

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA DE *CRÓTON LECHLERI*
COMERCIALIZADO

BOLSISTA: Suelem Keiziany Costa Nogueira

HUMAITÁ

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

RELATÓRIO FINAL

PIB-E/0073/2014

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA DE *CRÓTON LECHLERI*
COMERCIALIZADO

BOLSISTA: Suelem Keiziany Costa Nogueira

ORIENTADORA: Prof^a Dr^a Janaína Paolucci Sales de Lima

HUMAITÁ

2015

RESUMO

A leishmaniose é endêmica ao redor do mundo, que afeta mais de 12 milhões de pessoas mundialmente e apresenta alta endemicidade, morbidade e mortalidade em populações da África, Ásia e América Latina. Os parasitas do gênero *Leishmania* alternam entre duas formas: promastigotas, encontradas no trato digestivo do vetor flebotomíneo e as formas amastigotas, as quais são parasitas intracelulares obrigatórios de macrófagos e, raramente, de outros tipos celulares. No presente estudo será realizada avaliação da ação leishmanicida de *Cróton lechleri* comercializado frente a forma promastigota de *L. amazonensis*, que é uma espécie causadora de Leishmaniose Tegumentar Americana. Os experimentos serão conduzidos nos laboratórios do Instituto de educação, Agricultura e Ambiente da Universidade Federal do Amazonas (IEAA/UFAM). No laboratório de química será realizada a preparação do meio de cultura em conjunto com os demais laboratórios de Biologia e Agronomia. Os ensaios biológicos serão realizados no laboratório de ciências biológicas. O látex de *Cróton lechleri* foram adquiridos através de compras destes produtos comercializados mediante entrevista. A atividade leishmanicida do látex será avaliada pela inibição do crescimento de formas promastigotas após 24, 48, 72, 96 e 120 h de incubação a 24 °C, pela contagem do número total de promastigotas vivas, levando-se em consideração a motilidade flagelar, utilizando-se câmara de Neubauer e microscópio ótico de luz comum. A curva de crescimento de *L. amazonensis* não apresentou diferenças significativas no crescimento parasitário entre os grupos controle sem tratamento e tratado com DMSO e os grupos tratados com todas as concentrações testadas.

ABSTRACT

Leishmaniasis is endemic around the world, affecting more than 12 million people worldwide and is highly endemic, morbidity and mortality in populations of Africa, Asia and Latin America. The genus *Leishmania* parasites alternate between two ways: promastigotes, found in the digestive tract of the sandfly vector, and amastigotes, which are obligate intracellular parasites of macrophages and, rarely, other cell types. In this study will be held evaluating the action leishmanicidal of *Croton lechleri* marketed across the promastigote form of *L. amazonensis*, which is a kind causing American Cutaneous Leishmaniasis. The experiments will be conducted in the laboratories of the Institute of Education, Agriculture and Environment of the Federal University of Amazonas (IEAA / UFAM). In chemistry lab preparation of the culture medium will be held in conjunction with the rest of Agronomy and Biology laboratories. The biological tests will be carried out in the laboratory of biological sciences. The latex of *Croton lechleri* were acquired through purchases of these products marketed by interview. The latex leishmanicidal activity is assessed by inhibition of promastigote growth after 24, 48, 72, 96 and 120 h incubation at 24 ° C, by the total number of living promastigote count, taking into account the flagellar motility using If Neubauer chamber and optical microscope ordinary light. *L. amazonensis* growth curve showed no significant differences in parasite growth between the control untreated and treated with DMSO and treated groups all concentrations tested.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Curva de crescimento de <i>Leishmania (Leishmania) amazonensis</i>	13
Gráfico 2. Atividade leishmanicida de dimetilsulfóxido (DMSO) frente formas promastigotas de <i>Leishmania (Leishmania) amazonenses</i>	14
Gráfico 3. Atividade leishmanicida de pentamidina frente formas promastigotas de <i>Leishmania (Leishmania) amazonenses</i>	14
Gráfico 4. Atividade leishmanicida do látex comercializado de <i>Cróton lechleri</i> frente a forma promastigota de <i>L amazonenses</i> - 1º experimento.....	15
Gráfico 5. Atividade leishmanicida do látex comercializado de <i>Cróton lechleri</i> frente a forma promastigota de <i>L amazonenses</i> - 2º experimento.....	16
Gráfico 6. Atividade leishmanicida do látex comercializado de <i>Cróton lechleri</i> frente a forma promastigota de <i>L amazonenses</i> - 3º experimento.....	16
Gráfico 7. Atividade leishmanicida do látex comercializado de <i>Cróton lechleri</i> frente a forma promastigota de <i>L amazonenses</i> - 4º experimento.	16

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Avaliação da atividade leishmanicida em formas promastigotas in vitro do látex comercializado de <i>Cróton lechleri</i>	15
---	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. OBJETIVOS	8
2.1 OBJETIVO GERAL	8
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
3.1 LEISHMANIOSE	9
3.2 ATIVIDADE LEISHMANICIDA DAS PLANTAS	9
3.3 EUFORBIACEA	10
4. MÉTODOS UTILIZADOS	11
4.1 LOCAL DE CONDUÇÃO DOS EXPERIMENTOS	11
4.2 AQUISIÇÃO DO LÁTEX DE CRÓTON LECHLERI.	11
4.3 OBTENÇÃO E CULTIVO DE LEISHMANIA SP.	11
4.4 QUANTIFICAÇÃO PRÉVIA DE LEISHMANIA SP	11
4.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	11
4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA IN VITRO – FORMAS PROMASTIGOTAS	12
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	12
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
5.1 CURVA PADRÃO DE CRESCIMENTO	13
5.2 CALIBRAÇÃO DE CONTROLES	14
5.3 AÇÃO LEISHMANICIDA NO CRESCIMENTO IN VITRO DE FORMAS PROMASTIGOTAS DE <i>Leishmania spp</i>	15
6. CONCLUSÃO	18
7. REFERÊNCIAS	19
8. CRONOGRAMA	27

1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose é endêmica ao redor do mundo, que afeta mais de 12 milhões de pessoas mundialmente e apresenta alta endemicidade, morbidade e mortalidade em populações da África, Ásia e América Latina (WHO, 2002).

Os parasitas do gênero *Leishmania* alternam entre duas formas: promastigotas, encontradas no trato digestivo do vetor flebotomíneo e as formas amastigotas, as quais são parasitas intracelulares obrigatórios de macrófagos e, raramente, de outros tipos celulares (RODRIGUES et al., 2006).

Considerando as dificuldades de tratamento e a ausência de vacinas, há urgência na busca de novas drogas terapêuticas dentre as quais se incluem os fitoterápicos (CARVALHO & FERREIRA, 2001).

