



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA
TESE DE DOUTORADO

LILIAN CORTEZ SOMBRA VANDESMET

POTENCIAL ANTIPARASITÁRIO E ANTIFÚNGICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Psidium myrsinites DC

Recife

2020

LILIAN CORTEZ SOMBRA VANDESMET

POTENCIAL ANTIPARASITÁRIO E ANTIFÚNGICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE
***Psidium myrsinites* DC**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de doutor.

Area de concentração: Produtos Naturais

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Tereza dos Santos Correia – UFPE

Co-Orientador: Prof. Dr. Irwin Rose De Alencar Menezes – URCA

Recife
2020

Catálogo na Fonte:
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

V242p	Vandesmet, Lilian Cortez Sombra. Potencial antiparasitário e antifúngico do óleo essencial de <i>Psidium myrsinites</i> DC / Lilian Cortez Sombra Vandesmet. – 2020. 101 f.; 30 cm. Orientadora: Maria Tereza dos Santos Correia Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia. Recife, 2020. Inclui referências e anexos. 1. Produtos biológicos. 2. Agente Antimicrobiano. 3. Candidíase. 4. <i>Psidium myrsinites</i> DC. I. Correia, Maria Tereza dos Santos (Orientadora). II. Título. 577.1 CDD (20. ed.) UFPE (CCS 2021-021)
-------	--

LILIAN CORTEZ SOMBRA VANDESMET

POTENCIAL ANTIPARASITÁRIO E ANTIFÚNGICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE
***Psidium myrsinites* DC**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Bioquímica e Fisiologia da Universidade
Federal de Pernambuco, como parte dos
requisitos para obtenção do grau de doutor.

Aprovada em: 03 / 08 / 2020.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Maria Tereza dos Santos Correia - UFPE
(Orientadora)

Prof^a. Dr^a. Márcia Vanusa da Silva - UFPE
(1º Examinador)

Prof^o. Dr^o. Thiago Henrique Napoleão – UFPE
(2º Examinador)

Prof^o. Dr^a. Mariana Gomes Vidal Sampaio – UNICATÓLICA
(3º Examinador)

Prof^o. Dr^a. Kátia Alves Ribeiro – UFPE
(4º Examinador)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me dar forças e mostrar o caminho a seguir em todos os momentos da vida.

Aos meus pais, **Idamélia e Marcelo (in memoriam)** e aos meus avôs, **José, Jadey e Lilian**, pelo carinho, apoio e dedicação imensuráveis em tornar possíveis os meus sonhos e se fazerem sempre presentes em minha vida.

Aos meus irmãos, **Gustavo e Vivianne** e a minha cunhada **Érika**, pela amizade, torcida e por me presentear com os melhores sobrinhos do mundo: **Victória, Guguinha e Catarina**, com os quais me divirto bastante e são luz em minha vida.

Ao meu esposo, **Mavinier** que acima de tudo é um grande amigo, compreendendo minhas ausências, estresses e angústias. Manteve-se sempre ao meu lado, e foi o meu maior incentivador na busca pelo doutorado.

Aos queridos amigos, **Giu e Mel**, que me acolheram em sua casa como a uma filha e aos seus filhos Diogo, Laura e em especial Sofia, que tornaram as estadias em Recife momentos leves e prazerosos.

A minha orientadora Dra. Maria Tereza dos Santos Correia, que apesar da intensa rotina de sua vida acadêmica aceitou me orientar e sempre me apoiou e incentivou, com suas valiosas indicações que fizeram toda a diferença durante essa jornada.

Ao meu co-orientador Dr. Irwin Rose De Alencar Menezes, pela parceria e apoio a mim dedicados durante esse projeto.

A professora Dra. Márcia Vanusa da Silva, por me acolher e direcionar durante a minha busca pelo doutorado e pela grande atenção dispensada que se tornou essencial para que o projeto fosse concluído.

Aos meus amigos, colegas de trabalho e curso, Mariana e Ramon pelas trocas de ideias e ajuda mútua. Juntos conseguimos avançar e ultrapassar todos os obstáculos.

Aos irmãos que a vida me deu, Érica, Izidoro, Amanda e Diogo, por toda torcida, incentivo, amizade e companheirismo.

Aos meus queridos parceiros de pesquisa e amigos, Saulo e Yago, por todo apoio, ajuda, incentivo e por ouvirem horas de lamentação e ao final juntos acharmos uma saída. Gostaria de dizer que vocês foram essenciais para essa conquista, que é nossa.

Aos pesquisadores, Msc. Vandbergue Santos, Dra. Maria celeste e Dra. Tiana Tasca, os quais foram essenciais para o desenvolvimento desta pesquisa.

Agradeço a comunidade AGRODOIA, nas pessoas de Vilmar e Silvante, por compartilharem seu valioso conhecimento e auxiliarem na coleta do material botânico.

Agradeço a banca examinadora, pelas valiosas contribuições para o engrandecimento desta pesquisa.

Por fim, agradeço a Universidade Federal do Pernambuco (UFPE), e aos professores que fazem parte do programa de Pós graduação em Bioquímica e Fisiologia, pelos valiosos ensinamentos.

“É preciso sentir a necessidade da experiência, da observação, ou seja, a necessidade de sair de nós próprios para aceder à escola das coisas, se as queremos conhecer e compreender.” (DURKHEIM, 2007, 186p.).

RESUMO

As doenças infecciosas e parasitárias (DIP) constituem um grupo de enfermidades causadas por bactérias, vírus, parasitos e fungos. Destacam-se nesse grupo, as doenças ocasionadas por protozoários e fungos, como a leishmaniose, doença de Chagas, tricomoníase e candidíase. Essas patologias apresentam-se como um grave problema de saúde pública, além de estarem diretamente associadas a populações de baixa renda, especialmente em países subdesenvolvidos. Tal fato, atrelado à problemática do tratamento dessas doenças, como a resistência aos fármacos, ineficácia terapêutica e toxicidade elevada, ressaltam a necessidade de buscar novas alternativas terapêuticas. Nesse contexto, a busca por produtos naturais com maior eficácia terapêutica é impulsionada, partindo do conhecimento e aplicabilidade empírica empregada há séculos principalmente por comunidades localizadas na Caatinga nordestina. Desta forma, *Psidium myrsinites* DC. destacou-se como objeto deste estudo por ser praticamente inexplorada química e farmacologicamente. Foi avaliada a constituição química de óleo essencial extraído das folhas de *P. myrsinites* (OEPM) através da Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas CG/EM; sua atividade antiparasitária frente *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania braziliensis*, *Leishmania infantum*, e *Trichomonas vaginalis*; antifúngica frente *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*; citotóxica frente fibroblastos murino NCTC-929, VERO, MRC-5 e HMVII e hemolítica frente eritrócitos humanos. Após as análises, o óleo apresentou espatulenol (17.65%), β -cariofileno (16.12%) e viridiflorol (6.74%) como componentes majoritários. Quanto ao potencial antiparasitário, demonstrou relevante atividade frente *L. braziliensis* ($IC_{50} = 52.2 \mu\text{g/mL}$) e *T. vaginalis* ($IC_{50} = 179 \mu\text{g/mL}$). Além disso, o OEPM apresentou atividade antifúngica, com valores de CIM que variaram de 16 a 256 $\mu\text{g/mL}$, bem como 75% de interações sinérgicas com o antimicótico anfotericina B. Em relação ao mecanismo de ação o OEPM demonstrou que sua propriedade antifúngica não está relacionada às vias de biossíntese da parede celular. Quanto aos parâmetros relacionados a citotoxicidade o OEPM apresentou-se citotóxico frente as células de mamíferos, ressaltando a importância de testes *in vivo* para segurança de uso do mesmo. Deste modo o óleo essencial de *P. myrsinites* demonstrou-se um potencial agente terapêutico frente as espécies dos gêneros *Candida*, *Leishmania* e *T. vaginalis*, ressaltando a importância da realização de estudos com este viés analítico utilizando espécies do gênero *Psidium*, as quais são amplamente utilizadas de forma empírica no tratamento de diversas enfermidades.

Palavras-chave: Produtos biológicos. Agente Antimicrobiano. Candidíase. *Psidium myrsinites* DC.

ABSTRACT

Infectious and parasitic diseases (IPD) constitute a group of diseases caused by bacteria, viruses, parasites and fungi. Stand out in this group, the diseases caused by protozoa and fungi, such as leishmaniasis, Chagas disease, trichomoniasis, and candidiasis. These pathologies present themselves as a serious public health problem, besides being directly associated with low-income populations, especially in underdeveloped countries. This fact combined to the problem of treating these diseases, such as drug resistance, therapeutic inefficiency and high toxicity, highlight the need to seek for new therapeutic alternatives. In this context, the search for natural products with greater therapeutic efficacy is driven based on the knowledge and empirical applicability used for centuries mainly by communities located in the northeastern Caatinga. In this way, *Psidium myrsinites* DC. stood out as the object of this study for being practically unexplored chemically and pharmacologically. It was evaluated its chemical composition by GC/MS; its antiparasitic activity against *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania braziliensis*, *Leishmania infantum*, and *Trichomonas vaginalis*; antifungal against *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, and *C. krusei*; cytotoxic against fibroblasts murine NCTC-929, VERO, MRC-5 and HMVII and hemolytic against human erythrocytes. After the analysis, the essential oil obtained from the leaves of *Psidium myrsinites* (PMEO) presented spathulenol (17.65%), β -caryophyllene (16.12%), and viridiflorol (6.74%) as major components. In regards to antiparasitic potential, it showed relevant activity against *L. braziliensis* ($IC_{50} = 52.2 \mu\text{g/mL}$) and *T. vaginalis* ($IC_{50} = 179 \mu\text{g/mL}$). In addition, the PMEO showed excellent antifungal activity, with MIC values ranging from 16 to 256 $\mu\text{g/mL}$, as well as 75% of synergistic interactions with the antimycotic amphotericin B. Regarding the mechanism of action, the PMEO demonstrated that its antifungal property is not related to the cell wall biosynthesis pathways. Regarding the parameters related to cytotoxicity, the PMEO was cytotoxic to mammalian cells, pointing the importance of in vivo tests for its safe use. Thus, the essential oil of *P. myrsinites* proved to be a potential therapeutic agent against species of the genera *Candida*, *Leishmania* and *T. vaginalis*, highlighting the importance of carrying out studies with this analytical bias using species of the genus *Psidium*, which are widely used empirically in the treatment of various diseases.

Keywords: Biological Products. Antimicrobial Agents. Candidiasis. *Psidium myrsinites* DC.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Quantificação do conteúdo de ergosterol celular de *Candida* spp. após exposição a diferentes concentrações do OEPM. A leitura foi realizada a 295 nm para detectar a concentração de ergosterol, usando AMB como controle negativo e FLC como controle positivo para o conteúdo alterado de ergosterol. Resultados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão.....55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Constituintes majoritários do óleo essencial de <i>Psidium myrsinites</i> DC.....	50
Tabela 2 Atividade antifúngica do OE de <i>Psidium myrsinites</i> (Araçá de veado) frente espécies de <i>Candida</i> spp.....	51
Tabela 3 – Efeito do óleo essencial de <i>Psidium myrsinites</i> (Araçá de veado) em <i>Candida</i> spp. na biossíntese da parede celular (sorbitol).....	52
Tabela 4 – Efeito de diferentes concentrações de ergosterol exógeno na CIM do óleo essencial de <i>Psidium myrsinites</i> (Araçá de veado) e anfotericina B contra <i>Candida</i> spp.....	53
Tabela 5 – Interação farmacológica entre o óleo essencial de <i>Psidium myrsinites</i> e drogas antifúngicas frente células planctônicas de <i>Candida</i> spp.....	54
TABLE 1 - Leishmanicidal and trypanocidal activity of essential oil of <i>Psidium myrsinites</i>	70
TABLE 2 - Positive control miltefosine against <i>L. braziliensis</i> and <i>L. infantum</i> (µM).....	71
TABLE 3 - Positive control benzonidazole against <i>T. cruzi</i> (µM).....	72
TABELA 1 - Atividade anti- <i>T. vaginalis</i> e citotóxica do óleo essencial de <i>P. myrsinites</i>	81

LISTA DE ABREVIATURAS

AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
AGRODOIA	Associação dos Agricultores e Agricultoras do Sítio dos Paus Dóias
CFM/MFC	Concentração Fungicida Mínima
CG/EM	cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas
CI	Candidíase invasiva
CIM/MIC	Concentração Inibitória Mínima
DIP	Doenças infecciosas e parasitárias.
DTN	Doenças Tropicais Negligenciadas
IST	Infecção sexualmente transmissível
LC	Leishmaniose cutânea
LCM	Leishmaniose cutâneomucosa
LV	Leishmaniose visceral
OD-EO	<i>Ocotea dispersa</i>
OE/EO	Óleo essencial/essencial oil.
OEPM/PMEO	Óleo essencial de <i>Psidium myrsinites</i> DC./ <i>Psidium myrsinites</i> DC essential oil.
OO-EO	<i>Ocotea odorifera</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> / Reação em cadeia da polimerase
SMF	Sistema mononuclear fagocitário (SMF)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	OBJETIVOS.....	15
2.1	OBJETIVO GERAL.....	15
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICO.....	15
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3.1	LEISHMANIOSE.....	16
3.2	DOENÇA DE CHAGAS.....	18
3.3	TRICOMONÍASE.....	20
3.4	CANDIDÍASE.....	23
3.5	OLÉOS ESSENCIAIS.....	25
3.5.1	Óleos Essenciais com Atividade Leishmanicida.....	26
3.5.2	Óleos Essenciais com Atividade Tripanocida.....	28
3.5.3	Óleos Essenciais com Atividade Anti- <i>Trichomonas</i>	29
3.5.4	Óleos Essenciais com Atividade Antifúngica.....	30
3.6	A FAMÍLIA MYRTACEAE.....	32
3.6.1	O gênero <i>Psidium</i>	33
4	RESULTADOS.....	37
4.1	CAPÍTULO 1. ARTIGO: PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA PROPRIEDADE ANTIFÚNGICA, MODULADORA E MECANISMO DE AÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>PSIDIUM MYRSINITES</i> DC.....	37
4.2	CAPÍTULO 2. ARTIGO: LEISHMANICIDAL AND TRYPANOCIDAL POTENTIAL OF THE ESSENTIAL OIL OF <i>PSIDIUM MYRSINITES</i> DC.....	64
4.3	CAPÍTULO 3. ARTIGO: POTENCIAL TRICOMONICIDA E CITOTÓXICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>PSIDIUM MYRSINITES</i> DC.....	73
5	CONCLUSÃO.....	82
	REFERÊNCIAS.....	83
	APÊNDICE A - ARTIGO: CHEMICAL COMPOSITION, ANTIOXIDANT AND ANTIPROTOZOAL ACTIVITY OF EUGENIA GRACILLIMA KIAERSK. LEAVES ESSENTIAL OIL.....	100
	APÊNDICE B - AUTORIZAÇÃO DE COLETA BÔTANICA, ISNTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE – ICMBIO.....	101

1 INTRODUÇÃO

As doenças infecciosas e parasitárias (DIP), são um grupo de patologias ocasionadas por bactérias, vírus, parasitos e fungos. As DIP têm grande importância para a saúde pública por estarem diretamente associadas à pobreza e a condições de vida inadequadas, uma vez que o padrão de distribuição espacial de sua ocorrência está diretamente relacionando aos indicadores epidemiológicos de baixa qualidade de vida das populações (WALDMAN, 2016; BORGES, 2017; WHO, 2017).

Dentro desse contexto, destacam-se as infecções provocadas por protozoários, as quais são consideradas um problema mundial de saúde pública, especialmente em países subdesenvolvidos (KONDRASHIN et al., 2011; WALDRON et al., 2011). Como exemplos, podem ser citadas a Doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* e a Leishmaniose, ocasionada por protozoários do gênero *Leishmania*. Ambas são classificadas como Doenças Tropicais Negligenciadas (DTN) constituindo um problema de saúde pública em mais de 88 países, apresentando registro anual de 1,5 a 2 milhões de casos, com cerca de 30.000 mortes por ano, cujos tratamentos convencionais são limitados, inseguros e têm uma série de efeitos colaterais, além de contribuírem para a resistência do parasito ao tratamento (ALIZADEH et al., 2008; FERREIRA, 2012; MITROPOULOS et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2009).

Nesse mesmo sentido, a tricomoníase, causada pelo protozoário *Trichomonas vaginalis*, é a infecção sexualmente transmissível (IST) de origem não viral mais comum no mundo, com estimativas de incidência de cerca de 156 milhões de novos casos por ano (ROWLEY et al., 2019). A aparição de isolados resistentes ao metronidazol e as complicações associadas à tricomoníase, como a aquisição e transmissão do HIV, distúrbios na gestação e associação com câncer cervical e de próstata, também a tornam um grave problema de saúde pública (MENEZES et al., 2016; SCHWEBKE; BARRIENTES, 2006; VAN DER POL et al., 2008).

As infecções fúngicas como a candidíase invasiva (CI), ocasionada por fungos do gênero *Candida* demonstram elevadas taxas de mortalidade que permanecem inalteradas e elevadas há anos. A CI é uma das principais causas de mortalidade em todo o mundo, tornando-se, portanto, um problema de saúde pública persistente. Essa problemática está ligada a fatores como: internações prolongadas, uso de antibióticos de largo espectro, emprego de cateteres centrais, além do desenvolvimento de resistência aos antimicóticos indicados para o tratamento da candidíase (HOUSSAINI et al., 2019; MELO et al., 2019).

Nesses contextos, óleos essenciais ou substâncias isoladas de plantas medicinais são importantes alternativas terapêuticas para o controle de patógenos causadores de infecções como candidíase, tricomoniase, leishmaniose e doença de Chagas. Em regiões que abrangem a Caatinga nordestina, espécies vegetais são amplamente utilizadas pelas comunidades no tratamento de suas enfermidades, com 90% da população economicamente carente utilizando a medicina tradicional como única ou principal forma de cura de seus problemas de saúde. Devido as espécies vegetais conterem metabólitos e óleos essenciais (OE) reconhecidos empiricamente como terapêuticos durante séculos (LORENZI; MATOS, 2002; DUARTE, 2006; GOMES et al., 2008; MARINHO et al., 2019).

A família Myrtaceae destaca-se e é reconhecida por sua ampla diversidade e importância econômica, com notáveis gêneros com perfil madeireiro e óleos essenciais, destacando-se: *Eucalyptus*, *Corymbia*, *Psidium* e *Eugenia*. As espécies do gênero *Psidium*, em particular, são popularmente conhecidas como araçás e apresentam aplicação na medicina popular para o tratamento de enfermidades como diarreias, dores de barriga e afecções da garganta (COSTA, 2009; EMBRAPA, 2006; GIARETTA et al., 2016). Devido à presença de estudos com comprovada atividade antifúngica, antibacteriana e antiparasitária em diferentes espécies do gênero *Psidium*, a espécie *Psidium myrsinites* DC. foi selecionada como objeto desta pesquisa (DURÃES et al., 2017; PASTOR et al., 2015).

Psidium myrsinites DC. destaca-se como objeto de estudo por ser praticamente inexplorada do ponto de vista químico e farmacológico. Conhecida popularmente como “araçá-de-veado” ou “goiabinha” é uma frutífera que apresenta-se como árvore, sendo geograficamente bem distribuída pelo Nordeste brasileiro e nativa da região de Caatinga (FRANZON et al., 2009). Do ponto de vista medicinal é vastamente utilizada por comunidades do sertão no tratamento de desordens intestinais como dores de barriga, diarreia e infecções, além de atuar no combate a inflamações e ajudar na cicatrização de ferimentos. Tais usos indicam que os compostos bioativos presentes na planta demonstram potencial para prospecção de novas moléculas para o tratamento da saúde humana (RIBEIRO et al., 2014).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial antifúngico e antiparasitário do óleo essencial obtido a partir das folhas de *Psidium myrsinites* DC.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Extrair e determinar a composição química do óleo essencial das folhas da espécie *Psidium myrsinites* DC.;
- Avaliar a ação antifúngica do óleo frente às espécies *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*;
- Verificar o efeito modulador da atividade antifúngica da Anfotericina B e Fluconazol exercido pelo óleo. frente às espécies *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*;
- Avaliar o efeito do óleo essencial de *Psidium myrsinites* DC. frente ao ergosterol presente na membrana fúngica;
- Avaliar a atividade tripanocida do óleo contra a forma epimastigota de *Trypanosoma cruzi*;
- Avaliar a atividade leishmanicida do óleo contra promastigotas/amastigotas de *Leishmania braziliensis* e *Leishmania infantum*;
- Avaliar a atividade anti-*Trichomonas vaginalis* do óleo
- Determinar a citotoxicidade do óleo essencial de *Psidium myrsinites* através de ensaios de citotoxicidade frente fibroblastos murinos NCTC-929, VERO, MRC-5 e HMVII;
- Avaliar a atividade hemolítica do óleo frente eritrócitos humanos.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 LEISHMANIOSE

A Leishmaniose é uma doença parasitária crônica das regiões tropicais e subtropicais causada por mais de 20 espécies de protozoários do gênero *Leishmania*, sendo transmitida para os mamíferos, incluindo seres humanos, por meio da picada de flebotomíneos (CDC, 2013; AL-KAMEL, 2017; WHO, 2018). É classificada como uma DTN constituindo um problema de saúde pública em mais de 88 países de cinco continentes, apresentando registro anual de 1,5 a 2 milhões de casos, com cerca de 30.000 mortes por ano e 350 milhões de pessoas residindo em zonas de risco para a infecção (DASSONI et al., 2013; KAMHAWI, 2017).

Até onde se tem conhecimento, os vetores naturais de *Leishmania* são insetos hematófagos pertencentes à família Psychodidae, subfamília Phlebotominae, onde se encontram os dois gêneros principais, *Lutzomyia* e *Phlebotomus* (SACKS; KAMHAWI, 2001). Os ciclos de transmissão podem ser do tipo silvestre, onde não há interferência humana, ou doméstico, onde homens e cães são os principais reservatórios. Outra forma são as transmissões não vetorais, a exemplos de acidentes em laboratório, contaminação por órgãos ou sangue infectado e por via transplacentária, são raras (HERWALDT, 2001; MURRAY et al., 2005; FEASEY et al., 2009).

A *Leishmania* é um protozoário flagelado (Euglenozoa: Kinetoplastida: Trypanosomatidae) que possui ciclo de vida heteroxênico, circulando entre um hospedeiro vertebrado (mamíferos) e um hospedeiro invertebrado flebotomíneo (Díptera: Psychodidae). O inseto vetor, popularmente conhecido como “mosquito-palha” ou “birigui”, ingere células infectadas com as formas amastigotas durante o repasto sanguíneo. Estas serão lançadas no trato intestinal do inseto, diferenciando-se em formas promastigotas procíclicas que iniciam processo de multiplicação intenso e permanecem aderidas às células epiteliais (SARAIVA et al., 2005).

A próxima etapa consiste na diferenciação das formas procíclicas em promastigotas metacíclicas infectantes e subsequente deslocamento em direção à probóscide do inseto para que possam ser inoculadas no mamífero hospedeiro. As formas promastigotas serão agora fagocitadas pelas células do sistema mononuclear fagocitário (SMF) e irão diferenciar-se nas formas amastigotas intracelulares. Estas se multiplicam por sucessivas divisões binárias até que, por sua quantidade e pela destruição citoplasmática produzida na célula hospedeira, rompe-se

a membrana desta e os parasitos são liberados no meio intercelular para serem fagocitados por outros macrófagos. O ciclo é reiniciado quando células infectadas são novamente ingeridas pelo flebotomíneos durante o repasto sanguíneo (REY, 2008; CDC, 2013).

Com o objetivo de manter a infecção em um estado crônico, os protozoários do gênero *Leishmania* desenvolveram diversos artifícios para subverter os mecanismos de ativação da resposta imune do organismo. Entre estas estratégias cabem-se citar o remodelamento dos fagossomos das células hospedeiras, alterações nas vias de receptores *toll-like* (TLR), modulação de citocinas e quimiocinas, modificação na resposta das células T e prevenção da geração de agentes antimicrobianos, como o óxido nítrico e radicais livres de oxigênio (OLIVIER; GREGORY; FORGET, 2005). Dessa forma, a batalha entre o estabelecimento da doença e a erradicação dos parasitas será decidida pela capacidade da *Leishmania* de evadir as defesas do organismo e da ação coordenada dos diversos elementos da imunidade inata e adaptativa do hospedeiro (GUPTA; OGHUMU; SATOSKAR, 2013).

Dependendo da espécie de *Leishmania*, as infecções humanas podem se apresentar desde quadros cutâneos localizados e destruição de membranas mucosas, tais como a leishmaniose cutânea (LC) e cutâneomucosa (LCM), até doenças sistêmicas generalizadas com progressão fatal, como é o caso da leishmaniose visceral (LV) ou calazar (SACKS; KAMHAWI, 2001).

As manifestações clínicas da LC apresentam-se sob a forma de placas ou pápulas encrustadas e lesões ulcerativas pontuais, localizadas principalmente em regiões onde a pele está mais exposta, como braços e pernas. A LCM é considerada uma variação imunopatogênica da forma cutânea decorrente da infecção persistente por *L. braziliensis* e se caracteriza por destruição do septo nasal e palato, trazendo como consequências casos de desfiguração facial e morte por comprometimento das vias aéreas. A forma visceral da doença é causada predominantemente por *L. donovani* ou *L. infantum/L. chagasi* e se manifesta com quadros de febre, fraqueza, perda de peso, hepatoesplenomegalia, pancitopenia e hipergamaglobulinemia (FEASEY 2009; WEISS et al., 2009).

O padrão ouro para o diagnóstico da leishmaniose é dado pela demonstração dos parasitos em esfregaços de biópsias e aspirados tissulares devido sua alta especificidade. A análise microscópica é a mais utilizada pela falta de técnicas mais sofisticadas nos níveis de atenção primária, secundária e terciária em regiões endêmicas. A utilização de cultura celular e PCR (*Polymerase Chain Reaction- Reação em cadeia da Polimerase*) conseguem identificar o organismo infectante em nível de espécie, entretanto, por serem dispendiosas, são metodologias restritas aos grandes laboratórios e centros de pesquisa (REITHINGER et al., 2007). Além

disso, a atenção quanto ao exame clínico e investigar se o paciente reside ou viajou para áreas endêmicas são medidas que auxiliam no diagnóstico (MEIRELES et al., 2017).

No presente momento, não existe nenhuma medicação perfeitamente segura e eficaz para o tratamento das leishmanioses. Desde sua introdução em 1940, os fármacos de primeira escolha para o tratamento da doença são os antimoniais pentavalentes, tais como o antimoniato de meglumine (Glucantime®) e estibogluconato de sódio (Pentostam®). Entretanto, as diversas formas clínicas da doença, o surgimento de espécies resistentes, os longos períodos de administração (acima de 30 dias) e a alta toxicidade têm limitado seus benefícios (SUNDAR; GOYAL, 2007; IGBINEWEKA et al., 2012; SILVA et al., 2018).

A segunda linha de escolha para o tratamento das leishmanioses é composta pela anfotericina B, suas formulações lipossomais, pentamidinas e paramomicina, utilizadas pelos pacientes que não responderam bem à terapêutica antimonial, ou que possuem restrições quanto seu uso. Todavia, as mesmas apresentam diversos efeitos adversos, à exemplos da supressão da medula óssea, toxicidade renal, distúrbios no metabolismo da glicose, dor no local da injeção, elevação das transaminases renais e ototoxicidade (LINDOSO et al., 2012; AKBARI; ORYAN; HATAM, 2017; SUNDAR; CHAKRAVARTY, 2015).

O caráter insatisfatório das drogas atualmente em uso e o fato de algumas estirpes serem resistentes a esses produtos tem levado às pesquisas com novos agentes terapêuticos, tais como a miltefosina, edelfosina e ilmofofosina. Estes análogos lisofosfolipídicos, desenvolvidos inicialmente para o tratamento de câncer, têm demonstrado boa eficácia e tolerabilidade para a terapia oral das leishmanioses. Contudo, seus efeitos teratogênicos e longos períodos de meia-vida são limitações que podem promover resistência nas espécies de *Leishmania* (DORLO et al., 2014).

Desta forma a busca por uma vacina é sustentada pelo alto custo e toxicidade dos fármacos convencionais, e pela evidência de que a maioria das pessoas que tiveram leishmaniose, ou foram assintomáticos para a doença, são resistentes às infecções clínicas subsequentes. Apesar disso, os substanciais esforços na produção de uma vacina permanecem infrutíferos (REITHINGER et al., 2007; DIDWANIA et al., 2017; GHORBANI; FARHOUDI, 2018).

3.2 DOENÇA DE CHAGAS

A doença de Chagas é uma enfermidade ocasionada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, cuja descoberta foi feita em 1909 pelo pesquisador brasileiro Carlos Chaga. É uma

infecção sistêmica crônica que atinge cerca de 18 milhões de pessoas na América Latina e configura-se como uma das dezoito doenças tropicais negligenciadas. Atualmente os países Argentina, Brasil e México são os três países Latinos com maior número de pessoas infectadas. Apesar de ser uma infecção endêmica na América Latina, e prevalente em países subdesenvolvidos os padrões de migração a tornaram globalizada. Dados epidemiológicos recentes atribuem o deslocamento de pessoas da América Latina para outras regiões do mundo como sendo um dos fatores disseminadores da doença em regiões não endêmicas e sem vetores naturais, como os países da Europa, Estados Unidos, Japão e Austrália (ECHEVERRIA; MORILLO, 2019; PINHEIRO et al., 2017).

