

Prospecção científica e tecnológica de *Pilocarpus microphyllus* e do alcaloide epiisopiloturina com ênfase na atividade antileishmania

Scientific and technological prospection of *Pilocarpus microphyllus* and the alkaloid epiisopiloturine with emphasis on antileishmanial activity

Prospección científica y tecnológica de *Pilocarpus microphyllus* y del alcaloide epiisopiloturina con énfasis en la actividad antileishmania

Recebido: 08/06/2021 | Revisado: 16/06/2021 | Aceito: 19/06/2021 | Publicado: 02/07/2021

Paulo Sérgio de Araujo Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8764-4455>
Universidade Federal do Delta do Parnaíba, Brasil
E-mail: psergio.araujosousa@gmail.com

Silvania Siqueira Nogueira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4289-9723>
Universidade Federal do Delta do Parnaíba, Brasil
E-mail: silvania.phb@gmail.com

Karen Neisman Rodriguez Ayala

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1697-8903>
Universidade Federal do Piauí, Brasil
E-mail: karenneis701rodrizyala@gmail.com

Priscila Costa Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3605-2139>
Universidade Federal do Delta do Parnaíba, Brasil
E-mail: prycosta0309@gmail.com

Esley da Silva Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4272-0543>
Universidade Federal do Delta do Parnaíba, Brasil
E-mail: esleesantos@hotmail.com

Rodrigo Elisio de Sá

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1492-3995>
Universidade Federal do Delta do Parnaíba, Brasil
E-mail: rodrigosa238@gmail.com

Francisco Edmar Moreira de Lima Neto

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9382-0715>
Universidade Federal do Delta do Parnaíba, Brasil
E-mail: edmar_netomoreira@hotmail.com

José Roberto da Cunha Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2654-5757>
Universidade Federal do Delta do Parnaíba, Brasil
E-mail: jrcunhalima@gmail.com

Klinger Antonio da Franca Rodrigues

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3904-3529>
Universidade Federal do Delta do Parnaíba, Brasil
E-mail: klinger.antonio@gmail.com

Jefferson Almeida Rocha

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6619-2293>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: jeffersonbiotec@gmail.com

Leiz Maria Costa Vêras

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3422-2878>
Universidade Federal do Delta do Parnaíba, Brasil
E-mail: leiz.veras@gmail.com

Resumo

As leishmanioses são doenças parasitárias que afetam as populações do mundo todo, principalmente as de países em desenvolvimento. A terapêutica disponível apresenta efeitos adversos graves e a notificação de cepas resistentes é recorrente. Desse modo, mapear as informações sobre a atividade antiparasitária de plantas e metabólitos secundários, para o tratamento das leishmanioses, torna-se um processo relevante de sistematização dos estudos e tecnologias desenvolvidos com estes produtos naturais. Assim, este artigo objetivou realizar uma prospecção científica e tecnológica

da espécie *Pilocarpus microphyllus* e do alcaloide epiisopiloturina (EPI) em bases de dados de publicação de artigos e depósitos de patentes. Para isso, utilizou-se as seguintes palavras-chave, com o operador booleano AND, nas buscas: “*Pilocarpus microphyllus*”, “epiisopiloturina”, “epiisopiloturine” e “*Leishmania amazonensis*”. Os resultados demonstraram que a maioria dos artigos e patentes envolvem a palavra-chave “*Leishmania amazonensis*” (>95% para artigos, >89% para patentes) e elucidam a busca por novos agentes terapêuticos que possam substituir ou potencializar o efeito antileishmania de fármacos já utilizados. Buscas para a palavra-chave “*Pilocarpus microphyllus*” evidenciam que as publicações e patentes exploram o uso da planta e dos alcaloides deste jaborandi em aplicações biológicas, sendo que apenas um depósito de patente utiliza a planta no tratamento das leishmanioses. Para o alcaloide epiisopiloturina, quatro artigos comprovam o potencial antiparasitário da EPI e apenas uma patente evidencia a aplicação do alcaloide com atividade antileishmania. Portanto, conclui-se que as pesquisas desenvolvidas com a *P. microphyllus* e a EPI tornam o cenário científico e tecnológico promissor para o desenvolvimento de estudos e tecnologias antileishmania.

Palavras-chave: Doenças negligenciadas tropicais; Alcaloide; Jaborandi.

Abstract

Leishmaniasis is a parasitic disease that affects populations around the world, especially those in developing countries. Available therapy has serious adverse effects and reports of resistant strains are recurrent. Thus, mapping information on the antiparasitic activity of plants and secondary metabolites for the treatment of leishmaniasis becomes a relevant process for systematizing the studies and technologies developed with these natural products. Thus, this article aimed to carry out a scientific and technological survey of the species *Pilocarpus microphyllus* and the alkaloid epiisopiloturine (EPI) in databases of publication of articles and patent deposits. For this, the following keywords were used, with the boolean operator AND, in the searches: “*Pilocarpus microphyllus*”, “epiisopiloturine”, “epiisopiloturine” and “*Leishmania amazonensis*”. The results showed that most articles and patents involve the keyword “*Leishmania amazonensis*” (>95% for articles, >89% for patents) and elucidate the search for new therapeutic agents that can replace or enhance the anti-leishmania effect of drugs already used. Searches for the keyword “*Pilocarpus microphyllus*” show that publications and patents explore the use of the plant and the alkaloids of this jaborandi in biological applications, with only one patent filing using the plant in the treatment of leishmaniasis. For the epiisopiloturine alkaloid, four articles already prove the antiparasitic potential of EPI, and only one patent evidences the application of the alkaloid with antileishmanial activity. Therefore, it is concluded that the researches developed with *P. microphyllus* and EPI make the scientific and technological scenario promising for the development of antileishmania studies and technologies.

Keywords: Neglected tropical diseases; Alkaloid; Jaborandi.

Resumen

Leishmaniasis es una enfermedad parasitaria que afecta poblaciones en todo el mundo, principalmente en países en vías de desarrollo. La terapia disponible presenta efectos adversos graves y la notificación de cepas resistentes es recurrente. Es así que, mapear las informaciones sobre actividades antiparasitarias de plantas y metabolitos secundarios para el tratamiento de la leishmaniasis, se torna en un proceso relevante de sistematización de estudios y tecnología desarrollados con estos productos naturales. Por ello, el presente artículo tiene por objetivo realizar una prospección científica y tecnológica de la especie *Pilocarpus microphyllus* y del alcaloide epiisopiloturina (EPI) en base de datos de publicaciones de artículos y depósitos de patentes. Para eso, se utilizó en la búsqueda las siguientes palabras clave con el operador booleano AND: “*Pilocarpus microphyllus*”, “epiisopiloturina”, “epiisopiloturine” y “*Leishmania amazonensis*”. Los resultados demostraron que la mayoría de artículos y patentes envueltos en la palabra llave “*Leishmania amazonensis*” fueron (>95% para artículos y >89% para patentes), elucidando una búsqueda para nuevos agentes terapéuticos que puedan substituir o potencializar el efecto antileishmania de fármacos ya utilizados. Las búsquedas de la palabra clave “*Pilocarpus microphyllus*” muestran que las publicaciones y patentes exploran el uso de la planta y los alcaloides de este jaborandi en aplicaciones biológicas, con solo una solicitud de patente que utiliza la planta en el tratamiento de la leishmaniasis. Para el alcaloide epiisopiloturina, cuatro artículos ya prueban el potencial antiparasitario del EPI y solo una patente evidencia la aplicación del alcaloide con actividad antileishmania. Por tanto, se concluye que las investigaciones desarrolladas con *P. microphyllus* y EPI hacen que el escenario científico y tecnológico sea prometedor para el desarrollo de estudios y tecnologías de antileishmania.

Palabras clave: Enfermedades tropicales desatendidas; Alcaloide; Jaborandi.

1. Introdução

As doenças tropicais negligenciadas (DTNs) são um conjunto de doenças que estão presentes em mais de 149 países, ocorrendo, principalmente, em países em desenvolvimento. Estas doenças atingem, majoritariamente, indivíduos que vivem em situações de vulnerabilidade social de zonas tropicais e subtropicais (Fuller; Asiedu; Hay, 2021; Rodrigues et al., 2021). Além disso, as DTNs acumulam mais de 2 bilhões de casos registrados pelo mundo, sendo que a prevalência destas doenças em alguns

territórios torna-se um indicador direto de extrema pobreza, privação financeira e marginalização de grupos sociais específicos (Chami; Bundy, 2019; WHO, 2020; Rodrigues et al., 2021).

