

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS**

PAULA AKEMI HONDA

**POTENCIAL LEISHMANICIDA *IN VITRO* DE *CALOPHYLLUM*
BRASILIENSE E NA INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *LEISHMANIA*
(LEISHMANIA) AMAZONENSIS EM CAMUNDONGOS BALB/C**

**MARINGÁ
2008**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

PAULA AKEMI HONDA

**POTENCIAL LEISHMANICIDA *IN VITRO* DE *CALOPHYLLUM*
BRASILIENSE E NA INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *LEISHMANIA*
(LEISHMANIA) AMAZONENSIS EM CAMUNDONGOS BALB/C**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas, da Universidade Estadual de Maringá, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Análises Clínicas

Orientadora: Prof. Dra. Maria Valdrinez Campana Lonardoní

Maringá

2008

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

1. Considerações gerais

As leishmanioses são doenças infecto-parasitárias que acometem o homem, causadas por várias espécies de protozoários do gênero *Leishmania* (ROSS, 1903). Apresentam-se sobre diferentes formas clínicas, dependendo da espécie de *Leishmania* envolvida e da relação do parasita com seu hospedeiro (SARAVIA et al, 1989). Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) mostram que as leishmanioses ameaçam 350 milhões de pessoas em 88 países do mundo, sendo que 72 destes são países em desenvolvimento. Nos últimos dez anos, surgiram novas regiões endêmicas e houve aumento no número de casos da doença (WHO/OMS, 2000). No Brasil, o aumento da incidência das leishmanioses associado às altas taxas de morbidade e à difusão para novas áreas geográficas, inclusive urbanas, tem constituído um grande problema para saúde pública (BRANDÃO-FILHO et al, 1994).

O gênero *Leishmania* pertence à ordem *Kinetoplastida*, família *Tripanosomatidae*, que compreende protozoários parasitas, com um ciclo de vida digenético (heteroxênico), vivendo alternadamente em hospedeiros vertebrados e insetos vetores, estes últimos sendo responsáveis pela transmissão dos parasitos. Nos hospedeiros mamíferos, representados na natureza por várias ordens e espécies, os parasitos assumem a forma amastigota, arredondada e imóvel, que se multiplica obrigatoriamente dentro de células do sistema monocítico fagocitário. Todas as espécies do gênero são transmitidas pela picada de fêmeas infectadas de dípteros da sub-família Phlebotominae, pertencentes aos gêneros *Lutzomyia* – no Novo Mundo, e *Phlebotomus* – no Velho Mundo. Nos flebotomíneos os parasitos vivem no meio extracelular, na luz do trato digestivo. Ali, as formas amastigotas,

ingeridas durante o repasto sangüíneo, se diferenciam em formas promastigotas flageladas, morfológica e bioquimicamente distintas das amastigotas (KILLICK-KENDRICK, 1979; KILLICK-KENDRICK, 1990; KILLICK-KENDRICK et al, 1991; WALTERS, 1993), sendo posteriormente inoculadas na pele dos mamíferos durante a picada.

Existem pelo menos sete espécies de *Leishmania* descritas que estão associadas com a doença humana, sendo que no Brasil *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Leishmania) amazonensis* e *Leishmania (Leishmania) chagasi* são as espécies mais amplamente distribuídas (GRIMALDI et al, 1987). A *L. (L.) chagasi* é, nas Américas, o protozoário responsável pela leishmaniose visceral, Calazar ou febre negra (Kalaazar), caracterizada, classicamente, por febre irregular de longa duração, emagrecimento, hepatoesplenomegalia, anemia, leucopenia e trombocitopenia (BADARO et al, 1997). A *L. (V.) braziliensis* é a espécie mais prevalente no homem, causando a leishmaniose tegumentar americana (LTA), com lesões cutâneas e mucosas. É encontrada em todas as zonas endêmicas do País, desde o norte até o sul, tanto em áreas de colonizações antigas ou recentes. É transmitida por diferentes espécies de flebotomíneos como *Lutzomyia whitmani*, *Lu. wellcomei* e *Lu. intermedia*, dentre outras (LAISON et al, 1987). *L. (L.) amazonensis* também é o agente etiológico de LTA, incluindo a forma anérgica ou leishmaniose cutânea difusa e seus reservatórios são roedores e marsupiais e a *Lu. flaviscutellata* e *Lu. olmeca* os principais vetores (SHAW et al, 1975).