Na Amazônia, existem inúmeras espécies de plantas que possuem propriedades medicinais (OSAKADA, 2009). A família Euphorbiaceae é umas das maiores das Angiospermae, com cerca de 300 gêneros e aproximadamente 7.500 espécies, dentre suas espécies se destaca a espécie *Cróton lechleri*.

A *C. lechleri* é utilizada como planta medicinal há séculos pelas comunidades indígenas da Amazônia, com fins terapêuticos para a cura de diversas enfermidades. Sua casca produz um látex viscoso cor de sangue, conhecido por este motivo como sangue-de-dragão. A planta apresenta também outros nomes vernaculares como sangra d'água, sangue de água, sangue de pau (SMITH, 2006; ZEVALLOS-POLLITO & TOMAZELLO, 2007).

Muitos efeitos farmacológicos da *C. lechleri* foram descritos na literatura, dentre estes efeitos estão a atividade cicatrizante, analgésica bucal, antidiarréica, anticâncer, antiinflamatória e antibacteriana (CHEN et al., 1994; PIETERS et al., 1995; GABRIEL et al., 1999; HOLODNIY et al., 1999; MILLER et al., 2000; GURGEL et al., 2001; ZEVALLOS-POLLITO & TOMAZELLO, 2007).

No presente estudo será realizada avaliação da ação leishmanicida in vitro do látex comercializado da espécie *Cróton lechleri* frente a formas promastigotas de *L. amazonensis*, que é uma das espécies causadoras de Leishmaniose Tegumentar Americana.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar as propriedades do látex de *Cróton lechleri* comercializado no sul da Amazônia brasileira, contra formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito leishmanicida *in vitro* do látex comercializado de *Cróton lechleri* em formas promastigotas de *L. amazonensis*.
- Determinação da concentração inibitória do crescimento parasitário (IC₅₀) na presença do látex comercializado de *Cróton lechleri*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 LEISHMANIOSE

A Leishmaniose é uma doença causada por pelo menos 17 espécies de protozoários do gênero *Leishmania* (CROFT E COOMBS, 2003). De acordo com as características clínicas e epidemiológicas da doença, as espécies são classificadas em dois sub-gêneros *Leishmania* e *Viannia*. O gênero *Leishmania* compreende protozoários parasitos digenéticos da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae (SHAW, 1994).

Os aspectos das leishmanioses variam ainda conforme região geográfica, provavelmente indicando interação entre propriedades dos parasitos locais, biologia dos vetores presentes na área e fatores da população (MURRAY *et al.*, 2005). A evolução da disseminação desta zoonose não se deu de forma similar, daí serem os seus padrões epidemiológicos extremamente diversos a depender da região geográfica e de fatores sócio-culturais da população envolvida. Esta diversidade impossibilita o estabelecimento de padrões epidemiológicos e ecológicos comuns para as diversas regiões, dificultando, assim, a adoção de medidas de controle da doença (ARAÚJO FILHO, 1981; BARRETO *et al.*, 1981; COSTA, 1986; DOURADO, 1989).

3.2 ATIVIDADE LEISHMANICIDA DAS PLANTAS

O Brasil é reconhecido pela exuberância e variedade de plantas tropicais, sendo algumas amplamente utilizadas na medicina popular (SUFREDINI *et al.*, 2004). Muitas plantas dos biomas brasileiros, tais como o cerrado, a floresta amazônica e a mata atlântica têm sido utilizadas como fármacos naturais pelas populações locais no tratamento de várias doenças tropicais, incluindo esquistossomose, leishmaniose, malária e infecções fúngicas e bacterianas (ALVES *et al.*, 2000).

O uso de plantas no tratamento da LTA é uma prática antiga entre as populações das áreas endêmicas (FOURNET *et al.*, 1992; MOREIRA *et al.*, 1998; MOREIRA *et al.*, 2002). Geralmente, as preparações vegetais são utilizadas por via oral ou tópica sobre as lesões cutâneas (NETTO *et al.*, 1985; IWU *et al.*, 1994; AKENDENGUE *et al.*, 1999). Porém, esses tratamentos são empíricos e pouco se sabe sobre sua real eficácia, uma vez que na LTA pode ocorrer a cura espontânea das lesões (MARSDEN *et al.*, 1984; COSTA *et al.*, 1990; ROSSELL *et al.*, 1992; MARSDEN, 1994).

Diversos compostos químicos, isolados de extratos vegetais, têm comprovada atividade leishmanicida sobre formas promastigotas de *Leishmania* em ensaios *in vitro*. Já foi

relatada a atividade leishmanicida de terpenóides (CAMACHO et al., 2003), aminoglicosteróides e aminosteróides (KAM et al., 1999), naftoquinonas (FOURNET et al., 1992), chalconas (CHEN et al., 1996), glicosídeos iridóides, flavonóides, lignanas (BARATA et al., 2000) e de alcaloides (QUEIROZ, et al., 1996). Apesar dos vários estudos nesta área, ainda existem muitas espécies vegetais com potencial atividade leishmanicida a serem avaliadas.

3.3 EUFORBIACEA

O gênero *Croton* pertence à família Euforbiaceae. Esta família é constituída por aproximadamente 300 gêneros e 7.500 espécies, de distribuição cosmopolita, mas com desenvolvimento mais acentuado nas regiões tropicais e subtropicais. O gênero com maior número de espécies é o *Euphorbia*, com aproximadamente 1.500 espécies encontradas em todas as partes do planeta. Outros gêneros com grande número de espécies são o *Croton* (750 espécies), *Phyllanthus* (400 espécies), *Acalypha* (400 espécies), *Macaranga* (250 espécies), *Antidesma* (150 espécies), *Dryptes* (150 espécies), *Tragia* (150 espécies), *Manihot* (150 espécies) e *Jatropha* (150 espécies) (CRONQUIST, 1981 apud MATTOS, 2001).

Pertencentes a família Euphorbiaceae, existem várias espécies deste gênero com características e propriedades semelhantes, destacando-se entre elas, a *Croton salutaris*, *Croton lechleri*, *Croton planostigma* e a *Croton cajucara*. A *C. urucurana* é nativa de terrenos úmidos e pantanosos em quase todo o Brasil, ocorrendo especialmente na Amazônia e no Cerrado (LORENZI, 2002; MILO et al, 2002).

Conforme Revilla (2002b), a aplicação do látex pode ser diretamente nas áreas atingidas, sendo também comuns o uso de bochechos e gargarejos, e duchas higiênicas para problemas de mulher. Até o presente desconhecem-se estudos de toxicidade e mutagenicidade, em virtude do qual se desaconselha seu uso por via interna em casos de gravidez e lactação, devendo-se usar a quantidade recomendada e com orientações de especialistas.