Os principais meios de infecção por *T. cruzi* são o vetorial, por ingestão oral, transfusão sanguínea, por transplantes de órgãos e acidentes laboratoriais. No entanto a principal forma de transmissão nos mamíferos se dá por um vetor invertebrado, os triatomíneos, conhecidos no Brasil como barbeiros, onde a principal espécie é o *Triatoma infestans*. O *Trypanosoma cruzi* possui ciclo de vida complexo, pois requer passagem obrigatória por um hospedeiro invertebrado, o inseto vetor triatomíneo, e um hospedeiro vertebrado. Durante seu ciclo de vida, o parasito apresenta basicamente três formas evolutivas: 1- epimastigota, forma replicativa não infectante, presente no intestino superior do inseto; 2- tripomastigota, forma não replicativa infectante, presente na porção posterior do intestino do inseto; 3- amastigota, forma replicativa intracelular. As formas são classificadas e diferenciadas a partir da posição do cinetoplasto em relação ao núcleo, flagelo e morfologia (DE ARAÚJO-JORGE; DE CASTRO, 2000; ABE et al., 2002; FERRAZ et al., 2007; ROMERO; MORILLA, 2010; BONNEY; ENGMAN, 2010; ANGHEBEN et al., 2015).

O ciclo de vida no inseto tem início quando durante o repasto sanguíneo no vertebrado infectado, o vetor ingere os tripomastigotas sanguíneos que, no intestino do vetor, serão transformados na forma epimastigota (exclusiva do hospedeiro invertebrado) onde se prolifera e, novamente, transforma-se na forma tripomastigota metacíclica que será eliminado com as fezes durante o repasto sanguíneo, podendo penetrar no organismo do hospedeiro vertebrado por meio da picada ou mucosas. Estas formas evolutivas ao penetrarem no hospedeiro invadem os fagócitos sendo capazes de escapar de seus mecanismos de destruição e se transformarem em amastigotas. Após a multiplicação os amastigotas diferenciam-se em tripomastigotas. Posteriormente, estes são liberados por ruptura celular e alcançam o sistema circulatório, passando então a ser denominados tripomastigotas sanguíneos potencialmente infectantes para qualquer célula nucleada ou novamente serem ingeridas por outro inseto vetor reiniciando o ciclo (DUTRA et al., 2006; LANA; MACHADO, 2010).

Outras formas de transmissão vêm se destacando cada vez mais como por via oral e/ou sexual, sendo a via oral uma forma já bem estabelecida devido à contaminação de alimentos com as fezes dos triatomíneos, ou por trituração do inseto infectado durante a preparação de alimentos, o que facilitaria a penetração através das mucosas e levaria à infecção. Já a transmissão sexual em seres humanos foi recentemente elucidada, por grupos de pesquisadores (ALMEIDA et al., 2019; GOMES et al., 2019), que destacaram a possibilidade deste tipo de transmissão, após aplicação de sêmen humano de doadores infectados em roedores por via intraperitoneal. A partir da necropsia destes animais, a descoberta de ninhos de amastigotas no tecido cardíaco, muscular e da região geniturinária dos camundongos confirmaram a possibilidade de contrair a doença por via sexual. (BRASIL, 2015; ALEXANDRE et al., 2014; ALMEIDA et al., 2019; GOMES et al., 2019).

Após a contaminação, a doença de Chagas pode ser classificada em duas fases: aguda e crônica, as quais levaram em conta aspectos como, o tempo da infecção e características do soro do vertebrado infectado. A fase aguda pode ser observada por cerca de 30 a 90 dias, tendo como característica marcante desta fase o grande número de parasitas presentes na circulação, enquanto a fase crônica é caracterizada por uma baixa parasitemia e por um elevado número de imunoglobulinas circulantes. Quanto à sintomatologia, a infecção aguda tende a ser uma doença febril leve, onde aproximadamente apenas 30% dos acometidos irão evoluir para a doença crônica. A doença de Chagas crônica afeta principalmente o coração (causando cardiomiopatia e disritmias) ou o intestino (causando mega-esôfago ou megacólon), podendo ocasionar graves problemas cardíacos e sequelas neurológicas (TEIXEIRA et al., 2006; FERRAZ et al., 2007).

Os aspectos de saúde associadas a esta doença, como a redução da produtividade e mortalidade, têm um fardo socioeconômico significativo e um custo médio anual de 7,2 bilhões de dólares por ano. Além da terapêutica apresentar-se restrita aos medicamentos, Nifurtimox e benznidazol, junto ao fato da alta toxicidade e efeito limitado dos mesmos, a produção de novos fármacos é urgentemente necessária (DUSCHAK; COUTO, 2007; MCKERROW et al., 2009; URBINA, 2009; SOEIRO et al., 2009; CONNERS et al., 2016).

3.3 TRICOMONÍASE

A tricomoníase é uma infecção sexualmente transmissível (IST), causada pelo parasito *Trichomonas vaginalis*. *T. vaginalis*, é um protozoário pertencente ao filo Sarcomastigophora, à classe Zoomastigophorea da ordem Trichomonadida e família Trichomonadidae. Trata-se de

um parasito monoxênico, flagelado, unicelular, o qual foi inicialmente descrito em 1836 pelo médico europeu Alfred Donné. Atualmente sabe-se que três espécies de *Trichomonas* podem ser encontradas parasitando humanos: *T. vaginalis*, *T. tenax* e *T. hominis*. No entanto, apenas a espécie *T. vaginalis* é considerada patogênica e infectante para seres humanos (BARROS, 2002; SCHWEBKE, 2002; JESUS; ZORATI; MELLO, 2009; COLEMAN et al., 2013).

Quanto aos aspectos morfológicos, *T. vaginalis* possui um comprimento de 10-20 µm e 2-14 µm de largura, é uma célula tipicamente elipsóide, piriforme ou oval em preparações fixadas e coradas, com quatro flagelos anteriores desiguais em tamanho e uma membrana ondulante que se adere ao corpo pela parte posterior. No entanto sua forma e presença de flagelos podem variar de acordo com sua localização e condições ambientais, por exemplo, quando encontrado aderido ao epitélio vaginal a sua aparência assume uma forma mais amebiana, ou quando sob condições de crescimento não favoráveis, o parasito pode arredondar-se e interiorizar seus flagelos. É válido ressaltar que tal parasita não possui a forma cística, somente a trofozoítica (MALLA et al., 2001; NEVES, 2004; FEITOSA; CONSULARO, 2005).

O protozoário *T. vaginalis*, é capaz de fagocitar bactérias, células epiteliais vaginais e eritrócitos. Utiliza carboidratos como sua principal fonte energética, entretanto, sob condições em que tais compostos são limitados, a utilização de aminoácidos torna-se vital. Diferentemente de grande parte dos eucariotos, estes não possuem mitocôndrias, mas sim hidrogenossomos, estruturas em forma de grânulos densos importantes para o metabolismo de carboidratos e geração de energia em forma de ATP. O parasita é capaz de manter o glicogênio como reserva energética, sendo um importante mecanismo de sobrevivência, uma vez que o ambiente vaginal é constantemente modificado por variações de pH, hormônios e menstruação (DE CARLI, 2000; BRAVO et al., 2010; KISSINGER, 2015).

Este parasita é altamente específico quanto a sua localização no hospedeiro, sendo capaz de produzir infecção somente no sistema urogenital humano tanto de homens como de mulheres. No entanto, existe uma significativa discrepância entre os sexos acometidos, uma vez que 92% dos casos relatados são do sexo feminino. Quanto a sua forma de transmissão, geralmente ocorre através de relações sexuais, apesar de outros mecanismos de proliferação também estarem envolvidos, como propagação através de fômites e transmissão vertical através do parto normal, os quais explicam a existência da infecção em recém-nascidos e indivíduos com ausência de atividade sexual (NEVES, 2004; MACIEL et al., 2004; ALMEIDA et al., 2010; COLEMAN et al., 2013).

A Tricomoniase é considerada a IST não viral mais comum. Estudos demonstraram que, embora em diferentes graus de incidência, a patologia está presente em todas as regiões do

mundo. Apresentando estimativas de incidência de cerca de 170 milhões de novos casos por ano, tal patologia caracteriza um sério problema de saúde, sendo importante salientar que a tricomoníase não é uma doença de notificação compulsória, demonstrando que os dados coletados são subestimados. Deste modo é preocupante o crescente número de casos anuais, que ultrapassam a soma dos casos de outras ISTs não virais, como sífilis, gonorréia e infecção por *Chlamydia* (WHO, 2012; POOLE; MCCLELLAND, 2013).

A alta taxa de incidência junto a grande variabilidade de manifestações clínicas, desde a apresentação assintomática até um estado de severa inflamação, traz à tona um grave problema de saúde pública. Aproximadamente 50% das mulheres infectadas, são assintomáticas, têm pH e microbiota vaginal normais, entretanto um terço dessas pacientes assintomáticas tornam-se sintomática em um período de seis meses. A tricomoníase trata-se de uma doença da idade reprodutiva e raramente as manifestações clínicas da infecção são observadas antes da menarca ou após a menopausa (PETRIN et al., 1998; LEHKER; ALDERETE, 2000; BARRIO et al., 2002).

As complicações decorrentes da tricomoníase geram um alto custo para o sistema público, ressaltando que esta patologia afeta especialmente populações de baixa renda, baixa escolaridade, geralmente desinformadas sobre ISTs. São exemplos de consequências da tricomoníase, a predisposição ao câncer cervical e ao câncer de próstata, assim como as consequências para a saúde reprodutiva como infertilidade e, principalmente, a influência exercida sobre a circulação do vírus HIV na população (VAN DER POL et al., 2008; SUTCLIFFE et al., 2012; SILVER et al., 2014).

O tratamento padrão para tricomoníase é constituído por fármacos da classe dos nitroimidazóis: metronidazol e tinidazol, sendo o primeiro o fármaco de escolha para esta parasitose. No entanto, estudos recentes detectaram uma crescente gama de cepas resistentes ao metronidazol, aumentando o número de casos refratários. Além disto os efeitos colaterais dessa classe de fármacos são diversos incluindo, náusea, diarreia e manifestações alérgicas. Ainda foram relatados efeitos teratogênicos e carcinogênicos destes fármacos, mas não há ainda evidências clínicas de que isto ocorra de fato de forma significativa. Assim sendo, a descoberta de um agente antiprotozoário eficaz em cepas de *T. vaginalis* resistentes ou não ao metronidazol pode minimizar a problemática desta patologia. Com este viés a utilização de medicamentos fitoterápicos tem aumentado nos últimos anos, atualmente, muitas plantas são usadas para tratamentos de diversas doenças. Estudos apontam que as mesmas podem ser tão ou mais eficazes que as drogas sintéticas, no tratamento de variadas patologias (SNIPES et al., 2000;

SCHWEBKE; BARRIENTES, 2006; KIRKCALDY et al., 2012; OZCELIK et al., 2018; OZPINAR; OZPINAR; ERUYGUR, 2019).

3.4 CANDIDÍASE

As candidíases são um grupo de doenças ocasionadas por algumas espécies do gênero fúngico *Candida*, constituído por microrganismos oportunistas encontrados na forma de leveduras com células globosas, ovaladas, alongadas ou micélio com suas células em forma de pseudohifas, podendo também formar hifas verdadeiras, a depender das variações de temperatura e pH do ambiente em que se encontra. Os fungos desse gênero são comumente encontrados como parte da microbiota normal humana no trato gastrointestinal, respiratório, reprodutor e na pele (TRABULSI; ALTERTHUM, 2015).

Apesar deste gênero fúngico fazer parte da microbiota normal, em algumas situações de alteração no ambiente hospedeiro, como sistema imune debilitado, algumas espécies de *Candida* transitam de uma fase comensal para uma fase patogênica, causando as candidíases. Essas podem ser classificadas em superficiais, cutâneas, subcutâneas e sistêmicas de acordo com os tecidos e órgãos atingidos, sendo essas infecções mais comum em pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), neonatos imunocompetentes, pessoas do sexo feminino, pacientes neoplásicos ou em indivíduos transplantados fazendo uso de imunossupressores (PFALLER; DIEKEMA, 2007; PAPON et al., 2013; PUIG-ASENSIO et al., 2015; KONATÉ et al., 2017; CHEN et al., 2019).

A espécie que causa mais frequentemente essa enfermidade é a *Candida albicans*, entretanto, existem outras espécies não-albicans que também causam candidíase e são de interesse clínico, como *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei* (FERNÁNDEZ-RUIZ et al., 2015; MIRANDA-CADENA et al., 2018; SADEGHI et al., 2018; RYAN et al., 2019). Segundo Siqueira Jr e Sen (2007), as espécies de *Candida* possuem os seguintes mecanismos de patogenicidade: (1) adaptabilidade a uma variedade de condições ambientais, (2) adesão a uma variedade de superfícies, (3) produção de enzimas hidrolíticas, (4) transição morfológica, (5) formação de biofilme, e (6) evasão e imunomodulação da defesa do hospedeiro.

Ocasionalmente, a candidíase pode progredir para uma infecção mais grave denominada de candidemia, candidíase hematogênica ou Candidíase Invasiva (CI) e que, geralmente, leva os pacientes a óbito, em vista da taxa de mortalidade alta. Essa complicação possui alguns

fatores que predispõem à sua ocorrência, entre eles estão as internações prolongadas, uso de antibióticos de largo espectro, emprego de cateteres centrais e cirurgias envolvendo vísceras ocas, além do desenvolvimento de resistência aos antimicóticos usados no tratamento de candidíase (PAPPAS, 2006; QUINDÓS, 2014; MOTTA et al., 2017; LAZO; HERNÁNDEZ; MÉNDEZ, 2018; DE MELO et al., 2019).

Nos últimos anos, a incidência de candidemia tem aumentado em taxas significativas em hospitais terciários (MARRA et al. 2011; DA COSTA et al., 2014; DE MELO et al., 2019). Segundo o estudo de Caggiano e colaboradores (2015) em um hospital universitário italiano, na qual os casos de candidemia apresentam incidência de 3,06/10000 admissões, os casos foram causados 44.2% por *C. albicans* e 55.8% por espécies não-*albicans*.

Apesar de *C. albicans* ser a de maior frequência como causa de candidemia, as espécies não-*albicans*, nos últimos anos, se apresentam emergentes. Além disso, as mesmas apresentam ampla distribuição geográfica, sendo *C. parapsilosis* a mais frequente causa de candidemia na Austrália, América Latina e países mediterrâneos da África, Ásia e Europa; enquanto *C. glabrata* é mais comum nos EUA, na Europa Central e do Norte (QUINDÓS, 2014).

No estudo de Canela e colaboradores (2018) no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, os casos de candidemia representam 1,52 episódios a cada 1000 admissões, sendo causado predominantemente por *C. albicans* (44%), seguido de *C. glabrata* (19%), *C. tropicalis* (19%), *C. parapsilosis* (14%) e *C. orthopsilosis* (4%), demonstrando que a incidência de candidemia permanece alta no Brasil. Neste mesmo estudo, ainda é cabível citar a alta taxa de mortalidade bruta de 52%, em que a taxa de mortalidade foi maior em pacientes infectados por *C. glabrata*.

Um fato preocupante são as taxas de mortalidade dessa complicação que permanecem inalteradas e elevadas há anos. Assim sendo, a CI é uma das principais causas de mortalidade em todo o mundo, tornando-se, portanto, um problema de saúde pública persistente. Somando-se a isso, alguns estudos vêm demonstrando que as espécies de *Candida* tem uma grande capacidade de desenvolver resistência aos fármacos atualmente indicados e utilizados na clínica médica para o tratamento dessa enfermidade (PFALLER; DIEKEMA, 2007; MORACE; PERDONI; BORGHI, 2014; QUINDÓS, 2014; NEVES-JUNIOR et al., 2015; SADEGHI et al., 2018; CHEW et al., 2019; EL-HOUSSAINI et al., 2019).

Para o tratamento dessa moléstia, os antifúngicos utilizados incluem as classes dos poliênicos, triazólicos e equinocandinas. Os poliênicos são fármacos fungicidas, representados pela anfotericina B, capazes de interagir com o ergosterol na membrana celular e gerar poros, causando a perda de conteúdo citoplasmático. Já os azóis possuem o mecanismo de ação de

inibir a biossíntese do ergosterol, tornando-se assim uma droga fungicida e fungistática, em que os principais fármacos utilizados são o fluconazol e itraconazol. Os fármacos pertencentes a classe das equinocandinas tem como mecanismo de ação a inibição não competitiva da enzima β -1,3-glicano sintase, que catalisa a polimerização da glicose-uridina-difosfato em β -1,3-glicano, causando o extravasamento do material celular, sendo portanto fármacos fungicidas (SILVA et al., 2012; MATTHAIYOU; CHRISTODOULOPOULOU; DIMOLOPOULOS, 2015).

A farmacoterapia das infecções fúngicas é bastante limitada devido à dificuldade de se encontrar um fármaco que seja eficaz apenas para as células fúngicas eucarióticas sem causar toxicidade para as células do hospedeiro. Além disso, há o desenvolvimento de resistência aos mesmos, na qual o mecanismo de resistência pode ser inerente ou adquirido, ou seja, presente sem exposição ou após exposição prévia ao antifúngico, respectivamente (SILVA et al., 2012).

3.5 OLÉOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais (OE) são substâncias lipofílicas, voláteis, produzidos a partir do metabolismo secundário das plantas aromáticas, sendo responsáveis pela sua fragrância. Os óleos essenciais são lípidos, raramente coloridos, solúveis em solventes orgânicos e possuem densidade menor que a da água. Podem ser obtidos de diversos órgãos vegetais, tais como flores, caules, folhas, galhos, frutas, sementes, raízes, madeira ou casca, e são armazenados em células secretórias, canais, cavidades, células epidérmicas ou tricomas glandulares. Além de os OEs possuírem algumas propriedades já bem estabelecidas na literatura, como antiparasitário, sedativa, anti-inflamatória, bactericida, antiviral, conservante de alimentos e antifúngica (NIETO, 2017).

Esses óleos em grande parte são extraídos de plantas encontradas em países tropicais, como os do Mediterrâneo, e representam parte importante da farmacopeia tradicional por possuírem diversos princípios ativos nas suas composições químicas (MACHADO, 2011). No entanto deve-se ressaltar que as espécies produtoras de óleos essenciais na verdade não pertencem a nenhum grupo taxonômico específico. A produção de óleos essenciais ocorre amplamente em todo o reino vegetal (SANGWAN, 2001).

Do ponto de vista químico, os óleos essenciais são constituídos por misturas de 20 – 60 compostos orgânicos em concentrações diferentes que podem pertencer a diversas classes químicas, tais como álcoois, éteres ou óxidos, aldeídos, cetonas, ésteres, aminas, amidas, fenóis,

heterociclos e principalmente os terpenos. Já as características organolépticas dos óleos são conferidas pelos mono e sesquiterpenos e pelos fenilpropanoides, podendo assim apresentarem-se de forma complexa e quimicamente diversa (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009; DHIFI et al., 2016).

A produção e constituição química do óleo apresentam um importante papel ecológico na proteção das plantas contra microrganismos e herbívoros, também atraem insetos polinizadores e dispersores de sementes. Pode-se dizer que, na natureza, os óleos essenciais são produzidos quando as espécies vegetais encontram-se sob estresse fisiológico, seja este desencadeado por fatores climáticos ou biológicos. O mesmo pode ser obtido a partir de algumas partes das plantas produtoras como folhas, caule, sementes e raízes, onde na grande maioria das vezes são extraídos artificialmente através da técnica de arraste a vapor, para o o desenvolvimento de pesquisas que visem o entendimento da sua química, atividades biológicas e compostos isolados (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009; DHIFI et al., 2016; KONOSHIMA, 2002).

A composição química dos óleos essenciais e as atividades farmacológicas das espécies tem sido um assunto abordado em diversos estudos. Devido a necessidade de desenvolvimento de novos fármacos, pois as classes de medicamentos disponíveis apresentam limitações, ao passo em que são crescentes as descobertas de compostos vegetais com ações antibacteriana, antifúngica, inseticida e antioxidante, além da extensiva aplicação industrial em cosméticos (ABDELLI, et al, 2016; AYVAZ, et al, 2010; POPOVIC-DJORDJEVIC, 2018).

O fato destes óleos serem biodegradáveis, aliado a baixa toxicidade em mamíferos, podendo atuar sobre várias moléculas-alvo simultaneamente, torna essas substâncias peças-chave na pesquisa de novos medicamentos. Assim, os óleos podem ser explorados como alternativa ou complemento aos compostos sintéticos utilizados pela indústria farmacêutica, diminuindo ou sem induzir os efeitos secundários indesejáveis (FIGUEIREDO et al., 2008).

3.5.1 Óleos Essenciais com Atividade Leishmanicida

Várias pesquisas têm evidenciado como foco de estudo a atividade leishmanicida de óleos essenciais através de ensaios *in vitro* e *in vivo* sobre formas promastigotas e/ou amastigotas de *Leishmania* spp.

Em um estudo realizado com óleos essenciais extraídos das folhas de *Ocotea dispersa* (OD-EO) e *Ocotea odorifera* (OO-EO) sobre promastigotas de *Leishmania amazonensis* verificou-se atividade antiparasitária com valores de IC₅₀ de 4.67 ± 0.95 e 11.67 ± 2.16 µg/mL,

respectivamente. Os principais constituintes foram α -eudesmol (20.9%), valencene (10.2%), δ -elemene (9.3%) e isospathulenol (7.3%) para OD-EO; enquanto safrole (36.3%), γ -cadinene (6.6%), camphor (6.5%) e α -copaene (6.0%) foram os principais compostos de OO-EO (ALCOBA et al., 2017).

García et al. (2017) também conduziram estudos *in vitro* e *in vivo* frente *L. amazonensis*. Estes investigaram o potencial de inibição das formas promastigotas ($IC_{50} = 24.7 \pm 7.1 \mu\text{g/mL}$) e amastigotas do parasita ($IC_{50} = 6.2 \pm 0.1 \mu\text{g/mL}$), utilizando o óleo essencial da espécie *Pluchea carolinensis* (Asteraceae). No modelo experimental de leishmaniose cutânea, as 5 doses do OE à 30mg/kg por via intralesional diminuíram o tamanho das lesões e a carga parasitária em comparação aos animais tratados com Glucantime e aos não tratados.

Em um trabalho realizado com o óleo essencial da espécie *Haplophyllum tuberculatum* (Rutaceae), planta usada tradicionalmente para o tratamento de malária e outras infecções parasitárias, foi obtida IC_{50} variando entre 6.48 e 50.28 $\mu\text{g/ml}$ frente espécies de *Leishmania mexicana mexicana*, demonstrando um potencial leishmanicida moderado. Os constituintes majoritários verificados no óleo da espécie foram α -pineno, limoneno, cis-p-menth-2-en-1-ol, trans-pmenth-2-en-1-ol, cis-piperitol, 1-octyl acetate, piperitona e isobornyl acetate., demonstrando que algum destes pode ser responsável pelas atividades terapêuticas do óleo (HAMDI et al., 2018).

Bosquioli et al. (2017), em estudo, utilizaram-se das folhas e cascas de espécies de *Nectandra* (Lauraceae) para extração de óleos essenciais. Os óleos apresentaram quantidades elevadas de sesquiterpenos, como o intermediol, biciclogermacreno e β -cariofileno. O óleo de *N. hihua* foi o mais efetivo contra formas amastigotas intracelulares de *L. infantum* (IC_{50} de $0.2 \pm 1.1 \text{ mg/mL}$), sendo mais potente que a droga de referência utilizada no ensaio a Anfotericina B.

Em trabalho recente, Pereira et al. (2018) demonstraram a atividade antiparasitária do óleo essencial de *Alpinia speciosa* (Zingiberaceae). O óleo, rico em 1,8-cineole (28.46%), camphor (17.10%) e sabinense (9.95%) como constituintes majoritários, apresentou valores inibitórios promissores frente *Trypanosoma cruzi* ($LC_{50} = 67.18 \mu\text{g/mL}$) e *Leishmania brasiliensis* Vianna ($LC_{50} = 92.01 \mu\text{g/mL}$), uma vez que verificou-se ação abaixo de 500 $\mu\text{g/mL}$. Foi observado que os compostos químicos relatados possuem considerável atividade antiparasitária e baixa toxicidade.

Vários estudos têm demonstrado experimentalmente que os óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas possuem potencial antiparasitário. Destacam-se os óleos essenciais obtidos de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, *Ocimum gratissimum* L., *Thymus capitatus* (L.)

Hoffmans & Link, *Annona foetida* Mart., *Croton cajucara* Benth., *Syzygium cumini* (L.) Skeels, *Myrtus communis* L. e *Kelussia odoratissim* Mozaff., ressaltando o vasto potencial terapêutico dos óleos essenciais (SILVA; OLIVEIRA, 2016; ULLAH et al., 2016; SOOSARAEI et al., 2017).

3.5.2 Óleos Essenciais com Atividade Tripanocida

Vários estudos têm evidenciado a atividade tripanocida de óleos essenciais através de ensaios *in vitro* e *in vivo* sobre formas epimastigotas, promastigotas e/ou amastigotas de *T. cruzi*. Os OEs de *Origanum vulgare* (orégano), *Thymus vulgaris* (tomilho), *Syzygium aromaticum* (cravo-da-Índia) e *Ocimum basilicum* (manjerição) demonstraram excelente atividade sobre as formas epimastigotas e tripomastigotas sanguíneas de *T. cruzi* (SANTORO et al., 2007a, 2007b). Especificando as formas epimastigotas, os OEs de orégano e tomilho foram os mais efetivos com CI50 = 175 µg/ml e 77 µg/ml, respectivamente. O Timol, principal constituinte do OE de *T. vulgaris*, foi testado isoladamente e apresentou maior efetividade quando comparado OE total (CI50 = 62 µg/ml em epimastigotas, 53 µg/ml em tripomastigotas). O Eugenol principal metabolito do OE de *S. aromaticum*, e Linalol componente majoritário do OE de *O. basilicum* foram eficazes frente a forma epimastigotas (CI50 = 246 e 162,5 µg/ml, respectivamente) e tripomastigotas sanguíneos (CI50 = 76 e 264 µg/ml, respectivamente) (SANTORO et al., 2007b).

Escobar e colaboradores (2010) investigaram a atividade tripanocida de OEs extraídos de diferentes espécies de *Lippia*. O OE de *Lippia alba* exibiu maior atividade sobre *T. cruzi* (CI50 = 5,5 µg/ml em epimastigotas; CI50 = 12,2 µg/ml em amastigotas intracelulares; IS = 2,5 em relação aos fibroblastos). O OE de *L. origanoides* não apresentou significância clínica, uma vez que exibiu alta toxicidade sobre células de mamíferos. Timol e S-carvona, dois dos componentes majoritários destes OEs, foram eficazes frente às formas amastigotas intracelulares de *T. cruzi*.

Segundo Rojas, Palacios e Ronceros (2012), o OE de *Aloysia triphylla* (cedrina) é um promissor agente antiparasitário, pois constataram uma redução significativa (85,4%) da parasitemia em camundongos infectados com *T. cruzi* após os mesmos serem tratados com uma dose de 250 mg/kg do OE de *A. triphylla*. Também em experimentos *in vivo* realizados com camundongos Swiss infectados com cepa de *T. cruzi*, Zanusso Junior e colaboradores (2017), verificaram a eficácia do OEs de *Syzygium aromaticum*, *Cymbopogon citratus* e *Zingiber*

officinale. O óleo essencial extraído da espécie *Syzygium aromaticum*, testado na dose de 100 mg/kg/dia, ocasionou a cura parasitológica de 44% dos camundongos; já o óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, em mesma dosagem, foi mais promissor ao curar 50% dos animais infectados. Por outro lado, o OE de *Zingiber officinale*, apresentou baixa eficácia quando comparado aos demais, uma vez que foi responsável pela cura de apenas 22,2%, dos animais infectados.

Devido às frequentes variações dos metabólitos ativos dos OEs, destacam-se na literatura estudos com compostos isolados de espécies vegetais. García-Huertas e colaboradores (2018), isolaram a lignana principal constituinte do OE de *Piper jericoense*. Tal metabolito apresentou excelente atividade tripanocida in vitro, frente todas as formas evolutivas do *T. cruzi* (amastigota, tripomastigota e epimastigota). Já em testes in vivo, o mesmo foi responsável por diminuir a carga parasitaria quando comparado ao grupo tratado com Benznidazol em três doses distintas, 5, 15 e 30 mg/kg e ao grupo não tratado.

Puente e colaboradores (2019), isolaram quatro lactonas sesquiterpênicas das partes aéreas de duas espécies *Mikania variifolia* e *M. micrantha*, entretanto dentre as substâncias isoladas destacou-se a Deoximicanolida, devido seu alto índice de seletividade para as formas amastigotas e tripomastigotas do *T. cruzi*, bem como por ter apresentado baixas IC50 frente as formas epimastigotas, tripomastigotas e amastigotas. Por outro lado, poucos são os dados sobre o efeito de óleos, ou de seus metabólitos, sobre as alterações celulares em *Trypanosoma cruzi*. Com foco no processo de metaciclologênese foi encontrado apenas um estudo publicado, no qual os autores Cardoso; Soares, (2010) demonstraram que o Citral, principal constituinte de *Cymbopogon citratus* foi capaz de inibir a diferenciação in vitro de *T. cruzi* das formas epimastigotas para tripomastigotas metacíclicas em 50% (CI50), a uma concentração de 30,8 µg/ml.

3.5.3 Óleos Essenciais com Atividade Anti-*Trichomonas*

Como visto anteriormente, os OEs possuem algumas propriedades já bem estabelecidas na literatura, como antiparasitário. Já se tratando do potencial anti-*Trichomonas*, revisando a literatura foi possível identificar poucos estudos que evidenciam o mesmo. Em estudo realizado com óleos essenciais derivados de *Lavandula angustifolia* e *Lavandula × intermedia* foram investigadas a atividade antiparasitária contra o protozoário humano *T. vaginalis*. Esse estudo

demonstrou que baixas concentrações ($\leq 1\%$) dos respectivos OEs foram capazes de eliminar completamente as cepas de *T. vaginalis*, em testes in vitro (MOON, et al., 2006).

