

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
DOUTORADO

Euterpe oleracea Mart.: **BIOPROSPECÇÃO FITOQUÍMICA,
POTENCIAL LEISHMANICIDA E CICATRIZANTE DE
LESÕES CUTÂNEAS**

DAYANNE DA SILVA FREITAS

SÃO LUÍS

2021

DAYANNE DA SILVA FREITAS

Euterpe oleracea Mart.: **BIOPROSPECÇÃO FITOQUÍMICA,
POTENCIAL LEISHMANICIDA E CICATRIZANTE DE
LESÕES CUTÂNEAS.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência da Saúde da Universidade Federal do Maranhão,
como requisito para obtenção do título de Doutor em
Ciências da Saúde.

Orientadora: Dr^a Lucilene Amorim Silva

Co-orientadora: Dr^a Ana Lucia Abreu Silva

SÃO LUÍS

2021

DAYANNE DA SILVA FREITAS

Euterpe oleracea Mart.: **BIOPROSPECÇÃO FITOQUÍMICA,
POTENCIAL LEISHMANICIDA E CICATRIZANTE DE
LESÕES CUTÂNEAS.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência da Saúde da Universidade Federal do Maranhão,
como requisito para obtenção do título de Doutor em
Ciências da Saúde.

Aprovada em 03/02/2021 por:

BANCA EXAMINADORA

Dr^a Lucilene Amorim Silva- UFMA
(Orientadora)

Dr^a Ana Lucia Abreu Silva- UEMA
(Co- Orientadora)

Dr^a Flavia Maria Mendonça do Amaral
(Memória)

Dr^a Mayara Cristina Pinto da Silva
(1ºexaminador)

Drº Rafael Cardoso Carvalho
(2ºexaminador)

Dr^a Joicy Cortez de Sá Sousa
(3ºexaminador)

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

da Silva Freitas, Dayanne.

Euterpe oleracea Mart.: PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA,
POTENCIAL LEISHMANICIDA E CICATRIZANTE DE LESÕES CUTÂNEAS
/ Dayanne da Silva Freitas. - 2021.

149 f.

Coorientador(a): Ana Lucia Abreu Silva.

Orientador(a): Lucilene Amorim Silva.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em
Ciências da Saúde/ccbs, Universidade Federal do Maranhão,
Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, 2021.

1. Cicatrização. 2. Fitoquímica. 3. Leishmania. I.
Abreu Silva, Ana Lucia. II. Amorim Silva, Lucilene. III.
Título.

Dedicatória

Dedico este trabalho a meus pais, minha irmã, minha família e em especial as minhas avós Ana Noeline (*in memoriam*) e Iracy que antes de todos já me intitulava doutora.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela minha vida e por tudo!!

À Profa. Dra. Ana Lucia Abreu Silva, sempre atenciosa desde o início apoiando meu sonho de ser professora, nunca disse não a algum pedido ou disse não para alguma oportunidade que eu tive para crescer como profissional. O que me levou a ser professora desta Universidade. Sempre me dando liberdade e depositando em mim sua confiança para executar a pesquisa.

À Profa. Dra. Lucilene Amorim Silva, a sua aceitação em ser minha orientadora sem mesmo me conhecer com um projeto recém construído (para não dizer do zero), me permitiu continuar o doutorado. Não apenas pela orientação, mas igualmente pela atenção, amizade (obrigada pelo apoio que você me deu e dá nesta fase em que estou passando)!

À Profa. Dra. Cláudia Quintino da Rocha por toda atenção, presteza, pelos ensinamentos e por não ter medido esforços para colaborar com este trabalho, pois a mudança de projeto quase me fez desistir, porém com seu conhecimento e ideia fez abrir um novo caminho para que pudesse construir um novo projeto! O meu muito obrigada a essa mulher maravilhosa!