4. MÉTODOS UTILIZADOS

4.1 LOCAL DE CONDUÇÃO DOS EXPERIMENTOS

Os experimentos foram conduzidos nos laboratórios localizados no bloco um do Instituto de educação, Agricultura e Ambiente da Universidade Federal do Amazonas (IEAA/UFAM).

As cepas de formas promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, encontram-se crio-preservadas no laboratório de Anatomia Animal e Fitotecnia do IEAA. A avaliação da atividade leishmanicida *in vitro* sobre formas promastigotas foi realizada no laboratório de ciências biológicas.

4.2 AQUISIÇÃO DO LÁTEX DE CRÓTON LECHLERI.

O látex foi adquirido na cidade de Humaitá em feiras e casas de comercialização de produtos naturais.

4.3 OBTENÇÃO E CULTIVO DE LEISHMANIA SP.

Os parasitas utilizados nesse trabalho foram formas promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis* cepa PH8 (IFLA/BR/67/PH8) oriundas de culturas mantidas crio-preservadas no Instituto de Pesquisas Patologias Tropicais da FIOCRUZ (IPEPATRO/FIOCRUZ).

4.4 QUANTIFICAÇÃO PRÉVIA DE LEISHMANIA SP

Para a propagação *in vitro* das formas promastigotas foi utilizado culturas de 5° dia de crescimento (final da fase logarítma) lavadas duas vezes por centrifugação a 1000 xg por 10 min em solução salina tamponada com fosfato (PBS) estéril e ressuspensas em meio de cultura preparado como descrito no item anterior. Após contagem em câmara de Neubauer, 5x10⁵ parasitas/mL foram ressuspensos em meio de cultura suplementado com SFB.

4.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido obedecendo a um delineamento inteiramente casualizado, constando de oito tratamentos, sendo esses: controle positivo; controle de solvente; controle negativo e extratos nas concentrações de 500, 250, 125, 62,5 e 31,25 µg/mL) e três repetições.

O número de leishmanias na forma promastigota foi avaliado em material codificado por dois observadores independentes. Os parasitas corados em vermelho foram considerados mortos e os birrefringentes e móveis considerados vivos. O Cálculo foi realizado considerando apenas o número de parasitas vivos.

4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA IN VITRO – FORMAS PROMASTIGOTAS

As culturas de promastigotas foram mantidas a 24 °C em meio NNN enriquecido com RPMI 1640, suplementado com soro fetal bovino inativado a 10% (SIGMA), L-glutamina 2 mM (GIBCO) e os antibióticos penicilina (100 U/mL) e estreptomicina (100 µg/mL) (SIGMA). Antes de cada experimento foi observado no microscópio a motilidade flagelar dos parasitos.

Para os ensaios, do látex foi diluído cinco vezes em meio RPMI completo, obtendo-se a concentração de 1 mg/mL. Deste, foram retirados 100 µL os quais foram diluídos seriadamente, em placas de 96 poços de fundo chato (Costar), na proporção de 1:2, resultando nas concentrações finais de 500, 250, 125, 62,5 e 31,25 µg/mL. Em cada poço foram adicionados 10 µL da suspensão contendo 5 x 10⁶ formas promastigotas de *L. amazonensis* por mL. Pentamidina, droga utilizada no tratamento das leishmanioses, foi utilizada nas mesmas concentrações dos extratos. Como controle foram utilizadas as formas promastigotas cultivadas em meio RPMI completo.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos dados obtidos foi efetuada no programa Graph Pad Prism 5.0 pelos métodos tradicionais de análise de variância (ANOVA) e de comparação de médias. A curva de crescimento de formas promastigotas de *L. amazonensis* foi efetuada através da diferença entre as médias do número de promastigotas/dia nas diferentes concentrações de uma mesma droga em relação aos controles pela ANOVA de um fator, utilizando o teste de Student-Newman-Keuls.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CURVA PADRÃO DE CRESCIMENTO

A curva de crescimento das formas promastigotas de *L. amazonensis* apresentou a fase exponencial tardia e a fase estacionária respectivamente, no sexto e sétimo dia de cultivo (Gráfico 1). Observou-se que estatisticamente não haveria diferença na escolha do quinto, sexto ou sétimo dia de crescimento. O sexto dia de crescimento definiu-se como o dia padrão de uso da cepa para os estudos in vitro e in vivo de *L. amazonensis*.

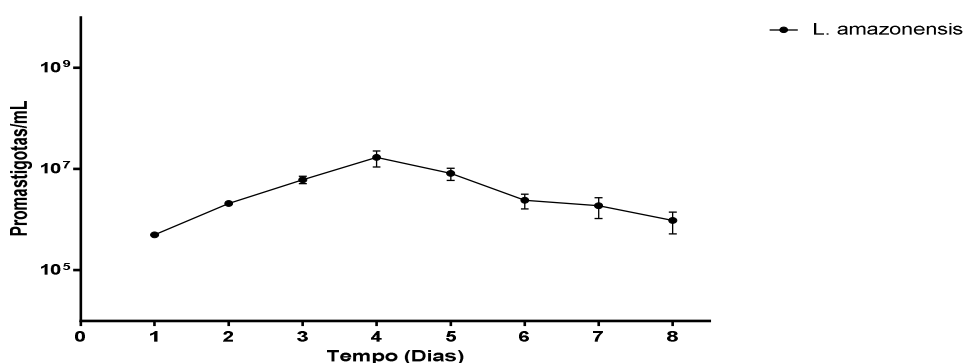


Gráfico 1. Curva de crescimento de *Leishmania (Leishmania) amazonensis*.

Intervalo de confiança de 95%. As barras indicam o erro padrão da média (SEM). As setas indicadas na figura representam o dia escolhido para a coleta dos parasitas para a realização dos experimentos.

A realização de curvas de crescimento é fundamental para a manutenção e uso das culturas de *Leishmania* spp. É possível determinar a fase exponencial e a fase estacionária de crescimento de microorganismos em cada sistema de cultivo, a determinação desta fase é importante uma vez que autores sugerem uma associação entre a fase de crescimento da cultura e o sucesso da manutenção da cultura (KILLICK-KENDRICK *et al.*, 1974; BOGDAN, 1990). Com a obtenção das curvas de crescimento e a observação da morfologia das formas promastigotas de *L. amazonensis*, determinou-se a fase exponencial tardia e a fase estacionária, sendo assim, possível definir os dias que as cepas tinham a maior probabilidade de estarem infectantes.

Baseado-se nos resultados das curvas de crescimento foi definido o sexto dia para manutenção e uso das cepas de *L. amazonensis*. Lima (2012), Passos (2004) e Silva (2008) apresentaram resultados de crescimento de *L. amazonensis* semelhantes aos identificados no presente estudo.

5.2 CALIBRAÇÃO DE CONTROLES

O solvente dimetilsulfóxido (DMSO) a 0,7%, concentração semelhante à usada para as drogas na concentração de 50 µg/mL, não interfere na mortalidade das formas promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis* cepa PH8 (IFLA/BR/67/PH8) nos experimentos *in vitro*. As curvas de crescimento de *L. amazonensis* ($F = 4,902$; $P < 0,05$) apresenta diferença significativa no crescimento parasitário entre o grupo controle não tratado e os grupos tratados com concentrações de 10, 5 e 2,5% (Gráfico 2 e Gráfico 3).

Na literatura são encontrados trabalhos utilizando concentrações variadas de DMSO em formas promastigotas de *Leishmania* spp. concentrações de 0,1; 0,25; 0,7; 1; 1,6 e 5% de DMSO não afetaram formas promastigotas de *L. amazonensis* (QUEIROZ *et al.*, 1996; SCHMEDAHIRSCHMANN, 1996; WAECHTER *et al.*, 1998; BRAGA *et al.*, 2007; OSÓRIO *et al.*, 2007; NUNES, 2008; COSTA *et al.*, 2009; SATALAYA, 2009; LIMA, 2012).

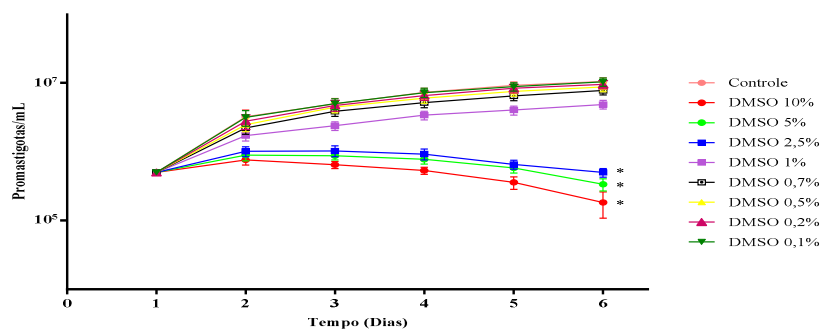


Gráfico 2. Atividade leishmanicida de dimetilsulfóxido (DMSO) frente formas promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis*.

Os resultados representam as médias de dois experimentos realizados em triplicata com intervalo de confiança de 95%. As barras indicam o erro padrão da média (SEM). Os asteriscos (*) referem-se a resultados estatisticamente significantes em relação ao controle sem tratamento, * $P < 0,05$.

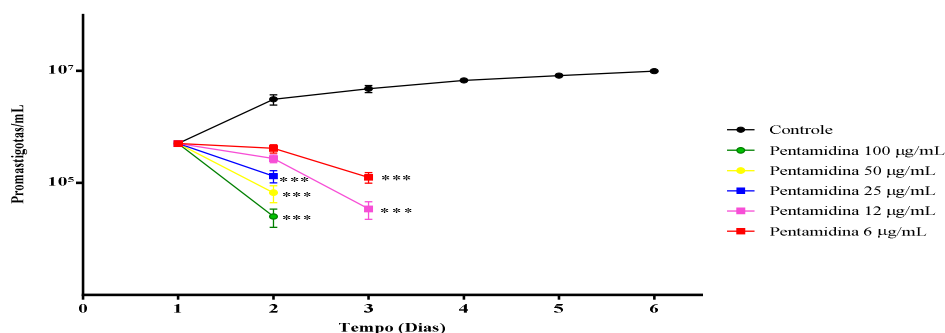


Gráfico 3. Atividade leishmanicida de pentamidina frente formas promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis*.

Os resultados representam as médias de dois experimentos realizados em triplicata com intervalo de confiança de 95%. As barras indicam o erro padrão da média (SEM). Os asteriscos (***) referem-se a resultados estatisticamente significantes em relação ao controle sem tratamento, *** $P < 0,0001$.

A calibração de controle Pentamidina, o controle de promastigotas de *L. amazonensis* se comporta de maneira normal a uma curva de crescimento de sete dias com as concentrações de Pentamidina de 100 µg/mL, 50µg/mL e 25µg/mL sua expectativa de vida se encerra no 2º dia sem qualquer aumento de promastigotas, sob as concentrações 12µg/mL e 6µg/mL a mortalidade de *L. amazonensis* se retarda por mais um dia chegando ao terceiro dia devido à baixa concentração de Pentamidina.

5.3 AÇÃO LEISHMANICIDA NO CRESCIMENTO IN VITRO DE FORMAS PROMASTIGOTAS DE *Leishmania spp*

A atividade leishmanicida do látex comercializado de *Cróton lechleri* foi avaliada pela inibição do crescimento de formas promastigotas de *L. amazonensis* in vitro. As formas promastigotas foram tratadas com as concentrações de 100, 50, 25, 12 e 6 µg/mL do extrato por seis dias. Os resultados expressos em IC_{50} são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Avaliação da atividade leishmanicida em formas promastigotas in vitro do látex comercializado de *Cróton lechleri*.

<i>Leishmania spp.</i> ^a	IC_{50} (µg/mL) + SEM ^b	Classificação da atividade
1ª PH8	184,43±0,76	Não ativo
2ª PH8	225,89±0,84	Não ativo
3ª PH8	192,18±0,78	Não ativo
4ª PH8	175,44±0,62	Não ativo

^a PH8, *Leishmania (Leishmania) amazonensis*;

^b IC_{50} , 50% de Concentração Inibitória. Os valores são expressos em média + SEM.

As promastigotas de *L. amazonensis* não foram sensíveis ao extrato etanólico. As curvas de crescimento de *L. amazonensis* ($F = 2,998$; $P > 0,05$) não apresentam diferenças significativas no crescimento parasitário entre os grupos controle não tratados e tratados com DMSO e os grupos tratados com todas as concentrações testadas.

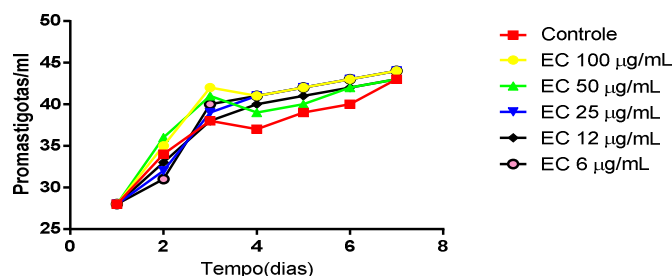


Gráfico 4. Atividade leishmanicida do látex comercializado de *Cróton lechleri* frente a forma promastigota de *L. amazonenses* - 1º experimento.

Os resultados representam as médias de dois experimentos realizados em triplicata com intervalo de confiança de 95%. As barras indicam o erro padrão da média (SEM). IC_{50} – 184,43 µg/mL

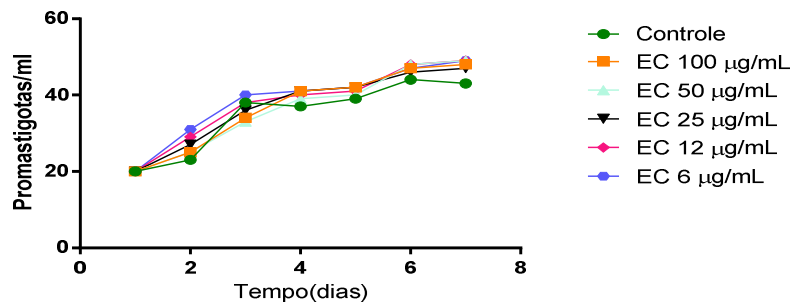


Gráfico 5. Atividade leishmanicida do látex comercializado de *Cróton lechleri* frente a forma promastigota de *L. amazonenses* - 2º experimento.

Os resultados representam as médias de dois experimentos realizados em triplicata com intervalo de confiança de 95%. As barras indicam o erro padrão da média (SEM). IC₅₀ – 225,89 µg/mL

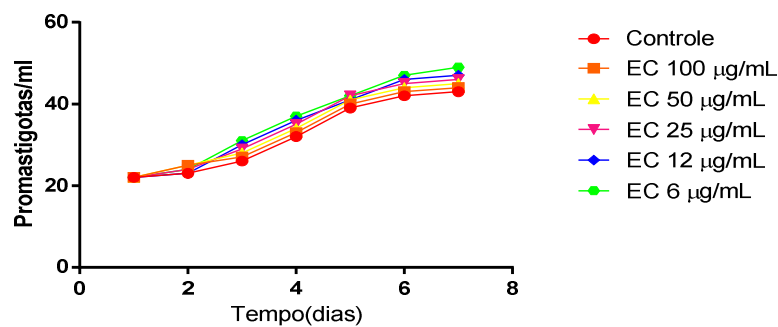


Gráfico 6. Atividade leishmanicida do látex comercializado de *Cróton lechleri* frente a forma promastigota de *L. amazonenses* - 3º experimento.

Os resultados representam as médias de dois experimentos realizados em triplicata com intervalo de confiança de 95%. As barras indicam o erro padrão da média (SEM). IC₅₀ – 192,18 µg/mL

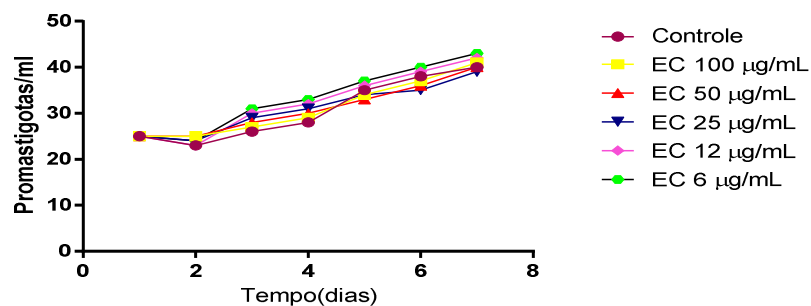


Gráfico 7. Atividade leishmanicida do látex comercializado de *Cróton lechleri* frente a forma promastigota de *L. amazonenses* - 4º experimento.

Os resultados representam as médias de dois experimentos realizados em triplicata com intervalo de confiança de 95%. As barras indicam o erro padrão da média (SEM). IC₅₀ – 175,44 µg/mL

O experimento de *L. amazonensis* frente ao controle e frente de frações de EC- Látex de *Cróton lechleri* a 100 µg/mL, 50µg/mL, 25µg/mL, 12µg/mL e 6µg/mL. O controle se comporta de maneira crescente frente ao experimento assim como o controle DMSO 0,7%, as

frações de EC- Látex comercializado de *Cróton lechleri* 50µg/mL, 25µg/mL e 12µg/mL, as outras concentrações se comportaram de maneira bem semelhante.

Os ensaios realizados apresentaram respectivamente os valores de IC₅₀ 184,43 µg/mL (Gráfico 4), 225,89 µg/mL (Gráfico 5), 192,18 µg/mL (Gráfico 6) e 175,44 µg/mL (Gráfico 7), indicando que as concentrações testadas do látex não são capazes de inibir o crescimento.

Atualmente o tratamento é feito à base de antimoniais pentavalentes, anfotericina B e pentamidinas, as quais são tóxicas, de custo elevado, difícil administração e podem causar resistência ao parasito (RATH *et al.*, 2003; CROFT & COOMBS, 2003). A internação prolongada e os efeitos adversos como alterações cardíacas, renais, pancreáticas e hepáticas dificultam a conclusão do tratamento (CARVALHO & FERREIRA, 2001; PAULA *et al.*, 2003; NAKAMURA *et al.*, 2006).

Considerando as dificuldades de tratamento, a ausência de vacinas e os resultados obtidos referentes à atividade leishmanicida da espécie *Cróton lechleri* é necessário avaliar outros extratos orgânicos e componentes isolados da espécie para que se possa testá-los a fim avaliar efetivamente sua atividade leishmanicida, contribuindo para o avanço na busca de novas drogas terapêuticas para Leishmaniose Tegumentar Americana.

6. CONCLUSÃO

DMSO a 0,7% não interfere na mortalidade das formas promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, cepa PH8.

A curva de crescimento de *L. amazonensis* não apresentou diferenças significativas no crescimento parasitário entre os grupos controle sem tratamento e tratado com DMSO e os grupos tratados com todas as concentrações testadas.

Os resultados obtidos neste estudo confirmam a importância da seleção de extratos de plantas usadas na medicina popular nos programas de triagem na busca de novos agentes leishmanicidas.

É necessário que avaliar a origem se realmente é um látex puro, pois muitos comercializadores fazem a mistura com outros para maior quantidade e lucratividade. Afetando assim o desempenho logo que o mesmo é conhecido por alta eficiência em vários casos.

7. REFERÊNCIAS

- AKENDENGUE, B.; NGOU-MILAMA, E.; LAURENS, A.; HOCQUEMILLER, R. Recent advances in the fight against leishmaniasis with natural products. *Parasite* 1999, 6(1): 3-8.
- ALVES, T.M.A.; SILVA, A.F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T.S.M.; SMÂNIA, E.F.; SMÂNIA JR., A.; ZANI, C.L. Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 2000, 95(3): 367-373.
- ARAÚJO FILHO, N. A. Leishmaniose Tegumentar Americana e o desmatamento na Amazônia. *Acta Amazônica*, Manaus, v. 11, n. 1, p. 187-189, 1981.
- 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* 2000, 55(6): 589-595.
- BRAGA, F. G.; BOUZADA, M. L. M.; FABRI, R. L.; MATOS, M. O.; MOREIRA, F. O.; SCIO, E.; COIMBRA, E. S. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* 2007, 111(2): 396 - 402.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – 2. ed. Atual. Brasília: Editora do ministério da Saúde, 2007.
- BARRETO, A.C.; CUBA, C.C.; MARSDEN, P.D.; VEXENAT, J.A.; DE BELDER, M. Características epidemiológicas da leishmaniose tegumentar americana em uma região endêmica do estado da Bahia, Brasil. I. Leishmaniose humana. *Boletín de la Oficina Panamericana de Salud* 1981, 90: 415-424.
- BOGDAN, C.; RÖLLINGHOFF, M.; SOLBACH, W. Evasion strategies of leishmania parasites. *Parasitology Today* 1990, 6(6): 183-187.
- CAI, Y.; CHEN, Z. P.; PHILLIPSON, J. D. Clerodane diterpenoids from *Croton lechleri*. *Phytochemistry*, v. 34, n. 265-268, 1993a.
- CAI, Y.; CHEN, Z. P.; PHILLIPSON, J. D. Diterpenes from *Croton lechleri*. *Phytochemistry*, v. 32, p. 755-760, 1993b.
- CAMACHO, M. D. R.; PHILLIPSON, J. D.; CROFT, S. L.; SOLIS, P. N.; MARSHALL, S. J.; GHAZANFAR, S. A Screening of plants extracts for antiprotozoal and cytotoxic activities. *Journal of Ethnopharmacology* 2003, 89(2-3): 185-191.
- CARVALHO, P.B.; FERREIRA, E.I. Leishmaniasis phytotherapy. Nature's leadership against an ancient disease. *Fitoterapia* 2001, 72: 599-618.

CARVALHO, P. B.; ARRIBAS, M. A. G.; FERREIRA, E. I. Leishmaniasis. What do we know about its chemotherapy? *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* 2000, 36(1): 69-96.

CHAN-BACAB, M.J.; PEÑA-RODRIGUEZ, L.M. Plant natural products with leishmanicidal activity. *Nat. Prod. Rep.* 2001, 18(6): 674 - 88.

CHEN, YUANG-YNG; CHANG, FANG-RONG; WU, YANG-CHANG. Isoquinoline alkaloids and lignans from *Rollinia mucosa*. *Journal of Natural Products*, v. 59, n. 9, p. 904 – 906, sept. 1996.

CONASENS. Política Nacional de Medicina e Práticas Complementares PMNPC, Brasília fevereiro de 2005. Disponível em: www.conasens.org.br.

CONVIT, J.; ULRICH, M.; POLEGRE, M. A.; AVILA, A.; RODRIGUEZ, N.; MAZZEDO, M. I.; BLANCO, B. Therapy of Venezuelan patients with severe mucocutaneous or early lesions of diffuse cutaneous leishmaniasis with a vaccine containing pasteurized *Leishmania* promastigotes and bacillus calmett-guerin - Preliminary report. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2004, 99(1): 57-62.

COSTA, J. M. L.; VALE, K.C.; FRANÇA, F.; SALDANHA, A. C. R.; SILVA, J. O.; LAGO, E. L.; MARSDEN, P. D.; MAGALHÃES, A. V.; SILVA, C. M. P.; NETTO, A. S.; GALVÃO, C. E. S. Cura espontânea da leishmaniose causada por *Leishmania (Viannia) braziliensis* em lesões cutâneas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 1990, 23(4): 205-208.

COSTA, E.V.; PINHEIRO, M.L.B.; SILVA, J.R.A.; MAIA, B.H.L.N.S.; DUARTE, M.C.T.; AMARAL, A.C.F.; MACHADO, G.M.C.; LEON, L.L. Antimicrobial and antileishmanial activity of essential oil from leaves of *Annona foetida* (Annonaceae). *Quimica Nova* 2009, 32(1): 78-81.

COSTA, E.V.; PINHEIRO, M.L.B.; XAVIER, C.M.; SILVA, J.R.A.; AMARAL, A.C.F.; SOUZA, A.D.L.; BARISON, A.; CAMPOS, F.R.; FERREIRA, A.G.; MACHADO, G.M.C.; LEON, L.L.P. A pyrimidine- β -carboline and other alkaloids from *Annona foetida* with antileishmanial activity. *Journal of Natural Products* 2006, 69(2): 292-294.

COSTA, J.M.L. Epidemiologia das Leishmanioses no Brasil. *Gazeta Médica da Bahia* 2005, 75(1): 3-17.

COSTA, J.M.L. Estudo clínico-epidemiológico de um surto epidêmico de leishmaniose tegumentar americana em Corte de Pedra-Bahia. 186 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) - Universidade de Brasília (UNB), Brasília, 1986.

COSTA, J.M.L.; VALE, K.C.; FRANÇA, F.; SALDANHA, A.C.R.; SILVA, J.O.; LAGO, E.L.; MARSDEN, P.D.; MAGALHÃES, A.V.; SILVA, C.M.P.; NETTO, A.S.; GALVÃO, C.E.S. Cura espontânea da leishmaniose causada por *Leishmania (Viannia) braziliensis* em lesões cutâneas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 1990, 23(4): 205-208.

CROFT, S.L.; COOMBS, G.H. Leishmaniasis, current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. *Trends in Parasitology* 2003, 19(11): 502-508.

CROFT, S.L.; COOMBS, G.H. Leishmaniasis, current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. *Trends in Parasitology* 2003, 19(11): 502-508.

DOURADO, M.I.C.E.; NORONHA, C.V.; ALCÂNTARA, N.; ICHIHARA, M.Y.; LOUREIRO, S. Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar Americana e suas relações com a lavoura e o garimpo, em localidade do Estado da Bahia (Brasil). *Revista de Saúde Pública* 1989, 23(1): 2-8.

ESTRELLA, E. Plantas medicinales amazonicas: realidad y perspectivas. Lima: TCA, 1995. 301p. (TCA, 28).

FOURNET, A.; BARRIOS, A.A.; MUNÓZ, V.; HOCQUEMILLER, C.A. Effects of natural naphthoquinones in BALB/c mice infected with *Leishmania amazonensis* and *L. venezuelensis*. *Annals of Tropical Medicine Parasitology* 1992, 43(4): 219-222.

FUMAROLA, L.; SPINELLI, R.; BRANDONISIO, O. In vitro assays for evaluation of drug activity against leishmania spp. *Research in Microbiology* 2004, 155(4): 244-230.

FUNASA. Manual de controle da Leishmaniose Tegumentar Americana. Centro Nacional de Epidemiologia, Fundação Nacional da Saúde. Brasília. 2000, p.07-60.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FNS). Leishmaniose Tegumentar Americana: Vigilância e Monitoramento da Leishmaniose Tegumentar em Unidades Territoriais-Brasil, 1994 - 2001. *Boletim Epidemiológico*, Ano 02, Nº 05, 13/12/2002. Ministério da Saúde, Brasília, 2002. Disponível em: <www.funasa.gov.br> Acesso em: 26 de março de 2014.

GABRIEL, S. E.; DAVENPORT, S. E.; STEAGALL, R. J.; VIMAL, V.; CARLSON, T.; ROZHON, E. J. A novel plant-derived inhibitor of cAMP-mediated fluid and chloride secretion. *Am J Physiol*, v. 276, p. G58-G63, 1999.

GURGEL, L. A.; SILVA, R. M.; SANTOS, F. A.; MARTINS, D. T.; MATTOS, P. O.; RAO, V. S. Studies on the antidiarrhoeal effect of dragon's blood from *Croton urucurana*. *Phytother Res*, v. 15, n. 4, 319-322, 2001.

HANDMAN, E. *Leishmania* vaccines: Old and new. *Parasitology Today* 1997, 13(6): 236-238.

HANDMAN, E. Cell biology of *Leishmania*. *Advances in Parasitology* 1999, 44: 1-39

HOLODNIY, M.; KOCH, J.; MISTAL, M.; SCHMIDT, J. M.; KHANDWALA, A.; PENNINGTON, J. E.; PORTER, S. B. A double blind, randomized, placebo-controlled phase II study to assess the safety and efficacy of orally administered SP-303 for the symptomatic treatment of diarrhea in patients with AIDS. *Am J Gastroenterol*, v. 94, n. 11, p. 3267-3273, 1999.

KAM, T.S.; SIM, K.M.; KOYANO, T.; TOYOSHIMA, M.; KOMIYAMA, K. Leishmanicidal alkaloids from *Kopsia griffi thii*. *Phytochemistry* 1999, 50(1): 75-79.

KILLICK-KENDRICK, R.; MOLYNEUX, D.H.; ASHFORD, R.W. Ultrastructural observations on the attachment of *Leishmania* in the sandfly. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1974, 68(4): 269.

IWU, M. M.; JACKSON, J. E.; SCHUSTER, B. G. Medicinal plants in the fight against leishmaniasis. *Parasitology Today* 1994, 10: 65-68.

LIMA, J. P. S.; PINHEIRO, M. L. B.; SANTOS, A. M. G.; PEREIRA, J. L. S.; SANTOS, D. M. F.; BARISON, A.; COSTA, E. V.; SILVA-JARDIM, I. In Vitro Atilishmanial and Cytotoxic Activities of *Annona mucosa* (Annonaceae). *Revista Virtual de Química*, v. 4, n. 6, p. 692–702, 2012.

LIMA, J. P. S. Avaliação da atividade leishmanicida de *Annona mucosa*, *Annona sericea* e *Ephedranthus amazonicus* frente a *Leishmania amazonensis*, *L. braziliensis* e *L. guyanensis*. 2012. 184f. TESE (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas (UFAM) – Manaus - AM.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. *Plantas Mediciniais no Brasil – Nativas e Exóticas*. Nova Odessa, São Pulo: Instituto Plantarum, 2002, 512p.

MARSDEN, P.D. Personal experience with diagnostic and therapeutic aspects of human *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* in Três Braços. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 1994, 89(3): 485-487.

MARSDEN, P.D.; Tada, M.S.; Barreto, A.C.; Cuba, C.C. Spontaneous healing of *Leishmania braziliensis braziliensis* skin ulcers. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1984, 78: 561-562.

MARSDEN, Philip D. Personal experience with diagnostic and therapeutic aspects of human *Leishmania (Viannia) braziliensis* in Três Braços. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 89, n. 3, p. 485 - 487, jul./sept. 1994.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS). Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. 2 ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde 2007, 180 p. Disponível em: < http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_lta_2ed.pdf> Acessado em: 11/01/2009.

MILLER, M. J. S.; MACNAUGHTON, W. K.; ZHANG, X. J.; THOMPSON, J. H.; CHARBONNET, R. M.; BOBROWSKI, P.; LAO, J.; TRENTACOSTI, A. M.; SANDOVAL, M. Treatment of gastric ulcers and diarrhea with the Amazonian herbal medicine *Sangre de Grado*. *Am J Physiol*, v. 279, p. G192-G200, 2000.

MILO, B.; RISCO, E.; VILA, R.; JELESIAS, J.; CANIGUERAL, S. Characterization of a Fucoarabinogalactan, the main polysaccharide from the gum exsudate of *Croton urucurana*. *Journal of Natural Products*, v.65, n.8, p.1143-1146, 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS). Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. 2 ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2007, 180 p. Disponível em: < http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_lta_2ed.pdf> Acessado em: 26 de março de 2014.

MOREIRA, R.C.R.; COSTA, J.M.L.; SALDANHA, A.C.; SILVA, A.R. Projeto Buriticupu Maranhão II. Plantas usadas como terapêutica da leishmaniose tegumentar americana na região de Buriticupu-Maranhão. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 1998, 31(I): T248, 126.

MOREIRA, R.C.R.; REBÊLO, J.M.M.; GAMA, M.E.A.; COSTA, J.M.L. Nível de conhecimento sobre Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) e uso de terapias alternativas por populações de uma área endêmica da Amazônia do Maranhão, Brasil. *Caderno de Saúde Pública* 2002, 18(1): 187-195.

MURRAY, H.W.; BERMAN, J.D.; DAVIES, C.R.; SARAVIA, N.G. Advances in leishmaniasis. *Lancet* 2005, 366(9496): 1561-1577.

NAKAMURA, C.V.; SANTOS, A.O.; VENDRAMETTO, M.C.; LUIZE, O.S.; DIAS FILHO, B.P.; CORTEZ, D.A. G.; UEDA-NAKAMURA, T. Atividade antileishmania do extrato hidroalcoólico e de frações obtidas de folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 2006, 16(1): 61-66.

NETTO, E.M.; TADA, M.S.; GOLIGHT, K.D.C.; LAGO, E.; BARRETO, A.C.; MARSDEN, P. Conceitos de uma população local a respeito da leishmaniose mucocutânea em uma área endêmica. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 1985, 18(1): 33-37.

NUNES, R.K. Avaliação da atividade tripanocida e leishmanicida de produtos naturais da flora mato-grossense. 2008. 60f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Centro de Ciências Biológicas (CCB), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

OSAKADA, A. Desenvolvimento inicial de sangue-de-dragão (*Croton lechleri* MULL. ARG) sob diferentes classes de solos, corretivos e níveis de luminosidade na Amazônia central. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2009.

OSORIO, E.J.D; ARANGO, G. J.A.; JIMÉNEZ, N.; ALZATE, F.; RUIZ, G.; GUTIÉRREZ, D.; PACO, M. A.; GIMÉNEZ, A.; ROBLEDO, S. Antiprotozoal and cytotoxic activities in vitro of Colombian Annonaceae. *Journal of Ethnopharmacology* 2007, 111(3): 630-635.

PASSOS, J.P.S. Padronização de métodos de produção de antígenos de montenegro. 2004. 74 f. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) – Curso de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Bio-Manguinhos, FIOCRUZ, Rio de Janeiro.

PAULA, C.D.R.; SAMPAIO, J.H.D.; CARDOSO, D.R.; SAMPAIO, R.N.R. Estudo comparativo da eficácia de isotionato de pentamidina administrada em três doses durante uma semana e de Nmetil- glucamina 20mgSbV/Kg/dia durante 20 dias para o tratamento da forma cutânea da leishmaniose tegumentar americana. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2003, 36(3): 365-371.

PIETERS, L.; DE BRUYNE, T.; VAN POEL, B.; VINGERHOETS TOTTÉ, J.; VANDEN BERGHE, D.; VLIETINCK, A. In vivo wound healing activity of Dragon's Blood (*Croton* spp.), a traditional South American drug, and its constituents. *Phytomedicine*, v. 2, p. 17-22, 1995.

QUEIROZ, E.F.; ROBLOT, F.; CAVE, A. Pseudoinsosine and spinosine, two catecholic berberines from *Annona spinescens*. *Journal Natural Products* 1996, 59: 438-440.

RATH, S.; TRIVELIN, L.A.; IMBRUNITO, T.R.; TOMAZELA, D.M.; JESÚS, M.N.; MARZAL, P.C. Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. *Quim Nova* 2003, 26(4): 550-553.

REVILLA, J. Plantas da Amazônia: oportunidades econômicas e sustentáveis. Manaus: SEBRAE-AM/INPA, 2001. 405p.

REVILLA, J. Plantas úteis da Bacia Amazônica. Manaus: INPA/SEBRAE, 2002a. v.1.

REVILLA, J. Apontamentos para a cosmética amazônica. Manaus: SEBRAEAM/ INPA, 2002b. 532p.

ROCHA, L. G.; ALMEIDA, J. R. G. S.; MACÊDO, R. O.; BARBOSA-FILHO, J. M. A review of natural products with antileishmanial activity. *Phytomedicine*, v. 12, n. 6 – 7, p. 514 - 535, jun. 2005.

RODRIGUES, F. H.; CARDOSO, S. R. A.; GOMES, M. A. B.; BELETTI, M. E.; ROCHA, A.; GUIMARÃES, A. H. B.; CANDELORO, I.; SOUZA, M. A. Effect of imidocarb and levamisole on the experimental infection of BALB/c mice by *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. *Veterinary Parasitology* 2006, 139(1-3): 37-46.

ROSSELL, R.A.; DURAN, R.J.; ROSSEL, O.; RODRIGUES, A.M. Is leishmaniasis ever cured? *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1992, 86(3): 251-253.

SATALAYA, J.R.; ROJAS J.U.; RÍOS, B.; GRANDEZ, M.; RENGIFO, E.; RUIZ, G.; GUTIERREZ, D.; GIMENEZ, A.; FLORES, N. Actividad antiparasitaria de plantas medicinales de la Amazonía Peruana. *Biofarbo* 2009, 17(2): 23-31.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; RAZMILIC, I.; SAUVAIN, M.; MORETTI, C.; MUNOZ, V. Antiprotozoal activity of jatrogrossidione from *Jatropha grossidentata* and jatrophone from *Jatropha isabelli*. *Phytotherapy Research* 1996, 10(5): 375-378.

SHAW, J.J. Taxonomy of the genus *Leishmania*: present and future trends and their applications. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 1994, 89(3): 471-478.

SILVA, D.G. Padronização do cultivo de amastigotas axênicos e intracelulares de *Leishmania* spp. E análise da atividade leishmanicida de chalconas. 2008. 62 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Santa Catarina - SC.

SUFFREDINI, I.B.; SADER, H.S.; GONÇALVES, A.G.; REIS, A.O.; GALES, A.C.; VARELLA, A.D.; YOUNES, R.N. Screening of antibacterial extracts from plants native to the Brazilian Amazon Rain Forest and Atlantic Forest. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2004, 37(3): 379-384.

TEMPONE, A.G.; BORBOREMA, S.E.T.; ANDRADE, H.F.; GUALDA, N.C.A.; YOGI, A.; CRAVALHO, C.S.; BACHIEGA, D.; LUPO, F.N.; BONOTTO, S.V.; FISCHER, D.C.H. Antiprotozoal activity of Brazilian plant extracts from isoquinoline alkaloid-producing families. *Phytomedicine* 2005, 12: 382-390.

UBILLAS, R.; JOLAD, S. D.; BRUENING, R. C.; KERNAN, M. R.; KING, S. R.; SESIN, D. F.; BARRETT, M.; STODDART, C. A.; FLASTER, T.; KUO, J.; AYALA, F.; MEZA, E.; CASTAÑEL, M.; MCMEEKIN, D.; ROZHON, E.; TEMPESTA, M. S.; BARNARD, D.; HUFFMAN, J.; SMEE, D.; SIDWELL, R.; SOIKE, K.; BRAZIER, A.; SAFRIN, S.; ORLANDO, R.; KENNY, P. T. M.; BEROVA, N.; NAKANISHI, K. SP-303, na antiviral oligomeric proanthocyanidin from the latex of *Croton lechleri* (Sangre de Drago). *Phytomedicine*, v. 1, p. 77-106, 1994.

WAECHTER, A.I.; YALUFF, G.; INCHAUSTI, A.; ARIAS, A.R.; HOCQUEMILLER, R.; CAVÉ, A.; FOURNET, A. Leishmanicidal and trypanocidal activities of acetogenins isolated from *Annona glauca*. *Phytotherapy Research* 1998, 12(8): 541-544.

WHO. World Health Organization 2002. The leishmaniasis and Leishmania/HIV co-infections. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs116/en/print.htm>> Acessado em 07/04/2014.

ZIVALLOS-POLLITO, P. A.; TOMAZELLO FILHO, M. Espécies lenhosas do gênero *Croton* L. (Euphorbiaceae) no Estado do Acre. *Revista Brasileira de Biociência*, v. 5, n. 2, p. 177-179, 2007.

8. CRONOGRAMA

Nº	Descrição	2014					2015						
		Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
1	Revisão bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
2	Obtenção e manutenção da cultura <i>L. amazonensis</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
3	Aquisição do látex comercializado de <i>Cróton lechleri</i> .	X	X	X	X								
4	Curva de crescimento de <i>L. amazonensis</i> .				X	X	X		X	X	X		
5	Atividade da amostra frente a <i>L. amazonensis</i> .				X	X	X	X	X	X	X		
6	Análise e tabulação dos dados									X	X	X	X
7	Elaboração do Resumo e Relatório Final (atividade obrigatória) Preparação da Apresentação Final para o Congresso (atividade obrigatória)												X