Martinez-Diaz e colaboradores (2015), realizaram um estudo com o OE de *Artemisia absinthium*, planta aromática e medicinal de interesse etnofarmacológico. O estudo evidenciou o potencial antiparasitário da espécie frente *T. vaginalis*, os pesquisadores foram além e também analisaram o caráter anti-trichomonas das frações obtidas. Onde seus resultados sugerem que a atividade antiparasitária esteja relacionada à presença de trans-cariofileno e di-hidrochamazuleno, componentes majoritários das frações. Além disso, a citotoxicidade do OE e frações foram testadas em diferentes linhagens de células humanas, demonstrando que os compostos analisados não apresentaram um perfil citotóxico.

Dai e colaboradores (2015), realizaram um estudo pioneiro com o óleo essencial de *Amomum tsao-ko* e seu componente majoritário geraniol. O artigo descreve o primeiro relato sobre a atividade anti-*Trichomonas* e alterações morfológicas ocasionadas pelo OE *A. tsao-ko* e pelo geraniol. Através de Microscopia Eletrônica de Transmissão, mudanças morfológicas nas células de *T. vaginalis* foram constatadas: a membrana nuclear foi danificada, os núcleos foram dissolvidos e a cromatina foi acumulada; no citoplasma, surgiram numerosos vacúolos, retículo endoplasmático rugoso dilatado, número de ribossomos foi reduzido, organelas desintegradas, a membrana celular foi parcialmente danificada, com vazamento citoplasmático e desintegração celular. Tais alterações foram semelhantes tanto para o OE, como para o composto isolado.

Em trabalho recente, o OE de *Nectandra megapota mica* rico em (+)- α -Bisabolol (93.7%) como componente majoritário, apresentou atividade frente *T. vaginalis* (IC₅₀ de 98.7 $\mu\text{g/mL}$). Na concentração de 250 $\mu\text{g/mL}$ do OE, a viabilidade dos trofozoítos era de $1.10\% \pm 0.69$, enquanto em 500 $\mu\text{g/mL}$ não havia parasitos vivos (FARIAS et al., 2019). Em outro estudo o OE de *Ocimum basilicum*, uma planta medicinal pertencente à família Lamiaceae, teve sua atividade anti-*T. vaginalis* investigada e apresentou concentração inibitória mínima (CIM) de 30, 20 e 10 $\mu\text{g/mL}$ após 24, 48 e 96 horas de incubação, respectivamente. A inibição de 100% do crescimento dos parasitos na concentração de 30 $\mu\text{g/mL}$ foi comparável ao controle de metronidazol a 40 $\mu\text{g/mL}$ (ELDIN; BADA WY, 2015).

3.5.4 Óleos Essenciais com Atividade Antifúngica

Se tratando do potencial antifúngico, revisando a literatura é possível identificar inúmeros estudos que evidenciam o mesmo. Em uma pesquisa realizada com o OE das folhas de *Cardiopetalum calophyllum* Schltdl., coletado durante variados meses do ano, observou-se inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* em 87,63% na dosagem de 300 µL, mostrando promissora atividade antifúngica. Os compostos majoritários identificados no OE analisado foram espatulenol, viridiflorol e germacreno-D presentes em todo o período analisado, porém as suas proporções relativas variaram (XAVIER et al., 2016).

Em outro estudo, Houicher e colaboradores (2018) investigaram o potencial antifúngico do OE das partes aéreas de *Anacyclus valentinus* frente a 7 fungos toxigênicos, no qual as cepas fúngicas mais sensíveis foram *Fusarium graminearum*, *Aspergillus parasiticus* e *Penicillium expansum* com menor concentração fungicida mínima (CFM) de 1,25 µl/ml (v/v). O óleo também teve um forte efeito fungicida contra *A. flavus* e *F. moniliforme* a um valor MFC de 2,5 µl/ml, enquanto a concentração de óleo de 10 µl/ml foi necessária para mostrar uma atividade fungicida contra *A. ochraceus* e *P. citrinum*. Na análise da composição química do OE os principais compostos foram δ-3-careno (31%), espatulenol (14,2%), ácido decanóico (5,5%), δ-cadineno (4,4%), anetol (3,4%) e aromadendeno (3,3 %).

El Ouadi et al. (2017) utilizaram folhas de *Melissa officinalis* para extração do OE. O mesmo apresentou P-mentha-1,2,3-triol (13,1%), o P-ment-3-en-8-ol (8,8%), o pulegone (8,8%), o óxido de piperitinona (8,4%) e 2 óxido de piperitona (7,3%) como componentes principais. O OE de *M. officinalis* foi testado frente aos fungos *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* e *Rhizopus stolonifer*. Os resultados foram os seguintes: *P. expansum* e *R. stolonifer* apresentaram alta sensibilidade ao óleo essencial de *M. officinalis* na concentração de 2 µL/mL. A taxa de inibição micelial foi de 73,2% para *P. expansum* a 0,25 µL/mL e 100% para 1 µL/mL, enquanto a inibição foi de 16,27% para *R. stolonifer* a 0,25 µL/mL e 100% a 2 µL/mL, indicando que estas últimas concentrações foram as Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM). Frente a *B. cinerea*, a inibição percentual aumenta moderadamente com a concentração e atinge seu valor máximo de 76,81% a 2 µL/mL, demonstrando que sua CIM é maior de 2 µL/mL.

Como observado anteriormente vários estudos mostram, experimentalmente, que os OEs de plantas medicinais e aromáticas possuem potencial antifúngico, entretanto a literatura traz mais concisa essa propriedade frente ao gênero *Candida* spp., na qual pode-se citar o estudo de Brito e colaboradores (2015) que utilizou o OE de *Lippia sidoides* Cham. contra *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei*, mostrando potente atividade contra essas leveduras, exibindo CIM entre 64 e 256 µg/mL, tendo o timol como composto majoritário.

Outro estudo analisou a atividade antifúngica dos OE's de *Citrus limon* e *Melaleuca alternifolia* frente às espécies de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. glabrata* isoladas de pacientes com estomatite protética. Nesse estudo avaliou-se a CIM e CFM para todas as 3 espécies de *Candida* spp., em queo OE de *Citrus limon* apresentou CIM entre 0,2 - 0,5 µg/mL e CFM entre 0,6-1,1 µg/mL, enquanto o OE de *Melaleuca alternifolia* apresentou CIM 1,6 a 2,8 µg/mL e CFM entre 3,5 a 6,0 µg/mL, que corresponde a suas maiores concentrações (PERIC et al., 2019).

Santos et al. (2018) também conduziram um estudo para demonstrar a propriedade antifúngica contra *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Candida tropicalis* com OE das folhas de *Eugenia uniflora*. Na análise química, alguns compostos se destacam, são eles: selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (36,37%) e epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (27,32%). Nos ensaios com *C. albicans* e *C. tropicalis* o OE foi apenas capaz de reduzir o número de células fúngicas em altas concentrações (maiores que 4096 µg/mL e 4096 µg/mL, respectivamente) conseguindo reduzir em 50% a quantidade de células viáveis de *C. tropicalis*. Já nos ensaios com *C. krusei*, o OE apresentou valores elevados de inibição demonstrando que aproximadamente 50% de redução do crescimento fúngico foi observado em concentrações de 8192 µg/mL. Os resultados dessa pesquisa não mostraram efeitos de atividade antifúngica promissora.

Ainda no estudo de Santos e colaboradores (2018), outros ensaios foram realizados para verificar o efeito do OE de *E. uniflora* sobre a morfologia das células. Foi provocado um estresse fúngico para que houvesse a formação de hifas e pseudohifas que atuam na busca de nutrientes. Nos testes, foi possível observar que o OE inibiu o crescimento das estruturas filamentosas de *C. albicans* em todas as concentrações. Em *C. tropicalis*, este mesmo efeito foi indicado apenas na concentração mais alta. Porém, o mesmo foi ineficiente contra *C. krusei*, onde não foi observada ação inibitória (NAKAMURA et al., 2010; DA SILVA et al., 2018; DE ARAÚJO et al., 2019).

3.6 A FAMÍLIA MYRTACEAE

A família Myrtaceae engloba de 130 à 150 gêneros de importância econômica e ecológica com mais de 5.000 espécies de árvores e arbustos distribuídos em diversas regiões tropicais e subtropicais, tais como Austrália, sudeste Asiático, América do Sul, Índia, Nova Caledônia e muitas ilhas do Pacífico (GOVAERTS et al., 2008; WILSON, 2011; THORNHILL

et al., 2015). De acordo com suas características e atributos, as espécies da família Myrtaceae encontram-se divididas em duas subfamílias: Psiloxylodeae com duas tribos e Myrtoideae com quinze tribos (WILSON et al., 2001, 2005).

No Brasil, a família Myrtaceae encontra-se distribuída em todos os domínios fitogeográficos, ocorrendo quase 1000 espécies subordinadas a 23 gêneros (FORZZA et al., 2010). Destas, 795 são endêmicas do Brasil, ou seja, ocorrem apenas no território do país. Dessa forma são levantadas questões que visem o maior conhecimento e auxiliem na efetiva conservação das espécies desse grande e diverso grupo de plantas (SOBRAL et al., 2015).

As plantas da família são caracterizadas como árvores ou arbustos de caule cilíndrico e casca áspera ou lisa e geralmente o ritidoma desprende-se em placas ou lâminas. As espécies apresentam folhas simples, opostas e inteiras. As inflorescências podem ser terminais ou axilares, racemiformes, fasciculiformes, glomeruliformes ou paniculiformes, podendo ocorrer flores solitárias e axilares. As flores são bissexuais, com cálice caliptriforme; sépalas geralmente persistentes; 4-5 pétalas, reduzidas ou ausentes, alvas, estames numerosos, livres; ovário ínfero, número variável de lóculos e óvulos; frutos tipo baga, com o embrião envolvido por polpa carnosa. Além disso, as plantas apresentam glândulas oleíferas sob a forma de pontos translúcidos ou imersas nos tecidos (GIARETTA et al., 2016).

As plantas da família Myrtaceae são bem reconhecidas pela sua diversidade, importância econômica, por serem fontes de madeira e OEs, sendo utilizadas para ornamentação e alimentação, e por possuírem grande potencial ecológico. Além disso, essas plantas são empregadas na medicina popular para o tratamento de algumas enfermidades, ressaltando-se o gênero *Psidium* utilizado contra diarreias, dores de barriga e afecções da garganta (BEZERRA et al., 2006; GRATTAPAGLIA et al., 2012).

Incluído nessa família, o grupo de espécies nativas conhecidos como araçá é composto de pelo menos três tipos diferentes, sendo eles o araçá comum (*Psidium* sp.), araçá-boi (*Eugenia stipitata* McVaugh) e araçá-pêra (*Psidium acutangulum* DC), tem ganhado destaque na realização de estudos devido suas propriedades, uma vez que possuem muitos minerais, como cálcio, fósforo e ferro, além de conter fibras e taninos em sua casca, todos de grande importância para o funcionamento normal do organismo humano. Os araçás, além disso, apresentam propriedades medicinais, ajudando a erradicar os radicais livres, fortalecendo, assim, o organismo contra gripes e infecções (FRANCO, 2001; GIACOBBO et al., 2008).

3.6.1 O gênero *Psidium*

O gênero *Psidium* é um dos mais importantes e exploradas dentro da família Myrtaceae. É composto por aproximadamente 100 espécies frutíferas originárias das Américas tropical e subtropical sendo que destas, aproximadamente 60 ocorrem no Brasil (SOBRAL et al., 2015). O gênero engloba inúmeras espécies de teor comestível, madeireiro, ornamental, apresentando grande potencial para a exploração comercial (BEZERRA et al., 2006).

As espécies do gênero caracterizam-se por hábitos que variam de subarborescente a arbóreo, com ramos não dicotômicos e casca lisa e cinza. As flores apresentam-se solitárias ou agrupadas em dicásios axilares (de 1-3 flores). O cálice exibe-se fechado e é rompido em quatro a cinco lobos irregulares durante a antese; pétalas presentes. Hipanto presente e elevado sobre o ovário, que apresenta de 3 a 10 loculos com muitos óvulos. Suas espécies apresentam numerosos estames com deiscência rimosa (longitudinal), portando cavidades secretoras. Seus frutos são bacóides, com sépalas persistentes ou raramente decíduas; as sementes possuem testa óssea e embrião mirtóide (MCVAUGH, 1969; LANDRUM; SHARP, 1989).

Por estarem amplamente distribuídas por toda região neotropical e nos mais diversos domínios fitogeográficos (Caatinga, Cerrado, Campos Rupestres, Floresta Amazônica, Mata Atlântica, restingas, entre outras), as plantas do gênero *Psidium* experimentam grandes pressões ambientais, ocasionando grande plasticidade fenotípica, o que dificulta sua identificação e delimitação (COSTA, 2009b).

Por serem amplamente utilizadas na medicina tradicional para o tratamento de enfermidades do homem, as espécies deste gênero são alvos constantes de pesquisas, uma vez que são produtoras de óleos essenciais e diversos metabólitos que apresentam importantes ações biológicas (DO NASCIMENTO et al., 2018).

Estudos fitoquímicos conduzidos com o gênero *Psidium* demonstram a ocorrência de muitas classes de constituintes, incluindo alcaloides, flavonoides, terpenos, taninos e esteróis (BEGUM et al., 2004; HO et al., 2012; SHU et al., 2012; KAUR et al., 2016). Do ponto de vista farmacológico, estudos utilizando extratos, frações ou óleos essenciais evidenciam atividades antiparasitária, antibacteriana, antifúngica, antioxidante, antimutagênica e anti-inflamatória, atuando também na redução da contaminação ambiental por metais pesados (ANDRADE-VIEIRA et al., 2017; MORAIS-BRAGA et al., 2016a; MORAIS-BRAGA et al., 2016b; LEITE et al., 2017; SOUZA et al., 2017; DO NASCIMENTO et al., 2018).

3.6.1.1 *Psidium myrsinites* DC.

Psidium myrsinites DC., conhecida popularmente como “araçá-bravo”, “araçá-de-veado” ou “goiabinha” é uma frutífera pertencente à família Myrtaceae. Podem ser encontradas nos estados do Ceará, Bahia, Tocantins, Goiás, Mato Grosso, Maranhão, Piauí e Distrito Federal (LEITE et al., 2016).

Apresenta-se na forma de árvore, sem exsudação ao se destacar a folha; copas com ramos e gemas terminais glabras. Seu tronco pode medir até 21 cm de diâmetro, com ritidoma acinzentado ou castanho, liso, e depressões de placas irregulares que se desprendem deste. Suas folhas são simples, opostas, cruzadas ou elípticas, de 6 cm a 16 cm de comprimento e 3 cm a 8 cm de largura, com nervação broquidódroma. Alguns indivíduos apresentam glândulas visíveis que exalam odor agradável quando as folhas são amassadas. As flores podem ter até 2 cm de diâmetro, com 5 pétalas livres de cor branca. Seus frutos chegam até 2 cm de comprimento, piriformes, coroados com as sépalas remanescentes. As sementes são esferoides, com testa óssea de cor creme (SILVA-JÚNIOR, 2005).

Seus frutos são muito utilizados pelo homem para o consumo in natura e na fabricação de iguarias regionais como doces e geleias. A espécie possui potencial para o paisagismo, tendo em vista a linda folhagem, sendo útil também para a recuperação de áreas degradadas por atrair animais que ajudam na dispersão de sementes de outras espécies e da sua própria espécie (FRANZON et al., 2009).

Na medicina popular local, o araçá-de-veado é utilizado no tratamento de distúrbios intestinais, como dores de barriga e diarreia, além de também atuar no combate a inflamações e ajudar na cicatrização de ferimentos, o que indica que os compostos bioativos presentes na planta podem ter potenciais benefícios para a saúde humana (RIBEIRO et al., 2014).

Em 2009, pesquisadores extraíram de *P. myrsinites* uma substância utilizada para a fabricação de perfumes, o monoterpene linalol. Esse composto está presente no óleo essencial da planta e é responsável por fixar a fragrância dos cosméticos e perfumes na pele. A principal fonte de linalol é o pau rosa (*Aniba roseodora*), espécie abatida durante o processo de obtenção da substância a partir de suas partes lenhosas, indicando que a extração da substância a partir do araçazeiro é uma alternativa sustentável (CASTELO; MENEZZI; RESCK, 2010).

Pereira (2010) realizou estudos com três quimiotipos de *P. myrsinites*. A análise demonstrou que os óleos essenciais obtidos a partir das espécies apresentaram significativa atividade antimicrobiana frente linhagens de bactérias gram-positivas e fungos. A atividade antimicrobiana dos extratos bruto e acetônico foi avaliada por Durães et al. (2017), com resultados promissores contra as bactérias utilizadas nos ensaios, indicando mais uma vez que

a espécie pode conter compostos auspiciosos e ainda não isolados para o tratamento de enfermidades microbianas.

Em um estudo realizado por Dias et al. (2015) o óleo essencial de *P. myrsinites* apresentou atividade larvicida contra larvas do mosquito *Aedes aegypti* L., sinalizando que a planta é uma ferramenta promissora no combate a arbovirose. Estudos mais recentes evidenciam a atividade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos produzidos a partir das folhas da espécie (LEITE et al., 2016).

No que diz respeito à composição química, os extratos de *P. myrsinites* contêm taninos, saponinas, flavonoides, antraquinonas, glicosídeos, coumarinas, terpenos e/ou esteroides (LEITE et al., 2016; DURÃES et al., 2017). O óleo essencial viscoso e translúcido apresenta principalmente compostos oxigenados e sesquiterpenos como o óxido de cariofileno (26,1%), epóxido de humuleno II (8,8%), β -cariofileno (7,4%) e α -cariofileno (5,4%) (CASTELO; MENEZZI; RESCK, 2010; MEDEIROS et al., 2015).

A literatura referente à validação de atividades farmacológicas de *Psidium myrsinites* ainda é muito escassa, entretanto, os dados etnobotânicos revelam que a espécie ainda possui muito a ser investigado, realçando o grande potencial farmacológico do mesmo.

4 RESULTADOS

4.1 ARTIGO 1: PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA PROPRIEDADE ANTIFÚNGICA, MODULADORA E MECANISMO DE AÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Psidium myrsinites* DC.

PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA PROPRIEDADE ANTIFÚNGICA, MODULADORA E MECANISMO DE AÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *PSIDIUM MYRSINITES* DC.

Lilian Cortez Sombra Vandesmet¹

RESUMO

A candidíase é uma infecção causada por microrganismos oportunistas do gênero fúngico *Candida* na qual aproximadamente 14 espécies são consideradas patogênicas. As complicações comuns no meio hospitalar que levam a crescentes índices de morbimortalidade e a problemática envolvendo o atual esquema de tratamento da candidíase indicam caráter de urgência para as pesquisas por novas estratégias e agentes terapêuticos. Assim, neste estudo avaliou-se a propriedade anti-*Candida* e moduladora do óleo essencial das folhas de *Psidium myrsinites* DC. através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), Concentração Fungicida Mínima (CFM) e Índice de Concentração Inibitória Fracionada (ICIF) com os antifúngicos fluconazol e anfotericina B utilizando 08 cepas de *Candida* spp. (02 *C. albicans*, 02 *C. krusei*, 02 *C. parapsilosis* stricto sensu e 02 *C. tropicalis*) para todos os testes. Os resultados demonstraram valores de CIM que variaram de 16 a 256 µg/mL e de CFM que estão entre 64 a 256 µg/mL. Para as interações com anfotericina B, os valores de ICIF demonstraram que as mesmas foram sinérgicas para 75% (6/8) das cepas testadas e indiferentes às demais. Já as combinações com fluconazol resultaram em interações indiferentes. Os resultados sugerem que *Psidium myrsinites* demonstra um potencial antifúngico contra as cepas de *Candida* testadas. Também foi obtido efeito sinérgico entre o óleo essencial e a anfotericina B para a maioria das espécies, exceto para uma cepa de *C. albicans* e *C. tropicalis*. O estudo indica esta espécie como uma possível fonte terapêutica alternativa, dada sua eficácia nos testes *in vitro* realizados e abrindo ainda a possibilidade de novos estudos biológicos *in vivo*.

Palavras-chave: *Candida*. Myrtaceae. Anfotericina B.

ABSTRACT

Candidiasis is an infection caused by opportunistic microorganisms of the fungal genus *Candida* in which approximately 14 species are pathogenic. Common hospital complications that lead to increasing rates of morbidity and mortality, and the problems surrounding the current candidiasis treatment plan, indicate an urgent need for research into new strategies and therapeutic agents. Thus, this study evaluated the anti-*Candida* and modulator properties of the

¹Mestre, Docente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Católica de Quixadá – UNICATÓLICA. E-mail: lilianvandesmet@gmail.com

essential oil of *Psidium myrsinites* DC. leaves by determining Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Minimum Fungicide Concentration (MFC) and Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI) with the fluconazole and amphotericin B antifungals using 08 strains of *Candida* spp. (02 *C. albicans*, 02 *C. krusei*, 02 *C. parapsilosis* stricto sensu and 02 *C. tropicalis*) for all tests. The results demonstrated MIC values ranging from 16 to 256 µg / mL and MFC values ranging from 64 to 256 µg / mL. For interactions with amphotericin B, the FICI values showed that they were synergistic for 75% (6/8) of the strains tested and indifferent to the others. As for the combinations with fluconazole resulted in indifferent interactions. The results suggested that *Psidium myrsinites* demonstrate a potential antifungal against the *Candida* strains tested. A synergistic effect between the essential oil and amphotericin B was also used for most species, except for one isolate of *C. albicans* and *C. tropicalis*. The study indicates this species as a possible alternative therapeutic source, given its efficacy in the in vitro tests performed and also opening the possibility of further in vivo biological studies.

Keywords: *Candida*. Myrtaceae. Amphotericin B.

1. INTRODUÇÃO

O gênero fúngico *Candida* é composto por mais de 150 espécies, entretanto apenas 14 são consideradas patógenas para o ser humano, sendo responsáveis por ocasionar um grupo de enfermidades conhecidas como candidíase, em que 70% dos casos são causados pela espécie *C. albicans* (WHO, 2010). Essas infecções são mais frequentes em pele e mucosas, podendo ainda progredir para uma infecção fúngica invasiva (JAHANSHIRI et al., 2018; MIRANDA-CADENA et al., 2018; SANGARÉ et al., 2018).

A Candidíase Invasiva (CI) é comumente observada no meio hospitalar em pacientes frágeis, internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI), com comorbidades crônicas e ampla exposição a antibioticoterapia (CORCIONE et al., 2018). De acordo com a World Health Organization (2016), a CI acomete cerca de 750.000 pessoas internadas em UTI, sendo um problema provavelmente subestimado.

Segundo o estudo de Kato e colaboradores (2019), a mortalidade dessa complicação em adultos chega a 27,7% em apenas 30 dias, já em crianças, de acordo com a pesquisa de Motta et al. (2017), a taxa de mortalidade chega a 32% dos casos, sendo, portanto, fonte de altos custos associados a essa infecção. Outra problemática é o precário arsenal terapêutico disponível para o tratamento, uma vez que encontra-se restrito a classe dos azóis, poliênicos e equinocandinas. Ademais, o tratamento com esses fármacos possuem inúmeros efeitos colaterais, são altamente tóxicos para o hospedeiro e possuem eficácia diminuída devido os mecanismos de resistência

fúngica (CHAMORRO-DE-VEGA; GIL-NAVARRO; PÉREZ-BLANCO, 2016; KAANICHE et al., 2016; CORZO-LEÓN et al., 2018; SHARIFZADEH; SHOKRI; ABBASZADEH, 2018).

Em consequência de tais problemáticas, há uma necessidade emergente na busca de novos agentes antifúngicos para combater as infecções por *Candida* spp., na qual acredita-se que os princípios ativos dos produtos naturais serão a solução para esses empecilhos. Nesse sentido, plantas pertencentes à família Myrtaceae são alvos constantes de pesquisas, uma vez que possuem óleos essenciais (OEs) e outros metabólitos secundários com comprovadas propriedades biológicas, incluindo antifúngica (ZIDA et al., 2017; FARAG et al., 2018; WELI et al., 2018; FIGUEIREDO et al., 2019).

Membro desta família, a espécie *Psidium myrsinites* DC., conhecida como “araçá-de-veado”, encontrada em regiões de clima tropical e subtropical e utilizada pelas populações tradicionais no tratamento de desordens de cunho intestinal ou inflamatório, é uma espécie aromática e seu óleo essencial é promissor quanto às atividades larvicida e antimicrobiana (PEREIRA, 2010; DIAS et al., 2015; HOUËL et al., 2015; SOUZA et al., 2017; PIÑA-VÁZQUEZ et al., 2017; MACHADO et al., 2018). Considerando o potencial farmacológico benéfico da espécie e o crescente interesse na descoberta de óleos essenciais com atividade anti-*Candida*, o objetivo deste estudo foi investigar a atividade antifúngica e moduladora do óleo essencial das folhas de *Psidium myrsinites* DC., bem como elucidar os compostos químicos envolvidos nessa atividade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 ÁREA DE COLETA E MATERIAL BOTÂNICO

As folhas da espécie *Psidium myrsinites* DC. foram coletadas em área de vegetação nativa, na propriedade rural AGRODOIAS, localizada na Serra dos Paus Dóias - Chapada do Araripe, município de Exu, PE (latitude 07°21"S, longitude 39°53"W e altitude 884m), no mês de junho de 2018. Do material coletado foi produzida uma exsicata que foi depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima (HCDAL) da Universidade Regional do Cariri Campus Pimenta, sob o nº 14.204.

2.2 EXTRAÇÃO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL

Para obtenção do óleo das folhas de *Psidium myrsinites* (OEPM), o material vegetal foi triturado em pequenos pedaços e submetido ao método de destilação por arraste à vapor (4500g, 3h). O OE obtido foi filtrado, pesado e, em seguida, o rendimento de óleo foi calculado em % (w/w). O OE foi então armazenado em um frasco escuro e refrigerados (at + 5 °C) até o uso.

O OE foi analisado através do modelo de Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massa (GC-MS) Shimadzu GCMS-QP2010 SE utilizando capilar de coluna Rtx®-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). As condições de operação da MS foram otimizadas da seguinte forma: 70 eV, vazão de gás de arraste (He) 13,6 mL.min⁻¹ e pressão de 53,5 KPa. Utilizou-se o seguinte programa de temperatura: 100 °C (3 min) a 310 °C (3,5 °C / min) (KARMELING; VERLUIS; SCHAUER, 1975).

2.2 MICRORGANISMOS

Foram utilizadas 08 cepas de *Candida* spp. obtidas da American Type Culture Collection (ATCC) e da Netherlands Collection - Central Bureau voor Schimmelcultures (CBS) - *C. albicans* ATCC 60193 e CBS 562; *C. tropicalis* ATCC 13803 e CBS 94; *C. krusei* ATCC 6258 e CBS 73; *C. parapsilosis stricto sensu* ATCC 22019 e CBS 604. Antes de cada experimentação, as cepas de *Candida* spp. foram cultivadas em ágar batata dextrose (PDA, Himedia, Índia) e incubadas a 35 °C por 24 horas (CLSI, 2008).

2.3 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA E CONCENTRAÇÃO FUNGICIDA MÍNIMA

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) do OE de *P. myrsinites* foi determinada pela técnica de microdiluição, conforme descrito anteriormente pelo Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI, 2008). Assim, foram utilizadas placas de microdiluição de 96 poços com fundo em U. Aliquotas do meio de cultura foram adicionadas aos poços e em seguida o OE foi adicionado em diluições seriadas. Logo após, o inóculo fúngico (0,5 - 2,5 x 10³ UFC/mL) foi adicionado e as placas foram incubadas por 48 horas a 35 °C. Os resultados foram lidos por observação visual de agregados celulares no fundo dos poços. A CIM foi definida como a menor concentração de óleo que inibiu o crescimento fúngico visível.

Anfotericina B e fluconazol (Sigma-Aldrich, São Paulo, SP) foram utilizados como controle positivo nos ensaios em concentrações variando de 0,4 a 16 µg/mL. Controles de

viabilidade das cepas, esterilidade média, DMSO (dimetilsulfóxido) (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) utilizados para a preparação de antifúngicos foram realizados simultaneamente com o ensaio.

A Concentração Fungicida Mínima (CFM) foi determinada subculturando, em placas Ágar Sabouraud Dextrose (HIMEDIA Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, Índia), o conteúdo de todos os poços com ausência de crescimento fúngico visual e incubando-as a 35 ° C por 48-72 horas. A CFM foi definida como a menor concentração do OE *P. myrsinites* que inibiu o crescimento visível no meio sólido (SCORZONI et al., 2016).

A razão CFM/CIM foi calculada para determinar se o OE de *P. myrsinites* tinha atividade fungistática (CFM/CIM ≥ 4) ou fungicida (CFM/CIM < 4) (SIDDIQUI et al., 2013).

2.4 EFEITO DO OEPM NA PAREDE CELULAR DE *Candida* spp.

A técnica de microdiluição foi realizada na presença de sorbitol (D-sorbitol anidro) (INLAB, São Paulo, Brasil), um protetor osmótico, para determinar o mecanismo de ação do OEPM na parede celular das espécies de *Candida*. A técnica foi realizada seguindo os mesmos procedimentos descritos para determinação CIM. Para este ensaio, o inóculo foi preparado com sorbitol a uma concentração final de 0,8 M. As placas foram incubadas a 35 ° C e as leituras foram realizadas 24 h e 48 h após a incubação. A caspofungina foi utilizada como controle positivo neste ensaio em uma concentração inicial de 5 µg/mL (diacetato de caspofungina - Sigma-Aldrich, São Paulo - SP), devido à sua atividade conhecida na parede celular das leveduras. A CIM na presença de sorbitol foi definida como a menor concentração da substância que inibe o crescimento microbiano visível (ESCALANTE et al., 2008; FREIRES et al., 2014).