À Profa. Dra. Flavia Raquel Fernandes do Nascimento, pelo apoio quando era coordenadora do PPGCS sempre atenciosa com os meus desesperos na pesquisa e também por contribuir com a atual pesquisa influenciando a prof Lucilene aceitar a orientação e ainda contribuir de forma financeira (um dia lhe retribuo!);

Aos meus irmãos científicos Andressa de Souza da Silva Godinho, Luís Douglas Miranda Silva, Jefferson Mesquita Brito e SulayneJanayna Araújo Guimaraes que estiveram comigo durante o desenvolvimento desta pesquisa, pela presteza nos experimentos e apoio emocional;

Aos professores do PPGCS por todos os ensinamentos científicos e de vida transmitidos;

Aos meus pais Ana Goretti Chaves da Silva e Wiraquitan Araújo Freitas por todo amor, carinho, atenção, auxílio e paciência dedicados a mim;

A minha irmã Danielly da Silva Freitas pela compreensão e apoio nos momentos difíceis que passei;

Aos meus tios e tias, primos e primas, sobrinhos e sobrinhas por cada gesto e palavras de incentivo e coragem e;

Aos amigos do Laboratório de Imunofisiologia (LIF-UFMA) Luana Caroline Santos Pinheiro, Caroline Martins de Jesus, Arthur Andre Castro da Costa, Josivan Regis Farias, Irla Correia Lima Licá, Mirtes Castelo Branco Rocha, Vitor Augusto Ferreira dos Santos, Danielle Cristine Gomes Franco pela presteza de sempre em experimentos ou pelas boas conversas e risos que tivemos;

A todos os amigos de turma do PPGCS, em especial aos da turma 2016-2020;

Aos meus colegas professores do curso de enfermagem do Campus de Pinheiro-UFMA pelo incentivo e apoio para a conclusão do doutorado;

A todos os demais amigos e colegas que sempre me deram força e incentivo de entrar e me manter na pós-graduação,

À Universidade Federal do Maranhão pelo incentivo a qualificação e ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) pela oportunidade de realizar o Doutorado;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de Doutorado (2017-2018);

À Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) pelo apoio financeiro;

Recebam o meu MUITO OBRIGADO! Um abraço!

RESUMO

As leishmanioses são um complexo de doenças com diversidade epidemiológica e espectro clínico variado. As formas clínicas principais são leishmaniose visceral (LV) e leishmaniose tegumentar (LT). Há limitações em relação ao tratamento, pois os agentes leishmanicidas sistêmicos utilizados, causam variados efeitos adversos e o aumento da resistência, impulsionando surgimento de novas perspectivas de tratamento como protocolos alternativos e interesse crescente em novas substâncias obtidas a partir de produtos naturais. O açai, fruto de *Euterpe oleracea* MARTIUS é uma espécie vegetal, cujos estudos já descrevem seu potencial antioxidante, anti-inflamatório e leishmanicida, instigando pesquisas mais abrangentes sobre o mesmo. Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi realizar estudo de bioprospecção com ênfase na investigação da composição química, atividade leishmanicida, imunomoduladora, cicatrizante de extratos de semente e/ou polpa de *Euterpe oleracea*, bem como do seu bioproduto. Para tal, foi realizada a preparação do extrato hidroetanólico da polpa e etanólico da semente de *E. oleracea*, com subsequente caracterização química dos extratos por espectrometria de massas, atividade antioxidante e leishmanicida de formas promastigostas de *L. amazonensis* por MTT e atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS. Assim, o extrato com melhor atividade leishmanicida e antioxidante foi selecionado para desenvolvimento da formulação do tipo creme (CLA a 15%) e realizada análise da sua estabilidade, físico-química e microbiológica. Para os ensaios biológicos, foram utilizados 65 camundongos da linhagem Balb/c e divididos em quatro grupos de 15 animais que foram infectados com *L. amazonensis* na orelha direita, e um grupo sadio de 5 animais, que foram denominados: Grupo Base tratado com 0,1mL do excipiente da creme base por 21 dias por via tópica, Grupo CLA 15% tratado com 0,1mL de creme de *E. oleracea* durante 21 dias por via tópica, Grupo Sb⁺⁵ tratado com o antimônio pentavalente (Sb⁺⁵) (28 mg/kg/dia) por 15 dias via intraperitoneal e o Grupo que recebeu associação dos compostos (CLA 15% + Sb⁺⁵) foi tratado simultaneamente com creme de *E. oleracea* durante 21 dias por via tópica e antimônio pentavalente (Sb⁺⁵) (28 mg/kg/dia) via intraperitoneal durante 15 dias. Foi realizado acompanhamento da lesão semanalmente através da mensuração das lesões por planimetria digital, considerando-se as medidas vertical e horizontal. Foi quantificada a carga parasitária pelo ensaio de Diluição Limitante, em amostras do linfonodo cervical de todos os grupos que receberam tratamento. Além disso, foi feita a Imunofenotipagem das células do linfonodo, baço e lesão, e a dosagem de citocinas (técnica de CBA) no sobrenadante de cultura de células peritoneais. E também foi realizada a análise histopatológica das orelhas infectadas. Os resultados mostraram que os extratos da semente e da polpa de *E. oleracea* são compostos principalmente por flavonoides, sendo o extrato da semente composto por catequinas e procianidinas. O extrato da semente foi selecionado para realização da formulação pois apresentou melhor atividade leishmanicida, sob as formas promastigotas de *L. amazonensis* com CI 50 de 0,44 mg/mL, além de apresentar atividade antioxidante. A formulação CLA a 15% não apresentou alterações organolépticas, com pH levemente ácido de 4,5, assim como não apresentou crescimento de colônias de bactérias e fungos, sendo considerado apto para o uso nos testes *in vivo*. Houve redução da área da lesão a partir da 2ª semana de tratamento dos grupos Sb⁺⁵, CLA15% e Sb⁺⁵ + CLA15%, assim como observou-se redução do peso das orelhas. Não se observou efeito sob a carga parasitária nos grupos de tratamento, demonstrando que a formulação creme

CLA15% não possui efeito direto sobre o parasita, ao menos sob estas condições de concentração e tempo de tratamento, porém a associação do tratamento (Sb^{+5} + CLA15%) demonstrou modular o sistema imune com aumento da expressão de população linfócitos e macrófagos, assim como o tratamento com CLA15%, aumentou a expressão de MCP-1, principal quimiocina reguladora da migração e infiltração de monócitos /macrófagos. Estes dados indicam que a formulação com extrato de *E. oleracea* é uma promissora terapia combinada antimoniato de meglumina.

Palavras-chave: Açai; *Leishmania amazonensis*; Cicatrização.

ABSTRACT

Leishmaniasis is a complex of diseases with epidemiological diversity and varied clinical spectrum. The main clinical forms are visceral leishmaniasis (VT) and cutaneous leishmaniasis (LT). There are limitations in relation to treatment, since the systemic leishmanicidal agents used, cause various adverse effects and the increase in resistance, driving the emergence of new treatment perspectives such as alternative protocols and growing interest in new substances obtained from natural products. Açai, the fruit of *Euterpe oleracea* MARTIUS is a plant species, whose studies already describe its antioxidant, anti-inflammatory and leishmanicidal potential, prompting more comprehensive research on the same. Thus, the objective of this research was to carry out a bioprospecting study with an emphasis on investigating the chemical composition, leishmanicidal, immunomodulatory activity, healing of *Euterpe oleracea* seed extracts and / or pulp, as well as its bioproduct. For this purpose, the preparation of the hydroethanolic extract of the pulp and ethanol of the seed of *E. oleracea* was carried out, with subsequent chemical characterization of the extracts by mass spectrometry, antioxidant and leishmanicidal activity of promastigote forms of *L. amazonensis* by MTT and antioxidant activity by the methods DPPH and ABTS. Thus, the extract with the best leishmanicidal and antioxidant activity was selected for the development of the cream type formulation (CLA 15%) and an analysis of its stability, physical-chemical and microbiological, was carried out. For biological assays, 65 Balb/c mice were used, divided into four groups of 15 animals that were infected with *L. amazonensis* in the right ear, and a healthy group of 5 animals, which were named: Base Group treated with 0, 1mL of the excipient of the base cream for 21 days topically, CLA Group 15% treated with 0.1mL of *E. oleracea* cream for 21 days topically, Group Sb⁺⁵ treated with the pentavalent antimonial (Sb⁺⁵) (28 mg / kg / day) for 15 days intraperitoneally and the Group that received an association of the compounds (CLA 15% + Sb⁺⁵) was treated simultaneously with *E. oleracea* cream for 21 days topically and pentavalent antimonial (Sb⁺⁵) (28 mg / kg / day) intraperitoneally for 15 days. The lesion was monitored weekly by measuring the lesions using digital planimetry, considering the vertical and horizontal measures. The parasitic load was quantified by the Limiting Dilution assay, in samples of the cervical lymph node from all groups that received treatment. In addition, immunophenotyping of the lymph node, spleen and lesion cells was performed, and the cytokine dosage (CBA technique) in the peritoneal cell culture supernatant. Histopathological analysis of the infected ears was also performed. The results showed that *E.oleracea* seed and pulp extracts are mainly composed of flavonoids, the seed extract being made up of catechins and procyanidins. The seed extract was selected for the formulation because it showed better leishmanicidal activity, in the forms of *L. amazonensis* with IC₅₀ of 0.44 mg / mL, in addition to having antioxidant activity. The 15% CLA formulation showed no organoleptic changes, with a slightly acid pH of 4.5, as well as no growth of colonies of bacteria and fungi, being considered suitable for use in in vivo tests. There was a reduction in the lesion area after the second week of treatment in the Sb⁺⁵, CLA15% and Sb⁺⁵ + CLA15% groups, as well as a reduction in the weight of the ears. There was no effect on the parasite load in the treatment groups, demonstrating that the cream formulation CLA15% has no direct effect on the parasite, at least under these conditions of concentration and treatment time, but the association of the treatment (Sb⁺⁵ + CLA15%) demonstrated to modulate the immune system with increased expression of lymphocytes and macrophages, as well as treatment with CLA15%, increased the expression of MCP-1, the main chemokine that regulates migration and

infiltration of monocytes / macrophages. These data indicate that the formulation with *E. oleracea* extract is a promising combination therapy for meglumine antimoniate.

Keywords: *Euterpe oleracea* MART; *Leishmania amazonensis*; Wound Healing.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

ABTS	2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico
Anf-B	Anfotericina-B
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APCI	Atmospheric Pressure Chemical Ionization
ATP	Trifosfato de adenosina
AV	Anexina V
BOD	Biochemical Oxygen Demand
C3	Carbono
CBA	Cytometric Beads Array
CD	Cluster of Differentiation
CEUA	Comissão de Ética no Uso Animal
CFU	Colony Forming Unit
CI	Concentração inibitória
CID	Collision-Induced Dissociation
CLA	Creme Lanete açaí
CN	Controle Negativo
COX-2	Expressão de Ciclooxygenase 2
d	dia
<i>D. ambrosioides</i>	<i>Dysphania ambrosioides</i>
DA	Grupo experimental
DALYs	Disability Adjusted Life Years
DATASUS	Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde do Brasil
DMSO	Dimetilsulfóxido ou sulfóxido de dimetilo
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
Dr	Densidade relativa
<i>E. oleracea</i>	<i>Euterpe Oleracea</i> MARTIUS
<i>E. oleracea</i> MART	<i>Euterpe Oleracea</i> MARTIUS
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid
EGCG	(-) - epigallocatequina 3-O-galato
EGFP	Enhanced Green Fluorescent Protein

ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
ESA	Extrato da semente do açaí
ESI-MSn	Electrospray Ionization - mass spectrometry
FBS	Fetal Bovine Serum
fPPG	Proteofosfoglicano filamentoso (fPPG)
FSC	Forward Scatter
GIBCO	Bovine Fetal Serum
GP	Grupo Positivo
GP63	Glicoproteína de 63 kDa
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HPLC	High performance liquid chromatography
IC	Inhibitory concentration
IDO	Indoleamina Dioxigenase
IFN- γ	Interferon gama
IL	Interleucina
IM	Intramuscular
Imod	Intensamento Modificado
iNOS	Óxido Nítrico-Sintase induzida
IP	Iodado de propídeo
IV	Intravenoso
kg	<i>Kilograma</i>
<i>L. (L.) amazonensis</i>	<i>Leishmania Leishmania amazonensis</i>
<i>L. (V.)</i>	<i>Leishmania Viannia</i>
<i>L. amazonensis</i>	<i>Leishmania amazonensis</i>
<i>L. chagasi</i>	<i>Leishmania chagasi</i>
<i>L. complexo enriettii</i>	<i>Leishmania complexo enriettii</i>
<i>L. donovani</i>	<i>Leishmania donovani</i>
<i>L. infantum</i>	<i>Leishmania infantum</i>
<i>L. major</i>	<i>Leishmania major</i>
Lanette N®	Álcool cetoestearílico e cetil estearil sulfato de sódio
L-Anf	Anfotericina B lipossomal
LC	Leishmaniose Cutânea

LCD	Leishmaniose Cutânea Difusa
LCL	Leishmaniose Cutânea Localizada
LD	Leishmaniose Disseminada
LDPK	Leishmaniose dérmica pós-calazar
LM	Levemente Alterado
LM	Leishmaniose Mucosa ou Mucocutânea
LM	Levemente Alterado
LPG	Lipofosfolicano
LT	Leishmaniose Tegumentar
LTA	Leishmaniose Tegumentar Americana
<i>Lu</i>	<i>Lutzomyia</i>
LV	Leishmaniose Visceral
M	Modificado
m/z	Massa/carga
Ma	Massa do picnômetro com água
Malonil- CoA	malonil coenzima A
MCP-1	Monocyte chemoattractant protein-1
mg	miligrama
mL	mililitro
Mp	Massa do picnômetro com produto acabado
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
MS/MS	Espectrometria de massas
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
Mv	Massa do picnômetro vazio
NADH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide
NDUFS	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfurprotein
NF-Kb	Fator nuclear kappa B
NNN	Nicolle-McNeal-Novy
NO	Óxido Nítrico
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAHO	Pan American Health Organization
PBS	Phosphate buffered saline
PCR	Polymerase Chain Reaction

PerCP	Peridinin Chlorophyll Protein Complex
PGE2	Prostaglandin E2
pH	potencial Hidrogeniônico
PHO	Pan American Health Organization
PI	Propide Iodide
PSG	Gel Secretório Promastigota
QSP	Quantidade suficiente para
R	raio maior da lesão
r	raio menor da lesão
RCF	<i>Relative</i> Centrifugal Force
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
ROS	Reactive oxygen species
RPMI	meio desenvolvido por Roswell Park Memorial Institute
S	Separado
<i>S. Striata</i>	<i>Scrophularia Striata</i>
SA	Sem alterações
SB	Antimoniato de Meglumina
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate
SEA	Seed extract açai
SFB	Soro Fetal Bovino
SINAN	Sistema de Informação de agravos de Notificação
SISBIO	Biodiversity Authorization and Information System (SISBIO)
SISGEN	National System of Management of Genetic Heritage and Associated Traditional Knowledge
SisLeish	Leishmaniasis Regional Information System
SSC	Side Scatter
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>S. aureus</i>
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromo-2-carboxylic acid)
TGF-β	Fator de crescimento transformador β
TNF-α	Tumor Necrosis Factor alpha
Trolox	6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico

UF	Unidade Federativa
UFC	Unidades formadoras de colônias
UFC/g	Unidades formadoras de colônias por grama
UFMA	Federal University of Maranhão
VCEAQ	atividade antioxidante equivalente à quercetina
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular
VO	Via Oral
WHO	World Health Organization

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Referencial Teórico

Figura 1.	Casos confirmados notificados por região de residência no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN)-Brasil, 2017	06
Figura 2.	Leishmaniose Tegumentar	08
Figura 3.	Evolução da lesão ulcerativa na leishmaniose cutânea	09
Figura 4.	Formas amastigota e promastigotas de <i>L. chagasi</i>	11
Figura 5.	Flebotomíneo do gênero <i>Lutzomyia</i>	12
Figura 6.	Ciclo de vida <i>Leishmania</i>	14
Figura 7.	Aspecto geral e fruto de <i>E. oleracea</i>	49

Capítulo 1

Figura 1.	Espectros dos extratos de <i>Euterpe oleracea</i> Mart.	74
Figura 2.	Estruturas químicas do extrato da polpa de <i>Euterpe oleracea</i> Mart.	76
Figura 3.	Estruturas químicas do extrato etanólico da semente de <i>Euterpe oleracea</i> .	77
Figura 4.	Percentual de DPPH após adição do extrato de <i>Euterpe oleracea</i> Mart.	78
Figura 5.	Percentual de atividade antioxidante pelo método ABTS do extrato de <i>Euterpe oleracea</i> Mart.	79
Figura 6.	Análise da mortalidade celular de <i>L. amazonensis</i> após exposição de extrato de <i>Euterpe oleracea</i> .	81
Figura 7.	Processo de centrifugação da formulação CLA 15% a 108, 363 e 1008 RCF.	82
Figura 8.	Análise microbiológica da formulação CLA 15% cultivadas em placas de meio Ágar Mueller Hinton e Ágar Sabourand.	83