As manifestações clínicas das leishmanioses são variáveis e dependem da associação entre as características de virulência da espécie de *Leishmania* infectante e da resposta imunológica do hospedeiro (PEARSON et al, 1996). Na leishmaniose visceral americana (LVA) ou calazar neotropical os parasitas apresentam acentuado tropismo pelo sistema fagocítico mononuclear do baço, fígado, medula óssea e dos tecidos linfóides; é uma doença sistêmica muito grave, podendo levar o hospedeiro à morte (HERWALDT, 1999; DAVIES et al, 2003; MURRAY, 2005). A Leishmaniose tegumentar americana (LTA) abrange as formas de leishmaniose cutânea, mucocutânea e cutânea difusa. A leishmaniose cutânea caracteriza-se por úlceras crônicas na pele, desenvolvidas no local da picada do inseto vetor e que podem levar meses para cicatrizar. A leishmaniose mucocutânea causa, no início, úlceras na pele

similares às aquelas da leishmaniose cutânea que, entretanto, cicatrizam, para depois reaparecerem, principalmente nas mucosas do nariz e da boca, devido a disseminação dos parasitas via corrente sanguínea ou linfática. A leishmaniose mucocutânea geralmente é acompanhada por infecções secundárias e destruição de grandes extensões de tecido (HANDMAN, 2000). Cutânea difusa é a forma disseminada cutânea que se apresenta em indivíduos anérgicos ou, tardiamente, em pacientes tratados da forma visceral.

Mesmo com diferentes formas de expressão nos tecidos animais infectados, três características comuns podem ser encontradas nas infecções causadas por esses protozoários: parasitismo de macrófagos do hospedeiro, resposta imunológica e inflamatória do hospedeiro regulando o desenvolvimento da doença e infecção persistente do tecido infectado (MURRAY, 2005).

As leishmanioses são consideradas pela OMS uma das seis doenças tropicais de importância mundial entre as causadas por protozoários. Segundo essa organização, surgem 500 mil casos da leishmaniose tegumentar anualmente no mundo, e no Brasil, esse número varia entre 2 mil e 3 mil casos. A maioria está nos estados costeiros, do Pará ao Paraná, e em estados centrais como Goiás, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais, sendo que em 2004 foram detectados 22.590 novos casos de leishmaniose tegumentar (MACHADO, 2005). Desse total, o estado do Pará registrou 4.095, Mato Grosso, 3.284, e Maranhão, 2.625, sendo os estados com os menores números Santa Catarina, com oito casos, e Rio Grande do Sul, com apenas dois.

No Estado do Paraná a LTA é endêmica, atingindo proporções epidêmicas em 1993, 1994 e 1995. (SILVEIRA et al, 1999). No período de 1980 a 2003 registraram-se 12.304 casos da doença no Estado do Paraná, principalmente no norte e oeste, correspondendo a 99,3% do total do sul do Brasil. O aumento do número de casos de LTA no Brasil requer cuidados imediatos que privilegiem o preparo de profissionais da área de saúde para a identificação da doença, o suprimento de recursos laboratoriais e a busca de novos fármacos, pois a deficiência destes fatores tem prejudicado o diagnóstico e tratamento adequado da doença (LIMA et al, 2007).

A droga de primeira escolha para o tratamento da LTA é o antimonial pentavalente, existente sob duas formas: o antimoniato de N-metilglucamina e o stibogluconato de sódio, sendo que este último não é comercializado no Brasil. De acordo com recomendações do Ministério da Saúde (FUNASA, 2000), nas formas cutâneas localizadas e disseminadas a dose deve variar entre 10 a 20mg/Sb^V/Kg/dia, durante 20 dias seguidos. Se não houver cicatrização completa três meses após o término do tratamento, o esquema deverá ser repetido, prolongando-se, desta vez, a duração da série para 30 dias. Na forma difusa a dose é de 20mg/Sb^V/Kg/dia, durante 20 dias seguidos. Em todas as formas de acometimento mucoso a dose recomendada é de 20mg/Sb^V/Kg/dia, durante 30 dias consecutivos, preferencialmente em ambiente hospitalar. Se não houver cicatrização completa três meses após o término do tratamento, o esquema deverá ser repetido apenas uma vez. Os efeitos colaterais mais freqüentes são artralgia, mialgia, inapetência, cefaléia, febre, vômitos, tontura e inchaço no local da aplicação. A cardio, nefro e hepatotoxicidade dos antimoniais constituem uma importante limitação à sua segurança. Idealmente os pacientes, em especial os mais idosos, devem ser submetidos à avaliação cardiológica prévia. Por serem abortivos, os antimoniais não podem ser administrados a gestantes (FUNASA, 2000).

Nos casos de resistência terapêutica aos antimoniais, pacientes nefropatas e gestantes, usa-se a Anfotericina B, antibiótico poliênico de reconhecida ação leishmanicida. Os efeitos colaterais mais comuns incluem náuseas, vômitos, febre, hipopotassemia, insuficiência renal, anemia e alterações cardíacas. A cardio e nefrotoxicidade, além do uso EV, impedem seu uso fora do ambiente hospitalar.

