

## José Milton Ferreira Júnior<sup>1</sup>

Graduado em Química - Universidade Estadual do Ceará (UECE); Mestrado em Química Inorgânica pela Universidade Federal do Ceará (UFC) e Doutorado em Biotecnologia - UFC. E-mail: jmiltonferreiraj@gmail.com

## Antônio Adailson de Sousa Silva<sup>2</sup>

Doutor - Faculdade de Medicina - UFC, Farmacêutico (Faculdade Maurício de Nassau), Biólogo e Mestre em Ciências Veterinárias (UECE). Tem Especialização em Saúde Estética (UnYeYa), Farmacologia (Universidade Católica Dom Bosco) e Educação Ambiental (Universidade Regional do Cariri). E-mail: adailsonbio@yahoo.com.br

## João Tavares Calixto Júnior<sup>3</sup>

Graduado em Ciências Biológicas pela Universidade Regional do Cariri, Mestrado em Ciências Florestais pela Universidade Federal de Campina Grande e Doutorado em Biotecnologia - UECE. Estágio Pós-Doutoral junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais (PPGCN) da Universidade Federal de Sergipe - (2020/2021). E-mail: joaojrbio@gmail.com

## Maria Goretti de Vasconcelos Silva<sup>4</sup>

Graduada em Bacharelado em Química e Licenciatura em Química - UFC, Mestre em Química Orgânica e Doutora em Química Orgânica - UFC. Pós-doutorado no IQSC-USP, no Grupo de Pesquisas em Química Medicinal (NEQUIMED), com bolsa do CNPq e no Instituto do Medicamento (IMed) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa com bolsa CAPES. E-mail: mgvsilva@gmail.com

## Selene Maia de Moraes<sup>5</sup>

Graduada em Química Industrial -UECE; Mestre em Química Orgânica - UFC e Doutorado em Química - University of London (UK). Estágio de pós-doutorado na Universidade de Aveiro em Portugal. E-mail: selene.morais@uece.br

## AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E LEISHMANICIDA DE ZANTHOXYLUM SYNCARPUM TULL. (RUTACEAE)

### *EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT AND LEISHMANICIDAL ACTIVITIES OF ZANTHOXYLUM SYNCARPUM TULL. (RUTACEAE)*

## RESUMO

O presente estudo traz como objetivo central a avaliação da atividade antioxidante em extratos etanólicos de folhas e galhos de *Zanthoxylum syncarpum* Tull. (Rutaceae), bem como a avaliação dos efeitos tóxicos desses extratos frente a três espécies do gênero *Leishmania*. Para tanto, além do extrato etanólico das folhas, obteve-se a fração rica em alcaloides derivada do extrato etanólico dos galhos do *Z. syncarpum* (EEGZS - FA), cujo composto majoritário, o ácido 4-(N-metilamino) benzoico, foi isolado e identificado por ressonância magnética nuclear (RMN) de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. Como resultado, o extrato etanólico das folhas de *Z. syncarpum* (EEFZS) apresentou os melhores desempenhos na atividade antioxidante, possivelmente relacionado à presença de compostos polifenólicos. A atividade leishmanicida para o mesmo extrato apresentou CL<sub>50</sub> com valores de 14,99 ± 3,35; 13,88 ± 2,62 e 15,25 ± 3,44 µg/mL contra *L. infantum* chagasi, *L. amazonenses* e *L. brasiliensis* respectivamente. Destarte, a partir dos resultados obtidos, conclui-se que extratos de folhas de *Z. syncarpum* Tull. apresentam-se de forma eficaz como alternativa para o desenvolvimento de novas drogas com efeito leishmanicida.

