

Universidade Federal do Maranhão
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Mestrado

Cinnamomum verum J. S. Presl (Lauraceae): **PADRONIZAÇÃO
DE PROCESSOS EXTRATIVOS E VIABILIDADE DE
BIOPRODUTOS LEISHMANICIDAS**

POLLYANNA MELO KZAM

São Luís

2022

POLLYANNA MELO KZAM

***Cinnamomum verum* J. S. Presl (Lauraceae): PADRONIZAÇÃO
DE PROCESSOS EXTRATIVOS E VIABILIDADE DE
BIOPRODUTOS LEISHMANICIDAS**

Dissertação apresentada ao colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Flavia Maria Mendonça do Amaral

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Lucilene Amorim Silva

São Luís

2022

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

Kzam, Pollyanna Melo.

Cinnamomum verum J. S. Presl Lauraceae: PADRONIZAÇÃO DE
PROCESSOS EXTRATIVOS E VIABILIDADE DE BIOPRODUTOS
LEISHMANICIDAS / Pollyanna Melo Kzam. - 2022.
99 f.

Coorientador(a): Lucilene Amorim Silva.

Orientador(a): Flavia Maria Mendonça do Amaral.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Ciências da Saúde/ccbs, Universidade Federal do Maranhão,
UFMA, 2022.

1. Canela. 2. Compostos fenólicos. 3. Extratos
vegetais. 4. Leishmaniose. 5. Validação. I. Amaral,
Flavia Maria Mendonça do. II. Silva, Lucilene Amorim.
III. Título.

POLLYANNA MELO KZAM

***Cinnamomum verum* J. S. Presl (Lauraceae): PADRONIZAÇÃO
DE PROCESSOS EXTRATIVOS E VIABILIDADE DE
BIOPRODUTOS LEISHMANICIDAS**

Dissertação apresentada ao colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Aprovada em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Flavia Maria Mendonça do Amaral (Orientadora)
Universidade Federal do Maranhão-UFMA

Prof.^a Dr.^a Crisálida Machado Vilanova
Universidade Federal do Maranhão-UFMA

Prof.^a Dr.^a Maria do Socorro de Sousa Cartagenes
Universidade Federal do Maranhão-UFMA

Prof. Dr. Wermerson Assunção Barroso
Instituto Tocantinense Presidente Antonio Carlos - ITPAC Santa Inês

*Dedico este trabalho a minha mãe e aos meus avós,
Sebastião e Cleonôra, que sempre dedicaram a mim,
cuidado e amor.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida que Ele me concedeu, por ter me fortalecido ao ponto de superar as dificuldades, me permitindo alcançar a conclusão desta etapa tão significativa em minha vida acadêmica.

À minha mãe Mônica Regina, por ter me moldado aos estudos, e por sempre acreditar em minha capacidade. A Luís Dias pelas palavras de incentivo e compreensão, e também, a Nandara Giusti pelo companheirismo, paciência e amizade.

À minha família, tios, primos e em especial aos meus avós, Sebastião e Cleonôra, por serem exemplos únicos de sabedoria e garra, amo-os!

À minha querida orientadora, Flavia Maria do Amaral, que me apoia com seus ensinamentos desde a graduação em farmácia, meus sinceros agradecimentos.

À minha coorientadora, Lucilene Amorim, por sua disponibilidade e responsabilidade em aspectos indispensáveis para elaboração desse trabalho.

À professora Cláudia da Rocha por sua disponibilidade e paciência.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Patologia e Imunoparasitologia (LPI) que muitos me ajudaram na execução das metodologias a serem testadas: Luana Pinheiro, Luís Douglas e Caroline Martins. O companheirismo de vocês tornou essa etapa mais tranquila.

Aos companheiros do laboratório de Fitoterapia e Biotecnologia em Saúde, que direta ou indiretamente contribuíram para realização desse trabalho, Daniella Silveira, Francisco de Assis, Izolda Costa, Jéssyca Wan Lume, Ana Catharinny, Roberta Sabrine e Nilson Batalha. Gratidão!

À Universidade Federal do Maranhão pela estrutura e por minha formação profissional; e às agências de fomento, CAPES, CNPq e FAPEMA pelo incentivo a pesquisa.

RESUMO

As leishmanioses são doenças infecto-parasitárias prevalentes e negligenciadas que afetam à saúde pública, sobretudo em países em desenvolvimento, sendo ainda, comprovada resistência dos parasitos aos esquemas terapêuticos atuais, tornando necessária a pesquisa de novos fármacos. Nesse sentido, os recursos naturais, especialmente de origem vegetal, têm contribuição efetiva na obtenção de novos bioativos; exigindo o desenvolvimento dos estudos de validação das espécies, com destaque a padronização dos extrativos; com ênfase aos obtidos de espécies de amplo uso popular. Este trabalho teve como objetivo realizar uma revisão da literatura dos estudos desenvolvidos com *Cinnamomum verum* J. S. Presl. (Lauraceae), espécie de larga ocorrência no Brasil, com amplo e diversificado emprego popular; e desenvolver estudo de padronização dos extratos de suas folhas, fundamentado em ensaios químicos, físico-químicos e biológicos (atividade leishmanicida e citotoxicidade *in vitro*). O capítulo 1 tem como título: “*Cinnamomum verum* J. S. Presl (Lauraceae): uma revisão do potencial biotecnológico” e o capítulo 2 apresenta o estudo de padronização das folhas de *Cinnamomum verum*. No estudo de padronização, folhas do material vegetal foram coletadas em habitat natural em São Luís, Maranhão, Brasil; submetidas a identificação botânica, secagem, moagem e extração em etanol a 70%, por planejamento fatorial (2^3); empregando como variáveis independentes: procedimentos extrativos (maceração com ultrassom-MU, extração em aparelho de Soxhlet-S e percolação-P) e relação de hidromódulo (1:6, 1:8 e 1:10); e como variáveis dependentes: rendimento, teor de polifenóis totais, teor de flavonoides e atividade antioxidante (DPPH). Adicionalmente, foram selecionados os 02 (dois) extratos com resultados mais expressivos para análise por Cromatografia Líquida acoplada à Arranjo de Diodos, Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas, análise *in vitro* contra formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania infantum* e ensaio de citotoxicidade em células RAW 264.7. O extrato P 1:10 apresentou melhor rendimento (21,19%); já teores de polifenóis ($257,947 \pm 0,388$ mg EAG/g), flavonoides ($83,760 \pm 0,053$ mg EQ/g) e atividade antioxidante ($2,27 \pm 0,19$ μ g/mL) apresentaram resultados mais expressivos em MU 1:6, S 1:10 e P 1:8, respectivamente. Os extratos S 1:10 e P 1:8 foram ativos contra formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania infantum* com resultados mais expressivos para o extrato P 1:8, nos tempos de 48 horas; mas apresentaram toxicidade moderada (IS <10) em macrófagos peritoneais (RAW 264.7) com diferenças significativas entre os extratos S 1:10 e P 1:8. Nos dois extratos foram identificados os compostos fenólicos: trímero de proantocianidinas tipo A, puerarina, rutina, epigallocatequina galato, isômero de epigallocatequina galato e kaempferol-3-ramnosídeo-7-ramnosídeo. Diante desses resultados, pode-se inferir que o procedimento extrativo e relação de hidromódulo interferem na obtenção dos extrativos das folhas de canela, comprovado pelos melhores resultados dos extratos obtidos em aparelho de Soxhlet no hidromódulo 1:10 e percolação no hidromódulo 1:8, permitindo assim, a padronização da espécie; evidenciando, ainda, potencial leishmanicida, o que deve estimular continuidade dos estudos.

Palavras-chave: canela, leishmaniose, validação, extratos vegetais, compostos fenólicos.

ABSTRACT

Leishmaniasis are prevalent and neglected infectious-parasitic diseases that affect public health, especially in developing countries, and parasite resistance to current therapeutic regimens is also proven, making it necessary to research new drugs. In this sense, natural resources, especially those of plant origin, make an effective contribution to obtaining new bioactives; demanding the development of validation studies of the species, with emphasis on the standardization of extractives; with emphasis on those obtained from species of wide popular use. This work aimed to carry out a literature review of studies carried out with *Cinnamomum verum* J. S. Presl. (Lauraceae), a species of wide occurrence in Brazil, with wide and diversified popular use; and develop a study of standardization of extracts from its leaves, based on chemical, physical-chemical and biological tests (leishmanicidal activity and *in vitro* cytotoxicity). Chapter 1 is titled: “*Cinnamomum verum* J. S. Presl (Lauraceae): a review of biotechnological potential” and chapter 2 presents the study of standardization of *Cinnamomum verum* leaves. In the patterning study, leaves of plant material were collected in a natural habitat in São Luís, Maranhão, Brazil; submitted to botanical identification, drying, milling and extraction in 70% ethanol, by factorial design (2^3); using as independent variables: extractive procedures (membrane with ultrasound-MU, extraction in a *Soxhlet*-S apparatus and percolation-P) and hydromodule ratio (1:6, 1:8 and 1:10); and as dependent variables: yield, total polyphenol content, flavonoid content and antioxidant activity (DPPH). Additionally, the 02 (two) extracts with the most expressive results were selected for analysis by Liquid Chromatography coupled to Diode Array, Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry, *in vitro* analysis against promastigotes of *Leishmania amazonensis* and *Leishmania infantum* and cytotoxicity assay in RAW 264.7 cells. The P 1:10 extract showed the best yield (21.19%); polyphenols (257.947 ± 0.388 mg EAG/g), flavonoids (83.760 ± 0.053 mg EQ/g) and antioxidant activity (2.27 ± 0.19 μ g/mL) showed more expressive results in MU 1:6, S 1:10 and P 1:8, respectively. The extracts S 1:10 and P 1:8 were active against promastigote forms of *Leishmania amazonensis* and *Leishmania infantum*, with more expressive results for the extract P 1:8, within 48 hours; but showed moderate toxicity (IS <10) on peritoneal macrophages (RAW 264.7) with significant differences between S 1:10 and P 1:8 extracts. In both extracts, phenolic compounds were identified: type A proanthocyanidin trimer, puerarin, rutin, epigallocatechin gallate, epigallocatechin gallate isomer and kaempferol-3-rhamnoside-7-rhamnoside. In view of these results, it can be inferred that the extractive procedure and hydromodule ratio interfere in obtaining extracts from cinnamon leaves, proven by the best results of the extracts obtained in a *Soxhlet* apparatus in the 1:10 hydromodule and percolation in the 1:8 hydromodule, thus allowing the standardization of the species; also showing potential leishmanicidal activity, which should encourage further studies.

Keywords: cinnamon, leishmaniasis, validation, plant extracts, phenolic compounds.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AChE	Acetilcolinesterase
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DAD	Detector de <i>arranjo de diodos</i>
EMA	Agência Europeia de Medicamentos
ESI	Ionização electrospray
HDL	Lipoproteína de alta densidade
LCD	Leishmaniose mucosa clínica difusa
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LM	Leishmaniose mucosa
LT	Leishmaniose tegumentar
LTA	Leishmaniose tegumentar americana
LV	Leishmaniose visceral
MAR	Herbário do Maranhão
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina
MS	Espectrometria de massa
OMS	Organização Mundial de Saúde
SINAN	Sistema Nacional de Agravos de Notificação

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática da forma amastigota (A) e promastigota (B) de *Leishmania* spp. Mostrando núcleo (N), flagelo (F) e cinetoplasto (K).

Figura 2. Ciclo biológico de *Leishmania* spp.

Figura 3. Fases da Pesquisa e Desenvolvimento (P & D) de medicamentos a partir de espécies vegetais

Figura 4. Partes aéreas de exemplar de *Cinnamomum verum* J. S. Presl.

Figura 5. Fluxograma com etapas do desenvolvimento da pesquisa.

CAPÍTULO I

Tabela 1. Indicações de uso popular terapêutico de *Cinnamomum verum* J. S. Presl (Lauraceae), nos estudos inventariados na revisão, 1994 a 2022.

Tabela 2. Composição química de *Cinnamomum verum* J. S. Presl (Lauraceae) segundo estudos inventariados na revisão, 1994 a 2022.

CAPÍTULO II

Tabela 1. Teste ANOVA de efeito fixo para o teor de polifenóis totais, flavonoides, CE50 do radical DPPH e IC50.

Tabela 2. Caracterização qualitativa e semi-quantitativa dos constituintes químicos nos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl obtidos por maceração com ultrassom (MU), aparelho de *Soxhlet* (S) e percolação (P) nos hidromódulos 1:6, 1:8 e 1:10.

Tabela 3. Rendimento (%), Polifenóis totais (mgGA)/g, flavonoides (mgQE)/g e atividade antioxidante por DDPH (CE₅₀) nos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl obtidos por maceração com ultrassom (MU), aparelho de *Soxhlet* (S) e percolação (P) nos hidromódulos 1:6, 1:8 e 1:10.

Tabela 4. Perfil de compostos fenólicos identificados por Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de massa com ionização por "electrospray" (LC-ESI-IT-MS) no modo negativo dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S.

Presl obtidos em aparelho de *Soxhlet* (S) na relação de hidromódulo de 1:10 e por percolação (P) na relação de hidromódulo de 1:8.

Tabela 5. Atividade *in vitro* dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl obtidos em aparelho de *Soxhlet* na relação de hidromódulo de 1:10 (S 1:10) e por percolação na relação de hidromódulo de 1:8 (P 1:8) contra formas promastigotas de *Leishmania amazonenses* e *Leishmania infantum*, expressos em valores de Concentração Inibitória CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$).

Tabela 6. Citotoxicidade (CC_{50} $\mu\text{g/mL}$) em macrófagos RAW e índice de seletividade dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl. obtidos em aparelho de *Soxhlet* na relação de hidromódulo de 1:10 (S1:10) e por percolação na relação de hidromódulo de 1:8 (P1:8) para as formas promastigotas de *Leishmania amazonenses* e *Leishmania infantum*.

Figura 1. Cromatogramas dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl obtido em aparelho de *Soxhlet* na relação de hidromódulo de 1:10 (A) e percolação na relação de hidromódulo de 1:8 (B) analisados por CLAE-DAD no comprimento de onda (λ) de 254 nm. Com a fase móvel de água ultrapura acidificada (0,01% de ácido fórmico) e (metanol + 0,01% de ácido fórmico), a uma taxa de fluxo de 1,0 mL / min.

Figura 2. Cromatogramas de caracterização de compostos fenólicos dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl obtidos em aparelho de *Soxhlet* na relação de hidromódulo de 1:10 (A) e por percolação na relação de hidromódulo de 1:8 (B), em 281 nm obtidos por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa com ionização por "electrospray" (LC-ESI-IT-MS) no modo negativo de compostos fenólicos dos extratos S 1:10 (A) e P 1:8 (B) das folhas de *Cinnamomum verum*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1 <i>Leishmania</i> spp.	14
2.1.1 Leishmaniose e epidemiologia.....	14
2.1.2 Morfologia e ciclo biológico.....	15
2.1.3 Patogenia e aspectos clínicos.....	17
2.1.4 Diagnóstico e tratamento.....	18
2.2 Espécies vegetais como matéria prima para bioprodutos e a padronização de seus extratos	20
2.3 <i>Cinnamomum verum</i> J. S. Presl. (Lauraceae).....	24
3. OBJETIVOS.....	28
3.1 Objetivo geral.....	28
3.2 Objetivos específicos.....	28
4. FLUXOGRAMA DO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	29
5. RESULTADOS.....	30
5.1 CAPÍTULO I- <i>Cinnamomum verum</i> J. S. Presl (Lauraceae): uma revisão do potencial biotecnológico.....	30
5.2 CAPÍTULO II- Estudo de padronização de extratos de <i>Cinnamomum Verum</i> J. S. Presl (lauraceae) como alternativa terapêutica leishmanicida.....	54
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	88
REFERÊNCIAS.....	89

1 INTRODUÇÃO

No Brasil e no mundo, as parasitoses constituem sério problema de saúde pública devido ao difícil acesso ao saneamento básico e educação pela população mais carente, representando infecção de elevada frequência especialmente em países que apresentam condições precárias de higiene (SILVA; ALMEIDA, 2022). Dentre as doenças causadas por protozoários de grande interesse, destacam-se: amebíase, doença de Chagas, giardíase e leishmaniose (LIMA, 2021).

As leishmanioses são doenças negligenciadas, com graves impactos a qualidade de vida, causadas por protozoários do gênero *Leishmania* spp., predominando Leishmaniose Tegumentar (LT) e Leishmaniose Visceral (LV); sendo a Leishmaniose Visceral considerada a forma clínica mais grave, podendo evoluir para o óbito devido as frequentes complicações (FERREIRA, 2019). No Brasil o tratamento das leishmanioses é feito à base de antimoniais pentavalentes; e em casos de pacientes graves e com intolerância ou resistência aos antimoniais, a anfotericina B (lipossomal e/ou complexo lipídico) é a opção recomendada (FERREIRA, 2019).

A classificação das leishmanioses como doenças negligenciadas, logo com insuficiente atenção das agendas internacionais, com indicadores inaceitáveis e investimentos reduzidos em pesquisas, produção de medicamentos e controle (OLIVEIRA, 2018); bem como a comprovada resistência dos parasitos a terapêutica convencional deve estimular a Pesquisa & Desenvolvimento (P & D) de novas alternativas e/ou complementos terapêuticos (LEITE et al., 2017).

No processo de P & D de compostos farmacologicamente ativos, os recursos naturais, especialmente de origem vegetal, representam importante fonte de drogas. A rica diversidade ecossistêmica do planeta e cientificamente desconhecida flora, associada aos avanços dos estudos químicos e farmacológicos, têm estimulado a pesquisa com espécies vegetais, principalmente as de uso popular tradicional, contribuindo efetivamente na obtenção de novos produtos bioativos, medicamentos semissintéticos ou como protótipo para síntese de moléculas mais ativas e/ou seletivas (MARTINS; GARLET, 2016).

A transformação de uma planta em medicamento, logo um produto tecnicamente elaborado, implica a utilização de operações de transformação tecnológica, fundamentadas nos estudos de validação, devendo assegurar a preservação da integridade química e

farmacológica do vegetal, garantindo a constância da ação biológica, segurança e qualidade para utilização (BRITO et al., 2016; SIMÕES et al., 2017; AMARAL et al., 2021).

Como as espécies vegetais apresentam composição química complexa, com vários componentes ativos envolvidos na resposta biológica, os quais sofrem influência de diferentes fatores (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; KUNLE et al., 2012), a garantia da integridade desses constituintes é um desafio, justificando a necessidade inerente dos estudos de validação priorizarem o desenvolvimento dos estudos de padronização do processamento do material vegetal alvo da investigação e consequente desenvolvimento tecnológico do bioproduto (LOPES et al., 2020).

Assim, na perspectiva de contribuir nos estudos de validação para novas alternativas e/ou complementos terapêuticos, o Grupo de Produtos Naturais da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) tem desenvolvido estudos com as espécies *Anacardium occidentale* L. (caju), *Hancornia speciosa* Gomes (mangaba), *Chenopodium ambrosioides* L. (mastruz), *Jacaranda decurrens* Cham. (carobinha), *Attalea speciosa* Mart.ex. Spreng (babaçu), dentre outras (MENEZES, 2013; NEIVA et al., 2014; GODINHO, 2017; SILVA, 2018; MARIBONDO, 2021). E, ainda na perspectiva de contribuição no desenvolvimento tecnológico de bioprodutos, pesquisadores do Grupo têm trabalhado na padronização de extrativos de espécies vegetais, com significativos avanços na área. Nesse sentido, esse estudo é uma continuidade dessas linhas de pesquisa com objetivo de realizar estudo de padronização de extratos das folhas de *Cinnamomum verum*, com base em ensaios químicos, físico-químicos e biológicos de atividade leishmanicida *in vitro*.

Os resultados são apresentados em forma de dois artigos intitulados: a) Capítulo 1: “*Cinnamomum verum* J. S. Presl (Lauraceae): uma revisão do potencial biotecnológico” e b) Capítulo 2: “Estudo de padronização de extratos de *Cinnamomum verum* J. S. Presl (Lauraceae) como alternativa terapêutica leishmanicida”.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Leishmania* spp.

2.1.1 Leishmaniose e epidemiologia

A leishmaniose é uma doença infecciosa parasitária causada por protozoários flagelados da ordem Kinetoplastida, família *Trypanosomatidae*, gênero *Leishmania*, que são transmitidos por insetos dípteros flebotomíneos das espécies *Phlebotomus* (vetores de leishmaniose na África, na Europa e na Ásia) e *Lutzomyia* (vetores nas Américas) (ALIANÇA, 2012; CASTRO- NETO, 2018). Representa uma doença com forma clínica diversificada, podendo causar infecções viscerais, lesões mucocutânea, cutânea difusa e cutânea, algumas dessas infecções quando não tratadas podem levar a óbito, a exemplo da leishmaniose visceral (ALIANÇA, 2012; VASCONCELOS et al., 2018).

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) ou cutânea é caracterizada pela manifestação de lesões cutâneas e mucosas, responsáveis pelo desenvolvimento de deformidades, o que desencadeia estigma social e sofrimento nos indivíduos acometidos. No Brasil, os principais causadores da doença são: *Leishmania braziliensis*, *Leishmania amazonensis* e *Leishmania guyanensis* (GOMES; FERREIRA, 2022).

A doença é considerada uma das principais doenças negligenciadas e acomete milhões de pessoas mundialmente, está diretamente ligada às condições socioeconômicas, mas também é influenciada por fatores ambientais e climáticos. A LTA constitui um problema de saúde pública em 98 países, distribuídos em quatro continentes (Américas, Europa, África e Ásia); em 2018 foram notificados mais de 46 mil novos casos da LTA nas Américas, sendo no Brasil a maior concentração de casos com cerca de 35% (WYREPKOWSKI et al., 2020).

No Brasil, o Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINAN) registrou 2.202 casos de LV e 17.772 de LTA em 2020. No mesmo ano, o estado do Maranhão notificou 376 casos de LV e 1.158 casos de LTA, tornando assim, o Estado um dos mais endêmicos das doenças no país (BRASIL, 2022); onde prevalece o número de casos na região oeste do Estado, que tem influência direta da floresta amazônica, pois o clima e a vegetação da floresta contribuem na alta diversidade de espécies de vetores e reservatórios (PINTO et al., 2019).

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença sistêmica e tem como principais sintomas, febre intermitente, fraqueza, palidez, esplenomegalia e hepatomegalia, podendo levar a óbito

em até 90% dos casos quando não tratada (CAVALCANTE et al., 2022). No novo mundo, a LV é causada por parasitos do complexo *Leishmania donovani*, entre eles a espécie causadora da doença no Brasil, *Leishmania infantum* (CHAVES et al., 2022).

A LV é considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) uma das seis maiores endemias do planeta e atinge cerca de 500 mil novos casos humanos por ano, sendo os países mais afetados Bangladesh, Brasil, Índia, Etiópia, Quênia, Nepal e Sudão (FERREIRA, 2019).

2.1.2 Morfologia e ciclo biológico

Durante o seu ciclo de vida, os parasitos do gênero *Leishmania*, apresentam dois estágios: *a*) forma promastigota com motilidade flagelar, que vive no trato digestivo dos flebotomíneos, e *b*) forma amastigota, não móvel, que reside dentro de macrófagos de hospedeiros vertebrados (Figura 1). As promastigotas possuem forma alongada, com único núcleo, flagelo livre e cinetoplasto (região especializada da mitocôndria onde se localiza o DNA mitocondrial) anterior ao núcleo. O tamanho das formas promastigotas é variável, mesmo dentro de uma mesma espécie, podendo medir entre 16,0 - 40,0 x 1,5 - 3,0 μm (comprimento x largura) incluindo o flagelo que é sempre maior que o corpo do parasito. A multiplicação é por divisão binária longitudinal dentro do tubo digestivo do inseto vetor. As amastigotas se multiplicam no interior dos macrófagos possuindo morfologia ovalada, com núcleo único, cinetoplasto e um flagelo que nunca excede os limites da bolsa flagelar. A forma amastigota varia de tamanho dependendo da espécie, podendo medir entre 3,0 - 6,5 x 1,5 - 3,0 μm (comprimento x largura) (DOCAMPO et al., 2005).

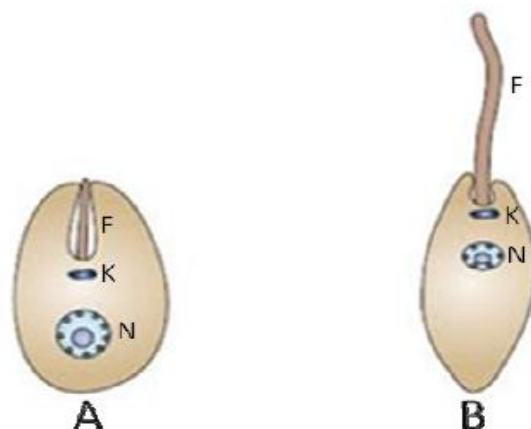


Figura 1. Representação esquemática da forma amastigota (A) e promastigota (B) de *Leishmania* spp. Mostrando núcleo (N), flagelo (F) e cinetoplasto (K).

Fonte: Adaptado de Docampo et al. (2005)

Os protozoários do gênero *Leishmania* têm ciclo de vida do tipo heteroxênico (Figura 2) envolvendo um hospedeiro invertebrado e um vertebrado. Os hospedeiros invertebrados são flebotomíneos hematófagos do gênero *Lutzomyia*, nas Américas; ou *Phlebotomus*, na Europa, Ásia e África (ROBERTS; JANOVI, 2000). Além de um vetor invertebrado, o parasito necessita de um hospedeiro vertebrado que atua como reservatório, dentre estes há uma ampla variedade de roedores, canídeos, marsupiais e humanos. Geralmente o homem participa do ciclo de transmissão como um hospedeiro acidental quando entra em ambientes de alta transmissão, onde a doença se mantém em função dos reservatórios naturais (ALIANÇA, 2012).

Durante o repasto sanguíneo, o inseto vetor regurgita as formas promastigotas metacíclicas no hospedeiro vertebrado. Estas formas são fagocitadas por células do sistema fagocítico mononuclear iniciando a fase de desenvolvimento intracelular do parasito, onde se diferenciam em amastigotas. As amastigotas se multiplicam dentro das células, que podem se romper e, assim, reinfetar mais células. Eventualmente, as amastigotas livres ou células infectadas podem ser ingeridas por um flebotomíneo não infectado durante o repasto sanguíneo. No interior do intestino dos insetos, as células infectadas se rompem liberando as formas amastigotas, que se transformam em promastigotas recomeçando o ciclo biológico do parasito (KAYE; SCOTT, 2011).

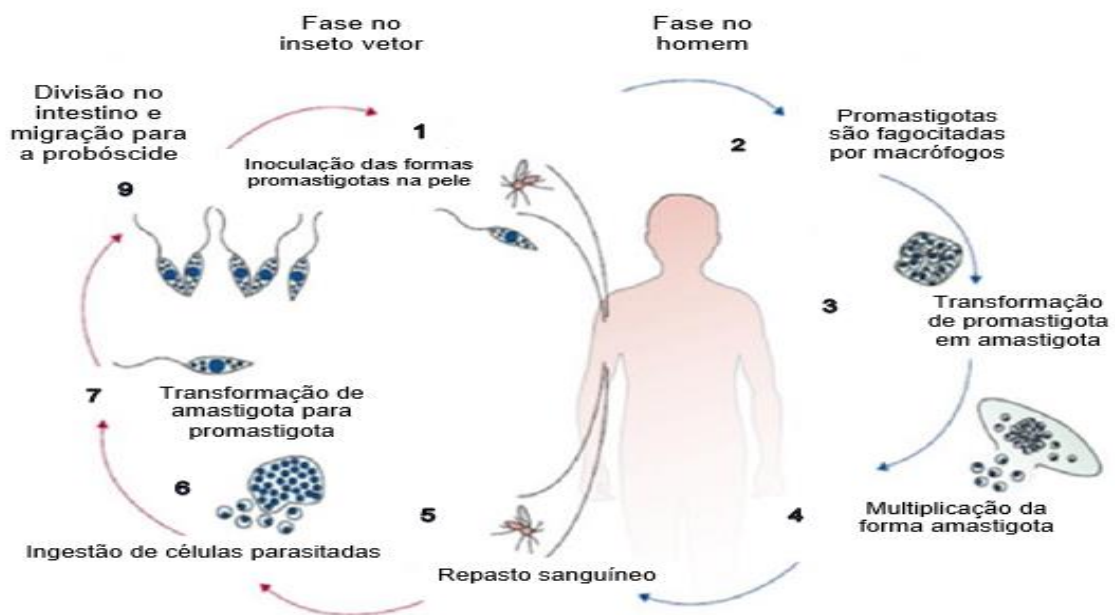


Figura 2. Ciclo biológico de *Leishmania* spp.
 Fonte: Adaptado de Reithinger et al. (2007).

