadas e notou-se que a fração com alcalóides inibiu as citocinas TNF- α e IFN- α a partir da concentração de 100 μ g/mL, nível semelhante ao

tratamento com dexametasona. Com relação a citocina IL-6, não foi detectada nenhuma inibição com os tratamentos usando *U. tomentosa* ou dexametasona, já em relação a citocina IL-10, o tratamento com o extrato rico em alcalóides reduziu as concentrações de antígenos virais de 572 ± 219 pg/mL para 244 ± 60 pg/mL após o tratamento (REIS et al., 2008).

5.DISSCUSSÃO

5.1. Leishmaniose Visceral

Amaral e colaboradores (2019) desenvolveram quatro derivados semissintéticos a partir do desidrodieugenol B e o metil desidrodieugenol B - neolignanas extraídas da *Nectandra leucantha* Nees. Dentre estes quatro derivados, o composto 2 foi considerado o mais promissor já que demonstrou ser o composto mais potente contra a forma amastigota, com baixa toxicidade e alta seletividade. Assim, entende-se que o composto pode eliminar as formas amastigotas independentemente das células de defesa do hospedeiro, sendo um ponto que pode ser mais explorado em estudos futuros.

Os compostos 1 e 3 demonstram ser os mais citotóxicos, o éster fenólico do composto 1 foi considerado como um risco potencial, pois pode ser metabolizado em um fenol no metabolismo humano. Porém, as modificações realizadas no composto 2 foram bem toleradas e, de acordo com os autores, modificações nas cadeias laterais alílicas em compostos derivados de produtos naturais são bem toleradas e não acarretam prejuízos tão significativos à bioatividade no organismo.

Este estudo sugere que o composto 2 pode ser considerado como um composto líder para desenvolvimento, uma vez que foi comprovada a sua ação anti leishmania por causar comprometimento mitocondrial do protozoário, diminuição do ATP e afetar a replicação do DNA parasitário. Como este composto possui o potencial de inibir as enzimas do complexo do CP450, podem ser realizadas modificações moleculares com o intuito de aprimorar as suas características farmacocinéticas.

O artigo de Silva e colaboradores (2018) analisou a atividade protozoaricida do SC de açaí, que apesar de possuir atividade contra a forma amastigota do protozoário, apresentou maior ação sobre a forma promastigota. Com isso, a partir da dose de 1:12,5 houve redução de cerca de 93,88% das promastigotas após 72 h. Além de causar alterações morfológicas, a partir de 48 h, observou-se redução do tamanho celular do parasita. O SC de açaí apesar de promover a produção de IL-10, acarretando na diminuição de citocinas pró-inflamatórias, ocasionou aumento das espécies EROs no parasita, culminando na sua apoptose. Apesar do açaí ser composto principalmente por flavonóides que são conhecidos pela sua atividade antioxidante e por inibir a produção de EROs, o SC pode possuir efeitos seletivos nas organelas do parasita, como por exemplo, a mitocôndria. Uma vez causado o dano mitocondrial, há o aumento da produção de EROs no parasita, seguida de apoptose. Por conta da composição química do açaí, contendo principalmente flavonóides com alto poder antioxidante, muitos estudos estão sendo realizados explorando os benefícios da utilização de *Euterpe oleracea*. Estudo realizado por Cedrim e colaboradores (2018) demonstrou os benefícios das antocianinas do açaí para melhorar os danos causados por doenças crônicas, uma vez que este fruto possui efeito anti hipertensivo e leva a redução de colesterol total, LDL e triglicérides no sangue.

Portanto, o açaí e seus derivados possuem alto potencial para o tratamento tanto de LV, como demais doenças crônicas que afetam a população. No caso de LV, em que o tratamento atual possui alto custo e toxicidade, a utilização do suco clarificado pode permitir a diminuição do preço do tratamento uma vez que é uma planta muito encontrada em território brasileiro e, de acordo, com o estudo realizado possui baixa citotoxicidade e alta atividade contra a forma promastigota da leishmania.