As pentamidinas, são moléculas de grande interesse no tratamento de leishmaniose visceral e mucocutânea refratária a antimoniais pentavalentes (AMATO et al, 2000). Apresentam-se sob a forma de dois sais (isotionato de pentamidina e mesilato de pentamidina) e no Brasil é comercializado apenas o isotionato de pentamidina. Poucos estudos foram realizados nas Américas utilizando as pentamidinas na terapêutica da LTA. A dose preconizada é de 4mg/kg/dia, por via intramuscular profunda, de 2 em 2 dias, recomendando-se não ultrapassar a dose total de 2g. Devido o medicamento ter ação no metabolismo da glicose, pode haver hipoglicemia seguido de hiperglicemia

quando do seu uso. Outras reações adversas mais freqüentes são: dor, induração e abscessos estéreis no local da aplicação além de náuseas, vômitos, tontura, adinamia, mialgias, cefaléia, hipotensão, lipotimias, síncope. O diabetes mellitus pode se manifestar a partir da administração da dose total de 1g. O efeito diabetogênico pode ser cumulativo e dose dependente. É contra-indicada para gestantes, portadores de diabetes, insuficiência renal, insuficiência hepática, doenças cardíacas e em crianças com peso inferior a 8kg (FUNASA, 2000).

Até o momento, não existe vacina disponível comercialmente para a prevenção da leishmaniose e a toxicidade e as dificuldades de administração dos medicamentos são fatores que dificultam o tratamento. A utilização de plantas medicinais para a produção de medicamentos vem sendo requisitada no importante campo da ciência farmacêutica.

1.1. Uso de Fitoterápicos

Ao longo das décadas o homem tem enfrentado grandes desafios na medicina, para a cura de doenças como a AIDS, o câncer e as doenças tropicais. Na tentativa de solucionar estes problemas, o homem tem encontrado nas fontes naturais um arsenal promissor de substâncias terapêuticas. O isolamento e o estudo destas substâncias naturais têm sido uma preocupação das Ciências Químicas e Farmacêuticas há mais de 200 anos (BRAZ, 1994). Os fármacos de origem sintética predominam no arsenal terapêutico, mas nos últimos anos, as plantas tornaram-se uma importante fonte de produtos naturais biologicamente ativos e 25% dos medicamentos do mercado farmacêutico possuem estes extratos em sua composição, alguns dos quais têm sido usados como matéria-prima de drogas semi-sintéticas (BERGMANN et al, 1997), sendo os compostos protótipos modificados estruturalmente, o que pode aumentar a atividade ou ainda reduzir a sua toxicidade (KOROLKOVAS et al, 1988).

Baseando-se na grande diversidade de metabólitos secundários de plantas, e no fato de que possuem um grande número de atividades biológicas,

incluindo ações inseticida, fator de crescimento, antifúngica, bactericida, antiviral e antiprotozoária já descritas na literatura, estas substâncias vem cada vez mais sendo testadas nos mais variados modelos de avaliação do potencial biológico.

No caso da leishmaniose, estudos químicos e imunofarmacológicos têm sido realizados com o intuito de encontrar novos compostos menos tóxicos, economicamente mais viáveis de efeito específico e que minimiza a resistência do parasita às drogas (SANTOS, 2004).

Desde a Declaração de Alma-Ata, em 1978, a OMS tem expressado a sua posição a respeito da necessidade de valorizar a utilização de plantas medicinais no âmbito sanitário, tendo em conta que 80% da população mundial utiliza essas plantas ou preparações destas no que se refere à atenção primária de saúde. Ao lado disso, destaca-se a participação dos países em desenvolvimento nesse processo, já que possuem 67% das espécies vegetais do mundo (DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO, 2006).

Muitas substâncias de origem natural, tanto animal como vegetal, vem sendo largamente pesquisadas para a cura de várias doenças e a leishmaniose inclui-se nessa busca alternativa. Diversos compostos químicos, isolados de extratos vegetais, têm comprovada atividade leishmanicida sobre formas promastigotas e/ou amastigotas de *Leishmania* em ensaios *in vitro*. Já foi relatada a atividade leishmanicida de terpenóides (SAUVAIN et al, 1996; CAMACHO et al, 2000), aminoglicosteróides e aminosteróides (KAM et al, 1997), naftoquinonas (FOURNET et al, 1992; KAYSER et al, 2000), chalconas (CHEN et al, 1993; BOECK et al, 2006), glicosídios iridóides (MITTAL et al., 1998), flavonóides (ARAÚJO et al., 1998), lignanas (BARATA et al, 2000; ROYO et al, 2003) e de alcalóides (MAHIOU et al, 1994; FOURNET et al, 1993; QUEIROZ, et al, 1996).