As leishmanioses compreendem uma das DTNs que mais atingem as populações do mundo, possuindo cerca de 12 milhões de casos registrados em mais de 98 países (Mannan et al., 2021). Os sintomas clínicos apresentados pelos pacientes dependem da espécie de *Leishmania* spp. e de como o sistema imunológico do indivíduo reage a infecção causada pelo parasita, sendo comum o surgimento de lesões cutâneas no rosto, braço, perna, nariz, boca, cavidade da garganta, tecidos circundantes e danos em órgãos internos (Khalili et al., 2019; WHO, 2020; Mannan et al., 2021; Nunes et al., 2021).

Em decorrência disso, a busca por moléculas com potencial antileishmania é essencial para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos que possibilitem menos efeitos adversos para os pacientes, tendo em vista que os tratamentos de primeira linha, como os medicamentos antimoniais pentavalentes, causam vários efeitos adversos que incluem insuficiência renal, pancreatite, cardiotoxicidade, dentre outros (Berbet et al., 2018; Raj et al., 2020; Nunes et al., 2021).

O gênero *Pilocarpus* compreende um conjunto de árvores pertencentes a família Rutaceae, que possuem amplo uso na medicina popular e elevado valor cultural, principalmente para os povos indígenas da amazônia (Lima et al., 2015; Caldeira et al., 2017; Moreira et al., 2021). As moléculas isoladas destas plantas já possuem ações farmacológicas comprovadas para o tratamento de algumas patologias e a ação biológica promovida pelo uso medicinal do jaborandi está relacionada aos metabólitos secundários presentes nestas espécies vegetais, como os alcaloides, cumarinas, flavonoides e terpenos (Santos; Moreno, 2004; Pereira et al., 2018).

A EPI, que apresenta fórmula molecular $C_{15}H_{18}N_2O_3$, é um alcaloide imidazólico presente em várias espécies de jaborandi, incluindo a *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardlew, que apresenta alguns estudos sobre o uso desta molécula para o tratamento de doenças parasitárias, sendo uma candidata com elevado potencial bioativo para o desenvolvimento de novas terapias voltadas para as DTNs (Guimarães et al., 2015; Campelo et al., 2017; Guimarães et al., 2018).

À vista disso, o mapeamento de informações acerca das atividades biológicas da *P. microphyllus* e da EPI tornam-se importantes para que a identificação das aplicações científicas e tecnológicas sejam elucidadas de maneira sistemática e direta. Este processo facilita a busca de informações sobre estudos e aplicações inovadoras desenvolvidas com a presente planta e o metabólito secundário (adaptado de Lima et al., 2015; adaptado de Sousa; Rodrigues; Alvarenga, 2020).

Assim, este artigo objetivou identificar os principais estudos e aplicações tecnológicas desenvolvidas com a planta *P. microphyllus* e com o alcaloide EPI, com ênfase na atividade antileishmania, em sites de publicações e depósitos de artigos e patentes nacionais e internacionais.

2. Metodologia

O mapeamento envolvendo a espécie *P. microphyllus* e a EPI ocorreu por meio de pesquisas em sites nacionais e internacionais de publicação de artigos e patentes, a saber: Scientific Electronic Library Online (SciELO), PubMed e Web of Science™, para artigos, e Instituto Nacional de Propriedade Industrial do Brasil (INPI), Banco de Patentes Latinoamericanas (LATIPAT), European Patent Office (EPO), World Intellectual Property Organization (WIPO) e United States Patent and Trademark Office (USPTO), para as patentes. Para as buscas, que foram realizadas durante o período de fevereiro de 2020 a abril de 2020, foram utilizados os registros encontrados nas bases até a data da realização da prospecção, em que se considerou os documentos que apresentaram no título e/ou no resumo as seguintes palavras-chave: “*Pilocarpus microphyllus*”, “epiisopiloturina”, “epiisopiloturine” e “*Leishmania amazonensis*”. Ainda, para especificar o alcance das buscas, foram realizadas combinações com as palavras-chave em todas as bases utilizadas na pesquisa, sendo que para todas as combinações fez-se o uso do operador booleano AND (adaptado de Lima et al., 2015; Sousa; Rodrigues; Alvarenga, 2020).

Como critério de exclusão dos artigos no trabalho, foram considerados apenas aqueles que apresentavam correlações com o tema de pesquisa e/ou que elucidavam algum mecanismo de ação biológico dos compostos químicos da espécie *P. microphyllus* e, principalmente, da EPI. Além disso, para os dados obtidos com a prospecção científica dos artigos, considerou-se o conteúdo científico abordado e ano de publicação do trabalho acadêmico, enquanto que para as patentes depositadas, avaliou-se a Classificação Internacional de Patentes (CIP), ano e país/organização de depósito (adaptado de Lima et al., 2015; Sousa; Rodrigues; Alvarenga, 2020).

3. Resultados e Discussão

Os resultados da prospecção científica e tecnológica, em bases nacionais e internacionais de publicação de artigos e de depósitos de patentes, elucidam as tecnologias e estudos desenvolvidos com as palavras-chave inseridas nas buscas, em que estes dados, obtidos com as pesquisas nas bases científicas e tecnológicas, são descritos e discutidos a seguir.

3.1 Prospecção Científica

As buscas para as bases de publicações de artigos do SciELO, PubMed e Web of Science™ reportaram diversos artigos para as palavras-chave utilizadas. Os dados relativos as quantidades de artigos para cada base encontram-se sumarizados a seguir, na Tabela 1.

Tabela 1 – Quantidades de artigos identificadas nas buscas e suas respectivas porcentagens.

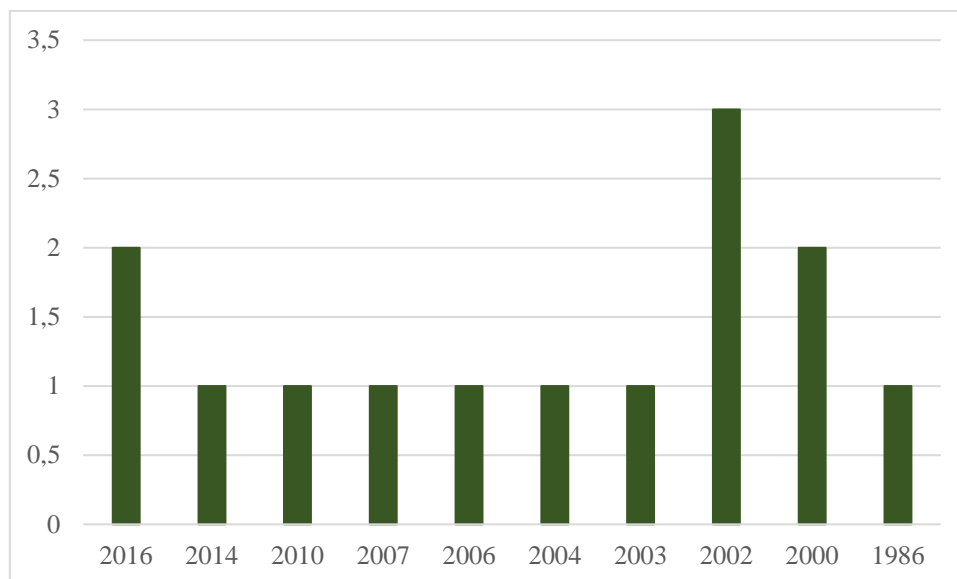
Palavras-chave e combinações	SciELO		PubMed		Web of Science™	
	Quantidade	%	Quantidade	%	Quantidade	%
<i>Pilocarpus microphyllus</i>	14	5	20	0,5	35	1
Epiisopiloturine/Epiisopiloturina	–*	–	14	0,5	18	1
<i>Leishmania amazonensis</i>	272	95	3488	99	2822	98
<i>Pilocarpus microphyllus</i> and <i>Leishmania amazonensis</i>	–	–	–	–	–	–
Epiisopiloturine/Epiisopiloturina and <i>Leishmania amazonensis</i>	–	–	–	–	–	–

Nota: *– é utilizado nesta tabela como um indicativo de que não houve nenhum resultado retornado para a busca.

