



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS
DISCIPLINA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO II

Bianca Luise Giglio Molardi

**Toxicidade de plantas da família Lamiaceae em macrófagos infectados com
Leishmania: revisão narrativa da literatura**

Florianópolis

2023

Bianca Luise Giglio Molardi

**Toxicidade de plantas da família Lamiaceae em macrófagos infectados com
Leishmania: revisão narrativa da literatura**

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para conclusão do Curso de Graduação em Farmácia.

Orientadora: Prof.(a) Izabel Galhardo Demarchi,
Dr.(a)

Florianópolis

2023

Giglio Molardi, Bianca Luise

Toxicidade de plantas da família Lamiaceae em macrófagos infectados com Leishmania: revisão narrativa da literatura / Bianca Luise Giglio Molardi ; orientadora, Izabel Galhardo Demarchi, 2023.

41 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Leishmania. 3. Lamiaceae. 4. Citotoxicidade. I. Galhardo Demarchi, Izabel . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Farmácia. III. Título.

Bianca Luise Giglio Molardi

Toxicidade de plantas da família Lamiaceae em macrófagos infectados com *Leishmania*

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de "Farmacêutico" e aprovado em sua forma final pelo Curso de Farmácia.

Florianópolis, 16 de junho de 2023.

Profa. Dra. Liliete Canes de Souza
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Izabel Galhardo Demarchi
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra. Beatriz Garcia Mendes Borba
Avaliadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Pós-graduanda Me. Tainá Larissa Lubschinski (PgFAR)
Avaliadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis
2023

AGRADECIMENTOS

Nos sete anos em que eu pude desfrutar de todas as infinitas possibilidades oferecidas dentro da Universidade Federal de Santa Catarina, desenvolvi enorme empatia com a comunidade científica. Gostaria de registrar aqui a minha gratidão pela complexidade de aprendizados obtidos neste período, que são tão exclusivos de uma universidade pública, mas principalmente ao corpo docente da UFSC, uma equipe de professores que proporcionou qualidade de ensino à minha jornada acadêmica.

Especialmente, agradeço aos professores do Departamento de Análises Clínicas que, com tamanha ética e leveza, colaboraram no meu melhor desempenho em formação profissional.

Reconheço que a oportunidade de estudar foi a mais valiosa herança que os meus pais deixaram para mim, pois o conhecimento é o único bem que ninguém pode me tirar.

O importante é não parar de questionar; a curiosidade tem sua própria razão de existir. (Albert Einstein)

RESUMO

As leishmanioses são doenças infecciosas negligenciadas e não contagiosas causadas por parasitos do gênero *Leishmania*, que são transmitidos durante a picada de insetos flebotomíneos. A leishmaniose tegumentar (LT) se manifesta por lesão única ou múltipla na pele e/ou mucosas. As lesões, apesar de indolores, podem expor os indivíduos a infecções secundárias, bem como a danos psicossociais importantes. O tratamento recomendado ainda é de difícil acesso, sendo o Glucantime® o fármaco de primeira escolha e Anfotericina B de segunda escolha. No entanto, as vias de administração (intramuscular e intravenosa) desses medicamentos são invasivas, apresentando alta toxicidade e em alguns casos baixa eficácia. Considerando essas limitações, muitos pesquisadores têm buscado novos fármacos derivados de plantas, uma vez que é de fácil acesso, e muitas vezes apresentam menor toxicidade e possuem uma gama imensa de produtos com potencial biológico. As plantas produzem, a partir de seu metabolismo secundário, substâncias que são fruto de milhões de anos de evolução. Estas substâncias são benéficas para a perpetuação de suas espécies, combatendo microrganismos. Coincidentemente, nas regiões endêmicas de leishmaniose, encontram-se uma variedade de plantas da família Lamiaceae. Essas plantas são tradicionalmente utilizadas de forma medicinal pela população acometida pela doença para tratar as lesões causadas pela LT. Na literatura, estudos *in vitro* têm sido conduzidos com derivados de plantas da família Lamiaceae para a busca de novos fármacos com atividade leishmanicida. Nessa revisão narrativa da literatura, foi investigado o potencial citotóxico das plantas da família Lamiaceae e seus derivados em macrófagos murinos e de linhagem infectados com espécie de *Leishmania* causadores de leishmaniose tegumentar. As plantas da família Lamiaceae, *Plectranthus amboinicus*, *Salvia mirzayanii*, *Tetradenia riparia* e *Vitex agnus-castus*, mostraram nenhuma ou baixa citotoxicidade para macrófagos murinos e de linhagem. Embora os resultados sejam favoráveis quanto à segurança dessas substâncias *in vitro*, não podemos confirmar os efeitos tóxicos em um modelo *in vivo*. Por isso, estudos experimentais em animais ainda são necessários para se comprovar sua segurança e eficácia terapêutica nos casos de leishmaniose tegumentar.

Palavras-chave: *Leishmania*; Lamiaceae; Citotoxicidade; Toxicidade; Células.

ABSTRACT

Leishmaniasis are neglected and non-contagious infectious diseases caused by parasites of the genus *Leishmania*, which are transmitted during the bite of sandflies. tegumentary leishmaniasis (TL) is manifested by single or multiple lesions on the skin and/or mucous membranes. The lesions, although painless, can expose individuals to secondary infections, as well as to important psychosocial damage. The recommended treatment is still difficult to access, with Glucantime® being the first choice drug and Amphotericin B being the second choice. However, the routes of administration (intramuscular and intravenous) of these drugs are invasive, with high toxicity and, in some cases, low efficacy. Considering these limitations, many researchers have been looking for new drugs derived from plants, since they are easily accessible, often have less toxicity and have a huge range of products with biological potential. Plants produce, from their secondary metabolism, substances that are the result of millions of years of evolution. These substances are beneficial for the perpetuation of their species, fighting microorganisms. Coincidentally, in leishmaniasis endemic regions, a variety of plants of the Lamiaceae family can be found. These plants are traditionally used medicinally by the population affected by the disease to treat injuries caused by TL. In the literature, *in vitro* studies have been conducted with derivatives of plants of the Lamiaceae family in the search for new drugs with leishmanicidal activity. In this literature review, the cytotoxic potential of plants of the Lamiaceae family and their derivatives in murine and strain macrophages infected with *Leishmania* species that cause tegumentary leishmaniasis was investigated. Plants of the Lamiaceae family, *Plectranthus amboinicus*, *Salvia mirzayanii*, *Tetradenia riparia* and *Vitex agnus-castus*, showed non or low cytotoxicity for murine and lineage macrophages. Although the results are optimistic regarding the safety of these substances *in vitro*, we cannot confirm the toxic effects in an *in vivo* model. Therefore, experimental studies in animals are still required to prove its safety and therapeutic efficacy in cases of tegumentary leishmaniasis.

Keywords: *Leishmania*; Lamiaceae; Cytotoxicity; Toxicity; Cells.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Leishmaniose tegumentar: vetor, cão e homem com lesões cutâneas	16
Figura 2 – Leishmaniose mucocutânea em humano (nasofaríngea)	17
Figura 3 – Distribuição global de casos estimados de leishmaniose cutânea, 2020	18
Figura 4 – Ciclo de transmissão da leishmaniose	19
Figura 5 - Fases da pesquisa científica para o desenvolvimento de novos medicamentos	21
Figura 6 - Folhas e flores de <i>Tetradenia riparia</i> e <i>Melissa officinalis</i> (A), folhas de <i>Mentha spicata</i> e <i>Ocimum basilicum</i> (B)	23

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Principais fármacos utilizados na clínica para tratamento das leishmanioses, vias de administração e efeitos adversos	20
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Óleos essenciais de plantas da família Lamiaceae com bioatividade relatada	24
Tabela 2 – Estratégia PICOS e critérios de inclusão e exclusão	27
Tabela 3 – Resumo das características gerais dos estudos incluídos na revisão	30
Tabela 4 - Resumo dos métodos de citotoxicidade dos estudos incluídos na revisão	33
Tabela 5 - Principais resultados e conclusões dos estudos incluídos	35

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVO	26
2.1	OBJETIVO GERAL	26
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
3	METODOLOGIA	27
3.1	ESTRATÉGIA DE PESQUISA E BUSCA NA LITERATURA	27
3.2	SELEÇÃO DE ESTUDOS (ELEGIBILIDADE)	28
3.3	EXTRAÇÃO E SÍNTESE DOS DADOS	28
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5	CONCLUSÃO	39
	REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

As leishmanioses compreendem um complexo de doenças infecciosas e não contagiosas causadas por parasitos do gênero *Leishmania* caracterizadas por lesões na pele, mucosa e vísceras, que acometem seres humanos e animais. A doença é causada por uma grande variedade de espécies de protozoários e apresenta-se sob diferentes formas clínicas (Figura 1). A leishmaniose tegumentar (LT) é a forma clínica mais comum da doença, e caracteriza-se por lesões na pele e/ou mucosas (BURZA, CROFT E BOELAERT, 2018; OMS, 2023) (Figuras 1 e 2).

Figura 1- Leishmaniose tegumentar: vetor, cão e homem com lesões cutâneas



Fonte: Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2013.

Figura 2 - Leishmaniose mucocutânea em humano (nasofaríngea)



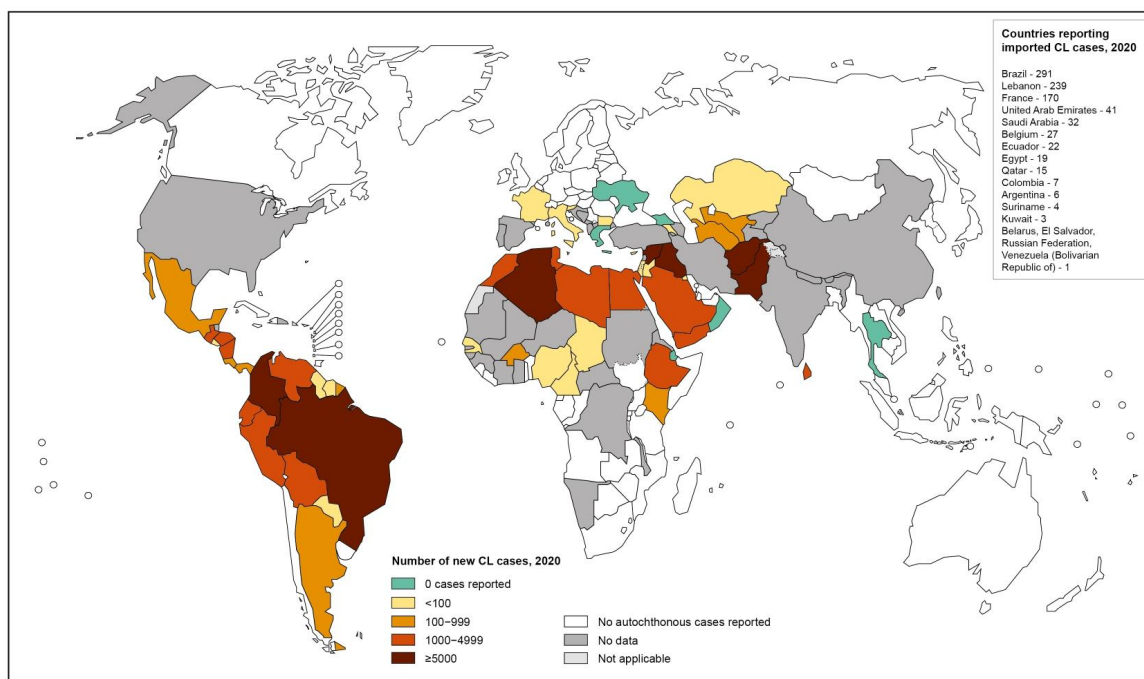
Fonte: GOMES *et al.*, 2004

As leishmanioses são consideradas doenças negligenciadas amplamente distribuídas nas Américas e outros continentes, de ocorrência, principalmente, em países com clima tropical, como o Brasil. No mundo, a leishmaniose tegumentar é a mais comum acometendo cerca de 600 mil a um milhão de pessoas/ano (OMS, 2023). E de acordo com a Organização Mundial da Saúde, trata-se de um problema de saúde pública global abordado em um dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável das Nações Unidas com meta para 2030 (WHO “Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals: a road map for neglected tropical diseases 2021–2030”, 2020).