5.2. Doença de Chagas

O artigo desenvolvido por Cornélio e colaboradores (2017) explora a descoberta do flavonóide, tilirosídeo (canferol-3-O-(6"-O-p-cumaroil)- β -D-glucopiranosose), pela primeira vez na planta *Spiranthera odoratissima*. Com abordagem mais cinética e computacional, este artigo trouxe descobertas sobre a atividade deste flavonóide contra o protozoário causador da DC. Este tilirosídeo atua como inibidor não competitivo da

enzima GAPDH. Esta é uma enzima chave na via glicolítica do *T. cruzi*, também, está presente na via glicolítica humana e é muito estudada para terapias anticancerígenas (CORNÉLIO et al., 2017). O artigo não divulgou dados a fim de comparar a citotoxicidade do composto em relação às células humanas, o que poderia ser um possível ponto de alerta para novos medicamentos derivados do tilirosídeo.

Através da utilização da ferramenta computacional para verificação dos sítios de ligação do composto tilirosídeo, pode-se verificar seu perfil inibidor não competitivo, uma vez que seu sítio de ligação mais provável é um bolsão diferente da ligação do substrato e do cofator. Este tipo de ferramenta tem grande importância para a descoberta de novos compostos líderes e candidatos a fármacos, pois permite simular as ligações entre os compostos inibidores e as enzimas de interesse.

O artigo publicado por Fernandes et al. (2021) reportou a ação tripanocida do óleo essencial de *Psidium guajava* L. frente ao agente etiológico da DC, principalmente, devido a sua constituição de terpenóides (α -cadinol e β -cariofileno). Em comparação ao controle positivo benznidazol, o óleo essencial apresentou ação tripanocida satisfatória na medida que os níveis de IC_{50} são relativamente similares, 9,8 $\mu\text{g/mL}$ e 14,6 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.

Com relação a citotoxicidade, o óleo essencial possui um CC_{50} superior ao observado no benznidazol, 250,5 $\mu\text{g/mL}$ e 147,3 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. A toxicidade do composto adquirido da *Psidium guajava* L. pode ser considerada moderada, o que indica que este composto pode ser tolerado no organismo humano, porém novos testes devem ser realizados *in vitro* e, posteriormente, *in vivo* (FERNANDES et al., 2021).

Portanto, tanto o flavonóide proveniente da *S. odoratissima*, como o óleo essencial de *P. guajava* L. apresentaram características interessantes para o tratamento de DC, visto que por mecanismos de ação diferentes puderam apresentar ação antichagásica. Estudos complementares devem ser realizados para análise de possíveis efeitos adversos provenientes do uso destes compostos a fim de se realizar a comparação com o medicamento disponível na terapêutica, o benznidazol.

5.3. Dengue

Com relação aos dados obtidos por Reis et al. (2020) sobre a capacidade antiviral do extrato etanólico proveniente do caule e das folhas de Cipó-Fogo, pode-se inferir que o extrato das folhas apresentou atividade antiviral contra ambos vírus testados. Neste extrato nota-se melhor atividade contra o vírus da dengue, sendo necessária menor concentração do composto para induzir metade do efeito antiviral máximo e índice de seletividade superior ($>27,5$) em comparação com o obtido no vírus da Zika (3,7). Com relação, a atividade antiviral contra o vírus da Zika, o extrato proveniente do caule da planta foi mais eficiente que o extrato das folhas, uma vez que apresentou maior índice de seletividade, maior atividade antiviral e menor citotoxicidade (REIS et al., 2020).

A atividade antiviral observada pode ser resultante do efeito sinérgico entre os flavonóides e demais constituintes do extrato (REIS et al., 2020). Apesar de haverem poucos estudos sobre agentes antivirais provenientes de plantas, algumas pesquisas como a realizada por Pérez (2003) catalogaram grande número de compostos de diversas estruturas químicas provenientes de plantas, que possuem atividade antiviral, dentre eles flavonóides como apigenina, quercetina, rutina, fisetina, naringina e dentre outros.

A partir dos dados obtidos por Reis et al. (2008), detectou-se que o tratamento com o extrato de *U. tomentosa*, além de ser capaz de reduzir os antígenos virais em monócitos infectados pelo vírus da dengue, também possui capacidade imunomoduladora em citocinas pró-inflamatórias.