Fonte: Autoria própria (2021).

Os resultados da busca científica na base do SciELO para a palavra-chave “*Pilocarpus microphyllus*” acabaram por reportar 14 artigos publicados (Tabela 1) entre os anos de 1986 e 2016, sendo que as maiores quantidades de artigos foram publicados nos anos de 2000 (14%), 2002 (22%) e 2016 (15%) (Figura 1).

Figura 1 – Distribuição de publicações de artigos, por ano, envolvendo a palavra-chave *Pilocarpus microphyllus* na base SciELO.



Fonte: A autoria própria (2021).

Dentre estes artigos, um trabalho aborda a realização de testes toxicológicos utilizando o alcaloide secundário do jaborandi, a epiisopilosina (Lucio et al., 2000), enquanto outro artigo elucida os efeitos *in vitro* da *P. microphyllus* e do cloridrato de pilocarpina sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Castro et al., 2016). Estes estudos indicam que o cloridrato de epiisopilosina possui menos toxicidade que o cloridrato de pilocarpina (Lucio et al., 2000), mas nenhum destes artigos fez uso da EPI em seus estudos, mesmo com as publicações apontando as potencialidades biotecnológicas e farmacológicas dos demais alcaloides presentes nas frações alcaloídicas das folhas do jaborandi.

Já para a palavra-chave “epiisopiloturine”, a base de publicações SciELO não retornou nenhum resultado para a busca. No entanto, para a palavra-chave “*Leishmania amazonensis*” obteve-se um total de 272 artigos publicados entre os anos de 1980 e 2020, em que as maiores quantidades de publicações ocorreram nos anos de 2010 (6%), 2011 (6%), 2012 (6%) e 2016 (7%). Algumas das pesquisas retornadas avaliam a atividade de alcaloides isolados ou de frações alcaloidais de extratos contra cepas de *Leishmania amazonensis* (Ferreira et al., 2004; Cortez et al., 2011; Kato et al., 2012; Silva et al., 2012; Medina et al., 2016; Gabriel et al., 2019), em que alguns dos mecanismos de ações farmacológicas desencadeados e descritos para alguns dos alcaloides foram a indução da morte de *L. amazonensis* por apoptose, inibição da produção de óxido nítrico (NO) em macrófagos infectados por formas amastigotas e inibição de síntese proteica.

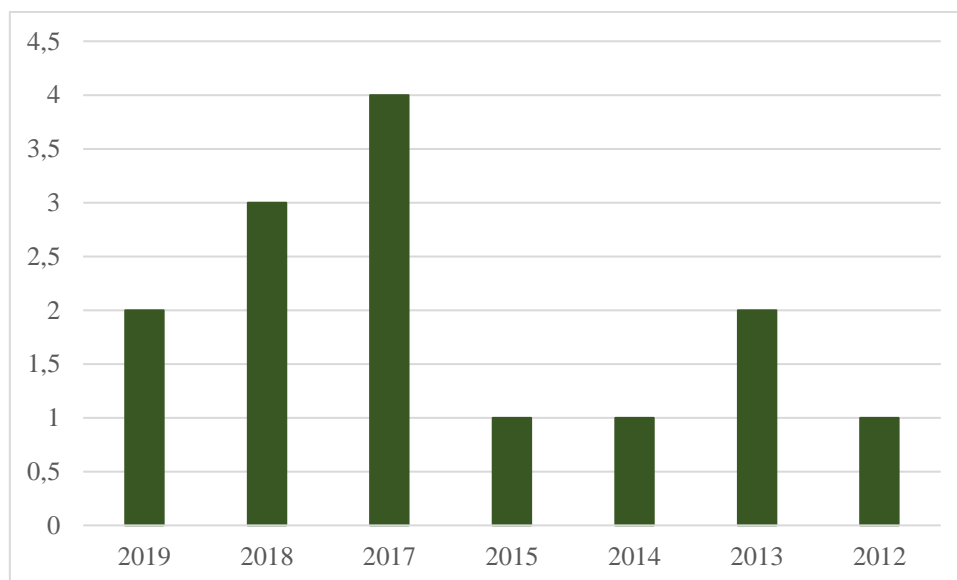
Com relação à base de artigos do PubMed, a busca envolvendo a palavra-chave “*Pilocarpus microphyllus*” identificou 20 artigos publicados até o presente momento, entre os anos de 2003 e 2018, em que as maiores quantidades de publicações ocorreram em 2007 (15%) e 2017 (20%). Além disso, alguns dos artigos encontrados exploram as mudanças sazonais de alcaloides presentes no jaborandi (Lima et al., 2017), testes *in silico* envolvendo alcaloides da *P. microphyllus* com atividades esquistossomicida que incluem a EPI (Rocha et al., 2018), atividade anti-helmíntica, antibacteriana e citotóxica de alcaloides advindos de folhas de *P. microphyllus* (Rocha et al., 2017).

Os estudos *in silico* desenvolvidos por Rocha et al. (2018), em especial os de docagem molecular, indicam as potencialidades dos alcaloides do jaborandi com alvos enzimáticos de *Schistosoma mansoni*, demonstrando que a EPI apresenta interação com a proteína tioredoxina glutationa redutase (TGR), envolvida em processos de regulação do estresse oxidativo, devido ao alcaloide formar quatro ligações de hidrogênio com a proteína, oferecendo maior energia de afinidade para o ligante,

induzindo uma potencialidade do efeito biológico antiparasitário e possibilitando a formação do complexo ligante-proteína entre a EPI e a TGR com maior estabilidade.

Já para a palavra-chave “epiisopiloturine” no PubMed, as investigações na base retornaram 14 artigos publicados entre os anos de 2012 e 2019, em que as maiores quantidades de publicações foram em 2017 (29%) e 2018 (22%) (Figura 2).

Figura 2 – Distribuição de publicações de artigos, por ano, envolvendo a palavra-chave epiisopiloturine na base PubMed.



Fonte: Autoria própria (2021).

Alguns destes estudos tratam sobre aplicações de nanopartículas poliméricas desenvolvidas a partir da goma do cajueiro acetilada para a incorporação da EPI (Rodrigues et al., 2019), a ação anti-inflamatória da EPI (Rocha et al., 2019), a ação protetora gastrointestinal do cloridrato de EPI (Nicolau et al., 2017), atividade esquistossomicida (Veras et al., 2012) e ação biológica anti-helmíntica da EPI em modelos experimentais (Guimarães et al., 2015).

Os artigos publicados por Veras et al. (2012) e Guimarães et al. (2015) fazem uso da EPI em estudos *in vitro* e *in vivo* com o helminto *S. mansoni*, comprovando que o alcaloide imidazólico é atóxico para células de mamíferos e em camundongos, podendo ser um excelente candidato para o tratamento de esquistossomose, principalmente na fase em que os vermes estão adultos, quando comparado com o medicamento praziquantel, que apesar de possuir baixa toxicidade e eficácia contra *S. mansoni*, é considerado um medicamento que pode acabar levando ao desenvolvimento de resistência do parasita ao tratamento (Botros; Bennett, 2007; Caffrey, 2007; Mäder et al., 2018).

A pesquisa da palavra-chave “*Leishmania amazonensis*”, ainda no PubMed, retornou um total de 3.488 artigos publicados entre os anos de 1971 e 2020, sendo que os anos de 2017 (6%) e 2019 (7%) obtiveram as maiores quantidades de artigos publicados. Em relação aos artigos encontrados, estes apontaram, em sua maioria, pesquisas que tratavam acerca de aplicações de moléculas bioativas para o tratamento de leishmaniose (Machín et al., 2019; Macêdo et al., 2020), sendo que alguns destes trabalhos apontam o uso de diversos alcaloides para o tratamento de leishmaniose induzida pela espécie *L. amazonensis* (Koolen et al., 2017; Salama; Arrais-Lima; Arrais-Silva, 2017; Parra et al., 2018). No entanto, não identificou-se artigos que reportavam a atividade de alcaloides, como a epiisopiloturina, provenientes do jaborandi com aplicação antileishmania nas buscas.