Capítulo 2

Figura 1.	Avaliação do efeito do tratamento em lesões induzidas por <i>L. amazonensis</i> .	101
-----------	---	-----

Figura 2.	Peso da orelha dos animais sadios e infectados que receberam tratamento.	102
Figura 3.	População de macrófagos na orelha caracterizados por imunofenotipagem CD80/lale.	103
Figura 4.	População de macrófagos na orelha caracterizados por Imunofenotipagem INOS/Arginase.	104
Figura 5.	População de macrófagos na orelha caracterizados por Imunofenotipagem CD86/lale.	105
Figura 6.	População de macrófagos do linfonodo caracterizados por Imunofenotipagem CD19/lale.	106
Figura 7.	População de macrófagos do linfonodo caracterizados por Imunofenotipagem CD86/lale.	107
Figura 8.	População de macrófagos do linfonodo caracterizados por Imunofenotipagem CD80/lale.	108
Figura 9.	População de linfócitos do linfonodo caracterizados por Imunofenotipagem CD8/CD69.	109
Figura 10.	População de macrófagos do baço caracterizados por Imunofenotipagem F4/80/ Iale.	110
Figura 11.	População de linfócitos do baço caracterizados por Imunofenotipagem CD8/CD69.	111
Figura 12.	População de linfócitos do baço caracterizados por Imunofenotipagem CD19/lale.	112

LISTA DE TABELAS

Referencial Teórico

- Tabela 1. Casos notificados confirmados de Leishmaniose Tegumentar no Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Brasil (2012-2017). 07
- Tabela 2. Opções de tratamento para Leishmaniose Tegumentar 18
- Tabela 3. Propriedades farmacológicas da semente de *Euterpe oleracea* 51

Capítulo 1

- Tabela 1. Identificação dos compostos do Extrato Polpa de *Euterpe oleracea* 75
- Tabela 2. Identificação dos compostos do Extrato Semente de *Euterpe oleracea* 75
- Tabela 3. Análise da viabilidade celular forma promastigotas de *L. amazonensis* por MTT após 24h de exposição ao extrato da polpa e semente de *E. oleracea* em diferentes concentrações (mg/mL). 81

Capítulo 2

- Tabela 1. Avaliação da carga parasitária por diluição limitante. 102
- Tabela 2. Quantificação da produção de citocinas de células obtidas do linfonodo de camundongos infectados por *Leishmania (Leishmania)amazonensis* e tratados com CLA 15%. 113
- Tabela 3. Quantificação da produção de citocinas de células obtidas da orelha de camundongos infectados por *Leishmania (Leishmania)amazonensis* tratados. 113
- Tabela 4. Escore clínico da orelha de camundongos infectados com *Leishmania amazonensis* e com os diferentes tipos de tratamento. 114

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 Leishmanioses.....	4
2.1.1 Epidemiologia das leishmanioses	4
2.1.2 Leishmaniose Tegumentar	9
2.2.1 Agente etiológico, vetor, reservatório, ciclo de transmissão e diagnóstico	12
2.2 Desafios e perspectivas no contexto do tratamento da leishmaniose	19
2.3 Tratamento das feridas	42
2.4 Produtos naturais em leishmaniose	43
2.4.1 <i>Euterpe oleracea</i> Mart.....	47
2.4.1 Aspectos botânicos e fitoquímicos	47
2.4.2 Atividades biológicas (Estudos etnofarmacológicos e experimentais).....	50
3 OBJETIVOS	53
3.1 Objetivo geral.....	53
3.2 Objetivos específicos	53
4 RESULTADOS	54
4.1 Capítulo 1	54
4.2 Capítulo 2	88
5 Considerações Finais.....	128
REFERÊNCIAS.....	123