O extrato hidroetanólico de *U. tomentosa* na concentração de 10 $\mu\text{g/mL}$ diminuiu significativamente os antígenos virais, demonstrando que de fato a planta possui algum constituinte com característica antiviral. No extrato enriquecido de alcalóides foram identificados alcalóides oxindólicos pentacíclicos (POA). Tais alcalóides já são conhecidos por regularem a proliferação de linfócitos humanos (WURM et al., 1998). A atividade antiinflamatória da Unha-de-Gato pode, também, estar associada com o efeito sinérgico com outros compostos da planta, como os glicosídeos. Neste estudo, foi possível identificar que os alcalóides possuem função significativa na imunomodulação

e capacidade antiviral, já que o extrato rico em alcalóides foi mais efetivo que os extratos puro e sem alcalóides (REIS et al., 2008).

As citocinas TNF- α , IL-6 e IL-10, uma vez ativadas, são as grandes responsáveis pelo desenvolvimento de manifestações clínicas hemorrágicas da doença, uma vez que aumentam a permeabilidade vascular e ativam a cascata de coagulação. O TNF- α é um dos responsáveis por ativar as células endoteliais, aumentando a síntese de células de adesão. A IL-10 induz a proteína supressora da sinalização de citocinas, o que reduz a síntese de interferons e óxido nítrico - ambos compostos com características antivirais (REIS et al., 2008). Como o extrato rico em alcalóide apresentou redução nos antígenos virais em células infectadas e diminuição da produção de TNF- α , IFN- α e IL-10, tal atividade imunomoduladora apresentada pela *U. tomentosa* é de grande importância, pois reduzir o processo inflamatório e as chances de evolução da doença que, atualmente, não possui tratamento específico.

Portanto, o desenvolvimento de novos tratamentos a partir da Unha-de-Gato e extrato de Cipó-fogo devem ser considerados nas etapas de Pesquisa e Desenvolvimento de novos agentes terapêuticos específicos contra o vírus da dengue, visto que, atualmente contamos apenas com fármacos para o alívio dos sintomas.

6. CONCLUSÃO

As opções terapêuticas atuais para o tratamento das DTNs apresentam, em suma, toxicidade elevada, baixa eficácia, e ampla gama de efeitos adversos. Com isso, alternativas relevantes devem ser investigadas na busca por novos medicamentos para o tratamento dessas enfermidades, sendo que a biodiversidade brasileira pode contribuir como fonte de inspiração na pesquisa desses novos agentes terapêuticos. Vários estudos demonstraram a importância das plantas medicinais encontradas geograficamente em solo brasileiro para o tratamento de LV, DC e dengue. Tais plantas possuem como constituintes neolignanais, polifenóis, antocianinas, flavonoides e os seus respectivos glicosídeos, que individualmente ou sinergicamente promovem a ação antiparasitária. Tais estudos foram realizados *in vitro*, que consistem em uma análise preliminar, não permitem a avaliação de possíveis interações fisiológicas que possam

ocorrer no organismo, assim, para a comprovação da eficácia e segurança de tais compostos, estudos adicionais *in vivo* devem ser realizados.

Com isso, através da realização de mais estudos, pode-se desenvolver fármacos com características mais interessantes do que os presentes na terapia atual. No caso de LV, fármacos administrados oralmente, com menor tempo de tratamento e menores efeitos adversos são considerados ideais. Em relação a doença de Chagas, o desenvolvimento de fármacos com ação na fase crônica da doença e que possuam menores efeitos adversos são considerados mais vantajosos. Por fim, acerca do tratamento da dengue, devido ao tratamento atual ser somente profilático em relação aos sintomas, os estudos realizados demonstrando as características antivirais de plantas como cipó-fogo e unha-de-gato, aumentam as expectativas para um tratamento específico contra o vírus da dengue e menores recorrências da forma grave da doença.

Portanto, considerando a ampla biodiversidade da flora brasileira e o aumento das pesquisas relacionadas ao estudo de novos compostos para o tratamento de DTNs, o cenário de pesquisa e desenvolvimento no Brasil pode ser considerado positivo e prospectivo. Vale destacar que o Brasil será um dos grandes beneficiados com o avanço dessas pesquisas, pois é um dos países mais atingidos com as DTNs.