As buscas de artigos para a base Web of Science™, com a palavra-chave “*Pilocarpus microphyllus*” retornou 35 artigos publicados entre os anos de 1998 e 2018, sendo que o ano que recebeu a maior quantidade de artigos publicados foi 2017,

apresentando uma porcentagem de 17% em relação à quantidade total dos artigos. Além disso, os artigos encontrados nesta busca reportaram, majoritariamente, estudos com as moléculas isoladas do jaborandi e suas atividades biológicas em organismos-modelo (Portes et al., 2016; Carvalho et al., 2018; Rocha et al., 2018).

Já para a palavra-chave “epiisopiloturine”, ainda na base Web of ScienceTM, esta retornou um total de 18 artigos publicados entre o período de 1978 e 2019, apresentando as maiores quantidades de publicações os anos de 2017 (28%) e 2018 (17%). Os artigos reportados com a busca indicam que os estudos envolvendo a epiisopiloturina estão voltados, principalmente, para compreensão das atividades biológicas deste alcaloide, através de diversos modelos experimentais *in vitro* e *in vivo*, além de algumas abordagens com modelos computacionais, baseados em ferramentas que envolvem a química quântica computacional, também foram identificadas (Rocha et al., 2017; Carvalho et al., 2018; Barbosa et al., 2019; Rocha et al., 2018; Rocha et al., 2019).

Com a palavra-chave “*Leishmania amazonensis*” na base Web of ScienceTM, foram identificados 2.822 artigos publicados, entre os anos de 1972 e 2020. Desse modo, os anos que apresentaram as maiores quantidades de artigos publicados foram 2017 (7%), 2018 (7%) e 2019 (7%). Além disso, as publicações reportadas indicam, de forma geral, que os estudos envolvendo a espécie *L. amazonensis* estão concentrados em compreender a ação de novas drogas bioativas, incluindo alguns tipos de alcaloides (Machado et al., 2012; Ferreira et al., 2017; Pereira et al., 2017). Em um destes estudos, foi possível averiguar que frações do extrato bruto de ramos de *Guatteria latifolia* (*G. latifolia*), altamente ricas em alcaloides, não apresentam toxicidade para células de macrófagos e que a atividade antileishmania, contra o parasita *L. amazonensis*, está associada diretamente aos alcaloides que constituem estas frações brutas, além de que os mecanismos de indução da atividade antileishmania estão relacionados a capacidade dos extratos da *G. latifolia* conseguirem modular a produção de NO e TNF- α em macrófagos (Ferreira et al., 2017).

Dessa maneira, as buscas para as combinações das palavras-chave nas bases do SciELO, PubMed e Web of ScienceTM não retornaram artigos publicados (Tabela 1), indicando que os estudos acerca das atividades de alguns dos alcaloides do jaborandi contra parasitas da espécie *L. amazonensis* ainda permanecem inexplorados pela comunidade científica.

3.2 Prospecção Tecnológica

As buscas para as patentes, nas bases nacionais e internacionais, acabaram por identificar a presença de tecnologias e/ou processos relacionados ao jaborandi, EPI e aos parasitas da espécie *L. amazonensis*, em que as quantidades de patentes identificadas para cada base estão sumarizadas na Tabela 2.

Tabela 2 – Quantidades de patentes identificadas nas buscas e suas respectivas porcentagens.

Palavras-chave e combinações	INPI		LATIPAT		EPO		WIPO		USPTO	
	QT ⁺	%	QT	%	QT	%	QT	%	QT	%
<i>Pilocarpus microphyllus</i>	1	4	2	7	50	9,5	48	4	—*	—
Epiisopiloturine/ Epiisopiloturina	1	4	1	4	2	0,5	—	—	—	—
<i>Leishmania amazonenses</i>	24	92	25	89	481	90	1153	96	3	100
<i>Pilocarpus microphyllus</i> and <i>Leishmania amazonenses</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Epiisopiloturine and <i>Leishmania amazonenses</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

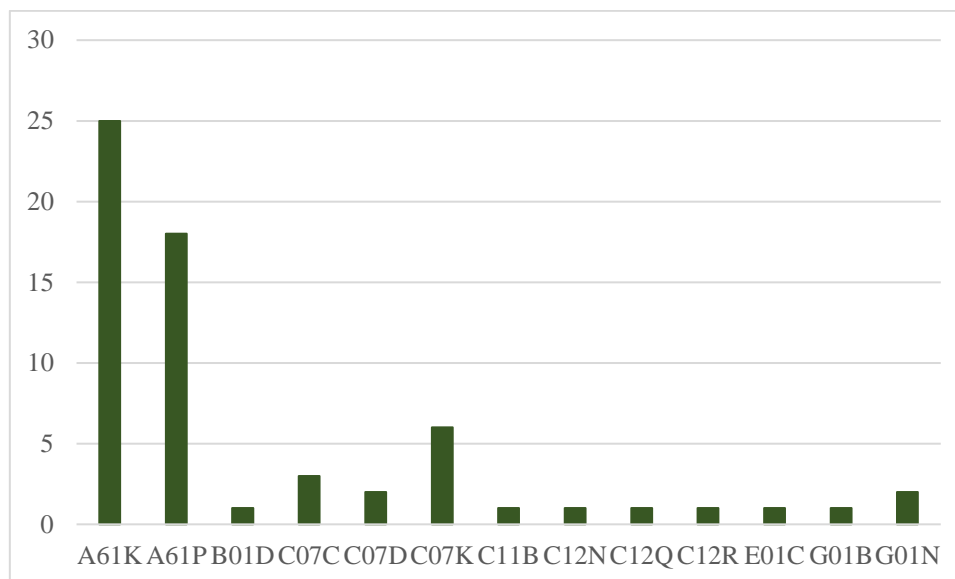
Nota: *— é utilizado nesta tabela como um indicativo de que não houve nenhum resultado retornado para a busca. ⁺QT é utilizado para abreviar a palavra quantidade nesta tabela.

Fonte: Autoria própria (2021).

Desse modo, as buscas tecnológicas na base de depósito de patentes do INPI, para as palavras-chave “*Pilocarpus microphyllus*” e “epiisopiloturine”, apresentaram apenas um depósito de patente para cada palavra-chave utilizada (Tabela 2). A patente reportada para estas palavras-chave foi depositada no ano de 2009 pelo Brasil, apresentando depósito nas classificações A61K (50%) e A61P (50%). A tecnologia identificada, com número de pedido PI 0904110-9, trata acerca do processo de obtenção da EPI e aplicação deste alcaloide contra infecções parasitárias, sendo direcionada, principalmente, para o tratamento da esquistossomose e das leishmanioses (Leite et al., 2009a). Além disso, esta é a primeira patente publicada que estabelece o processo de obtenção da EPI e aplicações antiparasitárias do alcaloide (Leite et al., 2009a).

Já para a palavra-chave “*Leishmania amazonensis*”, ainda na base de patentes do INPI, os resultados das buscas apresentaram um total de 24 patentes depositadas (Tabela 2) entre os anos de 1994 e 2018, no qual as maiores quantidades de depósitos ocorreram nos anos de 2011 (14%) e 2012 (18%), sendo que os principais países depositantes foram o Brasil (92%), Cuba (4%) e Estados Unidos (4%). Já para a CIP destas patentes, identificou-se que os principais depósitos ocorreram nas classificações A61K (40%), A61P (28%) e C07K (9%).

Figura 3 – Depósito de patentes, de acordo com a CIP, para a palavra-chave “*Leishmania amazonensis*” na base de depósito do INPI.



Fonte: Autoria própria (2021).

Nas buscas no LATIPAT, utilizando a palavra-chave “*Pilocarpus microphyllus*”, identificou-se a presença de duas patentes (Tabela 2), depositadas nos anos de 2009 (50%) e 2017 (50%), sendo depositadas pelo Brasil e México e inseridas nas classificações A61K (50%) e A61P (50%). A patente depositada pelo Brasil no LATIPAT foi a mesma depositada no INPI para as palavras-chave “*Pilocarpus microphyllus*” e “epiisopiloturine”. O registro de patente depositada pelo México trata acerca da administração de substâncias presentes na *P. microphyllus* em seres humanos, no entanto, esta não possui aplicação voltada para o tratamento de leishmaniose.