**PALAVRAS-CHAVE:** atividades biológicas; limãozinho; antioxidante; leishmania.

## ABSTRACT

The present study has as its main objective the evaluation of the antioxidant activity in ethanolic extracts of leaves and branches of *Zanthoxylum syncarpum* Tull. (Rutaceae), as well as the evaluation of the toxic effects of these extracts against three species of the genus *Leishmania*. Therefore, in addition to the ethanolic extract of the leaves, the fraction rich in alkaloids derived from the ethanolic extract of the branches of *Z. syncarpum* (EEGZS - FA) was obtained, whose major compound, 4-(N-methylamino) benzoic acid, was isolated and identified by <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance (NMR). As a result, the ethanolic extract of *Z. syncarpum* leaves (EEFZS) showed the best performances in antioxidant activity, possibly related to the presence of polyphenolic compounds. The leishmanicidal activity for the same extract showed LC50 with values of  $14.99 \pm 3.35$ ;  $13.88 \pm 2.62$  and  $15.25 \pm 3.44$   $\mu\text{g/mL}$  against *L. infantum* chagasi, *L. amazonenses* and *L. brasiliensis* respectively. Thus, from the results obtained, it is concluded that extracts of leaves of *Z. syncarpum* Tull. are presented effectively as an alternative for the development of new drugs with leishmanicidal effect.

**KEYWORDS:** biological activities; limãozinho; antioxidant; leishmania.

## INTRODUÇÃO

A família Rutaceae possui 156 gêneros e 1.800 espécies distribuídas por todo o mundo, especialmente em regiões tropicais e temperadas. No Brasil, a família está representada por cerca de 29 gêneros e 182 espécies (MOUGA et al., 2016). Para Mutinda et al., (2023), os membros desta família são fortemente aromáticos devido à presença de óleos essenciais e possuem importância considerável como fonte de frutas cítricas, sendo algumas ornamentais.

Dentre as espécies de Rutaceae catalogadas, algumas apresentam aplicação na medicina popular, por exemplo, as do gênero *Zanthoxylum*, que, de acordo com Fabiano e Cavalcante (2017), podem atuar como diaforéticas, antireumáticas, sialagogas, e usadas no tratamento de câimbras e síndrome de Raynaud, assim como para reumatismo, dor localizada, mancha na pele e espinha. Islam et al., (2018) e De Diep et al., (2023) apontam atividade citotóxica e antimicrobiana dos óleos essenciais das folhas e galhos do *Zanthoxylum acanthopodium* DC. Panida et al., (2023), investigaram que as Nanoemulsões de extrato dos frutos *Zanthoxylum rhetsa* DC combinadas com óleo de eucalipto apresentam efeitos significativos relacionados à atividade oxidante, inibição de óxido nítrico e baixa toxicidade em fibroblastos normais da pele, apresentando-se como promissores ingredientes para uso tópico. Supabphol et al., (2014), divulgaram um estudo que enfatiza o efeito significativo do óleo essencial e extrato de folhas de *Zanthoxylum limonella* frente à atividade antioxidante, indicando que a espécie atua na manutenção da circulação sanguínea e trato gastrointestinal, sendo amplamente utilizada por populações de diferentes partes da Tailândia.

Dentre essas, a espécie *Z. syncarpum* Tull., conhecida popularmente por limãozinho, apresenta ocorrência principalmente na região nordeste do Brasil, em especial nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco (FERREIRA-JR et al., 2016). Nesse sentido, Silva et al., (2014) analisaram atividades biológicas do limãozinho, inferindo sobre resultados significativos frente à testes leishmanicidas e larvicidas. Vale-se ressaltar que são poucos os trabalhos direcionados ao estudo das atividades biológicas desta espécie.

Nas Américas, segundo OPAS/OMS (2019), o Brasil é o país com o maior registro de casos de leishmanioses, tanto da forma cutânea como visceral (LV), sendo esta última, a forma mais grave, potencialmente fatal para o homem e para o cão. No Brasil, a LV é causada pela *L. infantum* chagasi (BADIRZADEH et al., 2020), que atinge as células do sistema fagocitário mononuclear, principalmente órgãos como o baço, o fígado, os linfonodos, a medula óssea e a pele. Outros órgãos e tecidos também podem ser acometidos, a exemplo o intestino e os pulmões.

A quimioterapia de leishmaniose é baseada na utilização de compostos à base de metais pesados de elevada toxicidade, antimoniais pentavalentes, representados pelo o antimoniató de meglumine (Glucantime®) e pelo estibogluconato de sódio (Pentostan®). Contudo, estes compostos devem ser administrados por prolongados períodos e são frequentemente associados à sérios efeitos, incluindo cardiotoxicidade, pancreatite e problemas musculoesqueléticos, quando usados em doses terapêuticas. Outras opções de tratamentos para a leishmaniose, como anfotericina B e pentamidina, estão associados a múltiplos efeitos secundários adversos, tais como supressão da medula óssea, toxicidade renal e alterações no metabolismo da glicose (HASSAN, 2022).