7.REFERÊNCIAS

AMARAL, M.; SOUSA, F.S.; SILVA, T.A.C.; JUNIOR, A.J.G.; TANIWAKI, N.N.; JOHNS, D.M.; LAGO, J.H.G.; ANDERSON, E.A.; TEMPONE, A.G. A semi-synthetic neolignanderivative from dihydrodieugenol B selectively affects the bioenergetic system of *Leishmania infantum* and inhibits cell division. **Scientific Reports**, v.9, n.6114, p., 2019.

ANDRADE, C.M.S.; ZANINETTI, R.A.; FERREIRA, A.S. Goiabeira (*Psidium guajava* L.). 2015. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1029524/goiabeira-psidium-guajava-l> >. Acesso em: 17 Jul 2021.

ARAÚJO, A.M.; LIBERATO, M.A.R.; AMORIM, B.S.; CABRAL, F.N.; REZENDE, C.F.; CARDOZO, N.M.D. Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Vitaceae. **Rodriguésia**, v.71, p., 2020.

BICHARA, C.M.G; ROGEZ, H. Açai (*Euterpe oleracea* Martius). **Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits**, v.2, n.207, p.1-27, 2011.

BERLINCK, R.G.S; BOLZANI, V.S.; HADDAD, C.F.B.; JOLY, C.A.; OLIVEIRA, M.C; VERDADE, L.M. Diagnóstico da pesquisa em biodiversidade no Brasil. **Rev. USP**, n.89, p.114-133, 2011.

BOLZANI, V.S.; MONTANARI, C.A. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. **Quím. Nova**, v.24, n.1, p.105-111, 2001.

BORGES, A.R.; AIRES, J.R.A.; HIGINO, T.M.M.; MEDEIROS, M.G.F.; CITÓ, A.M.G.L.; LOPES, J.A.D.; FIGUEIREDO, R.C.B.Q. Trypanocidal and cytotoxic activities of essential oils from medicinal plants of Northeast of Brazil. **Experimental Parasitology**, v.132, n.2, p.123-128, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Dengue: aspectos epidemiológicos, diagnóstico e tratamento**. Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde. Brasília, DF, p.6-13, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Saúde Brasil 2017: Uma análise da situação de saúde e os desafios para o alcance dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável**. Brasília, DF, p.99-131, 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas causados por vírus transmitidos pelo mosquito *Aedes* (dengue, chikungunya e zika), semanas epidemiológicas 1 a 10, 2021**. Boletim Epidemiológico. Brasília: Ministério da Saúde, v.52,n.10,p.1-11, 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral** /Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília, DF, p.31-36, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Doença de Chagas**. Boletim Epidemiológico: número especial - Brasília: Ministério da Saúde, p. 6-16, 2021.

BURZA, S.; CROFT, S.L.; BOELAERT, M. Leishmaniasis. **The Lancet**, v.392, p. 951-970, 2018.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. *Chagas Disease*. 2019. Disponível em:<<https://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html>>. Acesso em: 07 Jul 2021.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. *Dengue*. 2021. Disponível em:<<https://www.cdc.gov/dengue/index.html>>. Acesso em: 16 Out 2021.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. *Leishmaniasis*. 2017. Disponível em:<<https://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html>>. Acesso em: 20 Jun 2021.

CEDRIM, P. C.A.S.; BARROS, E.M.A.; NASCIMENTO, T.G. *Antioxidant properties of acai (Euterpe oleracea) in the metabolic syndrome*. **Braz. J. Food Technol.**, v. 21, 2018.

Consórcio internacional busca desenvolvimento de novos medicamentos para doenças negligenciadas e malária, Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2019. Disponível em:

<<https://www.sbmt.org.br/portal/consorcio-internacional-busca-desenvolvimento-de-novos-medicamentos-para-doencas-negligenciadas-e-malaria/>>. Acesso em: 05 Mar 2022.

CORNELIO, V.E.; MALUF, F.V.; FERNANDES, J.B.; SILVA, M.F.G.F.; OLIVA, G.; GUIDO, R.V.C.; VIEIRA, P.C. Isolation of Tiliroside from *Spiranthera odoratissima* as Inhibitor of *Trypanosoma cruzi* Glyceraldehyde-3-phosphate Dehydrogenase by Using Bioactivity-Guided Fractionation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.28, n.3, p.512-519, 2017.

DATASUS. Informações de saúde, epidemiologia e morbidade: banco de dados. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/menu_tabnet_php.htm#>. Acesso em: 05 Mar 2022.