Já para a palavra-chave “epiisopiloturina” no LATIPAT, a busca apresentou apenas um resultado de depósito (Tabela 2) feito pelo Brasil no ano de 2009, em que a patente apresenta as classificações A61K (33%) e A61P (67%). A patente depositada foi a mesma encontrada nas buscas realizadas no INPI para as palavras-chave “*Pilocarpus microphyllus*” e “epiisopiloturine” e no LATIPAT para a palavra-chave “*Pilocarpus microphyllus*”, em que a tecnologia desenvolvida indica a epiisopiloturina como um potencial agente terapêutico com atividade antileishmania e esquitossomicida (LEITE et al., 2009b).

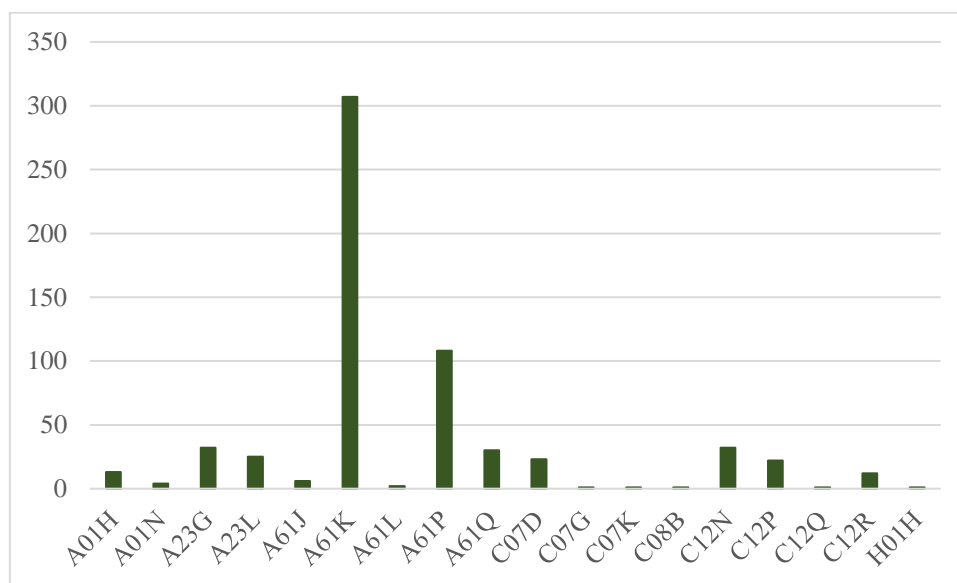
Para a palavra-chave “*Leishmania amazonensis*”, ainda no LATIPAT, obteve-se um retorno de 25 registros de patentes efetuados (Tabela 2) na base latino-americana, depositados entre os anos de 1995 e 2018, em que as maiores quantidades de depósitos de patentes ocorreram em 2011 (16%) e 2012 (16%), sendo os principais países depositantes o Brasil (84%) e a Espanha (8%). Em relação as classificações das patentes, as CIP mais recorrentes nas patentes depositadas foram a A61K (36%), A61P (28%) e C12N (9%).

Flavonoides como a rutina, isoquercitrina e quercetina, extraídos de *Dimorphandra gardneriana*, foram utilizados para o desenvolvimento de um novo fitoterápico líquido e de uma combinação farmacêutica do fitoterápico líquido de flavonoides com o fármaco antileishmania miltefosina em cápsula, nos quais ambos os produtos apresentaram resultados satisfatórios em estudos que avaliaram alguns marcadores hepáticos, renais e cardíacos contra formas promastigotas de *L. amazonensis*, em que a carga parasitária foi diminuída consideravelmente com as administrações realizadas. Nenhum efeito colateral da administração desses produtos em cães infectados com *Leishmania infantum* foram constatados, comprovando o potencial antiparasitário destes metabólitos secundários frente as espécies de *Leishmania* spp. utilizadas no invento (Mendes et al., 2018). Patentes como esta elucidam o potencial biotecnológico de metabólitos secundários extraídos de plantas, evidenciam a aplicação desta classe de

compostos químicos contra cepas de *Leishmania* e sugerem a aplicação destas substâncias como um tratamento alternativo para as leishmanioses.

Na base do EPO, com a palavra-chave “*Pilocarpus microphyllus*”, identificou-se um total de 50 patentes depositadas (Tabela 2) entre os anos de 1970 e 2019, sendo os maiores depósitos nos anos de 1996 (18%) e 2015 (10%). Em relação aos países e organizações depositantes, os que realizaram as maiores quantidades de depósitos foram os Estados Unidos (20%) e a WIPO (14%), cujas estas patentes estão inseridas principalmente nas classificações A61K (61%), A61P (10%) e A61Q (9%) (Figura 4).

Figura 4 – Depósito de patentes, de acordo com a CIP, para a palavra-chave “*Pilocarpus microphyllus*” na base de depósito do EPO.



Fonte: Autoria própria (2021).

Os resultados da avaliação das CIP das patentes (Figura 4), acabam por demonstrar que as tecnologias desenvolvidas envolvendo a *P. microphyllus* estão voltadas, majoritariamente, para o desenvolvimento de novas formulações médicas que utilizam substâncias químicas com atividades biológicas comprovadas, para o tratamento de doenças específicas, tais como as leishmanioses (WIPO, 2020). Desse modo, associa-se que o desenvolvimento de tecnologias envolvendo esta planta se deve ao amplo espectro de atividades biológicas que os constituintes da mesma apresentam e que acabam agregando elevado valor econômico a esta espécie em âmbito mundial e regional. Estudos apontam que as atividades biológicas dessa planta se devem, principalmente, aos metabólitos secundários da classe dos alcaloides (Santos; Moreno, 2004; Lima et al., 2015; Wink, 2015; Caldeira et al., 2017).

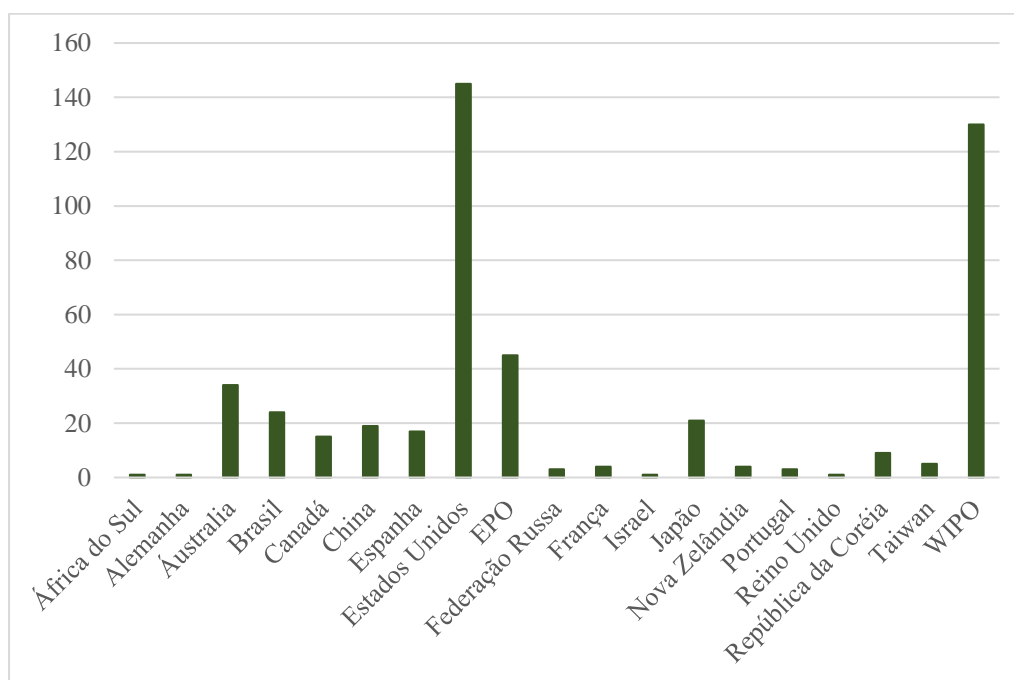
Já com a busca da palavra-chave “epiisopiloturine” na base de depósito do EPO, as buscas reportaram apenas duas patentes (Tabela 2), sendo uma patente depositada pelo Brasil em 2009 e outra patente depositada pela WIPO em 1994. As patentes depositadas estão inseridas nas classificações A61K (40%), A61P (40%) e A61Q (20%), em que a patente depositada pelo Brasil foi a mesma reportada para as análises com as palavras-chave “*Pilocarpus microphyllus*” e “epiisopiloturine”, no INPI, e para a palavra-chave “*Pilocarpus microphyllus*” e “epiisopiloturine”, no LATIPAT. A patente depositada pelo WIPO trata-se de uma inovação voltada para a produção de produtos de beleza envolvendo alguns alcaloides que constituem *P. microphyllus*, extrato de *Aloe vera* e sais solúveis de quercetina, sendo que as frações dos extratos das plantas foram enriquecidas com os alcaloides pilocarpina, pilosina, isopilosina e/ou epiisopiloturina para melhor aplicação como tônico capilar (Theophile,