2.5 EFEITO DO OEPM NA BIOSÍNTESE DE ERGOSTEROL EM *Candida* spp.

Os esteróis totais foram extraídos como descrito por Moran et al. (2007) com adaptações, para estimar o mecanismo de ação de OEPM na biossíntese de ergosterol em *Candida* spp. A extração foi realizada após exposição ao OEES, fluconazol (controle positivo) e anfotericina B (controle negativo) em CIM/2, CIM/4 e CIM/8, por 48 horas. Após a exposição, os inóculos foram transferidos para os tubos Eppendorf e centrifugados a 12.000 × g por 5 min e os sedimentos celulares foram suspensos em 500 µl de KOH alcoólico (60% / 20%) e incubados por 1 hora a 95 ° C em um banho d'água. Após esse período, foram adicionados 600 µl de n-hexano para isolar os esteróis. Os tubos Eppendorf foram então

centrifugados a $12.000 \times g$ por 1 min, e toda a camada orgânica superior contendo os esteróis foi misturada com 500 μ l de n-hexano. As leituras de absorbância da fase orgânica de cada amostra foram realizadas a 295 nm. A quantificação do ergosterol foi realizada por comparação com a curva padrão obtida com ergosterol comercial (Sigma-Aldrich, Alemanha).

2.6 ENSAIO DE LIGAÇÃO AO ERGOSTEROL

O ensaio foi realizado utilizando a técnica de microdiluição, como descrito anteriormente, na presença de ergosterol exógeno (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) em concentrações crescentes de 100, 200 e 400 μ g/mL para determinar o mecanismo de ação do OEPM frente *Candida* spp. por ligação ao ergosterol. As placas foram incubadas a 35° C e as leituras foram realizadas após 24-48 h (ESCALANTE et al., 2008; FREIRES et al., 2014). A anfotericina B foi usada como controle positivo devido à sua atividade conhecida nas membranas celulares de leveduras, ligando-se aos esteróis de membrana e alterando a permeabilidade da membrana (PERLIN, 2011; PIERCE et al., 2013). Também foi incluído um controle com etanol a 96% e Tween 80, que foram utilizados para a preparação de soluções de ergosterol. A CIM na presença de ergosterol foi definida como a menor concentração da substância que inibe o crescimento fúngico visível.

2.7 AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO DO OE COM ANTIFÚNGICOS

Para a avaliação da interação entre OE de *P. myrsinites* e os antifúngicos, duas concentrações subinibitórias do OE (CIM/8 e CIM/16) foram utilizadas nas análises de cada isolado (SANTOS et al., 2018). A análise de suscetibilidade antifúngica foi realizada, conforme descrito anteriormente para a determinação da CIM, com a adição de anfotericina B ou fluconazol. Células planctônicas e sésseis foram incubadas na presença da combinação do OE de *P. myrsinites* e antifúngicos e incubadas por 48 horas a 35 ° C. Os resultados foram lidos por observação do crescimento fúngico visual nos poços. A CIM foi definida como a menor concentração das combinações capaz inibir o crescimento fúngico visível. Posteriormente, calculou-se o Índice de Concentração Inibitória Fracionada (ICIF) para cada combinação OE de *P. myrsinites*, a fim de avaliar a interação medicamentosa, considerada sinérgica quando $ICIF \leq 0,5$, indiferente quando $0,5 < ICIF \leq 4$ e antagonista quando $ICIF > 4$ (ODDS, 2003).

2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Os dados foram expressos em média $\pm$ erro padrão da média (EPM). Para os ensaios que possuíam três ou mais grupos e uma única avaliação das amostras, as diferenças obtidas entre os grupos foram submetidas à análise de variância (ANOVA) de fator único, seguindo-se do teste de Student-Newman-Keuls. Foram consideradas diferenças significativas valores de $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os OEs são produtos derivados do metabolismo secundário das plantas aromáticas, sendo utilizados há anos como aporte terapêutico na farmacopeia tradicional. Desse modo, os mesmos já possuem algumas propriedades biológicas bem estabelecidas no meio científico, dentre essas propriedades destaca-se o potencial antifúngico, anti-inflamatório, antiviral, antimicrobiano, entre outros (BAKKALI et al., 2008; NIETO, 2017).

O óleo essencial das folhas frescas de *Psidium myrsinites* (OEPM) apresentou um rendimento de 0,4%. O cromatograma obtido demonstrou 129 picos, com 100% das substâncias tendo sido identificadas, as quais são constituídas por 58,13% de sesquiterpenos, 16,28% de monoterpenos e 25,59% de outros elementos. A Tabela 1 apresenta os constituintes majoritários que fazem parte da composição química do óleo essencial (OE) analisado por CG/EM. O OEPM apresentou espatulenol (17.65%), β -cariofileno (16.12%) e viridiflorol (6.74%) em maiores concentrações, seguidos de outros compostos.

Na avaliação da sensibilidade fúngica, o OE de *P. myrsinites* apresentou valores de CIM que variaram de 16 a 256 $\mu\text{g/mL}$ e de CFM que estão entre 64 a 256 $\mu\text{g/mL}$. A razão MFC/MIC encontrada para OE de *P. myrsinites* demonstrou provável efeito fungicida contra as espécies de leveduras testadas (Tabela 2).

Após a avaliação da atividade antifúngica, continuamos a investigar possíveis mecanismos pelos quais a viabilidade das células fúngicas foram afetadas. Os resultados mostraram que a propriedade antifúngica do OEPM não está relacionada às vias de biossíntese da parede celular, devido os resultados dos testes antifúngicos permanecerem inalterados na presença ou na ausência de um protetor osmótico (sorbitol) (Tabela 3).

O conteúdo de ergosterol nas células também não foi alterado, indicando que OEPM também não está envolvido na biossíntese de ergosterol (Figura 1). Em vez disso, os valores de MIC de OEPM aumentaram entre 4 e 32 vezes com o aumento da concentração exógena de ergosterol, indicando que OEPM pode estar ligado ao ergosterol e tornar-se indisponível para

realizar sua atividade antifúngica. Esse mesmo mecanismo de ação é observado para a anfotericina B, usada como controle negativo (Tabela 4).

As combinações do OE de *P. myrsinites* com anfotericina B foram sinérgicas para 75% (6/8) das cepas testadas e indiferentes às demais, não sendo observadas interações antagônicas. Não houve diferença na CIM das combinações de fluconazol para nenhuma das cepas testadas (Tabela 5).

Nota-se que o rendimento do OEPM não foi alto, entretanto a quantidade obtida é consistente com a produção de outras espécies do gênero. Freitas, Moraes e Silveira (2002) estudaram o óleo essencial de *P. myrsinoides*, espécie semelhante à *P. myrsinites*, e também encontraram rendimento de 0,4%. Os óleos obtidos de doze espécies de *Psidium guineense* de ocorrência na Amazônia demonstraram rendimento variando entre 0,1 e 0,9% (FIGUEIREDO et al., 2018). Estudos conduzidos por Macêdo et al. (2018) com o óleo essencial de *Psidium salutare* em três diferentes períodos sazonais apresentou rendimentos de 0,73, 0,29 e 0,15%, destacando que os maiores índices correspondem aos períodos de precipitação.

Castelo, Menezzi e Resck (2012) realizaram a extração do óleo essencial de *P. myrsinites* e identificaram, por CG/EM, como compostos majoritários o óxido de cariofileno, o β -cariofileno, o α -humuleno e o viridiflorol, corroborando com os resultados obtidos no presente estudo. Entretanto, a composição do óleo não foi completamente elucidada e os autores não descreveram quantitativamente cada substância.

De acordo com Durães et al. (2017), as substâncias vistas como majoritárias no óleo essencial de *P. myrsinites* utilizando CG/EM foram (E)-cariofileno (31.01%), α -humuleno (12.32%) e óxido de cariofileno (7.33%). Em outro estudo, (E) - β - cariofileno (26.05%), α -humuleno (23.92%) e óxido de cariofileno (10.09%) também foram identificados como compostos majoritários no OE das folhas de *P. myrsinites* obtidas no Parque Nacional da Chapada das Mesas, Brasil (DIAS et al., 2015). Do mesmo modo, Medeiros et al. (2015) identificaram β -cariofileno e óxido de cariofileno como compostos majoritários no óleo de *P. myrsinites*.

A grande parte dos estudos químicos realizados com *P. myrsinites* até o presente momento apresentam resultados bastante diversificados quanto à composição química, embora substâncias como o óxido de cariofileno e β -cariofileno sempre apareçam entre os constituintes majoritários. Segundo Silva et al. (2018), mudanças na composição química do OE de uma mesma espécie de regiões distintas podem ser atribuídas às diferenças em parâmetros como tipo de solo, clima, estação do ano, idade da planta e outros fatores. Com relação ao espatulenol,

este é o primeiro relato da sua presença como composto majoritário no óleo essencial de *Psidium myrsinites*.

Estudo conduzido por Freitas, Moraes e Silveira (2002) no Cerrado com *Psidium myrsinoides* demonstrou que a espécie possui um óleo similar ao óleo de *P. myrsinites*, sendo o β -cariofileno e o óxido de cariofileno os compostos majoritários.

A goiabeira (*Psidium guajava* L.) sem dúvidas é a espécie mais conhecida e estudada dentro do gênero *Psidium*. (E)-trans-cariofileno, α -humuleno, trans-nerolidol, β -bisaboleno, β -bisabolol e hinesol foram as principais substâncias encontradas como majoritárias nos óleos essenciais de 22 genótipos de *P. guajava* coletadas em dois diferentes ambientes no Espírito Santo, Brasil, sendo o primeiro deles um possível marcador químico para a espécie (SOUZA et al., 2018). Entretanto, compostos como β -pineno, β -cariofileno, epiglobulol, 1.8-cineol e (E)-cariofileno também se apresentam em quantidades significativas (SIANI et al., 2013; PINHO et al., 2014). O fato de ser uma espécie cultivada e domesticada pode justificar a grande variedade de compostos encontrados em seu óleo, tendo em vista que estes fatores podem ter alterado algumas de suas vias metabólicas (MEDEIROS et al., 2015).

A análise do OE de folhas de *Psidium myrtoides* O. Berg revelou que o trans- β -cariofileno, α -humuleno, α -copaeno, óxido de cariofileno e α -bisabolol estavam entre os principais compostos presentes no óleo (DIAS et al., 2018). O OE das folhas de *Psidium guajava* L., coletadas na província de Cantão, China, apresentou como constituintes majoritários β -cariofileno, γ -gurjuneno, τ -cadinol e calameneno (WANG et al., 2017). Scur et al. (2016) verificaram a presença de α -copaeno, eucalyptol, δ -cadineno e α -selineno como elementos majoritários de OE de folhas da espécie *Psidium cattleianum* Sabine.

Os OEs são constituídos por uma mistura complexa de compostos químicos, em que cada constituinte possui sua propriedade físico-química e encontram-se em concentrações distintas. Devido a este fato, nem sempre pode-se vincular essas propriedades a um único composto, já que as mesmas podem estar associadas ao sinergismo químico encontrado no OE. O sinergismo dos constituintes pode garantir uma maior bioatividade se comparada aos compostos isolados. Tais efeitos são comuns em terpenos, que apresentam ação sinérgica solubilizando outros compostos e facilitando sua passagem através de membranas (GELINSKI et al., 2007; FIGUEIREDO, 2008; RATTAN, 2010).

O potencial antifúngico observado nesse estudo está, provavelmente, associado a presença de sesquiterpenos (58,13%), uma vez que já existem relatos de atividade anti-*Candida* para esses compostos descritas por Li et al. (2017) e Xie et al. (2015). O espatulenol, como composto majoritário do OE de *Croton rhamnifolioides* (Euphorbiaceae), foi considerado como

um dos responsáveis pela atividade anti-*Candida* frente as espécies *C. albicans* e *C. tropicalis* (VIDAL et al., 2016).

Em outro estudo, o espatulenol, composto majoritário no OE de *Cardiopetalum calophyllum* Schltdl. (Annonaceae), foi tido como um dos responsáveis pela promissora atividade antifúngica frente ao fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (XAVIER et al., 2016). Além disso, outras propriedades biológicas foram descritas ou associadas ao espatulenol como constituinte majoritário de OEs, dentre elas estão as atividades: antioxidante, anti-inflamatória, antiproliferativa, micobactericida e anti-*Leishmania* (ESTEVAM et al., 2017; NASCIMENTO et al., 2018).

O OE da casca de *Pinus eldarica* (Pinaceae), apresentando β -cariofileno como um dos constituintes majoritários, foi capaz de inibir o crescimento da espécie *C. albicans* com CIM de 125 $\mu\text{g/mL}$ (GHAFFARI et al., 2019) corroborando com o presente trabalho. Em outro estudo o OE de *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae) apresentou o composto β -cariofileno como majoritário, entretanto o OE não foi capaz de inibir o crescimento da espécie *C. albicans* em concentrações de até 1000 $\mu\text{g/mL}$ (COSTA et al., 2000), esse contraste nos resultados pode ser atribuído a possível presença de substâncias antagônicas ao β -cariofileno no OE de *E. dysenterica*.

Embora não tenham sido encontrados relatos a respeito de atividade antifúngica do viridiflorol, Trevizan et al. (2016) observaram que esse composto possui moderadas atividades antioxidantes e micobactericidas, além disso, também foi capaz de inibir de forma significativa a pleurite induzida por carragenina em ratos, diminuindo a migração total de leucócitos por $71\pm5\%$ (3mg/kg de viridiflorol) e $57\pm3\%$ (30mg/kg de viridiflorol).

Como já visto anteriormente, o óleo essencial de *Psidium myrsinites* foi efetivo contra as espécies de *Candida* testadas com resultados de relevância clínica, assim como também apresentou potencial fungicida e sinergismo associado ao antifúngico anfotericina B para a maioria das cepas. A pesquisa de novos agentes antifúngicos com produtos naturais vem ganhando destaque no meio científico devido a problemática envolvida na farmacoterapia das infecções fúngicas, uma vez que a mesma é bastante limitada em consequência da dificuldade de se encontrar um fármaco que seja eficaz apenas para as células fúngicas eucarióticas sem causar toxicidade para as células do hospedeiro, além da capacidade das células fúngicas de desenvolver resistência aos fármacos atualmente utilizados na clínica médica (SILVA et al., 2012).

Além do mais, as substâncias antifúngicas naturais são menos dispendiosas, possuem menos efeitos colaterais e podem representar terapias alternativas para a candidíase (ASDADI et al., 2015). Assim, por serem naturais, biodegradáveis e possuírem diversos componentes interagindo em sua composição, os OEs são peças-chave na pesquisa por novos medicamentos (FIGUEIREDO et al., 2008).

O presente estudo é de caráter inédito para avaliação da atividade anti-*Candida* e moduladora do OE de *P. myrsinites*. Além disso, poucos estudos foram realizados com o OE de plantas do gênero *Psidium* para essa atividade. Destarte, a comparação dos dados tornou-se difícil.

No estudo de Castro e colaboradores (2015), o OE das folhas *Psidium cattleianum*, coletadas em Pelotas, no Rio Grande do Sul, apresentou valores de CIM variando de $41,67 \pm 18,04$ a $166,70 \pm 72,17$ $\mu\text{g/mL}$ para as espécies de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. guilhermondii* e *C. lipolytica*. O principal composto encontrado foi isocariofileno (59,62%). Ademais, o OE não apresentou toxicidade *in vivo* nas concentrações testadas.

Macêdo et al. (2018) realizaram um estudo com o óleo essencial das folhas de *Psidium salutare* coletadas na Chapada do Araripe, Ceará, em períodos sazonais diferentes. A avaliação da atividade antifúngica revelou ação contra as cepas de *C. albicans*, *C. krusei* e *C. tropicalis* com um IC_{50} variando de 345,5 a 2.754,2 $\mu\text{g/mL}$ e um CFM superior a 1.024 $\mu\text{g/mL}$. Quando combinado o OE em concentrações subinibitórias (MIC/16) com o antifúngico fluconazol foi observado um efeito sinérgico contra todas as cepas de *Candida* testadas. O OE de *P. salutare* apresentou linalol, p-cimeno, terpinoleno, γ -terpineno e τ -cadinol como compostos majoritários.

O óleo essencial das folhas de *Psidium myrtoides*, coletadas na Chapada do Araripe, Ceará, em períodos sazonais diferentes, mostrou CFM variando de 1.024 a ≥ 16.384 $\mu\text{g/mL}$ para as cepas de *C. albicans*, *C. krusei* e *C. tropicalis* com valores de IC_{50} variando de 103,3 a 3564,5 $\mu\text{g/mL}$. Na análise química, o 1,8-cineol foi o principal composto presente em todas as amostras, seguido pelo α -eudesmol, elemol e α -pineno. O OE de *Psidium myrtoides* combinado com fluconazol obtiveram concentrações inibitórias mais baixas em comparação as obtidas apenas com fluconazol, indicando um efeito modulador sinérgico (MACÊDO et al., 2019).

Estes resultados diferem do presente estudo quanto as combinações com fluconazol, pois resultaram em interações sinérgicas. Tal fato pode ser associado as diferenças na composição química dos OEs. Provavelmente o presente estudo é um dos pioneiros na análise da modulação antifúngica utilizando óleo essencial de uma espécie do gênero *Psidium* e anfotericina B. No entanto, já existem relatos da atividade sinérgica da anfotericina B associada

a OEs de outras espécies, como no estudo de Mahboubi e Bidgoli (2010), Silva et al. (2011), Soulaïmani et al. (2019) e Jafri e Ahmad (2019).

A atividade antifúngica, em particular anti-*Candida*, de diversas espécies da família Myrtaceae vem sendo relatada (ARMIJOS et al., 2018; BAZZAZ et al., 2018; PERIC et al., 2019). Embora o gênero *Psidium* tenha sido menos explorado do ponto de vista de seus óleos essenciais, a atividade anti-*Candida* dos extratos de *P. brownianum*, *P. cattleianum*, *P. sartorianum* e, principalmente, *P. guajva* vem sendo descritas (CAMACHO-HERNÁNDEZ et al., 2004; ALVES et al., 2006; MORAIS-BRAGA et al., 2016a; MORAIS-BRAGA et al., 2016b; BEZERRA et al., 2018; SANGALLI et al., 2018).

Em relação ao mecanismo de ação dos OEs com atividade anti-*Candida*, sabe-se que o mesmo ainda não é completamente compreendido, pois este é descrito por diversas vias na literatura científica, tais como: 1) inibição da biossíntese da membrana celular (ergosterol) e alteração da estrutura (glucano, quitina e manano) e integridade da membrana; 2) alteração do ciclo do ácido cítrico e inibição da síntese de ATP nas mitocôndrias; e 3) inibição das bombas de efluxo (AHMAD; KHAN; MANZOOR, 2013; CHEN et al., 2013; FREIRES et al., 2014; İŞCAN; İŞCAN; DEMIRCI, 2016; OLIVEIRA et al., 2016; NAZZARO et al., 2017).

Não foram encontradas na literatura, relatos sobre o mecanismo de ação antifúngica de espécies do gênero *Psidium*. Ressaltando mais uma vez o caráter de idetismo do presente estudo, tal fato tornou a comparação dos resultados encontrados dificultosa. Entretanto ao buscar uma analogia do ponto de vista químico, um estudo com o OE de *Eugenia caryophyllus* para investigar seu mecanismo de ação, na presença de sorbitol e utilizando cepas de *C. albicans* e *C. glabrata*, os valores de CIM para o óleo essencial diminuíram significativamente. No entanto ao adicionar o ergosterol exógeno observou-se que os valores de CIM aumentaram, em análise fitoquímica os compostos majoritários identificados foram o eugenol, cariofileno e humuleno (GUCWA et al., 2018). Esses resultados vão de encontro com o presente estudo, pois, como visto anteriormente, os resultados sugerem que o mecanismo da propriedade anti-*Candida* do OEPM ocorre por ligação ao ergosterol e não impedindo a biossíntese do mesmo. Outro ponto em comum é a presença do componente cariofileno como majoritário, levando a crer que tal composto possa estar diretamente associado a este mecanismo de ação.

Deste modo acredita-se que o mecanismo de ação apresentado pelo OEPM vá de encontro com o mecanismo antifúngico da classe dos polienos (Anfotericina B), uma vez que ambos apresentaram comportamento semelhante na presença de ergosterol exógeno. A classe dos polienos apresentam-se como fungicidas, e atuam na degradação da membrana dos fungos. Devido possuírem a capacidade de se ligar a uma porção esterol abrindo canais na membrana,

em consequência, há permeabilidade da membrana e extravasamento de moléculas essenciais, culminando na morte celular (BERGOLD et al., 2004).

4 CONCLUSÃO

O presente estudo evidenciou a relevante atividade antifúngica do OE de *Psidium myrsinites* DC. frente as espécies de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*. Além disso, o óleo essencial agiu sinergicamente com o antimicótico anfotericina B para a maioria das cepas, exceto para um dos isolados de *C. albicans* e *C. tropicalis*. As combinações com fluconazol, no entanto, resultaram em interações indiferentes para todas as cepas. Possivelmente os compostos majoritários do OE foram responsáveis pela propriedade observada, como o metabólito espatulenol previamente relatado na literatura como antifúngico. Acredita-se ainda que o mecanismo de ação apresentado pelo OEPM vá de encontro com o mecanismo antifúngico da Anfotericina B, uma vez que ambos apresentaram comportamento semelhante na presença de ergosterol exógeno, demonstrando um potencial fungicida. Deste modo o OE de *P. myrsinites* demonstrou-se um potencial agente terapêutico frente as espécies do gênero *Candida*, ressaltando a importância da realização de estudos com este viés analítico utilizando espécies do gênero *Psidium*, as quais são amplamente utilizadas de forma empírica no tratamento de diversas enfermidades.

TABELA 1 – Constituintes majoritários do óleo essencial de *Psidium myrsinites* DC.

Pico	RT (min)	Composto	Área (%)
1	3.015	(3-Methyl-oxiran-2-yl)-methanol	1.55
9	7.644	α -Pinene	2.76
12	8.959	β -Pinene	4.52
18	10.738	1,8-Cineole	2.72
22	13.179	Linalol	0.97
33	23.302	β -Bourbonene	1.32
34	23.554	β -Elemene	1.69
38	24.585	β -Caryophyllene	16.12
43	25.596	Humulene	1.80
46	26.342	γ -Cadinene	4.12
47	26.492	Germacrene D	1.44
48	26.661	β -Selinene	1.33
56	27.830	δ -Cadinene	2.46
67	29.780	Spathulenol	17.65
69	29.868	Viridiflorol	6.74
70	30.032	Epiglobulol	1.04
72	30.374	Ledol	2.40
73	30.528	Caryophyllene oxide	2.07
77	31.068	Murolan	1.77
79	31.553	Tetracyclo[6.3.2.0(2,5).0(1,8)]trideca-	1.74
80	31.488	T-Murolol	2.27
81	31.611	1-Naphthalenol, 1,2,3,4,4a,7,8,8a-octah-	1.14
83	31.862	.alpha.-Cadinol	1.85

Fonte: autor, 2020. RT: tempo de retenção (minutos); Área (%): porcentagem do composto na amostra.

TABELA 2 – Atividade antifúngica do OE de *Psidium myrsinites* (Araçá de veado) frente espécies de *Candida* spp.

Espécies	Coleções	AMB	FLC	OE de <i>P. myrsinites</i>		
		CIM	CIM	CIM	CFM	CFM/CIM
<i>Candida albicans</i>	ATCC 60193	1	2	128	256	2
	CBS 562	0,125	1	64	128	2
<i>Candida krusei</i>	ATCC 6258	2	4	128	256	2
	CBS 573	1	8	256	256	1
<i>Candida parapsilosis</i> <i>stricto sensu</i>	ATCC 22019	1	2	128	256	2
	CBS 6045	0,5	4	64	128	2
<i>Candida tropicalis</i>	ATCC 13803	0,06	0,5	32	64	2
	CBS 94	0,25	1	128	128	1

AMB: Anfotericina B. FLC: Fluconazol. CIM: Concentração Inibitória Mínima ($\mu\text{g/mL}$). CFM: Concentração Fungicida Mínima ($\mu\text{g/mL}$). ATCC: American Type Collection Culture. CBS: Centraalbureau voor Schimmelcultures.

TABELA 3 – Efeito do óleo essencial de *Psidium myrsinites* (Araçá de veado) em *Candida* spp. na biossíntese da parede celular (sorbitol).

Espécies	Condições	Concentração do OE de <i>P. myrsinites</i> (µg/ml)									
		2048	1024	512	256	128	64	32	16	8	4
<i>C. albicans</i>	Com sorbitol	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+
ATCC 60193	Sem sorbitol	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	Com sorbitol	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+
CBS 562	Sem sorbitol	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>C. krusei</i>	Com sorbitol	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+
ATCC 6258	Sem sorbitol	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+
<i>C. krusei</i>	Com sorbitol	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+
CBS 573	Sem sorbitol	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+
<i>C. parapsilosis str. s.</i>	Com sorbitol	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+
ATCC 22019	Sem sorbitol	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+
<i>C. parapsilosis str. s.</i>	Com sorbitol	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+
CBS 6045	Sem sorbitol	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+
<i>C. tropicalis</i>	Com sorbitol	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+
ATCC 13803	Sem sorbitol	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>C. tropicalis</i>	Com sorbitol	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+
CBS 94	Sem sorbitol	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+

Fonte: Autor, 2020. +, Crescimento fúngico. –, Sem crescimento fúngico. ATCC: American Type Collection Culture. CBS: Centraalbureau voor Schimmelcultures.

TABELA 4 – Efeito de diferentes concentrações de ergosterol exógeno na CIM do óleo essencial de *Psidium myrsinites* (Araçá de veado) e anfotericina B contra *Candida* spp.

Cepas		CIM do OEPM na ausência de ergosterol	CIM do OEPM na presença de ergosterol			CIM do AMB na ausência de ergosterol	CIM do AMB na presença de ergosterol		
			100 µg/ml	200 µg/ml	400 µg/ml		100 µg/ml	200 µg/ml	400 µg/ml
<i>Candida albicans</i>	ATCC 60193	64	64	256	2048	1	8	32	32
	CBS 562	32	32	128	1024	0.125	1	2	4
<i>Candida krusei</i>	ATCC 6258	128	128	256	1024	2	4	16	64
	CBS 573	64	64	256	2048	1	2	4	16
<i>Candida parapsilosis</i>	ATCC 22019	128	128	512	2048	1	8	16	64
<i>stricto sensu</i>	CBS 6045	64	64	256	2048	0.5	4	16	32
<i>Candida tropicalis</i>	ATCC 13803	16	16	64	512	0.06	1	2	4
	CBS 94	128	128	512	2048	0.25	4	16	16

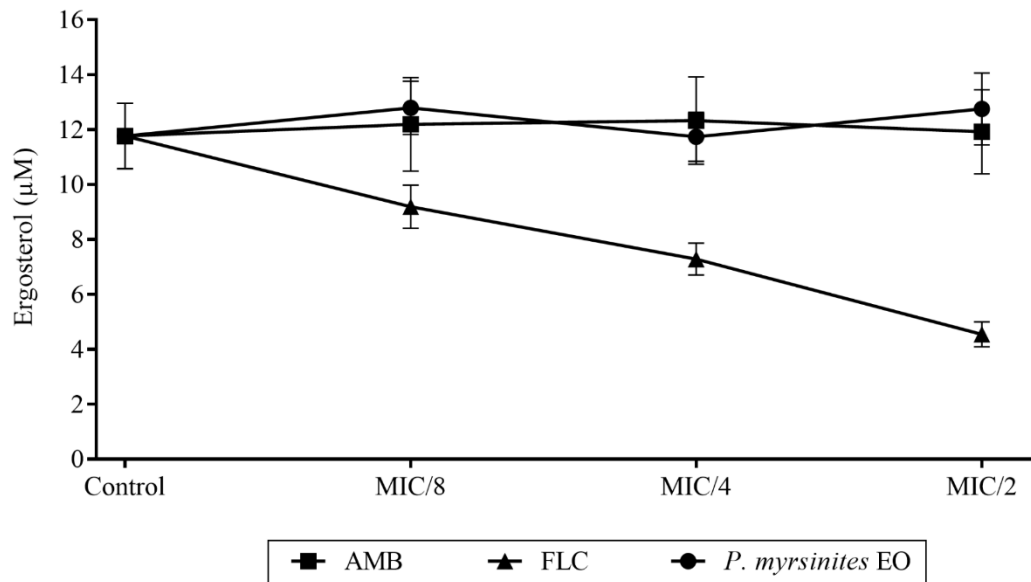
Fonte: Autor, 2020. OEPM: Óleo essencial de *Psidium myrsinites*. AMB: Anfotericina B. CIM: Concentração Inibitória Mínima (µg/ml). ATCC: American Type Collection Culture. CBS: Centraalbureau voor Schimmelcultures.

TABELA 5 – Interação farmacológica entre o óleo essencial de *Psidium myrsinites* e drogas antifúngicas frente células planctônicas de *Candida* spp.

Espécies	CIM (µg/mL)					ICIF	
	Drogas isoladas			Drogas combinadas			
	OE	AMB	FLC	OE / AMB	OE / FLC	OE + AMB	OE + FLC
<i>C. albicans</i>							
ATCC 60193	128	1	2	16 / 0,25	32 / 1	0,38 ^S	0,75 ^I
CBS 562	64	0,125	1	8 / 0,06	16 / 0,5	0,75 ^I	0,75 ^I
<i>C. krusei</i>							
ATCC 6258	128	2	4	32 / 0,5	32 / 2	0,5 ^S	0,75 ^I
CBS 573	256	1	8	8 / 0,25	64 / 4	0,28 ^S	0,75 ^I
<i>C. parapsilosis</i>							
<i>str. s.</i>							
ATCC 22019	128	1	2	16 / 0,125	32 / 2	0,25 ^S	1,25 ^I
CBS 6045	64	0,5	4	8 / 0,06	16 / 2	0,25 ^S	0,75 ^I
<i>C. tropicalis</i>							
ATCC 13803	32	0,06	0,5	8 / 0,03	8 / 1	0,75 ^I	2,25 ^I
CBS 94	128	0,25	1	32 / 0,03	32 / 2	0,375 ^S	2,25 ^I

OE: Óleo essencial de *P. myrsinites*. AMB: Amfotericina B. FLC: Fluconazol. CIM: Concentração Inibitória Mínima (µg/mL). ICIF: Índice de Concentração Inibitória Fracionada. ATCC: American Type Collection Culture. CBS: Centraalbureau voor Schimmelcultures. S: Sinérgica. I: Indiferente.

Figura 1 - Quantificação do conteúdo de ergosterol celular de *Candida* spp. após exposição a diferentes concentrações do OEPM. A leitura foi realizada a 295 nm para detectar a concentração de ergosterol, usando AMB como controle negativo e FLC como controle positivo para o conteúdo alterado de ergosterol. Resultados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão.



Fonte: Autor, 2020.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, A.; KHAN, A.; MANZOOR, N. Reversal of efflux mediated antifungal resistance underlies synergistic activity of two monoterpenes with fluconazole. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, n. 1-2, p. 80-86, 2013.
- ALVES, P. M.; LEITE, P. H. A. S.; PEREIRA, J. V.; PEREIRA, L. F.; PEREIRA, M. S.; HIGINO, J. S.; LIMA, E. O. Atividade antifúngica do extrato de *Psidium guajava* Linn.(goiabeira) sobre leveduras do gênero *Candida* da cavidade oral: uma avaliação in vitro. **Rev Bras Farmacogn**, v. 16, n. 2, p. 192-196, 2006.
- ARMIJOS, C.; VALAREZO, E.; CARTUCHE, L.; ZARAGOZA, T.; FINZI, P. V.; MELLERIO, G. G.; VIDARI, G. Chemical composition and antimicrobial activity of *Myrcianthes fragrans* essential oil, a natural aromatizer of the traditional Ecuadorian beverage colada morada. **Journal of ethnopharmacology**, v. 225, p. 319-326, 2018.
- ASDADI, A.; HAMDOUCH, A.; OUKACHA, A.; MOUTAJ, R.; GHARBY, S.; HARHAR, H.; EL HADEK, M.; CHEBLI, B.; HASSANI, L. I. Study on chemical analysis, antioxidant and in vitro antifungal activities of essential oil from wild *Vitex agnus-castus* L. seeds growing in area of Argan Tree of Morocco against clinical strains of *Candida* responsible for nosocomial infections. **Journal de mycologie medicale**, v. 25, n. 4, p. e118-e127, 2015.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils—a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.
- BAZZAZ, B. S. F.; HAMENEH, B.; NAMAZI, N.; IRANSHAHI, M.; DAVOODI, D.; GOLMOHAMMADZADEH, S. Solid lipid nanoparticles carrying *Eugenia caryophyllata* essential oil: the novel nanoparticulate systems with broad-spectrum antimicrobial activity. **Letters in applied microbiology**, v. 66, n. 6, p. 506-513, 2018.
- BERGOLD, A. M.; GEORGIADIS, S.; New Antifungic Drugs: A Review. *Visão Acadêmica*, Curitiba, v. 5, n. 2, p. 159 -172, 2004.
- BEZERRA, C. F.; ROCHA, J. E.; SILVA, M. K. N.; DE FREITAS, T. S.; DE SOUSA, A. K.; DOS SANTOS, A. T. L.; CRUZ, R. P.; FERREIRA, M. H.; SILVA, J. C. P.; MACHADO, A. J. T.; CARNEIRO, J. N. P.; SALES, D. L.; COUTINHO, H. D. M.; RIBEIRO, P. R. V.; BRITO, E. S.; MORAIS-BRAGA, M. F. B. Analysis by UPLC-MS-QTOF and antifungal activity of guava (*Psidium guajava* L.). **Food and chemical toxicology**, v. 119, p. 122-132, 2018.
- CAMACHO-HERNÁNDEZ, I. L.; CISNEROS-RODRIGUEZ, C.; URIBE-BELTRÁN, M. J.; RIOS-MORGAN, A.; DELGADO-VARGAS, F. Antifungal activity of fruit pulp extract from *Psidium sartorianum*. **Fitoterapia**, v. 75, n. 3-4, p. 401-404, 2004.
- CASTELO, A. V. M.; MENEZZI, C. H. S. D.; RESCK, I. S. Rendimento e análises espectroscópicas (RMN¹H, ¹³C; IV) da composição química dos óleos essenciais de quatro plantas do cerrado. **Cerne**, v. 16, p. 573-584, 2014.

CASTRO, M. R.; VICTORIA, F. N.; OLIVEIRA, D. H.; JACOB, R. G.; SAVEGNAGO, L.; ALVES, D. Essential oil of *Psidium cattleianum* leaves: antioxidant and antifungal activity. **Pharmaceutical biology**, v. 53, n. 2, p. 242-250, 2015.

CHAMORRO-DE-VEGA, E.; GIL-NAVARRO, M.; PÉREZ-BLANCO, J. Tratamiento de la vaginitis refractaria por *Candida krusei* con anfotericina B tópica. **Medicina Clínica**, v. 147, n. 12, p. 565-566, 2016.

CHEN, Y.; ZENG, H.; TIAN, J.; BAN, X.; MA, B.; WANG, Y. Antifungal mechanism of essential oil from *Anethum graveolens* seeds against *Candida albicans*. **Journal of medical microbiology**, v. 62, n. 8, p. 1175-1183, 2013.

CLSI. **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard - Third Edition**. CLSI document M27A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards, 2008.

CORCIONE, S.; ANGILLET, R.; RAVIOLO, S.; FILIPPINI, C.; FOSSATI, L.; DI PERRI, G.; CAVALLO, R.; DE ROSA, F. G. Epidemiology and risk factors for mortality in bloodstream infection by CP-Kp, ESBL-E, *Candida* and CDI: a single center retrospective study. **European journal of internal medicine**, v. 48, p. 44-49, 2018.

CORZO-LEÓN, D. E.; PERALES-MARTÍNEZ, D.; MARTIN-OSRAET, A.; RIVERA-MARTÍNEZ, N.; CAMACHO-ORTIZ, A.; VILLANUEVA-LOZANO, H. Monetary costs and hospital burden associated with the management of invasive fungal infections in Mexico: a multicenter study. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 22, n. 5, p. 360-370, 2018.

COSTA, T. R.; FERNANDES, O. F.; SANTOS, S. C.; OLIVEIRA, C. M.; LIÃO, L. M.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R.; FERREIRA, H. D.; SALES, B. H. N.; SILVA, M. R. R. Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil. **Journal of ethnopharmacology**, v. 72, n. 1-2, p. 111-117, 2000.

DIAS, C. N.; ALVES, L. P. L.; RODRIGUES, K. A. D. F.; BRITO, M. C. A.; ROSA, C. D. S.; AMARAL, F. M. M.; MONTEIRO, O. S.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S.; MORAES, D. F. C. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils extracted from brazilian legal amazon plants against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, p. 1-8, 2015.

DIAS, A. L.; BATISTA, H. R.; ESTEVAM, E. B.; ALVES, C. C.; FORIM, M. R.; NICOLELLA, H. D.; FURTADO, R. A.; TAVARES, D. C.; SILVA, T. S.; MARTINS, C. H. G.; MIRANDA, M. L. Chemical composition and in vitro antibacterial and antiproliferative activities of the essential oil from the leaves of *Psidium myrtilloides* O. Berg (Myrtaceae). **Natural Product Research**, v. 1, p. 1-5, 2018.

DURÃES, E. R. B.; DE OLIVEIRA, C. C.; FARI, L. R.; RAMOS, L. M.; OLIVEIRA, M. S.; DE PAULA, J. A. M.; NAVES, P. L. F. Phytochemical study, toxicity and antimicrobial activity of *Psidium myrsinites* DC. (Myrtaceae) leaves. **Bioscience Journal**, v. 33, p. 1305-1313, 2017.

ESTEVAM, E. B.; DEUS, I. P. D.; SILVA, V. P.; SILVA, E. A. D.; ALVES, C. C.; ALVES, J. M.; CAZAL, C. M.; MAGALHÃES, L. G.; PAGOTTI, M. C.; ESPERANDIM, V. R.; SOUZA, A. F.; MIRANDA, M. L. D. In vitro antiparasitic activity and chemical composition of the essential oil from *Protium ovatum* leaves (Burceraceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, p. 3005-3013, 2017.

FARAG, N. F.; EL-AHMADY, S. H.; ABDELRAHMAN, E. H.; NAUMANN, A.; SCHULZ, H.; AZZAM, S. M.; EL-KASHOURY, E. S. A. Characterization of essential oils from Myrtaceae species using ATR-IR vibrational spectroscopy coupled to chemometrics. **Industrial crops and products**, v. 124, p. 870-877, 2018.

FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G.; SCHEFFER, J. C. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, p. 213-226, 2008.

FIGUEIREDO, P. L. B.; SILVA, R. C.; DA SILVA, J. K. R.; SUEMITSU, C.; MOURÃO, R. H. V.; MAIA, J. G. S. Chemical variability in the essential oil of leaves of Araçá (*Psidium guineense* Sw.), with occurrence in the Amazon. **Chemistry Central Journal**, v. 12, p. 52-62, 2018.

FIGUEIREDO, P. L. B.; PINTO, L. C.; DA COSTA, J. S.; DA SILVA, A. R. C.; MOURÃO, R. H. V.; MONTENEGRO, R. C.; DA SILVA, J. K. R.; MAIA, J. G. S. Composition, antioxidant capacity and cytotoxic activity of *Eugenia uniflora* L. chemotype-oils from the Amazon. **Journal of ethnopharmacology**, v. 232, p. 30-38, 2019.

FREITAS, M. O.; MORAIS, S. M.; SILVEIRA, E. R. Volatile constituents of *Psidium myrsinoides* O. Berg. **Journal of Essential Oil Research**, v. 14, p. 364-365, 2002.

FREIRES, I. A.; MURATA, R. M.; FURLETTI, V. F.; SARTORATTO, A.; DE ALENCAR, S. M.; FIGUEIRA, G. M.; RODRIGUES, J. A. O.; DUARTE, M. C. T.; ROSALEN, P. L. *Coriandrum sativum* L.(coriander) essential oil: antifungal activity and mode of action on *Candida* spp., and molecular targets affected in human whole-genome expression. **PLoS One**, v. 9, n. 6, p. e99086, 2014.

GELINSKI, J. M. L. N.; ROSA, J. C. D.; PARAVISI, E. D. F. A.; BARATTO, C. M. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) e de seu composto ativo nerolidol em combinação ao EDTA ou lisozima. **Evidência-Ciência e Biotecnologia**, v. 7, p. 131-144, 2007.

GHAFFARI, T.; KAFIL, H. S.; ASNAASHARI, S.; FARAJNIA, S.; DELAZAR, A.; BAEK, S. C.; HAMISHEHKAR, H.; KIM, K. H. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from the aerial parts of *Pinus eldarica* grown in northwestern Iran. **Molecules**, v. 24, n. 17, p. 3203, 2019.

GUCWA, K.; MILEWSKI, S.; DYMERSKI, T.; SZWEDA, P. Investigation of the antifungal activity and mode of action of *Thymus vulgaris*, *Citrus limonum*, *Pelargonium graveolens*, *Cinnamomum cassia*, *Ocimum basilicum*, and *Eugenia caryophyllus* essential oils. **Molecules**, v. 23, n. 5, p. 1116, 2018.

HOUËL, E.; FLEURY, M.; ODONNE, G.; NARDELLA, F.; BOURDY, G.; VONTHRON-SÉNÉCHEAU, C.; VILLA, P.; OBRECHT, A.; EPARVIER, V.; DEHARO, E.; STIEN, D. Antiplasmodial and anti-inflammatory effects of an antimalarial remedy from the Wayana Amerindians, French Guiana: Takamalaimë (*Psidium acutangulum* Mart. Ex DC., Myrtaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 166, p. 279-285, 2015.

İŞCAN, G.; İŞCAN, A.; DEMIRCI, F. Anticandidal effects of thymoquinone: Mode of action determined by transmission electron microscopy (TEM). **Natural product communications**, v. 11, n. 7, p. 977-978, 2016.

JAFRI, H.; AHMAD, I. *Thymus vulgaris* essential oil and thymol inhibit biofilms and interact synergistically with antifungal drugs against drug resistant strains of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. **Journal de Mycologie Médicale**, p. 100911, 2019.

JAHANSHIRI, Z.; MANIFAR, S.; MOOSA, H.; ASGHARI-PASKIABI, F.; MAHMOODZADEH, H.; SHAMS-GAHFAROKHI, M.; RAZZAGHI-ABYANEH, M. Oropharyngeal candidiasis in head and neck cancer patients in Iran: Species identification, antifungal susceptibility and pathogenic characterization. **Journal de mycologie medicale**, v. 28, n. 2, p. 361-366, 2018.

KAANICHE, F. M.; ALLELA, R.; CHERIF, S.; BEN ALGIA, N. Invasive candidiasis in critically ill patients. **Trends in Anaesthesia and Critical Care**, v. 11, p. 1-5, 2016.

KATO, H.; YOSHIMURA, Y.; SUIDO, Y.; SHIMIZU, H.; IDE, K.; SUGIYAMA, Y.; MATSUNO, K.; NAKAJIMA, H. Mortality and risk factor analysis for *Candida* blood stream infection: A multicenter study. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 25, p. 341-345, 2019.

LI, S.; SHI, H.; CHANG, W.; LI, Y.; ZHANG, M.; QIAO, Y.; LOU, H. Eudesmane sesquiterpenes from *Chinese liverwort* are substrates of Cdrs and display antifungal activity by targeting Erg6 and Erg11 of *Candida albicans*. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 25, n. 20, p. 5764-5771, 2017.

MACÊDO, D. G.; SOUZA, M. M. A.; MORAIS-BRAGA, M. F. B.; COUTINHO, H. D. M.; DOS SANTOS, A. T. L.; DA CRUZ, R. P.; DA COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F. F. G.; QUINTANS-JUNIOR, L. J.; ALMEIDA, J. R. G. S.; DE MENEZES, I. R. A. Effect of seasonality on chemical profile and antifungal activity of essential oil isolated from leaves *Psidium salutare* (Kunth) O. Berg. **PeerJ**, v. 6, p. e5476, 2018.

MACÊDO, D. G.; SOUZA, M. M. A.; MORAIS-BRAGA, M. F. B.; COUTINHO, H. D. M.; DOS SANTOS, A. T. L.; MACHADO, A. J. T.; RODRIGUES, F. F. G.; DA COSTA, J. G. M.; DE MENEZES, I. R. A. et al. Seasonality influence on the chemical composition and antifungal activity of *Psidium myrtilloides* O. Berg. **South African Journal of Botany**, v. 128, p. 9-17, 2019.

MACHADO, A. J.; SANTOS, A. T.; MARTINS, G. M.; CRUZ, R. P.; COSTA, M. D. S.; CAMPINA, F. F.; FREITAS, M. A.; BEZERRA, C. F.; LEAL, A. L. A. B.; CARNEIRO, J. N. P.; CORONEL, C.; ROLÓN, M.; GÓMEZ, C. V.; COUTINHO, H. D. M.; MORAIS-BRAGA, M. F. B. Antiparasitic effect of the *Psidium guajava* L.(guava) and *Psidium*

brownianum MART. EX DC.(araçá-de-veado) extracts. **Food and Chemical Toxicology**, v. 119, p. 275-280, 2018.

MAHBOUBI, M.; BIDGOLI, F. Ghazian. In vitro synergistic efficacy of combination of amphotericin B with *Myrtus communis* essential oil against clinical isolates of *Candida albicans*. **Phytomedicine**, v. 17, n. 10, p. 771-774, 2010.

MEDEIROS, F. C. D.; MENEZZI, C. H.; BIZZO, H. R.; VIEIRA, R. F. Scents from Brazilian Cerrado: *Psidium myrsinites* DC. (Myrtaceae) leaves and inflorescences essential oil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 27, p. 289-292, 2015.

MIRANDA-CADENA, K.; MARCOS-ARIAS, C.; MATEO, E.; AGUIRRE, J. M.; QUINDÓS, G.; ERASO, E. Prevalence and antifungal susceptibility profiles of *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and their close-related species in oral candidiasis. **Archives of oral biology**, v. 95, p. 100-107, 2018.

MORAIS-BRAGA, M. F. B.; CARNEIRO, J. N.; MACHADO, A. J.; SALES, D. L.; BRITO, D. I.; ALBUQUERQUE, R. S.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; CALIXTO JÚNIOR, J. T.; SOUZA, D. S. L.; LIMA, E. O.; MENEZES, I. R. A.; COSTA, J. G. M.; FERREIRA, F. S.; COUTINHO, H. D. M. High-performance liquid chromatography-diode array detector, fungistatic, and anti-morphogenical analysis of extracts from *Psidium brownianum* mart. ex DC. Against yeasts of the genus *Candida*. **International Journal of Food Properties**, v. 19, n. 8, p. 1837-1851, 2016a.

MORAIS-BRAGA, M. F. B.; SALES, D. L.; CARNEIRO, J. N. P.; MACHADO, A. J. T.; DOS SANTOS, A. T. L.; DE FREITAS, M. A.; MARTINS, G. M. A. B.; LEITE, N. F.; DE MATOS, Y. M. L. S.; TINTINO, S. R.; SOUZA, D. S. L.; MENEZES, I. R. A.; RIBEIRO-FILHO, J.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M. *Psidium guajava* L. and *Psidium brownianum* Mart ex DC.: Chemical composition and anti-*Candida* effect in association with fluconazole. **Microbial pathogenesis**, v. 95, p. 200-207, 2016b.

MOTTA, F. A.; DALLA-COSTA, L. M.; MURO, M. D.; CARDOSO, M. N.; PICHARSKI, G. L.; JAEGER, G.; BURGER, M. Risk factors for candidemia mortality in hospitalized children. **Jornal de pediatria**, v. 93, n. 2, p. 165-171, 2017.

NASCIMENTO, K. F.; MOREIRA, F. M. F.; SANTOS, J. A.; KASSUYA, C. A. L.; CRODA, J. H. R.; CARDOSO, C. A. L.; VIEIRA, M. C.; RUIZ, A. L. T. G.; FOGLIO, M. A.; CARVALHO, J. E.; FORMAGIO, A. S. N. Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 210, p. 351-358, 2018.

NAZZARO, F.; FRATIANNI, F.; COPPOLA, R.; DE FEO, V. Essential Oils and Antifungal Activity. **Pharmaceuticals**, v. 10, n. 4, p. 86-106, 2017.

NIETO, G. Biological activities of three essential oils of the Lamiaceae family. **Medicines**, v. 4, p. 1-10, 2017.

ODDS, F. C. Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 52, n. 1, p. 1, 2003.

- OLIVEIRA, L. B. S.; BATISTA, A. H. M.; FERNANDES, F. C.; SALES, G. W. P.; NOGUEIRA, N. A. P. Atividade antifúngica e possível mecanismo de ação do óleo essencial de folhas de *Ocimum gratissimum* (Linn.) sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 18, n. 2, p. 511-523, 2016.
- PEREIRA, C. K. B. P. **Estudo químico e atividades microbiológicas de espécies do gênero *Psidium* (Myrtaceae)**. 2010. 120f. Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular). Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Regional do Cariri, Crato, 2010.
- PERIC, M.; RAJKOVIC, K.; LEMIC, A. M.; ZIVKOVIC, R.; ARSENIJEVIC, V. A. Development and validation of mathematical models for testing antifungal activity of different essential oils against *Candida* species. **Archives of Oral Biology**, v. 98, p. 258-264, 2019.
- PIÑA-VÁZQUEZ, D. M.; MAYORAL-PEÑA, Z.; GÓMEZ-SÁNCHEZ, M.; SALAZAR-OLIVO, L. A.; ARELLANO-CARBAJAL, F. Anthelmintic effect of *Psidium guajava* and *Tagetes erecta* on wild-type and Levamisole-resistant *Caenorhabditis elegans* strains. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 202, p. 92-96, 2017.
- PINHO, A. I.; WALLAU, G. L.; NUNES, M. E. M.; LEITE, N. F.; TINTINO, S. R.; CRUZ, L. C.; CUNHA, F. A. B.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; POSSER, T.; FRANCO, J. L. Fumigant activity of the *Psidium guajava* var. *pomifera* (Myrtaceae) essential oil in *Drosophila melanogaster* by means of oxidative stress. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2014, p. 1-8, 2014.
- RATTAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop Protection**, v. 29, p. 913-920, 2010.
- SANGALLI, J.; JARDIM JÚNIOR, E. G.; BUENO, C. R. E.; JACINTO, R. C.; SIVIERI-ARAÚJO, G.; GOMES FILHO, J. E.; CINTRA, L. T. A.; DEZAN JUNIOR, E. Antimicrobial activity of *Psidium cattleianum* associated with calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*: an in vitro study. **Clinical oral investigations**, v. 22, n. 6, p. 2273-2279, 2018.
- SANGARÉ, I.; SIRIMA, C.; BAMBA, S.; ZIDA, A.; CISSÉ, M.; BAZIÉ, W. W.; SANOU, S.; DAO, B.; MENAN, H.; GUIGUEMDE, R. T. Prevalence of vulvovaginal candidiasis in pregnancy at three health centers in Burkina Faso. **Journal de mycologie medicale**, v. 28, n. 1, p. 186-192, 2018.
- SANTOS, J. F. S.; ROCHA, J. E.; BEZERRA, C. F.; DO NASCIMENTO SILVA, M. K.; DE MATOS, Y. M. L. S.; DE FREITAS, T. S.; DOS SANTOS, A. T. L.; DA CRUZ, R. P.; MACHADO, A. J. T.; RODRIGUES, T. H. S. Chemical composition, antifungal activity and potential anti-virulence evaluation of the *Eugenia uniflora* essential oil against *Candida* spp. **Food Chem.**, v. 261, p. 233-239, 2018.
- SCORZONI, L.; SANGALLI-LEITE, F.; DE LACORTE SINGULANI, J.; COSTA-ORLANDI, C. B.; FUSCO-ALMEIDA, A. M.; MENDES-GIANNINI, M. J. S. Searching new antifungals: The use of in vitro and in vivo methods for evaluation of natural compounds. **J. Microbiol. Methods**, v. 123, p. 68-78, 2016.

SCUR, M. C.; PINTO, F. G. S.; PANDINI, J. A.; COSTA, W. F.; LEITE, C. W.; TEMPONI, L. G. Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil and different plant extracts of *Psidium cattleianum* Sabine. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, p. 101-108, 2016.

SHARIFZADEH, A.; SHOKRI, H.; ABBASZADEH, S. Interaction of carvacrol and voriconazole against drug-resistant *Candida* strains isolated from patients with candidiasis. **Journal de mycologie medicale**, v. 29, p. 44-48, 2018.

SIANI, A. C.; SOUZA, M. C.; HENRIQUES, M. G.; RAMOS, M. F. Anti-inflammatory activity of essential oils from *Syzygium cumini* and *Psidium guajava*. **Pharmaceutical Biology**, v. 51, p. 881-887, 2013.

SIDDIQUI, Z. N.; FAROOQ, F.; MUSTHAFA, T. N. M.; AHMAD, A.; KHAN, A. U. Synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of novel halopyrazole derivatives. **J. Saudi Chem. Soc.**, v. 17, n. 2, p. 237-243, 2013.

SILVA, Filomena et al. Antifungal activity of *Coriandrum sativum* essential oil, its mode of action against *Candida* species and potential synergism with amphotericin B. **Phytomedicine**, v. 19, n. 1, p. 42-47, 2011.

SILVA, B. J. M.; HAGE, A. A. P.; SILVA, E. O.; RODRIGUES, A. P. D. Medicinal plants from the Brazilian Amazonian region and their antileishmanial activity: a review. **Journal of Integrative Medicine**, v. 1, p. 1-62, 2018.

SILVA, S.; NEGRI, M.; HENRIQUES, M.; OLIVEIRA, R.; WILLIAMS, D. W.; AZEREDO, J. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. **FEMS microbiology reviews**, v. 36, n. 2, p. 288-305, 2012.

SOULAIMANI, B.; NAFIS, A.; KASRATI, A.; ROCHDI, A.; MEZRIOUI, N. E.; ABBAD, A.; HASSANI, L. Chemical composition, antimicrobial activity and synergistic potential of essential oil from endemic *Lavandula maroccana* (Mill.). **South African Journal of Botany**, v. 125, p. 202-206, 2019.

SOUZA, T. D. S.; FERREIRA, M. F. S.; MENINI, L.; SOUZA, J. R. C. L.; BERNARDES, C. O.; FERREIRA, A. Chemotype diversity of *Psidium guajava* L. **Phytochemistry**, v. 153, p. 129-137, 2018.

SOUZA, C. E. S.; SILVA, A. R. P.; GOMEZ, M. C. V.; ROLÓM, M.; CORONEL, C.; COSTA, J. G. M.; SOUSA, A. K.; ROLIM, L. A.; SOUZA, F. H. S.; COUTINHO, H. D. M. Anti-*Trypanosoma*, anti-*Leishmania* and cytotoxic activities of natural products from *Psidium brownianum* Mart. ex DC. and *Psidium guajava* var. *Pomifera* analysed by LC-MS. **Acta Tropica**, v. 176, p. 380-384, 2017.

TREVIZAN, L. N. F.; NASCIMENTO, K. F.; SANTOS, J. A.; KASSUYA, C. A. L.; CARDOSO, C. A. L.; VIEIRA, M. C.; MOREIRA, F. M. F.; CRODA, J.; FORMAGIO, A. S. N. Anti-inflammatory, antioxidant and anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity of viridiflorol: The major constituent of *Allophylus edulis* (A. St.-Hil., A. Juss. & Cambess.) Radlk. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 192, p. 510-515, 2016.

VIDAL, C. S.; OLIVEIRA-TINTINO, C. D. M.; TINTINO, S. R.; GALVÃO, H. B. F.; DA COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; DE MENEZES, I. R. A. Chemical composition, antibacterial and modulatory action of the essential oil of *Croton rhamnifolioides* leaves Pax and Hoffman. **Bioscience Journal**, v. 32, n. 6, 2016.

WANG, L.; WU, Y.; HUANG, T.; SHI, K.; WU, Z. Chemical compositions, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils of *Psidium guajava* L. Leaves from different geographic regions in China. **Chemistry & Biodiversity**, v. 14, p. 1-33, 2017.

WELI, A.; AL-KAABI, A.; AL-SABAHI, J.; SAID, S.; HOSSAIN, M. A.; AL-RIYAMI, S. Chemical composition and biological activities of the essential oils of *Psidium guajava* leaf. **Journal of King Saud University-Science**, v. 1, p. 1-6, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guía de atención integral en VIH/Sida 2010**. [s.l.], 2010. Disponível em: <https://www.who.int/hiv/pub/guidelines/ecuador_art.pdf>. Acesso em 16 de agosto de 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Report of the 2nd Meeting of the Global AMR Surveillance System (GLASS) Collaborative Platform**. [s.l.], 2016. Disponível em: <<https://www.who.int/antimicrobial-resistance/events/2017-Dec-15-16-GLASS-meeting-report.pdf>>. Acesso em 16 de agosto de 2019.

XAVIER, M. N.; ALVES, J. M.; CARNEIRO, N. S.; SOUCHIE, E. L.; SILVA, E. A. J.; MARTINS, C. H. G.; AMBROSIO, M. A. L. V.; EGEA, M. B.; ALVES, C. C. F.; MIRANDA, M. L. D.. Composição Química do Óleo Essencial de *Cardiopetalum calophyllum* Schltdl.(Annonaceae) e suas Atividades Antioxidante, Antibacteriana e Antifúngica. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 5, p. 1-16, 2016.

XIE, C.; SUN, L.; MENG, L.; WANG, M.; XU, J.; BARTLAM, M.; GUO, Y. Sesquiterpenes from *Carpesium macrocephalum* inhibit *Candida albicans* biofilm formation and dimorphism. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 25, n. 22, p. 5409-5411, 2015.

ZIDA, A.; BAMBA, S.; YACOUBA, A.; OUEDRAOGO-TRAORE, R.; GUIGUEMDÉ, R. T. Anti-*Candida albicans* natural products, sources of new antifungal drugs: A review. **Journal de mycologie medicale**, v. 27, n. 1, p. 1-19, 2017.

4.2 Artigo 2: LEISHMANICIDAL AND TRYPANOCIDAL POTENTIAL OF THE ESSENTIAL OIL OF *Psidium myrsinites* DC.

LEISHMANICIDAL AND TRYPANOCIDAL POTENTIAL OF THE ESSENTIAL OIL OF *Psidium myrsinites* DC.

Lilian Cortez Sombra Vandesmet²

ABSTRACT

Neglected tropical diseases (NTDs) are a group of pathologies caused by infectious agents or parasites, including the protozoa *Leishmania* sp. and *Trypanosoma cruzi*, which cause leishmaniasis and Chagas disease, respectively. The complications of the treatment regimen indicate the urgent need to search for new strategies and therapeutic agents. Among these is the essential oil of *Psidium myrsinites* DC. The essential oil of the leaves (PMEO) was evaluated in vitro and cytotoxic activity was analyzed against promastigotes of *Leishmania braziliensis* and *Leishmania infantum* and epimastigotes of *Trypanosoma cruzi*, as well as mammalian cells. The results showed that the PMEO had relevant activity against *L. braziliensis*, low cytotoxicity and a high selectivity index SI = 6.6. These results suggest that PMEO has antiparasitic potential against *L. braziliensis*, making this species is a possible alternative therapeutic source, given its effectiveness in the *in vitro* tests performed, opening the possibility of new biological studies in vivo.

Keywords: Natural products. Essential oil. Leishmaniasis. *Psidium myrsinites* DC. Myrtaceae.

1. Introduction

Chagas disease and leishmaniasis annually cause the death of thousands of people worldwide, but they remain classified as neglected tropical diseases (NTD). Thus, they are prone to late diagnosis and lack of efficient therapeutic strategies. Furthermore, the drugs used are associated with serious side effects and are losing effectiveness due to the emergence of resistant strains. In this context, active extracts and isolated plant molecules used in traditional folk medicine have been gaining attention, especially essential oils, in view of the numerous

²Mestre, Docente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Católica de Quixadá – UNICATÓLICA. E-mail: lilianvandesmet@gmail.com

biological properties reported, including leishmanicidal and trypanocidal activity (Hamdi et al., 2018; Pereira et al., 2018; Tiwari et al., 2018; Echeverria; Morillo, 2019).