FERNANDES, C.C.; REZENDE, J.L.; SILVA, E.A.J.; SILVA, F.G.; STENICO, L.; CROTTI, A.E.M.; ESPERANDIM, V.R.; SANTIAGO, M.B.; MARTINS, C.H.G.; MIRANDA, M.L.D. Chemical composition and biological activities of essential oil from flowers of *Psidium guajava* (Myrtaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v.81, n.3, p.728-736, 2021.

FIOCRUZ. **Estudo descreve perfil epidemiológico da doença de Chagas**. Disponível em:<<https://portal.fiocruz.br/noticia/estudo-descreve-perfil-epidemiologico-da-doenca-de-chagas>>. Acesso em: 09 Jul 2021.

FREITAS, V.C. **O processo de interação de *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* com *Lutzomyia* (*Lutzomyia*) *longipalpis* e a importância do lipofosfoglicano (LPG)**. Tese

(Doutorado em Ciências na área de concentração Doenças Infecciosas e Parasitárias) - Fundação Oswaldo Cruz. Belo Horizonte, p.29-31, 2010.

FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R.A.C.; MACHADO, M.F.P.S.; OLIVEIRA, A.J.B.; VIDOTI, G.J. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.18, n.4, p.627-641, 2008.

FURTADO, A.N.R.; LIMA, A.S.F.; OLIVEIRA, A.S.; TEIXEIRA, A.B.; FERREIRA, D.S.; OLIVEIRA, E.C.; CAVALCANTI, G.B.; SOUSA, W.A.; LIMA, W.M. Dengue e seus avanços. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v.51, n.3, p.196-201, 2019.

GADELHA, C.A.G.; VILLAS BOAS, G.K. Oportunidades na indústria de medicamentos e a lógica do desenvolvimento local baseado nos biomas brasileiros: bases para a discussão de uma política nacional. **Cad. Saúde Pública**, v.23, n.6, p.1463-1471, 2007.

GIEHL, E.L.H. **Flora digital do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**, 2021. Disponível em: < <http://floradigital.ufsc.br>>. Acesso em: 06 Jul 2021.

JESUS, A.R.; ALMEIDA, R.P.; LESSA, H.; BACELLAR, O.; CARVALHO, E.M. Cytokine profile and pathology in human leishmaniasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.31, n.1, p.143-148, 1998.

MANIERO, V.C.; SANTOS, M.O.; RIBEIRO, R.L.; OLIVEIRA, P.A.; SILVA, T.B.; MOLERI, A.B.; MARTINS, I.R.; LAMAS, C.C.; CARDOZO, S.V. Dengue, chikungunya e zika vírus no Brasil: situação epidemiológica, aspectos clínicos e medidas preventivas. **Almanaque Multidisciplinar de Pesquisa**, v.3, n.1, p.118-145, 2016.

MARCONDES, M.; ROSSI, C.N. Leishmaniose visceral no Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.50, n.5, p.341-352, 2013.

MATOS, L.G.; FIUZA, T.S.; TRESVENZOL, L.M.F.; REZENDE, M.H.; BARA, M.T.F.; SILVEIRA, E.N.; COSTA, E.A.; PAULA, J.R. Estudo farmacognóstico de folhas e raízes da *Spiranthera odoratissima* A. St.-Hil. (Rutaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.16, n.3, p.574-584, 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Doença de Chagas**, n.397, Brasília, DF, p.20-24, 2018.

MIRANDA, E.M. Unha-de-gato: *Uncaria tomentosa* (Wild.) DC. e *Uncaria guianensis* (Aubl.) Gmel. **Frutíferas e Plantas Úteis na Vida Amazônica**. Belém: EMBRAPA, p. 141-146, 2005.

MORAIS-BRAGA, M.F.B.; CARNEIRO, J.N.P.; MACHADO, A.J.T.; SANTOS, A.T.L.; SALES, D.L.; LIMA, L.F.; FIGUEREDO, F.G.; COUTINHO, H.D.M. *Psidium guajava* L., from ethnobiology to scientific evaluation: elucidating bioactivity against pathogenic microorganisms. **Journal of Ethnopharmacology**, v.194, p.1140-1152, 2016.

Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), Doenças Tropicais Negligenciadas, 2020. Disponível em:

<https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_joomlabook&view=topic&id=57#:~:text=As%20doen%C3%A7as%20tropicais%20negligenciadas%20%E2%80%93%20um,e m%20desenvolvimento%20todos%20os%20anos>. Acesso em: 20 Fev 2021.

PÉREZ-MOLINA, J.A.; MOLINA, I. Chagas disease. **The Lancet**, v.391, p.82-94, 2018.

PEREZ, R.M. *Antiviral Activity of Compounds Isolated From Plants*. **Pharmaceutical Biology**, v.41, p.107-157, 2003.

RATH, S.; TRIVELIN, L.A.; IMBRUNITO, T.R.; TOMAZELA, D.M.; JESUS, M.N.; MARZAL, P.C.; ANDRADE JUNIOR, H.F.; TEMPONE, A.G. Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. **Química Nova**, v.26, n.4, p.550-555, 2003.

REIS, A.C.C.; MOURA, H.M.M.; SILVA, B.M.; OLIVEIRA, A.B.; BRANDÃO, G.C. Pharmacognosy Antiviral activity and chemical characterization of *Cissus erosa* (Vitaceae) ethanol extracts. **Rodriguésia**, v.71, p.1-9, 2020.

REIS, S.R.I.N.; VALENTE, L.M.M.; SAMPAIO, A.L.; SIANI, A.C.; GANDINI, M.; AZEREDO, E.L.; D'AVILA, L.A.; MAZZEI, J.L.; HENRIQUES, M.G.M.; KUBELKA, C.F. Immunomodulating and antiviral activities of *Uncaria tomentosa* on human monocytes infected with Dengue Virus-2. **International Immunopharmacology**, v.8, p.468-476, 2008.

SALIBA, E.O.S.; RODRIGUEZ, N.M.; MORAIS, S.A.L.; PILÓ-VELOSO, D. Ligninas: métodos de obtenção e caracterização química. **Ciência Rural**, v.31, n.5, p., 2001.

SILVA, B.J.M.; SOUZA-MONTEIRO, J.R.; ROGEZD, H.; CRESPO-LÓPEZ, M.E.; NASCIMENTO, J.L.M.; SILVA, E.O. Selective effects of *Euterpe oleracea* (açai) on

Leishmania (Leishmania) amazonensis and *Leishmania infantum*. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.97, p.1613-1621, 2018.

SOUZA-MONTEIRO, J. R.; HAMOY, M.; SANTANA-COELHO, D.; ARRIFANO, G.P.F.; PARAENSE, R.S.O.; COSTA-MALAQUIAS, A.; MENDONÇA, J.R.; SILVA, R.F.; MONTEIRO, W.S.C.; ROGEZ, H.; OLIVEIRA, D.O.; NASCIMENTO, L.M.; CRESPO-LÓPEZ, M.E. Anticonvulsant properties of *Euterpe oleracea* in mice. **Neurochemistry International**, v.90, p.20–27, 2015.

VALVERDE, R. Doenças Negligenciadas. Agência Fiocruz de Notícias, 2013. Disponível em:

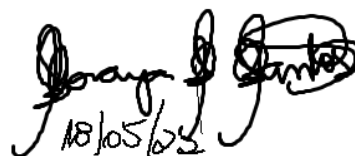
<<https://agencia.fiocruz.br/doen%C3%A7as-negligenciadas#:~:text=Em%20alguns%20casos%2C%20o%20tratamento,e%20a%20tuberculose%20mais%20letais.>>. Acesso em: 20 Fev 2021.

WHO. World Health Organization. Control of Neglected Tropical Diseases. 2021. Disponível em: <<https://www.who.int/teams/control-of-neglected-tropical-diseases>>. Acesso em: 05 Mar 2022.

Wurm, M.; KACANI, L.; LAUS, G.; KEPLINGER, K.; DIERICHL, M.P. Pentacyclic oxindole alkaloids from *Uncaria tomentosa* induce human endothelial cells to release a lymphocyte-proliferation-regulating factor. **Planta Medica**, v.64, p.701-704, 1998.

Pamela Natália Kinski
17/05/2022

Data e assinatura do aluno(a)


18/05/22

Data e assinatura do orientador(a)