1994). A aplicação da *P. microphyllus* como tônico capilar demonstra, novamente, a diversidade de espectros biológicos que esta espécie de jaborandi possui, principalmente os alcaloides destas plantas, sendo que suas aplicações tecnológicas versam desde o desenvolvimento de novos produtos aplicados a medicina tropical a produtos destinados a indústria de cosméticos (Melo; Amorim; Albuquerque, 2009; Magalhães et al., 2019).

Apesar da diversidade de aplicações tecnológicas que o jaborandi possui, percebe-se que o alcaloide EPI vem sendo pouco explorado em relação a suas aplicações tecnológicas na biotecnologia, sendo que este fato está diretamente associado ao primeiro patenteamento de processo de obtenção da EPI ter ocorrido apenas em 2009 por inventores brasileiros (Leite et al., 2009a), no INPI, e a publicação do artigo de processo de isolamento em escala industrial e caracterização espectroscópica da EPI ter ocorrido apenas em 2013 (Véras et al., 2013), impulsionando, só a partir destes anos, o desenvolvimento científico e tecnológico deste metabólito secundário.

Os resultados das buscas relacionadas a palavra-chave “*Leishmania amazonensis*”, ainda na EPO, identificaram 481 publicações de patentes (Tabela 2), tais depósitos foram realizados entre os anos de 1981 e 2018. Tais tecnologias foram depositadas principalmente nos anos de 2006 (9%) e 2008 (9%), sendo o principal país e organização depositantes os Estados Unidos (30%) e a WIPO (27%) (Figura 5).

Figura 5 – Distribuição dos países e organizações depositantes, envolvendo a palavra-chave “*Leishmania amazonensis*”, na base de depósitos do EPO.



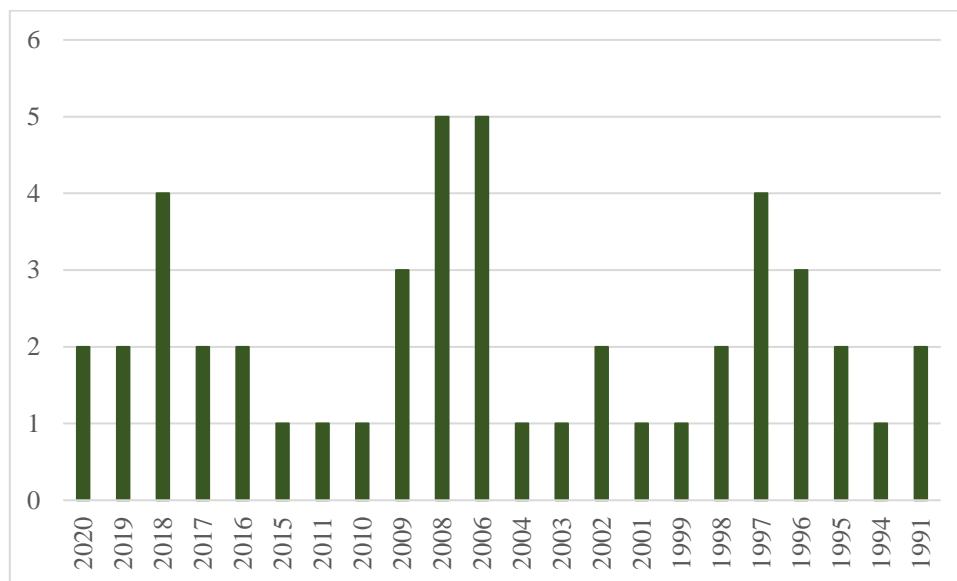
Fonte: Autoria própria (2021).

Estima-se, de maneira geral, que os avanços tecnológicos na química medicinal e a preocupação do governo estadunidense estadual e federal em realizar respostas comportamentais necessárias frente a prevalência de doenças infecciosas nas populações que vivem em situações de vulnerabilidade social tenham influenciado no elevado número de depósitos que os Estados Unidos possuem para a palavra-chave “*Leishmania amazonensis*”. Além disso, este país é um dos que mais possuem instituições de pesquisas e, portanto, produzem mais tecnologias em todas as áreas da ciência (Lombardino; Lowe, 2004; Powderly, 2016; Gütschow et al., 2020; Moreira et al., 2020; CDC, 2021).

Ainda, sobre a CIP destas patentes, identificou-se que produtos tecnológicos estão inseridos, principalmente, nas classificações C07D (43%), A61K (24%) e A61P (10%).

As buscas envolvendo a palavra-chave “*Pilocarpus microphyllus*” na base internacional de depósito de patentes do WIPO, as pesquisas retornaram um total de 48 patentes depositadas (Tabela 2) entre os anos de 1991 e 2020, recebendo as maiores quantidades de depósitos os anos de 2006 (10%) e 2008 (10%). A distribuição dos depósitos de patentes, por ano, encontrados para esta palavra-chave pode ser visualizada a seguir, na Figura 6.

Figura 6 – Distribuição de depósitos de patentes por ano, envolvendo a palavra-chave “*Pilocarpus microphyllus*”, na base WIPO.



Fonte: A autoria própria (2021).

Dentre os principais países e organizações envolvidos nesses depósitos, os que obtiveram as maiores quantidades de patentes depositadas foram os Estados Unidos (40%) e a WIPO (23%), que juntos somam 63% dos depósitos totais das tecnologias e/ou processos envolvendo a *P. microphyllus* na base do WIPO. Além disso, estas patentes estão inseridas, principalmente, nas classificações A61K (59%), A01H (9%) e A61J (8%).

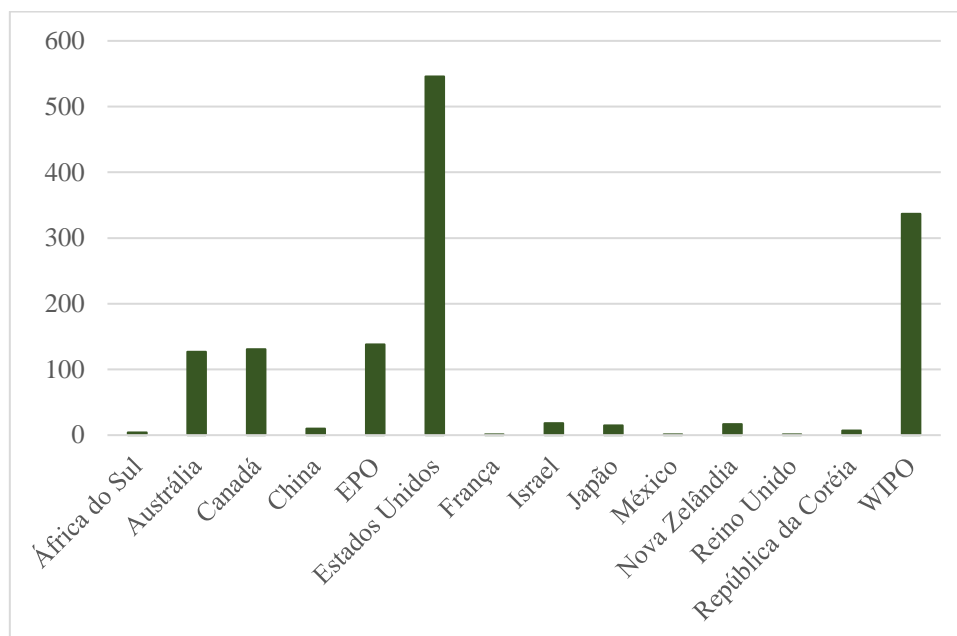
Dessa forma, os resultados aferidos para as CIP das patentes acabam por revelar que as tecnologias patenteadas, que utilizam a *P. microphyllus*, indicam que esta planta está sendo utilizada para o desenvolvimento de novas formulações medicamentosas com formas particulares de administração e para o desenvolvimento de técnicas de culturas de tecidos da *P. microphyllus* (Lima et al., 2015; WIPO, 2020). Algumas destas patentes demonstram o uso da *P. microphyllus* para o desenvolvimento de formulações nutraceuticas (Vallejo; Garcia; Soto, 2018), produtos para crescimento de cabelo (Callahan; Khan, 2008) e processos de culturas *in vitro* de *Pilocarpus* spp. para a extração e preparação da pilocarpina (Reuther, 1991).