Destaca-se o estudo de SANTOS et al. (1997) que avaliaram *in vitro* a atividade do extrato etanólico do caule e das folhas de *Plumbago scadens* (Plumbaginácea). Na concentração de 100µg/mL, o extrato inibiu 88% do crescimento das formas promastigotas e 61% em relação às formas amastigotas da *L. (L.) amazonensis*. Já BARATA et al. (2000), avaliando a atividade leishmanicida de neolignanas isoladas de *Virola surinamensis* e

análogos sintéticos, sobre as formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania donovani* em culturas, verificaram que alguns dos compostos foram eficazes apenas para as formas promastigotas, sendo que outros foram eficazes para as formas amastigotas, observando assim uma variedade em termos de atividade biológica de acordo com a forma do parasita. Também KAYSER & KIDERLEN em 2001, observaram *in vitro* sob as formas promastigotas e amastigotas, que chalconas derivadas de algumas plantas, demonstraram atividade contra os parasitas do gênero *Leishmania*. Embora, apresentavam apreciável atividade antileishmanial, contudo também demonstravam toxicidade relativamente alta para o sistema monofagocitário (PONTIN, 2002).

Apesar dos vários estudos nesta área, ainda existem muitas espécies vegetais com potencial atividade leishmanicida a serem avaliadas.

O Brasil possui grande potencial para o desenvolvimento dessa terapêutica, com a maior diversidade vegetal do mundo, ampla sociodiversidade, uso de plantas medicinais vinculado ao conhecimento tradicional e tecnologia para validar cientificamente esse mento (DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO, 2006).

2. A espécie vegetal *Calophyllum brasiliense* Cambess (Clusiaceae)

O *Calophyllum brasiliense* Camb. planta da família Clusiaceae, é uma árvore de grande porte, que cresce principalmente em regiões de floresta da Mata Atlântica no Brasil. Popularmente é conhecida por Jacareúba, Gulandecarvalho, Guanandi-carvalho, Pau-Maria, Guanadi-cedro, Guanandi, Landim, Pau-de-azeite, Guanandi-piolho ou Guarandi. Os gêneros mais importantes no Brasil são *Calophyllum*, *Kielmeyera* (Pau-santo), *Caraipa*, *Platonia* (obacuri), *Clusia*, *Hypericum* e *Rheedia*.

Nas plantas das famílias Clusiaceae, Hipericaceae e Gentianaceae encontram-se diversos tipos de xantonas, metabólitos secundários de grande interesse fitoquímico, derivados de dibenzeno- γ -pirona (CRONQUIST, 1981; CARDONA et al., 1990; SIMÕES *et al.*, 1999). Do caule e da resina do *C.*

brasiliense além das xantonas, são isolados sitosterol, terpenos, cumarinas, flavonóides e triterpenos (DA SILVA et al, 2001). Algumas propriedades farmacológicas das xantonas incluem ação analgésica (ISAIAS et al., 2004), antimicrobiana (REYER-CHILPA et al, 1997; DHARMARATNE et al, 1999; PRETTO et al, 2004; YASUNAKA et al, 2005) e atividade antiprotozoário (ABE et al, 2004).

O chá de cascas de *C. brasiliense* obtido por infusão é um remédio popular utilizado para tratamento de reumatismo, varicoses, hemorróidas e úlceras crônicas (NOLDIN, 2006). Recentemente, também foram isolados das cascas do caule ácido cromona, que demonstraram potencial antibacteriano contra *Bacillus cereus* e *Staphylococcus epidermitis* (COTTIGLIA et al, 2004). Um grupo de pesquisadores do Instituto Nacional do Câncer reportou uma cumarina, o (+) calanolideo A, isolada de espécies de *Calophyllum*, como uma das substâncias químicas mais ativas frente ao vírus HIV-1 (ITO et al, 2003). Das cascas da *C. brasiliense*, também foram isoladas brasixantona que apresentaram efeito inibitório sobre o vírus Epstein-Barr (ITO et al, 2002). Algumas cumarinas isoladas desta espécie apresentaram atividade anticancerígena e antimicrobiana (CHILPA et al, 2004). O extrato em diclorometano do caule *C. brasiliense* apresentou um efeito gastroprotetor em ratos (SARTORI et al, 1999).

SILVA et al. (2001) analisaram a fração acetato de etila das folhas e obtiveram cinco sólidos puros, identificados como quercetina, ácido gálico, ácido protocatéquico, hiperosídeo e amentoflavona. O extrato bruto e frações polares (não solúveis em clorofórmio) e não polares (solúveis em clorofórmio) de partes diferentes da planta como raízes, caules, folhas, flores e frutos, apresentaram atividade contra bactérias Gram-positivas e em algumas cepas Gram-negativas, sendo o ácido protocatéquico efetivo contra todos os microrganismos testados e a 1,5-diidroxixantona somente contra Gram-positivas (PRETTO et al, 2004). Em um estudo com os extratos metanólico, hexânico e acetônico, obtidos dos galhos desta planta, foram isoladas as substâncias calanolideo A, B e soulattrolideo, que apresentaram efeitos inibitórios promissores sobre a enzima transcriptase reversa do vírus HIV-1 (HUERTA-REYES et al, 2004).