Novas drogas como miltefosine têm demonstrado ser efetivas para o tratamento de LV, muito embora também apresentem razoável toxicidade (ARAÚJO; COSTA e RISSO, 2018).

Substâncias antioxidantes são aquelas que, presentes em baixas concentrações, porém em concentrações superiores às oxidáveis, retardam ou inibem a ação destas, prevenindo ou reduzindo a extensão do dano oxidativo (KHAN, 2017). Doenças degenerativas como a de Parkinson, Alzheimer e esclerose múltipla, além de diversos tipos de doenças pulmonares e do sistema imune diabetes, cardiopatias, aterosclerose e também cânceres, são enfermidades que podem surgir em decorrência de danos causados por estresse oxidativo (KHAN, 2017).

Dado o exposto, o presente estudo tem como objetivo central a avaliação das atividades leishmanicida e antioxidante de extratos de *Z. syncarpum* Tull. frente a três espécies de *Leishmania* (*L. infantum*, *L. amazonensis* e *L. brasiliensis*), a fim de se evidenciar novas potencialidades farmacológicas.

## MATERIAL E MÉTODO

### Preparação do extrato etanólico das folhas de *Z. syncarpum*

As Folhas e galhos do limãozinho (*Zanthoxylum syncarpum* Tull.) foram coletados no horto medicinal da Universidade Estadual do Ceará, Campus do Itaperi, Fortaleza, Ceará. Para isso, foram elaboradas exsiccatas, atualmente depositadas no Herbário Prisco Bezerra, da Universidade Federal do Ceará, sob o número 51.937.

Após, coletou-se material vegetal suficiente para a obtenção dos extratos. Na sequência, esses foram triturados, desidratados em estufa a 40°C e armazenados sob maceração em etanol 96°GL por sete dias. Por fim, a solução foi filtrada e o solvente removido a partir de um evaporador rotativo, obtendo-se o extrato etanólico das folhas de *Z. syncarpum* (EEFZS) e o extrato etanólico dos galhos de *Z. syncarpum* (EEGZS).

### Obtenção da fração rica em alcaloides

O extrato obtido dos galhos de *Z. syncarpum* foi submetido a uma extração ácido-base sugerida por Wagner et al., (2001). Os resultados foram interpretados com utilização de cromatografia de camada delgada (CCD), sendo o reagente de Dragendorff o revelador para alcaloides. Após, o extrato alcaloídico foi submetido à cromatografia em coluna, com fase estacionária composta por sílica gel e carbonato de cálcio 5% (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Para tanto, foram utilizados os seguintes eluentes: hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, em diferentes proporções e seguindo-se um gradiente de polarização crescente (SILVA, 2014). As frações obtidas nessa etapa foram submetidas à CCD, com uso de uma fase móvel específica para alcaloide: Acetato de etila, metil etil cetona, ácido fórmico e água, na proporção de 50:30:10:10 (WAGNER, 2001). Na sequência, a fração rica em alcaloides foi purificada em uma coluna cromatográfica com fase estacionária composta por Sephadex®. Nessa etapa, utilizou-se acetato de etila como eluente e reagente de Dragendorff como revelador de alcaloides. Após sucessivas purificações, obteve-se a identificação de uma substância com uso de espectroscopia

de ressonância magnética nuclear (RMN) de H1 e C13. Ao final de todas as etapas descritas, uma fração rica em alcaloides do extrato etanólico de galhos de *Z. syncarpum* (EEZSB - AF) foi obtida.

### Testes fitoquímicos

Os testes fitoquímicos qualitativos de fenóis, esteroides, triterpenos, alcaloides e flavonoides foram realizados com base em Matos (2009). Esses testes foram baseados em observações visuais das mudanças de cor ou formação de precipitado após a adição dos reagentes específicos.

### Determinação da atividade antioxidante através do método de sequestro de radicais livres (DPPH)

Uma solução metanólica de 3,9 mL de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), a  $6,5 \times 10^{-5}$  M e 0,1 ml de extrato metanólico de *Z. syncarpum* (1000 ppm) foram misturados e a absorbância da reação foi lida a 515 nm em espectrofotômetro. A substância utilizada como padrão foi a quercetina. (OLIVEIRA et al., 2022).

O decaimento da absorbância das amostras ( $A_{am}$ ) correlacionado ao decaimento da absorbância do controle ( $A_c$ ) resulta na porcentagem de sequestro de radicais livres (% SRL), que pode ser expressa através da Equação 1:

$$\% SRL = \frac{A_c - A_{am}}{A_c} \times 100 \quad (1)$$

Uma curva de calibração foi preparada com 0,01; 0,025; 0,05; 0,075; 0,1 mg/mL de quercetina e os resultados foram comparados aqueles obtidos a partir dos extratos de *Z. syncarpum* analisados nas mesmas concentrações para se obter o resultado em termos de  $CE_{50}$ .

### Determinação da atividade antioxidante através do método $\beta$ -caroteno/ácido linoléico.

A avaliação antioxidante pelo método  $\beta$  - caroteno foi realizada de acordo com o método descrito por Mattos et al., (2009). Assim, inicialmente, pesou-se 10 mg de  $\beta$  - caroteno, os quais foram dissolvidos em 100 mL de clorofórmio. Alíquotas de 3 mL da emulsão clorofórmio /  $\beta$  - caroteno foram adicionadas a 40 mg de ácido linoleico e 400 mg de Tween®40. Em seguida, o clorofórmio foi removido e o resíduo obtido foi redissolvido em 100 mL de água aerada por 30 minutos. Após, alíquotas de 3 mL da emulsão obtida foram misturadas em 50  $\mu$ L dos extratos dos vegetais e incubadas em banho maria a 50°C. A oxidação da emulsão foi monitorada em espectrofotômetro a 470 nm, no tempo inicial e em intervalos de 20 minutos durante 2 horas. Para a amostra controle foi utilizado Metanol P.A. e a quercetina foi utilizada como padrão. Deste modo, a atividade antioxidante foi expressa como percentual de inibição em relação ao grupo controle, após 120 minutos de reação. Para isso, utilizou-se a equação 2.

$$\%I = \frac{A_c - A_{am}}{A_c} \quad (2)$$

Em que %I é a porcentagem de inibição;  $A_c$  é a Absorbância controle e  $A_{am}$  a absorbância da amostra. Vale-se destacar que  $A_c$  e  $A_{am}$  foram obtidos a partir da diferença de suas absorbâncias no momento inicial e ao término de 120 minutos. Após, uma curva de calibração da quercetina é obtida e, a partir dessa, obtêm-se os valores de  $CE_{50}$ .

### Testes in vitro contra promastigota de *Leishmania* spp.

A metodologia utilizada para avaliar a atividade leishmanicida dos EEL frente à promastigotas de *Leishmania* spp. teve como base em Sousa *et al.*, (2020). Para isso, as leishmanias foram acondicionadas em meio Shneider (Sigma®) suplementado e 10% de PBS (tampão fosfato-salino) com diferentes concentrações do extrato e com inóculo do parasito na ausência dos compostos (controle). Os extratos foram dissolvidos em dimetilsulfoxido (DMSO) e diluídos em meio Shneider (Sigma®). Os experimentos foram realizados em placas de 96 poços com extratos nas concentrações de 100; 50; 25; 12,5 e 6,25  $\mu\text{g/mL}$ . Os inóculos constituíram-se de  $10^6$  parasitas por poço em fase logarítmica. O medicamento de referência usado foi a pentamidina. Os controles negativos foram realizados com  $10^6$  parasitas em meio Shneider (Sigma®) e 10% de PBS. As promastigotas foram incubadas a 26°C por 24 horas. Posteriormente, analisou-se a viabilidade celular baseada na conversão do sal de terazólio MTT (Sigma®) solúvel, (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-brometo de 2,5-difeniltetrazólio) a partir do formazan insolúvel por enzimas mitocondriais. Para tanto, vinte  $\mu\text{L}$  de MTT [5 mg/mL] por poço foram adicionados à cultura, sendo mantida durante 4 horas a 26°C. Posteriormente, foi adicionado 100  $\mu\text{L}$  de uma solução de dodecil sulfato de sódio (SDS) a 10%: álcool isopropílico (1:1). Após 15 minutos sob agitação, foi feita a leitura da densidade óptica no espectrofotômetro a 570 nm. Os ensaios foram realizados em triplicatas.

### Determinação da atividade hemolítica

Com base na metodologia proposta por Costa-Lotuf *et al.*, (2002) foram coletadas amostras sanguíneas de três camundongos Swiss (*Mus musculus*) por via orbital, sendo diluídas em 150 mL de solução salina (NaCl 0,85 % + CaCl<sub>2</sub> 10 mM). Os eritrócitos foram lavados três vezes em solução salina por centrifugação (1500 rpm/3 min) para redução da contaminação plasmática a fim de se obter uma suspensão de eritrócitos a 2%. Os ensaios foram realizados em placas de 96 poços. Após, 100  $\mu\text{L}$  da suspensão de eritrócitos foram plaqueados em todos os poços, sendo estes mantidos por uma hora, sob agitação constante à temperatura ambiente (26  $\pm$  2°C). Na sequência, as amostras foram centrifugadas (5000 rpm/3 min) e o sobrenadante submetido à leitura de absorbância em espectrofotômetro de placas a 540 nm. Deste modo, a partir da metodologia utilizada, é possível se avaliar o potencial das substâncias em causar lesões na membrana plasmática da célula, seja pela formação de poros ou pela ruptura total.

### Análises estatísticas

Para a atividade leishmanicida, os valores da  $CL_{50}$  (concentração Letal do composto capaz de matar 50% do parasita), com um intervalo de confiança de 95%, foram calculados usando uma curva de regressão não-linear com o auxílio do software de estatística Graph Pad Prism 5.0.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Prospecção fitoquímica

Os testes fitoquímicos revelaram que as folhas de *Z. syncarpum* apresentaram metabólitos secundários polifenólicos como taninos, xantonas, compostos aminados, como alcaloides e substâncias lipídicas, os esteroides. Nos galhos, uma concentração maior de substâncias aminadas foi identificada. Segundo Aratikatla et al., (2017), *Z. syncarpum* apresenta-se como uma boa fonte de alcaloides, corroborando com os dados fitoquímicos obtidos no presente estudo.

### Elucidação estrutural do composto isolado do EEGZS - FA.

Os sinais dos espectros de ressonância nuclear magnética de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  do composto isolado são mostrados na Tabela 01.

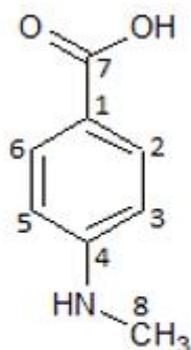
**Tabela 01:** Dados obtidos a partir de análise de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  RMN do alcaloide isolado de EEGZS - FA

CARBONOS	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$
C <sub>1</sub>	127,42	-
C <sub>2</sub> , C <sub>6</sub>	131,18	7,12 (d, J=8,43 Hz)
C <sub>3</sub> , C <sub>5</sub>	116,92	6,77 (d, J=8,43 Hz)
C <sub>4</sub>	157,96	-
C <sub>7</sub>	169,89	8,49 (s)
C <sub>8</sub>	29,60	3,20 (s)

Fonte: Autores, 2023

A estrutura do ácido 4 - (N-metilamino) benzóico foi elucidada inicialmente analisando-se o espectro  $^1\text{H}$  RMN, que apresentou dois dubletos na região aromática (7,74 e 6,86 ppm, sendo J = 8,43 Hz), sugerindo um sistema AA'BB'. Deste modo, tem-se um singleto em 3,2 ppm característico de uma ligação N-CH<sub>3</sub> e um singleto em 8,49 ppm, possivelmente relacionado à um hidrogênio de um ácido carboxílico.

No espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN, um grupo carboxila foi confirmado a partir da absorção a 169,89 ppm, enquanto o sistema para-substituído foi determinado a partir dos dois picos mais intensos em 131,18 ppm (2C) e 116,92 ppm. A ligação N-CH<sub>3</sub> foi definida pelo pico em 29,60 ppm (BANFI,2008).



Ácido 4-(N-metilamino)-benzoico

**Figura 1:** Representação da estrutura molecular do composto aminado encontrado em EEGZS - FA.

Fonte: Autores, 2023

De acordo com Silva et al., 2014a, amidas, alcaloides e cumarinas têm sido isoladas desta espécie, porém, não há registros referentes ao ácido 4-(N-metilamino) benzoico.

#### Atividade Antioxidante para o *Z. syncarpum*

Os valores de concentração efetiva de amostra capaz de sequestrar 50% dos radicais DPPH ou de inibir a auto-oxidação do  $\beta$ -caroteno, a partir dos radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoleico, foram determinados para extratos de folhas e galhos do limãozinho e representados em termos de  $CE_{50}$ . Para o controle positivo, utilizou-se a quercetina (tabela 1).

**Tabela 2:** Atividade Antioxidante das folhas e galhos do *Z. syncarpum*.

Extrato	DPPH $CE_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ ) <sup>a</sup>	$\square$ - Caroteno $CE_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ ) <sup>a</sup>
Quercetina	4,77 $\pm$ 0,050	4,39 $\pm$ 0,120
EEGZS	140,29 $\pm$ 0,281	101,41 $\pm$ 0,651
EEGZS - FA	56,17 $\pm$ 0,203	52,67 $\pm$ 0,080
EEFZS	30,96 $\pm$ 0,020	29,03 $\pm$ 0,110

<sup>a</sup> $CE_{50}$ : Mínima concentração efetiva capaz de inibir 50% da concentração de DPPH e a auto-oxidação do  $\beta$ -Caroteno .

Fonte: Autores, 2023

Com base nos resultados apresentados, verifica-se que, dentre os produtos analisados, o extrato de folhas exibiu a melhor atividade antiradicalar para ambos os padrões (quercetina e  $\beta$ -caroteno), apontando o valor de  $CE_{50}$  = 30,96  $\mu\text{g/mL}$   $\pm$  0,020 (DPPH) e  $CE_{50}$  = 29,03  $\mu\text{g/mL}$   $\pm$  0,110 ( $\beta$ -caroteno). De modo geral, infere-se que os extratos

apresentaram atividade antiradicalar moderada nos demais extratos. A relevante atividade antiradicalar do extrato de folhas pode ser justificada devido à presença de compostos com propriedades polares, como é o caso dos ácidos fenólicos e flavonoides, que possuem atividade antioxidante comprovada.

### Avaliação da atividade leishmanicida

O tratamento da leishmaniose, além de dispendioso e doloroso, tem se tornado cada vez mais ineficaz, o que evidencia a urgente necessidade de novas drogas leishmanicidas (MILAGRES *et al.*, 2022; SILVA, *et al.*, 2014b).

Nesse sentido, substâncias químicas diversas, oriundas de extratos vegetais, tem apresentado eficiente atividade leishmanicida em diferentes formas de *Leishmania* a partir de ensaios *in vitro*. Assim, viu-se relatada a ação leishmanicida de terpenoides por Albuquerque *et al.* (2020), e naftoquinonas por Peixoto *et al.*, (2023). Cancino *et al.* (2021), indicaram efeitos eficazes de chalconas, enquanto Araújo *et al.* (2019), apontaram efeito positivo de flavonoides sobre leishmania. Veiga *et al.* (2022) destacaram eficácia quanto à atividade leishmanicida em alcaloides.

Nesse sentido, o EEFZS apresentou atividade leishmanicida próxima ao valor da Anfotericina (Tabela 2), indicando uma potencial fonte de compostos eficientes na elaboração de novos fármacos.

**Tabela 3:** Atividade leishmanicida dos extratos etanólicos de *Z. syncarpum* frente à três espécies de *Leishmania*.

Extrato / droga	CE <sub>50</sub> (IC95%) ± Desvio Padrão		
	<i>L. amazonenses</i>	<i>L. brasiliensis</i>	<i>L. infantum</i>
<b>EEFZS</b>	13,88 ± 2,62 Aa	15,25 ± 3,44 Aa	14,99 ± 3,35 Aa
<b>EEGZS - FA</b>	24,42 ± 0,16 Ab	17,68 ± 0,03 Ba	12,09 ± 0,30 Cba
<b>EEGZS</b>	17,61 ± 0,11 Aa	26,88 ± 1,87 Bb	11,55 ± 1,96 Cba
<b>Anfotericina B</b>	7,38 ± 1,26Ac	2,5 ± 0,54 Bc	5,39 ± 1,14 b

CE<sub>50</sub>: Concentração efetiva que mata 50% da cepa ou linhagem (µg/mL).

IC 95%: Intervalo de confiança de 95%.

Letras maiúsculas distintas representam diferenças significativas entre colunas. Letras minúsculas distintas representam diferenças significativas entre linhas.

Outra forma de estudar a toxicidade de drogas e viabilizar os testes *in vivo* é o ensaio de hemólise. Esta técnica permite avaliar o potencial das substâncias em causar lesões na membrana plasmática da célula, seja pela formação de poros ou pela ruptura total (COSTA-LOTUFO *et al.*, 2002). Deste modo, os extratos de *Z. syncarpum* não apresentaram atividade hemolítica nas concentrações testadas.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo, o EEFZS apresentou atividade leishmanicida significativa contra *L. infantum* e *L. amazonenses*, estando semelhante ao valor da Anfotericina. Isso aponta para a espécie *Z. syncarpum* como fonte de compostos com potencial para o desenvolvimento de fármacos leishmanicidas.

Complementar aos resultados obtidos, estudos futuros devem ser tomados no sentido de investigar as referidas atividades em infecções, *in vivo*, assim como o fracionamento na busca das substâncias responsáveis pela ação leishmanicida encontrada.

Outros resultados obtidos a partir deste estudo indicam que os extratos analisados possuem compostos químicos capazes de capturar radicais livres. Estas substâncias podem ser consideradas promissoras na busca de fármacos antioxidantes que previnam doenças decorrentes do estresse oxidativo.

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, R. D. D. G.; ROCHA, L. Anti-Leishmania amazonensis activity of the terpenoid fraction from Eugenia pruniformis leaves. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.92, n.4, p.1- 14, 2020.

ARAÚJO, C. M. C.; COSTA, A. S.; RISSO, J. M. R. Uso da miltefosina como terapia combinada em leishmaniose visceral canina – relato de caso. *Enciclopédia Biosfera*, v.15, p.106-116, 2018.

ARAÚJO, M. V. et al. Flavonoids induce cell death in Leishmania amazonensis: in vitro characterization by flow cytometry and Raman spectroscopy. *Analist (London)*, v.144, n.17, p. 5232-5244, 2019.

ARATIKATLA, E. K. et al. Norepinephrine alkaloids as antiplasmodial agents: Synthesis of syncarpamide and insight into the structure-activity relationships of its analogues as antiplasmodial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v.138, p.1089-1105, 2017.

BADIRZADEH, A. et al. Antileishmanial activity of Urtica dioica extract against zoonotic cutaneous leishmaniasis. *Neglected Tropical Diseases*, v.14, n.1, p.1-20, 2020.

BANFI, D.; PATINY, L. [www.nmrdb.org](http://www.nmrdb.org): Resurrecting and Processing NMR Spectra Online. *Chimia*. v.62, n.4, p.280-281, 2008.

CANCINO, K. et al. Toxicity assessment of synthetic chalcones with antileishmanial potential in BALB/c Mice. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. v.38, n.3, p. 424-433, 2021.

COSTA-LOTUFO, et al. The Cytotoxic and embryotoxic effects of kaurenoic acid, a diterpene isolated from Copaifera langsdorffii oleo-resin. *Toxicon*, v.408, n.8, p.1231-1234, 2002.

DIEP, et al. Chemical Composition, Antimicrobial, Nitric Oxide Inhibition and Cytotoxic Activity of Essential Oils from Zanthoxylum acanthopodium DC. Leaves and Stems from Vietnam. *Chemistry & biodiversity*, v. 20, n. 8, p. 20-30, 2023.

FABIANO, G. G.; CAVALCANTI, D. S. P. As principais plantas medicinais utilizadas no hospital de medicina alternativa de Goiânia-Goiás. *Saúde & Ciência em ação*, v.3, n.1, p.100-113, 2017.

FERREIRA-JUNIOR, et al. Evaluation of Antioxidant Activity and Inhibition of Corrosion by Brazilian Plant Extracts and Constituent. *International Journal of Electrochemical Science*, v.11, p.3862-3875, 2016.

HASSAN, A. A. et al. Antileishmanial Activities of Medicinal Herbs and Phytochemicals In Vitro and In Vivo: An Update for the Years 2015 to 2021. *Molecules*, v.27, p.1-32, 2022.

ISLAM, K. et al. Bioactivity studies on Zanthoxylum budrunga wall (Rutaceae) root bark. *Clinical Phytoscience*, v.24, n.4, p.1-12, 2018.

KHAN, M. S. A.; NAZAN, S.; JAIS, A. M. M. Flavonoids and anti-oxidant activity mediated gastroprotective action of Leathery Murdah, Terminalia coriacea (Roxb.) Wight & Arn. Leaf methanolic extract in rats. *Archives of gastroenterology*, v.54, n.3, p.183-191, 2017.

- MATOS, F. J. A. Introdução à Fitoquímica Experimental. 1.ed. Fortaleza: UFC, 2009.
- MATTOS, L. M. et al. Protocolo de análise para determinação da atividade antioxidante total em hortaliças no sistema beta-caroteno/ácido linoléico. Embrapa: Hortaliças/Comunicado Técnico, v. 1, p.1-5, 2009.
- MILAGRES, A. C. A. et al. Apresentação de leishmaniose visceral em paciente pós-covid grave: um relato de caso. Brazilian Journal of Infectious Diseases, v.26, n.1, p.101-107, 2022.
- MOUGA, D. M. D. S.; FERRETI, V. et al. Caracterização polínica de espécies da família botânica Rutaceae Juss. Revista Acta Biológica Catarinense, v.3, n.1, p.503-511, 2016.
- MUTINDA, E. S. et al. Ethnobotanical uses, phytochemistry and pharmacology of pantropical genus Zanthoxylum L. (Rutaceae): An update. Journal of Ethnopharmacology, v.303, n. 3, p. 1-12, 2023.
- PANIDA, A. et al. Nanoemulsion of Zanthoxylum rhetsa (Roxb.) DC: Formulation, release characteristics and its potential use for anti-inflammation applications. Biocatalysis and agricultural biotechnology, v.53, n.1, 2023.
- PEIXOTO, J. F. et al. Epoxy- $\alpha$ -lapachone (2,2-Dimethyl-3,4-dihydro-spiro[2H-naphtho[2,3-b] pyran-10,2'-oxirane]-5 (10H)-one): a promising molecule to control infections caused by protozoan parasites. The Brazilian Journal of Infectious Diseases, v.27, n.2, p. 1-9, 2023.
- OLIVEIRA, V. M. et al. Composição fenólica e potencial antioxidante da casca da cebola roxa. Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais, v.13, n.6, p.167-181, 2022.
- OPAS/OMS. Dados reportados pelos Programas Nacionais de Leishmanioses. 2019. Disponível em: <https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50505/2019-cde-leish-informe-epi-das-americas.pdf>. Acesso em: 18 out. 2023.
- SILVA, A. A. S. et al. Estudo fitoquímico e atividades biológicas do limãozinho Zanthoxylum syncarpum Tull. Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal, v.8, n.1, p.37-53, 2014a.
- SILVA, A. A. S. et al. Activity of cycloartane-type triterpenes and sterols isolated from Musa paradisiaca fruit peel against Leishmania infantum chagasi. Phytomedicine. v.21, n.11, p.1419-1423, 2014b.
- SOUSA, G. et al. Toxicity and Anti-promastigote Activity of Benzoxazinoid Analogs Against Leishmania (Viannia) braziliensis and Leishmania (Leishmania) infantum. Advanced Pharmaceutical Bulletin, v.10, n.1, p.119-124, 2020.
- SUPABPHOL, R.; TANGJITJAROENKUN, J.; Chemical Constituents and Biological Activities of Zanthoxylum limonella (Rutaceae): A Review. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, v.13, n.12, p.2119-2130, 2014.
- VEIGA, A. S. S. et al. Activity of alkaloids from Aspidosperma nitidum against Leishmania amazonensis. Scientific Reports, v.12, p.1-12, 2022.
- WAGNER, H.; BLADT, S. Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas. 2.ed. München: Springer-Verlag, 2001.

**Recebido em:** 19-06-2023

**Aceito em:** 29-06-2023