Já para as buscas envolvendo a palavra-chave “epiisopiloturine” ainda no banco de dados do WIPO, as pesquisas não identificaram a presença de patentes depositadas com essa palavra-chave até os dias atuais (Tabela 2). O resultado para essa busca acaba por indicar que alcaloides como a EPI, presentes na composição da *P. microphyllus*, são timidamente explorados para o desenvolvimento de novas tecnologias que utilizam plantas nativas do Brasil, tais como o jaborandi (Lima et al., 2017; Moreira et al., 2020).

Para as pesquisas com a palavra-chave “*Leishmania amazonensis*”, ainda na base do WIPO, foram retornadas 1.153 patentes depositadas (Tabela 2) entre os anos de 1983 e 2020, em que ocorreram maiores quantidades de depósitos nos anos de

2006 (7%), 2007 (7%), 2009 (7%) e 2011 (9%), sendo que os principal país e organização depositante foram os Estados Unidos (40%) e a WIPO (25%) (Figura 7).

Figura 7 – Distribuição dos países e organizações depositantes, envolvendo a palavra-chave “*Leishmania amazonensis*”, na base de depósitos do WIPO.



Fonte: Autoria própria (2021).

Além disso, as patentes depositadas, envolvendo a palavra-chave “*Leishmania amazonensis*” ainda na base do WIPO, possuem depósitos principalmente nas classificações A61K (44%), C07D (13%) e C12N (9%).

No que concerne aos resultados para o banco de dados da USPTO, utilizando as palavras-chave “*Pilocarpus microphyllus*” e, em seguida, “epiisopiloturine” nas buscas, não se obteve nenhum registro de patente depositada (Tabela 2) que apresentasse as palavras-chave no título e/ou no resumo de documentos disponíveis na base até o presente momento.

Já para as buscas utilizando-se a palavra-chave “*Leishmania amazonensis*” na base do USPTO, identificou-se um total de 3 patentes depositadas (Tabela 2) nos anos de 1996 (33%), 1999 (33%) e 2009 (34%). Além disso, as patentes encontradas nas buscas estão inseridas principalmente nas classificações A61K (35%), C12N (22%) e C07D (13%).

Em relação as combinações de palavras-chave, envolvendo as bases de depósitos de patentes nacionais e internacionais abordadas na pesquisa, nenhuma patente foi reportada (Tabela 2) para as buscas das palavras-chave cruzadas, sendo este um indicativo de que são poucas as tecnologias desenvolvidas com o jaborandi e seus alcaloides para o combate de doenças parasitárias, como as leishmanioses.

De modo geral, os códigos referentes a CIP para as bases de patentes utilizadas nesta pesquisa elucidam que as tecnologias estão voltadas principalmente para o desenvolvimento de novas formulações farmacêuticas utilizando componentes químicos macromoleculares para aplicações em ensaios microbiológicos, enzimáticos, antiparasitárias, culturas de células e parasitas (WIPO, 2020).

Desse modo, as pesquisas realizadas nos sites de depósitos de patentes do INPI, LATIPAT, EPO, WIPO e USPTO retornaram poucas tecnologias patenteadas relacionadas a inovação com o jaborandi. No entanto, nota-se que o Brasil, mesmo com poucas publicações de patentes, apresenta-se como um dos países que tem se destacado no aproveitamento de moléculas

isoladas presentes na *P. microphyllus*, como o alcaloide EPI, evidenciando o potencial biotecnológico da planta e dos constituintes químicos presente nesta espécie nativa do Brasil (Lima et al., 2015; Lima et al., 2017).

4. Considerações Finais

Com a realização da prospecção científica nas bases de publicações de artigos, identificou-se a existência de diversas pesquisas publicadas relacionadas as palavras-chave utilizadas nas buscas, principalmente para a “*Leishmania amazonensis*”. Os artigos que envolvem a planta *P. microphyllus* demonstram um amplo domínio de atividades biológicas para componentes isolados da planta, principalmente para a pilocarpina, sendo que alguns destes trabalhos já comprovam o elevado potencial antiparasitário da EPI em organismos como *S. mansoni*, fomentando a hipótese de que este metabólito secundário possa exercer aplicações contra outros tipos de parasitas, como os do gênero *Leishmania*.

Ademais, as buscas tecnológicas identificaram que são poucas as patentes depositadas envolvendo as palavras-chave “*Pilocarpus microphyllus*” e “epiisopiloturine”/“epiisopiloturina”, em que apenas algumas aplicações tecnológicas são exploradas para o jaborandi e para o alcaloide. Ademais, observou-se também que o principal país e organização depositante de patente são os Estados Unidos e a WIPO, sendo que as patentes depositadas estão inseridas principalmente nas classificações A61K e A61P que envolvem a preparação de novas formulações farmacêuticas com compostos químicos que apresentam atividade terapêutica.

Portanto, conclui-se que existem poucos estudos e tecnologias desenvolvidas com o jaborandi e seus alcaloides visando a obtenção de novas drogas antiparasitárias, tornando assim o cenário científico e tecnológico próspero para a realização de novos estudos e para o desenvolvimento de novas tecnologias para o combate de parasitas do gênero *Leishmania*, tendo em vista o diverso espectro biotecnológico do jaborandi e as atividades antiparasitárias da EPI já estudadas.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí (FAPEPI), pelas bolsas de estudo.

Referências

- Alves, M. M. M., Cruz, L. P. L., Freitas, R. I. C., Costa, A. M. S., Lima, J. E. O., Reis, R. L. R., Vêras, L. M. C. & Carvalho, F. A. A. (2018). Essential Oil of *Pilocarpus Microphyllus* Stapf. Against Promastigotes Forms of *Leishmania infantum*. *Journal of Soil and Plant Biology*, 1, 40-43.
- Barbosa, M. L. L., Silva, A. V. L. P. N., Vale, L. C., Pimenta, H. B., Veras, L. M. C., Medeiros, J. V. R. & Cerqueira, G. S. (2019). Episopiloturine protected intestinal mucosa from modifications morphological induced by 5-fluorouracil in mice: The role of cyclooxygenase-2. *The FASEB Journal*, 33 (51), 767.34-7676.34.
- Berbert, T. R. N., Mello, T. F. P., Nassif, P. W., Mota, C. A., Silveira, A. V., Duarte, G. C., Demarchi, I. G., Aristides, S. M. A., Lonardoni, M. V. C., Teixeira, J. J. V. & Silveira, T. G. V. (2018). Pentavalent Antimonials Combined with Other Therapeutic Alternatives for the Treatment of Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis: A Systematic Review. *Dermatology Research and Practice*, 2018, 1-21.
- Botros, S. S. & Bennett, J. L. (2007). Praziquantel resistance. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 2 (1).
- Caffrey, C. R. (2007). Chemotherapy of schistosomiasis: present and future. *Current Opinion in Chemical Biology*, 11, 433-439.
- Callahan, D. & Khan, M. A. (2008). 7. AU2006246923 - Sistema e método para promover o crescimento do cabelo e melhorar a saúde do cabelo e do couro cabeludo. https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=AU181382096&_cid=P21-KNI7UI-23745-1
- Caldeira, C. F., Giannini, T. C., Ramos, S. J., Vasconcelos, S., Mitre, S. K., Pires, J. P. A., Ferreira, G. C., Ohashi, S., Mota, J. A., Castilho, A., Siqueira, J. O. & Furtini Neto, A. E. (2017). Sustainability of Jaborandi in the eastern Brazilian Amazon. *Perspectives in Ecology and Conservation*, 15, 161-171.
- Campelo, Y. D. M., Mafud, A. C., Vêras, L. M. C., Guimarães, M. A., Yamaguchi, L. F., Lima, D. F., Arcanjo, D. D. R., Kato, M. J., Mendonça, R. Z., Pinto, P. L. S., Mascarenhas, Y. P., Silva, M. P. N., Moraes, J., Eaton, P. & Leite, J. R. S. A. (2017). Synergistic effects of in vitro combinations of piplartine, epiisopiloturine and praziquantel against *Schistosoma mansoni*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 88, 488-499.