Das folhas foram isolados derivados cumarínicos do tipo mammea sendo que apenas os derivados do tipo mammea A, apresentaram efeitos antibacterianos, inibindo o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* e *Bacillus subtilis*. Neste mesmo estudo, foram relatadas atividades citotóxicas significativas destes derivados cumarínicos contra três linhagens de células tumorais humanas (K562, U251 e PC3), além da inibição *in vitro* da enzima transcriptase reversa do vírus HIV-1 (REYES-CHILPA et al, 2004).

Estes efeitos demonstram que possíveis princípios ativos isolados de *Calophyllum* poderão propiciar a descoberta de compostos relevantes para a terapêutica. grande variedade de moléculas isoladas deste gênero apresentam de substâncias inéditas e/ou com potencial terapêutico evidenciado. A possibilidade de encontrar produtos deste gênero com potencial para o tratamento de LTA é instigante, porque não estão disponíveis novas drogas desde que os antimoniais foram introduzidos na terapêutica desta doença.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivos Gerais

Estudar a atividade leishmanicida *in vitro* do extrato bruto e frações da espécie vegetal *Calophyllum brasiliense* e na infecção experimental por *Leishmania (Leishmania) amazonensis* em camundongos BALB/c.

3.2. Objetivos Específicos

Avaliar o potencial leishmanicida de extratos bruto e/ou de metabólitos secundários puros da planta *Calophyllum brasiliense* sobre:

- as formas promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis*.
- as formas amastigotas intracelulares cultivadas em macrófagos peritoneais de camundongos.
- a infecção experimental *in vivo* em camundongo BALB/c, por meio da evolução da lesão na pata e da carga parasitária.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, F.; NAGAFUJI, S.; OKABE, H.; AKAHANE, H.; ESTRADA-MUÑIZ, E.; HUERTA-REYES, M.; REYES-CHILPA, R. Trypanocidal Constituents in Plants 3. Leaves of *Garcinia intermedia* and Heartwood of *Calophyllum brasiliense*. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, p. 1141, 2004.

AMATO, V.S; PADILHA, A.R.S; NICODEMO, A.C; DUARTE, M.I.S; VALENTINI, M; UIP, D.E; BOULOS, M AND AMATO, V.N, Use of Itraconazole in the Treatment of mucocutaneous Leishmaniasis: A Pilot Study, **International Journal of Infectious Diseases**, v. 4, n. 3, p. 153-157, 2000.

ARAÚJO, C.A.C., ALEGRIO, L.V. & LEON, L.L. Antileishmanial activity of compounds extracted and characterized from *Centrolobium sclerophyllum*. **Phytochemistry**, v. 49, p. 751-754, 1998.

BADARÓ, R.; DUARTE, M.I.S. Leishmaniose Visceral (Calazar). In: Veronesi R, Focaccia R. **Tratado de Infectologia**, São Paulo: Editora Atheneu, p. 1234-59, 1997.

BARATA, L.E.S.; SANTOS, L.S.; FERRI, P.H.; PHILLIPSON, J.D.; PAINE, A.; CROFT, S.L. Anti-leishmanicidal activity of neolignans from *Virola* species and synthetic analogues. **Phytochemistry**, v. 55, p. 589-595, 2000.

BERGMANN, B.R.; COSTA, S.S.; MORAES, V. L. G. Brazilian medicinal plants: A rich source of immunomodulatory substances. **Brazilian Journal Association for the Advancement of Science**, v. 49, p. 395-402, 1997.

BOECK, P.; FALCÃO, C.A.B.; LEAL, P.C.; YUNES, R.A.; CECHINEL FILHO, V.; TORRES-SANTOS, E.C.; ROSSI-BERGMANN, B. Synthesis of chalcone analogues with increased antileishmanial activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 1538-1545, 2006.

BRANDÃO-FILHO, S.; SHAW, J. Leishmaniosis in Brazil. **Parasitology Today**, v. 10, n. 9, p. 329-330, 1994.

BRAZ, F. R. Química de produtos naturais: importância, interdisciplinaridade, dificuldades e perspectivas. A pergrinação de um pacatubano. **Química Nova**, v. 17, n. 5, p. 405-421, 1994.

CAMACHO, M.R.; PHILLIPSON, J.D.; CROFT, L.S.; KIRBY, G.C.; WARHURST, D.C.; SOLIS, P.N. Terpenoids from *Guarea rhopalocarpa*. **Phytochemistry**, v. 56, p. 203-210, 2000.

CARDONA, M.L.; FERNÁNDES, I.; PEDRO, J.R.; SERRANO, A. Xabthones from *Hypericum reflexum*. **Phytochemistry**, New York, v. 29, n. 9, p. 3003-3006, 1990.

CHEN, M.; BROGGER CHRISTENSEN, S.; BLOM, J.; LEMMICH, E.; NADELMANN, L.; FICH, K.; THEANDER, T.G.; KHARAZMI, A. Licochalcone A, a novel antiparasitic agent with potent activity against human pathogenic protozoan species of *Leishmania*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 37, p. 2550-2556, 1993.

CHILPA, R. R.; MUÑIZ, E. E.; APAN, T. R.; AMEKRAZ, B.; AUMELAS, A.; JANKOWSKI, K.; TORREZ, M. V.; **Life Sciences**, v. 75, p. 1635, 2004.

CORREA, M. P.; *Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*, **Imprensa Nacional**: Rio de Janeiro, v. 3, p. 388, 1984.

COTTIGLIA, F.; DHANAPAL, B.; STICHER, O.; HEILMANN, J. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 537, 2004.

CRONQUIST, A. Na integrated system of classification of flowerin plants. New York: Columbia University Press, p. 337-340, 1981.

DA SILVA, K. L.; DOS SANTOS, A. R.; MATTOS, P. E.; YUNES, R. A.; DELLE-MANACHE, F.; CECHIINEL-FILHO, V.; **Therapie**, v. 56, p. 431, 2001.

DAVIES, C.R.; KAYE,P.; CROFT,S.L.; SUNDAR, S. **British Medical Journal**, v. 326, p. 377-382. 2003.

DHARMARATNE, H. R.; PERERA, D. S. C.; MARASINGHE, G. P. K.; JAMIE, J. **Phytochemistry**, v. 51, p. 111, 1999.

DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. Edição número 84. Diário Oficial da União de 04 de maio de 2006. Portaria nº 971 de 03 de maio de 2006, Brasília, 2006.

FOURNET, A.; BARRIOS A.A.; MUNÓZ, V.; HOCQUEMILLER; CAVÉ A. Effects of natural naphthoquinones in BALB/c mice infected with *Leishmania amazonensis* and *L. venezuelensis*. **Annals of Tropical Medicine Parasitology**, v. 43, p. 219-222, 1992.

FOURNET, A.; MUNÓZ, A. B. C.; CAVÉ A.; HOCQUEMILLER, R. Effect of some bisbenzylisoquinoline alkaloids on American *Leishmania* sp. in BALB/c mice. **Phytoterapy Research**, v. 7, p. 281-284, 1993.

Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) (2000). **Manual de controle da Leishmaniose Tegumentar Americana**, p. 1-62. Disponível em: www.funasa.gov.br

GRIMALDI, Jr. G.; DAVID, J. R.; McMAHON-PRATT, D. Identification and distribution of New World *Leishmania* species characterized by serademe analysis using monoclonal antibodies. **The America Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 36, p. 270-287, 1987.

HANDMAN, E. Cell Biology of *Leishmania*. **Advances in Parasitology**,v. 44, p. 1-39, 2000.

HERWALDT, B. L. Leishmaniasis. **The Lancet**, v. 354, n. 9185, p. 1191-1199, 1999.

HUERTA-REYES, M.; BASUALDO, M. C.; ABE, F.; JIMENEZ-ESTRADA, M.; SOLER, C.; REYES-CHIPA, R. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, p. 1471, 2004.

ISAIAS, D.E.B.; NIERO, R.; NOLDIN, V.F.; CAMPOS-BUZZI, F.DE; YUNES, R.A.; DELLE-MONACHE, F.; CECHINEL FILHO, V.; **Die Pharmazie**, v. 59, p. 879, 2004.

ITO, C.; ITOIGAWA, M.; MISHINA, Y.; CECHINEL FILHO, V.; MUKAINAKA, T.; TOKUDA, H.; NISHINO, H. **Journal of Natural Products**, v. 65, p. 267, 2002.

ITO, C.; ITOIGAWA, M.; MISHINA, Y.; CECHINEL-FILHO, V.; ENJO, E.; TOKUDA, H.; NISHINO, H.; FURUKAWA. **Journal of Natural Products**, v. 66, p. 368, 2003.

KAM, T.S.; SIM, K.M.; KOYANA, T.; TOYOSHIMA, M.; HAYASH, M.; KOMIYAMA, K. Cytotoxic and leishmanicidal aminoglycosteroids and aminosteroids from *Holarrhena curtisii*. **Journal of Natural Products**, v. 61, p. 1332-1336, 1997.

KAYSER, O.; KIDERLEN, A. F.; LAATSCH, H.; CROFT, S.L. In vitro leishmanicidal activity of monomeric and dimeric naphthoquinones. **Acta Tropica**, v. 77, p. 307-314, 2000.

KAYSER, O.; KIDERLEN, A.F. *In vitro* Leishmanicidal Activity of Naturally Occurring Chalcones. **Phytotherapy research**, v. 15, p. 148-152, 2001.

KILLICK-KENDRICK, R. The biology of *Leishmania* in phlebotomine sandflies. *In: Biology of Kinetoplastida*, vol.II (eds W.H.R. Lumsden & D.A. Evans) Academic Press, London/ New York, p. 395-460, 1979.

KILLICK-KENDRICK, R. The life-cycle of *Leishmania* in the sandfly with special references to the form infective to the vertebrate host. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée**, v. 65, p. 37-42, 1990.

KILLICK-KENDRICK, R.; RIOUX, J.A. Intravestorial cycle of *Leishmania* in the sandflies. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée**, v. 66, p. 71-74, 1991.

KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J. H. **Química Farmacêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara, p. 39-83, 1988.

LAISON, R.; SHAW, J. J. Evolution, classification and geographical distribution. *In: The leishmaniasis*. Lodon, Peters W. & Killick-Kendrick R. v. 1, p. 1-128, 1987.

LIMA, M. V. N.; OLIVEIRA, R. Z.; LIMA, A. P.; FELIX, M. L. O.; SILVEIRA, T. G. V.; ROSSI, R. M.; TEODORO, U. Treatment of patients with American cutaneous leishmaniasis: health services evaluation in northwestern Paraná State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, n. 12, 2007.

MACHADO, K. **Revista Radis**, v. 35, p. 14-15, julho 2005. Manguinhos - Rio de Janeiro, RJ. Disponível em: www.ensp.fiocruz.br/radis . Acesso em: 04/06/2006.

MAHIOU U, V.; ROBLLOT, F.; HOCQUEMILLER, R.; CAVÉ, A.; Piperogalin, a new prenylated diphenol from *Peperomia galioides*. **Journal of Natural Products**, v. 58, p. 324-328, 1995.

MITTAL, N.; GUPTA, N.; SAKSENA S.; GOYAL, N.; ROY, U; RASTOGI, A. K. Protective effect of picrolive from *Pichrorhiza kurroa* against *Leishmania donovani* infections in *Mesocricetus auratus*. **Life Sciences**, v. 63, p. 1823-1834, 1998.

MURRAY, H.W; BERMAN, J.D.; DAVIES, C.R.; SARAIVIA, N.G. **Lancet**, v. 366, p. 1561-1577. 2005.

NOLDIN, V. F.; ISAIAS, D. B.; CECHINEL FILHO, V. gênero *Calophyllum*: importância química e farmacológica, **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 549-554, 2006.

PEARSON, R. D.; SOUZA, A. Q. Clinical spectrum of leishmaniasis. **Clinical Infectious diseases**, v. 22, p. 1-11, 1996.

PONTIN, K.; ALBUQUERQUE, S. Determinação da atividade biológica de bioterápico e extrato de propolis *in vitro* e *in vivo* na infecção experimental determinada por *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Tese (mestrado). Universidade Estadual de Campinas-SP, v. 1, p. 40, 2002.

PRETTO, J. B.; CECHINEL FILHO, V.; NOLDIN, V. F.; SARTORI, M. R. K.; ISAIAS, D. E. B.; BELLA CRUZ, A. Z. **Naturforsch**, v. 56, p. 657, 2004.
QUEIROZ, E.F.; ROBLOT, F.; CAVE, A. Pseudo and spinosine, two catecholic berberines from *Annona spinescens*. **Journal of Natural Products**, v. 59, p. 438-440, 1996.

REYES-CHILPA, R.; ESTRADA-MUNIZ, E.; **J. Chem. Ecol.**, n. 23, p.1901, 1997.

REYES-CHILPA, R.; ESTRADA-MUNIZ, E; APAN, T. T.; AMEKRAZ, B.; AUMELAS, A.; JANKOWSKI, C. K.; VAZQUEZ-TORRES, M. **Life Sciences**, v. 75, p. 1635, 2004.

ROSS, R. Further Notes on *Leishmania's* bodies. **British Medical Journal**, v. 11, p. 1401, 1903.

ROYO, V.A.; SANTOS, F.F.; SOUZA, V.A.; PEREIRA, A.C.; DA SILVA, R.; VINHÓLIS, A.H.C.; DONATE, P.M.; SILVA, M.L.A.; ALBUQUERQUE, S.; BASTOS, J.K. Biological activity evaluation of dibenzilbutirolactones lignans derivatives against *Leishmania braziliensis*. **Revista Brasileira Farmacognosia**, 13(Supl.), p. 18-21, 2003.

SANTOS, E.C.T.; PAIVA, S.R.; BERGMANN, B.; KAPLAN, M.A.C. Atividade anti-Leishmania de *Plumbago scandens* (Plumbaginaceae). **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 1, p. 13-15, 1997.

SANTOS, R. A. N. Leishmaniose x Plantas Medicinais (2004). Disponível em: www.esalq.usp.br/siesalq/pm/leishmaniose.pdf Acesso em: 06/07/2006.

SARAVIA, N. G. L.; VALDERRAMA, M.; LABRADA, A. F.; HOLGUIN, C.; NAVAS, G.; PALMA, A.; WEIGLE, K. A. The relationship of *Leishmania braziliensis* subspecies and immune response to disease expression in New World leishmaniasis. **Journal of infectious Diseases**, v. 159, p. 725-735, 1989.

SARTORI, N. T.; CANEPELLE, D.; SOUSA JR, P. T.; MARTINS, D. T. O. J. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, p. 149, 1999.

SAUVAIN, M.; KUNESCH, N.; POISSON, J.; GANTIER, J-C.; GAYRAL, P.; DEDET, J-P. Isolation of leishmanicidal triterpenes and lignans from Amazonian liana *Dolioscarpus dentatus* (Dellineaceae). **Phytotherapy research**, v. 10, p. 1-4, 1996.

SHAW, J. J.; LAISON, R. Leishmaniasis in Brazil: Some observations on intradermal reactions to different trypanosomatid antigens of patients suffering from cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 69, p. 323-335, 1975.

SILVA, K. L.; SANTOS, A. R.; MATTOS, P. E.; YUNES, R. A.; DELLEMONACHE, F.; CECHINEL FILHO, V. **Therapie**, v. 56, p. 431, 2001.

SILVEIRA, T. G. V.; ARRAES, S. M. A. A.; BERTOLINI, D. A.; TEODORO, U.; LONARDONI, M. V. C. *et. alii*. Observações sobre o diagnóstico laboratorial e a epidemiologia da leishmaniose tegumentar no Estado do Paraná, sul do Brasil. **Revista da Soc. Bras. de Medicina Tropical**, v. 32, n. 4, p. 413-423, 1999.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R.; **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 4ª ed. UFRGS: Porto Alegre/Florianópolis, 2002.

WHO/OMS – World Health Organization/ Organisation Mondiale de La Santé (2000). Disease and its impact. Geographical distribution. Disponível em: <http://www.who.int/emc/diseases/leish/index.html> Acesso em: 25/01/2001.

YASUNAKA, K.; NAGAYAMA, A.; OKABE, H.; LOZADA-PÉREZ, L.; LÓPEZ-VILLAFRANCO, E.; MUNIZ, E.E.; AGUILAR, A.; REYES-CHILPA, R. Antibacterial activity of crude extracts from Mexican medicinal plants and purified coumarins and xanthenes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 2, 2005.

CAPÍTULO II

ARTIGO: “Potencial Leishmanicida *in vitro* de *Calophyllum brasiliense* e *in vivo* na LTA Experimental”, pág. 19-36 submetido para publicação, aguardando resultado.

Address correspondence:

Dra Maria Valdrinez Campana Lonardoni
Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Análises Clínicas
Av. Colombo, 5790; Maringá – PR – Brasil; 87020-900
Telefone (+55 44) 3261-4878 / FAX: (+55 44) 3261-4860
E-mail: mvclonardoni@uem.br

CAPÍTULO III

CONCLUSÃO

O extrato diclorometano e a fração hexano de *Calophyllum brasiliense* apresentou uma expressiva atividade anti leishmania *in vitro* e *in vivo*.

Apresentou atividade leishmanicida “*in vitro*” sobre formas promastigotas e sobre formas amastigotas intracelulares de *L. (L.) amazonensis*.

Reduziu a infecção na pata e diminuiu a carga parasitária nos linfonodos poplíteos de camundongos infectados experimentalmente com *L. (L.) amazonensis*.

Portanto, o *C. brasiliense* modula a infecção experimental, controlando a progressão da infecção por *Leishmania*, limitando a sua disseminação.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Plantas medicinais com atividade leishmanicida, como a *C. brasiliense*, alvo de nosso estudo, têm surgido como alternativa no tratamento da leishmaniose. No entanto, o mecanismo de ação associado aos princípios ativos responsáveis por esta atividade ainda é pouco esclarecida.

Na medicina popular, a utilização de algumas plantas medicinais no tratamento de úlceras causadas por *Leishmania* sp é bastante comum, dentre estas podemos citar a *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl, conhecida popularmente como gervão, rinchão e vassourinha-de-botão pertence à família Verbenaceae (Pio Correa, 1984), onde se utilizam a aplicação de folhas e raízes trituradas. No entanto se faz necessário avaliar a eficácia destes fitoterápicos no processo de reparação cutânea e diminuição da carga parasitaria, para que seu uso possa ser difundido para a sociedade e os unguentos preparados a partir de extratos desta planta possam ser comercializados como agente terapêutico.

Não havia na literatura científica trabalhos que relatassem a ação do extrato diclorometano e fração hexano das folhas do *C. brasiliense* sobre a cicatrização de úlceras da LTA em animais experimentais. Por isso, os resultados deste trabalho abre perspectivas para novos estudos, a fim de elucidar as estruturas dos compostos envolvidos e os seus mecanismos de ação.

Por outro lado, como outros compostos desta família têm atividade anti tumoral existe grande potencial para o desenvolvimento de pesquisa nessa área.

Em nossa visão os conhecimentos adquiridos durante o mestrado poderão ser úteis para aprofundar os estudos desta espécie vegetal ou para o estudo de outras espécies com atividade medicinal.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)