2.1.3 Patogenia e aspectos clínicos

No início da infecção da LTA, as formas promastigotas são inoculadas na derme durante o repasto sanguíneo do flebotomíneo. As células destruídas pela probóscida do inseto e a saliva inoculada atraem para a área células fagocitárias mononucleares, os macrófagos e outras células da série branca. Certos macrófagos são capazes de destruir os parasitos diretamente, enquanto outros necessitam serem estimulados, somente macrófagos fixos (histiócitos) não estimulados são hábeis para o estabelecimento da infecção. Ao serem fagocitadas, as promastigotas transformam-se em amastigotas e iniciam reprodução por divisões binárias sucessivas; mais macrófagos são atraídos ao sítio, onde se fixam e são infectados. A lesão inicial é manifestada por um infiltrado inflamatório composto principalmente de linfócitos e de macrófagos na derme, estando estes últimos abarrotados de parasitos (NEVES, 2005).

A LV é uma doença de células do Sistema Monocítico Fagocitário (SMF), principalmente do baço, fígado, linfonodo e medula óssea. Entretanto, no curso da infecção outros órgãos e tecidos podem ser afetados, como intestino, sangue, pulmões, rins e pele. Nas fases mais avançadas da doença são raros os órgãos onde não se encontra o parasito. A pele é a porta de entrada para a infecção, a inoculação das formas infectantes é acompanhada da saliva do inseto vetor, que é rica em substâncias com atividade inflamatória, esta atividade é muito importante para o aumento de células fagocitárias neste local e crucial para a instalação da infecção, alguns indivíduos podem desenvolver uma lesão nodular local, quando ocorre, o sinal de porta de entrada é transitório, e representado por reação inflamatória que determina a formação de um nódulo, o leishmanioma. O processo pode evoluir para a cura espontânea ou, a partir da pele, ocorrer a migração dos parasitos, principalmente para os linfonodos, seguida da migração para as vísceras. Nas vísceras, os parasitos induzem uma infiltração focal ou difusa de macrófagos não parasitados, além de infiltrado de linfócitos e células plasmáticas, com focos de plasmacitogênese. As alterações mais particulares são descritas nos tecidos esplênico, hepático, sanguíneo, pulmonar e renal. A via de disseminação de *Leishmania* pode ser a hematogênica e/ ou linfática. *Leishmania infantum* raramente tem sido encontrada no sangue periférico humano de indivíduos considerados imunocompetentes; no entanto, em cães ou raposas este achado é frequente. A patogenia da doença é determinada por múltiplos fatores que envolvem os hospedeiros, os parasitos, além de fatores genéticos determinantes da

susceptibilidade para a infecção e para a cura, o estado imunológico e nutricional do indivíduo (NEVES, 2005).

A LTA pode apresentar as seguintes formas clínicas: *a*) leishmaniose cutânea (LC) caracterizada por uma pápula eritematosa que evolui para uma úlcera geralmente indolor, que aparece no local da picada do vetor; *b*) leishmaniose disseminada (LD), caracterizada pelo aparecimento de múltiplas lesões papulares e de aparência acneiforme que acometem vários segmentos corporais, envolvendo com frequência a face e o tronco; *c*) leishmaniose mucosa (LM), que é uma lesão secundária que atinge principalmente a orofaringe, com comprometimento do septo cartilaginoso e demais áreas associadas; e *d*) leishmaniose mucosa clínica difusa (LCD), que inicia de maneira insidiosa, com lesão única e má resposta ao tratamento, evoluindo de forma lenta com formação de placas e múltiplas nodulações não ulceradas recobrando grandes extensões cutâneas (VASCONCELOS et al., 2018).

Na LV o primeiro sintoma da visceralização é uma febre baixa recorrente, frequentemente, com dois ou três picos diários que persistem com remissões durante todo o curso da infecção da doença, a febre é o sintoma mais notável devido a sua característica irregular ou remitente. A segunda manifestação, em importância, no desenvolvimento do quadro é a esplenomegalia, que costuma ser em maior escala que a hepatomegalia, a qual, por sua vez, também persiste nos achados clínicos. Há, ainda, na maioria dos casos, micropoliadenia (aumento generalizado dos linfonodos), além de uma série de eventos que se iniciam à medida que os órgãos são acometidos, desencadeando alterações de ordem fisiológica e histopatológica, as quais se agravam com o decorrer da doença (SOUZA, 2012).

2.1.4 Diagnóstico e tratamento

O diagnóstico da LTA é eminentemente clínico, feito com base na característica da lesão do paciente, associado a anamnese, na qual os dados epidemiológicos são de grande importância; devendo ser feito o diagnóstico diferencial de outras dermatoses granulomatosas que apresentam lesões semelhantes à LTA e que podem ser confundidas, como tuberculose cutânea, hanseníase, infecções por fungos (blastomicose e esporotricose), úlcera tropical e neoplasmas (NEVES, 2005).

O diagnóstico da LV é rotineiramente realizado com base em parâmetros clínicos e epidemiológicos, porém um dos principais problemas quanto a esse diagnóstico inicial é a semelhança do quadro clínico da LV com algumas doenças linfoproliferativas e com a

esquistossomose mansônica associada à bacteriose septicêmica prolongada (SOUZA et al., 2012).

Desse modo, diagnóstico clínico das leishmanioses deve ser associado a métodos subsidiários, como: pesquisa direta em material de raspado ou punção aspirativa da medula óssea, corado por derivados de Romanowsky, Giemsa ou Leishman, exame histopatológico (HE) de biópsia, Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e métodos imunológicos tais como: teste rápido Imunocromatográfico, ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) intradermoreção de Montenegro (IRM) e reação de imunofluorescência indireta (RIFI) (GARCIA et al., 2005; SOUZA et al., 2012, PINTO et al., 2019).

No Brasil, o fármaco de primeira escolha para o tratamento é o antimoniato de N-metil-glucamina (Glucantime[®]), recomendado pelo Ministério da Saúde, na dose de 10 a 20 mg Sb5+/kg/dia durante 20 a 30 dias consecutivos para LTA e 20 mgSb5+/kg/dia durante 30 dias consecutivos para a LV (PAES, 2016; FERREIRA, 2019). É considerado um fármaco eficaz, porém possui alta toxicidade, podendo trazer impactos negativos para o paciente, sendo destacado como efeitos adversos mais frequentes do tratamento com antimoniato de N-metil-glucamina: alterações clínicas, como dores musculoesqueléticas, alterações gastrointestinais e cefaleia de leve a moderada; alterações eletrocardiográficas, como de repolarização ventricular, isquêmicas e extra-sístoles bigeminadas, polimorfias e polifocais; e alterações laboratoriais, com aumentos leves a moderados das enzimas pancreáticas e hepáticas (LYRA, 2013).

No caso de resistência do parasito após um novo tratamento, será considerada falha terapêutica e deverá ser introduzido medicamento de segunda escolha, tais como: anfotericina B, anfotericina B lipossomal ou pentamidina (BRASIL, 2017).

Apesar do tratamento da leishmaniose ser realizado desde o início do século XX, ainda existem poucas drogas disponíveis (HOLANDA et al.,2019). Isso se deve ao baixo interesse da indústria farmacêutica, justificado pelo reduzido potencial de retorno lucrativo para a indústria, uma vez que a doença acometendo majoritariamente populações pobres, sobretudo, as de países em desenvolvimento, assim, na ausência de vacinas e na procura de melhores opções terapêuticas que as existentes, é imprescindível a P & D de novos fármacos (LUNA; CAMPOS, 2020).

Nesse sentido, os produtos naturais, especialmente os de origem vegetal, representam

importante fonte de drogas considerando a ampla variedade e complexidade de metabólitos de potencial valor medicinal, contribuindo efetivamente na obtenção de novos produtos bioativos, medicamentos semi-sintéticos ou como protótipo para a síntese de medicamentos (YUNES; CALIXTO, 2001; PINTO et al., 2002; GILANI; RAHMAN, 2005; SILVA, 2018).

2.2 Espécies vegetais como matéria prima para bioprodutos e a padronização de seus extratos

O uso de produtos para fins medicinais a base de plantas é prática comum e milenar, devido à crença popular que esses recursos podem prevenir, aliviar e/ou curar enfermidades, sem reconhecimento de riscos e perigos em tal prática. Mas, apesar do reconhecido potencial terapêutico e preventivo de espécies vegetais, essa percepção da sociedade, alicerçada no mito “se natural não faz mal”, que o uso terapêutico de plantas é seguro e eficaz; estimulada, ainda, pela carência de informações científicas das plantas empregadas para fins medicinais, sem comprovação da eficácia, espectro toxicológico e garantia de qualidade; expõem a população a riscos e perigos dado esse uso irracional (SILVEIRA et al., 2008; TOVAR; PETZEL, 2009; GODINHO, 2014; CAMPOS et al., 2016; SILVA et al., 2021).

O Brasil é reconhecido pela sua rica biodiversidade e diversidade sócio-cultural, preservando o uso de plantas na terapêutica, com grande legado das populações tradicionais; bem como incentivo para adoção da Fitoterapia, especialmente na Atenção Primária à Saúde, pela atual Política Nacional de Saúde; mas, paralelamente a esse cenário, o desenvolvimento e a produção de medicamentos fitoterápicos ainda são precários, sem inovações de forma continuada, ficando inclusive atrás de países menos desenvolvidos tecnologicamente (BRASIL, 2012; CASTRO; ALBIERO, 2016; NESPOLI et al., 2021).

Dentre as barreiras que corroboram para os baixos investimentos em P & D e, consequentemente, na consolidação da Fitoterapia como oferta terapêutica no Brasil, merece destaque: investimentos incipientes em Pesquisa, Desenvolvimento & Inovação; falta de parcerias entre universidades e empresas privadas; carência de estudos com espécies vegetais nativas, de uso terapêutico popular e grande ocorrência local; bem como a falta de estudos de validação com ênfase aos estudos de padronização dos extratos vegetais e fitoterápicos derivados (CASTRO; ALBIERO, 2016; SOUSA et al., 2017; NESPOLI et al., 2021).

Os estudos de validação visam confirmar cientificamente as propriedades terapêuticas atribuídas as espécies vegetais, especialmente as nativas empregadas na prática popular; e,

assim, possibilitar a inclusão de tais espécies na cadeia produtiva de fitoterápicos, na perspectiva de oferta de produto qualificado e padronizado (BRANDÃO, 2017); envolvendo estudos etnodirigidos, botânicos, agrônômicos, químicos, biológicos (farmacologia e toxicologia pré-clínica e clínica) e farmacêutico (desenvolvimento de metodologia analítica de controle de qualidade e produção tecnológica) (ALVES, 2013; SIMÕES et al., 2017; ENDERLE et al., 2018; AMARAL et al., 2021) (Figura 3).

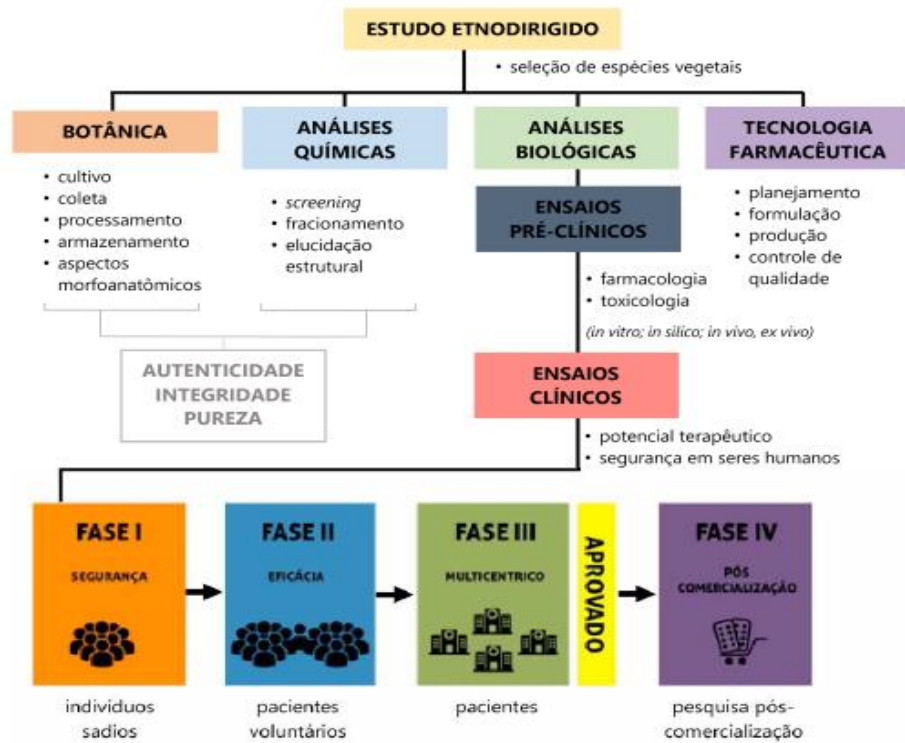


Figura 3. Fases da Pesquisa e Desenvolvimento (P & D) de medicamentos a partir de espécies vegetais.

Fonte: Amaral et al. (2021).

Nos estudos de validação merece destaque os estudos de padronização de todas as variáveis que possam influenciar na cadeia produtiva, da matéria prima vegetal ao produto acabado; o que deve iniciar ainda na fase da pesquisa básica com material vegetal e seus extrativos (AMARAL et al., 2021).

Assim, o material vegetal objeto da validação deve então ser processado adequadamente para prosseguimento dos estudos e posterior desenvolvimento do bioproduto, considerando que as espécies vegetais apresentam composição química complexa e variável, sofrendo influência de fatores como: sazonalidade, índice pluviométrico, ritmo circadiano,

temperatura, altitude, idade e desenvolvimento da espécie, radiação ultravioleta, nutrientes, poluição atmosférica, ação de patógenos e ainda, alterações em função da metodologia empregada; podendo ocasionar perda da constância da atividade biológica desejada (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; KUNLE; EGHAREVBA; AHMADU, 2012). Vale enfatizar que a composição química pode ser alterada pelas tecnologias operacionais e, ainda, pelo potencial genético; influenciando na concentração de constituintes químicos no material vegetal e, conseqüentemente, no valor terapêutico das preparações derivadas ou fitoterápicos (KLEIN et al., 2009; MIGLIATO et al., 2011).

Reconhecidamente os extratos vegetais representam as preparações mais empregadas nos estudos de validação, bem como nas formulações fitoterápicas derivadas (sólidas, semissólidas ou líquidas), quer em escala oficial e industrial. Mas, considerando que tais preparações também sofrem de diversas variáveis que podem influenciar na composição química e atividade terapêutica, é fundamental o desenvolvimento e validação de metodologias analíticas para padronização dos extratos vegetais, fundamentadas na interface da bioatividade e fitoquímica (SONAGLIO et al., 2016; HU et al., 2019; LIMA et al., 2020; LAZZAROTTO-FIGUEIRÓ et al., 2021).

Recente estudo de Amaral et al. (2021) enfatiza que os estudos de padronização devem priorizar a avaliação dos extrativos vegetais por meio de planejamento fatorial, com definição das variáveis que influenciam na extração, já que essa representa a etapa fundamental na obtenção de fitoterápicos, garantindo a separação de substâncias de interesse (bioativos) da matriz complexa. Assim, no estudo das variáveis que podem influenciar na extração é imprescindível a avaliação da granulometria da droga vegetal, qualidade e quantidade de solvente, procedimento extrativo, temperatura, tempo e pH (MIGILATO et al., 2011; PAULUCCI et al., 2012; SIMÕES et al., 2017).

Vale ainda destacar, que nos estudos de padronização é possível a definição de marcadores ativos e/ou analíticos, com a identificação e determinação das substâncias químicas relacionadas aos efeitos biológicos, geralmente representados pelas que ocorrem em maior concentração ou potência farmacológica, assumindo papel fundamental para a garantia da eficácia (ARAGÃO, 2002; CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2005; COUTO, 2012; SIMÕES et al., 2017; AMARAL et al., 2021).

Diante o exposto, quer na pesquisa básica quer na produção dos fitoterápicos derivados é imprescindível o desenvolvimento e validação de metodologias analíticas para

padronização das preparações; representando ferramentas para definir e quantificar os marcadores analíticos e/ou ativos envolvidos na padronização, aliado ao posterior estudo de estabilidade e condições adequadas de armazenamento; garantindo, assim, condições para avaliar a manutenção e a reprodutibilidade da qualidade do fitoterápico (BRASIL, 2005; KLEIN et al., 2009).

No delineamento de um estudo de padronização de extratos vegetais devem ser consideradas as variáveis independentes (granulometria da droga vegetal, qualidade e quantidade de solvente, método extrativo, temperatura, tempo e pH); e como variáveis dependentes deve ser empregados: rendimento, composição química e atividade biológica (NORIEGA et al., 2012; SIMÕES et al., 2017).

Os estudos químicos ou fitoquímicos de padronização compreendem etapas de avaliação qualitativa e quantitativa de constituintes ou metabólitos secundários, seguido do isolamento e elucidação estrutural dos princípios ativos ou substâncias responsáveis pela ação biológica, empregando métodos químicos, físicos e/ou físico-químicos envolvendo técnicas de caracterização, métodos cromatográficos, espectrometria de massas, espectroscopia no ultravioleta, no visível e no infravermelho; bem como a ressonância magnética nuclear (RMN) de próton e carbono 13 (WAGNER; BLADT, 1996; SILVERSTEIN et al., 2002; COLLINS et al., 2006; MATOS, 2009; REGINATTO, 2017).

A padronização tendo como variável dependente o controle biológico compreende: estudos pré-clínicos e clínicos. Os ensaios pré-clínicos envolvem as fases de ensaios *in silico*, *in vitro* (órgãos isolados, culturas de células e tecidos, tecidos simulados e fluidos corpóreos, organismos inferiores), *ex vivo* e *in vivo* (animais de laboratório) na avaliação da atividade farmacológica e toxicológica; possibilitando avaliar os parâmetros de eficácia e segurança terapêutica, ao quais mantêm relação direta com a composição química do vegetal (MACÊDO; OLIVEIRA, 2006; LAPA et al., 2016).

Os ensaios *in vitro* podem representar ferramenta de grande valor na avaliação do potencial citotóxico, especialmente a partir de matéria prima vegetal; facilitando procedimento de rastreamento rápido, sensível, reprodutível, fácil de gerenciar, automatizado e barato na seleção de potenciais fármacos nas misturas complexas de compostos naturais; bem como na identificação de possíveis alvos moleculares para ataque terapêutico seletivo e elucidação do mecanismo de ação e resistência (PERES; CURI, 2005; TRACY; WEBSTER JUNIOR., 2018).

Desse modo, estudos de validação das metodologias analíticas e bioanalíticas, com ênfase aos estudos de padronização, devem ser incentivados, pois permitem a confirmação da eficácia farmacológica e da ausência de toxicidade da planta; assegurando assim, confiabilidade e constância dos resultados que possibilitam transformar as plantas medicinais em produtos fitoterápicos (KLEIN et al., 2009; NEIVA et al., 2011; SILVA, 2018); o que exige o atendimento a determinações legais vigentes como qualquer outro medicamento (BRASIL, 1996, 2003) e determinações legais específicas (BRASIL, 2004, 2006, 2010, 2014).

2.3 *Cinnamomum verum* J. S. Presl. (Lauraceae)

O gênero *Cinnamomum* é constituído por aproximadamente 350 espécies, muitas das quais são produtoras de óleos essenciais, com valor comercial dependente da espécie e da parte da planta utilizada, predominando a obtenção dos óleos obtidos das cascas e folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl, *Cinnamomum cassia* L. J. Presl e *Cinnamomum camphora* L. J. Presl, considerados os mais importantes no mercado mundial (LIMA et al., 2005; MENDES, 2011).

Cinnamomum verum J. S. Presl. (família: Lauraceae) que tem como sinonímia científica *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Figura 4) é conhecida por diversos nomes populares, dentre os quais: canela, canela da Índia, canela da China, canela do Ceilão, canela verdadeira, canela de cheiro, canela da Índia, canela de tubo e canela rainha (LIMA et al., 2005; TELES, 2019).

Cinnamomum verum é uma árvore originária do Sri Lanka (antigo Ceilão), conhecida há mais de 2.500 anos a.C. pelos chineses, aclimada em várias regiões tropicais e subtropicais do mundo, tendo sido introduzida no Brasil pelos jesuítas e com grande ocorrência nacional, incluindo o litoral nordestino brasileiro, especialmente no estado do Maranhão (REIS, 2012).



Figura 4. Partes aéreas de exemplar de *Cinnamomum verum* J. S. Presl.
Fonte: N Parks Flora & FaunaWeb (2022).

Cinnamomum verum teve boa adaptação em regiões tropicais e subtropicais do mundo, incluindo o litoral nordestino brasileiro; pois seu cultivo em regiões sujeitas a geadas intensas é incompatível, com melhor desenvolvimento a pleno sol. Essa árvore requer solos de fertilidade mediana a alta, com boa drenagem, profundos e com bom teor de matéria orgânica, em média requer cerca de 1.300 mm de chuva por ano e temperatura média anual superior a 21°C (WANSI et al.; 2007; LI et al., 2015).

A parte interna da casca do tronco e dos ramos constitui a canela do comércio, com uso mundial na perfumaria e na culinária, devido suas propriedades aromáticas e condimentares, além de ter vasta utilização na medicina popular (VINITHA; BALLAL, 2008; DIAS, 2009).

Essa espécie é uma árvore aromática de ciclo perene, que atinge entre 10 a 15 metros de altura e seu tronco cerca de 35 cm de diâmetro. A casca apresenta espessura de até 12 milímetros e coloração marrom avermelhada; as folhas são coriáceas, lanceoladas, com nervuras na base, brilhantes e lisas na parte superior e verde-clara, e finamente reticulada na parte inferior; seu fruto é roxo, medindo apenas 01 (um) centímetro, sendo assim capaz de elaborar somente 01 (uma) semente; as flores são numerosas e pequenas, de coloração amarelada ou esverdeada agrupadas em cachos ramificados, sua floração ocorre nos meses de

setembro, outubro e novembro (VINITHA; BALLAL, 2008; REIS, 2012).

Essa planta é utilizada na culinária, na fabricação de bebidas, medicamentos, perfumes e sabonetes. Seu aproveitamento é bastante amplo, praticamente utilizando toda parte aérea do vegetal. As folhas são utilizadas para a extração de óleos essenciais, e a casca dos ramos, parte muito valorizada, é comercializada em rama (pau), raspas e em pó (MENDES, 2011).

Cinnamomum verum apresenta grande diversidade na composição química: ácido cinâmico, açúcares, aldeído benzênico, aldeído cinâmico, aldeído cumínico, benzonato de benzil, cimeno, cineol, eugenol, felandreno, furool, linalol, metilacetona, mucilagem, oxalato de cálcio, pineno, resina, tanino e vanilina (DIAS, 2009). No entanto, essas substâncias dizem respeito a trabalhos realizados com óleo essencial, sendo raros os estudos que utilizam extrato bruto da espécie (WANSI et al., 2007; VINITHA; BALLAL, 2008; LI et al., 2015; ELHAG et al., 2015).

O potencial farmacológico das folhas e cascas de *Cinnamomum verum* é incontestável, sendo considerada planta multifacetada, a canela tem sido alvo de pesquisas fundamentadas nas suas propriedades: anti-inflamatórias (DORRI et al., 2018), antioxidantes, antidiabéticas, antiparasitárias (ANTHONY et al., 2005; MAHMOUD et al., 2014; TELES, 2019), gastrointestinais, antimicrobianas, sedativas, vasodilatadoras e afrodisíacas (HARIRI; GHIASVAND, 2016; JIMÉNEZ et al., 2018). *Cinnamomum verum* também tem sido relatada como tendo atividades contra distúrbios neurológicos, como as doenças de Parkinson e Alzheimer (RAO; GAN, 2014).

Ghanbariasad et al. (2021) constataram o efeito leishmanicida do óleo de *Cinnamomum verum*, contra formas promastigotas de *Leishmania major* e *Leishmania tropica*, destacando que o componente majoritário, cinamaldeído (62,04 %), afeta os parasitos por granulações intracelulares, encolhimento celular, fragilidade da membrana, condensação da cromatina nuclear com diminuição do núcleo e perda de motilidade. Jorjani et al. (2017) também identificaram a atividade do óleo de *Cinnamomum verum* na redução das formas promastigotas de *Leishmania major*.

Azeredo et al. (2014) atribuíram ao principal componente do óleo das cascas de *Cinnamomum verum*, (E) -cinamaldeído (81,52%), a atividade anti-*Trypanosoma cruzi* testada contra as três formas de desenvolvimento do *T. cruzi* (epimastigotas, tripomastigotas e amastigotas). Além disso, na avaliação da atividade giardicida, estudo realizado por Mahmoud et al. (2014) com ratos albinos, comprovou intensa redução na contagem de cistos

e trofozoítos de *Giardia lamblia*, após a exposição ao extrato diclorometano das cascas de *Cinnamomum verum*, revelando, ainda, melhora evidente no dano da mucosa intestinal produzido pela infecção, avaliada por histopatologia, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a microscopia eletrônica de transmissão (TEM).

Considerando as evidências do potencial medicinal de *Cinnamomum verum* já demonstrados por estudos científicos e os possíveis eventos indesejáveis na terapêutica atual para o tratamento da leishmaniose, bem como a resistência dos parasitos aos fármacos convencionais, é indispensável a P & D de novas opções terapêuticas. Nesse sentido, esse trabalho se propõe a contribuir nos estudos de validação de *Cinnamomum verum*, com uma revisão da literatura dos estudos desenvolvidos e realização do estudo de padronização dos seus extratos, visando contribuição efetiva na obtenção de novas alternativas terapêuticas para a leishmaniose.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Desenvolver estudo de validação de *Cinnamomum verum* J. S. Presl com ênfase a padronização dos seus extrativos e revisão do potencial da espécie, visando contribuir com novos bioprodutos padronizados como alternativa e/ou complemento terapêutico no tratamento da leishmaniose.

3.2 Objetivos específicos

- a) Avaliar o potencial tecnológico e farmacológico de bioprodutos a base de *Cinnamomum verum* J. S. Presl por meio de estudo de revisão com ênfase a etnofarmacologia, composição química, ensaios farmacológicos, biotecnologia e patentes;
- b) Padronizar processos extrativos de folhas de *Cinnamomum verum*, fundamentado em análises químicas, físico-químicas e atividade leishmanicida *in vitro* com formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania infantum*;
- c) Avaliar parâmetros de citotoxicidade dos extratos de folhas de *Cinnamomum verum* em células normais de macrófagos RAW 264.7;
- d) Identificar possíveis variáveis de interferência na qualidade de extratos de folhas de *Cinnamomum verum* e de sua atividade biológica;
- e) Definir marcador analítico e/ou ativo na perspectiva real de contribuir na obtenção de extratos e seus produtos derivados com padrão de qualidade.

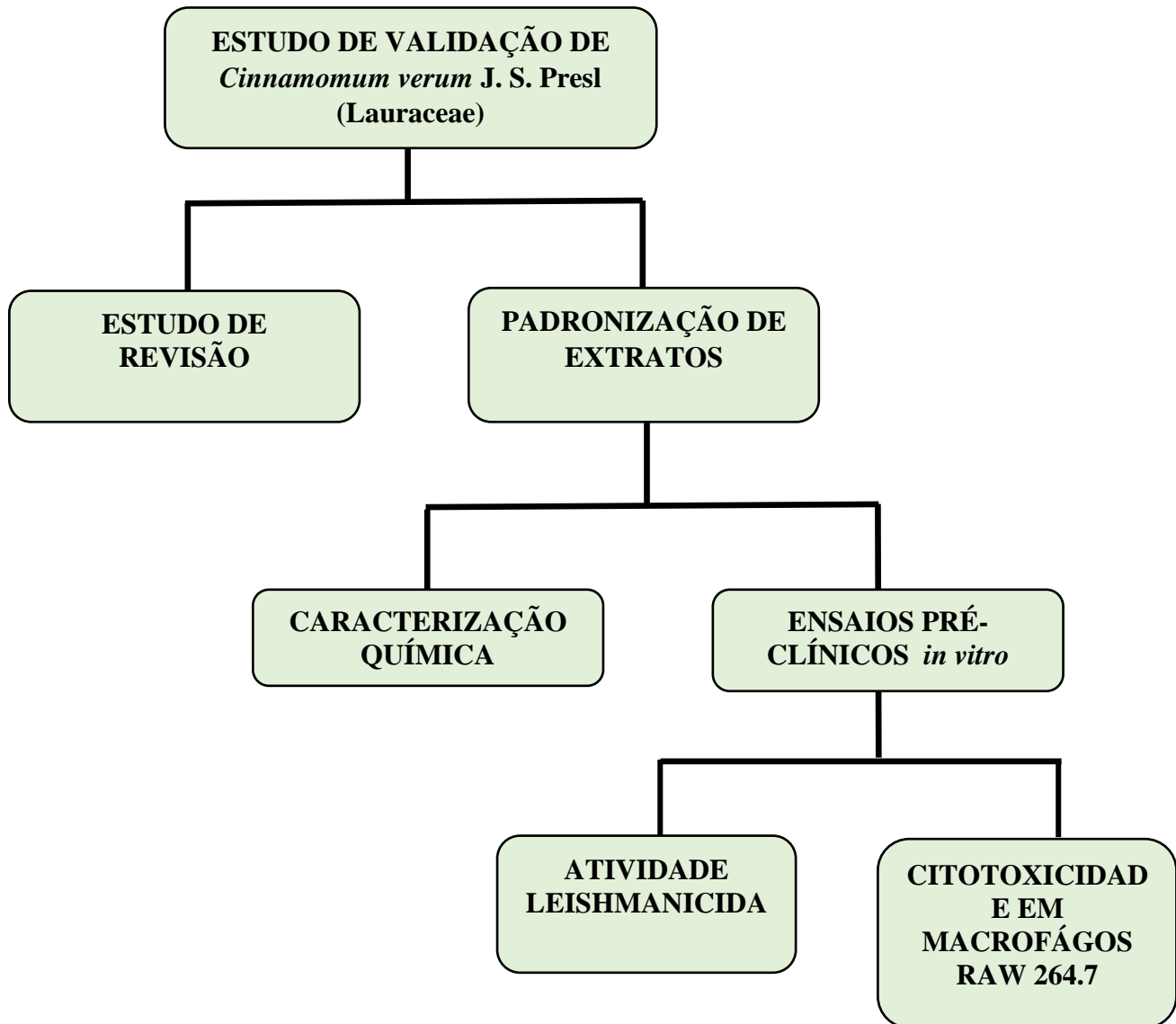
4 FLUXOGRAMA DO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Figura 5. Fluxograma com etapas do desenvolvimento da pesquisa.

5 RESULTADOS

CAPÍTULO I

***Cinnamomum verum* J. S. Presl (Lauraceae): uma revisão do potencial biotecnológico**

Artigo submetido ao **Journal of Ethnopharmacology**

(ISSN: 0378-8741)

Fator de impacto: 5.195

Qualis Medicina I: A2

***Cinnamomum verum* J. S. Presl (Lauraceae): uma revisão do potencial biotecnológico**

Pollyanna Melo Kzam^{1*}; Luana Caroline Santos Pinheiro²; Jéssyca Wan Lume da Silva Godinho¹; Ana Catharinny da Silva de Oliveira¹; Lucilene Amorim Silva²; Denise Fernandes Coutinho¹; Flavia Maria Mendonça do Amaral¹

¹Laboratório de Fitoterapia e Biotecnologia em Saúde, Universidade Federal do Maranhão, Campus do Bacanga, 1966, 65080-805, São Luís, Maranhão, Brasil.

²Laboratório de Patologia e Imunoparasitologia, Universidade Federal do Maranhão, Campus do Bacanga, 1966, 65080-805, São Luís, Maranhão, Brasil.

*Correspondência para o autor: Pollyanna Melo Kzam, e-mail: pollyannakzam@hotmail.com

Resumo: *Cinnamomum verum* J. S. Presl (Lauraceae) (nome vernacular: canela) é uma espécie de amplo uso popular terapêutico, bem como na perfumaria e culinária devido suas propriedades aromáticas e condimentares. Esta pesquisa avalia o potencial biotecnológico de *Cinnamomum verum* a partir da revisão dos estudos científicos com essa espécie vegetal. Foi realizada uma revisão de literatura narrativa, incluindo aspectos da taxonomia, etnofarmacologia, atividade biológica, composição química, aspectos nutricionais e toxicidade, disponibilizados em bases de dados científicas; incluindo incluídos artigos, teses e dissertações publicados entre 1994 e 2022, sem distinção de idioma. A espécie tem diversos usos medicinais, com estudos que comprovam, especialmente, atividade farmacológica como antioxidante, anti-inflamatório, antimutagênico, antimicrobiano e antidiabético. Dímeros de procianidina tipo A e B, cumarina, rutina e quercetina, foram identificados nos extratos da espécie, aos quais são atribuídas diversas atividades biológicas. Os principais constituintes dos óleos essenciais são: cinemaldeído (cascas), eugenol (folhas), cânfora (raízes); acetato (*E*)-cinamil (frutos e flores), sendo o cinemaldeído o componente responsável pelo sabor doce e picante da canela. A espécie tem potencial para obtenção de produtos derivados, com ênfase ao desenvolvimento de novas opções terapêuticas, mas é necessário prosseguir com estudos de validação, com destaque aos estudos de padronização dos extrativos para definição de variáveis que influenciam na composição química e consequente resposta biológica, estudos de toxicidade e de elucidação dos mecanismos de ação.

Palavras-chave: Lauraceae, canela, química, atividade biológica, bioproduto.

INTRODUÇÃO

Desde os tempos mais remotos, as espécies vegetais representam fontes de alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos; demonstrando ao longo da história o papel indispensável em todos os segmentos, com ênfase na saúde (Gulcin et al., 2019; Ferreira et al., 2020).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que cerca de 80% da população faz ou já fez uso de plantas com finalidade terapêutica, incentivadas pela facilidade de acesso aos recursos de origem vegetal, bem como influenciada pelas informações errôneas da ausência de efeitos colaterais e contraindicação (Almeida et al., 2022). Mas, a percepção da sociedade, alicerçada no mito “se natural não faz mal”, que o uso terapêutico de plantas é natural, seguro, barato e eficaz expõe a população a riscos e perigos dado esse uso irracional (Silva et al., 2021).

Mas, nesse cenário, há de ser enfatizado que, em paralelo ao uso amplo, diversificado e irracional de espécies vegetais, a rica e desconhecida biodiversidade, especialmente de países tropicais como Brasil, deve despertar o interesse para o subaproveitamento de algumas espécies, com estímulo as pesquisas visando a exploração sustentável (Amaral et al., 2021).

As plantas apresentam diversificada composição química, com diferentes potenciais para pesquisa científica e posterior exploração na obtenção de bioprodutos (Pedroso et al., 2021). O espectro de atividades farmacológicas e a investigação dos metabólitos secundários voláteis e não voláteis devem ser estudados, com estímulo aos estudos de validação, na perspectiva de aproveitamento das suas propriedades farmacêuticas e biológicas, visando desenvolvimento de novos bioprodutos (Simões et al., 2017).

Cinnamomum verum J. S. Presl (Lauraceae), conhecida popularmente como canela ou canela verdadeira, é uma pequena árvore perene nativa do Sri Lanka, aclimada em várias regiões tropicais e subtropicais do mundo (Elhag et al., 2015; Singh et al., 2021); é reconhecida como a mais antiga especiaria, sendo amplamente empregada em diversas práticas culturais como aromatizantes, perfumaria, bebidas e para fins medicinais (Dalai et al., 2014; Elhag et al., 2015; Singh et al., 2021).

Diversas propriedades medicinais têm sido atribuídas aos diferentes órgãos da espécie, incluindo efeitos antimicrobianos (Narayanankuttye et al., 2021), antioxidantes (Farias et al., 2020), antifúngicos, antivirais, antialérgicos, antitumorais, antilipêmicos, antidiabéticos, antipiréticos, antiulcerogênicos, anti-hipertensivos, gastroprotetores e imunomoduladores e anestésicos (Gulcin et al., 2019). A canela está no mercado como suplemento profilático para síndrome metabólica, insulina resistência, diabetes mellitus tipo 2, hiperlipidemia e artrite (Shinjyo et al., 2020).

Dada a representatividade da espécie, a Agência Europeia de Medicamentos (EMA) endossa o tradicional uso para tratamento sintomático de queixas gastrointestinais leves e espasmódicas (Shinjyo et al., 2020).

Devido à necessidade de catalogar informações sobre espécies vegetais na perspectiva de aproveitamento com sustentabilidade das suas potencialidades, visando o direcionamento para a Pesquisa & Desenvolvimento de novos bioprodutos, este artigo objetivou avaliar o potencial de desenvolvimento de produtos biotecnológicos de *C. verum* a partir da revisão dos estudos científicos com essa espécie vegetal, com ênfase aos aspectos da etnofarmacologia, atividade biológica, composição química e toxicidade.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em bases de dados (*Google Scholar, Biological Abstracts, Chemical Abstracts, Medline, Lilacs, Web of Science, Science Direct, PubMed, Food and Drugs Administration e Tropicos - Missouri Botanical Garden*) e banco de patentes (INPI, USPTO, GOOGLE PATENTES e LATIPAT). A seleção dos descritores utilizados no processo de revisão foi efetuada mediante consulta a base “Descritores de Assunto em Ciências da Saúde da BIREME (DECs)”, usando como descritores: *Cinnamomum verum* e seus sinônimos botânicos, etnobotânica, etnofarmacologia, atividade biológica, compostos químicos e toxicidade; com emprego dos operadores booleanos AND e OR. Os critérios de inclusão foram: trabalhos publicados com abordagem do tema proposto e artigos originais disponíveis na íntegra no período de 1994 a 2022. Foram excluídos artigos que não se enquadram em “*open access*”, publicações duplicadas, trabalhos que fugiram ao tema apesar de conter os descritores, monografias, relatórios técnicos e resumos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Taxonomia

A distribuição taxonômica de *Cinnamomum verum* (sin. *Cinnamomum zeylanicum* Blume, *Cinnamomum zeylanicum* Breyn, *Camphora mauritiana* Lukman e *Laurus cinnamomum* L.) segundo Trópicos (2022) é a seguinte:

Reino: Plantae

Classe: Equisetopsida
Subclasse: Magnoliidae
Superordem: Magnolianaes
Ordem: Laurales
Família: Lauraceae
Gênero: *Cinnamomum*
Espécie: *Cinnamomum verum*

Distribuição geográfica e cultivo

Cinnamomum verum é uma espécie nativa do Sri Lanka e sul da Índia, mas também distribuído no sudeste asiático, China, Birmânia, Indonésia, Madagascar, Caribe, Austrália e África. Após seu cultivo, em três anos a árvore está pronta para colheita, sendo Sri Lanka seguido por China, Vietnã e Madagascar os principais exportadores da espécie para o mercado mundial (Singh et al., 2021). A espécie teve boa adaptação em regiões tropicais e subtropicais do mundo, incluindo o Brasil (Castro et al., 2020). A árvore prospera melhor em ambiente quente e úmido de baixa altitude, com solo bem drenado, sendo importante destacar que o solo encharcado deve ser evitado pois produz uma casca de sabor amarga (Ribeiro-Santos et al., 2017).

Aspectos morfológicos

A planta é uma árvore aromática de ciclo perene, que atinge entre 10 a 15 metros de altura e seu tronco cerca de 35 cm de diâmetro. A casca apresenta espessura de até 12 milímetros e coloração marrom avermelhada, as folhas de cor verde-clara, são opostas, com forma oval a oblonga, coriáceas, lanceoladas, contendo nervuras na base, brilhantes e lisas na parte superior e reticuladas na parte inferior. Seu fruto é roxo, medindo em média 01 (um) centímetro, sendo assim capaz de elaborar somente 01 (uma) semente; já as flores são numerosas e pequenas, de coloração branco-amareladas agrupadas em cachos ramificados (Vinitha e Ballal, 2008; Singh et al., 2021).

Cinnamomum verum por ser uma especiaria que possui um alto valor agregado e uma maior qualidade quando comparada a outras espécies de canela, está altamente vulnerável às fraudes, sendo sua forma moída mais propensa à adulteração, pois sua moagem altera a forma do adulterante para pó, dificultando a sua detecção no produto final (Li et al., 2013; Silvis et al., 2017).

Uso tradicional

Cinnamomum verum é amplamente utilizada para vários fins terapêuticos na prática popular, predominando o uso das cascas (Tabela 1). Embora a utilização da casca seja mais referenciada, todos os órgãos da espécie são passíveis de estudos químicos e farmacológicos, como vem sendo demonstrado neste trabalho (Tabela 1).

Tabela 1. Indicações de uso popular terapêutico de *Cinnamomum verum* J. S. Presl (Lauraceae), nos estudos inventariados na revisão, 1994 a 2022.

Farmacógeno	Indicação de uso	Referência (s)
Casca do caule		
	Diarreia e disenteria	Khare, 2008; Cardoso-Ugarte et al., 2016; Kumar e Kumari, 2019; Prabhu et al., 2020; Oyelakin et al., 2020; Kalirajan, 2021
	Dores de estomacais	Khare, 2008; Kumar e Kumari, 2019; Oyelakin et al., 2020
	Indigestão	Khare, 2008; Kumar e Kumari, 2019; Almubayedh et al., 2018; Oyelakin et al., 2020
	Antiflatulento	Khare, 2008; Cardoso-Ugarte et al., 2016; Kumar e Kumari, 2019; Oyelakin et al., 2020; Kalirajan et al., 2021
	Irritação gástrica	Khare, 2008; Kumar e Kumari, 2019; Prabhu et al., 2020; Oyelakin et al., 2020; Kalirajan et al., 2021
	Náusea e vômitos	Khare, 2008; Kumar e Kumari, 2019; Oyelakin et al., 2020; Kalirajan et al., 2021
	Gripe e resfriados	Khare, 2008; Kumar e Kumari, 2019; Almubayedh et al., 2018
	Expectorante	Cardoso-Ugarte et al., 2016; Kumar e Kumari, 2019
	Dor de dente, gargarejos, antisséptico, anti-hemorragico, neuralgia e reumatismo	Khare, 2008; Kumar e Kumari, 2019
	Perda de peso e colesterol	Prabhu et al., 2020; Almubayedh et al., 2018
	Antidiabético	Skalli et al., 2019; Almubayedh et al., 2018
	Dor menstrual	Flores e Quinlan, 2014; Almubayedh et al., 2018
	Atraso menstrual	Flores e Quinlan, 2014

Tabela 1. Continuação

	Analgésico Diurético e anticoagulante Anti-inflamatório Doenças cardíacas e urinárias, dor de cabeça, antibronquite, anti-helmíntico, coceira e afrodisíaco Gordura no fígado e antioxidante	Basati et al., 2019 Almubayedh et al., 2018 Flores e Quinlan, 2014; Ribeiro-Santos et al., 2017 Cardoso-Ugarte et al., 2016 Ribeiro-Santos et al., 2017
Folhas	Antidiabético Antimicrobiano	Khare, 2008 Ribeiro-Santos et al., 2017
Raiz	Tratar e controlar a infecção por HIV/AIDS*	Semenya et al., 2013
NI	Distúrbios neurológicos	Acharya et al., 2022

NI: não informa;

* *Cinnamomum verum* (raiz) misturado com *Burkea africana* Hook. (raiz), *Hypoxis hemerocallidea* Fisch. & C.A. Mey. (tubérculo), *Geigeria aspera* Harv. (planta inteira).

Composição química e aspectos nutricionais

Estudos de identificação das classes de metabólitos secundários têm sido desenvolvidos, especialmente, com cascas, folhas, frutos e flores da canela; predominado os estudos com óleos essenciais das cascas (Tabela 2).

Como principais constituintes de *Cinnamomum verum*, destacam-se: cinamaldeído (cascas), eugenol (folhas), cânfora (raízes); predominando acetato (*E*)-cinamil nos frutos e flores; sendo o cinamaldeído o componente responsável pelo sabor doce e picante da canela (Ribeiro-Santos et al., 2017).

Azeredo et al. (2014), por cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC-MS), identificaram (*E*)-cinamaldeído, eugenol, (*E*)-cariofileno, (*E*)-cinamil acetato e α -humuleno como os 05 (cinco) principais compostos dos óleos das cascas de *Cinnamomum verum*. Nos

óleos essenciais de botões florais foram encontrados hidrocarbonetos de terpeno, α -bergamoteno, α -Copaeno e terpenóides oxigenados (Hariri e Ghiasvand, 2016).

Considerando que a composição química dos óleos essenciais pode ser influenciada por fatores extrínsecos e intrínsecos, e assim, influenciando a resposta biológica (Luz et al., 2022); a constatação da predominância de estudos de identificação de óleos essenciais em *Cinnamomum verum* deve estimular os estudos sobre variações na composição devido a esses fatores, para padronizar a obtenção desses óleos essenciais, visando sua máxima eficiência.

A investigação fitoquímica dos extratos metanólicos das folhas e das cascas de *Cinnamomum verum* indicou forte presença de compostos fenólicos (flavonoides e taninos), alcaloides e saponinas. Estudo de Mazimba et al. (2015) indica otimização da extração de compostos fenólicos das folhas e da casca do caule com emprego de metanol.

Perterson et al. (2009) identificaram o composto fenólico, trímico de procianidina, em extrato aquoso de *Cinnamomum verum*; as quais são referidas de possuírem boa atividade antioxidante e inibição de linhagens de células cancerígenas (Jayaprakasha et al., 2011).

Embora revisão a que fundamenta esse estudo evidencie diversos trabalhos de avaliação da composição química de diferentes partes de *Cinnamomum verum*, não foi constatado, até momento, estudos de padronização dos seus extrativos. Nesse sentido, reconhecendo que a padronização é essencial na validação dos bioprodutos, estudos de padronização dos extratos de *Cinnamomum verum*, fundamentadas na interface da bioatividade e fitoquímica, devem ser estimulados na perspectiva de identificar variáveis que influenciam na qualidade dos extrativos; logo da resposta biológica.

Proteínas, fibras, componentes voláteis, vitaminas (A, C e B), minerais (Ca, P, Na, K e Fe) conhecidos por terem ação na promoção de saúde e prevenção de doenças foram elucidados nas cascas de *Cinnamomum verum*. O óleo das cascas também contém alta proporção de gordura saturada, sendo o ácido palmítico o principal ácido graxo, seguido por ácido oleico, ácido linoleico e ácido esteárico (Al-Numair et al., 2007). Assim, revelando o potencial nutricional de *C. verum*, colaborando para um maior aproveitamento da espécie.

Tabela 2. Composição química de *Cinnamomum verum* J. S. Presl (Lauraceae) segundo estudos inventariados na revisão, 1994 a 2022.

Farmacógeno	Compostos químicos	Preparação estudada	Referência (s)
Cascas do caule	α -pineno	OE	Andrade et al., 2012; Choi et al., 2016; Ribeiro-Santos et al., 2017
	Canfeno	OE	Andrade et al., 2012; Choi et al., 2016
	Benzaldeído	OE	Andrade et al., 2012
	β -pineno	OE	Andrade et al., 2012; Choi et al., 2016; Ribeiro-Santos et al., 2017
	Limoneno	OE	Andrade et al., 2012
	1,8-cineol	OE	Andrade et al., 2012
	Linalol	OE	Andrade et al., 2012; Choi et al., 2016; Ribeiro-Santos et al., 2017
	Borneol	OE	Andrade et al., 2012
	Terpinen-4-ol	OE	Andrade et al., 2012
	α -terpineol	OE	Andrade et al., 2012; Choi et al., 2016; Ribeiro-Santos et al., 2017
	Cinamaldeído	OE	Choi et al., 2016; Ribeiro-Santos et al., 2017
	(Z)- Cinamaldeído	OE	Andrade et al., 2012; Azeredo et al., 2014
	(E)- Cinamaldeído	OE	Andrade et al., 2012
	Acetato de bornila	OE	Andrade et al., 2012
	Acetato de (E)-cinamila	OE	Andrade et al., 2012; Azeredo et al., 2014; Choi et al., 2016
	α -Felandreno	OE	Choi et al., 2016
	β -Felandreno	OE	Choi et al., 2016
	α -Terpinoleno	OE	Choi et al., 2016
	p-cimeno	OE	Choi et al., 2016; Ribeiro-Santos et al., 2017
	β -Cariofileno	OE	Choi et al., 2016; Ribeiro-Santos et al., 2017
	3-Carene	OE	Choi et al., 2016
	Limoneno	OE	Choi et al., 2016; Ribeiro-Santos et al., 2017
	Benzaldeído	OE	Choi et al., 2016; Ribeiro-Santos et al., 2017
	Humuleno	OE	Choi et al., 2016
	Aldeído hidrocínâmico	OE	Choi et al., 2016
	Acetato de hidrocínamil	OE	Choi et al., 2016
	Óxido de cariofileno	OE	Choi et al., 2016
	Eugenol	OE	Choi et al., 2016; Ribeiro-Santos et al., 2017
	Álcool cinamílico	OE	Choi et al., 2016
	Metoxi-cinamaldeído	OE	Choi et al., 2016
Benzoato de benzila	OE	Choi et al., 2016	

Tabela 2. Continuação

	Benzeno, 1-etenil-2-metil	Extrato	Mariappan et al., 2013
	Benzeno propanal	Extrato	Mariappan et al., 2013
	Anetol	Extrato	Mariappan et al., 2013
	Estragol	Extrato	Mariappan et al., 2013
	3-fenil-propenal	Extrato	Mariappan et al., 2013
	E- cinamaldeído	Extrato	Mariappan et al., 2013
	Ácido 4-vinil benzoico	Extrato	Mariappan et al., 2013
	Ácido-2-propenóico (<i>E</i>)-3-(2-metoxifenil)	Extrato	Mariappan et al., 2013
	Cumarina	Extrato	Mariappan et al., 2013
	Rutina	Extrato	Al-Numair et al., 2007
	Quercetina	Extrato	Al-Numair et al., 2007; Ribeiro-Santos et al., 2017
	Kaempferol	Extrato	Al-Numair et al., 2007
	Isorhamnetina	Extrato	Al-Numair et al., 2007
	Catequina	Extrato	Al-Numair et al., 2007; Ribeiro-Santos et al., 2017
	Ácido cafeico	Extrato	Ribeiro-Santos et al., 2017
	Ácido clorogênico	Extrato	Ribeiro-Santos et al., 2017
	Epicatequina	Extrato	Ribeiro-Santos et al., 2017
	Ácido ferúlico	Extrato	Ribeiro-Santos et al., 2017
	Ácido p-cumárico	Extrato	Ribeiro-Santos et al., 2017
	Ácido p-hidroxibenzóico	Extrato	Ribeiro-Santos et al., 2017
	Ácido protocatecuico	Extrato	Ribeiro-Santos et al., 2017
	Ácido rosmarínico	Extrato	Ribeiro-Santos et al., 2017
	Ácido Siringico	Extrato	Ribeiro-Santos et al., 2017
	Mirceno	Extrato	Singh et al., 2021
	Estireno	Extrato	Singh et al., 2021
	Dímero de procianidina tipo A	Extrato	Singh et al., 2021
	Dímero de procianidina tipo B	Extrato	Singh et al., 2021
Folhas	Canfeno	OE	Dalai et al., 2014; Kumar et al., 2012
	Eugenol	OE	Dalai et al., 2014; Kumar et al., 2012
	Cinamaldeído	OE	Dalai et al., 2014; Kumar et al., 2012
	Tetratetracontano	OE	Dalai et al., 2014
	Pentatriacontano	OE	Dalai et al., 2014
	Heptacosano	OE	Dalai et al., 2014
	Triacotano	OE	Dalai et al., 2014
	α -pineno	OE	Kumar et al., 2012
	B- pineno	OE	Kumar et al., 2012; Singh et al., 2021
	Benzaldeído	OE	Kumar et al., 2012
	α -felandreno	OE	Kumar et al., 2012
	β -felandreno	OE	Kumar et al., 2012

Tabela 2.Continuação

	Benzoato de benzila	OE	Kumar et al., 2012; Singh et al., 2021
	Óxido de cariofileno	OE	Kumar et al., 2012; Singh et al., 2021
	Limoneno	OE	Kumar et al., 2012
	Linalol	OE	Kumar et al., 2012
	Δ^3 -Carene	OE	Kumar et al., 2012
	p-cimeno	OE	Kumar et al., 2012
	Espatulenol	OE	Kumar et al., 2012
	Álcool Cinamílico	OE	Kumar et al., 2012
	α -Humuleno	OE	Kumar et al., 2012
	γ -Terpineno	OE	Kumar et al., 2012
	α -Terpinene	OE	Kumar et al., 2012
	β -Cariofileno	OE	Kumar et al., 2012
	α -Copaeno	OE	Kumar et al., 2012
	Germacreno	OE	Kumar et al., 2012
	δ -Cadineno	OE	Kumar et al., 2012
	γ -Elemene	OE	Kumar et al., 2012
Frutos	Ácido protocatecuico	Extrato	Jayaprakasha et al., 2011
	Cinnamtannin B1	Extrato	Jayaprakasha et al., 2011
	Urolinosídeo	Extrato	Jayaprakasha et al., 2011
	Rutina	Extrato	Jayaprakasha et al., 2011
	Quercetina-3-O- α -L-ramnopiranosídeo	Extrato	Jayaprakasha et al., 2011
	(<i>E</i>)-acetato de cinamil	OE	Paranagama et al., 2001
Flores	Canfeno	OE	Narayanankutty et al., 2021
	β -pineno	OE	Narayanankutty et al., 2021
	Sabineno	OE	Narayanankutty et al., 2021
	Mirceno	OE	Narayanankutty et al., 2021
	1,4-Cineol	OE	Narayanankutty et al., 2021
	Limoneno	OE	Narayanankutty et al., 2021
	Cis-b-Ocimeno	OE	Narayanankutty et al., 2021
	Trans-b-Ocimeno	OE	Narayanankutty et al., 2021
	p-cimeno	OE	Narayanankutty et al., 2021
	Linalol	OE	Narayanankutty et al., 2021
	γ -terpineno	OE	Narayanankutty et al., 2021
	α -Terpineol	OE	Narayanankutty et al., 2021
	Piperitona	OE	Narayanankutty et al., 2021
	Geraniol	OE	Narayanankutty et al., 2021
	(<i>E</i>)-Cinamaldeído	OE	Narayanankutty et al., 2021
	(<i>Z</i>)-Cinamaldeído	OE	Narayanankutty et al., 2021
	Eugenol	OE	Narayanankutty et al., 2021
	(<i>E</i>)-acetato de cinamil	OE	Narayanankutty et al., 2021
	Acetato de eugenil	OE	Narayanankutty et al., 2021
	Benzoato de benzila	OE	Narayanankutty et al., 2021

OE: óleo essencial.

Estudos farmacológicos

As propriedades dos componentes de extratos de canela e óleos essenciais comprovam atividade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas que são responsáveis por doenças infecciosas humanas e degradação de alimentos (Nabavi et al., 2015); tais como: *a)* Mandal et al. (2011) demonstraram que o extrato etanólico da casca do caule *Cinnamomum verum* exerceu atividade bactericida após 6 h de incubação em isolados de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA), sendo considerado um valioso coadjuvante no tratamento da infecção e podendo contribuir para o desenvolvimento de potenciais agentes antimicrobianos contra bactérias multirresistentes; *b)* Estudo *in vitro* contra bactérias cariogênicas, *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*, revelou que óleo essencial da casca de *Cinnamomum verum* e seu componente majoritário, cinamaldeído, têm potencial para aplicação como agentes para a prevenção e tratamento da cárie dentária (Choi et al., 2016).

A atividade antifúngica de amostras comerciais de óleo essenciais de *Cinnamomum verum* foi testada *in vitro* contra *Colletotrichum coccodes*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium herbarum*, *Rhizopus stolonifer* e *Aspergillus niger*; com resultados evidenciando redução no desenvolvimento dos microrganismos examinados, retardando completamente a esporulação fúngica (exceto *Botrytis cinerea*) (Tzortzakis, 2009).

Estudo *in vitro* de Azeredo et al. (2014) demonstrou efeito antiparasitário do óleo essencial das cascas de *Cinnamomum verum* contra *Trypanosoma cruzi* (epimastigotas, tripomastigotas e amastigotas), demonstrando interferência do óleo no processo de diferenciação do parasito.

Os compostos fenólicos rutina e quercetina descritos nessa revisão (Tabela 2), mostraram atividade contra as formas promastigota e amastigota de *Leishmania infantum*, atuando como inibidores da enzima acetil-colinesterase (AChE), causando danos nas membranas do protozoário (Vila-Nova et al., 2012). Portanto, a inibição desta enzima pode contribuir para o mecanismo da ação antileishmanial, considerando que *Leishmania infantum* necessita de colina para sintetizar fosfolípidos de membrana, a presença de acetilcolinesterase resultaria em um declínio de colina e, conseqüentemente, a membrana do parasito perde a consistência, podendo sofrer lise (Martins et al., 2018).

Dalai et al. (2014) demonstraram que o extrato metanólico e óleo essenciais das folhas de *Cinnamomum verum* possuem potencial atividade anticolinesterase, mecanismo este com

particular benefício no tratamento sintomático da doença de Alzheimer. Estudo de Gulcin et al. (2019) com extratos etanólicos e aquosos das cascas da espécie testados contra as enzimas acetilcolinesterase, butirilcolinesterase, α -glicosidase e α -amilase, demonstrou que os dois extratos têm efeitos anticolinérgicos, antidiabéticos e antioxidantes eficazes; atribuídos aos compostos fenólicos.

Extrato etanólico da casca de *Cinnamomum verum* apresentou atividade *in vitro* contra a linha celular de câncer de mama humano MDA-MB-231, relevando a possível capacidade da espécie no tratamento do câncer de mama (Husain et al., 2018).

Singh et al. (2009) analisaram o efeito citotóxico *in vitro* do extrato aquoso da casca de *Cinnamomum verum* em várias linhagens celulares e atribuíram a diminuição da viabilidade celular, sobretudo em células cancerosas, à presença de compostos polifenólicos do extrato, provavelmente por sua capacidade de funcionar como antioxidantes, e, também, pela inibição da proliferação e alteração o ciclo celular através do potencial de interagir com atividades de sinalização de fosforilação/desfosforilação. Nesse estudo, o efeito antiproliferativo do composto cinamaldeído, obtido do comércio, em células cancerosas também foi constatado. Sowa et al. (2020) também relacionaram o efeito citotóxico das espécies vegetais testadas às substâncias polifenólicas.

Hassan et al. (2012) verificaram que o extrato aquoso da casca da planta reduziu o colesterol total, o colesterol LDL e triglicerídeos, enquanto aumentou o colesterol HDL em ratos diabéticos.

A atividade anti-inflamatória dos extratos metanólicos e etanólicos das cascas de *Cinnamomum verum* foi avaliada com a redução da artrite em camundongos BALB/c com artrite mediada por colágeno (Qadir et al., 2018). Seu extrato aquoso também mostrou ação anti-inflamatória significativa inibindo a atividade da enzima lipoxigenase (LOX) (Singh et al., 2021).

Estudos de toxicidade

O emprego de preparações a base de *Cinnamomum verum* é considerado seguro em dose de 1 - 2 g/dia, tanto para a preparação de alimentos como para fins medicinais (Singh et al., 2021). Isaac-Renton et al. (2015) relataram dermatite alérgica de contato intraoral associada ao cinamaldeído. Cardoso-Ugarte et al. (2016) destacaram toxicidade do ácido

cinâmico, composto derivado do óleo essencial, este composto promoveu dermatite e sensibilidade oral quando adicionado à perfumaria e produtos de higiene bucal, respectivamente.

Domaracký et al. (2007), em estudo com administração de óleo essencial de *Cinnamomum verum* na dieta de camundongos fêmeas por duas semanas, avaliaram os efeitos na viabilidade dos embriões, número de núcleos e distribuição dos embriões de acordo com o número de núcleos. O óleo diminuiu significativamente o número de núcleos e a distribuição dos embriões de acordo com o número de núcleos foi significativamente alterada, os autores atribuíram esses resultados aos efeitos antiproliferativos do cinamaldeído. Por outro lado, extratos aquosos e clorofórmicos de folhas de *Cinnamomum verum* testados em ratas Wistar prenhas, não apresentaram efeitos tóxicos, abortivos ou embrionários significativos (Lemonica e Macedo, 1994).

A contradição desses resultados de toxicidade entre os estudos analisados com *Cinnamomum verum* alertam para a necessidade de continuidade dos estudos com a espécie.

Patentes

Nos bancos de dados foram encontradas as seguintes patentes: Hidrogel de *Cinnamomum zeylanicum* com propriedades antimicrobianas (BR 102018001958 9) (González et al., 2018); Método de miceliação de substratos agrícolas para produção de alimentos funcionais e nutracêuticos (US9427008B2) (Kelly e Langan, 2016); Suplemento de alta proteína US8779189B2 (Scheele, 2011); Composições orais contendo extratos de *Zizyphus joazeiro* e métodos relacionados (US2012237455A1) (Trivedi e Gittins, 2012); Composição de extratos de plantas, vegetais e frutas para a prevenção do câncer. (MX2016007587A) (Olvera, 2017); Terapias baseadas em ligantes de receptores quimiossensoriais (AU2019253780A1) (Baron et al., 2012).

Conclusões

Cinnamomum verum, espécie de amplo emprego e grande ocorrência em várias regiões do mundo, tem potencial para avançar na Pesquisa e Desenvolvimento para obtenção de novos bioprodutos, especialmente na perspectiva de validação do emprego como alternativa e/ou complemento terapêutico, o que deve ser incentivado considerando o amplo e

diversificado uso terapêutico popular; com evidências de eficácia terapêutica comprovada como antioxidante, anti-inflamatório, antimutagênico, antimicrobiano, antidiabético e redutor de colesterol; o que pode ser atribuído à presença de constituintes voláteis como cinamaldeído, eugenol, cânfora e acetato (*E*)-cinamil, e às classes de metabólitos secundários como flavonoides, taninos e alcaloides.

Demonstrando, assim, o potencial para aproveitamento tecnológico da espécie, já sinalizado com depósitos de algumas patentes. Mas a constatação da falta de etapas metodológicas essenciais para certificação do uso seguro e eficaz deve estimular a continuação dos estudos de validação com ênfase nos estudos botânicos para definição de parâmetros de autenticidade da espécie, estudos de padronização dos extrativos para definição de variáveis que influenciam na composição química e consequente resposta biológica, estudos para definição de marcadores ativos e/ou analíticos, estudos de toxicidade e de elucidação dos mecanismos de ação.

Conflitos de interesse

Os autores declaram que não há conflitos de interesse em relação à publicação deste artigo.

Reconhecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico e Científico (CNPq), Coordenação de Melhoramento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (Código de Financiamento 001), Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) e Universidade Federal do Maranhão (UFMA) pelo apoio financeiro e reconhecem todos os participantes por seu valioso tempo e compromisso com este estudo.

Referências

- Acharya, M., Divakar, M. S., Malabadi, R. B., Chalannavar, R. K., 2022. Ethnobotanical survey of medicinal plants used by the "Nalike" community in the Bantwala taluk of Dakshina Kannada district, Karnataka, India. *Plant Science Today*. 9 (2), 461–468.
- Almeida, J. F., Freires, M. A. L., Pinheiro, M. L. B., Duarte, N. M., Silva, W. A. M., Melo, W. F., Medeiros, A. C., Medeiros, F. L., Maracajá, P. B. 2022. The view of doctors and the use of medicinal plants by the health system. *Research, Society and Development*. 11, e394111131427.
- Almubayedh, A., Ahmad, R., Naqvi, A. A., Ahmad, N., 2018. Ethnopharmacological Uses and Public Knowledge Regarding *Cinnamomum zeylanicum* in Khobar, Saudi Arabia. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. 10, 159-65.
- Al-Numair, K. S., Ahmad, D., Ahmed, S. B., Al-Assaf, A. H., 2007. Nutritive Value, Levels of Polyphenols and Anti-Nutritional Factors in Sri Lankan Cinnamon (*Cinnamomum Zeylanicum*) And Chinese Cinnamon (*Cinnamomum Cassia*). *Food Science & Agriculture Research Center, King Saud University*. 154, 5-21.
- Andrade, M. A., Cardoso, M. G., Batista, L. R., Mallet, A. C. T., Machado, S. M. F., 2012. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. *Revista Ciências Agronômicas*. 43, 399-408.
- Azeredo, C. M. O., Santos, T. G., Maia, B. H. L. N. S., Soares, M. J., 2014. *In vitro* biological evaluation of eight different essential oils against *Trypanosoma cruzi*, with emphasis on *Cinnamomum verum* essential oil. *BMC complementary and alternative medicine*. 14, 1-8.
- Baron, A. D., Brown, M. R., Jones, C. R., Beeley, N. R., Fineman, M. S., 2012. Chemosensory receptor ligand-based therapies. AU2019253780A1. <https://patents.google.com/patent/AU2019253780A1/en?q=cinnamomum+verum> (accessed 14 October 2022).
- Basati, G., Abbaszadeh, S., Zebardast, A., Teimouri, H., 2019. Analgesic Medicinal Plants in Shahrekord, Southwest of Iran: An Ethnobotanical Study. *Galen Medical Journal*. 8, e1593.
- Cardoso-Ugarte, G. A., López-Malo, A., Sosa-Morales, M. E., 2016. Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) Essential oils. In: *Essential oils in food preservation, flavor and safety*. Academic Press. 339-347.
- Castro, C. C., Silva, A. R. C., Franco, C., J., P., Siqueira, G. M., Cascaes, M. M., Nascimento, L. D., Andrade, E. H. A., 2020. Caracterização química do óleo essencial das folhas, galhos e frutos de *Cinnamomum verum* J. Presl (Lauraceae). *Brazilian Journal of Development*. 6, 41320-41333.
- Choi, O., Cho, S. K., Kim, J., Park, C. G., Kim, J., 2016. *In vitro* antibacterial activity and major bioactive components of *Cinnamomum verum* essential oils against cariogenic bacteria, *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 6(4), 308–314.

Dalai, M. K., Bhadra, S., Chaudhary, S. K., Chanda, J., Bandyopadhyay, A., Mukherjee, P. K., 2014. Anticholinesterase activity of *Cinnamomum zeylanicum* L. leaf extract. *CELLMED*. 4 (2), e11.

Domaracký, M., Reháč, P., Juhás, Š., Koppel, J., 2007. Effects of selected plant essential oils on the growth and development of mouse preimplantation embryos *in vivo*. *Physiological research*. 56, 97-104.

Farias, A. P. P., Monteiro, O. D. S., Silva, J. K. R., Figueiredo, P. L. B., Rodrigues, A. A. C., Monteiro, I. N., Maia, J. G. S., 2020. Chemical composition and biological activities of two chemotype-oils from *Cinnamomum verum* J. Presl growing in North Brazil. *Journal of Food Science and Technology*, 57(9), 3176-3183.

Ferreira, A. L. S., Pasa, M. C., Nunez, C. V., 2020. A etnobotânica e o uso de plantas medicinais na Comunidade Barreirinho, Santo Antônio de Leverger, Mato Grosso, Brasil. *Interações (Campo Grande)*. 21, 817-830.

Flores, K. E., Quinlan, M. B., 2014. Ethnomedicine of menstruation in rural Dominica, West Indies. *Journal of Ethnopharmacology*, 153(3), 624-634.

González, M. E. L., Queiroz, A. A. A., Helou, G. M. R., Marques, P. S., 2018. Hidrogel de *Cinnamomum zeylanicum* com propriedades antimicrobianas. BR 10 2018 001958 9. <https://busca.inpi.gov.br/pePI/servlet/PatenteServletController?Action=detail&CodPedido=1443449&SearchParameter=CINNAMOMUM%20ZEYLANICUM%20%20%20%20%20%20%20&Resumo=&Titulo=>(accessed 13 October 2022).

Gulcin, I., Kaya, R., Goren, A. C., Akincioglu, H., Topal, M., Bingol, Z., Çakmak, K. C., Sarikaya, S. B. O., Durmaz, L., Alwasel, S., 2019. Anticholinergic, antidiabetic and antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts: polyphenol contents analysis by LC-MS/MS. *International Journal of Food Properties*. 22(1), 1511-1526.

Hariri, M.; Ghiasvand, R., 2016. *Cinnamon* and chronic diseases. In: *Drug Discovery from Mother Nature*. Springer, Cham. 929, 1-24.

Hassan, S. A., Barthwal, R., Nair, M. S., Haque, S. S., 2012. Aqueous bark extract of *Cinnamomum zeylanicum*: a potential therapeutic agent for streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus (T1DM) rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 11(3), 429-435.

Husain, I., Ahmad, R., Chandra, A., Raza, S. T., Shukla, Y., Mahdi, F., 2018. Phytochemical characterization and biological activity evaluation of ethanolic extract of *Cinnamomum zeylanicum*. *Journal of ethnopharmacology*. 219, 110-116.

Isaac-Renton, M., Li, M. K., Parsons, L. M., 2015. Cinnamon spice and everything not nice: many features of intraoral allergy to cinnamic aldehyde. *Dermatitis*, 26(3), 116-121.

Jayaprakasha, G. K., Ohnishi-Kameyama, M., Ono, H., Yoshida, M., Jaganmohan Rao, L., 2006. Phenolic constituents in the fruits of *Cinnamomum zeylanicum* and their antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(5), 1672-1679.

Jayaprakasha, G. K., Rao, L. J. M., 2011. Chemistry, biogenesis, and biological activities of *Cinnamomum zeylanicum*. *Critical reviews in food science and nutrition*. 51(6), 547-562.

Kalirajan, A., Kalenshi, A., Banda, D., Siankuku, M., 2021. Ethnobotanical survey of traditional medicinal plants used in treatment of gastrointestinal disorders in Lusaka, Zambia. *International Journal of Herbal Medicine*. 9(3), 28-34.

Kelly, B. J., Langan, J. P., 2016. Method of myceliation of agricultural substates for producing functional foods and nutraceuticals. US9427008B2. <https://patents.google.com/patent/US9427008B2/en?q=cinnamomum+verum&page=4>(access ed 14 October 2022).

Khare, C. P., 2008. *Indian medicinal plants: an illustrated dictionary*. Springer
Kumar, K. N. S., Sangeetha, B., Rajalekshmi, M., Ravishankar, B., Muralidhar, R., Yashovarma, B., 2012. Chemoprofile of tvakpatra; leaves of *Cinnamomum verum* J. S. Presl. *Pharmacognosy Journal*. 4(34), 26-30.

Kumar, S., Kumari, R., 2019. Cinnamomum: review article of essential oil compounds, ethnobotany, antifungal and antibacterial effects. *Open Access J Sci*. 3(1), 13-16. *Science & Business Media*.

Lemonica, I. P., Macedo, A. B., 1994. Abortive and/or embryofetotoxic effect of *Cinnamomum zeylanicum* leaf extracts in pregnant rats. *Fitoterapia*, 65(5), 431-434.

Li, Y., Kong, D., Wu, H., 2013. Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC-MS and FTIR spectroscopy. *Industrial Crops and Products*. 41, 269-278.

Luz, T. R. S. A., Leite, J. A. C., de Mesquita, L. S. S., Bezerra, S. A., Ribeiro, E. C. G., Silveira, D. P. B., Mesquita, J. W. C., Amaral, F.M.M., Coutinho, D. F., 2022. Seasonal variation in the chemical composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti* L. of essential oils from Brazilian Amazon. *Experimental Parasitology*, 108405.

Mariappan, P. M., Sabesan, G., Koilpillai, B., Janakiraman, S., Sharma, N. K., 2013. Chemical characterisation and antifungal activity of methanolic extract of *Cinnamomum verum* J. Presl bark against *Malassezia* spp. *Pharmacognosy Journal*. 5(5), 197-204.

Martins, G. V.; Alves, D. R.; Viera-Araújo, F. M.; Rondon, F.; Braz-Filho, R.; Morais, S. M., 2018. Estudo químico e avaliação das atividades antioxidante, anti-acetilcolinesterase e antileishmanial de extratos de *Jatropha Gossypifolia* L.(Pião Roxo). *Revista Virtual de Química*.10, 21-36.

- Mazimba, O., Wale, K., Kwape, T. E., Mihigo, S. O., Kokengo, B. M., 2015. *Cinnamomum verum*: Extratos de etilacetato e metanol atividade antioxidante e antimicrobiana. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 3 (3), 28-32.
- Narayanankutty, A., Kunnath, K., Alfarhan, A., Rajagopal, R., Ramesh, V., 2021. Chemical composition of *Cinnamomum verum* leaf and flower essential oils and analysis of their antibacterial, insecticidal, and larvicidal properties. *Molecules*, 26(20), 6303.
- Nabavi, S. F., Di Lorenzo, A., Izadi, M., Sobarzo-Sánchez, E., Daglia, M., Nabavi, S. M., 2015. Antibacterial effects of cinnamon: From farm to food, cosmetic and pharmaceutical industries. *Nutrients*, 7(9), 7729-7748.
- Olvera, M. D. C. R., 2017. Composicion de extractos de plantas, vegetales y frutas para prevencion de cancer. MX2016007587A. https://ip.espacenet.com/publicationDetails/biblio?II=2&ND=3&adjacent=true&locale=pt_LP&FT=D&date=20171211&CC=MX&NR=2016007587A&KC=A (accessed 13 October 2022).
- Oyelakin, A. O., Olubode, T. P., & Olawale, B. R., 2020. Ethnobotanical survey and phytochemical analysis of selected medicinal plants used in treating digestive disorder. *Journal of Medicinal Plants*. 8(2), 38-42.
- Paranagama, P. A., Wimalasena, S., Jayatilake, G. S., Jayawardena, A. L., Senanayake, U. M., Mubarak, A. M., 2001. A comparison of essential oil constituents of bark, leaf, root and fruit of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blum) grown in Sri Lanka. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*. 29, 147- 153.
- Pedroso, R. D. S., Andrade, G., Pires, R. H., 2021. Plantas medicinais: uma abordagem sobre o uso seguro e racional. *Physis: Revista de Saúde Coletiva*. 31(2), e310218.
- Peterson, D. W., George, R. C., Scaramozzino, F., LaPointe, N. E., Anderson, R. A., Graves, D. J., Lew, J., 2009. Cinnamon extract inhibits tau aggregation associated with Alzheimer's disease *in vitro*. *Journal of Alzheimer's Disease*. 17(3), 585-597.
- Prabhu, S., Vijayakumar, S., Yabesh, J. M., Prakashbabu, R., Murugan, R., 2021. An ethnobotanical study of medicinal plants used in pachamalai hills of Tamil Nadu, India. *Journal of Herbal Medicine*. 25, 100400.
- Qadir, M. M. F., Bhatti, A., Ashraf, M. U., Sandhu, M. A., Anjum, S., John, P., 2018. Immunomodulatory and therapeutic role of *Cinnamomum verum* extracts in collagen-induced arthritic BALB/c mice. *Inflammopharmacology*. 26 (1), 157-170.
- Ribeiro-Santos, R., Andrade, M., Madella, D., Martinazzo, A. P., Moura, L. D. A. G., de Melo, N. R., Sanches-Silva, A., 2017. Revisiting an ancient spice with medicinal purposes: Cinnamon. *Trends in Food Science & Technology*, 62, 154-169.

Scheele, G., 2011. High protein supplement. US8779189B2. <https://patents.google.com/patent/US8779189B2/en?q=cinnamomum+verum&page=4>(accessed 14 October 2022).

Semenya, S. S., Potgieter, M. J., Erasmus, L. J. C., 2013. Ethnobotanical survey of medicinal plants used by Bapedi traditional healers to manage HIV/AIDS in the Limpopo Province, South Africa. *Journal of Medicinal Plants Research*. 7(8), 434-41.

Shinjyo, N., Waddell, G., Green, J., 2020. A tale of two cinnamons: a comparative review of the clinical evidence of *Cinnamomum verum* and *C. cassia* as diabetes interventions. *Journal of herbal medicine*. 21, 100342.

Silva, O. N., Amaral, F. M. M., Godinho, J. W. L. S., Ferreira, T. T. D., Coutinho, D. F., Neiva, V. A., Neiva Neto, R. R., Bastos, W. M. 2021. Toxicidade de plantas de uso medicinal: desmitificando o “se natural, não faz mal”. In: *Trajetória e pesquisa nas ciências farmacêuticas*. 1 ed. Ponta Grossa: Atena Editora, 1, 11 - 32.

Silvis, J. C. I., Ruth, M. S., Klerx, F. J. H., Luning, A. P., 2017. Assessment of food fraud vulnerability in the spices chain: an explorative study. *FoodControl*. 81, 80- 87, 2017.

Simões, C. M. O., Schenkel, E. P., Gosmann, G., Mello, J. C. P., Mentz, L. A., Petrovick, P. R., 2017. *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. Editora Artmed, Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

Singh, N., Rao, A. S., Nandal, A., Kumar, S., Yadav, S. S., Ganaie, S. A., Narasimhan, B., 2021. Phytochemical and pharmacological review of *Cinnamomum verum* J. Presl-a versatile spice used in food and nutrition. *Food Chemistry*. 338, 127773.

Singh, R., Koppikar, S. J., Paul, P., Gilda, S., Paradkar, A. R., Kaul-Ghanekar, R., 2009. Comparative analysis of cytotoxic effect of aqueous cinnamon extract from *Cinnamomum zeylanicum* bark with commercial cinnamaldehyde on various cell lines. *Pharmaceutical biology*. 47(12), 1174-1179.

Skalli, S., Hassikou, R., Arahou, M., 2019. An ethnobotanical survey of medicinal plants used for diabetes treatment in Rabat, Morocco. *Heliyon*. 5(3), e01421.

Sowa, P., Marcinčáková, D., Mišek, M., Sidor, E., Legáth, J., Džugan, M., 2020. Analysis of cytotoxicity of selected Asteraceae plant extracts in real time, their antioxidant properties and polyphenolic profile. *Molecules*, 25(23), 5517.

Trivedi, H. M., Gittins, E. K., 2012. Oral compositions containing extracts of *Zizyphus joazeiro* and related methods. US2012237455A1. https://ip.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?FT=D&date=20120920&DB=&locale=pt_LP&CC=US&NR=2012237455A1&KC=A1&ND=4(accessed 13 October 2022).

Tropicos. Missouri Botanical Garden., 2022. <https://www.tropicos.org/name/17800682/>(accessed 13 October 2022).

Tzortzakis, N. G., 2009. Impact of cinnamon oil-enrichment on microbial spoilage of fresh produce. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 10(1), 97-102.

Vila-Nova, N. S., Morais, S. M., Falcão, M. J., Bevilaqua, C. M. L., Rondon, F. C. M., Wilson, M. E., Vieiras, I. G. P., Andrade, H. F., 2012. Leishmanicidal and cholinesterase inhibiting activities of phenolic compounds of *Dimorphandra gardneriana* and *Platymiscium floribundum*, native plants from Caatinga biome. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 32, 1164-1168.

Vinitha, M., Ballal, M., 2008. *In vitro* anticandidal activity of *Cinnamomum verum*. *J. Med. Sci.* 8(4), 425-428.

CAPÍTULO II

Atividade leishmanicida de extratos padronizados de *Cinnamomum verum* J. S. Presl (Lauraceae)

Artigo a ser submetido ao **Phytochemistry Letters**

(ISSN: 1874-3900)

Fator de impacto: 1.873

Qualis Medicina I: B2

**Atividade leishmanicida de extratos padronizados de *Cinnamomum verum* J. S. Presl
(Lauraceae)**

Pollyanna Melo Kzam^{1*}; Luana Caroline Santos Pinheiro²; Jéssyca Wan Lume da Silva Godinho¹; Ana Catharinny da Silva de Oliveira¹; Lucilene Amorim Silva²; Denise Fernandes Coutinho¹; Flavia Maria Mendonça do Amaral¹

¹Laboratório de Fitoterapia e Biotecnologia em Saúde, Universidade Federal do Maranhão, Campus do Bacanga, 1966, 65080-805, São Luís, Maranhão, Brasil.

²Laboratório de Patologia e Imunoparasitologia, Universidade Federal do Maranhão, Campus do Bacanga, 1966, 65080-805, São Luís, Maranhão, Brasil.

*Correspondência para o autor: Pollyanna Melo Kzam, e-mail: pollyannakzam@hotmail.com

RESUMO

As leishmanioses são doenças negligenciadas que afetam à saúde pública mundial, com altas taxas de prevalência e comprovada resistência dos parasitos aos esquemas terapêuticos, tornando necessária a pesquisa de novos fármacos. Nesse sentido, os recursos naturais, especialmente de origem vegetal, têm contribuição efetiva na obtenção de novos bioativos; exigindo o desenvolvimento dos estudos de validação das espécies, com destaque a padronização dos extratos vegetais; com ênfase as de amplo uso popular. Assim, esse trabalho objetiva realizar estudo de padronização de extratos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl. (Lauraceae) (canela), espécie de larga ocorrência no Brasil, amplo e diversificado emprego na prática popular, com destaque aos efeitos leishmanicidas; fundamentado em ensaios químicos, físico-químicos e biológicos (atividade leishmanicida e citotoxicidade *in vitro*). As folhas de *Cinnamomum verum* foram coletadas em habitat natural em São Luís, Maranhão, Brasil; submetidas a identificação botânica, secagem, moagem e extração em etanol a 70%, por planejamento fatorial (2^3). Foram empregadas como variáveis independentes: procedimentos extrativos (maceração com ultrassom-MU, extração em aparelho de Soxhlet-S e percolação-P) e relação de hidromódulo (1:6, 1:8 e 1:10); e como variáveis dependentes: rendimento, teor de polifenóis totais, teor de flavonoides e atividade antioxidante (DPPH). Adicionalmente, foram selecionados os 02 (dois) extratos com resultados mais expressivos para análise por Cromatografia Líquida acoplada à Arranjo de Diodos, Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas, análise *in vitro* contra formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania infantum* e ensaio de citotoxicidade em células RAW 264.7. O extrato P 1:10 apresentou melhor rendimento (21,19%); teores de polifenóis ($257,947 \pm 0,388$ mg EAG/g), flavonoides ($83,760 \pm 0,053$ mg EQ/g) e atividade antioxidante ($2,27 \pm 0,19$ µg/mL) apresentaram resultados mais expressivos em MU 1:6, S 1:10 e P 1:8, respectivamente. Os extratos S 1:10 e P 1:8 foram ativos contra formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania infantum* com resultados mais expressivos para o extrato P 1:8, nos tempos de 48 horas; mas apresentaram toxicidade moderada (IS <10) em macrófagos peritoneais (RAW 264.7) com diferenças significativas entre os extratos S 1:10 e P 1:8. Nos dois extratos foram identificados os compostos fenólicos: trímero de proantocianidinas tipo A, puerarina, rutina, epigallocatequina galato, isômero de epigallocatequina galato e kaempferol-3-ramnosídeo-7-ramnosídeo. Diante desses

resultados, pode-se inferir que o procedimento extrativo e relação de hidromódulo interferem na obtenção dos extrativos das folhas de canela, comprovado pelos melhores resultados dos extratos obtidos em aparelho de *Soxhlet* no hidromódulo 1:10 e percolação no hidromódulo 1:8, permitindo assim, a padronização da espécie; evidenciando, ainda, potencial leishmanicida, o que deve estimular continuidade dos estudos.

Palavras-chave: canela; leishmaniose; validação; extratos vegetais; compostos fenólicos; antioxidante.

INTRODUÇÃO

Leishmanioses são doenças infecto-parasitárias não contagiosas transmitidas por espécies de mosquitos *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi*, pertencentes à subfamília Flebotomíneos, que disseminam a doença ao homem durante repasto sanguíneo das fêmeas infectadas (Chaves et al., 2022). São causadas por protozoários de diferentes espécies do gênero *Leishmania* spp., possuindo capacidade de invadir e reproduzir-se dentro das células do sistema imunológico do hospedeiro (Holanda et al., 2018; Wyrepkowski et al., 2020). Baseado nos principais sintomas clínicos, essas doenças podem ser classificadas, de forma geral, em: Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) e Leishmaniose Visceral (LV) (Ferreira, 2019).

A LTA é caracterizada pela manifestação de lesões cutâneas, mucosas e na sua forma mais rara, chamada de leishmaniose cutânea difusa, pápulas, tubérculos, nódulos, placas e infiltração, sem acometer as mucosas; essas lesões são responsáveis pelo desenvolvimento de deformidades, o que desencadeia estigma social e sofrimento nos pacientes. No Brasil, os principais agentes são: *Leishmania braziliensis*, *Leishmania amazonensis* e *Leishmania guyanensis* (Gomes e Ferreira, 2022). A LV é uma doença sistêmica, predominando sintomas como: febre intermitente, fraqueza, palidez, esplenomegalia e hepatomegalia; considerada o tipo mais grave da doença, podendo levar a óbito até 90% dos casos quando não tratada (Cavalcante et al., 2022); sendo causada por parasitos do complexo *Leishmania donovani*, entre eles *Leishmania infantum*, espécie causadora da doença no Brasil (Chaves et al., 2022).

A LV é considerada pela Organização Mundial da Saúde uma das seis maiores endemias do planeta, com cerca de 500 mil novos casos humanos por ano, sendo os países mais afetados Bangladesh, Brasil, Índia, Etiópia, Quênia, Nepal e Sudão (Ferreira, 2019). Da mesma forma, a LTA constitui problema de saúde pública em 98 países, distribuídos nas Américas, Europa, África e Ásia. Nas Américas, em 2018, foram notificados mais de 46 mil

novos casos da LTA; sendo no Brasil a maior concentração de casos, com cerca de 35% (Wyrepkowski et al., 2020).

O tratamento das doenças é feito à base de antimoniais pentavalentes, anfotericina B e pentamidinas, os quais são de custo elevado, difícil administração e podem levar a resistência dos parasitos (Wyrepkowski et al., 2020); com evidências de eventos adversos tais como: mialgia e artralgia, arritmia cardíaca, cefaleia, náusea, vômito, dor abdominal, dor e edema no local de aplicação do medicamento (Holanda et al., 2018).

A classificação das leishmanioses como doenças negligenciadas, logo com insuficiente atenção das agendas internacionais, com indicadores inaceitáveis e investimentos reduzidos em pesquisas, produção de medicamentos e controle (Oliveira, 2018); bem como a inexistência de vacina e comprovada resistência dos parasitos a terapêutica convencional, devem estimular a Pesquisa & Desenvolvimento (P & D) de novas alternativas e/ou complementos terapêuticos (Leite et al., 2017).

A transformação de uma planta em medicamento, logo um produto tecnicamente elaborado, implica a utilização de operações de transformação tecnológica, fundamentadas nos estudos de validação, devendo assegurar a preservação da integridade química e farmacológica do vegetal, garantindo a constância da ação biológica, segurança e qualidade para utilização (Brito et al., 2016; Simões et al., 2017; Amaral et al., 2021).

Como as espécies vegetais apresentam composição química complexa, com vários componentes ativos envolvidos na resposta biológica, os quais sofrem influência de diferentes fatores (Gobbo-Neto; Lopes, 2007; Kunle et al., 2012), a garantia da integridade desses constituintes é um desafio, justificando a necessidade inerente dos estudos de validação priorizarem o desenvolvimento dos estudos de padronização do processamento do material vegetal alvo da investigação e consequente desenvolvimento tecnológico do bioproduto, com ênfase nos estudos de espécies vegetais preferencialmente de larga ocorrência, fácil cultivo e amplo uso popular (Lopes et al., 2020).

Nesse sentido, esse trabalho objetiva desenvolver estudo de padronização dos extratos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl. (Lauraceae), nome vernacular: canela, espécie de grande ocorrência em regiões tropicais e subtropicais do mundo, incluindo o litoral nordestino brasileiro, especialmente no estado do Maranhão, com amplo e diversificado uso popular, incluindo atividade leishmanicida; visando contribuição efetiva nos estudos de

validação da espécie, na perspectiva de Pesquisa e Desenvolvimento de novos bioprodutos como alternativa a leishmaniose.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e identificação botânica

Folhas de *Cinnamomum verum* foram obtidas por coleta manual no período de março de 2019, em área de cultivo, no Horto “Berta Langes de Morretes”, Campus Dom Delgado no Bacanga, na cidade de São Luís (Latitude: -2.53073, Longitude: -44.3068 2° 31' 51" Sul, 44° 18' 24" Oeste), estado do Maranhão, Brasil; segundo as determinações estabelecidas na literatura especializada (Peixoto e Maia, 2013). A identificação botânica foi realizada no herbário Herbário do Maranhão (MAR), da Universidade Federal do Maranhão sob nº 12494.

Obtenção dos extratos

O material vegetal foi submetido a secagem em estufa com circulação de ar (temperatura média de 38°C); seguido de trituração em moinho de facas, para obtenção de pó moderadamente grosso (250 a 710 µm) (Farmacopeia Brasileira, 2019). O material seco e moído foi submetido a procedimentos extrativos a frio (maceração com ultrassom e percolação) e a quente (extração por *Soxhlet*), com etanol a 70%, por período médio de 02 (dois) dias para percolação, 01 (um) dia para extração por *Soxhlet* e 01 (um) dia para maceração com ultrassom, utilizando 01 (um) ciclo de 30 minutos. Nesta etapa de estudo foram definidas as variáveis dos hidromódulos, as relações de droga/solvente determinadas em função da maceração; que foram mantidas constantes nas demais operações extrativas. Os extratos obtidos foram codificados em: MU 1:6 (maceração com ultrassom em hidromódulo 1: 6), MU 1:8 (maceração com ultrassom em hidromódulo 1: 8), MU 1:10 (maceração com ultrassom em hidromódulo 1: 10), S 1: 6 (extração em aparelho de *Soxhlet* em hidromódulo 1:6), S 1:8 (extração em aparelho de *Soxhlet* em hidromódulo 1:8), S 1:10 (extração em aparelho de *Soxhlet* em hidromódulo 1:10), P 1:6 (percolação em hidromódulo 1:6), P 1:8 (percolação em hidromódulo 1:8) e P 1:10 (percolação em hidromódulo 1:10).

Após término das extrações, as soluções foram filtradas, com parte do filtrado concentrado em evaporador rotativo, e o restante acondicionado em frascos apropriados e mantidas em refrigeração até a realização dos ensaios (Barros Neto et al., 1995; Noriega et al., 2005; Matos, 2009; Simões et al., 2017; Farmacopeia Brasileira, 2019).

Desenho experimental

Os ensaios de caracterização química e biológicos *in vitro* foram realizados a partir de planejamento fatorial. Para avaliar a influência de variáveis na extração, foram considerados 02 (dois) fatores: processo de extração em 03 (três) níveis (maceração com ultrassom, percolação e extração em aparelho de *Soxhlet*) e relação de hidromódulo (droga/solvente) em 03 (três) níveis (1:6, 1:8 e 1:10). Como parâmetros de análise (variáveis dependentes) foram empregados: composição química (rendimento, teor de polifenóis totais, teor de flavonoides) e atividade antioxidante. Adicionalmente, fundamentado na análise das variáveis dependentes anteriormente citadas teores fitoquímicos (polifenóis totais e flavonoides) e atividade antioxidante foram selecionados os 02 (dois) extratos com resultados mais expressivos para análise por Cromatografia Líquida acoplada à Arranjo de Diodos, Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas, análise leishmanicida *in vitro* contra formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania infantum* e ensaio de citotoxicidade *in vitro* em células normais de macrófagos RAW 264.7.

Screening fitoquímico

Os extratos das folhas de *Cinnamomum verum* obtidos por planejamento fatorial foram submetidos a avaliação qualitativos e semi-quantitativos dos constituintes químicos (Matos, 2009).

Teor de polifenóis totais

Os extratos foram submetidos à avaliação quantitativa de polifenóis totais por meio de reagente de Folin-Ciocalteu e carbonato de sódio a 20%, por espectrofotometria (espectrofotômetro UV-Vis Lambda 35, Pekin Elmer) a 760 nm, após 2h de reação (Abreu et al., 2006); com resultados expressos como equivalente de ácido gálico (%), calculados a partir de curva padrão de ácido gálico (GA) (1 a 30 µg/mL), usada para obtenção da equação da reta.

Teor de flavonoides

As concentrações de flavonoides totais foram determinadas utilizando solução metanólica de AlCl₃ 5%, com leituras realizadas em espectrofotômetro a 425 nm; com resultados expressos em miligramas de equivalência a quercetina (QE) por grama de extrato seco (Abreu et al., 2006).

Avaliação da atividade antioxidante

Os extratos foram submetidos ao método fotolorimétrico *in vitro* utilizando o radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) segundo Brand-Willians et al. (1995) e Molyneux (2004), com modificações. As amostras foram diluídas em diferentes concentrações em etanol P.A (5 a 100 µg/mL), em seguida adicionados à solução metabólica de DPPH (40 µg/mL). Após 30 min de reação em temperatura ambiente ao abrigo da luz, a absorbância de cada solução foi medida em espectrofotômetro UV-VIS (Lambda 35, PerkinElmer) a 517nm. Padrões de ácido gálico, elágico e ascórbico foram usados como controle positivo, nas mesmas condições dos extratos. A percentagem de descoloração do radical DPPH foi obtida com a equação: Atividade antioxidante (%) = [(ADPPH – Aamostra) / ADPPH] x 100. Onde ADPPH é a absorbância do DPPH (controle negativo) e A amostra é a absorbância do radical na presença dos extratos ou dos padrões. Os resultados foram expressos como valores de CE₅₀ (concentração efetiva 50%), concentração do extrato que causa a perda de 50% da atividade do DPPH.

Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD)

Foi utilizado o cromatógrafo líquido de alta eficiência modelo Shimadzu (Shimadzu® Corp., Quioto, Japão), constituído por um módulo de injeção de solvente com uma bomba quaternária (LC-20AT), detector DAD (SPD-M20A) e da gaiseficador de membrana (DGU-20As). A coluna utilizada foi Luna 5 µm C18 100 A, Phenomenex® (150 µm x 4,6 µm). Os solventes de eluição utilizados foram A (água + 0.01% de ácido fórmico) e B (metanol + 0,01% de ácido fórmico). As amostras dos extratos selecionados para esse ensaio foram eluídas de acordo com o seguinte gradiente: 5% a 100% de B em 0 a 25 min e 100% de B até 30 min. O fluxo foi de 1 mL/min, a temperatura ambiente. O volume de injeção da amostra foi de 10 µL. Os dados foram recolhidos e processados utilizando software LC Solution (Shimadzu®).

Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de massa com ionização por eletrospray (LC-ESI-IT-MS)

Os extratos selecionados foram analisados usando um sistema de cromatografia líquida Shimadzu® Prominence com duas bombas injetoras automáticas Shimadzu LC-30AD. Uma coluna C18 Phenomenex® Gemini (250 x 4,6 mm - 5 µm) foi usada nas análises. A

fases móveis utilizadas foram: A- água ultrapura acidificada (0,01% de ácido fórmico) e B- acetonitrila também acidificada (0,01% de ácido fórmico), a uma taxa de fluxo de 1,0 mL/min, com o gradiente de acetonitrila: 5% a 100% de B em 0 a 25min, de 100% até 100% de B em 25 a 30min e de 100% a 5% de B de 30 a 35 min. O volume de injeção foi de 10,0 µL. O LC foi acoplado a um espectrômetro de massa Amazon Speed ETD- Bruker®, equipado com ionização por eletrospray (ESI) e um analisador do tipo ion-trap (IT) em modo negativo, nas seguintes condições: voltagem capilar de 4,5 kV, capilar temperatura 325°C, fluxo de gás de arrastamento (N₂) 7 L/min, pressão do nebulizador de nitrogênio a 29 psi. O intervalo de aquisição foi m/z 100–1500, com dois ou mais eventos. Os compostos foram identificados com base na fragmentação da massa de íons moleculares.

Avaliação *in vitro* do potencial leishmanicida

Cultivo do parasito e manutenção das culturas

As formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (MHOM/BR/1987/BA-125) e *Leishmania infantum* (MCAN/BR/97/P-142) foram cultivadas em meio RPMI suplementado com Soro Fetal Bovino 10% à temperatura ambiente (25°C); antes de cada experimento foi observado motilidade flagelar dos parasitos em microscópio ótico de luz comum (Bezerra et al., 2006; Reis et al., 2012).

Atividade leishmanicida

A atividade leishmanicida dos extratos de *Cinnamomum verum* selecionados foi avaliada pela mortalidade das promastigotas *in vitro*. Para o ensaio foram adicionados 100 µL de meio RPMI em placas de 96 poços, nas quais foram diluídos os extratos selecionados nas concentrações de 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,25 µg/mL e 15,75 µg/mL. Cada poço recebeu 10 µL de suspensão de formas promastigotas de *Leishmania amazonenses* e *Leishmania infantum*, separadamente, contendo 5×10^6 células/mL. Como controle, foram utilizadas formas promastigotas cultivadas somente em meio RPMI 1640 suplementado. Após os tempos de 24h, 48h e 72h de incubação de cada placa em estufa de demanda biológica de oxigênio (BOD) a 26°C, respectivamente, foi realizada a contagem do número de promastigotas viáveis em câmara de Neubauer, sendo calculado o percentual de inibição do crescimento das promastigotas empregado como referência o número de promastigotas viáveis nos poços controle (Bezerra et al., 2006; Reis et al., 2012).

Análise da citotoxicidade em macrófagos

Macrófagos de linhagem murina RAW 264.7 ajustados na concentração de 2×10^5 células/poço, ressuspensos em meio RPMI, foram adicionados em placas de 96 poços e incubados em estufa de CO₂ a 37° C por 2 h. Após esse período, o meio RPMI foi removido e adicionado concentrações variadas dos extratos (500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,25 µg/mL, 15,125 µg/mL), com 03 (três) poços contendo apenas RAW e 100 µL de meio RPMI separados para controle negativo, novamente as placas foram incubadas por 48h. Ao final do período, o sobrenadante foi retirado e adicionado a mesma quantidade de RPMI mais 10 µL de MTT (5 mg/mL) e incubados novamente por 3 h nas mesmas condições de cultivo. Após a incubação, a placa foi centrifugada 1.200 rpm por 10 min a 4 ° C, depois, o sobrenadante foi retirado e adicionado 100 µL de DMSO em cada poço, para solubilização dos cristais derivados da redução do MTT. Com 10 minutos de reação, a absorbância foi determinada em espectrofotômetro em comprimento de onda de 540 nm (Ribeiro-Dias et al., 1999).

Análises estatísticas

Todos os testes foram realizados em triplicata. Na determinação de teor de polifenóis (mgEAG/g), teor de flavonoides (mgEQ/g) e atividade antioxidante (concentração efetiva 50%: CE50) os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão ($X \pm SD$) ou média \pm erro padrão ($X \pm SEM$). Os resultados da atividade leishmanicida *in vitro* expressos em concentração inibitória que mata 50% das células (IC₅₀) e a concentração citotóxica (CC₅₀) em células RAW foram calculados por regressão linear. O índice de seletividade (SI) foi determinado como a razão entre CC₅₀ de macrófagos e CI₅₀ das formas promastigotas incubadas por 48 horas. Todos os dados foram plotados e analisados no Programa *GraphPad Prism* versão 8.0, sendo empregados: análise de variância (ANOVA) *One-Way*, seguida do teste de Tukey e, também, o teste F para comparação das variâncias, onde os valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes.

O planejamento fatorial para o estudo de padronização dos extratos de *Cinnamomum verum* foi fundamentado em Barros Neto et al. (1995) com ensaios realizados com variação de todas as variáveis empregadas na parte experimental ao mesmo tempo no intuito tanto de otimizá-lo, quanto de fornecer informações a respeito da influência que cada uma das variáveis independentes exerce sobre o processo isoladamente e da influência de suas interações (Noriega et al., 2005).

RESULTADOS

A tabela 1 fornece resultados sobre os efeitos das variáveis e os valores do teste F, sendo possível verificar que os fatores (variáveis independentes) foram significativos. O *p*-valor pode variar de 0 a 1, simbolizando probabilidade ou chance do efeito observado em cada variável resposta ser devido aos fatores que estão sendo investigados, e não aos erros randômicos que causam flutuações normais nos resultados. Para que os efeitos observados sejam significativos estatisticamente, o *p*-valor deve ser menor ou igual a 0,05; assumindo como margem de segurança 5% de chances de erro.

Tabela 1. Teste ANOVA de efeito fixo para o teor de polifenóis totais, flavonoides, CE50 do radical DPPH e IC50.

POLIFENÓIS TOTAIS	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	Estat. F	P-valor
Método extrativo	2	4143,725252	2071,862626	36,4721858	4,6609E-07
Hidromódulo	2	140,6384519	70,31922593	1,237869655	0,313542359
Método extrativo : Hidromódulo	4	8705,411081	2176,35277	38,31158573	1,41808E-08
Resíduos	18	1022,519667	56,80664815		
FLAVONOIDES					
Método extrativo	2	1697,018719	848,5093593	781,6333858	3,20927E-18
Hidromódulo	2	26,74356296	13,37178148	12,31787336	0,000426077
Método extrativo : Hidromódulo	4	2431,651859	607,9129648	559,999797	1,29066E-18
Resíduos	18	19,54006667	1,085559259		
CE50 (DPPH)					
Método extrativo	2	0,136762963	0,068381481	3,855293381	0,040405888
Hidromódulo	2	0,138718519	0,069359259	3,910419712	0,03887938
Método extrativo : Hidromódulo	4	0,856148148	0,214037037	12,06723742	6,08023E-05
Resíduos	18	0,319266667	0,017737037		

Na avaliação das variáveis dependentes empregadas nesse estudo obtivemos resultados que comprovam influência das variáveis independentes nos extratos hidroetanólicos de *Cinnamomum verum*.

A análise qualitativa e semi-quantitativa dos constituintes químicos de todos os extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* obtidos por planejamento fatorial, demonstraram resultados positivos para alcaloides, compostos fenólicos, saponinas, taninos condensados, esteroides, flavononóis, catequinas e flavononas; com resultados negativos para cumarinas, taninos hidrolisáveis, triterpenos, antocianinas, antocianidinas, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas e leucoantocianidinas (Tabela 2). Mas vale enfatizar que há diferenças

nas concentrações semi-qualitativas dos compostos fenólicos, saponinas, taninos condensados, esteroides e catequinas entre os extratos analisados.

Tabela 2. Caracterização qualitativa e semi-quantitativa dos constituintes químicos nos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl obtidos por maceração com ultrassom (MU), aparelho de Soxhlet (S) e percolação (P) nos hidromódulos 1:6, 1:8 e 1:10.

METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	MÉTODO DE EXTRAÇÃO/RELAÇÃO DE HIDROMÓDULO								
	MU 1:6	MU 1:8	MU 1:10	S 1:6	S 1:8	S 1:10	P 1:6	P 1:8	P 1:10
alcaloides	+	+	+	+	+	+	+	+	+
compostos fenólicos	+	+	+	+	+	+	++	++	++
cumarinas	-	-	-	-	-	-	-	-	-
saponinas	+++	++	++	+++	++	++	+++	++	++
taninos condensados	+	+	+	+	+	+	++	++	++
taninos hidrolisáveis	-	-	-	-	-	-	-	-	-
esteroides	+	+	+	+++	+++	+++	+	+	+
triterpenos	-	-	-	-	-	-	-	-	-
antocianinas e antocianidinas	-	-	-	-	-	-	-	-	-
flavonas, flavonóis e xantonas	-	-	-	-	-	-	-	-	-
chalconas	-	-	-	-	-	-	-	-	-
flavononois	++	++	++	++	++	++	++	++	++
leucoantocianidinas	-	-	-	-	-	-	-	-	-
catequinas	+	+	+	+++	++	++	+++	++	++
flavononas	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Resultados expressos como média dos ensaios de avaliação qualitativa e semi-quantitativa de constituintes químicos realizados em triplicata nos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* obtidos por diferentes procedimentos extrativos e relação de hidromódulo. +++ resultado fortemente positivo; ++ resultado moderadamente positivo; + resultado fracamente positivo; - resultado negativo.

O extrato de *Cinnamomum verum* obtido por percolação no hidromódulo 1:10 (P 1:10) apresentou melhor rendimento (21,19%). Teores mais significativos de fenóis e flavonoides foram evidenciados em: a) extrato MU 1:6 ($257,947 \pm 0,388$ mg EAG/g) para fenóis; b) S 1:10 ($83,760 \pm 0,053$ mg EQ/g) para flavonoides (Tabela 3).

Com base no escore de Melo et al. (2010), todos os extratos de *Cinnamomum verum* demonstram boa atividade antioxidante, com resultados mais significativos em S 1:10 (CE_{50} : $2,63 \pm 0,05$) e P 1:8 (CE_{50} : $2,27 \pm 0,19$) (Tabela 3).

Tabela 3. Rendimento (%), Polifenóis totais (mgGA)/g, flavonoides (mgQE)/g e atividade antioxidante por DDPH (CE_{50}) nos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl obtidos por maceração com ultrassom (MU), aparelho de Soxhlet (S) e percolação (P) nos hidromódulos 1:6, 1:8 e

EXTRATO	RENDIMENTO (%)	POLIFENÓIS TOTAIS (mgGA)/g	FLAVONOIDES (mgQE)/g	DPPH (CE_{50}) (μ g/mL)
MU 1:6	13,07 ^a	$257,947 \pm 0,388$	$55,456 \pm 0,154^c$	$2,78 \pm 0,13^d$
MU 1:8	14,76 ^a	$222,748 \pm 6,581^b$	$44,374 \pm 1,742^c$	$2,97 \pm 0,31^d$
MU 1:10	14,36 ^a	$195,776 \pm 5,999^b$	$53,275 \pm 1,701^c$	$2,70 \pm 0,01^d$
S 1:6	8,47 ^a	$173,130 \pm 6,674^b$	$68,807 \pm 0,539^c$	$2,98 \pm 0,01^d$
S 1:8	14,31 ^a	$207,990 \pm 7,339^b$	$58,615 \pm 1,211^c$	$2,75 \pm 0,02^d$
S 1:10	13,45 ^a	$204,173 \pm 18,173^b$	$83,760 \pm 0,053$	$2,63 \pm 0,05$
P 1:6	12,82 ^a	$201,204 \pm 0,777^b$	$56,880 \pm 0,908^c$	$2,76 \pm 0,05^d$
P 1:8	15,16 ^a	$210,110 \pm 2,072^b$	$78,598 \pm 0,582^c$	$2,27 \pm 0,19$
P 1:10	21,19	$224,020 \pm 1,166^b$	$50,649 \pm 0,770^c$	$2,92 \pm 0,01^d$

^a indica diferença significativa em relação à P 1:10 (rendimento)($p \leq 0,05$), ANOVA seguido de Tukey- Kramer; ^b indica diferenças significativas em relação à MU 1:6 (polifenóis totais) ($p \leq 0,05$), ANOVA seguido de Tukey- Kramer; ^c indica diferenças significativas em relação à S 1:10 (flavonoides) ($p \leq 0,05$), ANOVA seguido de Tukey- Kramer; ^d indica diferenças significativas em relação à P 1:8 (DDPH) ($p \leq 0,05$), ANOVA seguido de Tukey-Kramer. Ácido gálico (controle positivo): CE_{50} : 1,5 μ g/mL.

Fundamentado nos resultados das variáveis dependentes teores de fitoquímicos (polifenóis totais e flavonoides) e atividade antioxidante, os extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* S 1:10 e P 1:8 foram submetidos a CLAE-DAD (Figura 1), CLAE-MS (Tabela 4 e figura 2), avaliação da atividade leishmanicida *in vitro* em

promastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania infantum* (Tabela 5) e citotoxicidade em macrófagos (Tabela 6).

Os cromatogramas obtidos por CLAE-DAD dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* S 1:10 e P 1:8, demonstram perfil cromatográfico semelhante nas amostras em estudo, com picos predominantes nos tempos de retenção de 11 a 27 minutos. (Figura 1).

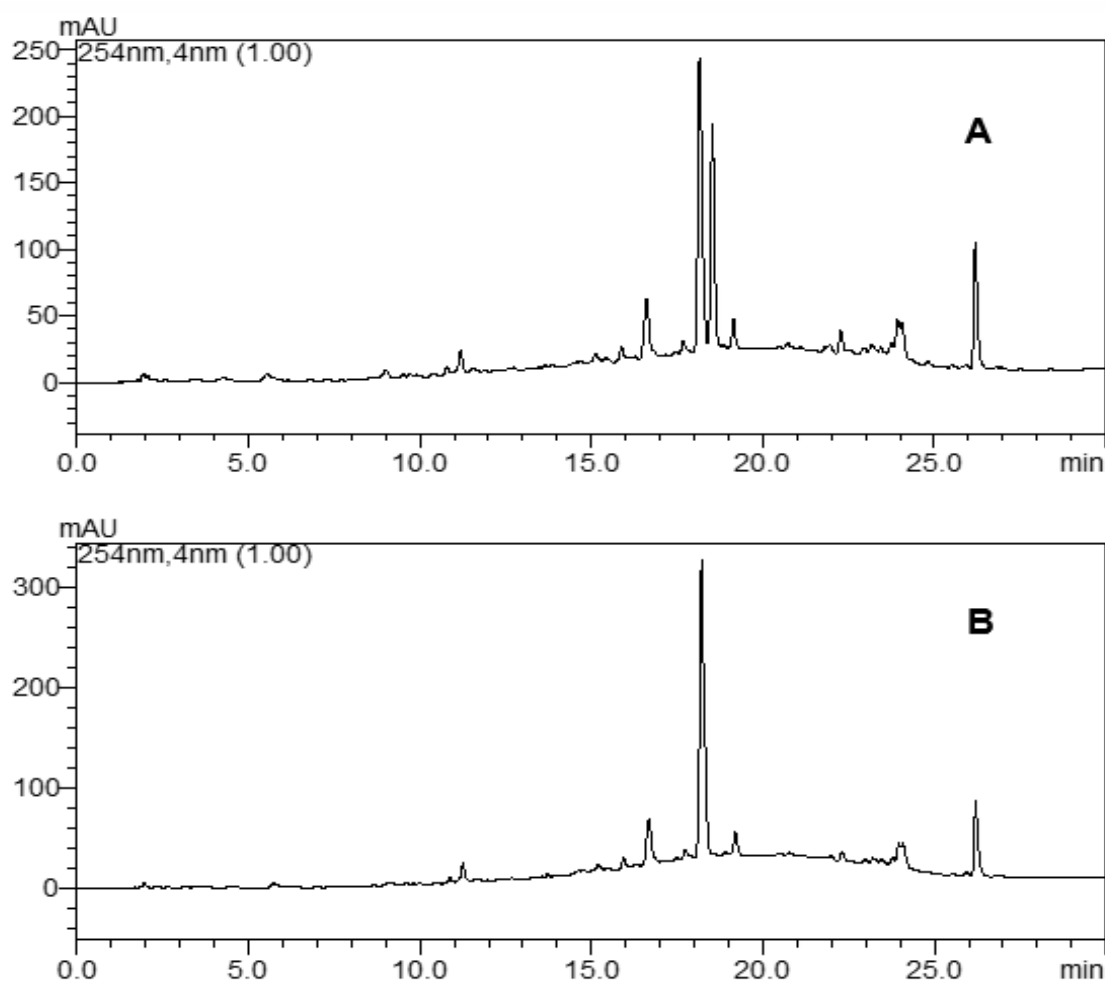


Figura 1. Cromatogramas dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl obtido em aparelho de *Soxhlet* na relação de hidromódulo de 1:10(A) e percolação na relação de hidromódulo de 1:8 (B) analisados por CLAE-DAD no comprimento de onda (λ) de 254 nm. Com a fase móvel de água ultrapura acidificada (0,01% de ácido fórmico) e (metanol + 0,01% de ácido fórmico), a uma taxa de fluxo de 1,0 mL / min.

O perfil dos compostos identificados por espectrometria de massa com ionização *electrospray* (ESI) no modo negativo dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* S 1:10 e P 1:8 estão descritos na tabela 4 e os cromatogramas de caracterização de

compostos fenólicos desses extratos estão demonstrados na figura 2; evidenciando semelhança entre os extratos analisados.

Com base na desreplificação dos espectros de massas obtidos para cada pico foi possível identificar 06 (seis) compostos em ambos os extratos. O composto (1) de razão massa carga (m/z) 863 corresponde ao trímero de *proantocianidina tipo A*; íon $[M-H]^-$ m/z 415 (*composto 2*): puerarina, íon $[M-H]^-$ m/z 457 (*composto 3*): epigallocatequina galato, íon $[M-H]^-$ m/z 609 (*composto 4*): rutina, íon $[M-H]^-$ m/z 457 (*composto 5*): isômero de epigallocatequina galato e íon $[M-H]^-$ m/z 577 (*composto 6*): Kaempferol-3-ramnosídeo-7-ramnosídeo.

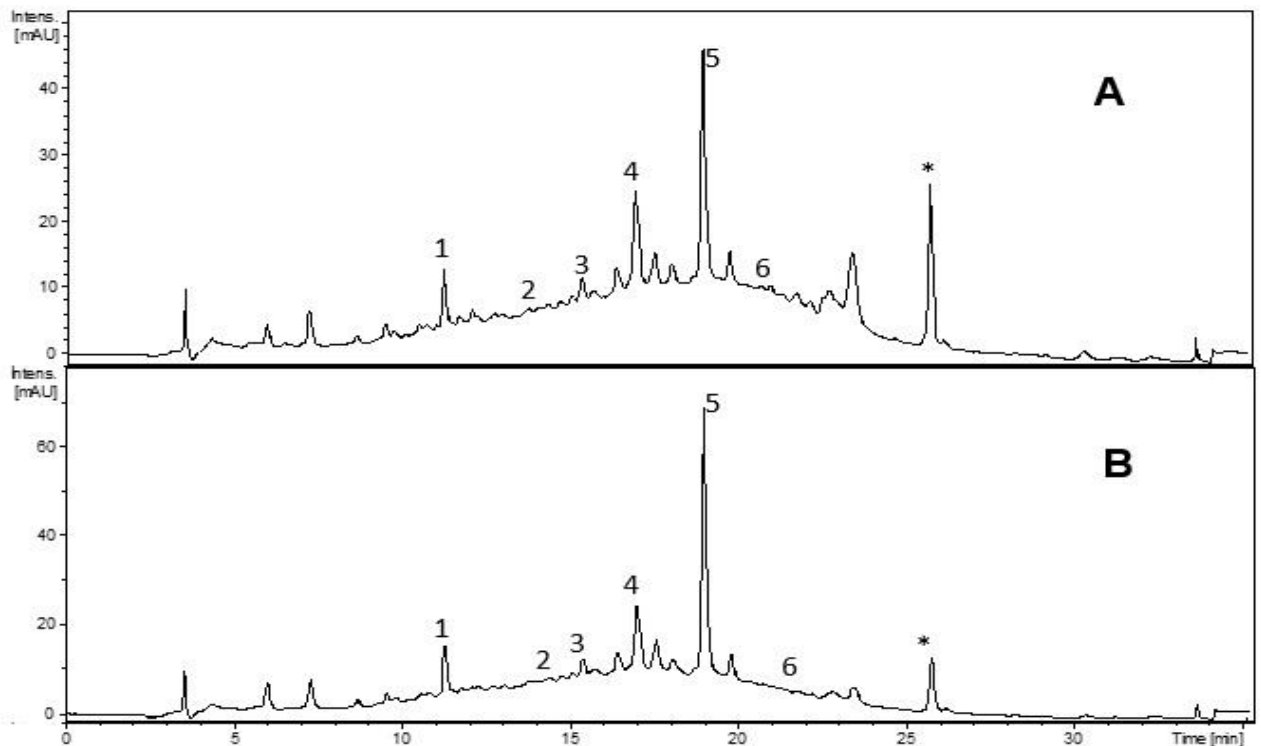


Figura 2. Cromatogramas de caracterização de compostos fenólicos dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl obtidos em aparelho de Soxhlet na relação de hidromódulo de 1:10 (A) e por percolação na relação de hidromódulo de 1:8 (B), em 281 nm obtidos por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa com ionização por "electrospray" (LC-ESI-IT-MS) no modo negativo de compostos fenólicos dos extratos S 1:10 (A) e P 1:8 (B) das folhas de *Cinnamomum verum*. * indica composto não identificado. Compostos identificados: pico 1 - trímero de proantocianidina tipo A, pico 2 - puerarina, pico 3 - epigallocatequina galato, pico 4 - rutina, pico 5 - epigallocatequina galato isômero, pico 6 - kaempferol-3-ramnosídeo-7-ramnosídeo.

Tabela 4. Perfil de compostos fenólicos identificados por Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de massa com ionização por "electrospray" (LC-ESI-IT-MS) no modo negativo dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl obtidos em aparelho de *Soxhlet* (S) na relação de hidromódulo de 1:10 e por percolação (P) na relação de hidromódulo de 1:8.

EXTRATO	NÚMERO DO PICO	RT (min)	FÓRMULA MOLECULAR	MS/MS	[M-H] ⁻ (m/z)	COMPOSTO QUÍMICO
S 1:10	1	11,2	C ₄₅ H ₃₆ O ₁₈	863;711;559;540	863	Trímero de proantocianidina tipo A
	2	13,9	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	831;415;269;161	415	Puerarina
	3	15,1	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₁	169	457	Epigallocatequina galato
	4	16,9	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609;301;179	609	Rutina
	5	18,9	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₁	553;535;421;289	457	Epigallocatequina galato isômero
	6	20,9	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	577;457;343;285;257;169	577	Kaempferol-3-ramnosídeo-7-ramnosídeo
P 1:8	1	11,2	C ₄₅ H ₃₆ O ₁₈	863;711;559;540	863	Trímero de proantocianidina tipo A
	2	14,1	C ₂₁ H ₂₀ O ₉	831;415;269;161	415	Puerarina
	3	15,1	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₁	169	457	Epigallocatequina galato
	4	16,9	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609;301;179	609	Rutina
	5	18,9	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₁	553;535;421;289	457	Epigallocatequina galato isômero
	6	21,5	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	577;457;343;285;257;169	577	Kaempferol-3-ramnosídeo-7-ramnosídeo

RT: tempo de retenção; [M-H]⁻ íon molecular; MS: espectrometria de massa.

Na avaliação da atividade leishmanicida dos extratos das folhas de *Cinnamomum verum* (Tabela 5) constatou-se que o extrato P 1:8, no tempo de 48 horas, apresentou resultados mais expressivos na avaliação contras formas promastigotas de *Leishmania amazonenses* e *Leishmania infantum*, quantificando CI₅₀ de 15,97 µg/mL e 15,32 µg/mL, respectivamente. No entanto, observou-se diminuição da ação dos extratos nos tempos de 72 horas (*Leishmania amazonenses* e *Leishmania infantum*), com o aumento proliferativo das formas promastigotas e conseqüente aumento do valor de CI₅₀ em relação aos tempos de 48 h.

Tabela 5. Atividade *in vitro* dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl obtidos em aparelho de *Soxhlet* na relação de hidromódulo de 1:10 (S 1:10) e por percolação na relação de hidromódulo de 1:8 (P 1:8) contra formas promastigotas de *Leishmania amazonenses* e *Leishmania infantum*, expressos em valores de Concentração Inibitória CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$).

VALORES DE CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$) EM FORMAS PROMASTIGOTAS DE <i>Leishmania</i> spp.						
EXTRATO	<i>Leishmania amazonenses</i>			<i>Leishmania infantum</i>		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h
S 1:10	112,5A	21,12B	29,22C	61,78A	49,95B	54,57C
P 1:8	119,6a	15,97b	17,33Ic	107,2a	15,32B	28,89c
Pentamidina*	0,52x	0,68y	0,70z	0,62x	0,57y	0,68z

*indica fármaco de referência para tratamento da leishmaniose; letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre os extratos testados para mesma espécie ($p \leq 0,05$), ANOVA seguido de Tukey-Kramer; letras maiúsculas nas colunas indicam diferenças estatísticas entre valores de CI_{50} dos extratos e controle, dentro do mesmo tempo ($p \leq 0,05$), ANOVA seguido de Tukey-Kramer.

A citotoxicidade dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* S 1:10 e P 1:8 em macrófagos peritoneais (RAW 264.7) (Tabela 6) demonstrou toxicidade moderada (IS <10) para os macrófagos não infectados nos dois extratos, segundo escore de Dutra et al. (2019).

Tabela 6. Citotoxicidade (CC_{50} $\mu\text{g/mL}$) em macrófagos RAW e índice de seletividade dos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* J. S. Presl. obtidos em aparelho de *Soxhlet* na relação de hidromódulo de 1:10 (S1:10) e por percolação na relação de hidromódulo de 1:8 (P1:8) para as formas promastigotas de *Leishmania amazonenses* e *Leishmania infantum*.

EXTRATO	MACRÓFAGOS RAW 264.7 CC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	ÍNDICE DE SELETIVIDADE*	
		<i>Leishmania amazonensis</i>	<i>Leishmania infantum</i>
S 1:10	9,460a	0,44a	0,18a
P 1:8	6,667b	0,41b	0,43b

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$), ANOVA seguido de Tukey-Kramer. CC_{50} : concentração que produz 50 % de inibição de macrófagos peritoneais. * Índice de seletividade (IS) = valor de CC_{50} em mácrofagos/valor da CI_{50} das formas promastigotas de *Leishmania* spp. CI_{50} : concentração que produz 50 % de inibição das formas promastigotas de *Leishmania* spp incubadas por 48 horas.

DISCUSSÃO

O processo de transformação de uma planta em medicamento implica diversas etapas da pesquisa básica até o desenvolvimento tecnológico do bioproduto em escala industrial para disponibilizar ao mercado consumidor; etapas, essas que, em conjunto, caracterizam os estudos de validação, os quais representam a investigação científica das propriedades terapêuticas atribuídas às plantas de uso popular, para permitir emprego como medicamento em seres vivos. Nas diversas etapas da validação, merece destaque a padronização dos extratos vegetais, pois são as preparações mais frequentemente empregadas desde os ensaios pré-clínicos ao bioproduto final, os quais são responsáveis pela atividade biológica alvo de investigação (Simões et al., 2017; Hu et al., 2019; Lima et al., 2020; Lazzarotto-Figueiró et al., 2021).

Diversos questionamentos norteiam o delineamento experimental dos estudos de validação, iniciando com as dúvidas da seleção da espécie vegetal a ser alvo da investigação. Nesse sentido, há consenso que a seleção de espécies deve ser fundamentada na referência de amplo uso popular e larga ocorrência (Amaral et al., 2021).

Embora *Cinnamomum verum* represente espécie de grande ocorrência e amplo e diversificado uso popular, incluindo atividade leishmanicida, até o momento, não foram evidenciados estudos de certificação da eficácia e segurança, o que estimula esse estudo de validação da espécie com ênfase a padronização com extratos das folhas de *Cinnamomum verum* obtidos por diferentes procedimentos extrativos (maceração assistida por ultrassom, percolação e extração em aparelho de *Soxhlet*) e relações de hidromódulo (1:6, 1:8 e 1:10), para avaliação da influência dessas variáveis no rendimento, teor de polifenóis e flavonoides, atividade antioxidante, perfil cromatográfico, atividade leishmanicida e citotoxicidade *in vitro* (variáveis resposta).

Os extratos vegetais, resultado da dissolução dos constituintes bioativos de interesse de uma matriz vegetal complexa, são suscetíveis a diversas variáveis que podem influenciar na composição química e atividade terapêutica, tais como: granulometria do material vegetal, qualidade e quantidade de solvente, método extrativo, temperatura, tempo, tensão superficial e pH (Fonsêca, 2005; Piovesan, 2016; Bastos et al., 2017; Bajes et al., 2020).

Dentre os diversos métodos de extração, a maceração, percolação e extração em aparelho de *Soxhlet* são os mais frequentemente empregados, classificados em sistema aberto

ou fechado, frio ou quente, exaustivo ou não (Prista; Morgado, 1983; Oliveira et al., 2016; Simões et al., 2017).

Na maceração a matéria prima vegetal é acondicionada em recipiente fechado, em temperatura ambiente ou controlada, em contato íntimo e prolongado com solvente (horas ou dias), sob agitação ocasional e sem renovação do solvente (processo estático); representando método simples, prático e de baixo custo, mas com desvantagem de não levar ao esgotamento do material vegetal, além do uso excessivo de solventes orgânicos ter o potencial de gerar impacto ambiental e o maior tempo de extração poder levar a degradação do material (Guerra et al., 2016; Ismail et al., 2019).

Como variações da maceração convencional, tem: maceração dinâmica, maceração fracionada, remaceração, maceração em micro-ondas e maceração assistida pelo ultrassom. A maceração assistida pelo ultrassom (banho ultrassônico ou sonda) é reconhecida como mais eficiente, com maior produtividade, pela capacidade das ondas sonoras ocasionarem variação da pressão no solvente, com a formação e colapso de bolhas, ocorrendo o fenômeno da cavitação; favorecendo a extração pelo aumento da permeabilidade da parede celular e aumento da tensão mecânica das células (Nóbrega, 2012; Cardoso et al., 2017, Araújo; Santana, 2020; Silva et al., 2020).

A percolação, como processo dinâmico, ocorre com deslocamento do solvente pelo material vegetal, adequadamente acondicionado no percolador, com arrastamento dos fitoconstituintes de interesse pela passagem contínua do líquido extrator renovado, levando ao esgotamento da planta através do gotejamento lento do material. Com a cinética do procedimento, é considerado que a difusão seja mais rápida, portanto mais produtiva que a maceração (Sharapin et al., 2000; Navarro, 2005).

A extração em aparelho de *Soxhlet* é um método contínuo, a quente, em sistema fechado, empregado para extrair sólidos em quantidade reduzida de solventes voláteis, com emprego de utensílio adequado; onde em cada ciclo da operação, o material vegetal entra em contato com solvente renovado. A renovação do solvente e temperatura (promovendo aumento da solubilidade de fitoconstituintes, diminuição da viscosidade do solvente e aumento da velocidade de difusão) são fatores que podem favorecer a extração; mas a temperatura também representa desvantagem pelo risco de degradação de fitoconstituintes termossensíveis e, conseqüente, perda de integridade do material vegetal (Migliato et al., 2011; Noriega, 2012).

Em relação a variável solvente, dois fatores devem ser considerados: natureza e quantidade. O solvente deve ser selecionado pela semelhança com a natureza química dos bioativos de interesse, devendo ser o mais seletivo possível, para garantir extração das substâncias de interesse da matriz complexa e em quantidades adequadas; sendo, frequentemente, definido com base na semelhança de polaridade (Migliato et al., 2011; Nobrega, 2012). A quantidade do solvente a ser empregada na extração define o hidromódulo (relação droga: solvente), devendo ser utilizada quantidade adequada que garanta a otimização do processo, com base no gradiente de concentração no meio e rentabilidade (Noriega et al., 2005; Couto, 2012).

Com base no emprego dessas variáveis independentes e dependentes (variáveis resposta) empregadas no nosso estudo, foi possível comprovar que método extrativo e hidromódulo influenciaram na extração das folhas de *Cinnamomum verum*.

Dada a inexistência, até o momento, de estudos de padronização com *Cinnamomum verum*, optamos por conduzir a discussão dos resultados da influência das variáveis, com base em estudos na área realizados com outras espécies vegetais.

Variável rendimento

Embora maceração assistida por ultrassom e extração em *Soxhlet* sejam reconhecidas como procedimentos de maior produtividade, no nosso estudo, o extrato hidroetanólico de *Cinnamomum verum* obtido por percolação no hidromódulo 1:10, apresentou melhor rendimento (resíduo seco) (21,19%) (Tabela 3).

Cossetin (2016) em estudo com extrato hidroetanólico 70% das folhas de *Cinnamomum verum*, obtido por maceração, com renovação de solventes, por um período de 30 dias, obteve rendimento de 22,94%; o que, não aparenta discrepância de resultados quando comparado ao nosso estudo; alertando que tais autores trabalharam em tempo prolongado.

Empregando rendimento como variável resposta, estudo de padronização com extratos de *Eugenia florida* com variáveis independentes: procedimento extrativo (maceração estática, maceração dinâmica, maceração com ultrassom, percolação, extração em *Soxhlet*) e solvente (etanol, metanol, acetato de etila, clorofórmio, n-hexano), evidenciou melhor rendimento em percolação com metanol (Nóbrega, 2012).

Estudo de Silva (2018) de padronização dos extratos hidroalcolícos de *Hancornia speciosa* Gomes empregando como variáveis independentes: procedimento extrativo

(maceração, maceração com ultrassom, percolação e extração em aparelho de *Soxhlet*) e relação de hidromódulo (1:10 e 1:15), constatou que a extração em aparelho *Soxhlet* na relação de hidromódulo de 1:10 obteve o melhor rendimento.

Reconhecidamente a variável rendimento deve ser valorizada na extração na perspectiva de rentabilidade do processo, mas vale enfatizar que valores mais expressivos de rendimento, não necessariamente expressam um extrato de qualidade dada a possibilidade de representar extração de constituintes indesejáveis (Couto, 2012; Silva, 2018).

Variável composição química e atividade antioxidante

Com emprego da constituição química como variável resposta, os resultados do nosso estudo, evidenciaram: *a) screening* fitoquímico: as concentrações semi-qualitativas de alguns constituintes sofrem influência dos procedimentos extrativos e relações de hidromódulo, com resultados mais expressivos nos extratos S 1:6 e P 1:6 (Tabela 2); *b) teores* mais expressivos em MU 1:6 e S 1:10, para teor de fenóis e flavonoides, respectivamente (Tabela 3); com influência das duas variáveis independentes; *c) atividade antioxidante* com resultados mais expressivos de CE_{50} para os extratos P 1:8 e S 1:10, também evidenciando influência das duas variáveis independentes (Tabela 3).

Comparando nossos resultados ao perfil químico de outros estudos com a espécie, constatamos que Gomes et al. (2016), com extratos hexânicos, metanólicos e acetato de etila das folhas de *Cinnamomum verum*, demonstraram presença de açúcares redutores, fenóis, taninos, esteroides, triterpenóides, alcaloides, antraquinonas, saponinas espumídica e flavonoides. Cossetin (2016), com extrato das folhas de *Cinnamomum verum* (solvente: etanólico 70%, procedimento: maceração com renovação de solventes), revelou teor de polifenóis de 80,65 mg EAG/g, logo inferior ao nosso estudo; e semelhante teor de flavonoides (50,67mg EQ)/g). Diferenças qualitativas e quantitativas de fitoconstituintes podem ser explicadas pela qualidade da matéria prima vegetal, que sofre influência de sazonalidade, índice pluviométrico, ritmo circadiano, temperatura, altitude, idade e desenvolvimento da espécie, radiação ultravioleta, nutrientes, poluição atmosférica e ação de patógenos; e ainda, alterações em função das condições de processamento do material vegetal, com ênfase as variáveis da extração, relação de hidromódulo e métodos extrativos (Gobbo-Neto; Lopes, 2007; Simões et al., 2017; Silva, 2018).

A boa atividade antioxidante pode ser justificada pelos significativos teores de polifenóis e, principalmente, aos teores de flavonoides apresentados para esses extratos, visto que, compostos fenólicos são antioxidantes efetivos devido às suas propriedades sequestrantes de radicais livres e por quelar íons metálicos (Kandaswami e Middleton, 1994; Gallo, 2010).

Na avaliação de estudos de padronização de extratos vegetais, correlacionando as variáveis dependentes empregadas no nosso estudo (polifenóis, flavonoides e/ou atividade antioxidante) e independentes, destacamos:

a) polifenóis, flavonoides e atividade oxidante como variáveis resposta, comprovam a influência de diversas variáveis, tais como: carga de fármaco no extrator, relação solvente (etanol/água) e tempo de extração (Costa-Machado et al., 2012); procedimentos extrativos e hidromódulo (Trabulsi Filho et al., 2013); temperatura e tempo (Bassani et al., 2014); solvente (Karahhan et al., 2014; Hou et al.; 2016);

b) teores de polifenóis e flavonoides como variáveis respostas indicam influência de: solvente, calor e pressão na extração (Jose et al., 2015); temperatura e solvente (Kim et al., 2018);

c) teores de flavonoides e atividade antioxidante sofre influência de: solvente, temperatura e tempo de extração (Hinneburg; Neubert, 2005);

d) teores de compostos fenólicos são influenciados por: relação droga: solvente, tempo e temperatura de extração (Samavatia et al, 2014); procedimento extrativo, solvente, tempo (Oludemi et al., 2018).

e) teores de flavonoides: temperatura (Liu et al, 2000); procedimento extrativo, natureza do solvente, temperatura e número de ciclos de extração (Zgorka, 2009); pH (Bordignon Jr. et al., 2009); variáveis da extração em micro-ondas (potência e tempo de irradiação), solvente (Zhang et al.; 2009); solvente (Borella et al., 2012; Noriega et al., 2012); tempo da extração e da relação droga: solvente (Vieira et al., 2013).

Com base nos teores de fitoquímicos (polifenóis totais e flavonoides) e atividade antioxidante, os extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum* S 1:10 e P 1:8 foram submetidos a CLAE-DAD (Figura 1), CLAE-MS (Tabela 4 e Figura 2), avaliação da atividade leishmanicida *in vitro* (Tabela 5) e citotoxicidade em macrófagos (Tabela 6).

Os perfis cromatográficos mostram semelhanças entre os dois extratos selecionados (S 1:10 e P 1: 8), evidenciando que não houve influência do procedimento extrativo (percolação e extração em *Soxhlet*) e relação de hidromódulo (Figuras 1 e 2).

Variável atividade leishmanicida e citotoxicidade

Já na avaliação da atividade leishmanicida, o extrato P 1:8, no tempo de 48 horas, apresentou resultados mais expressivos na avaliação contra formas promastigotas de *Leishmania amazonenses* e *Leishmania infantum*, comprovando a influência das duas variáveis independentes (Tabela 5).

Estudos realizados por Kumar et al. (2009) e Nascimento (2016), demonstraram que a toxicidade é diretamente proporcional a concentração da amostra e ao tempo de exposição, concordando com nossos resultados, visto que, a exposição das cepas nos períodos de 24 horas, mostrou maior viabilidade, demonstrando uma correlação direta ao tempo de exposição.

No entanto, observou-se diminuição da ação dos extratos nos tempos de 72 horas (*Leishmania amazonenses* e *Leishmania infantum*), com o aumento proliferativo das formas promastigotas e consequente aumento do valor de IC_{50} em relação ao tempo de 48 horas, nesse caso, sugere-se que possa ter ocorrido alteração na integridade (composição química) dos extratos, e consequente estabilidade, ocasionando perda de bioativos, como a redução de polifenóis por alterações de calor, levando ao aumento da IC_{50} .

Paula et al. (2019) constataram que variações de pH, temperatura e luminosidade, ocasionam perda de integridade, como a degradação rápida das antocianinas, compostos fenólicos responsáveis pela coloração dos frutos e que apresentam como principal característica seu efeito antioxidante.

A estabilidade de produtos farmacêuticos depende de fatores ambientais como temperatura, umidade e luz; além de outros relacionados ao próprio produto, como propriedades físicas e químicas de substâncias ativas e excipientes farmacêuticos, forma farmacêutica e sua composição, processo de fabricação, tipo e propriedades dos materiais de embalagem (Brasil, 2005; Ortmann, 2013).

Em relação à citotoxicidade em macrófagos, também foi evidenciado a influência das duas variáveis independentes nos extratos S 1:10 e P 1:8, com resultados indicando diferenças

significativas. Assim, essas variáveis respostas (perfil cromatográfico, atividade leishmanicida e citotoxicidade) sofrem influência do procedimento extrativo e hidromódulo (Tabela 6).

Composição química e atividade biológica

Na avaliação da composição química e resposta biológica do nosso estudo a demais trabalhos, evidenciamos presença de fitoconstituintes que justificam a ação leishmanicida comprovada nos extratos hidroetanólicos das folhas de *Cinnamomum verum*.

A atividade leishmanicida de compostos fenólicos é comprovada e bem descrita na literatura (Oliveira, 2016; Dutra et al., 2019).

Estudos evidenciam que polifenóis, terpenoides, alcaloides, flavonoides e taninos exercem atividades sobre protozoários dos gêneros *Plasmodium*, *Trypanosoma*, *Leishmania*, *Trichomonas* e vermes intestinais (Sharma et al., 2017; Batiha et al., 2020). Esses fitoconstituintes interferem em alvos centrais dos parasitas, como DNA (intercalação, alquilação), integridade de membrana, microtúbulos e transdução de sinal neuronal, sinalizando, assim, para fonte de diversidade química no desenvolvimento de novas drogas antiprotozoárias (Wink, 2012).

Dutra et al. (2019) sugeriram que a melhor atividade da fração acetato de etila (FAE) de amostras da geoprópolis de *Melipona fasciculata* em formas promastigotas e amastigotas intracelulares de *Leishmania amazonensis* esteja relacionada com a presença e maiores concentrações de ácidos fenólicos, ácido gálico (40,5%) e ácido elágico (31,6%).

Ponte-Sucre e Padrón-Nieves (2018) relatam que flavonoides se mostram promissores para reverter a resistência de fenótipos de *Leishmania* a alguns fármacos, dentre eles, o antimônio, o que é favorável ao atual tratamento de primeira escolha.

Quanto ao possível mecanismo de ação para redução da taxa de infecção ocasionada por compostos fenólicos, é referido que os flavonoides estão envolvidos na via biosintética da poliamina, uma via essencial para o crescimento de *Leishmania* que é vital para a produção de tripanotona, o composto antioxidante Trypanosomatidae; constatando que a inibição da enzima arginase do parasito pela quercetina pode diminuir a produção de tripanotona, aumentando o efeito terapêutico de espécies reativas de oxigênio (ERO) produzida pela célula hospedeira (Brigido et al., 2020).

Uma das principais características do flavonoide quercetina no organismo, é a inibição da atividade da arginase e a antioxição através da inibição de radicais livres, dividida em

três modos: *a*) indução da produção e interação com íons superóxido (peróxido de hidrogênio) e de outras espécies reativas de oxigênio por células infectadas por *Leishmania*, assim, resultando em disfunção mitocondrial e morte do parasito; *b*) formação de radicais hidroxilas a partir da quelação de íons ferro no organismo e *c*) na peroxidação lipídica por reagir com radicais peróxi de lipídeos (MENEZES, 2018).

Além disso, os compostos fenólicos escoporona, rutina e quercetina mostraram atividade contra as formas promastigota e amastigota de *Leishmania infantum*, atuando como inibidores da enzima acetil-colinesterase (AChE), causando danos nas membranas do protozoário (Vila-Nova et al., 2012). Portanto, a inibição desta enzima pode contribuir para o mecanismo da ação antileishmanial; assim, considerando que *Leishmania infantum* necessita de colina para sintetizar fosfolipídeos de membrana, a presença de acetilcolinesterase resultaria em um declínio de colina e, conseqüentemente, a membrana do parasito perde a consistência, podendo sofrer lise (Martins et al., 2018).

Analisando os fitoconstituintes identificados no nosso estudo e potencial leishmanicida, constatamos que estudo de Kiderlen et al. (2001) comprova potente atividade anti-*Leishmania* em amastigotas de *Leishmania donovani*, associando a presença de proantocianidinas diméricas e triméricas

Casanova et al. (2020) identificaram que proantocianidinas dímeras do tipo A inibiram significativamente a sobrevivência intracelular de amastigotas de *Leishmania donovani*, agindo como inibidores não competitivos de nucleosídeo hidrolase (NH), enzimas localizadas no citosol, essenciais para a captação de bases nitrogenadas livres necessárias para a biossíntese do DNA e RNA do parasita.

Inácio et al. (2021) sugerem que o fenólico epigalocatequina galato, reconhecido antioxidante, age em formas promastigotas de *Leishmania infantum* inibindo competitivamente a atividade do tripanotiona redutase (TR), uma enzima central da homeostase redox da *Leishmania*, causando um desequilíbrio oxidativo que leva à diminuição do potencial de membrana mitocondrial, reduzindo assim a concentração de ATP intracelular, resultando na destruição de componentes macromoleculares celulares, promovendo a morte do parasita.

Puerarina é uma importante isoflavona conhecida pela eficaz atividade antioxidante (Zhou et al., 2019; Wang et al., 2020). Da mesma forma, o composto Kaempferol-3-ramnosídeo-7-ramnosídeo (Kaempferitrin) é um flavonoide descrito por suas ações

antioxidantes (Onkokesung et al, 2014; Lira et al., 2022). Apesar de não existir na literatura, até o momento, estudos que comprovem a atividade anti-*Leishmania* desses dois compostos, há indicativos da correlação direta entre o efeito antioxidante dos flavonoides e atividade leishmanicida, bem como seus possíveis mecanismos de ação, o que sinaliza que esses compostos podem ser potenciais alternativas para o estudo anti-*Leishmania*, necessitando de maiores investigações.

Na P & D de novos bioprodutos leishmanicida, um importante critério é a avaliação de sua toxicidade em células do hospedeiro, para contribuir na definição de parâmetros de segurança (Santos et al., 2013).