- Carvalho, L. R., Brito, T. V., C Júnior, J. S., Dias Júnior, G. J., Magalhães, D. A., Sousa, S. G., Silva, R. O., Silva, F. R. P., Vasconcelos, D. F. P., Vêras, L. M. C., Leite, J. R. S. A., Martins, D. S., Martins, C. S., Oliveira, J. S. & Barbosa, A. L. D. R. (2018). Epiisopiloturine, an imidazole alkaloid, reverses inflammation and lipid peroxidation parameters in the Crohn disease model induced by trinitrobenzenosulfonic acid in Wistar rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 102, 278-285.
- Castro, K. N., Lima, D. F., Wolschick, D., Andrade, I. M., Santos, R. C., Santos, F. J., Veras, L. M. & Costa-Júnior, L. M. (2016). *In vitro* effects of *Pilocarpus microphyllus* extracts and pilocarpine hydrochloride on *Rhhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 25 (2), 248-253.
- Centers for Disease Control and Prevention – CDC. (2021). *Neglected Parasitic Infections in the United States*. https://www.cdc.gov/parasites/npi/resources/npi_factsheet_18.pdf
- Chami, G. F. & Bundy, D. A. P. (2019). More medicines alone cannot ensure the treatment of neglected tropical diseases. *The Lancet Infectious Diseases*, 19, e330-e336.
- Cortez, L. E. R., Ferreira, I. C. P., Lonardoni, V. C., Ferreira, A. G., Vieira, P. C., Silva, M. F. G. F., Fernandes, J. B. & Cortez, D. A. G. (2011). Alkaloids and triterpene from *Almeida coerulea* (Nees and Mart.) a. St.-Hil. and anti-leishmanial activity. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54 (1), 61-66.
- Dutra, R. P., Bezerra, J. L., 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 geoproducts produced by stingless bee *Melipona fasciculata*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29 (3), 287-293.
- Ferreira, C., Passos, C. L. A., Soares, D. C., Costa, K. P., Rezende, M. J. C., Lobão, A. Q., Pinto, A. C., Hamerski, L. & Saraiva, E. M. (2017). Leishmanicidal activity of the alkaloid-rich fraction from *Guatteria latifolia*. *Experimental Parasitology*, 172, 51-60.
- Ferreira, I. C. P., Lonardoni, M. V. C., Machado, G. M. C., Leon, L. L., Gobbi Filho, L., Pinto, L. H. B. & Oliveira, A. J. B. (2004). Anti-leishmanial activity of alkaloidal extract from *Aspidosperma ramiflorum*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99 (3), 325-327.
- Fuller, L. C., Asiedu, K. B. & Hay, R. J. (2019). Integration of Management Strategies for Skin-Related Neglected Tropical Diseases. *Dermatologic Clinics*, 39 (1), 147-152.
- Gabriel, R. S., Amaral, A. C. F., Lima, I. C., Cruz, J. D., Garcia, A. R., Souza, H. A. S., Adade, C. M., Vermelho, A. B., Alviano, C. S., Alviano, D. S. & Rodrigues, I. A. (2019). β -Carboline-1-propionic acid alkaloid: antileishmanial and cytotoxic effects. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29 (6), 755-762.
- Gonçalves, S. V. C. B. & Costa, C. H. N. (2018). Treatment of cutaneous leishmaniasis with thermotherapy in Brazil: an efficacy and safety study. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 93 (3), 347-55.
- Guimarães, M. A., Oliveira, R. N., Vêras, L. M., Lima, D. F., Campelo, Y. D., Campos, S. A., Kuckelhaus, S. A., Pinto, P. L., Eaton, P., Mafud, A. C., Mascarenhas, Y. P., Allegretti, S. M., Moraes, J., Lolić, A., Verbić, T. & Leite, J. R. (2015). Anthelmintic activity in vivo of epiisopiloturine against juvenile and adult worms of *Schistosoma mansoni*. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 9 (3), e0003656.
- Guimarães, M. A., Oliveira, R. N., Almeida, R. L., Mafud, A. C., Sarkis, A. L. V., Ganassin, R., Silva, M. P., Roquini, D. B., Veras, L. M. C., Sawada, T. C. H., Ropke, C. D., Muehlmann, L. A., Joanitti, G. A., Kuckelhaus, S. A. S., Allegretti, S. M., Mascarenhas, Y. P., Moraes, J. & Leite, J. R. S. A. (2018). Epiisopiloturine alkaloid has activity against *Schistosoma mansoni* in mice without acute toxicity. *PLoS One*, 13, e0196667.
- Gütschow, M., Eynde, J. J. V., Jampilek, J., Kang, C., Mangoni, A. A., Fossa, P., Karaman, R., Trabocchi, A., Scott, P. J. H., Reynisson, J., Rapposelli, S., Galdiero, S., Winum, J.-Y., Brullo, C., Prokai-Tatrai, K., Sharma, A. K., Schapira, M., Azuma, Y.-T., Cerchia, L., Spetea, M., Torri, G., Collina, S., Geronikaki, A., García-Sosa, A. T., Vasconcelos, M. H., Sousa, M. E., Kosalec, I., Tuccinardi, T., Duarte, I. F., Salvador, J. A. R., Bertinaria, M., Pellecchia, M., Amato, J., Rastelli, G., Gomes, P. A. C., Guedes, R. C., Sabatier, J.-M., Estévez-Braun, A., Pagano, B., Mangani, S., Ragno, R., Kokotos, G., Brindisi, M., González, F. V., Borges, F., Miloso, M., Rautio, J. & Muñoz-Torrero, D. (2020). Breakthroughs in Medicinal Chemistry: New Targets and Mechanisms, New Drugs, New Hopes–7. *Molecules*, 25 (13).
- Kato, L., Oliveira, C. M. A., Faria, E. O., Ribeiro, L. C., Carvalho, B. G., Silva, C. C., Schuquel, I. T. A., Santin, S. M. O., Nakamura, C. V., Britta, E. A., Miranda, N., Iglesias, A. H. & Delprete, P. G. (2012). Antiprotozoal alkaloids from *Psychotria prunifolia* (Kunth) Steyererm. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 23 (2), 355-360.
- Khalili, S., Ebrahimzade, E., Mohebbi, M., Shayan, P., Mohammadi-Yeganeh, S., Moosazadeh Moghaddam, M., Elikae, S., Akhouni, B. & Sharifi-Yazdi, M. K. (2019). Investigation of the antimicrobial activity of a short cationic peptide against promastigote and amastigote forms of *Leishmania major* (MHRO/IR/75/ER): An *in vitro* study. *Experimental Parasitology*, 196, p. 48-54.
- Koolen, H. H. F., Pral, E. M. F., Alfieri, S. C., Marinho, J. V. N., Serain, A. F., Hernandez-Tasco, A. J., Andrezza, N. L. & Salvador, M. J. (2017). Antiprotozoal and antioxidant alkaloids from *Alternanthera littoralis*. *Phytochemistry*, 134, 106-113.
- Leite, J. R. S. A., Miura, L. M. C., Lima, D. F., Carneiro, S. L. P., Carvalho, F. A. A., Moraes, J. & Batista, M. C. Z. (2009a). *processo de obtenção de epiisopiloturina e sua aplicação no combate à infecções parasitárias*. <https://busca.inpi.gov.br/pePI/servlet/PatenteServletController?Action=detail&CodPedido=812780&SearchParameter=EPIISOPILOTURINA%20%20%20%20%20%20&Resumo=&Titulo=>
- