
PLANTAS DA AMAZÔNIA BRASILEIRA COM POTENCIAL LEISHMANICIDA *in vitro*

Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti^{1,2,*}, *Renato Abreu Lima*³, *Sharon Rose Aragão Macedo*^{1,4}, *Neuza Biguinati de Barros*^{3,4}, *João Bezerra Facundo*⁵, *Júlio Sancho Linhares Teixeira Militão*⁵, *Roberto Nicolete*^{1,3,4} e *Valdir Alves Facundo*^{1,3,5}

RESUMO

A preocupação em buscar novos fármacos para o tratamento da leishmaniose é cada vez maior em virtude da toxicidade dos existentes e do aumento da resistência do parasito, o que representa uma ameaça ao controle da doença. O presente estudo apresenta uma revisão bibliográfica sobre as plantas da Amazônia brasileira com potencial atividade leishmanicida *in vitro*. Constatou-se uma grande diversidade de espécies vegetais da Amazônia brasileira com potencial para a investigação de novos fitoterápicos e metabólitos secundários com ação leishmanicida, além do tratamento de outras parasitoses negligenciadas. A presente revisão demonstrou que as espécies dos gêneros *Casearia*, *Croton* e *Physalis* são fortes candidatas para busca de novos fármacos, visto que apresentaram um IC₅₀ menor que 1 µg/mL em testes *in vitro* contra as formas promastigotas ou amastigotas de *Leishmania* spp. Ressalta-se a importância de estudos futuros sobre espécies que apresentem metabólitos terpenoides ou esteroides em virtude do potencial leishmanicida que têm demonstrado.

DESCRITORES: Leishmaniose; quimioterapia; etnofarmacologia.

ABSTRACT

Plants of the Brazilian Amazon with potential *in vitro* antileishmania activity

The need to find new drugs for the treatment of leishmaniasis is increasing due to the toxicity of existing drugs and an increase in parasite resistance, which is a threat to disease control. The present study describes a literature review on the plants of the Brazilian Amazon with potential

1. Programa de Pós Graduação em Biologia Experimental da Universidade Federal de Rondônia (UNIR), Porto Velho, RO, Brasil.

2. Laboratório de Fisiofarmacologia da Universidade Federal do Acre (UFAC), Rio Branco, AC, Brasil.

3. Programa de Pós Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal (Rede Bionorte), Manaus, AM, Brasil.

4. Laboratório de Biotecnologia Aplicada à Saúde (Labiotec), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ- Rondônia), Porto Velho, RO, Brasil.

5. Departamento de Química da UNIR, Porto Velho, RO, Brasil.

Autor Correspondente: Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti, Getúlio Vargas, nº654, Centro, CEP 69900-060, Rio Branco, AC, Brasil.
E-mail: dionatas@icbusp.org

Recebido para publicação em: 22/2/2015. Revisto em: 27/8/2015. Aceito em: 9/12/2015.

antileishmania activity *in vitro*. A great diversity of plant species in the Brazilian Amazon was found with potential for research on new herbal therapies and secondary metabolites with leishmanicidal activity, in addition to treatment of other neglected parasitic diseases. This review showed that the species of the genera *Casearia*, *Croton* and *Physalis* are strong candidates in the search for new drugs, because both had an IC_{50} lower than 1 mg/mL in *in vitro* tests against promastigotes or amastigotes of *Leishmania* spp. Further studies of species that have terpenoid or steroids metabolites may also be indicated, due to the antileishmanial potential that they demonstrate.

KEY WORDS: Leishmaniasis; chemotherapy; ethnopharmacology.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença infecciosa e parasitária causada por protozoários do gênero *Leishmania*, os quais infectam o hospedeiro vertebrado por meio da picada de vetores fêmeas dos gêneros *Lutzomyia*, no Novo Mundo, e *Phlebotomus*, no Velho Mundo (Figueiredo et al., 2014). Está enquadrada no grupo de enfermidades conhecidas como “doenças negligenciadas”, assim nomeadas por serem doenças que acometem milhares de pessoas em sua grande maioria com baixa renda e residentes em países subdesenvolvidos (Bezerra et al., 2012).

No Brasil, a leishmaniose atinge 19 estados e mais de 90% dos casos humanos da doença concentram-se nas Regiões Norte e Nordeste, havendo ainda focos importantes nas Regiões Centro-Oeste e Sudeste (Gil et al., 2008; Monteiro et al., 1994).

Mesmo com a elevada incidência de leishmaniose no Brasil e no mundo, poucas são as alternativas para o seu tratamento e os agentes terapêuticos atualmente disponíveis são ineficientes. Fica, portanto, evidenciada a necessidade urgente de novos candidatos a fármacos para o tratamento desta enfermidade (Croft et al., 2006; Santos et al., 2013). Ainda hoje a primeira escolha para o tratamento de leishmanioses tem sido os antimoniais pentavalentes (Sb^{5+}), sendo também utilizados amidinas, poliênico, aminoglicosídeos e hexadecilfosfocolina (miltefosina), porém alguns desses apresentam toxicidade para o paciente (Bezerra et al., 2004; Figueiredo et al., 2014).

Diferentes pesquisadores têm demonstrado o uso popular de plantas no tratamento de parasitoses como as leishmanioses. Muitos compostos isolados de plantas tais como chalconas, alcaloides, naltfoquinonas, lignanas, neolignanas e terpenos já tiveram descrita sua atividade promissora contra protozoários (Quellette et al., 2004; Singh & Siwakumar, 2004).

Na busca por novas alternativas para o tratamento da leishmaniose, estudos têm direcionado esforços em prol de pesquisas sobre compostos naturais extraídos de plantas que são eficazes contra *Leishmania* spp e têm reduzida toxicidade para hospedeiros humanos (Calderon et al., 2009; Ferreira et al., 2010). Assim, o presente estudo objetivou a realização de uma revisão bibliográfica com foco na descrição de plantas da Amazônia brasileira com potencial leishmanicida *in vitro*.

ETNOFARMACOLOGIA LEISHMANICIDA

Foram encontradas 32 espécies de plantas da Amazônia brasileira com atividade leishmanicida distribuídas em 18 famílias botânicas. Destas, 27 apresentaram ação contra a espécie *Leishmania amazonensis*, 7 contra *Leishmania donovani*, 6 contra *Leishmania braziliensis*, 3 contra *Leishmania chagasi*, 2 contra *Leishmania guyanensis* e 2 contra *Leishmania major*.

Os dados tabulados levaram em consideração a concentração inibitória de 50% da população em teste (IC₅₀) e foram assim organizados: baixa atividade (IC₅₀>100), atividade moderada (10<IC₅₀>100) e elevada atividade (IC₅₀≤10). Este padrão é utilizado para mensurar a ação contra organismos eucarióticos tais como: antiplasmódica, leishmanicida e antitripanossomal (Amante et al., 2011; Meneguetti et al., 2014).

PLANTAS COM ATIVIDADE CONTRA FORMAS PROMASTIGOTAS DE *Leishmania* spp

As formas promastigotas de *Leishmania* sp são flageladas extracelulares e estão presentes no trato digestório dos insetos vetores (Choi and Lerner, 2001; Soares-Bezerra et al., 2004).

Foram encontradas 27 espécies de plantas amazônicas com atividade contra formas promastigotas de *Leishmania* spp, divididas em 16 famílias conforme pode ser observado na Tabela 1.

A presente análise não levou em consideração os efeitos citotóxicos, visto que boa parte dos autores acima citados não realizaram essas análises em seus estudos. Aqueles que as fizeram utilizaram técnicas e modelos diferentes, o que torna difícil a comparação e discussão dos resultados.

Os extratos com potencial ação contra formas promastigotas foram isolados da espécie *C. sylvestris*, cujos extratos hexânicos do cerne, da casca do caule e o extrato etanólico da casca da raiz apresentaram um IC₅₀, respectivamente, de 0,3 µg/mL, 0,2 µg/mL e 0,1 µg/mL contra *L. donovani* (Mesquita et al., 2005).

Extratos de *C. sylvestris* têm sido utilizados na medicina popular como agentes anti-inflamatórios, antiulcerogênicos, antiofídicos e antitumorais (Ferreira et al., 2011), sendo descritos por Mesquita et al. (2005) como potentes tripanocidas.

Tabela 1. Atividade leishmanicida em células promastigotas de *Leishmania spp*

Familia	Espécie	Amostra	Atividade leishmanicida		
			IC ₅₀	Espécie	Referências
Annonaceae		Extrato hexânico (casca)	42,7 µg/ml**	<i>L. guyanensis</i>	Costa et al., 2006
			2,7 µg/ml***	<i>L. guyanensis</i>	
		Extrato diclorometânico (casca)	23 µg/ml**	<i>L. braziliensis</i>	
			9,1 µg/ml***	<i>L. guyanensis</i>	
			24,3 µg/ml**	<i>L. braziliensis</i>	
	Annona foecida	Extrato metanólico (casca)	10,7 µg/ml**	<i>L. braziliensis</i>	
			18 µg/ml**	<i>L. braziliensis</i>	
		Annoniina	16,2 µg/ml**	<i>L. amazonensis</i>	
			9,9 µg/ml*	<i>L. braziliensis</i>	
			27,2 µg/ml**	<i>L. chagasi</i>	
Óleo essencial (folhas)	4,1 µg/ml*	<i>L. guyanensis</i>			
	<i>Annona spinescens</i>	Anonaina (raiz)	25 µg/ml*	<i>L. amazonensis</i>	Mahiou et al., 1994; Calderon et al., 2009
			50 µg/ml*	<i>L. braziliensis</i>	
			100 µg/ml*	<i>L. donovani</i>	
	<i>Gouatteria foliosa</i>	Isoguantergüidina (entrecasca)	30,8 µg/ml*	<i>L. amazonensis</i>	Mahiou et al., 1994; Zaslöf, 2002; Calderon et al., 2009
			30,8 µg/ml*	<i>L. donovani</i>	
Apocynaceae	<i>Himatanthus obovatus</i>	Extrato etanólico (raiz)	7,5 µg/ml***	<i>L. donovani</i>	Mesquita et al., 2005
Analiaceae	<i>Hydrocotyle bonariensis</i>	Extrato metanólico (folhas)	23,5 µg/ml*	<i>L. chagasi</i>	Tempono et al., 2008
			302,5 µg/ml*	<i>L. amazonensis</i>	
Aristolochiaceae	<i>Aristolochia cymbifera</i>	Extrato metanólico (folhas)	89,2 µg/ml**	<i>L. chagasi</i>	
Cecropiaceae	<i>Cecropia peltata</i> L.f	Frção acetato de etila (folhas)	53,3 µg/ml**	<i>L. amazonensis</i>	Cruz et al., 2013
		Frção n-butanol (folhas)	24,8 µg/ml**	<i>L. amazonensis</i>	
		Frção diclorometano (folhas)	5,6 µg/ml***	<i>L. amazonensis</i>	

Clusiaceae	<i>Guacima brasiliensis</i>	Extrato hexânico (frutos)		15 µg/ml**	<i>L. amazonensis</i> <i>L. amazonensis</i>	Pereira et al., 2011
		Fubigetina (frutos)		3.2 µg/ml***		
Combretaceae	<i>Combretum leprosum</i>	Extrato etanólico (frutos)		24.8 µg/ml**	<i>L. amazonensis</i> <i>L. amazonensis</i>	Teles et al., 2011 Barros et al., 2013
		3β,6β,16β-tridioxilup-20(29)-eno		3.3 µg/ml*		
Euphorbiaceae	<i>Croton cajucara</i>	Óleo essencial (folhas)		0.008 µg/ml****	<i>L. amazonensis</i> <i>L. amazonensis</i>	Kosa et al., 2003
		Linalol (folhas)		0.004 µg/ml****		
Fabaceae	<i>Copaifera reticulata</i> <i>Copaifera maritii</i> <i>Copaifera pauciflora</i> <i>Copaifera officinalis</i> <i>Copaifera multijuga</i>			5 µg/ml. **	<i>L. amazonensis</i> <i>L. amazonensis</i> <i>L. amazonensis</i> <i>L. amazonensis</i> <i>L. amazonensis</i>	Santos et al., 2008
				14 µg/ml **		
		Óleo (seiva)		11 µg/ml **		
				20 µg/ml.**		
				10 µg/ml***		
Lecythidaceae	<i>Lacistema pubescens</i>	Extrato metanólico (folhas)		3.9 µg/ml.***	<i>L. amazonensis</i> <i>L. braziliensis</i> <i>L. amazonensis</i> <i>L. braziliensis</i> <i>L. major</i>	Silva et al., 2014
				45.6 µg/ml**		
		Extrato hexânico (folhas)		3.5 µg/ml.***		
				17 µg/ml **		
				4.2 µg/ml.***		
Lecythidaceae	<i>Guatava elliptica</i>	Extrato hexânico (entrecasca)		17 µg/ml.**	<i>L. braziliensis</i> <i>L. braziliensis</i> <i>L. braziliensis</i> <i>L. braziliensis</i> <i>L. guyanensis</i>	Almeida et al., 2011
		Extrato clorofórmico (entrecasca)		6.4 µg/ml.***		
		Extrato metanólico (entrecasca)		10 µg/ml.***		
		Trans-cariofileno, palmiato de etila hidocarpato de etila, oleano de etila, essênario de etila e ficedelina Juntos (entrecasca)		197.8 µg/ml.*		
		Extrato clorofórmico (entrecasca)		290.6 µg/ml *		
Meliaceae	<i>Guarea kunthiana</i>	Extrato hexânico (raiz)		7.7 µg/ml.***	<i>L. guyanensis</i> <i>L. donovani</i>	Mesquita et al., 2005
				7.9 µg/ml.***		

Moraceae	<i>Pourouma guianensis</i>	Epi-friedelinol (folhas)	91 µg/ml **	<i>L. amazonensis</i>	Torres-Santos et al., 2004	
		Estigmasterol + Sítosterol (folhas)	56 µg/ml **	<i>L. amazonensis</i>		
		Ácido oleonólico (folhas)	10 µg/ml **	<i>L. amazonensis</i>		
		Ácido ursólico (folhas)	5 µg/ml *	<i>L. amazonensis</i>		
		Sítosterol + Estigmasterol glicosídeo (folhas)	50 µg/ml **	<i>L. amazonensis</i>		
Piperaceae	<i>Piper glabratum</i> and <i>Piper acutifolium</i>	Metil 3,4-dihidroxi-5-(3'-metil-2'-butenil) benzóico (folhas)	13.8 µg/mL**	<i>L. braziliensis</i>	Flores et al., 2008	
			18.5 µg/mL**	<i>L. donovani</i>		
		18.2 µg/mL**	<i>L. amazonensis</i>			
		81.9 µg/mL**	<i>L. braziliensis</i>			
	3,4-dihidroxi-5-(2-hidroxi-3-metiltbutenil)benzóico (folhas)	81.9 µg/mL**	<i>L. donovani</i>			
		89.5 µg/mL**	<i>L. amazonensis</i>			
	<i>Piper aduncum</i>	Extrato metanólico (folhas)	29 µg/mL **	<i>L. amazonensis</i>		Braga et al., 2007
	<i>Piper carnicomectricum</i>	(2-[1-hidroxi-3-fenil-(Z,E)-2-propenilidina]-4-metil-4-ciclopentina-1,3-dione) (raiz)	4.4 µg/mL ***	<i>L. amazonensis</i>		Paes- Gonçalves et al., 2012
	<i>Piper tuberculatum</i>	3-(3,4,5-trimetoxifenil) (frutos)	145 µg/mL*	<i>L. amazonensis</i>		Ferreira et al., 2010
	<i>Poltonanphe umbellata</i>	Extrato metanólico (folhas)	39 µg/mL **	<i>L. amazonensis</i>		Braga et al., 2007
Extrato hexânico (folhas)		3.7 µg/mL ***	<i>L. donovani</i>			
Extrato hexânico (cerne)		0.2 µg/mL ***	<i>L. donovani</i>			
Extrato hexânico (cerne)		0.3 µg/mL ***	<i>L. donovani</i>			
Extrato etanólico (casca da raiz)		0.1 µg/mL ***	<i>L. donovani</i>			
Extrato (casca da raiz)		1.0 µg/mL ***	<i>L. donovani</i>			
Extrato etanólico (raiz)		5 µg/mL ***	<i>L. donovani</i>	Mesquita et al., 2005		
Extrato hexânico (raiz)		11.4 µg/mL **	<i>L. donovani</i>			
Extrato etanólico (frutos)		4.9 µg/mL ***	<i>L. donovani</i>			
Extrato hexânico (frutos)		9.5 µg/mL ***	<i>L. donovani</i>			
Verbenaceae	<i>Lippia alba</i>	Extrato metanólico (folhas)	62.7 µg/mL**	<i>L. chagasi</i>	Tempone et al., 2008	

[C₅₀: Concentração inibitória de 50% da população em teste; baixa atividade * (IC₅₀>100); atividade moderada ** (10<IC₅₀>100); elevada atividade *** (IC₅₀≤10). # Concentração inibitória de 100% da população em teste.

A composição química de *C. sylvestris* é caracterizada principalmente por diterpenos tipo clerodânicos (Bou et al., 2014), entre eles: casearvestrina A, casearvestrina B, casearvestrina C (Oberlies et al., 2002) 15-hidroxi-3-cleroden-2-one, ácido (-)-hardwickiic (Santos et al., 2007), casearina A, casearina B, casearina G, casearina J (Bou et al., 2014; Santos et al., 2007), casearina U, casearina V, 2 β -metoxi-cleroda-3,13-dien-18-carboxi-15,16-olideo, 15 ξ -metoxi-cleroda-3,12-dien-18-carboxi-15,16-olideo, 15-oxo-echinofilina A, echinofilina A, ácido (-)-patagonico, tirosol, oplopanona, 4-hidroxi-4-metil-2-[(1R)-1-(1-metiletil)-4-oxopentil]-2-ciclohexen-1-ona e 1 β ,6 α -dihidroxiudesman-4(15)-eno (Wang et al., 2009a). São encontrados também diterpenos glicosídeos, como *silvestrisides A e B* (Wang et al., 2009b).

Os metabólitos casearinas isolados de *C. sylvestris* têm demonstrado uma boa ação contra *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania* spp (Bou et al., 2014), provavelmente por provocarem o rompimento da membrana plasmática do parasito. Isso ocasiona esgotamento dos gradientes iônicos, efluxo de nutrientes e outros componentes citoplasmáticos, provocando a lise osmótica e, conseqüentemente, a morte celular (Marr et al., 2012).

Das espécies estudadas contra *L. amazonensis*, os extratos com melhor ação foram o hexânico e o metanólico das folhas da espécie *L. pubescens*, com IC₅₀ de 3,5 μ g/mL e 3,9 μ g/mL respectivamente. Estes extratos também demonstram ação contra as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* e *Enterococcus faecalis* (Silva et al., 2014), além de atividade antinociceptiva, anti-inflamatória (Silva et al., 2012) e antioxidante. Esta última provavelmente em decorrência dos compostos fenólicos detectados nesta espécie (Silva et al., 2011), além de ácido palmítico, esteárico e linoleico; fitol e sitosterol (Silva et al., 2012; Silva et al., 2014).

A presença do sitosterol e do fitol pode justificar a ação leishmanicida dessa espécie, visto que, em estudo realizado por Torres-Santos et al. (2004), o sitosterol inibiu 70% das formas promastigotas de *L. amazonensis*. Demonstrou também atividade antiproliferativa contra células de tumores humanos (Cunha-Filho et al., 2010), sugerindo que induz a endorreduplicação e promove a dinâmica dos microtúbulos do fuso por meio de vias de sinalização. O fitol, por sua vez, tem demonstrado indução de apoptose (Komiya et al., 1999), provocando citotoxicidade em linhagens celulares de cancro como HL60 (Block et al., 2004).

Contra o agente etiológico *L. braziliensis*, a espécie *G. elliptica* demonstrou os melhores resultados com IC₅₀ de 6,4 μ g/mL do extrato clorofórmico e de 10 μ g/mL do extrato metanólico, ambos preparados da entrecasca (Almeida et al., 2011). A espécie *G. elliptica* apresenta em sua estrutura química: a) norisoprenoides: blumenol B e 6-epiblumenol B; b) triterpenos: friedelina, friedelanol, α -amirina, β -amirina, epifriedelanol, moretenol, e ursa-9(11),12-dien-3-ol; c) sesquiterpenos: trans-cariofileno e

α -humuleno; d)ésteres de ácidos graxos: palmitato de etila, linoleato de etila, oleato de etila, estearato de etila e hidnocarpato de etila (Almeida et al., 2011).

Uma das prováveis explicações para a atividade leishmanicida desta espécie é a presença de triterpenos e sesquiterpenos, visto que sua eficácia antiparasitária é demonstrada por vários estudos (Begum et al., 2014; Teles et al., 2011; Torres-Santos et al., 2004).

Torres-Santos et al. (2004) e Teles et al. (2011) estudaram a ação de triterpenos isolados sobre as formas promastigotas de *L. amazonensis* e descobriram que triterpenos pentacíclicos com maior número de grupos de hidroxilas apresentam maior ação antipromastigota. Outro estudo demonstra que os triterpenos estimulam a granulocitose e a fagocitose, auxiliando no combate à infecção (Akihisa et al., 1996). Porém, mesmo com essas informações, até o momento o mecanismo de ação pelo qual os triterpenos inibem o crescimento de formas promastigotas de *Leishmania* spp ainda não foi totalmente elucidado (Lima et al., 2011).

Entre os metabólitos secundários isolados, o que apresentou melhor resultado – IC₅₀ de 0,004 µg/mL – foi o linalol (Figura 1a) isolado das folhas da espécie *C. cajucara*, que também apresentou óleo essencial com IC₅₀ de 0,008 µg/mL; ambos tiveram ação contra células promastigotas da espécie *L. amazonensis* (Rosa et al., 2003).

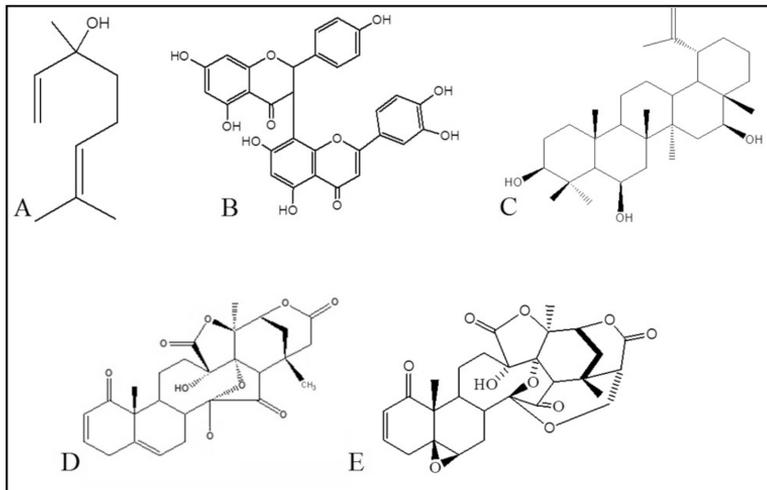


Figura 1. Estrutura química de metabólitos secundários isolados de plantas amazônicas com promissora atividade leishmanicida: A) Linalol; B) Fukugetina; C) 3β,6β,16β-triidroxilup-20(28)-eno; D) Fisalina B; E) Fisalina F.

Um dos mecanismos de ação do linalol estimula a produção de espécies reativas de oxigênio, como o óxido nítrico (NO), o que inibe a atividade da cadeia respiratória mitocondrial e diminui os níveis de adenosina trifosfato (ATP) e glutatona das células (Rondon et al., 2012; Usta et al., 2009), originando sua ação leishmanicida.

O linalol também apresenta ação tripanossomicida contra células epimastigotas e tripomastigotas de *T. cruzi* (Santoro et al., 2007), antibacteriana sobre bactérias cariogênicas e periodontopatogênicas (Park et al., 2012), atuando contra as espécies *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhi* e *P. aeruginosa* (Mazzanti et al., 1998). Estudo realizado com as bactérias *S. aureus*, *E. coli* e *S. typhimurium* descreve outros mecanismos de ação do linalol que provocam alteração da permeabilidade e da função da membrana plasmática, perda da matéria intracelular e, consequentemente, morte celular (Zengin & Baysal, 2014). Outra atividade descrita para o linalol é a ação contra os fungos *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Candida tropicalis* (Mazzanti et al., 1998). Esta ação antifúngica também foi observada em óleos essenciais que contêm linalol, contra as espécies *Pythium ultimum*, *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora capsici* e *Septoria tritici* (Angioni et al., 2003). Os óleos essenciais que contêm linalol em sua composição química também apresentam ação *in vitro* contra células epimastigotas e tripomastigotas de *T. cruzi* (Santoro et al., 2007).

Outros metabólitos que apresentaram bons resultados contra promastigotas foram fukugetin (Figura 1b), isolado da espécie *G. brasiliensis*, e 3 β ,6 β ,16 β -triidroxilup-20(29)-eno (Figura 1c), isolado de *C. Leprosomum*, com IC₅₀ de 3,2 μ g/mL e 3,3 μ g/mL respectivamente, ambos contra *L. amazonensis* (Pereira et al., 2011; Teles et al., 2011).

O metabólito 3 β ,6 β ,16 β -triidroxilup-20(29)-eno também apresentou atividade antinociceptiva (Petrovski et al., 2006) e microbiológica (Lima et al., 2011), tendo sido desenvolvida ainda uma formulação lipossomal que reduziu a taxa de infecção de macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c por promastigotas e amastigotas de *L. amazonensis* (Barros et al., 2013). Uma das prováveis explicações para a ação leishmanicida deste metabólito é a desestabilização da membrana plasmática (Broniatowski et al., 2012).

PLANTAS COM ATIVIDADE CONTRA FORMAS AMASTIGOTAS INTRACELULARES DE *Leishmania* spp

Foram encontradas nove espécies de plantas amazônicas com atividade leishmanicida sobre formas amastigotas intracelulares, divididas em oito famílias, conforme pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2. Atividade leishmanicida sobre as formas amastigotas intracelulares

		Atividade leishmanicida				
Família	Espécie	Amostra	IC ₅₀	Espécies	Referências	
Apocynaceae	<i>Himatanthus suzanuba</i>	latex (Caulis)	15,7 µg/ml**	<i>L. amazonensis</i>	Sem & Chatterjee et al., 2011	
Asteraceae	<i>Bidens pilosa</i>	Extrato hidroalcoólico (Folhas)	42,6 µg/ml**	<i>L. amazonensis</i>	Soares et al., 2010	
Euphorbiaceae	<i>Croton palliei</i>	Juloerolinas (Casca)	6,1 µg/ml**	<i>L. amazonensis</i>	Guimarães et al., 2010b	
	<i>Croton cajucara</i>	Óleo essencial (Folhas)	0,02 µg/ml***	<i>L. amazonensis</i>	Rosa et al., 2003	
Fabaceae	<i>Copaifera reticulata</i>	Linóleo (Folhas)	0,01 µg/ml***	<i>L. amazonensis</i>		
	<i>Lacistema pubescens</i>	Óleo (seiva)	20 µg/ml*	<i>L. amazonensis</i>	Santos et al., 2008	
Laciniatiaceae		Extrato metanólico (Folhas)	35,9 µg/ml**	<i>L. amazonensis</i>		
		Extrato hexânico (Folhas)	22,1 µg/ml**	<i>L. amazonensis</i>	Silva et al., 2014	
Moraceae			27 µg/ml**	<i>L. amazonensis</i>	Torres-Santos et al., 2004	
	<i>Pourouma guianensis</i>	2α, 3β-dihidroxiruno-12-en-28-á-cido-óleo (Folhas)	11 µg/ml**	<i>L. amazonensis</i>	Sem and Chatterjee et al., 2011	
Euphorbiaceae		Plumbagina (Casca)	10 µg/ml [#]	<i>L. amazonensis</i>	Barros et al., 2013	
	<i>Pera benensis</i>	3,3-Biplumbagina (Casca)	50 µg/ml [#]	<i>L. amazonensis</i>	Fournet et al., 1992a	
		8,8-Biplumbagina (Casca)	10 µg/ml***	<i>L. amazonensis</i>	Fournet et al., 1992b	
Solanaceae		Fisalina B (folhas)	0,06 µg/ml***	<i>L. amazonensis</i>		
	<i>Physalis angulata</i>	Fisalina F (folhas)	0,05 µg/ml***	<i>L. major</i>	Guimarães et al., 2009	

IC₅₀: Concentração inibitória de 50% da população em teste; baixa atividade *(IC₅₀ > 100); atividade moderada ** (10 < IC₅₀ < 100); elevada atividade *** (IC₅₀ ≤ 10). [#] Concentração inibitória de 100% da população em teste. [#] Concentração inibitória de 80% a 90% da população em teste.

Os extratos que apresentaram melhores resultados contra células amastigotas intracelulares de *L. amazonensis* foram o hexânico e o metanólico das folhas de *L. pubescens* com IC₅₀ de 22,1 µg/mL e 35,9 µg/mL respectivamente. Resultados esses bem superiores aos obtidos em formas promastigotas, nas quais os extratos apresentaram IC₅₀ abaixo de 4,0 µg/mL (Silva et al., 2014). Estes extratos também demonstraram citotoxicidade para células do hospedeiro, porém, aproximadamente, quatro vezes menor que a apresentada pelas formas amastigotas de *L. amazonensis* (Silva et al., 2014). Fica, portanto, demonstrada a importância da realização de estudos futuros para o isolamento de metabólitos secundários que revertam a citotoxicidade e potencializem os efeitos leishmanicidas.

Assim como demonstram os dados relativos às formas promastigotas, a espécie *C. cajucara* foi responsável pelo melhor resultado com metabólito secundário isolado quando testada contra amastigotas de *L. amazonensis*. Nesse caso, o linalol retirado das folhas demonstrou um IC₅₀ de 0,01 µg/mL, mantendo um perfil similar ao observado com o óleo essencial também extraído das folhas com IC₅₀ de 0,02 µg/mL (Rosa et al., 2003).

Estudo realizado por Rosa et al. (2003) demonstrou que células tratadas com linalol produziram o dobro da quantidade de NO em relação ao controle negativo, o que reforça a hipótese de que sua ação consiste em estimular a produção de NO por macrófagos, provocando a erradicação da infecção por *Leishmania* spp. Além disso, o linalol não apresentou citotoxicidade contra as linhagens de células de carcinoma cervical humano (HeLa), carcinoma de pulmão humano (A-549), adenocarcinoma do cólon humano (HT-29), células do rim de primatas (Vero) (Silva et al., 2007) e macrófagos peritoneais de camundongos (Rosa et al., 2003; Silva et al., 2007), o que demonstra a inocuidade citotóxica contra células de mamíferos (Rosa et al., 2003) e um grande potencial farmacológico.

Os metabólitos fisalinas B (Figura 1d) e F (Figura 1e), isolados das folhas de *P. angulata*, também apresentaram resultados promissores com IC₅₀ de 0,05 µg/mL contra *L. major* e IC₅₀ de 0,06 µg/mL contra *L. amazonensis* (Guimarães et al., 2009).

A atividade in vivo da fisalina F foi demonstrada em um modelo de leishmaniose cutânea em camundongos BALB/c infectados com *L. amazonensis*. Estes resultados sugerem a utilização de fisalina como uma droga alternativa no tratamento da leishmaniose cutânea (Guimarães et al., 2010a).

Fisalinas B e F têm atividade anti-inflamatória e imunomoduladora (Soares et al., 2003; Soares et al., 2006), inibindo a produção de NO e citocinas pró-inflamatórias como interleucina-12 (IL-12), fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e fator nuclear kappa B (NF- κ B) (Jacobo-Herrera et al., 2006; Soares et al., 2003). A IL-12 estimula a produção de interferon-gama (IFN-gama) pelos linfócitos T e pelas células (NK). Estas, por sua vez, ativam os macrófagos para destruir os parasitos de *Leishmania* spp (Seder et al., 1993). O TNF- α também ativa os macrófagos para eliminar as formas intracelulares do parasito por meio de um mecanismo que envolve a produção de NO (Bogdan et al., 1990). O NF- κ B é um fator de transcrição importante nas respostas inflamatórias. Acredita-se que sua inibição ocorre em virtude de uma ligação dupla e um anel epóxido entre os carbonos 5 e 6 das fisalinas B e F respectivamente (Jacobo-Herrera et al., 2006; Guimarães et al., 2009). Apesar de o efeito benéfico do tratamento com fisalinas in vivo parecer contraditório por sua atividade inibitória promissora e, ao mesmo tempo, ação imunossupressora, acredita-se que a inibição de crescimento de *Leishmania* in vivo ocorreu graças à ação direta destes *seco*-esteroides no parasito. Estes também apresentam propriedades anti-inflamatórias que podem ser relevantes

para o processo de cicatrização das lesões cutâneas de leishmaniose, sugerindo que os dois mecanismos de ação das fisalinas, o imunomodulador e o leishmanicida, desempenham um papel no tratamento da leishmaniose cutânea (Guimarães et al., 2009).

As fisalinas B e F inibem o crescimento de vários tipos de células de leucemia humana *in vitro*, tendo fisalina F demonstrado citotoxicidade *in vitro* em linhagens celulares de cancro humano (Wu et al., 2012). Isso indica que fisalina F pode atuar potencialmente como um quimiopreventivo ou agente quimioterapêutico ao desencadear mecanismos de apoptose que ocorrem pela fragmentação do DNA e externalização de fosfatidilserina (Ooi, 2013). Não foram encontrados estudos que demonstrassem a citotoxicidade das fisalinas B e F sobre macrófagos de mamíferos, o que sugere a necessidade de estudos para a avaliação dos riscos genotóxicos *in vivo*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Constatou-se uma grande diversidade de espécies vegetais da Amazônia brasileira como potenciais fontes de compostos para a investigação de novos fitoterápicos e metabólitos secundários com ação leishmanicida. A presente revisão demonstrou que as espécies dos gêneros *Casearia*, *Croton* e *Physalis* são fortes candidatas para busca de novos fármacos leishmanicidas, pois apresentaram um IC₅₀ menor que 1µg/mL em testes *in vitro* contra as formas promastigotas ou amastigotas de *Leishmania* spp. Ressalta-se a importância de estudos futuros sobre espécies que apresentem metabólitos terpenoides ou esteroides, juntamente com estudos citotóxicos, indispensáveis para avaliar a real atividade antiparasitária específica. Porém, para a realização desses estudos, além de apoio financeiro, é necessária a interação entre diferentes laboratórios e grupos de pesquisa para a formação de equipes multidisciplinares e interdisciplinares, o que irá potencializar o nível da pesquisa na região e maximizar a probabilidade de descoberta de novos fármacos antiparasitários.

REFERÊNCIAS

1. Akihisa T, Yasukawa K, Oinuma H, Kasahara Y, Yamanouchi S, Takido M, Kumaki K, Tamura T. Triterpene alcohols from the flowers of compositae and their anti-inflammatory effects. *Phytochemistry* 43: 1255-1260, 1996.
2. Almeida MFO, Melo ACR, Pinheiro MLB, Silva JRA, Souza ADL, Barison A, Campos FR, Amaral ACF, Machado GMC, Leon LLP. Constituintes químicos e atividade Leishmanicida de *Gustavia elliptica* (Lecythidaceae). *Quim Nova* 34: 1182-1187, 2011.
3. Amante CB, Muller AH, Póvoa MM, Dolabela MF. Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia litifera*). *Acta Amaz* 41: 431-434, 2011.
4. Angioni A, Barra A, Arlorio M, Coisson JD, Russo MT, Pirisi FM, Satta M, Cabras P. 370

- Chemical composition, plant genetic differences, and antifungal activity of the essential oil of *Helichrysum italicum* G. Don ssp. *microphyllum* (Willd.) Nym. *J Agric Food Chem* 51: 1030-1034, 2003.
5. Barros NB, Migliaccio V, Facundo VA, Ciancaglini P, Stábéli RG, Nicolete R, Silva-Jardim I. Liposomal-lupane system as alternative chemotherapy against cutaneous leishmaniasis: Macrophage as target cell. *Exp Parasitol* 135: 337-343, 2013.
 6. Begum S, Ayub A, Qamar Zehra S, Shaheen Siddiqui B, Iqbal Choudhary MS. Leishmanicidal Triterpenes from *Lantana camara*. *Chem Biodivers* 11: 709-18, 2014.
 7. Bezerra RJS, Leon L, Genestra M. Recentes avanços da quimioterapia das leishmanioses: moléculas intracelulares como alvo de fármacos. *Rev Bras Ciênc Farm* 40: 141-148, 2004.
 8. Bezerra WS, Meneguetti DUO, Camargo LMA. A busca de fármacos para tratamento da tripanossomiase americana: 103 anos de negligência. *Saúde (Santa Maria)* 38: 9-20, 2012.
 9. Block S, Baccelli C, Tinant B, Van Meervelt L, Rozenberg R, Habib Jiwan JL, Llabrès G, De Pauw-Gillet MC, Quetin-Leclercq J. Diterpenes from the leaves of *Croton zambesicus*. *Phytochemistry* 65: 1165-1171, 2004.
 10. Bogdan C, Moll H, Solbach W, Röllinghoff M. Tumor necrosis factor- α in combination with interferon-gamma, but not with interleukin 4 activates murine macrophages for elimination of *Leishmania major* amastigotes. *Eur J Immunol* 20: 1131-1135, 1990.
 11. Bou DD, Tempone AG, Pinto EG, Lago JH, Sartorelli P. Antiparasitic activity and effect of casearins isolated from *Casearia sylvestris* on *Leishmania* and *Trypanosoma cruzi* plasma membrane. *Phytomedicine* 21: 676-681, 2014.
 12. Braga FG, Bouzada ML, Fabri RL, Matos MO, Moreira FO, Scio E, Coimbra ES. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. *J Ethnopharmacol* 111: 396-402, 2007.
 13. Broniatowski M, Flasiński M, Wydro P. Investigation of the interactions of lupane type pentacyclic triterpenes with outer leaflet membrane phospholipids—Langmuir monolayer and synchrotron X-ray scattering study. *J Colloid Interface Sci* 381: 116-124, 2012.
 14. Calderon LA, Silva-Jardim I, Zuliani JP, Silva AA, Ciancaglini P, Pereira da Silva LH, Stábéli RG. Amazonian biodiversity: a view of drug development for Leishmaniasis and Malaria. *J Braz Chem Soc* 20: 1011-1023, 2009.
 15. Choi CM, Lerner EA. Leishmaniasis as an emerging infection. *J Investig Dermatol Symp Proc* 6: 175-182, 2001.
 16. Costa EV, Pinheiro MLB, Silva JRA, Maia BHLNS, Duarte MCT, Amaral ACF, Machado GMC, Leon LL. Antimicrobial and antileishmanial activity of essential oil from the leaves of *Annona foetida* (Annonaceae). *Quim Nova* 32: 78-81, 2009.
 17. Costa EV, Pinheiro MLB, Xavier CM, Silva JRA, Amaral ACF, Souza ADL, Barison A, Campos FR, Ferreira AG, Machado GM, Leon LL. A pyrimidine-beta-carboline and other alkaloids from *Annona foetida* with antileishmanial activity. *J Nat Prod* 69: 292-294, 2006.
 18. Croft SL, Sundar S, Fairlamb AH. Drug resistance in leishmaniasis. *Clin Microbiol Rev* 19: 111-126, 2006.
 19. Cruz EM, Silva ER, Maquiaveli CC, Alves ES, Lucon JF, Reis MB, Toledo CE, Cruz FG, Vannier-Santos MA. Leishmanicidal activity of *Cecropia pachystachya* flavonoids: arginase inhibition and altered mitochondrial DNA arrangement. *Phytochemistry* 89: 71-77, 2013.
 20. Cunha-Filho GA, Resck IS, Cavalcanti BC, Pessoa CO, Moraes MO, Ferreira JR, Rodrigues FA, Dos Santos ML. Cytotoxic profile of natural and some modified bufadienolides from toad *Rhinella schneideri* parotoid gland secretion. *Toxicon* 56: 339-348, 2010.
 21. Ferreira MGPR, Kayano AM, Silva-Jardim I, Silva TO, Zuliani JP, Facundo VA, Calderon LA, Silval AA, Ciancaglini P, Stábéli RG. Antileishmanial activity of 3-(3,4,5-trimethoxyphenyl) propanoic acid purified from Amazonian *Piper tuberculatum* Jacq. (Piperaceae) fruit. *Rev Bras*

Farmacogn 20: 1003-1006, 2010.

22. Ferreira PMP, Costa-Lotufo LV, Moraes MO, Barros FWA, Martins AMA, Cavalheiro AJ, Bolzani VS, Santos AG, Pessoa C. Folk uses and phar-macological properties of *Casearia sylvestris*: a medicinal review. *An Acad Bras Cienc* 83: 1373-1384, 2011.
23. Figueredo FG, Tintino SR, Brito DIV, Braga MFBM, Leite NF, Lucena BFF, Sobral-Souza CE, Gomez MCV, Coutinho HDM. Avaliação das potenciais atividades tripanocida e antileishmania do extrato de folhas de *Piper arboreum* (Piperaceae) e de suas frações. *Rev Ciênc Farm Básica Apl* 35: 149-154, 2014.
24. Flores N, Jiménez IA, Giménez A, Ruiz G, Gutiérrez D, Bourdy G, Bazzocchi IL. Benzoic acid derivatives from Piper species and their antiparasitic activity. *J Nat Prod* 71: 1538-1543, 2008.
25. Fournet A, Angelo A, Munoz V, Roblot F, Hocquemiller R, Cavé A. Biological and chemical studies of *Pera benensis*, a Bolivian plant used in folk medicine as a treatment of cutaneous leishmaniasis. *J Ethnopharmacol* 37: 159-164, 1992a.
26. Fournet A, Barrios AA, Munoz V, Hocquemiller R, Cavé A. Effect of natural naphthoquinones in BALB/c mice infected with *Leishmania amazonensis* and *L. venezuelensis*. *Trop Med Parasitol* 43: 219-222, 1992b.
27. García M, Monzote L, Montalvo AM, Scull R. Screening of medicinal plants against *Leishmania amazonensis*. *Pharm Biol* 48: 1053-1058, 2010.
28. Gil ES, Paula JR, Nascimento FRF, Bezerra JCB. Produtos naturais com potencial leishmanicida. *Rev Ciênc Farm Básica Apl* 29: 223-230, 2008.
29. Guimarães ET, Lima MS, Santos LA, Ribeiro IM, Tomassini TB, Santos RR, Dos Santos WL, Soares MB. Activity of physalins purified from *Physalis angulata* *in vitro* and *in vivo* models of cutaneous leishmaniasis. *J Antimicrob Chemother* 64: 84-87, 2009.
30. Guimarães ET, Lima MS, Santos LA, Ribeiro IM, Tomassini TBC, Santos RR, Santos WLC, Soares MBP. Effects of seco-steroids purified from *Physalis angulata* L., Solanaceae, on the viability of *Leishmania* sp. *Rev Bras Farmacogn* 20: 945-949, 2010a.
31. Guimarães LR, Rodrigues AP, Marinho PS, Muller AH, Guilhon GM, Santos LS, Nascimento JL, Silva EO. Activity of the julocrotine, a glutarimide alkaloid from *Croton pullei* var. *glabrior*, on *Leishmania* (L.) *amazonensis*. *Parasitol Res* 107: 1075-1081, 2010b.
32. Jacobo-Herrera NJ, Bremner P, Marquez N, Gupta MP, Gibbons S, Muñoz E, Heinrich M. Physalins from *Witheringia solanacea* as modulators of the NF-κB cascade. *J Nat Prod* 69: 328-231, 2006.
33. Komiya T, Kyohkon M, Ohwaki S, Eto J, Katsuzaki H, Imai K, Kataoka T, Yoshioka K, Ishii Y, Hibasami H. Phytol induces programmed cell death in human lymphoid leukemia Molt 4B cells. *Int J Mol Med* 4: 377-380, 1999.
34. Lima ÊR, Moreira LS, Facundo VA, Silva-Jardim I, Teles CBG. Avaliação da bioatividade do extrato etanólico e triterpeno lupano obtidos de *Combretum leprosum* contra microorganismos. *Saber Cient* 3: 53-69, 2011.
35. Mahiou V, Roblot F, Hocquemiller R, Cavé A, Arias AR, Yaluff G, Fournet A, Angelo A. New aporphine alkaloids from *guatteria foliosa*. *J Nat Prod* 57: 890-895, 1994.
36. Marr AK, McGwire BS, McMaster WR. Modes of action of leishmanicidal antimicrobial peptides. *Future Microbiol* 7: 1047-1059, 2012.
37. Mazzanti G, Battinelli L, Salvatore G. Antimicrobial properties of the linalool-rich essential oil of *Hyssopus officinalis* L. var. *decumbens* (Lamiaceae). *Flav Fragr J* 13: 289-294, 1998.
38. Meneguetti DUO, Cunha RM, Lima RA, Oliveira FAS, Passarini GM, Medeiros DSS, Medeiros PSM, Militão JSLT, Facundo VA. Antimalarial ethnopharmacology in the Brazilian Amazon. *Rev Ciênc Farm Básica Apl* 35: 577-587, 2014.

49. Mesquita ML, Desrivot J, Bories C, Fournet A, Paula JE, Grellier P, Espindola LS. Antileishmanial and trypanocidal activity of Brazilian Cerrado plants. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100: 783-787, 2005.
40. Monteiro PS, Lacerda MM, Arias JR. Controle da Leishmaniose no Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 27: 67-72, 1994.
41. Oberlies NH, Burgess JP, Navarro HA, Pinos RE, Fairchild CR, Peterson RW, Soejarto DD, Farnsworth NR, Kinghorn AD, Wani MC, Wall ME. Novel bioactive clerodane diterpenoids from the leaves and twigs of *Casearia sylvestris*. *J Nat Prod* 65: 95-99, 2002.
42. Ooi KL, Muhammad TS, Sulaiman SF. Physalin F from *Physalis minima* L. triggers apoptosis-based cytotoxic mechanism in T-47D cells through the activation caspase-3- and c-myc-dependent pathways. *J Ethnopharmacol* 150: 382-388, 2013.
43. Paes-Gonçalves H, Facundo VA, Santos DMF, Silva AGC, Ballico LJ, Lima DKS, Stábeli RG, Silva-Jardim I. The leishmanicidal activity of a cyclopentenone derivative isolated from the roots of a native Amazonian pepper (*Piper carniconnectivum*). *Rev Bras Farmacogn* 22: 1018-1023, 2012.
44. Park SN, Lim YK, Freire MO, Cho E, Jin D, Kook JK. Antimicrobial effect of linalool and α -terpineol against periodontopathic and cariogenic bacteria. *Anaerobe* 18: 369-372, 2012.
45. Pereira IO, Assis DM, Juliano MA, Cunha RL, Barbieri CL, Sacramento LV, Marques MJ, dos Santos MH. Natural products from *Garcinia brasiliensis* as Leishmania protease inhibitors. *J Med Food* 14: 557-562, 2011.
46. Pietrowski EF, Rosa KA, Facundo VA, Rios K, Marques MCA, Santos ARS. Antinociceptive Properties of the Ethanolic Extract and of the Triterpene, 3 β , 6 β , 16 β -trihidroxiup-20(29)-ene Obtained From the Flowers of *Combretum leprosum* in mice. *Pharmacol Biochem Behavior* 83: 90-99, 2006.
47. Quellette M, Drummel-Smith J, Papadopolou B. Leishmaniasis: drugs in the clinic, resistance and new developments. *Drug Resist Update* 7: 257- 266, 2004.
48. Rondon FCM, Bevilacqua CML, Accioly MP, Morais SM, Andrade-Júnior HF, Carvalho CA, Lima JC, Magalhães HC. In vitro efficacy of *Coriandrum sativum*, *Lippia sidoides* and *Copaifera reticulata* against *Leishmania chagasi*. *Rev Bras Parasitol Vet* 21: 185-191, 2012.
49. Rosa MSS, Mendonça-Filho RR, Bizzo HR, Almeida Rodrigues I, Soares RM, Souto-Padrón T, Alviano CS, Lopes AH. Antileishmanial activity of a linalool-rich essential oil from *Croton cajucara*. *Antimicrob Agents Chemother* 47: 1895-1901, 2003.
50. Santoro GF, Cardoso MG, Guimarães LG, Mendonça LZ, Soares MJ. *Trypanosoma cruzi*: activity of essential oils from *Achillea millefolium* L., *Syzygium aromaticum* L. and *Ocimum basilicum* L. on epimastigotes and trypomastigotes. *Exp Parasitol* 116: 283-290, 2007.
51. Santos AG, Perez CC, Tininis AG, Bolzani VS, Cavalheiro AJ. Clerodane diterpenes from leaves of *Casearia sylvestris* Swartz. *Quim Nova* 30: 1100-1103, 2007.
52. Santos AO, Ueda-Nakamura T, Dias Filho BP, Veiga Junior VF, Pinto AC, Nakamura CV. Effect of Brazilian copaiba oils on *Leishmania amazonensis*. *J Ethnopharmacol* 120: 204-208, 2008.
53. Santos KKA, Rolón M, Vega C, Arias AR, Costa JGM, Coutinho HDM. Atividade leishmanicida in vitro de *Eugenia uniflora* e *Momordica charantia*. *Rev Ciênc Farm Básica Apl* 34: 47-50, 2013.
54. Seder RA, Gazzinelli R, Sher A, Paul WE. Interleukin 12 acts directly on CD4 β T cells to enhance priming for interferon γ production and diminishes interleukin 4 inhibition of such priming. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 10188-10192, 1993.
55. Sem R, Chatterjee M. Plant derived therapeutics for the treatment of Leishmaniasis. *Phytomedicine* 18: 1056-1069, 2011.

56. Silva JM, Motta EVS, Mendes RF, Bellozi PMQ, Lima IVA, Ribeiro A, Scio E. Antiinflammatory and antinociceptive activities of the hexane extract of *Lacistema pubescens* mart. Leaves. *Ph Ol 1*: 9-15, 2012.
57. Silva JM, Motta EVS, Mendes R, Scio E. Caracterização fitoquímica e avaliação da capacidade antioxidante de diferentes partições de *Lacistema pubescens* Mart. *HU Revista 37*: 342-347, 2011.
58. Silva JM, Antinarelli LM, Pinto NC, Coimbra ES, Souza-Fagundes EM, Ribeiro A, Scio E. HPLC-DAD analysis, antileishmanial, antiproliferative, and antibacterial activities of *Lacistema pubescens*: an Amazonian medicinal plant. *Biomed Res Int 2014*: 1-7, 2014.
59. Silva SL, Figueiredo PM, Yano T. Cytotoxic evaluation of essential oil from *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. leaves. *Acta Amaz 37*: 281-286, 2007.
60. Singh S, Sivakumar R. Challenges and discoveries in the treatment of leishmaniasis. *J Infect Chemother 10*: 307-315, 2004.
61. Soares-Bezerra RJ, Leon L, Genestra M. Recentes avanços da quimioterapia das leishmanioses: moléculas intracelulares como alvo de fármacos. *Rev Bras Cienc Farm 40*: 139-149, 2004.
62. Soares DC, Andrade AL, Delorenzi JC, Silva JR, Freire-de-Lima L, Falcão CA, Pinto AC, Rossi-Bergmann B, Saraiva EM. Leishmanicidal activity of *Himatanthus sucuba* latex against *Leishmania amazonensis*. *Parasitol Int 59*: 173-177, 2010.
63. Soares MBP, Bellintani MC, Ribeiro IM, Tomassini TC, Santos RR. Inhibition of macrophage activation and lipopolysaccharide-induced death by seco-steroids purified from *Physalis angulata* L. *Eur J Pharmacol 459*: 107-112, 2003.
64. Soares MBP, Brustolim D, Santos LA, Bellintani MC, Paiva FP, Ribeiro YM, Tomassini TC, Ribeiro Dos Santos R. Physalins B, F and G, seco-steroids purified from *Physalis angulata* L., inhibit lymphocyte function and allogeneic transplant rejection. *Int Immunopharmacol 6*: 408-414, 2006.
65. Teles CBG, Moreira LS, Silva AAE, Facundo VA, Zuliani JP, Stábéli RG, Silva-Jardim I. Activity of the lupane isolated from *Combretum leprosum* against *Leishmania amazonensis* promastigotes. *J Braz Chem Soc 22*: 936-942, 2011.
66. Tempone AG, Teixeira D, Prado FO, Calixto IARL, Lorenzi H, Melhem MSC. Brazilian flora extracts as source of novel antileishmanial and antifungal compounds. *Mem Inst Oswaldo Cruz 103*: 443-449, 2008.
67. Torres-Santos EC, Lopes D, Oliveira RR, Carauta JP, Falcao CA, Kaplan MA, Rossi-Bergmann B. Antileishmanial activity of isolated triterpenoids from *Pourouma guianensis*. *Phytomedicine 11*: 114-120, 2004.
68. Usta J, Kreydiyyeh S, Knio K, Barnabe P, Bou-Moughlabay Y, Dagher S. Linalool decreases HepG2 viability by inhibiting mitochondrial complexes I and II, increasing reactive oxygen species and decreasing ATP and GSH levels. *Chem Biol Interact 180*: 39-46, 2009.
69. Wang W, Zhao J, Wang YH, Smillie TA, Li XC. Diterpenoids from *Casearia sylvestris*. *Planta Med 75*: 1436-1441, 2009b.
70. Wang W, Zulfiqar A, Li XC, Smillie TA, Guo DA. New clerodane diterpenoids from *Casearia sylvestris*. *Fitoterapia 80*: 404-407, 2009a.
71. Wu SY, Leu YL, Chang YL, Wu TS, Kuo PC, Teng CM, Pan SL. Physalin F Induces Cell Apoptosis in Human Renal Carcinoma Cells by Targeting NF-kappaB and Generating Reactive Oxygen Species. *Plos One 7*: e40727, 2012.
72. Zasloff M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature 415*: 389-395, 2002.
73. Zengin H, Baysal AH. Antibacterial and antioxidant activity of essential oil terpenes against pathogenic and spoilage-forming bacteria and cell structure-activity relationships evaluated by SEM microscopy. *Molecules 19*: 17773-17798, 2014.