Plants belonging to the genus *Psidium* are frequent targets of research, since they have essential oils and other secondary metabolites with proven biological properties, including antiparasitic activity (Souza et al., 2017; Piña-Vázquez et al., 2017; Machado et al., 2018). Thus, we evaluated the cytotoxicity and the leishmanicidal and trypanocidal activities of the essential oil of the leaves of *Psidium myrsinites* DC. (PMEO) grown in Northeastern Brazil (Araripe, Pernambuco, Brazil).

2. Results and Discussion

The essential oil from fresh leaves of *Psidium myrsinites* (PMEO) was previously characterized by GC-MS. The analysis of the PMEO chemical composition showed to contain mainly sesquiterpenes, having spathulenol, β -caryophyllene and viridiflorol as major compounds (data not shown).

The PMEO demonstrated excellent antiparasitic activity against the promastigote form of *L. braziliensis* ($IC_{50} = 52.2 \mu\text{g/mL}$), in addition to excellent selectivity index ($SI = 6.6$), showing greater selectivity for *L. braziliensis*. However, no relevant antiparasitic activities were observed against the promastigote form of *L. infantum* ($IC_{50} = 429.7 \mu\text{g/mL}$) and epimastigote form of *T. cruzi* ($IC_{50} = 1519 \mu\text{g/mL}$). As for cytotoxicity against NCTC-929 murine fibroblasts, the PMEO showed $IC_{50} = 346.1 \mu\text{g/mL}$ (Table 1). The drug used as a positive control for miltefosine behaved differently in relation to the two species of *Leishmania* (Table 2). Benzonidazole, the positive control against epimastigote cells of the species *Trypanosoma cruzi*, presented low toxicity against fibroblasts (Table 3).

The activity verified in the EO investigated here is probably due to the presence of sesquiterpenes (58.13%), given there are already reports of leishmanicidal activity of these compounds (Garcia et al., 2018). Some of the major components found in the PMEO can be associated with the effects observed in this study. Spathulenol, present as a major constituent in different EOs, was considered to be responsible for the effect against promastigotes of *Leishmania amazonensis* and *Leishmania donovani* (Estevam et al., 2017).

The present study is a pioneer in the analysis of antiparasitic activity using essential oil of a species of the genus *Psidium*. Therefore, the comparison of data with others found in the literature was difficult. In the study of Souza et al. (2017), the ethanolic extract of the leaves of *Psidium guajava* L. and *Psidium brownianum* Mart. ex DC presented low cytotoxicity and promising antiparasitic activity compared to promastigote forms of *Leishmania braziliensis* and

Leishmania infantum, respectively inhibiting 56.37, 74.26, 44.87 and 76.70% of the parasites at the highest concentration tested (1000 µg/mL).

3. Conclusion

This study showed that the EO of *Psidium myrsinites* DC. has promising antiparasitic action against promastigote forms of *L. braziliensis*. In the case of cytotoxicity, the levels presented were moderate. Probably the major compounds of the analyzed EO are responsible for the observed effect, since the literature presents data on the antiparasitic property of spathulenol, the major component of this oil. Thus, detailed studies with species belonging to the Myrtaceae family, especially the species of the genus *Psidium*, are necessary to elucidate the biotechnological potential of plant species in Caatinga regions.

References

- Echeverria LE, Morillo AL. 2019. American trypanosomiasis (Chagas disease). Infectious Disease Clinics of North America. 33: 119–134.
- Estevam EB, Deus IPD, Silva VP, Silva EAD, Alves CC, Alves JM, Cazal CM, Magalhães LG, Pagotti MC, Esperandim VR, Souza AF, Miranda MLD. 2017. In vitro antiparasitic activity and chemical composition of the essential oil from *Protium ovatum* leaves (Burceraceae). Anais da Academia Brasileira de Ciências. 89: 3005-3013.
- Hamdi A, Bero J, Beaufay C, Flamini G, Marzouk Z, Heyden YV, Quetin-Leclercq, J. 2018. In vitro antileishmanial and cytotoxicity activities of essential oils from *Haplophyllum tuberculatum* A. Juss leaves, stems and aerial parts. BMC Complementary and Alternative Medicine. 18: 60.
- Garcia MCF, Soares DC, Santana RC, Saraiva EM, Siani AC, Ramos MFS, Danelli MGM, Souto-Padron TC, Pinto-da-Silva LH. 2018. The in vitro antileishmanial activity of essential oil from *Aloysia gratissima* and guaiol, its major sesquiterpene against *Leishmania amazonensis*. Parasitology, 1: 1-9.
- Machado AJ, Santos AT, Martins GM, Cruz RP, Costa MDS, Campina FF, Freitas MA, Bezerra CF, Leal ALAB, Carneiro JNP, Coronel C, Rolón M, Gómez CV, Coutinho HDM, Moraes-Braga MFB. 2018. Antiparasitic effect of the *Psidium guajava* L.(guava) and *Psidium brownianum* MART. EX DC. (araçá-de-veado) extracts. Food and Chemical Toxicology. 1: 1-6.
- Souza CES, Silva ARP, Gomez MCV, Rolón M, Coronel C, Costa JGM, Sousa AK, Rolim LA, Souza FHS, Coutinho HDM. 2017. Anti-*Trypanosoma*, anti-*Leishmania* and cytotoxic activities of natural products from *Psidium brownianum* Mart. ex DC. and *Psidium guajava* var. Pomifera analysed by LC–MS. Acta Tropica. 176: 380-384.
- Pereira PS, Maia AJ, Duarte AE, Oliveira-Tintino CDM, Tintino SR, Barros LM, Vega-Gomez MC, Rolón M, Coronel C, Coutinho HDM, Da Silva TG. 2018. Cytotoxic and anti-kinetoplastid potential of the essential oil of *Alpinia speciosa* K. Schum. Food and Chemical Toxicology. 2: 1-5.

Piña-Vázquez DM, Mayoral-Peña Z, Gómez-Sánchez M, Salazar-Olivo LA, Arellano-Carbajal F. 2017. Anthelmintic effect of *Psidium guajava* and *Tagetes erecta* on wild-type and Levamisole-resistant *Caenorhabditis elegans* strains. *Journal of Ethnopharmacology*. 202: 92-96.

Tiwari N, Gedda MR, Tiwari VK, Singh SP, Singh RK. 2018. Limitations of current therapeutic options, possible drug targets and scope of natural products in control of leishmaniasis. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 18: 26–41.

Experimental section

1.1. Plant material

The leaves of *Psidium myrsinites* DC. were collected in an area of native vegetation in AGRODOIA community located in Serra dos Paus Dóias in Chapada do Araripe (Exu, Pernambuco; latitude 7° 21"S, longitude 39° 53" W and altitude 884 m), in July 2018, under authorization of the Chico Mendes Institute for Conservation of Biodiversity (ICMBio) under license SISBIO 59070-1. The plant material was identified by Dr. Maria Arlene Pessoa da Silva of the Laboratory of Microbiology and Molecular Biology of the Regional University of Cariri (URCA). A voucher specimen (registration number 14.204) was deposited in the URCA Herbarium.

1.2. Extraction of essential oil

To obtain oil from the leaves of *Psidium myrsinites* (PMEO), the plant material was crushed into small pieces and subjected to steam distillation (4,500g, 3 h). The EO was filtered, weighed and the oil yield was calculated in% (w/w). The EO was then stored in a dark bottle and refrigerated (at + 5 °C) until use.

1.3. Cell cultures

Tests with *T. cruzi* were performed using clone CL-B5 (Buckner et al., 1996) carrying the *Escherichia coli* β -galactosidase (lacZ) gene, kindly supplied by Dr. F. Buckner of the Gorgas Memorial Institute (Panama). The epimastigote forms were cultured at 28 °C in liver infusion tryptose broth (Difco, Detroit, MI) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) (Gibco, Carlsbad, CA), penicillin (Ern, SA, Barcelona, Spain) and streptomycin. Cells were collected for testing in the exponential growth phase.

Cultures of *Leishmania braziliensis* (MHOM/CO/88/UA301) and *L. infantum* (MHOM/ES/92/BCN83) were obtained from the Institute of Health Sciences Research (Paraguay). The strains were grown at 22 °C in Schneider's Drosophila medium supplemented with 20% FBS.

The cytotoxicity assays were performed using NCTC-929 murine fibroblasts obtained from the National Collection of Culture Types. The cells were cultured in minimum essential medium supplemented with FBS (10%), penicillin G (100 U/ml) and streptomycin (100 mg/ml). The cultures were maintained at 37 °C in a humidified atmosphere with 5% CO₂.

1.4. Anti-*T. cruzi* assay

Aliquots of epimastigote forms of *T. cruzi* suspension (200 μ L at 1×10^5 per milliliter) were treated with different concentrations of PMEO (15.75 μ g/mL to 1000 μ g/mL) at 28 °C. After 72 h, 200 μ M of red- β -D-galactopyranoside chlorophenol (CPRG; dissolved in a solution of 0.9% Triton X-100)

was used to evaluate parasite viability. The plates were incubated at 37 °C for 6 h and then the absorbance was determined at 595 nm. Benznidazole was the reference drug.

1.5. Leishmanicidal activity

Promastigote forms (2.5×10^5 parasites/well) were treated with PMEO (15.75 µg/mL to 1000 µg/mL). After incubation for 48 h at 26 °C, a resazurin solution (20 µl) was added and the absorbance was determined at 595 nm. Miltefosine was used as positive control.

1.6. Cytotoxicity evaluation

NCTC-929 cells were seeded (100 µL; 3×10^4 cells/well) in 96-well plates with 100 µL of RPMI 1640 culture medium per well. Cells were grown overnight at 37 °C with 5% CO₂. The medium was removed, and new medium was added containing 15.75 µg/mL to 1000 µg/mL of PMEO. Cell viability was evaluated using resazurin as described above. The toxicity to the fibroblast cells and the activity against the protozoa were compared by using the selectivity index (SI) (IC_{50} for NCTC-929 cells/ IC_{50} for protozoa).

1.7. Statistical analysis

The experiments were performed in triplicate with at least two independent repetitions. Data are presented as means ± standard deviations (SD) or percentages. Statistical analyses were performed using the software GraphPad Prism version 5.0. Data were submitted to one-way analysis of variance (ANOVA) and the Tukey test. A p-value of <0.05 was considered statistically significant. IC values were determined by linear regression.

References

Buckner, F.S., Verlinde, C.L., La Flamme, A.C., Van Voorhis, W.C. 1996. Efficient technique for screening drugs for activity against *Trypanosoma cruzi* using parasites expressing beta-galactosidase. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 40, p. 2592–2597.

TABLE 1 - Leishmanicidal and trypanocidal activity of essential oil of *Psidium myrsinites*.

Natural Product	Concentration (µg/mL)	%AP	%AP	%AE	%C
		<i>L. braziliensis</i>	<i>L. infantum</i>	<i>T. cruzi</i>	
	IC ₅₀ (µg/mL)	52,2 µg/mL	429,7 µg/mL	1519 µg/mL	346,1 µg/mL
	SI	6,6	0,8	0,2	1
PMEO	1000	81.34 ±0.35	46.48 ±0.79	26,02 ±0.21	76,98 ± -
	500	80.08 ±0.66	43.88 ±0.64	24,27 ±0.50	47,52 ±0.75
	250	77.78 ±0.14	43.05 ±0.18	24,12 ±0.21	47,08 ±0.80
	125	77.35 ±0.13	42.57 ±0.96	23,48 ±1.13	42,00 ±2.69
	62,5	76.35 ±0.54	39.92 ±0.22	23,27 ±0.45	0.00 ±0.25
	31,25	41.78 ±0.93	0.00 ±1.2	14,15 ±0.35	0.00 ±1.12
	15,62	2.51 ±0.71	0.00 ±0.04	6,30 ±1.50	0.00 ±0.95

PMEO - essential oil of *Psidium myrsinites* DC.; µg/mL - micrograms per milliliter; % AP – anti-promastigote percentage; % AE – anti-epimastigote percentage; %C –cytotoxicity percentage.

TABLE 2 - Positive control miltefosine against *L. braziliensis* and *L. infantum* (μ M).

Drug	Conc. (μ g/mL)	%AP	%AP	%C
		<i>L. braziliensis</i>	<i>L. infantum</i>	
Miltefosine	256	97.07 $\pm$ 0.41	80.45 $\pm$ 0.27	5.32 $\pm$ 10.3
	128	98.75 $\pm$ 0.28	81.64 $\pm$ 0.19	2.42 $\pm$ 2.03
	64	98.65 $\pm$ 0.21	83.69 $\pm$ 0.32	0.00 $\pm$ 2.15
	36	95.43 $\pm$ 0.79	83.22 $\pm$ 0.22	1.22 $\pm$ 2.55
	16	50.49 $\pm$ 0.70	73.69 $\pm$ 0.03	0.00 $\pm$ 1.77
	8	1.57 $\pm$ 0.80	46.45 $\pm$ 0.14	-

PMEO - essential oil of *Psidium myrsinites* DC.; μ g/mL - micrograms per milliliter; % AP – anti-promastigote percentage; % AE – anti-epimastigote percentage; %C – cytotoxicity percentage.

TABLE 3 - Positive control benzonidazole against *T. cruzi* (μM).

Drug	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	%AE <i>T. cruzi</i>	%C
Benzonidazole	100	96.59 $\pm$ 2.13	1.43 $\pm$ 1.81
	50	81.84 $\pm$ 2.74	1.59 $\pm$ 2.13
	10	50.61 $\pm$ 5.83	1.91 $\pm$ 1.16
	1	10.53 $\pm$ 5.87	-

μM - micromoles; % AE - anti-epimastigote percentage; Conc. - concentration; $\mu\text{g/mL}$ - micrograms per milliliter; and % C – cytotoxicity percentage.

4.3 Artigo 3: POTENCIAL TRICOMONICIDA E CITOTÓXICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Psidium myrsinites* DC.

POTENCIAL TRICOMONICIDA E CITOTÓXICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Psidium myrsinites* DC.

Lilian Cortez Sombra Vandesmet³

RESUMO

A tricomoníase, ocasionada pelo protozoário *Trichomonas vaginalis*, é a infecção sexualmente transmissível (IST) não viral mais comum do mundo, com 156 milhões de casos estimados. Atualmente, o tratamento é baseado em medicamentos como o metronidazol. No entanto, o surgimento de isolados resistentes e efeitos adversos impulsiona a busca de novas alternativas terapêuticas. Nesse contexto, a investigação de espécies vegetais e seus óleos essenciais são abordagens interessantes, uma vez que o uso de tais substâncias é realizado de forma empírica, ao passo em que propriedades dos mesmos vem sendo descritas cientificamente ao longo dos anos. No presente estudo, foram avaliadas as atividades Anti – *T. vaginalis* e citotóxica do óleo essencial de *Psidium myrsinites* (OEPM). Quanto a atividade antiparasitária o OEPM apresentou significativa atividade frente o parasito *T. vaginalis* ($IC_{50} = 179 \mu g/mL$), os parâmetros relacionados a citotoxicidade demonstraram que OEPM apresentou-se citotóxico frente as células de mamíferos, entretanto estudos *in vivo* devem ser considerados. De maneira geral, o OEPM apresenta grande potencial para exploração biotecnológica como novo agente contra *Trichomonas vaginalis*, salientando, a necessidade de mais estudos para determinar a segurança de sua utilização.

Palavras-chave: Tricomoníase. *Trichomonas vaginalis*. Citotoxicidade.

1. Introdução

A tricomoníase é uma infecção sexualmente transmissível (IST), causada pelo protozoário parasito *Trichomonas vaginalis*. Este parasito é altamente específico quanto a sua localização no hospedeiro, sendo capaz de produzir infecção somente no sistema urogenital humano tanto de homens como de mulheres, apesar de existir uma significativa discrepância entre os sexos acometidos, uma vez que 92% dos casos relatados são do sexo feminino. A

³Mestre, Docente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Católica de Quixadá – UNICATÓLICA. E-mail: lilianvandesmet@gmail.com

Organização Mundial de Saúde (OMS) estimou uma incidência anual de cerca de 156 milhões de novos casos de tricomoníase, correspondendo a quase metade da incidência global de ISTs por ano (Almeida et al., 2010; Rowley et al., 2019).

Deste modo, a tricomoníase apresenta-se como um grave problema de saúde pública, onde a terapêutica padrão (metronidazol) apresenta diversos efeitos colaterais e não se mostra plenamente eficiente. As complicações decorrentes da tricomoníase geram um alto custo para o sistema público, além de afetar especialmente populações de baixa renda e escolaridade, geralmente desinformadas sobre ISTs. São exemplos de consequências da tricomoníase, a predisposição ao câncer cervical, câncer de próstata, infertilidade, e a influência exercida sobre a propagação do vírus HIV (Van Der Pol et al., 2008; Sutcliffe et al., 2012; Silver et al., 2014; Van Gerwen; Muzny, 2019).

Tendo em vista tais problemas, a busca por novas alternativas terapêuticas fomenta as pesquisas com plantas e óleos essenciais (OE) em especial as espécies pertencentes ao gênero *Psidium*, uma vez que estas possuem óleos essenciais e outros metabólitos secundários com comprovadas propriedades biológicas, incluindo atividade antiparasitária (Van-Vuuren e Naidoo, 2010; Souza et al., 2017; Piña-Vázquez et al., 2017; Machado et al., 2018). Indo ao encontro do relato da comunidade AGRODÓIA de utilização do espécime para tratamento de enfermidades genitourinárias, como: corrimento, assim, avaliamos a citotoxicidade e o potencial tricomicida do óleo essencial das folhas de *Psidium myrsinites* DC. (OEPM) cultivada na região nordeste do Brasil (Araripe, Pernambuco, Brasil).

2. Resultados e Discussão

Na avaliação da atividade antiparasitária, o OEPM demonstrou excelente atividade frente o protozoário *T. vaginalis* ATCC 30236 ($IC_{50} = 179 \mu\text{g/mL}$), além de inibir 100% das células parasitárias na concentração de $500 \mu\text{g/mL}$ (Tabela 1). Até onde sabemos, esta é a primeira demonstração do potencial anti-*T. vaginalis* de OEs oriundos de plantas pertencentes ao gênero *Psidium*, não existindo dados para comparação com nossos resultados. Entretanto o efeito do extrato metanólico e aquoso das folhas de *P. guajava* frente *Trichomonas vaginalis* foi avaliado e obteve resultados antiparasitários contra os protozoários nas concentrações de 1 e 4 mg / mL, respectivamente (Van-Vuuren e Naidoo, 2010).

Apesar de escassos, estudos para avaliar o potencial anti-*T. vaginalis* de OEs vem sendo realizados e tais ativos naturais demonstram-se promissores no desenvolvimento de novos fármacos. Como nos estudos com os OEs de *Lavandula angustifolia*, *Artemisia absinthium*, *Nectandra megapota mica* e *Ocimum basilicum*, onde todas as espécies apresentaram relevante

atividade anti-*T. vaginalis* dos OEs (Moon, et al., 2006; Martinez-Diaz, et al., 2015; Eldin; Badawy, 2015; Farias et al., 2019).

A grande parte dos estudos químicos realizados com *P. myrsinites* até o presente momento apresentam resultados bastante diversificados quanto à composição química, embora substâncias como o β -cariofileno sempre apareçam entre os constituintes majoritários (Dias et al., 2015; Durães et al., 2017). A presença do componente β -cariofileno entre os constituintes majoritários do OEPM (data not shown), vem a justificar sua expressiva atividade frente o parasito *T. vaginalis*, uma vez que tal constituinte já foi relatado como um dos responsáveis pela atividade tricomicida do OE do Própolis vermelho (Sena-Lopes et al., 2018).

Estudos etnobotânicos apontam a importância de avaliar o perfil tóxico de espécies utilizadas por comunidades tradicionais, uma vez que em seus estudos os mesmos demonstram total desconhecimento dos perigos relacionados ao uso indiscriminado de espécies vegetais, que apesar de serem indicadas para uso medicinal podem conter substâncias tóxicas com potencial de trazer prejuízos à saúde (Mengue et al., 2001; Vandesmet., 2015). Deste modo, investigar a citotoxicidade de produtos naturais é essencial na aquisição de novos agentes antiprotozoários, afim de garantir a segurança dos mesmos (Brenzan et al., 2007).

Quanto a avaliação da citotoxicidade do OEPM contra as linhagens celulares VERO, MRC-5 e HMOVII, bem como o efeito hemolítico em eritrócitos humanos, os dados demonstraram que o OEPM apresentou um maior IS para HMOVII (0.83), linhagem tumoral de células do epitélio vaginal humano (Tabela 1). Tal resultado podia ser esperado, uma vez que alguns estudos demonstraram que OEs de espécies pertencentes a família Myrtaceae exibem atividade antitumoral *in vitro* (Ashour, 2008; Figueiredo et al., 2019; Harassi et al., 2019).

É válido ressaltar, as diferenças entre testes *in vitro* e *in vivo*. Os ensaios de citotoxicidade em culturas de células, são testes *in vitro* os quais fazem parte de um screening inicial afim de estabelecer uma dose eficaz e segura. O segundo passo são os testes *in vivo*, pois estes trarão resultados mais aproximados as condições fisiológicas humanas, podendo vir a corroborar ou refutar a citotoxicidade anteriormente identificada, uma vez que a interação da substância estudada dentro de um organismo poderá se comportar de forma distinta, diante de influências hormonais, da complexidade de interações entre os tecidos e demais fatores (Basu; Nath, 2010).

3. Conclusão

Assim, o estudo evidenciou que o OE de *Psidium myrsinites* DC. demonstrou-se como promissor antiparasitário contra protozoário *Trichomonas vaginalis*, se tratando de

citotoxicidade os níveis apresentados foram moderados. Os dados sugerem que apesar do OEPM ter apresentado bom efeito anti-*T. vaginalis*, o mesmo demonstra baixa biocompatibilidade com células de mamíferos. Assim, experimentos adicionais devem ser conduzidos a fim de determinar a segurança desses produtos naturais, demonstrando a importância de estudos detalhados com espécies pertencentes a família Myrtaceae em especial as espécies do gênero *Psidium*, elucidando o vasto potencial biotecnológico de espécies vegetais de regiões de caatinga.

Referências

- Almeida, M.S. et al. Tricomoniase: prevalência no gênero feminino em Sergipe no biênio 2004-2005. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.15, n. 1, p.1417-1421, 2010.
- Ashour, H. M. Antibacterial, antifungal, and anticancer activities of volatile oils and extracts from stems, leaves, and flowers of *Eucalyptus sideroxylon* and *Eucalyptus torquata*. **Cancer Biology & Therapy**, v. 7, n. 3, p. 399-403, 2008.
- Basu, B.; Nath, S. Fundamentals of Biomaterials and Biocompatibility. 2010.
- Brenzan, M. A. et al. Antileishmanial activity of crude extract and coumarin from *Calophyllum brasiliense* leaves against *Leishmania amazonensis*. **Parasitology Research**, v. 101, n. 3, p. 715-722, 2007.
- Dias, C. N. et al. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils extracted from brazilian legal amazon plants against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, p. 1-8, 2015.
- Durães, E. R. B. et al. Phytochemical study, toxicity and antimicrobial activity of *Psidium myrsinites* DC.(Myrtaceae) leaves. **Bioscience Journal**, v. 33, p. 1305-1313, 2017.
- Eldin, H. M. E.; Badawy, A. F. In vitro anti-*Trichomonas vaginalis* activity of *Pistacia lentiscus* mastic and *Ocimum basilicum* essential oil. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 39, n. 3, p. 465-473, 2015.
- Farias, K. S. et al. Nectandra as a renewable source for (+)- α -bisabolol, an antibiofilm and anti-*Trichomonas vaginalis* compound. **Fitoterapia**, v. 136, p. 104179, 2019.
- Figueiredo, P. L. B. et al. Composition, antioxidant capacity and cytotoxic activity of *Eugenia uniflora* L. chemotype-oils from the Amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 232, p. 30-38, 2019.
- Harassi, Y. et al. Phytochemical analysis, cytotoxic and antioxidant activities of *Myrtus communis* essential oil from Morocco. **Journal of Complementary and Integrative Medicine**, v. 16, n. 3, 2019.
- Martínez-Díaz, R. A. et al. Trypanocidal, trichomonacidal and cytotoxic components of cultivated *Artemisia absinthium* Linnaeus (Asteraceae) essential oil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 110, p. 693-699, 2015.

Mengue, S. S.; Mentz, L. A., Schenkel, E. P. Usos de plantas medicinais na gravidez. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.11, n. 11, p. 21–35, 2001.

Moon, T. et al. Antiparasitic activity of two *Lavandula* essential oils against *Giardia duodenalis*, *Trichomonas vaginalis* and *Hexamita inflata*. **Parasitol Res** v. 99, p. 722–728, 2006.

Machado, A. J. et al. Antiparasitic effect of the *Psidium guajava* L.(guava) and *Psidium brownianum* MART. EX DC. (araçá-de-veado) extracts. **Food and Chemical Toxicology**, v. 1, p. 1-6, 2018.

Piña-Vázquez, D. M. et al. Anthelmintic effect of *Psidium guajava* and *Tagetes erecta* on wild-type and Levamisole-resistant *Caenorhabditis elegans* strains. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 202, p. 92-96, 2017.

Rowley, J. et al. Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 97, n. 8, p. 548, 2019.

Sena-Lopes, Â. et al. Chemical composition, immunostimulatory, cytotoxic and antiparasitic activities of the essential oil from Brazilian red propolis. **PloS One**, v. 13, n. 2, 2018.

Silver, B. J. et al. *Trichomonas vaginalis* as a Cause of Perinatal Morbidity: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Sex Transm Dis**. v.41, n.6, p. 369-76, 2014.

Souza, C. E. S. et al. Anti-*Trypanosoma*, anti-*Leishmania* and cytotoxic activities of natural products from *Psidium brownianum* Mart. ex DC. and *Psidium guajava* var. *Pomifera* analysed by LC–MS. **Acta Tropica**, v. 176, p. 380-384, 2017.

Sutcliffe, S. et al. Trichomonosis, a common curable STI, and prostate carcinogenesis—a proposed molecular mechanism. **PLoS Pathogens**, v. 8, n. 8, 2012.

Vandesmet, L. C. S. Etnobotânica de plantas medicinais no bioma da Caatinga. Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular) – Universidade Regional do Cariri, Ceará. 2015.

Van Gerwen, O. T.; Muzny, C. A. Recent advances in the epidemiology, diagnosis, and management of *Trichomonas vaginalis* infection. **F1000Research**, v. 8, 2019.

Van Vuuren, S.F; Naidoo, D. An antimicrobial investigation of plants used traditionally in southern Africa to treat sexually transmitted infections, **J. Ethnopharmacol.**, v.130, pp. 552-558, 2010.

1. Seção de experimentos

Área de coleta e material botânico

As folhas da espécie *Psidium myrsinites* DC. foram coletadas em área de vegetação nativa, na propriedade rural AGRODOIAS, localizada na Serra dos Paus Dóias - Chapada do Araripe, município de Exu, PE (latitude 07°21"S, longitude 39°53"W e altitude 884m), no mês de junho de 2018. Do material coletado foi produzida uma exsicata que foi depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima (HCDAL) da Universidade Regional do Cariri Campus Pimenta, sob o nº 14.204.

Extração do óleo essencial

Para obtenção do óleo das folhas de *Psidium myrsinites* (OEPM), o material vegetal foi triturado em pequenos pedaços e submetido ao método de destilação por arraste à vapor (4500g, 3h). O OE obtido foi filtrado, pesado e, em seguida, o rendimento de óleo foi calculado em % (w/w). O OE foi então armazenado em um frasco escuro e refrigerados (at + 5 °C) até o uso.

Cultura dos tricomonas

Os ensaios foram feitos com o isolado de *T. vaginalis* ATCC 30236. Trofozoítos foram mantidos em meio trypticase-yeast extract-maltose (TYM), pH 6.0, suplementado com soro bovino adulto inativado pelo calor (10%, v/v) a 37 °C (DIAMOND et al., 1957). Os tricomonas na fase de crescimento logarítmico exibindo mais de 95% de motilidade e morfologia normal foram colhidos, centrifugados e ressuspensos em novo meio TYM para os ensaios.

Screening da atividade anti-*T. vaginalis* e determinação da IC₅₀

O ensaio da bioatividade dos OEPM contra *T. vaginalis* foi realizado em placas de microtitulação de 96 poços. O dimetilsulfóxido (DMSO) foi usado como veículo de solubilização para o OEPM na concentração final de 0,6%. A suspensão dos tricomonas na densidade de $2,0 \times 10^5$ trofozoítos/mL foi incubada com os compostos a 500 µg/mL por 24 h a 37 °C em 5% de atmosfera CO₂. A viabilidade dos parasitos foi avaliada através da contagem na câmara de Neubauer, utilizando o corante de exclusão azul de tripano (0,2%). Foram

utilizados dois controles: controles negativos com trofozoítos apenas em um meio de cultura suplementado e controle de veículo com DMSO a 0,6%. Os resultados foram expressos como a porcentagem de trofozoítos viáveis em comparação com os parasitas não tratados. O OE apresentou capacidade de reduzir em 100% a viabilidade de trofozoítos, então o mesmo foi testado para determinar a metade da concentração inibitória máxima (IC₅₀).

Para a determinação dos valores de IC₅₀ do OEPM, os ensaios foram realizados em condições similares aos experimentos de *screening*, com concentrações do OE variando de 500 µg/mL a 15,65 µg/mL. Os valores de IC₅₀ foram avaliados usando o software GraphPad Prism6 através do modelo de regressão não linear.

Citotoxicidade e determinação da CC₅₀

VERO (linhagem de células epiteliais renais de macaco), MRC-5 (linhagem de fibroblastos humanos) e HMOVII (linhagem tumoral de células epiteliais vaginais humanas) foram utilizadas. A diluição do ensaio foi realizada como mencionado acima, usando os meios RPMI e DMEM suplementados com soro fetal bovino (20%, v/v). Após 24 horas de incubação, avaliou-se a viabilidade celular através da mensuração de redução do MTT [3(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo] a cristais de formazan produzidos por células viáveis, utilizando espectrofotometria a 570 nm. Foram utilizados três controles nos ensaios: controle de células não-tratadas, controle de veículo (DMSO 0.6%) e controle positivo (Triton X-100). O índice de seletividade (IS) para cada célula de mamífero foi calculado com base na razão CC₅₀/IC₅₀, usando os valores de IC₅₀ obtidos para o isolado de *T. vaginalis* ATCC 30236 (RIGO et al., 2019).

Atividade hemolítica

O efeito hemolítico dos OEPM foi avaliado em eritrócitos humanos. O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) aprovou os ensaios sob autorização 69979817.5.0000.5347. A suspensão de eritrócitos (5×10⁷ células/mL) foi incubada com o OEPM na faixa de concentração de 500 µg/mL a 15.65 µg/mL, por 24 h a 37°C (KISS et al., 2010). A liberação de hemoglobina no sobrenadante foi quantificada por espectrofotometricamente a 540 nm. A porcentagem de hemólise foi comparada a 100% para o controle positivo (Triton X-100, 0.2%). O índice de seletividade (IS) também foi calculado como descrito anteriormente.

Análise estatística

Todos os ensaios foram realizados em triplicata com três culturas independentes ($n = 3$). A análise estatística usou o teste t de Student com o nível de significância de 5% sendo aplicado aos dados. Os valores de IC_{50} e CC_{50} foram calculados usando o software GraphPad Prism6 (San Diego, CA) por regressão não-linear.

TABELA 1 - Atividade anti- *T. vaginalis* e citotóxica do óleo essencial de *P. myrsinites*.

Produto Natural	Concentração (µg/mL)	<i>T. vaginalis</i> %	VERO %	MRC-5 %	HMVII %	Eritrócitos %
IC ₅₀ / CC ₅₀ (µg/mL)		179 µg/mL	119.5	79.2	148.8	106.4 µg/mL
SI		-	0,66	0,44	0,83	0,59
OEPM	500	00.00 ±0.0	25.90	14.72	24.44	96.32 ±5.71
	250	31.98 ±1.22	28.24	14.11	22.08	95.67 ±4.94
	125	71.72 ±8.54	42.77	12.93±2.55	59.42	45.74 ±7.19
	62,5	90.38 ±12.64	69.62	71.2 ±6.79	81.48	17.69 ±1.10
	31,25	103.36 ±9.28	82.62	100.0	90.49	16.92 ±4.76
	15,62	120,85±14.10	83.04	100.0	87.25	19.78. ±5.30

Dados representam a média ± DP para três experimentos realizados em triplicata. IC₅₀: concentração inibitória para 50%; CC₅₀: concentração citotóxica para 50%; SI: índice de seletividade (CC₅₀ das linhagens celulares/IC₅₀ frente *T. vaginalis*); %: percentual de células viáveis/hemolisadas.

5 CONCLUSÃO

Deste modo, o estudo evidenciou que o OE de *Psidium myrsinites* DC. demonstrou-se como promissor agente antifúngico e antiparasitário. A relevante atividade antifúngica do OE de *Psidium myrsinites* DC. apresentou-se frente as espécies de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*. Além disso, o óleo essencial agiu sinergicamente com o antimicótico anfotericina B, acredita-se ainda que o mecanismo de ação apresentado pelo OEPM vá de encontro com o mecanismo antifúngico da Anfotericina B, uma vez que ambos apresentaram comportamento semelhante na presença de ergosterol exógeno, demonstrando um potencial fungicida. Já a atividade antiparasitária foi evidenciada contra o protozoário *Trichomonas vaginalis*, e *Leishmania brasiliensis*, se tratando de citotoxicidade os níveis apresentados foram moderados. Os dados sugerem que apesar do OEPM ter apresentado bom efeito antiparasitário, o mesmo demonstra baixa biocompatibilidade com células de mamíferos, demonstrando que experimentos adicionais devem ser conduzidos a fim de determinar a segurança desses produtos naturais. Possivelmente os compostos majoritários do OE foram responsáveis pelas propriedades observadas, como os metabólitos majoritários espatulenol e β -cariofileno previamente relatados na literatura como antifúngico e antiparasitário respectivamente. Tais dados demonstram a importância de estudos detalhados com espécies pertencentes a família Myrtaceae em especial as espécies do gênero *Psidium*, elucidando o vasto potencial biotecnológico de espécies vegetais de regiões de caatinga.

REFERÊNCIAS

- ABDELLI, M.; MOGHRANI, H.; ABOUN, A.; MAACHI, R. Algerian *Mentha pulegium* L. leaves essential oil: Chemical composition, antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities. **Industrial Crops and Products**, v. 94, n. p. 197-205, ago. 2016.
- ABE, F.; NAGAFUJI, S.; YAMAUCHI, T.; OKABE, H.; MAKI, J.; HIGO, H.; AKAHANE, H.; AGUILAR, A.; JIMÉNEZ-ESTRADA, M.; REYES-CHILPA, R. Trypanocidal Constituents in Plants 1. Evaluation of Some Mexican Plants for Their Trypanocidal Activity and Active Constituents in Guaco, Roots of *Aristolochia taliscana*. **Biol. Pharm. Bull**, v. 25, n. 9, p. 1188–1191, 2002.
- AKBARI, M.; ORYAN, A.; HATAM, G. Application of nanotechnology in treatment of leishmaniasis: a review. **Acta Tropica**, v. 172, p. 86-90, 2017.
- ALCOBA, A. E.; MELO, D. C.; ANDRADE, P. M.; DIAS, H. J.; PAGOTTI, M. C.; MAGALHÃES, L. G.; FERREIRA JUNIOR, W. G.; CROTTI, E. M.; MIRANDA, M. L. Chemical composition and *in vitro* antileishmanial and cytotoxic activities of the essential oils of *Ocotea dispersa* (Nees) Mez and *Ocotea odorifera* (Vell) Rohwer (Lauraceae). **Natural Product Research**, v. 2, p. 1-4, 2017.
- ALEXANDRE, J. P. O.; JÚNIOR, J. Z.; TESTON, A. P. M. Tratamento etiológico da doença de Chagas: um antigo problema de saúde pública. **Revista Uningá, Nova Esperança (PR)**, v.20, n.2, p.91-96, 2014.
- ALIZADEH, B.H.; FOROUMADI, A.; ARDESTANI, S.K.; POORRAJAB, F.; SHAFIEE, A. Leishmanicidal evaluation of novel synthetic chromenes. **Arch Pharm**, v. 341, p. 787–793, 2008.
- AL-KAMEL, M. A. Leishmaniasis and malignancy: a review and perspective. **Clinical Skin Cancer**, v. 2, p. 54-58, 2017.
- ALMEIDA, A. B. et al. Sexual Transmission of American Trypanosomes from Males and Females to Naive Mates. **J. Vis. Exp.** p.143, 2019.
- ALMEIDA, M.S. et al. Tricomoniase: prevalência no gênero feminino em Sergipe no biênio 2004-2005. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.15, n. 1, p.1417-1421, 2010.
- ANDRADE-VIEIRA, L. F.; PALMIERI, M. J.; BOTELHO, C. M.; LUBER, J.; SILVA, M. F. F. Evaluation of the antimutagenic potential of *Psidium guajava* L. extracts via plant bioassays. **South African Journal of Botany**, v. 113, p. 443-448, 2017.
- ANGHEBEN, A. et al. Chagas disease and transfusion medicine: a perspective from non-endemic countries. **Blood Transfusion**.v.13, n.4, p.540–50, 2015.
- AYVAZ, A.; SAGDIC, O.; KARABORKLU, S.; OZTURK, S. Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. **Jornal of Insect Science**, v. 10, n. 21, p. 1-13, 2008.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils—a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.

BARRIO, A. G. et al. Biological variability in clinical isolates of *Trichomonas vaginalis*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 893-896, 2002.

BARROS, S. M. O. Doenças Infecciosas e Infecções Congênitas. In: BARROS, S. M. O; MARIN, H. F; ABRAÃO, A. C. **Enfermagem Obstétrica e Ginecológica: Guia para a Prática Assistencial**. São Paulo: Roca, cap.9, p.161-185, 2002.

BEGUM, S.; HASSAN, S. I.; ALI, S. N.; SIDDIQUI, B. S. Chemical constituents from the leaves of *Psidium guajava*. **Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters**, v. 18, p. 135-140, 2004.

BEZERRA, J. E. F.; LEDERMAN, I. E.; SILVA-JUNIOR, J. F.; PROENÇA, C. E. B. Araçá. In: VIEIRA, R. F.; COSTA, T. S. A.; SILVA, D. B.; SANO, S. M.; FERREIRA, F. R. (Org.). *Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil*. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. p. 42-62.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n.3, p. 588-594, 2009.

BONNEY, K. M.; ENGMAN, D. M. Chagas heart disease pathogenesis: One mechanism or many. **NIH Public Access.**, v. 8, n. 6, p. 510–518, 2010.

BORGES, G.M. Health transition in Brazil: regional variations and divergence/convergence in mortality. **Cad Saude Publica**. v.33, 2017.

BOSQUIROLI, L. S. S.; FERREIRA, A. C. S.; FARIAS, K. S.; COSTA, E. C.; MATOS, M. F. C.; KADRI, M. C. T.; RIZK, Y. S.; ALVES, F. M.; PERDOMO, R. P.; CAROLLO, C. C.; ARRUDA, C. C. P. *In vitro* antileishmania activity of sesquiterpene-rich essential oils from *Nectandra* species. **Pharmaceutical Biology**, v. 55, p. 2285-2291, 2017.

BRASIL, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. **II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas**. Brasília, p.7-86, 2015.

BRITO, D. I. V.; MORAIS-BRAGA, M. F. B.; CUNHA, F. A. B.; ALBUQUERQUE, R. S.; CARNEIRO, J. N. P.; LIMA, M. S. F.; LAVOR, A. K. L. S. Análise fitoquímica e atividade antifúngica do óleo essencial de folhas de *Lippia sidoides* Cham. e do Timol contra cepas de *Candida* spp. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, p. 836-844, 2015.

CAGGIANO, G.; CORETTI, C.; BARTOLOMEO, N.; LOVERO, G.; DE GIGLIO, O.; MONTAGNA, M. T. *Candida* bloodstream infections in Italy: changing epidemiology during 16 years of surveillance. **BioMed research international**, v. 2015, p. 1-9, 2015.

CANELA, H. M. S.; CARDOSO, B.; VITALI, L. H.; COELHO, H. C.; MARTINEZ, R.; FERREIRA, M. E. D. S. Prevalence, virulence factors and antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from bloodstream infections in a tertiary care hospital in Brazil. **Mycoses**, v. 61, n. 1, p. 11-21, 2018.

CARDOSO, J.; SOARES, M.J. *In vitro* effects of citral on *Trypanosoma cruzi* metacyclogenesis. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 105, p. 1026-1032, 2010.

CASTELO, A. V. M.; MENEZZI, C. H. S. D.; RESCK, I. S. Rendimento e análises espectroscópicas (RMN¹H, ¹³C; IV) da composição química dos óleos essenciais de quatro plantas do cerrado. **Cerne**, v. 16, p. 573-584, 2014.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Parasites - Leishmaniasis**. Atlanta, 2013. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/>>. Acesso em 25 de fevereiro de 2018.

CHAMORRO-DE-VEGA, E.; GIL-NAVARRO, M.; PÉREZ-BLANCO, J. Tratamiento de la vaginitis refractaria por *Candida krusei* con anfotericina B tópica. **Medicina Clínica**, v. 147, n. 12, p. 565-566, 2016.

CHEN, Y.; CHENG, I. L.; LAI, C. C.; TANG, H. J. Echinocandins versus amphotericin B against invasive candidiasis in children and neonates: a meta-analysis of randomized controlled trials. **International journal of antimicrobial agents**, v. 53, p. 789-794, 2019.

CHEW, K. L.; OCTAVIA, S.; LIN, R. T. P.; YAN, G. Z.; TEO, J. W. P. Delay in effective therapy in anidulafungin-resistant *Candida tropicalis* fungaemia: Potential for rapid prediction of antifungal resistance with whole-genome-sequencing. **Journal of global antimicrobial resistance**, v. 16, p. 105-107, 2019.

COLEMAN, J. S. et al. *Trichomonas vaginalis* Vaginitis in Obstetrics and Gynecology Practice: New Concepts and Controversies. **Obstetrical & Gynecological Survey**, v. 68, n.1, p.43–50, 2013.

CONNERS, E. E. et al. **A global systematic review of Chagas disease prevalence among migrants**. Acta Tropica. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.01.002>>. 2016. Acesso em: 13 jun. 2019

CORCIONE, S.; ANGILLETTO, R.; RAVIOLO, S.; FILIPPINI, C.; FOSSATI, L.; DI PERRI, G.; CAVALLO, R.; DE ROSA, F. G. Epidemiology and risk factors for mortality in bloodstream infection by CP-Kp, ESBL-E, *Candida* and CDI: a single center retrospective study. **European journal of internal medicine**, v. 48, p. 44-49, 2018.

CORZO-LEÓN, D. E.; PERALES-MARTÍNEZ, D.; MARTIN-OSRAET, A.; RIVERA-MARTÍNEZ, N.; CAMACHO-ORTIZ, A.; VILLANUEVA-LOZANO, H. Monetary costs and hospital burden associated with the management of invasive fungal infections in Mexico: a multicenter study. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 22, n. 5, p. 360-370, 2018.

COSTA, I. R. **Estudos evolutivos em Myrtaceae: aspectos citotaxonômicos e filogenéticos em Mytae, enfatizando *Psidium* e gêneros relacionados**. 2009. 224f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal). Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2009.

- DA COSTA, V. G.; QUESADA, R. M. B.; ABE, A. T. S.; FURLANETO-MAIA, L.; FURLANETO, M. C. Nosocomial bloodstream *Candida* infections in a tertiary-care hospital in South Brazil: a 4-year survey. **Mycopathologia**, v. 178, n. 3-4, p. 243-250, 2014.
- DA SILVA, V. P.; ALVES, C. C. F.; MIRANDA, M. L. D.; BRETANHA; L. C.; BALLESTE, M. P.; MICKE; G. A.; SILVEIRA, E. V.; MARTINS; C. H. G.; AMBROSIO, M. A. L. V.; SILVA, T. S.; TAVARES, D. C.; MAGALHÃES, L. G.; SILVA, F. G.; EGEA, M. B. Chemical composition and in vitro leishmanicidal, antibacterial and cytotoxic activities of essential oils of the Myrtaceae family occurring in the Cerrado biome. **Industrial Crops and Products**, v. 123, p. 638-645, 2018.
- DASSONI, F.; ABEBE, Z.; NAAFS, B.; MORRONE, A. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis resembling borderline-tuberculoid leprosy: a new clinical presentation?. **Acta Dermato-Venereologica**, v. 93, p. 74-77, 2013.
- DE ARAÚJO, F. F.; NERI-NUMA, I. A.; FARIAS, D. P.; DA CUNHA, G. R. M. C.; PASTORE, G. M. Wild Brazilian species of *Eugenia* genera (Myrtaceae) as an innovation hotspot for food and pharmacological purposes. **Food Research International**, v. 121, p. 57-72, 2019.
- DE ARAÚJO-JORGE, T. C.; DE CASTRO, S. L. **Doença de Chagas: manual para experimentação animal**. SciELO-Editora FIOCRUZ, p. 368, 2000.
- DE MELO, A. P. V.; ZUZA-ALVES, D. L.; DA SILVA-ROCHA, W. P.; DE SOUSA, L. F. C.; FRANCISCO, E. C.; MEDO, A. S. A.; CHAVES, G. M. Virulence factors of *Candida* spp. obtained from blood cultures of patients with candidemia attended at tertiary hospitals in Northeast Brazil. **Journal de mycologie medicale**, v. 1, p. 1-8, 2019.
- DHIFI, W.; BELLILI, S.; JAZI, S.; BAHLOUL, N.; MNIF, W. Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: a critical review. **Medicines**, v. 3, n. 4, p. 1-16, 2016.
- DIAS, C. N. et al. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils extracted from brazilian legal amazon plants against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, p. 1-8, 2015.
- DIDWANIA, N.; SHADAB, M.; SABUR, A.; ALI, N. Alternative to Chemotherapy - the unmet demand against leishmaniasis. **Frontiers in Immunology**, v. 8, p. 1-12, 2017.
- DO NASCIMENTO, K. F. et al. Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol. **Journal of ethnopharmacology**, v. 210, p. 351-358, 2018.
- DORLO, T. P.; RIJAL, S.; OSTYN, B.; DE VRIES, P. J.; SINGH, R.; BHATTARAI, N.; URANW, S.; DUJARDIN, J.; BOELAERT, M.; BEIJNEN, J. H.; HUITEMA, A. D. R. Failure of miltefosine in visceral leishmaniasis is associated with low drug exposure. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 210, p. 146-153, 2014.
- DOS SANTOS, J. F. S.; ROCHA, J. E.; BEZERRA, C. F.; SILVA, M. K. N.; MATOS, Y. M. L. S.; FREITAS, T. S.; SANTOS, A. T. L.; CRUZ, R. P.; MACHADO, A. J. T.;

RODRIGUES, T. H. S.; BRITO, E. S.; SALES, D. L.; ALMEIDA, W. O.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; MORAIS-BRAGA, M. F. B. Chemical composition, antifungal activity and potential anti-virulence evaluation of the *Eugenia uniflora* essential oil against *Candida* spp. **Food chemistry**, v. 261, p. 233-239, 2018.

DUARTE, M. C. T. **Atividade Antimicrobiana de Plantas Medicinais e Aromáticas Utilizadas no Brasil**. Campinas: Multiciência, 2006.

DURÃES, E. R. B.; DE OLIVEIRA, C. C.; FARI, L. R.; RAMOS, L. M.; OLIVEIRA, M. S.; DE PAULA, J. A. M.; NAVES, P. L. F. Phytochemical study, toxicity and antimicrobial activity of *Psidium myrsinites* DC.(Myrtaceae) leaves. **Bioscience Journal**, v. 33, p. 1305-1313, 2017.

DUSCHAK, V. G.; COUTO, A. S. An insight on targets and patented drugs for chemotherapy of Chagas disease. **Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery**, v. 2, n. 1, p. 19-51, 2007.

DUTRA, P. M. L.; COUTO, L. C.; LOPES, A. H. C. S.; MEYER-FERNANDES, J. R.; Characterization of ecto-phosphatase activities of *Trypanosoma cruzi*: A comparative study between Colombiana and Y strains. **Acta Tropica**, v. 100, p. 88-95, 2006.

ECHEVERRIA, L. E.; MORILLO, A. L. American trypanosomiasis (Chagas disease). **Infectious Disease Clinics of North America**, v.33, p.119–134, 2019.

EDRIS, A. E. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 21, n. 4, p. 308-323, 2007.

ELDIN, H. M. E.; BADAWEY, A. F. In vitro anti-*Trichomonas vaginalis* activity of *Pistacia lentiscus* mastic and *Ocimum basilicum* essential oil. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 39, n. 3, p. 465-473, 2015.

EL OUADI, Y.; MANSSOURI, M.; BOUYANZER, A.; MAJIDI, L.; BENDAIF, H.; ELMSELLEM, H.; SHARIATI, M.A.; MELHAOUI, A.; HAMMOUTI, B. Essential oil composition and antifungal activity of *Melissa officinalis* originating from north-Est Morocco, against postharvest phytopathogenic fungi in apples. **Microbial Pathogenesis**, v. 107, p. 321-326, 2017.

EL-HOUSSAINI, H. H.; ELNABAWY, O. M.; NASSER, H. A.; ELKHATIB, W. F. Correlation between antifungal resistance and virulence factors in *Candida albicans* recovered from vaginal specimens. **Microbial pathogenesis**, v. 128, p. 13-19, 2019.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil**. Brasília (DF): EMBRAPA, 2006.
ESCOBAR, P.; LEAL, S.M.; HERRERA, L.V.; MARTINEZ, J.R.; STASHENKO, E. Chemical composition and antiprotozoal activities of Colombian *Lippia* spp essential oils and their major components. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 105, p. 184-190,2010.

- FARAG, N. F.; EL-AHMADY, S. H.; ABDELRAHMAN, E. H.; NAUMANN, A.; SCHULZ, H.; AZZAM, S. M.; EL-KASHOURY, E. S. A. Characterization of essential oils from Myrtaceae species using ATR-IR vibrational spectroscopy coupled to chemometrics. **Industrial crops and products**, v. 124, p. 870-877, 2018.
- FARIAS, K. S. et al. Nectandra as a renewable source for (+)- α -bisabolol, an antibiofilm and anti-*Trichomonas vaginalis* compound. **Fitoterapia**, v. 136, p. 104179, 2019.
- FEASEY, N.; WANSBROUGH-JONES, M.; MABEY, D. C.; SOLOMON, A. W. Neglected tropical diseases. **British Medical Bulletin**, v. 93, p. 179-200, 2009.
- FEITTOSA, C. F.; CONSOLARO, M. E. L. Tricomoníase: aspectos gerais e diagnóstico pela colpocitologia de Papanicolaou. **Arquivo de Ciência e Saúde da Unipar**, v. 9, n. 3, p. 199-206, 2005.
- FERNÁNDEZ-RUIZ, M.; PUIG-ASENSIO, M.; GUINEA, J.; ALMIRANTE, B.; PADILLA, B.; ALMELA, M.; DÍAZ-MARTÍN, A.; RODRÍGUEZ-BAÑO, J.; CUENCA-ESTRELLA, M.; AGUADO, J. M. *Candida tropicalis* bloodstream infection: incidence, risk factors and outcome in a population-based surveillance. **Journal of Infection**, v. 71, n. 3, p. 385-394, 2015.
- FERRAZ, M, L.; GAZZINELLI, R. T.; ALVES, R. O.; URBINA, J. A.; ROMANHA, A. J. The anti-Trypanosoma cruzi activity of posaconazole in a murine model of acute Chagas' Disease is less dependent on gamma interferon than that of benznidazole. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 51, p. 1359-1364, 2007.
- FERREIRA, E. I. Planejamento de fármacos na área de doença de chagas: avanços e desafios. **Revista Virtual de Química**, v.4, p. 225, 2012.
- FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G.; SCHEFFER, J. C. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, p. 213-226, 2008.
- FIGUEIREDO, P. L. B.; PINTO, L. C.; DA COSTA, J. S.; DA SILVA, A. R. C.; MOURÃO, R. H. V.; MONTENEGRO, R. C.; DA SILVA, J. K. R.; MAIA, J. G. S. Composition, antioxidant capacity and cytotoxic activity of *Eugenia uniflora* L. chemotype-oils from the Amazon. **Journal of ethnopharmacology**, v. 232, p. 30-38, 2019.
- FRANCO, L. L. **As Incríveis 50 Frutas com Poderes Medicinais**. Editora Lobo, 2001.
- FRANZON, R. C.; CAMPOS, L. Z. O.; PROENÇA, C. E. B.; SOUSA-SILVA, J. C. **Araçás do gênero Psidium: principais espécies, ocorrência, descrição e usos**. Planaltina (DF): Embrapa Cerrados, 2009.
- GARCÍA, M.; SCULL, R.; SATYAL, P.; SETZER, W. N.; MONZOTE, L. Chemical characterization, antileishmanial activity, and cytotoxicity effects of the essential oil from leaves of *Pluchea carolinensis* (Jacq.) G. Don.(Asteraceae). **Phytotherapy Research**, v. 31, p. 1419-1426, 2017.
- GARCÍA-HUERTAS, P. et al. Activity in vitro and in vivo against Trypanosoma cruzi of a furofuran lignan isolated from *Piper jericoense*. **Experimental parasitology**, 2018.

GHORBANI, M.; FARHOUDI, R. Leishmaniasis in humans: drug or vaccine therapy?. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 12, p. 25-40, 2018.

GIACOBBO, C. L.; ZANUZO, M.; CHIM, J.; FACHINELLO, J. C. Avaliação do teor de vitamina C em diferentes grupos de araçá-comum. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 14, n. 1, p. 155-159, 2008.

GIARETTA, A.; TULER, A. C.; SOUZA, M. C.; VALDEMARIN, K. S.; MAZINE, F. F.; PEIXOTO, A. L. Diversidade de Myrtaceae na floresta Natural Vale. In: ROLIM, S. G.; MENEZES, L. F. T.; SRBEK-ARAUJO, A. C. (Org.). **Floresta Atlântica de Tabuleiro: diversidade e endemismos na reserva Natural Vale**. Belo Horizonte: Rupestre, 2016. p. 247-257.

GOMES, C. et al. American trypanosomiasis and Chagas disease: sexual transmission. **International Journal of Infectious Disease**, v.81, p. 81-84, 2019.

GOMES, E. C. S.; VILAR, F. C. R.; PEREZ, J. O.; BARBOSA, J.; VILAR, R. C.; FREIRE, J. L. O.; LIMA, A. N.; DIAS, T. J. Plantas da caatinga de uso terapêutico: levantamento etnobotânico. **Engenharia Ambiental**. v. 5, n. 2, p. 74- 85, 2008.

GOVAERTS, R.; SOBRAL, M.; ASHTON, P.; BARRIE, F.; HOLST, B.K.; LANDRUM, L. R.; MATSUMOTO, K.; MAZINE, F.F.; NIC LUGHADHA, E.; PROENÇA, C.; SOARES-SILVA, L.H.; WILSON, P.G.; LUCAS, E.J. **World checklist of Myrtaceae**. [s.l.]: Kew Publishing, Royal Botanic Gardens, 2008.

GRATTAPAGLIA, D.; VAILLANCOURT, R. E.; SHEPHERD, M.; THUMMA, B. R.; FOLEY, W.; KÜLHEIM, C.; POTTS, B. M.; MYBURG, A. A. Progress in Myrtaceae genetics and genomics: *Eucalyptus* as the pivotal genus. **Tree Genetics & Genomes**, v. 8, p. 463-508, 2012.

GUPTA, G.; OGHUMU, S.; SATOSKAR, A. R. Mechanisms of immune evasion in leishmaniasis. **Advances In Applied Microbiology**, v. 82, p. 155-184, 2013.

HAMDI, A.; BERO, J.; BEAUFAY, C.; FLAMINI, G.; MARZOUK, Z.; HEYDEN, Y. V.; QUETIN-LECLERCQ, J. In vitro antileishmanial and cytotoxicity activities of essential oils from *Haplophyllum tuberculatum* A. Juss leaves, stems and aerial parts. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 18, p. 60, 2018.

HERWALDT, B. L. Laboratory-acquired parasitic infections from accidental exposures. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, p. 659-688, 2001.

HO, R.; VIOLETTE, A.; CRESSEND, D.; RAHARIVELOMANANA, P.; CARRUPT, P. A.; HOSTETTMANN, K. Antioxidant potential and radical scavenging effects of flavonoids from the leaves of *Psidium cattleianum* grown in French Polynesia. **Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters**, v. 26, p. 274-277, 2012.

HOUICHER, A.; HAMDI, M.; HECHACHNA, H.; ÖZOGUL, F. Chemical composition and antifungal activity of *Anacyclus valentinus* essential oil from Algeria. **Food Bioscience**, v. 25, p. 28-31, 2018.

IGBINEWEKA, O. O.; AGHEDO, F. I.; IDUSUYI, O.; HUSSAIN, N. A. Evaluating the efficacy of topical silver nitrate and intramuscular antimonial drugs in the treatment of cutaneous leishmaniasis in Sokoto, Nigeria. **African Journal of Clinical and Experimental Microbiology**, v. 13, p. 90-97, 2012.

JAHANSHIRI, Z.; MANIFAR, S.; MOOSA, H.; ASGHARI-PASKIABI, F.; MAHMOODZADEH, H.; SHAMS-GAHFAROKHI, M.; RAZZAGHI-ABYANEH, M. Oropharyngeal candidiasis in head and neck cancer patients in Iran: Species identification, antifungal susceptibility and pathogenic characterization. **Journal de mycologie medicale**, v. 28, n. 2, p. 361-366, 2018.

JESUS, J. B.; SILVA, F. C. F. Tricomoníase urogenital humana. In: **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. Ed. José Rodrigues Coura. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.757-769, 2005.

KAANICHE, F. M.; ALLELA, R.; CHERIF, S.; BEN ALGIA, N. Invasive candidiasis in critically ill patients. **Trends in Anaesthesia and Critical Care**, v. 11, p. 1-5, 2016.
KAMHAWI, S. The yin and yang of leishmaniasis control. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, p. 1-6, 2017.

KATO, H.; YOSHIMURA, Y.; SUIDO, Y.; SHIMIZU, H.; IDE, K.; SUGIYAMA, Y.; MATSUNO, K.; NAKAJIMA, H. Mortality and risk factor analysis for *Candida* blood stream infection: A multicenter study. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 25, p. 341-345, 2019.

KAUR, G.; SINGH, S.; GOYAL, S.; SHARMA, B.; SIDDIQUI, A.; MISHRA, R. Phytochemical investigation and evaluation of anti-anxiety activity on *Psidium guajava* Linn. leaf. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, p. 1332-1341, 2016.

KIRKCALDY, R.D., AUGOSTINI, P., ASBEL, L.E., BERNSTEIN, K.T., KERANI, R.P., METTENBRINK, C.J., PATHELA, P., SCHWEBKE, J.R., SECOR, W.E., WORKOWSKI, K.A. Trichomonas vaginalis antimicrobial drug resistance in US cities, STD Surveillance Network, 2009–2010. **Emerg. Infect. Dis.** v. 18, p. 939, 2012.

KONATÉ, A.; BARRO-KIKI, P. C. M.; KASSI, K. F.; ANGORA, K. E.; VANGA-BOSSON, H.; DJOHAN, V.; BÉDIA-TANOHA, A. V.; MIÉZANA, A. J. S.; YAVOA, W.; MENANAB, E. I. H. Oropharyngeal candidiasis prevalence among HIV-infected patients at the teaching hospital of Treichville (Abidjan, Côte d'Ivoire). **Journal de mycologie medicale**, v. 27, n. 4, p. 549-553, 2017.

KONDRASHIN, A.V.; BARANOVA, A.M.; MOROZOVA, L.F.; STEPANOVA, E.V. Global trends in malaria control. **Progress and topical tasks in malaria control programs Med Parazitol**, v. 3, n. 8, 2011.

KONOSHIMA, T.; TAKASAKI, M. **Eucalyptus, The Genus Eucalyptus**, London, New York: Ed. J. J. W. Coppen Taylor & Francis, 2002. p. 269–290.

LANA, M.; MACHADO, E. M. M. **Biology of Trypanosoma cruzi and biological diversity**. Telleria,j; Tibayrenc M. American trypanosomiasis Chagas disease One hundred years of research. Elsevier, London, 2010.

LANDRUM, L. R.; SHARP, W. P. Seed coat characters of some american Myrtinae (Myrtaceae): *Psidium* and related genera. **Systematic Botany**, v. 14, p. 370-376, 1989.

LAZO, V.; HERNÁNDEZ, G.; MÉNDEZ, R. Candidiasis sistémica en pacientes críticos, factores predictores de riesgo. **Horizonte Médico**, v. 18, n. 1, p. 75-85, 2018.

LEAL, I. R.; DA SILVA, J. M. C.; TABARELLI, M.; LACHER-JUNIOR, T. E. Changing the course of biodiversity conservation in the Caatinga of northeastern Brazil. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 701-706, 2005.

LEHKER, M. W.; ALDERETE, J. F. Biology of trichomonosis. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 13, p. 37-45, 2000.

LEITE, N. F. et al. Efecto citoprotector de extractos de *Eugenia jambolana* y *Psidium myrsinites* DC. A. contra peroxidación lipídica inducida por hierro II. **Acta toxicológica argentina**, v. 24, p. 187-192, 2016.

LEITE, N. F.; SOBRAL-SOUZA, C. E.; ALBUQUERQUE, R. S.; PINHO, A. I.; CUNHA, F. A.; COUTINHO, H. D. Reduction of the toxic effect of mercurium chloride by chelating effect of *Psidium brownianum* Mart. ex DC. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 119, p. 538-541, 2017.

LINDOSO, J. A. L.; COSTA, J. M. L.; QUEIROZ, I. T.; GOTO, H. Review of the current treatments for leishmaniasis. **Research and Reports in Tropical Medicine**, v. 3, p. 69-77, 2012.

LORENZI, H. C.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

MACHADO, B. F. M. T.; FERNADES JUNIOR, A. Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. **Cadernos Acadêmicos**, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.

MACIEL, G.P. et al. Aspectos clínicos, patogênese e diagnóstico de *Trichomonas vaginalis*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 40, n.3, p.152-160, 2004.

MALLA, N. et al. Human Trichomoniasis. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v.19, n.1, p.6-13, 2001.

MARINHO, F. et al. High diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in natural and anthropized sites of a Brazilian tropical dry forest (Caatinga). **Fungal Ecology**, 2019.

MARRA, A. R.; CAMARGO, L. F. A.; PIGNATARI, A. C. C.; SUKIENNIK, T.; BEHAR, P. R. P.; MEDEIROS, E. A. S.; RIBEIRO, J.; GIRÃO, E.; CORREA, L.; GUERRA, C.; BRITES, C.; PEREIRA, C. A. P.; CARNEIRO, I.; REIS, M.; DE SOUZA, M. A.; TRANCHESI, R.; BARATA, C. U.; M B. EDMOND, M. B. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian hospitals: analysis of 2,563 cases from a prospective nationwide surveillance study. **Journal of clinical microbiology**, v. 49, n. 5, p. 1866-1871, 2011.

- MARTÍNEZ-DÍAZ, R. A. et al. Trypanocidal, trichomonacidal and cytotoxic components of cultivated *Artemisia absinthium* Linnaeus (Asteraceae) essential oil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 110, p. 693-699, 2015.
- MATTHAIIOU, D. K.; CHRISTODOULOPOULOU, T.; DIMOLOPOULOS, G. How to treat fungal infections in ICU patients. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, p. 205-213, 2015.
- MCKERROW, J. H.; DOYLE, P. S.; ENGEL, J. C.; PODUST, L. M.; ROBERTSON, S. A.; FERREIRA, R.; SAXTON, T.; ARKIN, M.; KERR, I.D.; BRINEN, L.S.; CRAIK, C.S. Two approaches to discovering and developing new drugs for Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 263-269, 2009.
- MCVAUGH, R. Botany of the Guayana Highland – Myrtaceae. **Memoirs of the New York Botanical Garden**, v. 18, p. 55-286, 1969.
- MEDEIROS, F. C. D.; MENEZZI, C. H.; BIZZO, H. R.; VIEIRA, R. F. Scents from Brazilian Cerrado: *Psidium myrsinites* DC. (Myrtaceae) leaves and inflorescences essential oil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 27, p. 289-292, 2015.
- MEIRELES, C. B.; MAIA, L. C.; SOARES, G. C.; TEODORO, I. P. P.; GADELHA, M. D. S. V.; DA SILVA, C. G. L.; DE LIMA, M. A. P. Atypical presentations of cutaneous leishmaniasis: a systematic review. **Acta tropica**, v. 172, p. 240-254, 2017.
- MIRANDA-CADENA, K.; MARCOS-ARIAS, C.; MATEO, E.; AGUIRRE, J. M.; QUINDÓS, G.; ERASO, E. Prevalence and antifungal susceptibility profiles of *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and their close-related species in oral candidiasis. **Archives of oral biology**, v. 95, p. 100-107, 2018.
- MITROPOULOS, P.; KONIDAS, P.; DURKIN-KONIDAS, M. New World cutaneous leishmaniasis: updated review of current and future diagnosis and treatment. **J am Acad Dermatol**, v. 63, p. 309-322, 2010.
- MOON, T. et al. Antiparasitic activity of two *Lavandula* essential oils against *Giardia duodenalis*, *Trichomonas vaginalis* and *Hexamita inflata*. **Parasitol Res** v. 99, p. 722-728, 2006.
- MORACE, G.; PERDONI, F.; BORGHI, E. Antifungal drug resistance in *Candida* species. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 2, n. 4, p. 254-259, 2014.
- MORAIS-BRAGA, M. F. B. et al. *Psidium guajava* L. and *Psidium brownianum* Mart ex DC.: Chemical composition and anti-*Candida* effect in association with fluconazole. **Microbial Pathogenesis**, v. 95, p. 200-207, 2016a.
- MORAIS-BRAGA, M. F. B. et al. *Psidium guajava* L. and *Psidium brownianum* Mart ex DC. potentiate the effect of antibiotics against gram-positive and gram-negative bacteria. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 8, p. 683-687, 2016b.
- MOTTA, F. A.; DALLA-COSTA, L. M.; MURO, M. D.; CARDOSO, M. N.; PICHARSKI, G. L.; JAEGER, G.; BURGER, M. Risk factors for candidemia mortality in hospitalized children. **Jornal de pediatria**, v. 93, n. 2, p. 165-171, 2017.

MURRAY, H. W.; BERMAN, J. D.; DAVIES, C. R.; SARAVIA, N. G. Advances in leishmaniasis. **The Lancet**, v. 366, p. 1561-1577, 2005.

NAKAMURA, M. J.; MONTEIRO, S. S.; BIZARRI, C. H.; SIANI, A. C.; RAMOS, M. F. Essential oils of four Myrtaceae species from the Brazilian southeast. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, n. 6, p. 1170-1175, 2010.

NEVES, D. P. Parasitologia humana. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2004.

NEVES-JUNIOR, A.; CARTÁGENES-PINTO, A. C.; ROCHA, D. A.; SÁ, L. F.; JUNQUEIRA, M. D. L.; FERREIRA-PEREIRA, A. Prevalence and fluconazole susceptibility profile of *Candida* spp. clinical isolates in a Brazilian tertiary hospital in Minas Gerais, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 2, p. 1349-1359, 2015.

NIETO, G. Biological activities of three essential oils of the Lamiaceae family. **Medicines**, v. 4, p. 1-10, 2017.

OLIVEIRA, M. F.; NAGAO-DIAS, A. T.; PONTES, V. M. O.; SOUSA JÚNIOR, A. S.; COELHO, H. L. L.; COELHO, I. C. B. Tratamento etiológico da Doença de Chagas no Brasil. **Revista de Patologia Tropical** 2008, 37, 209.

OLIVIER, M.; GREGORY, D. J.; FORGET, G. Subversion mechanisms by which *Leishmania* parasites can escape the host immune response: a signaling point of view. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 18, p. 293-305, 2005.

OZCELIK, S., OZPINAR, N., KARAKUS, S., AKYILDIZ, F., KARAKAYA, O. Metronidazole resistance in *Trichomonas vaginalis* determined by molecular and conventional methods. **Trop. Biomed.** v. 35, p. 188–194, 2018.

OZPINAR, H., OZPINAR, N., ERUYGUR, N. Effect of *Viscum album* L. ssp. austriacum (WIESP.) Vollman on metronidazole resistant and sensitive strains of *Trichomonas vaginalis*. **South African Journal of Botany**. v. 125, p. 81–85, 2019.

PAPON, N.; COURDAVAULT, V.; CLASTRE, M.; BENNETT, R. J. Emerging and emerged pathogenic *Candida* species: beyond the *Candida albicans* paradigm. **PLoS pathogens**, v. 9, n. 9, p. e1003550, 2013.

PAPPAS, P. G. Invasive candidiasis. **Infectious Disease Clinics**, v. 20, n. 3, p. 485-506, 2006.

PASTOR, J.; GARCÍA, M.; STEINBAUER, S.; SETZER, W. N.; SCULL, R.; GILLE, L.; MONZOTE, L. Combinations of ascaridole, carvacrol, and caryophyllene oxide against *Leishmania*. **Acta tropica**, v. 145, p. 31-38, 2015.

PEREIRA, C. K. B. P. **Estudo químico e atividades microbiológicas de espécies do gênero *Psidium* (Myrtaceae)**. 2010. 120f. Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular). Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Regional do Cariri, Crato, 2010.

PEREIRA, P. S.; MAIA, A. J.; DUARTE, A. E.; OLIVEIRA-TINTINO, C. D. M.; TINTINO, S. R.; BARROS, L. M.; VEGA-GOMEZ, M. C.; ROLÓN, M.; CORONEL, C.; COUTINHO, H. D. M.; DA SILVA, T. G. Cytotoxic and anti-kinetoplastid potential of the essential oil of *Alpinia speciosa* K. Schum. **Food and Chemical Toxicology**, v. 2, p. 1-5, 2018.

PERIC, M.; RAJKOVIC, K.; LEMIC, A. M.; ZIVKOVIC, R.; ARSENIJEVIC, V. A. Development and validation of mathematical models for testing antifungal activity of different essential oils against *Candida* species. **Archives of Oral Biology**, v. 98, p. 258-264, 2019.

PETRIN, D.; DELGATY, K.; BHATT, R.; GARBER, G. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. **Clinical Microbiology Reviews**, v.11, n.2, p.300- 317, 1998.

PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. **Clinical microbiology reviews**, v. 20, n. 1, p. 133-163, 2007.

PINHEIRO, E. et al. Chagas disease: review of needs, neglect, and obstacles to treatment access in Latin America. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.50, n.3, p.296-300, 2017.

POOLE, D. N.; MCCLELLAND, R. S. Global epidemiology of *Trichomonas vaginalis*. *Sexually transmitted infections*, v. 89, n. 6, p. 418-422, 2013.

POPOVIC-DJORDJEVIC, J. B.; JEVTIC, I. I.; STANOJKOVIC, T. P. Antidiabetics: structural diversity of molecules with a common aim. **Current Medicinal Chemistry**, v. 25, p. 2140–2165, 2018.

PUENTE, V. et al. Primary targets of the sesquiterpene lactone deoxymikanolide on *Trypanosoma cruzi*. **Phytomedicine**, v.56, p.27-34, 2019.

PUIG-ASENSIO, M.; RUIZ-CAMPS, M. I.; FERNANDEZ-RUIZ, M.; AGUADO, J. M.; MUÑOZ, P.; VALERIO, M.; DELGADO-IRIBARREN, A.; MERINO, P.; BERECIARTUA, E.; FORTÚN, J.; CUENCA-ESTRELLA, M.; ALMIRANTE, B. Epidemiology and outcome of candidaemia in patients with oncological and haematological malignancies: results from a population-based surveillance in Spain. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 21, n. 5, p. 491, 2015.

QUINDÓS, G. Epidemiology of candidaemia and invasive candidiasis. A changing face. **Revista iberoamericana de micologia**, v. 31, n. 1, p. 42-48, 2014.

REITHINGER, R.; DUJARDIN, J. C.; LOUZIR, H.; PIRMEZ, C.; ALEXANDER, B.; BROOKER, S. Cutaneous leishmaniasis. **The Lancet infectious diseases**, v. 7, p. 581-596, 2007.

REY, L. **Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nos trópicos ocidentais**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

RIBEIRO, D. A.; OLIVEIRA, L. G. S.; MACÊDO, D. G.; MENEZES, I. R. A.; COSTA, J. G. M.; SILVA, M. A. P.; LACERDA, S. R.; SOUZA, M. M. A. Promising medicinal plants

for bioprospection in a Cerrado area of Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 155, p. 1522-1533, 2014.

ROJAS, J.; PALACIOS, O.; RONCEROS, S. Efecto del aceite esencial de *Aloysia triphylla* BRITTON (cedrón) sobre el *Trypanosoma cruzi* en ratones. **Rev Peru Med Exp Salud Publica**, v. 29, p. 61-68, 2012.

ROMERO, E. L.; MORILLA, M. J. Nanotechnological approaches against Chagas disease. **Advanced drug delivery reviews**, v. 62, n. 4-5, p. 576-588, 2010.

RYAN, P.; MOTHERWAY, C.; POWELL, J.; ELSAKA, A.; SHEIKH, A. A.; JAHANGIR, A.; O'CONNELL, N. H.; DUNNE, C. P. Candidaemia in an Irish intensive care unit setting between 2004 and 2018 reflects increased incidence of *Candida glabrata*. **Journal of Hospital Infection**, v. 1, p. 1-13, 2019.

SACKS, D.; KAMHAWI, S. Molecular aspects of parasite-vector and vector-host interactions in leishmaniasis. **Annual Reviews in Microbiology**, v. 55, p. 453-483, 2001.

SADEGHI, G.; EBRAHIMI-RAD, M.; MOUSAVI, S. F.; SHAMS-GHAHFAROKHI, M.; RAZZAGHI-ABYANEH, M. Emergence of non-*Candida albicans* species: epidemiology, phylogeny and fluconazole susceptibility profile. **Journal de mycologie medicale**, v. 28, n. 1, p. 51-58, 2018.

MOONEY, H. A.; MEDINA, E. (Eds.). **Seasonally Tropical Dry Forests**. Cambridge: Cambridge University Press, 1995.

SANGARÉ, I.; SIRIMA, C.; BAMBA, S.; ZIDA, A.; CISSÉ, M.; BAZIÉ, W. W.; SANOU, S.; DAO, B.; MENAN, H.; GUIGUEMDE, R. T. Prevalence of vulvovaginal candidiasis in pregnancy at three health centers in Burkina Faso. **Journal de mycologie medicale**, v. 28, n. 1, p. 186-192, 2018.

SANGWAN, N. S.; FAROOQI, A. H. A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R. S. **Regulation of essential oil production in plants**. India: Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants, 2001.

SANTORO, G.F.; CARDOSO, M.G.; GUIMARÃES, L.G.L.; FREIRE, J.M.; SOARES, M.J. Anti-proliferative effect of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (lemongrass) on intracellular amastigotes, bloodstream trypomastigotes and culture epimastigotes of *Trypanosoma cruzi* (Protozoa : Kinetoplastida). **Parasitology**, v. 13, p. 1649-1656, 2007a.

SANTORO, G.F.; CARDOSO, M.G.; GUIMARÃES, L.G.L.; MENDONÇA, L.Z.; SOARES, M.J. *Trypanosoma cruzi*: Activity of the essential oils from *Achillea millefolium* L., *Syzygium aromaticum* L. and *Ocimum basilicum* L. on epimastigotes and trypomastigotes. **Experimental Parasitol**, v. 116, p. 283-290, 2007b.

SANTURIO, J. M.; SANTURIO, D. F.; POZZATTI, P.; MORAES, C.; FRANCHIN, P. R.; ALVES, S. H. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, v. 37, p. 803-808, 2007.

SARAIVA, E. M.; PINTO-DA-SILVA, L. H.; WANDERLEY, J. L.M.; BONOMO, A. C.; BARCINSKI, M. A.; MOREIRA, M. E. C. Flow cytometric assessment of *Leishmania* spp metacyclic differentiation: validation by morphological features and specific markers. **Experimental Parasitology**, v. 110, p. 39-47, 2005.

SCHWEBKE, J. R.; BARRIENTES, F. J. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* isolates with resistance to metronidazole and tinidazole. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.50, n.12, p.4209-10, 2006.

SCHWEBKE, J. R.; LAWING, L. F. Improved detection by DNA amplification of *Trichomonas vaginalis* in males. *J. Clin. Microbiol.* v. 40, n. 10, p. 3681-3683, 2002.

SCHWEBKE, J.R. Update of trichomoniasis. **Sexually Transmitted Infections**, v.78, p.378–379, 2002.

SHARIFZADEH, A.; SHOKRI, H.; ABBASZADEH, S. Interaction of carvacrol and voriconazole against drug-resistant *Candida* strains isolated from patients with candidiasis. **Journal de mycologie medicale**, v. 29, p. 44-48, 2018.

SHU, J. C.; LIU, J. Q.; CHOU, G. X.; WANG, Z. T. Two new terpenoids from *Psidium guajava*. **Chinese Chemical Letters**, v. 23, p. 827-830, 2012.

SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**. Guanabara Koogan, 2004.

SILVA, B. J. M.; HAGE, A. A. P.; SILVA, E. O.; RODRIGUES, A. P. D. Medicinal plants from the Brazilian Amazonian region and their antileishmanial activity: a review. **Journal of Integrative Medicine**, v. 1, p. 1-62, 2018.

SILVA, S.; NEGRI, M.; HENRIQUES, M.; OLIVEIRA, R.; WILLIAMS, D. W.; AZEREDO, J. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. **FEMS microbiology reviews**, v. 36, n. 2, p. 288-305, 2012.

SILVA, T. F.; OLIVEIRA, A. B. Plantas leishmanicidas da Amazônia Brasileira: uma revisão. **Revista Fitos Eletrônica**, v. 10, p. 339-363, 2017.

SILVA-JÚNIOR, M. C. **100 árvores do cerrado**: guia de campo. Brasília, DF: Rede de Sementes do Cerrado, 2005.

SILVER, B. J.; GUY, R. J.; KALDOR, J. M.; JAMIL, M. S.; RUMBOLD, A. R. *Trichomonas vaginalis* as a Cause of Perinatal Morbidity: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Sex Transm Dis.** v.41, n.6, p. 369-76, 2014.

SIQUEIRA JR, J. F.; SEN, B. H. Fungi in endodontic infections. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 97, n. 5, p. 632-641, 2004.

SNIPES, L.J., GAMARD, P.M., NARCISI, E.M., BEARD, C.B., LEHMANN, T., SECOR, W.E. Molecular epidemiology of metronidazole resistance in a population of *Trichomonas vaginalis* clinical isolates. **J. Clin. Microbiol.** v. 38, p. 3004–3009, 2000.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F.; LUCAS, E. 2015. **Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB171>>. Acesso em: 02 de março de 2018.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F.; LUCAS, E. Myrtaceae. In: FORZZA, R. C. (Org.). **Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estudio/ Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. p. 1301-1330.

SOEIRO, M. N. C.; DANTAS, A. P.; DALIRY, A.; DA SILVA, C. F.; BATISTA, D. G.; SOUZA, E. M.; OLIVEIRA, G. M.; SALOMÃO, K.; BATISTA, M. M.; PACHECO, M.; SILVA, P. B.; SANTA-RITA, R. M.; MENNA-BARRETO, R. F. S.; BOYKIN, D. W.; DE CASTRO, S. L. Experimental chemotherapy for Chagas disease: 15 years of research contributions from in vivo and in vitro studies. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 301-310, 2009.

SOOSARAEI, M.; FAKHAR, M.; TESHNIZI, S. H.; HEZARJARIBI, H. Z.; BANIMOSTAFAVI, E. S. Medicinal plants with promising antileishmanial activity in Iran: a systematic review and meta-analysis. **Annals of Medicine and Surgery**, v. 21, p. 63-80, 2017.

SOUZA, C. E. S. et al. Anti-*Trypanosoma*, anti-*Leishmania* and cytotoxic activities of natural products from *Psidium brownianum* Mart. ex DC. and *Psidium guajava* var. *Pomifera* analysed by LC–MS. **Acta Tropica**, v. 176, p. 380-384, 2017.

SUNDAR, S.; CHAKRAVARTY, J. An update on pharmacotherapy for leishmaniasis. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 16, p. 237-252, 2015.

SUNDAR, S.; GOYAL, N. Molecular mechanisms of antimony resistance in *Leishmania*. **Journal of Medical Microbiology**, v. 56, p. 143-153, 2007.

SUTCLIFFE, S.; NEACE, C.; MAGNUSON, N. S.; REEVES, R.; ALDERETE, J. F. Trichomonosis, a Common Curable STI, and Prostate Carcinogenesis—A Proposed Molecular Mechanism. **PLoS Pathogens**, v.8, n.8, p.e1002801, 2012.

TEIXEIRA, A. R.; NITZ, N.; GUIMARO, M. C.; GOMES, C.; SANTOS-BUCH, C. A. Chagas disease. **Postgrad. Med. J.**, v. 82, p. 788-798, 2006.

THORNHILL, A. H.; HO, S. Y.; KÜLHEIM, C.; CRISP, M. D. Interpreting the modern distribution of Myrtaceae using a dated molecular phylogeny. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 93, p. 29-43, 2015.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2015.

ULLAH, N.; NADHMAN, A.; SIDDIQ, S.; MEHWISH, S.; ISLAM, A.; JAFRI, L.; HAMAYUN, M. Plants as antileishmanial agents: current scenario. **Phytotherapy Research**, v. 30, p. 1905-1925, 2016.

URBINA, J. A. Ergosterol biosynthesis and drug development for Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 311-318, 2009.

VAN DER POL, B.; KWOK, C.; PIERRE-LOUIS, B.; RINALDI, A.; SALATA, R. A.; CHEN, P. L.; VAN DE WIJGERT, J.; MMIRO, F.; MUGERWA, R.; CHIPATO, T.; MORRISON, C. S. *Trichomonas vaginalis* infection and human immunodeficiency virus acquisition in African women. **The Journal of Infectious Diseases**, v.197, n.4, p.548-54, 2008.

WALDMAN, E.A.; SATO, A.P.S. Path of infectious diseases in Brazil in the last 50 years: an ongoing challenge. **Rev Saude Publica**. p.50:68, 2016.

WALDRON, L.S.; FERRARI, B.C.; CHEUNG-KWOK-SANG, C.; BEGGS, P. J.; STEPHENS, N.; POWER, M.L. Molecular epidemiology and spatial distribution of a waterborne cryptosporidiosis outbreak in Australia. **Appl Environ Microbiol**, v. 77, p. 7766–7771, 2011.

WEISS, F.; VOGENTHALER, N.; FRANCO-PAREDES, C.; PARKER, S. R. *Leishmania tropica*–induced cutaneous and presumptive concomitant viscerotropic leishmaniasis with prolonged incubation. **Archives of Dermatology**, v. 145, n. 9, p. 1023-1026, 2009.

WELI, A.; AL-KAABI, A.; AL-SABAHI, J.; SAID, S.; HOSSAIN, M. A.; AL-RIYAMI, S. Chemical composition and biological activities of the essential oils of *Psidium guajava* leaf. **Journal of King Saud University-Science**, v. 1, p. 1-6, 2018.

WILSON, P. G. Myrtaceae. In: KUBITZKI, K. (Org.). The Families and Genera of Vascular Plants. Vol. X. Flowering Plants, Eudicots: sapindales, curcubitales, Myrtaceae. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2011. p. 212-271.

WILSON, P. G.; O'BRIEN, M. M.; GADEK, P. A.; QUINN, C. J. Myrtaceae revisited: a reassessment of interfamilial groups. **American Journal of Botany**, v. 88, p. 2013-2025, 2001.

WILSON, P. G.; O'BRIEN, M. M.; HELESWOOD, M. M.; QUINN, C. J. Relationships within Myrtaceae sensu lato based on a matK phylogeny. **Plant Systematic and Evolution**, v. 251, p. 3-19, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Leishmaniasis**. [s.l.], 2018. Disponível em: <<http://www.who.int/leishmaniasis/en/>>. Acesso em 25 de fevereiro de 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Incidence and Prevalence of Selected Curable Sexually Transmitted Infections-2008. 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Integrating neglected tropical diseases in global health and development Fourth WHO report on neglected tropical diseases. Geneva-2017.

Disponível em: <https://unitingtocombatntds.org/wp-content/uploads/2017/11/4th_who_ntd_report.pdf> Acesso em 19 de junho de 2020.

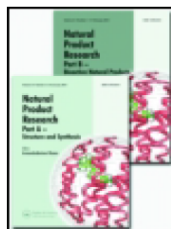
XAVIER, M. N.; ALVES, J. M.; CARNEIRO, N. S.; SOUCHIE, E. L.; SILVA, E. A. J.; MARTINS, C. H. G.; AMBROSIO, M. A. L. V.; EGEA, M. B.; ALVES, C. C. F.; MIRANDA, M. L. D.. Composição Química do Óleo Essencial de *Cardiopetalum calophyllum* Schltdl.(Annonaceae) e suas Atividades Antioxidante, Antibacteriana e Antifúngica. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 5, p. 1-16, 2016.

ZANUSSO JUNIOR, G. Z. et al. Efficacy of some essential oils in mice infected with *Trypanosoma cruzi*. **Tropical journal of pharmaceutical research**, v.16, p.1307-1316, 2017.

ZIDA, A.; BAMBA, S.; YACOUBA, A.; OUEDRAOGO-TRAORE, R.; GUIGUEMDÉ, R. T. Anti-*Candida albicans* natural products, sources of new antifungal drugs: A review. **Journal de mycologie medicale**, v. 27, n. 1, p. 1-19, 2017.

ZORATI, G.C.; MELLO, S.A. Incidência da tricomoníase em mulheres atendidas pelo sistema único de saúde em cascavel e no oeste do Paraná. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**. Umuarama, v.13, n.2, p. 133-138, 2009.

APÊNDICE A. Artigo: CHEMICAL COMPOSITION, ANTIOXIDANT AND ANTIPROTOZOAL ACTIVITY OF *Eugenia gracillima* Kiaersk. LEAVES ESSENTIAL OIL



Natural Product Research
Formerly Natural Product Letters



ISSN: 1478-6419 (Print) 1478-6427 (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/gnpl20>

Chemical composition, antioxidant and antiprotozoal activity of *Eugenia gracillima* Kiaersk. leaves essential oil

Mariana Gomes Vidal Sampaio, Cícero Ramon Bezerra Dos Santos, Lilian Cortez Sombra Vandesmet, Bruno Souza Dos Santos, Izabelly Bianca Da Silva Santos, Maria Tereza dos Santos Correia, Arthur Lima de Berrêdo Martins, Luis Claudio Nascimento da Silva, Irwin Rose De Alencar Menezes, Maria Celeste Veja Gomez & Márcia Vanusa Da Silva

To cite this article: Mariana Gomes Vidal Sampaio, Cícero Ramon Bezerra Dos Santos, Lilian Cortez Sombra Vandesmet, Bruno Souza Dos Santos, Izabelly Bianca Da Silva Santos, Maria Tereza dos Santos Correia, Arthur Lima de Berrêdo Martins, Luis Claudio Nascimento da Silva, Irwin Rose De Alencar Menezes, Maria Celeste Veja Gomez & Márcia Vanusa Da Silva (2019): Chemical composition, antioxidant and antiprotozoal activity of *Eugenia gracillima* Kiaersk. leaves essential oil, Natural Product Research, DOI: [10.1080/14786419.2019.1644506](https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1644506)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1644506>



View supplementary material [↗](#)



Published online: 22 Jul 2019.



Submit your article to this journal [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=gnpl20>

APÊNDICE B. AUTORIZAÇÃO DE COLETA BÔTANICA, INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE – ICMBio.



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Comprovante de registro para coleta de material botânico, fúngico e microbiológico

Número: 59070-1	Data da Emissão: 30/05/2017 12:11
Dados do titular	
Nome: LILIAN CORTEZ SOMBRA VANDESMET	CPF: 034.497.453-79

SISBIO

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
3	O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	É necessário a obtenção de anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como de consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade.
5	Este documento não abrange a coleta de vegetais hidróbios, tendo em vista que o Decreto-Lei nº 221/1967 e o Art. 36 da Lei nº 9.605/1998 estabelecem a necessidade de obtenção de autorização para coleta de vegetais hidróbios para fins científicos.
6	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
7	Este documento não é válido para: a) coleta ou transporte de espécies que constem nas listas oficiais de espécies ameaçadas de extinção; b) recebimento ou envio de material biológico ao exterior; e c) realização de pesquisa em unidade de conservação federal ou em caverna.
8	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
9	Esse documento não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; II) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; III) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; IV) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; V) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.

Táxons autorizados

#	Nível taxonômico	Táxon(s)
1	REINO	Plantae

nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por

SISBIO

meio

Este documento (Comprovante de registro para coleta de material botânico, fúngico e

microbiológico) foi expedido com base na Instrução Normativa da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 78753556 Página 1/1