A maior prevalência de LT ocorre em países em desenvolvimento e áreas tropicais, como África, Bolívia, Brasil, Índia, Irã, Iraque, Peru, Síria e Somália (OMS, 2023). A incidência da doença foi reportada por 106 países nos cinco continentes (OMS, 2023). A carga da doença se dá principalmente pelos aspectos sociais e psicológicos, uma vez que as lesões podem ser desfigurantes, levando ainda a um impacto significativo na redução da qualidade de vida e da saúde mental (BRASIL, 2017; PACHECO *et al.*, 2017; BENNIS *et al.*, 2018).

Figura 3 - Distribuição global de casos estimados de leishmaniose cutânea, 2020

Status of endemicity of cutaneous leishmaniasis worldwide, 2020



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement. © WHO 2021. All rights reserved.

Data Source: World Health Organization
Map Production: Control of Neglected
Tropical Diseases (NTD)
World Health Organization

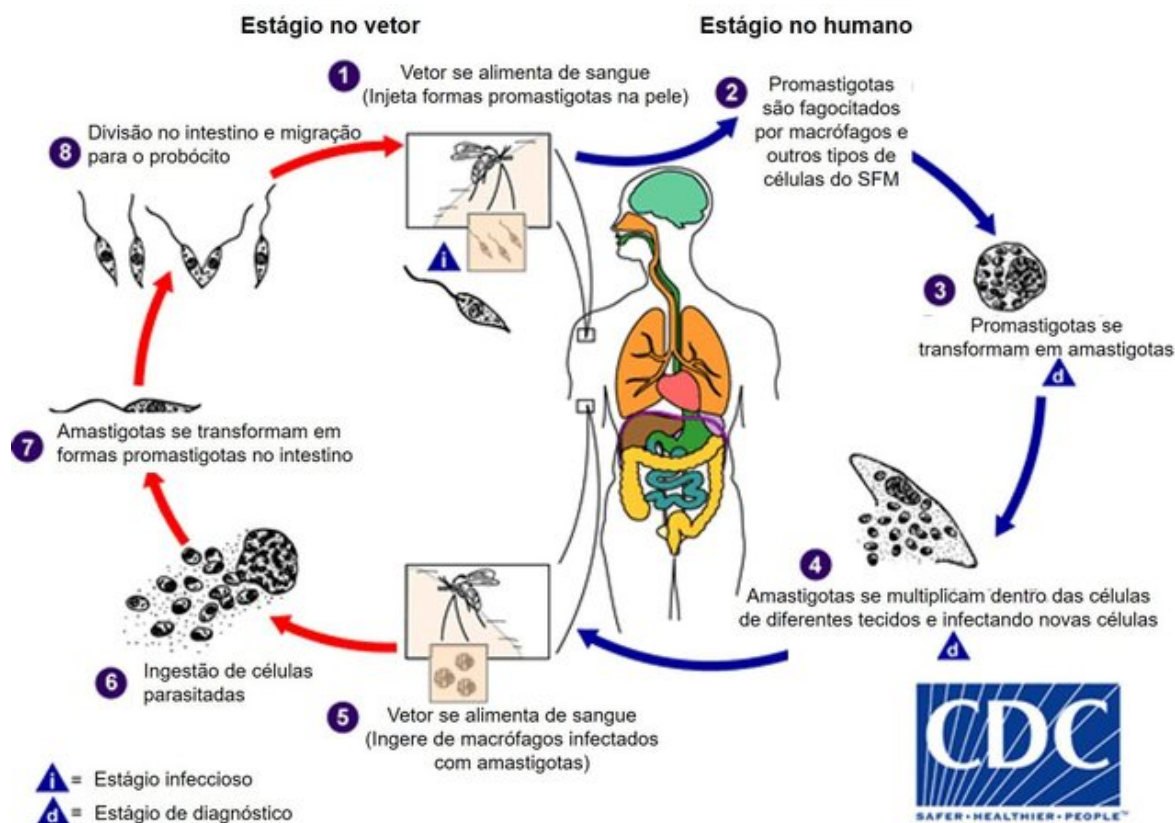


Número de casos novos de leishmaniose cutânea em 2020. Cor vinho: maior que 5 mil casos, laranja: de 1000 a 4999 casos, amarelo escuro: de 100 a 999 casos, bege: menor que 100 casos, azul: nenhum caso reportado. Fonte: OMS, 2021

A transmissão das leishmanioses ocorre por via vetorial durante a picada na pele por várias espécies de flebotomíneos fêmeas infectadas (VASCONCELOS JM, *et al.*, 2018). Existem várias espécies de flebotomíneos transmissores da doença, e são popularmente conhecidos como birigui, tatuquira ou mosquito-palha (dependendo da região). A partir da picada da fêmea infectada, durante o repasto sanguíneo, as formas promastigotas metacíclicas são inoculadas na pele do hospedeiro vertebrado (homem ou outro mamífero). Os parasitos são fagocitados por células do sistema mononuclear fagocítico (predominante) e polimorfonuclear (OLIVEIRA *et al.*, 2014), induzindo a formação de fagolisossomos que permitem sua transformação em amastigota e sua reprodução. As células supersaturadas do parasito sofrem lise, liberando

as amastigotas. O parasito infecta outras células e, quando a picada de outro inseto as ingere, o ciclo de transmissão pode ser mantido (BRASIL, 2017).

Figura 4 - Ciclo de transmissão da leishmaniose



Fonte: Adaptado de CDC (2020)

O acesso e a qualidade do tratamento são limitados. A maioria dos medicamentos disponíveis apresentam toxicidade e falha terapêutica, como antimoniato de meglumina (Glucantime®) e Anfotericina B. Ainda são relatados graves efeitos adversos, resistência parasitária e alta toxicidade (OLIVEIRA *et al.*, 2011; BRASIL, 2017) (Quadro 1). Por isso, muitos estudos têm sido conduzidos na busca por novos fármacos com potencial leishmanicida e com menores efeitos adversos. Nesse contexto, as terapias naturais têm emergido como uma alternativa promissora para o tratamento da leishmaniose, por serem de fácil obtenção, menor custo, menor toxicidade e presença de compostos com

atividade farmacológica (ALBALAWAI *et al.*, 2021; PASSERO *et al.*, 2018, SOUZA *et al.*, 2019).

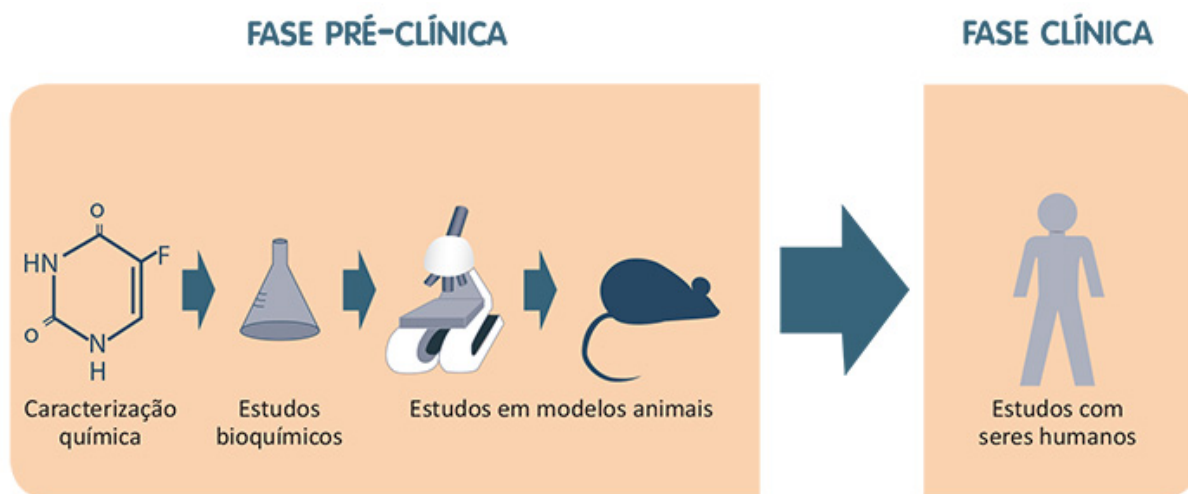
Quadro 1- Principais fármacos utilizados na clínica para tratamento das leishmanioses, vias de administração e efeitos adversos

Fármacos	Mecanismos de ação	Via de Administração	Efeitos Adversos
Antimoniais pentavalentes	Redução do Sb+5 a Sb+3 dentro do organismo; Apoptose, através da inibição da tripanotonia reductase; Inibição da atividade da topoisomerase.	IM, IV	Dor abdominal, vômito, diarreia, náusea, dor de cabeça, fadiga, febre, tosse, erupção cutânea, pancreatite, pneumonia, insuficiência hepática, nefrotoxicidade e, cardiotoxicidade.
Miltefosina	Inibição do citocromo-c oxidase através da despolarização do potencial da membrana mitocondrial, o que pode estar relacionado à morte de parasitos por apoptose.	VO	Toxicidade gastrointestinal, nefrotoxicidade, hepatotoxicidade e teratogenicidade.
Paromomicina	Inibição da síntese de proteínas do protozoário ligando-se à subunidade ribossômica 30S, resultando no acúmulo de complexos ribossômicos anormais 30S-50S, causando a morte celular.	IM ou TÓPICO	Nefrotoxicidade, ototoxicidade, hepatotoxicidade.
Pentamidina	Inibição o sistema de transporte ativo; Inibição da topoisomerase mitocondrial II.	IM ou, preferencialmente IV	Cardiotoxicidade, hipotensão e efeitos gastrointestinais, bem como, indução de diabetes mellitus insulino-dependente.

Fonte: Santiago, Pita e Guimarães (2021)

Para a liberação do uso de novos fármacos de origem natural para o tratamento da leishmaniose e outras doenças, são necessários estudos *in vitro* e *in vivo*. A segurança e eficácia em modelos pré-clínicos são exigidos para que ocorra a comprovação de sua atividade farmacológica bem como de sua toxicidade, e assim conduzir os ensaios clínicos em seres humanos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, Fitoterapia no SUS, 2006) (Figura 5).

Figura 5 - Fases da pesquisa científica para o desenvolvimento de novos medicamentos



Fase pré-clínica: caracterização química da substância, estudos bioquímicos *in vitro* e *in vivo* (modelos animais, por exemplo: em camundongos). Fase clínica: estudo em seres humanos.
 Fonte: Estadão: Instituto vencer o câncer. Tratamento experimental, 2013.

A fim de ampliar o arsenal terapêutico para o tratamento das leishmanioses, tendo em vista os efeitos adversos, dificuldade no acesso ao medicamento, e eficácia, os produtos naturais têm sido amplamente estudados para o tratamento de LT em estudos pré clínicos, principalmente *in vitro* (RAIMUNDO *et al.*, 2022; ALBALAWI *et al.*, 2021).

O cenário mais atual da indústria farmacêutica evidencia que os produtos naturais representam uma fonte valiosa na busca de novos compostos ativos, considerando que as estruturas químicas são resultantes do metabolismo vegetal dentro da seleção dos mecanismos evolutivos ao longo de milhões de anos (CALIXTO, 2005). Por isso, os pesquisadores têm investido na busca por novos fármacos com eficácia anti-*Leishmania* e que sejam seguros para o paciente. Destaca-se que desde 1981, o Ministério da Saúde do Brasil, por meio da Portaria nº 212, de 11 de setembro de 1981, tratou sobre as “Diretrizes e Prioridades de Investigação em Saúde” destacando o estudo de plantas medicinais como uma das prioridades de investigação em saúde (BRASIL, 1981b). Até hoje, existe investimento na pesquisa de novos fármacos para o tratamento da doença, como por exemplo a iniciativa internacional “Drugs for

Neglected Diseases initiative” desenvolvida como estratégia para combate das doenças negligenciadas, como as leishmanioses (DNDi, 2021).

No Brasil e outros países, existe um grande investimento das pesquisas básicas para o desenvolvimento de fármacos derivados de plantas como alternativas complementares no tratamento da doença. Neste trabalho, será abordado o estudo das plantas da família Lamiaceae, uma vez que estudos *in vitro* das plantas dessa família e seus derivados têm mostrado resultados promissores no tratamento da infecção por *Leishmania* (DEMARCHI *et al.*, 2015, 2016, TERRON-MONICH *et al.*, 2019), assim como, estudos *in vivo* (CARDOSO *et al.*, 2015; GOMES DE LIMA *et al.*, 2014; HASANZADEH *et al.*, 2021).

As plantas da família Lamiaceae geralmente são arbustos floríferos (Figura 6) que podem ser encontradas em áreas tropicais como Brasil, Índia, Irã e Índia (Tabela 1) (LIMA e CARDOSO, 2007), que também são países com alta endemicidade de LT (OMS, 2023) .

Figura 6 - Folhas e flores de *Tetradenia riparia* e *Melissa officinalis* (A), folhas de *Mentha spicata* e *Ocimum basilicum* (B)

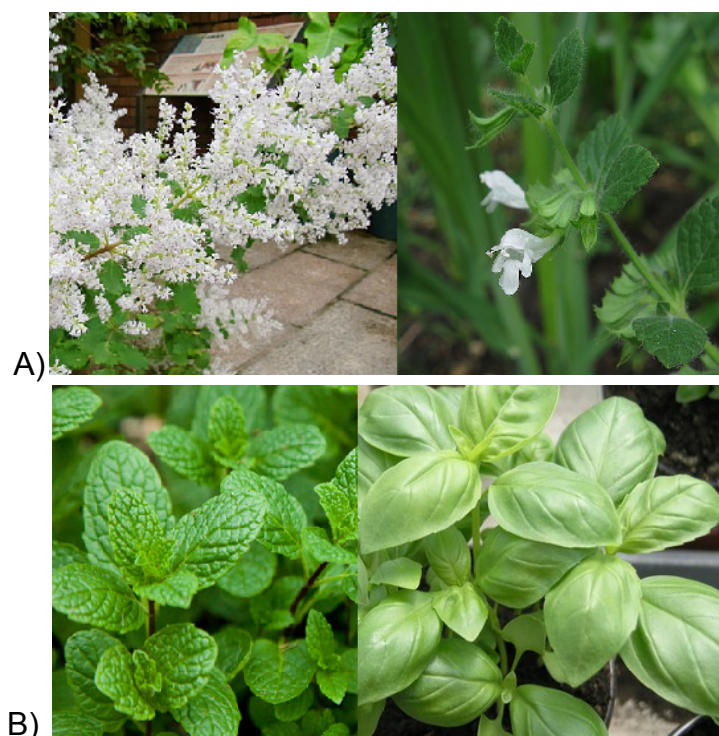


Tabela 1 – Óleos essenciais de plantas da família Lamiaceae com bioatividade relatada

Espécie	Atividade Relatada	Compostos majoritários	Origem	Referência
<i>Hyptis ovalifolia</i> Benth	Fungicida	(R)-6-[(Z)-1-heptenil-5,6-íidro-2H-pirano]	Brasil	Oliveira et al., 2004
<i>Hyptis suaveolens</i> L.	Inseticida	1,8-cineol, citronelol, β -pineno	Brasil	Cavalcanti et al., 2004
<i>Melissa officinalis</i> L.	Antioxidante; Antimicrobiana	neral/geranial, citronelal, iso-mentona, mentona	Iugoslávia	Mimica-Dukic et al., 2004
<i>Mentha aquatica</i> L.	Antimicrobiana; Antioxidante	1,8-cineol	Iugoslávia	Mimica-Dukic et al., 2003
<i>Mentha longifolia</i> L.	Antimicrobiana; Antioxidante	Mentol, metona	Iugoslávia	Mimica-Dukic et al., 2003
<i>Mentha piperita</i> L.	Bactericida; Fungicida; Antioxidante	Metol, mentona	Iran	Yadegarinia et al., 2006
	Antimicrobiana	linalol, carvona, 3-octanol	Brasil	Sartoratto et al., 2004
<i>Mentha spicata</i> L.	Antimicrobiana	óxido de piperitenona	Brasil	Sartoratto et al., 2004
<i>Myrtus communis</i> L.	Bactericida; Fungicida; Antioxidante	timol	Iran	Yadegarinia et al., 2006
<i>Ocimum americanum</i> L.	Inseticida	trans-metil-cinamato de metila	Brasil	Cavalcanti et al., 2004
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Larvicida	linalol	Brasil	Furtado et al., 2005
	Tripanomicida	Linalol, 1,8-cineol	Brasil	Santoro et al., 2007b
<i>Ocimum gratissimum</i> L.	Inseticida	eugenol	Brasil	Cavalcanti et al., 2004
	Larvicida	eugenol	Brasil	Furtado et al., 2005
	Fungicida	eugenol, timol, α -bisaboleno	Brasil	Lemos et al., 2005
<i>Ocimum selloi</i> L.	Inseticida	metil-chavicol, trans-anetol, cis-anetol	Brasil	Paula et al., 2003
<i>Origanum vulgare</i> L.	Antimicrobiana	timol	Brasil	Sartoratto et al., 2004
	Bactericida	terpen-4-ol, β -cimeno, γ -terpineno	Brasil	Pereira, 2006
	Inseticida; Acaricida	timol	Turquia	Çalmaşur et al., 2006
	Tripanomicida	terpen-4-ol, β -cimeno, γ -terpineno	Brasil	Santoro et al., 2007a
<i>Perilla frutescens</i> L.	Inseticida	(-)-perilaldeido, (-)-limoneno, cariofileno, trans-shisol, α -farneseno	Japan	Hori, 2003
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Antimicrobiana Antioxidante	1,8-cineol, cânfora, borneol, verbenona, acetato de bornila	Itália	Sacchetti et al., 2005
	Bactericida	1,8-cineol, cânfora, borneol, 2-etil-4,5-dimetilfenol, (+)- α -terpineol	Argélia	Kabouche et al., 2005
<i>Salvia santolinifolia</i> .	Antimicrobiana	α -pineno, β -pineno, limoneno	Iran	Sonboli et al., 2006
<i>Salvia hydrangea</i>	Antimicrobiana	β -cariofileno, 1,8-cineol, óxido de cariofileno	Iran	Sonboli et al., 2006
<i>Salvia mirzayanii</i>	Antimicrobiana	Acetato de α -terpenila, 1,8-cineol, linalol	Iran	Sonboli et al., 2006
<i>Salvia officinalis</i> L.	Bactericida	α -tujona, 1,8-cineol, cânfora, borneol, β -pineno	Brasil	Delamare et al., 2007
<i>Salvia triloba</i>	Bactericida	α -tujona, 1,8-cineol, Cânfora, β -cariofileno	Brasil	Delamare et al., 2007
<i>Salvia stenophylla</i>	Antiinflamatória Antimalária	γ -3-careno, manol, α -bisabolol, β -cariofileno	Sul da África	Kamatoua et al., 2005
<i>Salvia repens</i>	Antiinflamatória Antimalária	β -felandreno, β -cariofileno, limoneno, cânfora	Sul da África	Kamatoua et al., 2005
<i>Salvia runcinata</i>	Antioxidante Antimalária Antiinflamatório	α -bisabolol, β -cariofileno, óxido de cariofileno, trans-nerolidol, α -humuleno	Sul da África	Kamatoua et al., 2005
<i>Satureja spicigera</i> L.	Antioxidante	carvacrol, γ -terpineno, p-cimeno	Turquia	Eminagaoglu et al., 2007
<i>Satureja cuneifolia</i> L.	Antioxidante	carvacrol, γ -terpineno	Turquia	Eminagaoglu et al., 2007
<i>Satureja hortensis</i> L.	Antioxidante; Fungicida; Antimicrobiana	timol, carvacrol, γ -terpineno, p-cimeno	Turquia	Gulluce et al., 2003
	Inseticida	carvacrol, γ -terpineno, p-cimeno	Japan	Hori, 2003
<i>Teucrium atratum</i>	Bactericida	timol, carvacrol e T-cadinol	Argélia	Kabouche et al., 2005
<i>Teucrium leucocladum</i>	Antimicrobiana; Larvicida	álcool patchouli, β -pineno, α -pineno, α -cadinol, viridiflorol, mirceno	Egito	El-Shazly; Hussein, 2004
<i>Teucrium marum</i>	Fungicida; Antioxidante	Isocariofileno, β -sesquifelandreno; β -bisaboleno,	Itália	Ricci et al., 2005
<i>Thymus caespitosus</i> Brot.	Antioxidante	α -terpineol	Portugal	Miguel et al., 2004
<i>Thymus camphoratus</i>	Antioxidante	1,8-cineol	Portugal	Miguel et al., 2004
<i>Thymus fontanesii</i> (Boiss. & Reut.)	Bactericida	p-cimeno, γ -terpineno, timol	Argélia	Kabouche et al., 2005
<i>Thymus pectinatus</i> Fisch	Antioxidante; Antimicrobiana	timol, γ -terpineno, p-cimeno, carvacrol, borneol	Turquia	Vardar-Unlü et al., 2003
<i>Thymus mastichina</i> L.	Antioxidante	linalol, acetato de linalila, 1,8-cineol	Portugal	Miguel et al., 2004
<i>Thymus numidicus</i> (Poiret)	Bactericida	Linalol, timol, carvacrol	Argélia	Kabouche et al., 2005
<i>Thymus vulgaris</i> L.	Antimicrobiana; Antioxidante	γ -terpineno, geraniol, carvacrol	Itália	Sacchetti et al., 2005
	Inseticida	timol	Brasil	Castro et al., 2006
	Tripanomicida	timol	Brasil	Santoro et al., 2007a
<i>Zataria multiflora</i> Boiss	Bactericida; Antioxidante	timol, carvacrol, γ -terpineno, p-cimeno, β -cariofileno	Iran	Sharififar et al., 2007

Fonte: Lima e Cardoso (2007)

Por exemplo, extratos de *Sálvia* e óleos essenciais de *Tetradenia* (MACIEL, REIS, FIDELIS 2022) têm apresentado efeito antiprotozoário em estudos pré-clínicos, como para a *Leishmania*. No entanto, poucos estudos que testaram a eficácia anti-*Leishmania* também avaliaram o potencial tóxico em modelos animais. A maioria dos estudos de toxicidade foram realizados em células, principalmente macrófagos murinos e de linhagem (como J774.A1). Isso porque, os macrófagos são as principais células de defesa contra os parasitos do gênero *Leishmania* e o principal local de sobrevivência do parasito. Por isso, são amplamente estudados para avaliar a eficácia de produtos anti-*Leishmania* e para compreender os mecanismos da doença (TOMIOTTO-PELLISSIER *et al.*, 2018; DUBIE e MOHAMMED, 2020).

Considerando que a LT é uma doença negligenciada de alto impacto nos países endêmicos, de difícil tratamento e arsenal terapêutico limitado, e também, que existe escassa literatura de estudos *in vivo* que avaliem a toxicidade das plantas da família Lamiaceae, e inúmeros estudos *in vitro* com uma grande variedade de espécies de plantas pesquisadas, diferentes espécies de *Leishmania*, e desfechos investigados. Torna-se fundamental, a síntese sobre a toxicidade desses derivados. Por isso, neste estudo, será realizada uma revisão de literatura para verificar a toxicidade de plantas da família Lamiaceae em macrófagos infectados por *Leishmania* causadoras de leishmaniose tegumentar.

Além disso, o potencial leishmanicida das plantas e derivados da família Lamiaceae têm sido investigados por pesquisadores do Brasil (DEMARCHI *et al.*, 2015, 2016; TERRON-MONICH *et al.*, 2019; CARDOSO *et al.*, 2018), e uma grande maioria realizou apenas estudos *in vitro*. Até o presente momento, na literatura investigada não foi encontrado estudo em animal que verificasse o efeito tóxico dessas substâncias.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Neste estudo, o objetivo foi realizar uma revisão narrativa da literatura sobre a toxicidade das plantas da família Lamiaceae e seus derivados em macrófagos murinos e de linhagem infectados com espécie de *Leishmania* causadores de leishmaniose tegumentar.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar os estudos publicados sobre toxicidade das plantas da família Lamiaceae e derivados em macrófagos infectados com *Leishmania*;
2. Verificar a citotoxicidade das plantas da família Lamiaceae sobre macrófagos murinos e de linhagem;
3. Analisar as estimativas de dose letal dos compostos constituintes das plantas da família Lamiaceae ativos contra a *Leishmania*;
4. Destacar as potenciais espécies de plantas e derivados com baixa ou ausente toxicidade.

3 METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão narrativa da literatura, baseando-se nos artigos recuperados em uma revisão sistemática realizada pela Mestranda Thais Pilatti do Programa de Pós-Graduação em Farmácia (PgFAR na UFSC) (protocolo registrado PROSPERO 2022 CRD42022328758, *International Prospective Register of Systematic Reviews*, Reino Unido) utilizando recomendações PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis checklist*) (MOHER *et al.*, 2009, PAGE *et al.*, 2021). Para compreensão do estado da arte, os artigos originais foram pesquisados em bases de dados utilizando como base os artigos de referência indicados pelo especialista (IGD).

3.1 ESTRATÉGIA DE PESQUISA E BUSCA NA LITERATURA

Dois pesquisadores realizaram as buscas por descritores, termos e operadores para recuperar potenciais artigos originais sobre o tema. Os estudos foram recuperados no PubMed (US National Library of Medicine) e Web of Science (Clarivate Analytics, EUA), de setembro de 2022 a fevereiro de 2023. Nesta revisão, foram considerados os artigos originais que avaliaram a toxicidade das plantas e derivados da família Lamiaceae em macrófagos murinos ou de linhagem. A pergunta científica foi construída de acordo com o acrônimo PICOS (População/*Population*, Intervenção/*Intervention*, Controle/*Comparator*, Resultados/*Outcomes* e tipos de estudo/*Study design*) (HIGGINS *et al.*, 2011) (Tabela 2):

Tabela 2 - Estratégia PICOS e critérios de inclusão e exclusão

(continua)

PICOS	INCLUSÃO	EXCLUSÃO
População (P)	Células mononucleares derivadas de camundongos (linhagem ou não); e infectadas com <i>Leishmania</i> (causadoras de LT)**; e células tratadas e não infectadas	Células polimorfonucleares, não derivadas de murinos, e não infectadas por <i>leishmania</i> ; <i>Leishmania</i> causadora de leishmaniose visceral (<i>L. donovani</i> ; <i>L. infatum</i>)

(conclusão)

PICOS	INCLUSÃO	EXCLUSÃO
Intervention (I)	Tratamento com plantas da família Lamiaceae ou derivados das plantas (não sintético)	Não é planta ou derivado da família Lamiaceae; produtos sintéticos
Comparador (C)	Células não tratadas e infectadas; e células não tratadas e não infectadas, fármaco de referência	Não aplicou controle (como citado na inclusão)
Desfecho (O)	Dose letal dos macrófagos; Citotoxicidade em 90% e 50%	outros desfechos: imunomodulação, metabólica
Tipo de estudo (S)	Estudo <i>in vitro</i> original	<i>in silico, in vivo, in human</i>

Pergunta científica: Qual é a citotoxicidade *in vitro* de plantas da família Lamiaceae e derivados utilizados para o tratamento de leishmaniose tegumentar ?

** Espécies que causam LT: *Leishmania (L.) amazonensis, (V.) braziliensis, L. major; L. tropica, L. panamensis, L. mexicana*. Fonte: Elaboração própria

3.2 SELEÇÃO DE ESTUDOS (ELEGIBILIDADE)

Dois pesquisadores cegados selecionaram artigos da literatura aplicando critérios de inclusão e exclusão (Tabela 2).

3.3 EXTRAÇÃO E SÍNTESE DOS DADOS

A extração de dados foi realizada por um autor por meio da estruturação das informações relevantes obtidas dos artigos em uma tabela padrão do Excel. Foram extraídas as variáveis: características gerais dos estudos (autores, ano de publicação, país de origem), objetivo, conclusão, existência de análise estatística e limitações do autor ou pesquisa), linhagem celular (origem das células, número de passagens, número de células utilizadas), informações sobre a intervenção (espécie da planta, origem, parte utilizada, derivado, dose, veículo), controle (veículo), método de avaliação da citotoxicidade (colorimétrico, por exemplo), desfecho (dose letal em qualquer unidade de medida, concentração citotóxica para 50% e 90% e para diferentes períodos, exemplo, 24 e 48h). Expertises no assunto validaram os dados tabulados, e quando

necessário, as correções foram feitas pelos revisores. Os resultados dos estudos incluídos foram sintetizados qualitativamente no corpo do texto.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca na literatura recuperou 1167 estudos em potencial. Após a triagem por título e resumo, 11 artigos foram selecionados para a leitura na íntegra, pois atendiam aos critérios de inclusão. Destes, seis estudos foram incluídos nesta revisão (CARDOSO *et al.* 2018; DEMARCHI *et al.*, 2015; DEMARCHI *et al.*, 2016; DE LIMA *et al.*, 2014; HASANZADEH *et al.*, 2021; JAFROODI *et al.*, 2015) (Tabela 3).

Dos seis estudos, quatro foram realizados no Brasil (CARDOSO *et al.* 2018; DEMARCHI *et al.* 2015; DEMARCHI *et al.* 2016; DE LIMA *et al.*, 2014), e dois no Irã (HASANZADEH *et al.*, 2021; JAFROODI *et al.*, 2015). As plantas da família Lamiaceae estudadas foram *Plectranthus amboinicus* (DE LIMA *et al.*, 2014), *Salvia mirzayanii* (HASANZADEH *et al.*, 2021), *Tetradenia riparia* (CARDOSO *et al.*, 2018; DEMARCHI *et al.* 2015; DEMARCHI *et al.* 2016) e *Vitex agnus-castus* (JAFROODI *et al.*, 2015) (Tabela 3). As plantas da família Lamiaceae têm origem do Irã e China, mas também são encontradas no Brasil (MARTINS *et al.*, 2008; .GAZIM *et al.*, 2010). Em todos os estudos abordados nesta revisão, as plantas pesquisadas foram coletadas de regiões endêmicas para a LT, plantas as quais relata-se o uso medicinal tradicional no tratamento de afecções e distúrbios gastrointestinais (GOIS *et al.*, 2016).

A maioria utilizou a parte aérea da planta (5/6), como as folhas, e Jafroodi *et al.* (2015) utilizou diversas partes da planta (não ficou claro as partes estudadas). Foram testados óleos essenciais (CARDOSO *et al.*, 2018; DEMARCHI *et al.*, 2015; DEMARCHI *et al.*, 2016; DE LIMA *et al.*, 2014), isolado (DEMARCHI *et al.*, 2016), extrato aquoso e alcoólico (HASANZADEH *et al.*, 2021) e extrato metanólico (JAFROODI *et al.*, 2015) (Tabela 3).

As espécies de *Leishmania* estudadas foram *L. amazonensis* (CARDOSO *et al.*, 2018; DEMARCHI *et al.*, 2015; DEMARCHI *et al.* 2016), *L. braziliensis* (DE LIMA *et al.*, 2014) e *L. major* (HASANZADEH *et al.*, 2021; JAFROODI *et al.*, 2015) (Tabela 3). Estas espécies estão relacionadas com a

endemicidade etiológica da LT no país em que os respectivos estudos foram realizados. A *L. amazonensis* é uma das principais espécies causadoras de LT no Brasil, seguido da *L. braziliensis*, que além do Brasil, acomete outros países da América Latina (BRASIL, 2017; PAHO, 2018). Já a espécie mais amplamente distribuída e causadora de LT no mundo e de maior prevalência nos países do Velho Mundo é a *L. major* (OMS, 2023), e foi a espécie utilizada para os estudos realizados no Irã (HASANZADEH *et al.*, 2021; JAFROODI *et al.*, 2015).

Tabela 3 - Resumo das características gerais dos estudos incluídos na revisão

Estudo/País	Espécie da planta	Parte da planta utilizada	Objetivo do estudo	Patógeno (cepas/strain)
Cardoso et al. 2018/Brazil	<i>Tetradenia riparia</i>	Folhas (TrEO obtido na primavera, verão, outono e inverno foram solubilizados em dimetil sulfoxido (DMSO).	Avaliar a atividade do TrEO, obtido em diferentes estações do ano, contra <i>L. (L.) amazonensis in vitro</i> e em camundongos BALB/c para determinar seu potencial para tratamento de leishmaniose.	<i>L. (L.) amazonensis</i> promastigota (4 x 10e6 /mL em meio de cultura Shcneider suplementado)
Demarchi et al. 2015/Brazil	<i>Tetradenia riparia</i>	TrEO (óleo essencial) de folhas frescas 6,7-desidrooleanona (TrROY) isolada de OE	Avaliar o potencial de TrEO e TrROY isolados de <i>T. riparia</i> sobre formas promastigotas e amastigotas de <i>L. (L.) amazonensis</i> , citotoxicidade em eritrócitos humanos e macrófagos murinos, produção nítrica e expressão induzível de óxido nítrico sintase.	Formas amastigotas de <i>L. (L.) amazonensis</i> (MHOM/BR/1977/LTB0016)
Demarchi et al. 2016/ Brazil	<i>Tetradenia riparia</i>	OE das folhas frescas (hidrodestilação usando um aparelho do tipo Clevenger).	Avaliar os efeitos do TrEO na produção de citocinas por células do líquido peritoneal infectadas com <i>L. (L.) amazonensis</i> , demonstrando atividade anti- <i>Leishmania</i> e efeitos imunomoduladores de TrEO.	<i>L. (L.) amazonensis</i> (MHOM/BR/1977/LTB0016)
De Lima et al., 2014/Brazil	<i>Plectranthus amboinicus</i>	Folhas	Avaliar a atividade anti- <i>Leishmania</i> de <i>Astronium fraxinifolium</i> e <i>Plectranthus amboinicus</i> .	<i>L. braziliensis</i> (MHOMBR-94-H3227)
Hasanzadeh et al., 2021 Irã	<i>Salvia mirzayanii</i>	Seções aéreas	Avaliar a eficácia anti- <i>Leishmania</i> dos extratos aquoso e alcoólico de <i>S. mirzayanii (in vitro e in vivo)</i> contra <i>L. major</i> .	<i>L. promastigotas</i> cepas principais do padrão iraniano (MRHO/IR/75/ER)
Jafroodi et al., 2015/ Irã	<i>Vitex agnus-castus</i>	Diferentes partes de cada planta (extratos metanólicos de <i>Artemisia absinthium</i> , <i>Vitex agnus-castus</i> e <i>Phytolaca americana</i>)	Analisar a atividade <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> do extrato metanólico de <i>Artemisia absinthium</i> , <i>Vitex agnus-castus</i> e <i>Phytolaca americana</i> contra <i>L. major</i> .	<i>L. major</i> promastigotas, cepa MROH/IR/75/IR (7:1 parasita/macrófago)

Dos seis estudos, três utilizaram macrófago peritoneal de camundongos BALB/c (CARDOSO *et al.*, 2018; DEMARCHI *et al.*, 2015; DEMARCHI *et al.*,

2016), linhagem J774.A1 (CARDOSO *et al.*, 2018; HASANZADEH *et al.*, 2021; JAFROODI *et al.*, 2015) e RAW 264.7 (DE LIMA *et al.* 2014).

Os macrófagos são as principais células de defesa e sobrevivência dos parasitos do gênero, sendo essas linhagens produtoras de óxido nítrico que é o principal mediador bioquímico para eliminação do parasito (TOMIOTTO-PELLISSIER *et al.*, 2018). Camundongos BALB/c são sensíveis à infecção por várias espécies de *Leishmania* e é o principal modelo experimental *in vivo* para o estudo de novos fármacos leishmanicidas (Tabela 4). Por isso, macrófagos murinos e de linhagem têm sido os mais empregados nos estudos que se aplicam nesta pesquisa.

Nesta revisão, os ensaios colorimétricos foram os mais utilizados para avaliar a toxicidade sobre células. A maioria dos estudos recuperados nesta revisão utilizaram testes colorimétricos como XTT e MTT, e apenas um utilizou o reagente de azul de Tripán (CARDOSO *et al.*, 2018) (Tabela 4). Há muitos anos, os testes colorimétricos são utilizados para avaliar citotoxicidade (FERRARI *et al.*, 1990; LIU *et al.*, 2018).

Os ensaios de citotoxicidade medem a perda de algumas estruturas e/ou funções celulares ou intercelulares, incluindo citotoxicidade letal. Estes ensaios fornecem um direcionamento do potencial para causar lesões celulares e teciduais, sendo utilizados durante a fase pré clínica de estudos de substâncias com potencial terapêutico a fim de prever possíveis lesões teciduais durante a terapêutica (BALLANTYNE, 2006). Ensaios de citotoxicidade usam de diferentes parâmetros associados à morte e proliferação celular. A atividade metabólica de células viáveis é comumente testada em ensaios colorimétricos, baseados na conversão de compostos tetrazólicos (TASIC-KOSTOV *et al.*, 2014).

O ensaio de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-triazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) consiste em determinar a viabilidade celular, resultante da clivagem do reagente pela enzima mitocondrial succinato desidrogenase celular. Essa reação gera um produto colorido com densidade ótica (absorbância) mensurável em espectrofotômetro. Uma vez que essa reação é realizada somente pelas células metabolicamente viáveis, a densidade ótica obtida reflete a quantidade de células viáveis, podendo então expressar de forma percentual a viabilidade em relação ao grupo controle (MOSMANN, 1983; FRANÇOIS DENIZOT; LANG, 1986). Neste protocolo, o composto final (de cor

azul) precisa ser solubilizado com isopropanol ou dimetilsulfóxido para mensuração. O ensaio de citotoxicidade MTT é um protocolo padrão para a triagem de formulações (TASIC-KOSTOV *et al.*, 2014).

Mais recentemente, foi descrito o sal de tetrazólio XTT (2,3-bis-(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazólio-5-carboxanilida). Ao contrário do MTT, o produto de clivagem do XTT é solúvel em água, portanto, uma etapa de solubilização não é necessária. O sal de tetrazólio XTT é clivado em formazan por um mecanismo celular complexo. Essa biorredução ocorre apenas em células viáveis e está relacionada à produção de NAD(P)H por meio da glicólise. Portanto, a quantidade de corante formazan formado está diretamente correlacionada com o número de células metabolicamente ativas na cultura. Nesse sentido, o MTT não é um produto solúvel, então as células devem ser lisadas para solubilizar o sal de formazan antes que a absorbância possa ser medida, já o XTT e resazurina não requerem lise celular, permitindo o monitoramento cinético das mesmas amostras em diferentes pontos de tempo (BIOTIUM, 2020).

O ensaio de exclusão por azul de tripan foi citado por apenas um estudo. Trata-se de um método utilizado para avaliar a citotoxicidade mensurando a viabilidade celular pela integridade da membrana celular. Baseia-se no fato que as células inviáveis absorverem o corante para seu citoplasma por perda de seletividade da membrana, enquanto que as células vivas permanecem intactas, sendo que o número relativo de células mortas e vivas é realizado por contagem manual das células coradas (mortas) e não coradas (vivas) em câmara de Neubauer (STROBER, 2015).

Todos os estudos aplicaram controles de células não infectadas, e/ou tratadas. Três estudos reportaram células tratadas com as drogas de referência para *Leishmania*. Os fármacos utilizados foram anfotericina B (CARDOSO *et al.*, 2018; HASANZADEH *et al.*, 2021), Glucantime® (HASANZADEH *et al.*, 2021) e miltefosine (JAFROODI *et al.*, 2015) (Tabela 4).

O tratamento de primeira linha para leishmaniose é constituído pelos antimoniais pentavalentes como o Glucantime®. No entanto, essa classe de medicamentos causa efeitos adversos importantes como pancreatite, efeitos gastrintestinais significativos e artralgia (CAETANO DCDS, 2016; BRASIL, 2017). E ainda, seu mecanismo de ação é desconhecido. Como segunda linha

de medicamentos, tem-se a Anfotericina B, fármaco utilizado, principalmente, em casos refratários e resistentes, ou com efeitos adversos importantes como alterações cardíacas e anorexia, mas também apresenta efeitos nefrotóxicos que precisam de monitoramento (CAETANO DCDS, 2016). E mais recentemente, tem sido preconizado o uso de miltefosine (via oral), mas seu acesso ainda é limitado (BRASIL, 2017).

Nessa revisão, a maioria dos autores recomendam testes orais ou aplicações cutâneas das formulações testadas, uma vez que os tratamentos atuais são invasivos (intramuscular e endovenoso) e sistêmicos. Por isso, cada vez mais os profissionais e pesquisadores se esforçam na busca de novos fármacos para a terapia medicamentosa de todas as formas de leishmaniose, visando uma melhor adesão ao tratamento, alívio dos sintomas e do desconforto causado pela doença. A partir dessa forma de administração, considera-se que se tenha maior segurança no uso dos medicamentos, o controle e/ou a minimização da ocorrência de efeitos adversos (BRASIL, 2017).

Acredita-se que os efeitos adversos e a via de administração destes medicamentos implicam na adesão farmacoterapêutica podendo gerar falhas no tratamento. O tratamento padrão da leishmaniose oferece desvantagens já que promove toxicidade acentuada, além de existirem relatos de cepas resistentes a tais medicações.

Tabela 4 - Resumo dos métodos de citotoxicidade dos estudos incluídos na revisão

(continua)

Estudo/País	Células (número de células plaqueadas, volume, meio)	Métodos	Parâmetros/p eríodo de incubação	Esquema terapêutico	Controle (negativo ou branco e outro)	Droga de referência
Cardoso et al. 2018/Brazil	Macrófagos J774.A1 (5 x 10E5 /500 µL de meio de cultura RPMI suplementado). Macrófagos peritoneais obtidos de camundongos BALB/c (1x10E6 células/mL e 2x10E5 células/poço em RPMI suplementado)	1. Ensaio colorimétrico XTT 2. Ensaio Trypan Blue (contagem microscópica)	1. CC50/24 e 48h 2. CC50/24	1. TrEO de 4.69 x 10 ⁻³ mg/mL para 2.40 mg/mL 2.TrEO de 37.5 a 2,400 ng/mL	Todos os testes têm culturas não tratadas e não infectadas	AmB (0,05-0,80 mg/mL) (Anfotericina B; Cristália, Brasil) foi utilizado como droga de referência e controle interno positivo para todos os ensaios anti- <i>Leishmania</i> . AmB (25, 50 ou 100 ng/mL) para macrófagos

(conclusão)

Estudo/País	Células (número de células plaqueadas, volume, meio)	Métodos	Parâmetros/ período de incubação	Esquema terapêutico	Controle (negativo ou branco e outro)	Droga de referência
Demarchi et al. 2015/Brazil	Macrófagos peritoneais murinos (camundongos BALB/c; 1 x10E6 células/mL/500 µL)	Ensaio colorimétrico XTT	Concentração de Citotoxicidade (CC50)/24h	TrROY foi diluído em meio DMSO e RPMI 1640 de 100 a 0,1 mg/mL, e TrEO de 3 mg/mL a 30 ng/mL. O DMSO não excedeu 0,005% v/v.	Macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c infectados e tratados com TrEO e TrROY; macrófagos não tratados (controle negativo).	NR
Demarchi et al. 2016/ Brazil	Células do líquido peritoneal murino (camundongos BALB/c; 1 x10E6 células/m, 500 µL)	Kit XTT de viabilidade celular colorimétrica	CC50/24h	O TrEO foi diluído de 3 µg/mL para 30 ng/mL em dimetil sulfóxido (DMSO).	Culturas não tratadas e culturas não infectadas e não tratadas, culturas infectadas.	NR
De Lima et al., 2014/Brazil	Linhagem celular de macrófagos RAW 264.7 (1 x 10E5 células/mL)	Ensaio colorimétrico MTT	Porcentagem de viabilidade em 24 h	de 0,125 a 4,0% v/v (meio de cultura DMEM)	Macrófago não tratado (não ficou claro da parte do autor)	NR
Hasanzadeh et al., 2021 Irã	Linhagem celular de macrófagos murinos (J774)	Ensaio colorimétrico MTT	Crescimento de inibição de macrófagos (%) /72 h Viabilidade de macrófagos (%) /72 h	6,25, 12,5, 25, 50, 100, 200 e 400 µg/mL	Células não tratadas	Macrófago tratado com Glucantime® (50 µg/mL) e anfotericina B (1µg/mL)
Jafroodi 2015/ Irã	Células macrófagos J774 macrófagos (cultivados em RPMI 1640) (2x10E5 células/poço)	Ensaio colorimétrico MTT	Viabilidade celular em 24 h	As células foram expostas a extratos vegetais com concentrações de IC50 de cada planta. 60h de incubação a 37°C.	Macrófagos não tratados	Miltefosine

Em relação à citotoxicidade das plantas sobre células, os extratos aquoso e alcoólico de *S. mirzayanii* em concentrações de 200 e 400 µg/mL apresentaram efeitos tóxicos nos macrófagos J774.A1 após 72 h (HASANZADEH *et al.*, 2021). E ainda, eles foram menos tóxicos do que a anfotericina B e o Glucantime®. A concentração inibitória em 50% (IC50) dos extratos aquoso e alcoólico de *S. mirzayanii* para amastigotas foi determinada

em 47,78 $\mu\text{g/mL}$ e 33,58 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, ou seja, a concentração inibitória é até 10 vezes menor do que a concentração tóxica para macrófagos.

A planta *Vitex agnus-castus* teve o efeito menos tóxico para macrófagos J774.A1/24h em comparação às outras plantas testadas no estudo (8% de morte celular). Ainda neste estudo, a toxicidade de todos os extratos vegetais de metanol para a linha celular de macrófagos é menor do que miltefosine (JAFROODI *et al.*, 2015).

O óleo essencial de *Tetradenia riparia* (TrEO) não apresentou citotoxicidade significativa para macrófagos murinos e de linhagem J774.A1 em 24h nas concentrações com atividade leishmanicida: 1.476 ng/mL , e em sua maior concentração citotóxica de plantas colhidas no verão (CARDOSO *et al.*, 2018); 0,03 mg/mL (DEMARCHI *et al.* 2015). Todavia, no mesmo estudo, TrROY foi tóxico para macrófagos murinos na concentração de 10 mg/mL , o que resultou em um baixo índice de seletividade. Ainda, o TrEO quando testado em 0,2 $\mu\text{g/mL}$ apresentou 50% de toxicidade, o que sugere que o OE de *Tetradenia riparia* em alta dose é citotóxico, porém doses menores (por exemplo, 30 ng/mL) exerceram ações contra o parasito, mas não contra macrófagos.

Também não foi observada qualquer atividade citotóxica dos materiais vegetais extraídos de *Plectranthus amboinicus* quando incubados em diferentes concentrações com as células RAW 267.4 por 24 h (DE LIMA *et al.*, 2014).

Tabela 5 - Principais resultados e conclusões dos estudos incluídos

(continua)

Estudo/País	Resultado principal	Efeito leishmanicida <i>in vitro</i> (formas amastigotas)	Outras informações	Conclusão
Cardoso et al. 2018/Brazil	TrEO de plantas colhidas no verão apresentou a maior concentração citotóxica de 50%, 1.476 ng/mL para macrófagos J774.A1. Primavera CC50 (90,94 ± 22,54 ng/mL) e as amostras do outono o menor (65,15 ± 23,20 ng/mL). O menor índice seletivo foi observado no outono (1,59) e o maior no verão (6,01).	O TrEO reduziu a infecção intracelular de amastigotas, independentemente da estação do ano.	TrEO é rico em terpenóides e sesquiterpenos oxigenados foram os compostos majoritários (55,28%).	Há atividade significativa do TrEO contra promastigotas e amastigotas de <i>L. (L.) amazonensis</i> , sem citotoxicidade para J774.A1 e macrófagos murinos ou para eritrócitos humanos.
Demarchi et al. 2015/Brazil	TrEO e TrROY não foram citotóxicos para eritrócitos humanos, mas TrROY foi tóxico para macrófagos murinos, resultando em um baixo índice de seletividade.	Macrófagos infectados tratados com TrEO (0,03 mg/mL) ou TrROY (10 mg/mL) tiveram índice de infecção reduzido em 65 e 48%	TrEO não induziu a expressão de iNOS mRNA ou nitrito produção em macrófagos infectados com <i>Leishmania</i> .	O TrROY e principalmente o TrEO promoveram a morte de <i>Leishmania</i> , e o TrROY apresentou perda tóxica para as células eritrocitárias. Outros compostos derivados de <i>Tetradenia riparia</i> e do óleo essencial podem ser explorados para desenvolver uma nova alternativa de tratamento para a leishmaniose.
Demarchi et al. 2016/ Brazil	O TrEO não apresentou citotoxicidade em macrófagos murinos a 30 ng/mL (>95% células viáveis). A 0,2 µg/mL apresentou 50% de toxicidade. Esse resultado sugere que o OE em alta dose é citotóxico, enquanto doses mais baixas (por exemplo, 30 ng/mL) exerceram ações contra o parasito, mas não contra macrófagos.	Os resultados mostraram que 30 ng/mL de TrEO induziu 50% de morte de formas amastigotas de <i>Leishmania</i> após 24 horas de incubação. O índice de infecção foi de 112 para cada macrófago não tratado e infectado. A carga parasitária, analisada por qPCR, diminuiu em 91% (P < 0,001) dos macrófagos infectados por <i>Leishmania</i> que foram tratados com 30 ng/mL de TrEO.	O TrEO inibiu algumas das citocinas mais críticas para o crescimento do parasita e o estabelecimento da infecção, incluindo o fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos, interleucina-4 (IL-4), IL-10 e fator de necrose tumoral. O parasita inibiu o interferon-c e a IL-12, e o TrEO bloqueou essa inibição, indicando que essas citocinas são críticas para ativar os mecanismos associados à morte e eliminação do parasita.	Os efeitos imunomoduladores do TrEO contra a infecção por <i>Leishmania</i> sugerem que o TrEO inibiu algumas das citocinas mais críticas para o crescimento do parasita e o estabelecimento da infecção, como GM-CSF, IL-4, IL-10 e TNF. O parasita inibiu o IFN-c e a IL-12, e o TrEO demonstrou reverter essa inibição, indicando que essas citocinas são críticas para ativar os mecanismos de morte celular e eliminar o parasita. O tratamento com TrEO inibiu a infecção por <i>L. (L.) amazonensis</i> em células murinas, reduziu citocinas envolvidas na progressão da infecção e aumentou o IFN-c, o que é relevante para a resolução da doença. Os efeitos anti- <i>Leishmania</i> e imunomodulador do TrEO apoiam o uso de medicamentos tradicionais, como <i>Tetradenia riparia</i> , para o tratamento de infecções parasitárias. TrEO pode ser uma terapia alternativa para leishmaniose considerando seus efeitos anti- <i>Leishmania</i> e imunomodulador.

(conclusão)

Estudo/País	Resultado principal	Efeito leishmanicida <i>in vitro</i> (formas amastigotas)	Outras informações	Conclusão
De Lima et al., 2014/Brasil	Nenhuma atividade citotóxica dos materiais vegetais foi observada quando eles foram incubados em diferentes concentrações com o macrófago RAW 267.4 em 24 h.	NR	NR	Em conclusão, tanto o óleo essencial de <i>Plectranthus amboinicus</i> quanto os extratos etanólicos de <i>A. fraxinifolium</i> foram capazes de reduzir o crescimento do parasita <i>in vitro</i> . Apesar dos resultados <i>in vitro</i> promissores, os experimentos <i>in vivo</i> não revelaram uma boa eficácia do tratamento com EOPA em modelo de camundongo.
Hasanzadeh et al., 2021 Irã	O teste MTT mostrou que as concentrações de 200 e 400 µg/mL dos extratos aquoso e alcoólico de <i>S. mirzayanii</i> têm efeitos tóxicos nas células após 72 h. No entanto, eles foram menos tóxicos que a anfotericina e o Glucantime®. A porcentagem de inibição foi de ~10-20% para extratos aquosos e ~15-40% para extratos alcoólicos (*interpretação dos revisores).	Os resultados demonstraram que extratos aquosos e alcoólicos de <i>S. mirzayanii</i> reduzem o número de amastigotas de <i>L. major</i> em macrófagos respectivamente. A concentração inibitória (IC50) dos extratos aquoso e alcoólico de <i>S. mirzayanii</i> para amastigotas foi determinada em 47,78 µg/mL e 33,58 µg/mL, respectivamente.	A citometria de fluxo foi realizada para testar a apoptose induzida por 100 µg/mL de extratos em macrófagos.	Os resultados deste estudo revelaram efeitos anti- <i>Leishmania</i> de <i>S. mirzayanii</i> contra <i>L. major</i> promastigotas e amastigotas. Além disso, em comparação com o grupo de controle, os tamanhos das feridas de camundongos BALB/c infectados com <i>L. major</i> que receberam tratamentos com derivados de plantas foram significativamente reduzidos e sua taxa de sobrevivência também melhorou. Esses resultados sugerem que o <i>S. mirzayanii</i> pode ser usado sozinho ou em combinação com drogas anti- <i>Leishmania</i> comuns para tratar a leishmaniose.
Jafroodi 2015/ Irã	<i>Vitex agnus-castus</i> teve o menor efeito tóxico para macrófagos (8%).	Índice de multiplicação de 36% para anti-amastigotas	Todos os extratos limitaram a progressão do tamanho da lesão em relação ao grupo controle, no entanto, apenas o efeito inibitório do extrato de <i>Artemisia absinthium</i> foi estatisticamente significativo.	<i>Artemisia absinthium</i> é o inibidor de crescimento mais eficaz de amastigotas em lesões de animais e é seguro para aplicação de drogas em humanos e animais. A toxicidade de todos os extratos de metanol vegetal para a linha celular de macrófagos J774 é menor do que miltefosine.

Em relação ao mecanismo de ação dessas plantas, os compostos responsáveis pela atividade antioxidante conferida a alguns óleos essenciais, são principalmente aqueles que possuem um ou mais grupos hidroxila (OH) ligados ao anel aromático e elétrons disponíveis para serem doados (CARVALHO, 2004). Os terpenóides antioxidantes possuem um grupo hidroxila ligado ao anel aromático, apresentando um caráter ácido fraco, o que os torna doadores de átomos de hidrogênio. Timol e o carvacrol são exemplos de terpenóides antioxidantes, que são encontrados em vários óleos essenciais da família Lamiaceae, sendo estes responsáveis pela preservação e inibição do crescimento de microorganismos (LIMA; CARDOSO, 2007).

Um estudo recente (SILVA *et al.*, 2017) constatou que o grupo hidroxila ligado ao anel benzeno da molécula do carvacrol e do timol desempenham atividade evidente contra a *Leishmania*, e também que estes compostos fenólicos e isômeros apresentam atividade anti-*Leishmania* similar, porém quando testados de forma isolada apresentam baixa bioatividade, o que leva à conclusão de que eles ajam de forma sinérgica. A partir deste conhecimento, outro estudo (GALVÃO *et al.*, 2020) testou o carvacrol *in vitro* carregado em nanopartículas para verificar sua ação anti-*Leishmania* e obteve resultados positivos. Portanto, ainda pode-se considerar utilizar os terpenóides de forma isolada agregando biotecnologia farmacêutica a fim de potencializar os efeitos terapêuticos destas moléculas.

Como pode ser visto neste estudo, os derivados naturais apresentaram potencial leishmanicida e baixo ou nenhum poder citotóxico nas concentrações eficazes sobre o parasito. As plantas da família Lamiaceae possuem potencial terapêutico para experimentações pré-clínicas.

Nesta revisão, os resultados foram promissores, mas algumas limitações devem ser consideradas. Trata-se de uma revisão narrativa, na qual a literatura científica não foi amplamente explorada, poucos estudos foram incluídos para a síntese narrativa, e alguns estudos foram selecionados por conveniência, e por isso, a qualidade e o nível da evidência científica não podem ser considerados. Para isso, os estudos de revisão sistemática são os mais indicados.

5 CONCLUSÃO

As plantas da família Lamiaceae, *Plectranthus amboinicus*, *Salvia mirzayanii*, *Tetradenia riparia* e *Vitex agnus-castus*, mostraram nenhuma ou baixa citotoxicidade para macrófagos murinos e de linhagem. Embora os resultados sejam favoráveis quanto à segurança dessas substâncias *in vitro*, não podemos confirmar os efeitos citotóxicos em um modelo *in vivo*. Por isso, estudos experimentais em animais ainda são necessários para se comprovar sua segurança e eficácia terapêutica nos casos de leishmaniose tegumentar.

REFERÊNCIAS

- ALBALAWI, A.E.; ALANAZI, A.D.; SHARIFI, I.; EZZATKHAH, F. **A Systematic Review of Curcumin and its Derivatives as Valuable Sources of Antileishmanial Agents.** *Acta Parasitologica*, v.66, n.3, p.797–811, 2021. doi:10.1007/s11686-021-00351-1.
- AUDREY BORGHI SILVA *et al.* **Leishmanicidal Activity and Structure-Activity Relationships of Essential Oil Constituents.** v. 22, n. 5, p. 815–815, 16 maio 2017.
- BALLANTYNE, B. **Local and Systemic Ophthalmic Pharmacology and Toxicology of Organophosphate and Carbamate Anticholinesterases.** p. 423–445, 1 jan. 2006. doi: 10.1016/B978-012088523-7/50032-6
- BENNIS I, De Brouwere V, Belrhiti Z, Sahibi H, Boelaert M. **Psychosocial burden of localised cutaneous Leishmaniasis: a scoping review.** *BMC Public Health*. 2018 Mar 15;18(1):358. doi: 10.1186/s12889-018-5260-9. PMID: 29544463; PMCID: PMC5855994.
- BRASIL. **Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica.** 8. ed. rev. Brasília: Ministério da Saúde. [S.l.: s.n.]. , 2010.
- BRASIL. **Leishmaniose Tegumentar (LT).** Ministério da Saúde, 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/leishmaniose-tegumentar-lt>>. Acesso em: 5 dez. 2022.
- BRASIL. **Miltefosina para o tratamento da Leishmaniose Tegumentar.** Conitec, 2018. Disponível em: <http://conitec.gov.br/images/Relatorios/2018/Relatorio_Miltefosina_LeishmanioseTegumentar.pdf>. Acesso em: 04 jul. 2022.
- CAETANO DCDS. **Prevalência e efeitos adversos no tratamento de pacientes com leishmaniose no ambulatório do hospital de referência em Cuiabá-MT.** Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Anhanguera de São Paulo, São Paulo, 2016.
- CALIXTO JB. **Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view.** *J Ethnopharmacol*. 2005 Aug 22;100(1-2):131-4. doi: 10.1016/j.jep.2005.06.004. PMID: 16006081.
- CANOVAS, R. **Tetradenia riparia | Jardim Cor.** Disponível em: <<http://www.jardimcor.com/catalogo-de-especies/tetradenia-riparia/>>. Acesso em: 22 nov. 2022.
- CARDOSO, Bruna Muller., *et al.* **Antileishmanial activity of the essential oil from *Tetradenia riparia* obtained in different seasons.** *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, [S.L.], v. 110, n. 8, p. 1024-1034, 24 nov. 2015. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0074-02760150290>.

CDC - **Leishmaniasis - Biology.** Disponível em: <<https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html#:~:text=Life%20Cycle%3A&text=The%20sand%20flies%20inject%20the,types%20of%20mononuclear%20phagocytic%20cells>>. Acesso em: 7 nov. 2022.

DEKKERS, O.M.; e colab. COSMOS-E: **Guidance on conducting systematic reviews and meta-analyses of observational studies of etiology.** PLOS Medicine, v. 16, n. 2, p. e1002742, 2019. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pmed.1002742>>. Acesso em: 04 jul. 2022.

DEMARCHI, Izabel Galhardo., *et al.* **Antileishmanial activity of essential oil and 6,7-dehydroroyleanone isolated from *Tetradenia riparia*.** Experimental Parasitology, [S.L.], v. 157, p. 128-137, out. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2015.06.014>.

DEMARCHI, Izabel Galhardo., *et al.* **Antileishmanial and immunomodulatory effects of the essential oil from *Tetradenia riparia*(Hochstetter) Codd.** Parasite Immunology, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 64-77, 23 dez. 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/pim.12297>.

DEPASS, Linval R. **Alternative approaches in median lethality (LD50) and acute toxicity testing.** Toxicology Letters, v. 49, n. 2-3, p. 159–170, 1989. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0378427489900301?via%3Dihub>>. Acesso em: 7 dez. 2022.

DNDi 2022, **Projects of the Year recognize partners and colleagues for their work in developing new treatments for leishmaniasis** | DNDi. Disponível em: <<https://dndi.org/news/2022/2022-projects-of-the-year-recognize-work-developing-treatments-leishmaniasis/>>. Acesso em: 8 dez. 2022.

DNDi 2021. **UNLOCKING THE PROMISE OF MEDICAL INNOVATION FOR ALL.** [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://dndi.org/wp-content/uploads/2022/07/DNDi-AnnualReport-2021.pdf>>. Acesso em: 15 jun. 2023.

DUBIE, T.;MOHAMMED, Y. **Review on the Role of Host Immune Response in Protection and Immunopathogenesis during Cutaneous Leishmaniasis Infection.** Journal of Immunology Research, v. 2020, p. 1-12, 18 jun 2020 doi:10.1155/2020/2496713.

FIGUEIREDO, L. A.; MIGUEL, D.; GRAZZIA, N. **Ensaio de viabilidade celular de promastigotas de *Leishmania (Viannia) braziliensis* frente a compostos derivados da planta *Artemisia annua* L.: Acetato de diidroartemisinina e Ácido artesúnic metilado.** Disponível em: <<https://www.prp.unicamp.br/inscricao-congresso/resumos/2020P17314A35128O2309.pdf>>. Acesso em: 10 jun. 2023.

FRANÇOIS DENIZOT; LANG, R. **Rapid colorimetric assay for cell growth and survival.** v. 89, n. 2, p. 271–277, 22 maio 1986. doi: 10.1016/0022-1759(86)90368-6

GALVÃO, J. Universidade Federal de Sergipe - Programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas. **Desenvolvimento de carreadores lipídicos nanoestruturados para o encapsulamento de carvacrol: uma formulação promissora para o tratamento de leishmanioses**. São Cristóvão-se 2019.

Disponível em:

<https://ri.ufs.br/bitstream/riufs/12504/2/JULIANA_GOUVEIA_GALVAO.pdf>. Acesso em: 14 jun. 2023.

GAZIM ZC, Amorim ACL, Hovell ANC, Rezende CM, Nascimento IA, Ferreira GB, Cortez DAG 2010. **Seasonal variation, chemical composition, and analgesic and antimicrobial activities of the essential oil from leaves of *Tetradenia riparia* (Hochstetter) Codd in southern Brazil**. *Molecules* 15: 5509-5524.

GOIS, M. A. F. *et al.* **Etnobotânica de espécies vegetais medicinais no tratamento de transtornos do sistema gastrointestinal**. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 18, n. 2, p. 547–557, jun. 2016.

GOMES, A.C.A., *et al.* **LEISHMANIOSE MUCO-CUTÂNEA: RELATO DE CASO CLÍNICO**. *Revista de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial* v.4, n.4, p. 223 - 228, 2004. Disponível em:

<<http://revistacirurgiabmf.com/2004/v4n4/pdf/v4n4.3.pdf>>. Acesso em: 20 nov 2022

GONTIJO, Bernardo e DE CARVALHO, Maria de Lourdes Ribeiro. **American cutaneous leishmaniasis**. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 36, n. 1, p. 71–80, 2006. Disponível em:

<<https://www.nescon.medicina.ufmg.br/biblioteca/imagem/3323.pdf>> Acesso em: 17 ago 2022.

HASANZADEH, Faezeh; GHAFARIFAR, Fatemeh; MEHDIZADEH, Saber; DAYER, Mohammad Saaid. **A study on the in vitro and in vivo effects of aqueous and alcoholic extracts of *Salvia mirzayanii* on *Leishmania major***. *Annals Of Parasitology*, [S.L.], v. 67, n. 2, p. 213-222, 2021. Polish Parasitological Society. <http://dx.doi.org/10.17420/ap6702.331>.

HIGGINS, J.P.T.; Green, S. **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions** Version 5.1.0. The Cochrane Collaboration, 2011. Disponível em: <www.handbook.cochrane.org>. Acesso em: 15 set 2022.

HIGGINS, Julian PT e GREEN, Sally. **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2008.

Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/9780470712184>>. Acesso em: 17 ago 2022.

KHANJANI JAFROODI *et al.* **Methanolic Extract's Activity of *Artemisia absinthium*, *Vitex agnus-castus* and *Phytolaca americana* Against *Leishmania major*; in vitro and in vivo** Disponível em:

<https://www.researchgate.net/publication/281430198_Methanolic_Extract%27s_Activity_of_Artemisia_absinthium_Vitex_agnus-castus_and_Phytolaca_americana_Against_Leishmania_major_in_vitro_and_in_vivo>. Acesso em: 15 jun. 2023.

KLEYTON VINÍCIUS RODRIGUES FREIRE, Bárbara Breger Alves, Jéssica Pereira Florindo, Eduardo Dalmarco, Izabel G. Demarchi. **Diagnosis and risk factors associated with canine tegumentary leishmaniasis in Brazil: a Systematic Review and Meta-Analysis**. PROSPERO 2021 CRD42021262437 Disponível em: <https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?ID=CRD42021262437>. Acesso em: 20 jul 2022.

LIMA; CARDOSO, R. **Lamiaceae Family: Important Essential Oils with Biological and Antioxidant Activity** Família Lamiaceae: Importantes Óleos Essenciais com Ação Biológica e Antioxidante Estado da Arte/State of the Art. **Revista Fitos**, v. 3, 2007. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/icict/19155/1.pdf>>. Acesso em: 3 ago 2022.

LIMA, Silvio César Gomes de., *et al.* **In Vitro and In Vivo Leishmanicidal Activity of *Astronium fraxinifolium* (Schott) and *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng against *Leishmania (Viannia) braziliensis***. Biomed Research International, [S.L.], v. 2014, p. 1-7, 2014. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/848293>.

LIU X, Rodeheaver DP, White JC, Wright AM, Walker LM, Zhang F, Shannon S. **A comparison of *in vitro* cytotoxicity assays in medical device regulatory studies**. Regul Toxicol Pharmacol. 2018 Aug;97:24-32. doi: 10.1016/j.yrtph.2018.06.003. Epub 2018 Jun 6. PMID: 29885342.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **MANUAL DE VIGILÂNCIA DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR**. Brasília -DF 2017 [s.l.: s.n.]. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar.pdf>. Acesso em: 15 out 2022.

MARIJA TASIC-KOSTOV; VESIĆ, S.; SNEŽANA SAVIĆ. **Objective skin performance evaluation: How mild are APGs to the skin?** p. 135–161, 1 jan. 2014. doi: 10.1533/9781908818775.135

MARTINS MBG, Martins RG, Cavalheiro JA 2008. **Histoquímica e atividade antibacteriana de folhas do incenso (*Tetradenia riparia*)**. Revista Biociências 14: 127-140.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (2006). **A Fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisas de Plantas Mediciniais da Central de Medicamentos**. (Pag. 29) Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/fitoterapia_no_sus.pdf>. Acesso em: 3 set 2022.

MOHER, David e colab. **Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement**. PLoS Medicine, v. 6, n. 7, p. e1000097, 21 Jul 2009. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pmed.1000097>>. Acesso: em 29 jul 2022.

MORGAN, Rebecca L. e colab. **Identifying the PECO: A framework for formulating good questions to explore the association of environmental and other exposures with health outcomes.** *Environment International*, v. 121, p. 1027–1031, Dez 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0160412018302046>>. Acesso em: 04 jul 2022.

MOSMANN, T. R. **Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays.** v. 65, n. 1-2, p. 55–63, 16 dez. 1983. doi: 10.1016/0022-1759(83)90303-4

OLIVEIRA, L. F. *et al.* **Systematic review of the adverse effects of cutaneous leishmaniasis treatment in the New World.** *Acta Tropica*, v. 118, n. 2, p. 87–96, maio 2011. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2011.02.007>> Acesso em: 20 ago 2022.

OLIVEIRA, Walker Nonato e colab. **The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of human tegumentary leishmaniasis.** *Cytokine*, 2014.

OUZZANI, Mourad e colab. **Rayyan-a web and mobile app for systematic reviews.** *Systematic reviews*, v. 5, n. 1, p. 210, 5 Dez 2016. Disponível em: <<http://systematicreviewsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13643-016-0384-4>>. Acesso em: 20 out 2022.

OMS, Organização Mundial da Saúde. **Leishmaniasis.** Fact sheets. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Acesso em 13 jun 2023.

OMS, Organização Mundial da Saúde. **Leishmaniasis: data.** Disponível em: <https://cdn.who.int/media/docs/default-source/2021-dha-docs/leishmaniasis_cl_2020.pdf?sfvrsn=716850a8_9>. Acesso em: 19 setembro 2022.

PACHECO, Sandro Javier Bedoya et al. **Estigmatização social pela leishmaniose cutânea no estado do Rio de Janeiro, Brasil.** *RECIIS - Revista Eletrônica de Comunicação, Informação e Inovação em Saúde*, Rio de Janeiro, v. 11, n. 3, p. 1-12, jul./set. 2017.

PAHO/WHO - **Cutaneous and Mucosal Leishmaniasis.** Pan American Health Organization. Disponível em: <<https://www.paho.org/en/topics/leishmaniasis/cutaneous-and-mucosal-leishmaniasis>>. Acesso em: 14 maio. 2023.

PAN-AMERICANA DA SAÚDE, Organização. **Leishmanioses. Informe Epidemiológico das Américas**, dezembro 2019. 8, 2019. Disponível em: <<http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/50505>>. Acesso em: 23 ago 2022

PASSERO LFD, Cruz LA, Santos-Gomes G, Rodrigues E, Laurenti MD, Lago JHG. **Conventional Versus Natural Alternative Treatments for Leishmaniasis: A Review.** *Curr Top Med Chem*. 2018;18(15):1275-1286. doi: 10.2174/1568026618666181002114448. PMID: 30277153.

RAIMUNDO, V. D. et al. **Effects of terpenes in the treatment of visceral leishmaniasis: A systematic review of preclinical evidence**. *Pharmacological Research*, v. 177, p. 106117, mar. 2022. Disponível em <<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2022.106117>>. Acesso em: 17 ago 2022.

SANTIAGO, A. S.; PITA, S. S. DA R.; GUIMARÃES, E. T. **Tratamento da leishmaniose, limitações da terapêutica atual e a necessidade de novas alternativas: Uma revisão narrativa**. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 7, p. e29510716543, 22 jun. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.33448/rsd-v10i7.16543>>. Acesso em: 2 out 2022.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL. **Vitória no STF garante tratamento de cães com leishmaniose**. Disponível em: <<https://www.sbmt.org.br/portal/noticias-2742/>>. Acesso em: 19 set 2022.

SOUZA, D., Sousa, V., Cruz, L., Carneiro, S., Alves, M., Carvalho, F., Costa, M., Corrêa, C., Gonsalves, A. and Araújo, C. (2019). **SÍNTESE, ATIVIDADE ANTILESHMANIA E CITOTÓXICA DE HIDRAZONAS DERIVADAS DE ALDEÍDOS NATURAIS**. *Química Nova*. doi:10.21577/0100-4042.20170440.

STROBER, W. **Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability** *Current protocols in immunology* /edited by John E. Coligan, 2015.

TAINAH. **Tratamento experimental | Vencer o Câncer**. Disponível em: <<https://vencerocancer.org.br/cancer/tratamento/tratamento-experimental/>>. Acesso em: 1 dez. 2022.

TOMIOTTO-PELLISSIER, F. et al. Macrophage Polarization in Leishmaniasis: Broadening Horizons. **Frontiers in Immunology**, v. 9, 31 out. 2018. doi:10.3389/fimmu.2018.02529.

BIOTIUM. **What is the difference between MTT, XTT and resazurin?** Disponível em: <What is the difference between MTT, XTT and resazurin? - Biotium.>. Acesso em: 19 maio. 2023.

WHO. **Neglected tropical diseases -- GLOBAL**. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/neglected-tropical-diseases#tab=tab_1>. Acesso em: 1 dez. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Control of the leishmaniasis: Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis**, Geneva, 22–26 March 2010. World Health Organization Technical Report Series. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/handle/10665/44412>>. Acesso em: 1 dez 2022.

YOONG, Sze Lin e CLINTON-MCHARG, Tara e WOLFENDEN, Luke. **Systematic reviews examining implementation of research into practice and impact on population health are needed**. *Journal of Clinical Epidemiology*, v. 68, n. 7, p. 788–791, Jul 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S089543561400540X>>. Acesso em: 2 jul 2022.