Os macrófagos são células fagocíticas encontrados em todos os tecidos do corpo, onde ingerem e processam materiais estranhos, células mortas e detritos, recrutando macrófagos adicionais em resposta a sinais inflamatórios (Murray; Wynn, 2011). Os macrófagos desempenham um papel duplo na infecção por *Leishmania*, essas células são responsáveis pela destruição de parasitos internalizados, mas também podem fornecer um local seguro para a replicação de *Leishmania* (Tomiotto-Pellissier, 2018).

Singh et al. (2009) analisaram o efeito citotóxico do extrato aquoso das cascas de *Cinnamomum verum* em várias linhagens celulares e atribuíram a diminuição da viabilidade celular, sobretudo em células cancerosas, à presença de compostos polifenólicos do extrato; provavelmente por sua capacidade de funcionar como antioxidantes e, também, pela inibição da proliferação e alteração o ciclo celular através do potencial de interagir com atividades de sinalização de fosforilação/desfosforilação. Sowa et al. (2020) também relacionaram o efeito citotóxico das espécies vegetais testadas às substâncias polifenólicas.

Analisando esses trabalhos aos resultados do nosso estudo, podemos inferir que o perfil citotóxico da espécie está relacionado aos altos níveis de substâncias polifenólicas quantificadas (Tabela 3). Contudo, estudo de Singh et al. (2009) também detectaram uma taxa de sobrevivência de 80% - 100% em macrófagos não infectados (RAW 264.7), quando expostos ao extrato aquoso das cascas de *Cinnamomum verum*. Embora nosso estudo tenha sido realizado com as folhas, variáveis de extração e metodologias de análises de citotoxicidade diferentes, a análise conduzida por Singh et al. (2009), revela um perfil atóxico de *Cinnamomum verum* para essas linhagens, dessa forma, não descartando os benefícios da espécie, visto que, maiores investigações que identifiquem o perfil de toxicidade da espécie são necessárias.

Diante dos resultados apresentados, com evidências do potencial leishmanicida dos extratos de *Cinnamomum verum*, podemos evidenciar que, embora nosso estudo tenha como limitações o emprego de apenas duas variáveis independentes (procedimento extrativo e relação de hidromódulo), é possível inferirmos que a constatação da influência dessas variáveis, especialmente na resposta biológica, deve estimular a continuidade dos estudos nessa linha de investigação, quer na elucidação das demais variáveis para otimização dos extrativos, quer na continuidade dos estudos pré-clínicos dado potencial leishmanicida evidenciado.

CONCLUSÃO

O desenho experimental empregado nesse estudo possibilitou definir as variáveis que interferem nos extrativos das folhas de *Cinnamomum verum*, indicando que procedimentos extrativos e relação de hidromódulo influenciam na qualidade dos extratos, comprovando melhores resultados nos extratos obtidos em aparelho de *Soxhlet* em hidromódulo 1:10 e percolação em hidromódulo 1:8; permitindo, assim, a padronização da espécie com base nessas variáveis.

A comprovação da atividade leishmanicida *in vitro* contra as formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania infantum*, dada presença de compostos fenólicos, com ênfase a: trímero de proantocianidinas tipo A, puerarina, rutina, epigalocatequina galato, isômero de epigalocatequina galato e kaempferol-3-ramnosídeo-7-ramnosídeo, evidenciam o potencial da espécie na continuidade dos estudos para certificação de eficácia e segurança na perspectiva de novas opções e/ou complementos terapêuticos no tratamento da leishmaniose.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), a Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Maranhão (FAPEMA) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pelo apoio financeiro (Código de Financiamento 001).

Referências

- Abreu, B. V. B., Dutra, R. P., Batista, M. C. A., Azevedo, C. C., Nogueira, A. L. C., Costa, M. C. P., Ribeiro, M. N. S., 2006. Quantificação de polifenóis de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith. coletado no Cerrado maranhense. Revista de Ciências da Saúde, 8, 18-24.
- Amaral, F. M. M., Ribeiro, M. N. S., Barbosa-Filho, J. M., Reis, A. S., Nascimento, F. R. F., Macedo, R. O., 2006. Plants and chemical constituents with giardicidal activity. Revista Brasileira de Farmacognosia .16, 696-720.
- Araújo, G. B., Santana, L. C. L. A., 2020. Avaliação da casca do fruto e do caule do mandacaru como fontes de compostos fenólicos totais antioxidantes através da obtenção de extratos pelas técnicas de maceração e ultrassom. Scientia Plena, 16 (9).
- Azeredo, C. M. O.; Santos, T. G.; Maia, B. H. L. N. S.; Soares, M. J., 2014. *In vitro* biological evaluation of eight different essential oils against *Trypanosoma cruzi*, with emphasis on *Cinnamomum verum* essential oil. BMC complementary and alternative medicine.14, 1-8.
- Barros Neto, B., Scarminio, I. S., Bruns, R. E., 1995. Planejamento e otimização de experimentos. Editora Campinas, Unicamp. Campinas, São Paulo.
- Bajes, H. R., Almasri, I., Bustanji, Y., 2020. Plant Products and Their Inhibitory Activity Against Pancreatic Lipase. Revista Brasileira de Farmacognosia, 30(3), 321-330.
- Bassani, D. C.; Nunes, D. S.; Granato, D. Optimization of phenolics and flavonoids extraction conditions and antioxidant activity of roasted yerba-mate leaves (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., Aquifoliaceae) using response surface methodology. Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 86, p. 923-934, 2014.
- Bastos, K. X., Dias, C. N., Nascimento, Y. M., Da Silva, M. S., Langassner, S. M., Wessjohann, L. A., & Tavares, J. F., 2017. Identification of Phenolic Compounds from *Hancornia speciosa* (Apocynaceae) Leaves by UHPLC Orbitrap-HRMS. Molecules, 22 (1), 143.
- Batiha, G. E., Beshbishy, A. M., Guswanto, A., Nugraha, A., Munkhjargal, T., M. Abdel-Daim, M. M., Mosqueda, J., Igarashi, I., (2020). Phytochemical characterization and chemotherapeutic potential of *Cinnamomum verum* extracts on the multiplication of protozoan parasites *in vitro* and *in vivo*. Molecules, 25(4).
- Bezerra, J. L., Costa, G. C., Lopes, T. C., Carvalho, I. C. D. S., Patrício, F. J., Sousa, S. M., Amaral, F. M.M., Rebelo, J. M. M., Guerra, R. N.M., Ribeiro, M. N. S., Nascimento, F. R. F., 2006. Avaliação da atividade leishmanicida *in vitro* de plantas medicinais. Revista Brasileira de Farmacognosia. 16, 631-37.
- Bordignon Jr., C. L., Francescato, V., Nienow, A. A., Calvete, E., Reginatto, F. H., 2009. Influência do pH da solução extrativa no teor de antocianinas em frutos de morango. Food Science and Technology, 29 (1), 183-188.

Borella, J. C., Donata, P. D., Novaretti, A. A. G., Menezes Junior, A., França, S. C., Rufalo, C. B., Santos, P. A. S., Veneziani, R. C. S., Lopes, N. P., 2006. Variabilidade sazonal do teor de saponinas de *Baccharis trimera* (Less.) DC (Carqueja) e isolamento de flavona. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16, 557-561.

Brand-Williams, W., Cuvelier M.E., Berset, C., 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 28, 25-30.

Brasil. Ministério da Saúde. 2005. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 01, de 29 de julho de 2005. Guia para a realização de estudos de estabilidade. Distrito Federal, Brasília.

BRASIL. Ministério da Saúde. 2020. Doenças e agravos de notificação. <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinanet/cnv/leishvma.def>. (Acesso 20 de junho de 2022).

Brígido, H. P. C., Silva, J. V. S., Bastos, M. L. C., Barbosa-Correa, J., Sarmiento, R. M., Costa, E. V. S., Marinho, A. M. R., Coelho-Ferreira, M. R., Silveira, F. T., Dolabela, M. F., 2020. Atividade antileishmania de *Annona glabra* L. (Annonaceae). *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, 57, 1-9.

Cardoso, I. C., Pereira, H. M. G., Tappin, M. R. R., Behrens, M. D., 2017. Influence of extraction technique and particle size of the plant material in the content of total phenolic compounds of tincture of *Alpinia zerumbet* leaves. *Revista Fitos*, 11,1-126.

Casanova, L. M., Rodrigues, L. M., Aguiar, P. F., Tinoco, L. W., 2020. An NMR-based chemometric strategy to identify *Leishmania donovani* nucleoside hydrolase inhibitors from the Brazilian tree *Ormosia arborea*. *Journal of natural products*, 83(2), 243-254.

Cavalcante, E. V. S., Silva, T. M., Figueiredo, M. C. F., Nascimento, J. M. F., Medeiros, S. R. A., Oliveira, A. S. S., Almeida, A. A. C., Carvalho, R. B. F., Pereira- Freire, J. A., 2020. Benefícios das catequinas do chá verde no controle do Diabetes Mellitus tipo 2: uma revisão integrativa. *Research, Society and Development*. 9(8).

Cavalcante, F. R. A., Cavalcante, K. K. S., Moreno, J. O., Flor, S. M. C., Alencar, C. H., 2022. Leishmaniose visceral: aspectos epidemiológicos, espaciais e temporais no município de Sobral, nordeste do Brasil, 2007-2019. *Journal of Health & Biological Sciences*. 10(1), 1-8.

Chaves, A. F. C. P, Costa, I. V. S., Brito, M.O., Sousa Neto, F. A., Mascarenhas, M. D. M., 2022. Leishmaniose visceral no Piauí, 2007-2019: análise ecológica de séries temporais e distribuição espacial de indicadores epidemiológicos e operacionais. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. 31 (1).

- Cossetin, J. F., 2016. Caracterização fitoquímica e avaliação da atividade biológica de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Santa Maria. Rio Grande do Sul.
- Costa-Machado, A. R. M., Bastos, J. K., Freitas, L. A. P., 2013. Dynamic maceration of *Copaifera langsdorffii* leaves: a technological study using fractional factorial design. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23 (1), 79-85.
- Couto, C. L. L., 2012. *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. (Iridaceae): Estudos de revisão e padronização dos extratos na pesquisa e desenvolvimento de fitoterápico giardicida. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Maranhão.
- Dorri, M.; Hashemitabar, S.; Hosseinzadeh, H., 2018. *Cinnamon (Cinnamomum zeylanicum)* as an antidote or a protective agent against natural or chemical toxicities: a review. *Drug and chemical toxicology*. 41, 338-351.
- Dutra, R. P., Bezerra, J. L., Silva, M. C. P., Silva, M. C. P., Batista, M. C. A., Patrício, F. J. B., Nascimento, F. R. F., Ribeiro, M. N. S., Guerra, R. N. M., 2019. Antileishmanial activity and chemical composition from Brazilian geopropolis produced by stingless bee *Melipona fasciculata*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 29, 287-293.
- Eberlin, M. N., Benassi, M., 2012. Atribuição absoluta e geral de isômeros constitucionais por espectrometria de massas: o caso das metilpiperidinas. *Química Nova*, 35, 17-21.
- Endringer, D. C., Pezzuto, J. M., Braga, F. C., 2009. NF- κ B inhibitory activity of cyclitols isolated from *H. speciosa*. *Phytomedicine*. 16. 1064-1069.
- Farmacopeia Brasileira, 2019. Anvisa. 6.ed. Brasília, Brasil.
- Ferreira, D. T., 2019. Leishmaniose visceral em crianças: dispensação e controle da utilização dos medicamentos antimoniatos de meglumina e anfotericina B lipossomal para o tratamento específico da leishmaniose visceral em um hospital universitário de referência no Mato Grosso do Sul/MS. Dissertação (Mestrado em Pesquisa Clínica). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul.
- Fonsêca, S.G.C., 2005. Farmacotécnica de Fitoterápicos. Laboratório de Farmacotécnica. Departamento de Farmácia, 64 p.
- Gallo, M.; Ferracane, R.; Graziani, G.; Ritieni, A.; Fogliano, V., 2010. Microwave assisted extraction of phenolic compounds from four different spices. *Molecules*, 15, 6365-6374.
- Garcia, M. L., 2015. Extrato padronizado de *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) na supressão da brusone foliar em arroz. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Goiás. Goiânia, Goiás.
- Ghanbariasad, A., Valizadeh, A., Ghadimi, S. N., Fereidouni, Z., Osanloo, M., 2021. Nanoformulating *Cinnamomum zeylanicum* essential oil with an extreme effect on *Leishmania tropica* and *Leishmania major*. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 63.

Gobbo-Neto, L., Lopes, N., 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*. 30, 374-381.

Gomes, E. M. C., Pena, R. C. M., Almeida, S. S. M. S., 2016. Composição fitoquímica e ação fungicida de extratos brutos de *Cinnamomum zeylanicum* sobre *Quambalaria eucalypti*. *Biota Amazônia*. 6. 54-58.

Gomes, M. E. M. S. A., Ferreira, E. P. P., 2022. Leishmaniose tegumentar americana no Brasil: análise de 2010 a 2019. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*. 8(5). 1086-1096.

Guerra, A. P., Garcia, V. A. S., & Silva, C., 2016. Otimização da extração de compostos fenólicos da casca de manga (*Tommy Atkins*) utilizando processo assistido por ultrassom. *Exacta*, 09 (1), 103-110.

Hariri, M.; Ghiasvand, R., 2016. *Cinnamon* and chronic diseases. In: *Drug Discovery from Mother Nature*. Springer, Cham. 929, 1-24.

Hinneburg, I., Neubert, R.H., 2005. Influence of extraction parameters on the phytochemical characteristics of extracts from buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) herb. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (1), 3-7.

Holanda, V. N., Silva, W. V., Nascimento, P. H., Oliveira, R. N., Lima, V. L. M., Figueiredo, R. C. B. Q., 2018. Desafios e perspectivas no tratamento da leishmaniose tegumentar: revisão de literatura. *Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia*. 6(17).140-157.

Hou, W., Zhang, W., Chen, G., Luo, Y., 2016. Optimization of Extraction Conditions for Maximal Phenolic, Flavonoid and Antioxidant Activity from *Melaleuca bracteata* Leaves Using the Response Surface Methodology. *PLoS One*, 11 (9), e0162139.

Hu, M., Yan, H., Fu, Y., Jiang, Y., Yao, W., Yu, S., Zhang, L., Wu, Q., Ding, A., Shan, M., 2019. Optimal Extraction Study of Gastrodin-Type Components from *Gastrodia Elata* Tubers by Response Surface Design with Integrated Phytochemical and Bioactivity Evaluation. *Molecules*, 24 (3), 547.

Inacio, J. D. F., Fonseca, M. S., Limaverde-Sousa, G., Tomas, A. M., Castro, H., Almeida-Amaral, E. E., 2021. Epigallocatechin-O-3-Gallate Inhibits Trypanothione Reductase of *Leishmania infantum*, Causing Alterations in Redox Balance and Leading to Parasite Death. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 11.

Ismail, B. B., Guo, M., Pu, Y., Wang, W., Ye, X., Liu, D., 2019. Valorisation of baobab (*Adansonia digitata*) seeds by ultrasound assisted extraction of polyphenolics. Optimisation and comparison with conventional methods. *Ultrason Sonochem*, 52, 257-267.

Jorjani, O, Raesi, M., Hezarjaribi, H. J., Soltani, M., Soosaraei, M., 2017. Studying the chemical composition in vitro activity of *Cinnamomum zeylanicum* and *Eugenia*

caryophyllata essential oils on *Leishmania major*. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 9. 1300-1304.

Jose, A. E., Carvalho, H.H. C., Wiest, J. M., 2015. Avaliação do efeito antibacteriano de extratos de folhas de batata-doce (*Ipomoea batatas* L. frente a bactérias de interesse em alimentos e correlação com os compostos fenólicos. Revista Ceres, 62 (5), 421- 429.

Jung, H. W., Kang, A. N., Kang, S. Y., Park, Y. K., Song, M. Y., 2017. The root extract of *Pueraria lobata* and its main compound, puerarin, prevent obesity by increasing the energy metabolism in skeletal muscle. Nutrients, 9(1), 33.

Kandaswami, C.; Middleton, E., 1994. Free radical scavenging and antioxidant activity of plants flavonoids. Advances in Experimental Medicine and Biology, 366: 351-376.

Karahan, F., Kulak, M., Uurlu, E., Gözüacık, H. G., Böyümez, T., Şekeroğlu, N., Doganturk, I. H., 2014. Total phenolic content, ferric reducing and DPPH scavenging activity of *Arum dioscoridis*. Natural Product Research, 29 (17), 1678-1683.

Kim, S., Oh, S., Noh, H. B., Ji, S., Lee, S. H., Koo, J. M.; Choi, C. W.; Jhun, H. P., 2018. *In Vitro* Antioxidant and Anti-*Propionibacterium acnes* Activities of Cold Water, Hot Water, and Methanol Extracts, and Their Respective Ethyl Acetate Fractions, from *Sanguisorba officinalis* L. Roots. Molecules, 23 (11), 3001.

Kiderlen, A. F., Kayser, O., Ferreira, D., Kolodziej, H., 2001. Tannins and related compounds: killing of amastigotes of *Leishmania donovani* and release of nitric oxide and tumour necrosis factor α in macrophages in vitro. Zeitschrift für Naturforschung C. 56(5-6), 444-454.

Klein, T.; Longhini, R.; Bruschi, M. L.; Mello, J. C. P., 2009. Fitoterápicos: um mercado promissor. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada. 30, 241-248.

Lapa, A. J., Souccar, C., Lima-Landman, M. T. R., Lima, T. C. M., 2016. Farmacologia e Toxicologia de produtos naturais. In: Simões, C.O.M.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 7.ed. rev. ampl., primeira reimpressão. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, pp. 247-262.

Lazzarotto-Figueiróa, J., Capelezzoa, A. P., Schindlera, M. S. Z., Fossáa, J. F. C., Albeny-Simõesa, D., Zanattaa, L., Oliveira, J. V., Dal Magro, J., 2021. Antioxidant activity, antibacterial and inhibitory effect of intestinal disaccharidases of extracts obtained from *Eugenia uniflora* L. Seeds. Brazilian Journal of Biology, 81 (2), 291-300.

Leite, A. A.; Menezes-Rodrigues, F. S.; Errante, P. R., 2017. Infecções Parasitárias e Alterações Imunológicas em Pacientes com Imunodeficiência Comum Variável. Revista UNILUS Ensino e Pesquisa. 14.

- Lima, M. J. S., Silva, M. Y. C., Melo, K. R., Chagas, B. F., Rolim, L. A., Neto, P. J. R., Silva, R. M. F., 2020. Characterization of the libidibia ferrea dry extract for antihyperglycemic therapy. *Brazilian Journal of Development*, 6 (12), 97488- 97506.
- Lima, M. P., Zoghbi, M. G. B, Andrade, E. H. A., Silva, T. M. D., Fernandes, C. S., 2005. Constituintes voláteis das folhas e dos galhos de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). *Acta Amazônica*. 35 (3).
- Lira, C. F., Nascimento, J. W. A., Silva, M. G. M., Araújo, L. C., Seixas, K. B., Conceição, D. C., 2022. Biological activity and chemical profile reported for *Bauhinia forficata* species. *Research, Society and Development*, 11(9), e0811931476.
- Liu, F. F., Ang, C. Y., Springer, D., 2000. Optimization of extraction conditions for active components in *Hypericum perforatum* using response surface methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (8), 3364-3371.
- Martins, G. V.; Alves, D. R.; Viera-Araújo, F. M.; Rondon, F.; Braz-Filho, R.; Morais, S. M., 2018. Estudo químico e avaliação das atividades antioxidante, anti-acetilcolinesterase e antileishmanial de extratos de *Jatropha Gossypifolia* L.(Pião Roxo). *Revista Virtual de Química*.10, 21-36.
- Matos, F. J. A., 2009. Introdução a fitoquímica experimental. Edições UFC . 3.ed. Fortaleza, Ceará.
- Mazimba, O., Wale, K., Kwape, T. E., Mihigo, S. O., Kokengo, B. M., 2015. *Cinnamomum verum*: Extratos de etilacetato e metanol atividade antioxidante e antimicrobiana. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 3 (3), 28-32.
- Melo, J. G., Araújo, T. A. S., Castro, V. T. N. A., Cabral, D. L. V., Rodrigues, M. D., Nascimento, S. C., Amorim, E. L. C., Albuquerque, U. P., 2010. Antiproliferative activity, antioxidant capacity and tannin content in plants of semi-arid northeastern Brazil. *Molecules*, 15: 8534-8542.
- Menezes, J. B., 2019. Caracterização e investigação da atividade leishmanicida de nanocarreadores complexados com antimônio e/ou quercetina. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde). Universidade Federal de Alagoas. Maceió, Alagoas.
- Molyneux, P., 2004. The use of the stable free radical diphenyl picryl hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol*. 26, 211- 219.
- Monteiro, R. C. S., 2016. Estudo fitoquímico, atividade antipromastigota e citotoxicidade de *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson (Apocynaceae). Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Pará, Belém, Pará.
- Murray, P. J., Wynn, T. A., 2011. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nature reviews immunology*. 11(11), 723-737.

- Nibret, E.; Wink, M., 2010. Trypanocidal and antileukaemic effects of the essential oils of *Hagenia abyssinica*, *Leonotis ocymifolia*, *Moringa stenopetala*, and their main individual constituents. *Phytomedicine*. 17, 911-920.
- Nóbrega, A. B., 2012. Padronização de extratos de *Eugenia florida* DC. e seu estudo toxicológico para o desenvolvimento de um fitoterápico ou fitofármaco. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde). Universidade Federal Fluminense. Niterói, Rio de Janeiro.
- Noriega, P., Mafud, D. F., Souza, B., Soares-Scott, M., Rivelli, D. P., Barros, S.B.M., Bacchi, E. M., 2012. Applying design of experiments (DOE) to flavonoid extraction from *Passiflora alata* and *P. edulis*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22, 119-1129.
- Noriega, P., Röpke, C.D., Camilo, C. M., Freitas, P. C. D., Barros, S. B. M., 2005. Avaliação por análise fatorial das condições da extração do 4-nerolidilcatecol de *Pothomorphe umbellata* (L). *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 41, 261-269.
- Oliveira, E. B., 2016. Avaliação das atividades biológicas de compostos fenólicos: naturais (cumarina) e derivados comerciais (3-hidroxycumarina e 4-hidroxycumarina). Dissertação (Mestrado em Inovação Terapêutica). Universidade Federal de Pernambuco. Recife, Pernambuco.
- Oliveira, R. G., 2018. Sentidos das Doenças Negligenciadas na agenda da Saúde Global: o lugar de populações e territórios. *Ciência & Saúde Coletiva*, 23, 2291-2302.
- Oliveira, V. B., Zuchetto, M., Oliveira, C. F., Paula, C. S., Duarte, A. F. S., Miguel, M. D., Miguel, O. G., 2016. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por classe de *Dicksoniasellowiana* (Presl.). Hook, dicksoniaceae. *Rev. Bras. Pl. Med.*, 18, 230-239.
- Oludemi, T., Barros, L., Prieto, M. A., Heleno, S. A., Barreiro, M. F., Ferreira, I. C. F. R., 2018. Extraction of triterpenoids and phenolic compounds from *Ganoderma lucidum*: optimization study using the response surface methodology. *Food & Function*, 9 (1), 209-226.
- Onkokesung, N., Reichelt, M., Van Doorn, A., Schuurink, R. C., Van Loon, J. J. A., Dicke, M., 2014. Modulation of flavonoid metabolites in *Arabidopsis thaliana* through overexpression of the *MYB75* transcription factor: role of kaempferol-3, 7-dirhamnoside in resistance to the specialist insect herbivore *Pieris brassicae*. *Journal of experimental botany*, 65(8), 2203-2217.
- Ortmann, C. F., 2013. Avaliação da estabilidade de extratos, frações e flavonoides C-glicosídeos presentes em *Cecropia glaziovii*. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Santa Catarina.
- Patwardhan, B.; Vaidya, A. D. B.; Chorghade, M., 2004. Ayurved and natural products drug Discovery. *Current Science*. 86, 789-799.
- Paula, A. G. P., Heemann, A. C. W., Heemann, R., Lima, C. P. Avaliação da estabilidade das antocianinas do açaí no período de 28 dias em diferentes condições. *Brazilian Journal of Health Review*, 2: 4811- 4823, 2019.

Peixoto, A. L.; Maia, L. C., 2013. Manual de Procedimentos para herbários. INCT-Herbário virtual para a Flora e os Fungos. Editora Universitária da Universidade Federal do Pernambuco. Recife, Pernambuco.

Pereira, A.C., Pereira, A. B., Moreira, C. C., Botion, L. M., Lemos, V. S., Braga, F. C., Cortes, S. F., 2015. *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae) as a potential anti-diabetic drug. *Journal of Ethnopharmacology*.161, 30-35.

Piovesan, N., 2016. Influência de diferentes parâmetros em métodos de extração de compostos bioativos de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) e atividade antioxidante e antimicrobiana. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul.

Ponte-Sucre, A., Padrón-Nieves M., 2018. Drug resistance in *Leishmania* parasites: consequences, molecular mechanisms and possible treatments. 2. ed. Springer International Publishing AG, Cham, Suíça.

Prasad, K. N., Yang, B., Dong, X., Jiang, G., Zhang, H., Xie, H., Jiang, Y., 2009. Flavonoid contents and antioxidant activities from *Cinnamomum* species. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 10(4), 627-632.

Prista, L. V. N., Alves, A. C., Morgado, R., 2002. Tecnologia Farmacêutica. 6. ed. Fundação Calouste Gulbenkian. Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

Ranasinghe, P., Pigera, S., Premakumara, G. A., Galappaththy, P., Constantine, G. R., Katulanda, P., 2013. Medicinal properties of ‘true’ cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*): a systematic review. *BMC complementary and alternative medicine*.13 (1), 275- 284.

Rao, P. V.; Gan, S. H., 2014. *Cinnamon: a medicinal multifaceted plant*. Medicina Complementar e Alternativa Baseada em Evidências. 2014.

Reis, A. S; Rios, C. E. P.; Melo, L. P.; Costa, G. C.; Silva, L. A.; Patrício, F. J. B.; Amaral, F. M. M.; Nascimento, F. R. F., 2012. Atividade leishmanicida *in vitro* de frações do extrato hidroalcoólico das folhas de *Chenopodium ambrosioides* L. *Revista de Ciências da Saúde*. 14, 119-126.

Reis, J. B., 2012. Estudo analítico, avaliação da toxicidade e atividade moluscicida do óleo essencial *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) frente ao caramujo *Biomphalaria glabrata*. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Maranhão. São Luís, Maranhão.

Ribeiro-Dias, F., Russo, M., Barbuto, J. A. M., Nascimento, F. R. F., Timenetsky, J., Jancar, S., 1999. *Mycoplasma arginini* enhances cytotoxicity of thioglycollate-elicited murine macrophages toward YAC-1 tumor cells through production of NO. *J. Leukoc. Biol*. 65, 808-814.

Rodrigues, N. L. C., 2020. Bioprospecção e seleção de ativos de *Amburana cearensis* com efeito leishmanicida (*Leishmania braziliensis*) por imunomodulação. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, Ceará.

Rosal, K., Useche, A., Morán, L., López, M., Bruges, G., 2018. La epigalocatequina-3-galato induce apoptosis en plaquetas. *Investigación Clínica*. 59(2), 146-154.

Samavati, V., Lorestani, M., Joolazadeh, S., 2014. Identification and characterization of hydrocolloid from *Cordia myxa* leaf. *International Journal of Biological Macromolecules*, 65, 215-221.

Santos, K. K. A., Rolón, M., Vega, C., Arias, A. R., Costa, J. G. M., Coutinho, H. D. M., 2013. Atividade leishmanicida *in vitro* de *Eugenia uniflora* e *Momordica charantia*. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 34(1), 47-50.

Sharapin, N., Rocha, L. M., Carvalho, E. S., Lúcio, E. M. R. A., Santos, E. L. M., Almeida, J. D., 2000. Fundamentos de tecnologia de produtos fitoterápicos. Santafé de Bogotá: Cyted, 145-157.

Sharma, U. K., Sharma, A. K., Gupta, A., Kumar, R., Pandey, A., Pandey, A. K., 2017. Pharmacological activities of cinnamaldehyde and eugenol: antioxidant, cytotoxic and anti-leishmanial studies. *Cellular and Molecular Biology*, 63(6), 73-78.

Silva, A. A.; Silva, P. V. R.; Rocha, T. J. M., 2018. Parasitos intestinais: frequência e aspectos epidemiológicos em usuários de um laboratório particular. *Diversitas Journal*. 3, 245-256.

Silva, A. S. L., Silva, A. J., Latif, A. L. O., Santos Júnior, A. D. F., Benevides, C. M., J., 2022. Uso de metodologias analíticas para determinação de compostos fenólicos em alimentos no Brasil: avanços e fragilidades. *Research, Society and Development*, 11(2), e1311225193-e1311225193.

Silva, D., Casanova, L. M., Marcondes, M. C., Espindola-Netto, J. M., Paixão, L. P., Melo, G. O., Zancan, P., Sola-Penna, M., Costa, S. S., 2014. Antidiabetic activity of *Sedum dendroideum*: metabolic enzymes as putative targets for the bioactive flavonoid kaempferitrin. *IUBMB life*, 66(5), 361-370.

Silva, E. C., 2018. Estudo de padronização de extratos de *Hancornia speciosa* Gomes como alternativa terapêutica para obesidade. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente). Universidade Federal do Maranhão. São Luís, Maranhão.

Simões, C. M. O., Schenkel, E. P., Gosmann, G., Mello, J. C. P., Mentz, L. A., Petrovick, P. R., 2017. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. Editora Artmed, Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

Singh, R., Koppikar, S. J., Paul, P., Gilda, S., Paradkar, A. R., Kaul-Ghanekar, R., 2009. Comparative analysis of cytotoxic effect of aqueous cinnamon extract from *Cinnamomum zeylanicum* bark with commercial cinnamaldehyde on various cell lines. *Pharmaceutical biology*. 47(12), 1174-1179.

Souza, V. B., Holkem, A. T., Thomazini, M., Petta, T., Tulini, F. L., Oliveira, C. A. F., Genovese, M. I., Rodrigues, C. E. C., Trindade, C. S. F., 2021. Study of extraction kinetics and characterization of proanthocyanidin-rich extract from *Ceylon cinnamon* (*Cinnamomum zeylanicum*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(5).

Sowa, P., Marcinčáková, D., Mišek, M., Sidor, E., Legáth, J., Džugan, M., 2020. Analysis of cytotoxicity of selected Asteraceae plant extracts in real time, their antioxidant properties and polyphenolic profile. *Molecules*, 25(23), 5517.

Tomiotto-Pellissier, F., Bortoleti, B. T. S., Assolini, J. P., Gonçalves, M. D., Carloto, A. C. M., Miranda-Sapla, M. M., Conchon-Costa, I., Bordignon, J., Pavanelli, W. R., 2018. Macrophage polarization in leishmaniasis: broadening horizons. *Frontiers in immunology*. 9.

Trabulsi Filho, F. A., Andrade, K. C. S., Silva, E. C., Castro, A. T. O., Batista, M. C. A., Ribeiro, M. N. S., Amaral, F. M. M., 2013. Estudo de padronização de extratos de *Anacardium occidentale* L. na pesquisa e desenvolvimento de fitoterápicos giardicidas. *Caderno de Pesquisa*. 20, 7-15.

Vieira, D., Padoani, C., Soares, J. S., Adriano, J., Cechinel Filho, V., Souza, M. M., Bresolin, T. M. B., Couto, A. G. Development of hydroethanolic extract of *Ipomoea pes-caprae* using factorial design followed by antinociceptive and anti-inflammatory evaluation. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23 (1), 72-78.

Vila-Nova, N. S., Morais, S. M., Falcão, M. J., Bevilaqua, C. M. L., Rondon, F. C. M., Wilson, M. E., Vieiras, I. G. P., Andrade, H. F., 2012. Leishmanicidal and cholinesterase inhibiting activities of phenolic compounds of *Dimorphandra gardneriana* and *Platymiscium floribundum*, native plants from Caatinga biome. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 32, 1164-1168.

Wang, S., Zhang, S., Wang, S., Gao, P., Dai, L., 2020. A comprehensive review on Pueraria: Insights on its chemistry and medicinal value. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 131, 110734.

Wink, M., 2012. Medicinal plants: a source of anti-parasitic secondary metabolites. *Molecules*. 17, 12771-12791.

Wyrepkowski, C. D. C., Paz, A. C., Jensen, B. B., Franco, A. M. R., 2020. Aspectos farmacológicos da terapia medicamentosa utilizada para a leishmaniose cutânea: uma revisão de literatura. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*. 12(8).

Yu, J., Cui, H., Zhang, Q., Hayat, K., Zhan, H., Yu, J., Jia, C., Zhang, X., Ho, C. T., 2020. Adducts derived from (–)-epigallocatechin gallate-Amadori rearrangement products in aqueous reaction systems: Characterization, formation, and thermolysis. *Journal of agricultural and food chemistry*, 68(39), 109.

Zgórka, G., 2009. Pressurized liquid extraction versus other extraction techniques in micropreparative isolation of pharmacologically active isoflavones from *Trifolium* L. species. *Talanta*, 79 (1), 46-53.

Zhang, F.; Yang, Y.; Su, P.; Guo, Z. Microwave-assisted extraction of rutin and quercetin from the stalks of *Euonymus alatus* (Thunb.) Sieb. *Phytochemical Analysis*, v. 20, n. 1, p. 33-37, 2009.

Zhou, H., Li, X., Shang, Y., Chen, K., 2019. Radical scavenging activity of puerarin: a theoretical study. *Antioxidants*, 8 (12), 590.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados apresentados nesse estudo permitem concluirmos:

✓ A espécie *Cinnamomum verum* tem potencial para avançar em Pesquisa e Desenvolvimento, na perspectiva real de obter novas opções terapêuticas, tendo em vista o amplo e diversificado uso terapêutico popular; com eficácia terapêutica comprovada como antioxidante, anti-inflamatório, antimicrobiano, curativo, vasodilatadoras, gastroprotetor entre outros; o que pode ser atribuído à presença de compostos fenólicos evidenciados em vários estudos.

✓ A espécie apresenta potencial de investimento tecnológico na área de medicamentos, o que deve estimular a continuação dos estudos de validação; com ênfase nos estudos botânicos para definir parâmetros de autenticidade da espécie, estudos de toxicidade e elucidação dos mecanismos de ação.

✓ Com base nos parâmetros de análise empregados para esse estudo de padronização, podemos constatar que os extratos S 1:10 e P 1:8 apresentaram resultados mais expressivos, comprovando que procedimento extrativo e relação de hidromódulo influenciam na obtenção dos extratos da espécie em estudo.

REFERÊNCIAS

ALIANÇA, A. S. S. Estudo da atividade biológica de produtos naturais de macroalgas do litoral nordestino sobre *Leishmania amazonensis*. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública). Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2012.

ALVES, L. F. Produção de fitoterápicos no Brasil: história, problemas e perspectivas. Revista Virtual Química, 5: 450-513, 2013.

AMARAL, F. M. M.; OLIVEIRA, M. A.; COUTINHO, D. F.; GODINHO, J. W. L. S.; CARTÁGENES, M. S. S.; NEIVA, V. A.; NEIVA NETO, R. R.; BASTOS, W. M. Estudo de validação de espécies vegetais: o elo entre o saber popular e o fitoterápico. In: Trajetória e pesquisa nas ciências farmacêuticas. 1 ed. Ponta Grossa: Atena Editora, v. 1, 33 - 54, 2021.

ANTHONY, J. P.; FYFE, L.; SMITH, H. Plant active components—a resource for antiparasitic agents?. Trends in parasitology, 21: 462-468, 2005.

AZEREDO, C. M. O.; SANTOS, T. G.; MAIA, B. H. L. N. S.; SOARES, M. J. *In vitro* biological evaluation of eight different essential oils against *Trypanosoma cruzi*, with emphasis on *Cinnamomum verum* essential oil. BMC complementary and alternative medicine, 14, 1-8, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Decreto nº 5813 de 22 de junho de 2006. Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências. DOU, Brasília, DF, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 01, de 29 de julho de 2005. Guia para a realização de estudos de estabilidade. DOU, Brasília, DF, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução ANVISA nº 90 de 12 de março de 2004. Normas para estudos toxicológicos de produtos fitoterápicos. DOU, Brasília, DF, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica. Brasília, DF, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 14 de 31 de março de 2010. Dispõe sobre o Registro de Medicamentos Fitoterápicos. DOU, Brasília, DF, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - Anvisa RDC nº 26 de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. DOU, Brasília, DF, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Aprovar as seguintes diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. DOU, Brasília, DF, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Doenças e agravos de notificação. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinanet/cnv/leishvma.def>. Acesso em: 20 de junho de 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar. Edição eletrônica da 2ª ed. do livro: Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana, atualizado. Distrito Federal, Brasília, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução SVS nº 899 de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos. DOU, Brasília, DF, 2003.

BRITO, M. C. A.; FERREIRA, T. T.; GODINHO, J. W. L. S.; LEITE, J. A. C.; LUZ, T. R. S. A.; COUTINHO-MORAES, D. F.; AMARAL, F. M. M. Trade and quality control of medicinal plants In Brazil. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8, 1 - 8, 2016.

CAMPOS, S. C.; SILVA, C. G.; CAMPANA, P. R. V.; ALMEIDA, V. L. Toxicidade de espécies vegetais. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 18, 373-382, 2016.

CASTRO, R. A.; ALBIERO, A. L. M. O mercado de matérias primas para indústria de fitoterápicos. *Revista Fitos*, 10, 59-72, 2016.

CASTRO- NETO, A. L. Avaliação e caracterização de proteínas antigênicas e de superfície de *Leishmania* sp. e seu papel no diagnóstico da leishmaniose e na patogenia do parasito. Tese (Doutorado em Genética). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2018.

CAVALCANTE, F. R. A.; CAVALCANTE, K. K. S.; MORENO, J. O.; FLOR, S. M. C.; ALENCAR, C. H. Leishmaniose visceral: aspectos epidemiológicos, espaciais e temporais no município de Sobral, nordeste do Brasil, 2007-2019. *Journal of Health & Biological Sciences*, 10(1), 1-8, 2022.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G.; BONATO, P. Fundamentos de cromatografia. Campinas SP: Ed. UNICAMP, 456p., 2006.

COUTO, C. L. L. *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. (Iridaceae): Estudos de revisão e padronização dos extratos na pesquisa e desenvolvimento de fitoterápico giardicida. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, 2012.

CHAVES, A. F. C. P.; COSTA, I. V. S.; BRITO, M.O.; SOUSA NETO, F. A.; MASCARENHAS, M. D. M. Leishmaniose visceral no Piauí, 2007-2019: análise ecológica de séries temporais e distribuição espacial de indicadores epidemiológicos e operacionais. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 31 (1), 2022.

DIAS, V. L. Fitodisponibilidade de metais, caracterização nutricional, constituição química, avaliação da atividade antioxidante e antibacteriana do óleo essencial extraído das folhas da

Cinnamomum zeylanicum Breyn. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, 2009.

DOCAMPO, R.; DE SOUZA, W.; MIRANDA, K.; ROHLOFF, P.; MORENO, S. N. J. Acidocalcisomes- conserved from bacteria to man. *Nature Reviews Microbiology*, London, 3: 251–261, 2005.

DORRI, M.; HASHEMITABAR, S.; HOSSEINZADEH, H. *Cinnamon (Cinnamomum zeylanicum)* as an antidote or a protective agent against natural or chemical toxicities: a review. *Drug and chemical toxicology*, 41: 338-351, 2018.

ELHAG, D. E.; OSMAN, Z.; OMER, H.; AYOUB, S. M. H.; MOHAMMED, W. J. A. Chemical composition, antimicrobial activities and TLC profile of different bark extracts of *Cinnamomum zeylanicum*. *The Pharma Innovation Journal*, 3: 50-53, 2015.

ENDERLE, D. C.; PAVAN, E. O.; COSTTETI, G. A.; HICKMANN, S.; CARVALHO, A. C. G.; GHELLER, A. C. G. V. Controle de qualidade do fitoterápico (*Passiflora incarnata*.L.). *FACIDER-Revista Científica*, 11, 2018.

FERREIRA, D. T. Leishmaniose visceral em crianças: dispensação e controle da utilização dos medicamentos antimoniato de meglumina e anfotericina B lipossomal para o tratamento específico da leishmaniose visceral em um hospital universitário de referência no Mato Grosso do Sul/MS. Dissertação (Mestrado em Pesquisa Clínica). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Campo Grande, MS, 2019.

GARCIA, F. C. B.; SANTOS, S. S. R.; CHOCIAY, M. F.; MEDEIROS, A. C. R.; ROSELINO, A. M. F. Métodos subsidiários para o diagnóstico da Leishmaniose tegumentar americana (LTA): comparação dos resultados do seqüenciamento de DNA e da PCR-RFLP para determinação da espécie de leishmania em amostras cutâneo-mucosas. *Anais brasileiros de dermatologia*, 80: 339-344, 2005.

GARCIA, M. L. Extrato padronizado de *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) na supressão da brusone foliar em arroz. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO, 2015.

GHADIMI, S. N.; SHARIFI, N.; OSANLOO, M. The leishmanicidal activity of essential oils: A systematic review. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 9, 300-308, 2020.

GHANBARIASAD, A., VALIZADEH, A., GHADIMI, S. N., FERREIDOUNI, Z., OSANLOO, M. Nanoformulating *Cinnamomum zeylanicum* essential oil with an extreme effect on *Leishmania tropica* and *Leishmania major*. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 63, 2021.

GILANI, A. H.; RAHMAN, A. Trends in ethnopharmacology. *Journal of ethnopharmacology*, 100: 43-49, 2005.

GOMES, M. E. M. S. A.; FERREIRA, E. P. P. Leishmaniose tegumentar americana no Brasil: análise de 2010 A 2019. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, 8(5), 1086-1096, 2022.

- GODINHO, J. W. L. S. Atenção Farmacêutica em Fitoterapia: avaliação da comercialização e controle de qualidade de amostras de *Passiflora edulis* Sims. adquiridas em farmácias e drogarias no município de São Luís, estado do Maranhão. Monografia (Graduação em Farmácia Bioquímica). Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, 2014
- GODINHO, J. W. L. S. Estudo de validação de mesocarpo de *Attalea speciosa* Mart. ex. Spreng.: aspectos da etnofarmacologia e química. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, 2017.
- GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of Medicine*, 27: 1-93, 2006.
- HARIRI, M.; GHIASVAND, R. *Cinnamon* and chronic diseases. In: *Drug Discovery from Mother Nature*. Springer, Cham, p. 1-24, 2016.
- HOLANDA, V. N., SILVA, W. V., NASCIMENTO, P. H., OLIVEIRA, R. N., LIMA, V. L. M., FIGUEIREDO, R. C. B. Q. Desafios e perspectivas no tratamento da leishmaniose tegumentar: revisão de literatura. *Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia*, 6(17), 140-157, 2019.
- JIMÉNEZ, E. G.; SANDOVAL, A. P.; BOLAÑOS, L. M.; GAXIOLA, J. A. S.; GONZÁLEZ, F. G. Efecto de aceites naturales contra *Mycosphaerella fijiensis* en condiciones in vitro y detección de fitoquímicos activos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36: 141-150, 2018.
- JORJANI, O; RAEISI, M.; HEZARJARIBI, H. J.; SOLTANI, M.; SOOSARAEI, M. Studying the chemical composition in vitro activity of *Cinnamomum zeylanicum* and *Eugenia caryophyllata* essential oils on *Leishmania major*. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9: 1300, 2017.
- KAYE, P.; SCOTT, P. Leishmaniasis: complexity at the host-pathogen interface. *Nature Reviews Microbiology*, London, 11: 604-615, 2011.
- KUNLE, O. F.; EGHAREVBA, H. O.; AHMADU, P. O. Standardization of herbal medicines - A review. *International Journal of Biodiversity and Conservation*, 4, 101 - 112, 2012.
- KLEIN, T.; LONGHINI, R.; BRUSCHI, M. L.; MELLO, J. C. P. Fitoterápicos: um mercado promissor. *Revista Ciência Farmacológica Básica e Aplicada*, 30: 241-248, 2009
- LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M.T.R.; LIMA, T.C.M. Farmacologia e
- LEITE, A. A.; MENEZES-RODRIGUES, F. S.; ERRANTE, P. R. Infecções Parasitárias e Alterações Imunológicas em Pacientes com Imunodeficiência Comum Variável. *Revista UNILUS Ensino e Pesquisa*, 14, 2017.
- LI, Y.; KONG, D.; LIN, X.; XIE, Z.; BAI, M.; HUANG, S.; NIAN, H.; WU, H. Quality evaluation for essential oil of *Cinnamomum verum* leaves at different grow stages based on GC-MS, FTIR and microscopy. *Food Analytical Methods*, 9: 202-212, 2015.

- LIMA, M. E. S.; NASCIMENTO, C. E. C.; ERICEIRA, A. J. P; SILVA, F. J. L. Perfil epidemiológico de crianças internadas com leishmaniose visceral em um Hospital Universitário do Maranhão. *Revista Sociedade Brasileira Enfermeiros Pediatras*, 18: 15-20, 2018.
- LIMA, M. P.; ZOGHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A.; SILVA, T. M. D.; FERNANDES, C. S. Constituintes voláteis das folhas e dos galhos de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). *Revista Acta Amazônica*, 35 (3): 363 – 366, 2005.
- LIMA, C. D. O ensino de parasitologia nos livros didáticos de biologia: um estudo sobre o conteúdo das doenças parasitárias. Dissertação (Mestrado em Educação em Ciências e Matemática). Universidade Federal do Tocantins. Araguaína, TO, 2021.
- LOPES, D.; PEREIRA, C.; CASTILHO, C.; PIETROLUONGO, M.; MATOS, A.; GUIMARÃES, T.; VIÇOSA, A. Parâmetros críticos para o desenvolvimento de extratos secos vegetais padronizados obtidos por spray-drying: da pesquisa a realidade da produção. *Infarma - Ciências Farmacêuticas*, 32, 391-403, 2020.
- LUNA, E. J. A.; CAMPOS, S. R. S. L. C. O desenvolvimento de vacinas contra as doenças tropicais negligenciadas. *Cadernos de Saúde Pública*, 36, 2020.
- LYRA, M. R. Ensaio Clínico Fase III para Leishmaniose Tegumentar Americana forma cutânea. Equivalência entre esquemas da alta e da baixa dose de Antimoniato de Megumina. Tese (Doutorado em Doenças Infecciosas). Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2013.
- MACÊDO, R. O.; OLIVEIRA, E. J. Pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos com atividade sobre o sistema nervoso central. In: ALMEIDA, R.N. *Psicofarmacologia: fundamentos práticos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 95-111, 2006.
- MAHMOUD, A.; ATTIA, R.; SAID, S.; IBRAHEIM, Z. Ginger and cinnamon: can this household remedy treat giardiasis? Parasitological and histopathological studies. *Iranian Journal of Parasitology*, 9: p. 530, 2014.
- MARTINS, M. C.; GARLET, T. M. B. Desenvolvendo e divulgando o conhecimento sobre plantas medicinais. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*. Santa Maria, 20: 438–448, 2016.
- MARIBONDO, C. A. B. Estudo de validação de espécies vegetais da flora maranhense como alternativa e/ou complemento terapêutico na perda de peso. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde). Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, 2021
- MATOS, F. J. A. *Introdução a fitoquímica experimental*. Edições UFC. 3.ed. Fortaleza, Ceará, 2009.

- MAZIMBA, O.; WALE, K.; KWAPE, T. E.; MIHIGO, S. O.; KOKENGO, B. M. *Cinnamomum verum*: Extratos de etilacetato e metanol atividade antioxidante e antimicrobiana. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 3 (3), 28-32, 2015.
- MENDES, L. S. S. Estudo químico e atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti* do óleo essencial das folhas de *Cinnamomum zeylanicum* Breyn (canela). Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Maranhão. São Luís, MA, 2011.
- MENEZES, V. J. M. Padronização de extrativos bioativos e identificação de compostos de *Jacaranda decurrens* cham. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente). Universidade Federal do Maranhão. São Luís, MA, 2013.
- MIGLIATO, K. F.; CORRÊA, M. A.; SALGADO, H. R. N.; TOGNOLLI, J. O.; SACRAMENTO, L. V. S.; MELLO, J. C. P.; GIANNINI, M. J. S. M.; ALMEIDA, A. M. F.; PIZZOLLITO, A. C. Planejamento experimental na otimização da extração dos frutos de *Syzygium cumini* (L.) SKEELS. *Química Nova*. 34: 695-699, 2011.
- NEIVA, V. A.; RIBEIRO, M. N. S.; CARTAGENES, M. S. S; COUTINHO-MORAES, D.F.; NASCIMENTO, F. R.; REIS, A. S.; AMARAL, F. M. M. Estudos pré-clínicos de atividade giardicida de *Chenopodium ambrosioides* L. e a padronização dos extratos na pesquisa e desenvolvimento de fitoterápicos. *Revista de Ciências da Saúde (São Luís)*, 13: 155-165, 2011.
- NEIVA, V. A.; RIBEIRO, M. N. S.; NASCIMENTO, F. R. F.; CARTAGENES, M. S. S.; COUTINHO, D. F.M; AMARAL, F. M. M. Plant species used in giardiasis treatment: ethnopharmacology and *in vitro* evaluation of anti-Giardia activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24: 215-224, 2014.
- NEVES, D. P. *Parasitologia Humana*. 11. ed, Atheneu, São Paulo, 2005.
- NESPOLI, G.; GOMES, A. M. O.; BORGES, C. F.; CHAGAS, D, C.; DIAS, J. V. S.; MATTOS, L.; BEHRENS, M.; LEDA, P. H. O. Educação popular e plantas medicinais na atenção básica à saúde. Rio de Janeiro: EPSJV, 2021.
- NParks Flora & FaunaWeb. Jardim Botânico de Cingapura. Disponível em: <https://www.nparks.gov.sg/florafauweb/flora/2/8/2807>. Acesso em: 10 de março de 2022.
- OLIVEIRA, R. G. Sentidos das Doenças Negligenciadas na agenda da Saúde Global: o lugar de populações e territórios. *Ciência & Saúde Coletiva*, 23, 2018.
- PAES, L. R. N. B. Distribuição espacial e temporal dos casos humanos de LTA notificados no estado do Rio de Janeiro de 2001 a 2013 e associação com variáveis clínicas e populacionais. Tese (Doutorado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas). Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, 2016.
- PEREIRA. B. A. C. *Leishmania (Leishmania) amazonensis*: participação de fatores do hospedeiro e do parasito no curso da infecção experimental em camundongos. Tese

(Doutorado em Ensino em Biologia Parasitária). Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2010.

PERES, C. M.; CURI, R. Como cultivar células. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan Ltda. 283 p., 2005.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N.P.; EPIFANIO, R. A. Current status challenges and trends on natural products in Brazil. *Quimica Nova*, 25: 45-61, 2002.

PINTO, C. S.; PEREIRA, J. P.; ARAÚJO, K. K. C.; LAGES, L. S.; BEZERRA, N. P. C.; COIMBRA, V. C. S. Aspectos epidemiológicos da Leishmaniose Tegumentar Americana no estado do Maranhão. *Revista Brasileira de Educação e Saúde*, 9: 24-30, 2019.

RAO, P. V.; GAN, S. H. *Cinnamon*: a medicinal multifaceted plant. *Medicina Complementar e Alternativa Baseada em Evidências*, 2014, 2014.

REIS, J. B. Estudo analítico, avaliação da toxicidade e atividade moluscicida do óleo essencial *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) frente ao caramujo *Biomphalaria glabrata*. (Say, 1818). Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Maranhão. São Luís, MA, 2012.

REITHINGER, R.; JEAN-CLAUDE, D.; HECHMI, L.; CLAUDE, P.; BRUCE, A; SIMON, B. Cutaneous leishmaniasis. *Lancet Infectious Diseases*, New York, 7: 581-596, 2007.

REGINATTO, F. H. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. O. M.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J.C.P., MENTZ, L. A., PETROVICK, P. R. *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, p.69-81, 2017.

ROBERTS, L.; JANOVY, J. J. *Foundations of Parasitology*. 6 ed. MAMcgraw-Hill Higher Education, 2000.

SILVA, O. N.; AMARAL, F. M. M.; GODINHO, J. W. L. S.; FERREIRA, T. T. D.; COUTINHO, D. F.; NEIVA, V. A.; NEIVA NETO, R. R.; BASTOS, W. M. Toxicidade de plantas de uso medicinal: desmitificando o “se natural, não faz mal”. In: *Trajatória e pesquisa nas ciências farmacêuticas*. 1 ed. Ponta Grossa: Atena Editora, 1, 11-32, 2021.

SILVA, E. C. Estudo de padronização de extratos de *Hancornia speciosa* Gomes como alternativa terapêutica para obesidade. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente). Universidade Federal do Maranhão. São Luís, MA, 2018.

SILVA, T. S.; ALMEIDA, D. H. Principais parasitoses intestinais em crianças escolares: revisão integrativa. *Diversitas Journal*, 7, 2022.

SILVEIRA, P. F.; BANDEIRA, M. A.; ARRAIS, P. S. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 618-626, 2008.

SILVERSTEIN, R. G.; BRASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. *Spectrometric identification of organic compounds*. 6. ed. New York: John Wiley and Sons, 419 p., 2002.

SIMÕES C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. Editora Artmed, Porto Alegre/Florianópolis, SC, 2017.

SONAGLIO, D.; ORTEGA, G.G.; PETROVICK, P.R.; BASSANI, V.L. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: SIMÕES, C.O.M.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 7a.ed. rev. ampl., primeira reimpressão. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, p. 289-326, 2016.

SOUZA, M. A.; NUNES, R. F. F.; VIANA, T. C.; MARINHO, M. J. M.; MOREIRA, P. V. S. Q.; PEREIRA, W. O. Leishmaniose visceral humana: do diagnóstico ao tratamento. Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança, 10(2), 62-70, 2012.

SOUSA, I. J. O.; ARAÚJO, S.; NEGREIROS, P. S.; FRANÇA, A. R. S.; ROSA, G. S.; NEGREIROS, F. S.; GONÇALVES, R. L. G. A diversidade da flora brasileira no desenvolvimento de recursos de saúde. Revista Uningá Review, 31, 2017.

TELES, A. M.; ROSA, T. D. S. R.; MOUCHREK, A. N.; SILVA, A. L. S.; CALABRESE, K. S.; SOUZA, F. A. *Cinnamomum zeylanicum*, *Origanum vulgare*, and *Curcuma longa* essential oils: chemical composition, antimicrobial and antileishmanial activity. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2019.

TOVAR, R. T.; PETZEL, R. M. Herbal toxicity. Disease-a-month, 55, 592-641, 2009.

TRACY, J. W.; WEBSTER JR, L. T. Fármacos usados na quimioterapia das infecções por protozoários: amebíase, giardíase, tricomoníase, tripanossomíase, leishmaniose, e outras infecções causadas por protozoários. In: Goodman & Gilman. As bases farmacológicas da terapêutica. Ed. 13ª. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill, 2018.

TRABULSI FILHO, F. A.; ANDRADE, K. C. S.; SILVA, E. C.; CASTRO, A. T. O.; BATISTA, M. C. A.; RIBEIRO, M. N. S.; AMARAL, F. M. M. Estudo de padronização de extratos de *Anacardium occidentale* L. na pesquisa e desenvolvimento de fitoterápicos giardícidias. Caderno de Pesquisa, São Luís, 20, 7-15, 2013.

VASCONCELOS, J. M.; GOMES, C. G.; SOUSA, A.; TEIXEIRA, A. B.; LIMA, J. M. Leishmaniose tegumentar americana: perfil epidemiológico, diagnóstico e tratamento. RBAC, 50: 221-7, 2018.

VINITHA, M.; BALLAL, M. *In vitro* anticandidal activity of *Cinnamomum verum*. Journal of Medical Sciences, 8: 425-428, 2008.

WANSI, S. L.; NYADJEU, P.; NGAMGA, D.; MBUYO, E. P. N.; NGUELEFACK, T. B.; KAMANYI, A. Blood pressure lowering effect of the ethanol extract from the stem bark of *cinnamomum zeylanicum* (lauraceae) in rats. Pharmacol online, 3, 166-176, 2007.

WAGNER, H.; BLADT, S. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. 2. ed. Berlin: Springer, 384p., 1996.

WYREPKOWSKI, C. D. C.; PAZ, A. C.; JENSEN, B. B.; FRANCO, A. M. R. Aspectos farmacológicos da terapia medicamentosa utilizada para a leishmaniose cutânea: uma revisão de literatura. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, 12(8), 2020.

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. *Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna*. Chapecó: Argos, 2001.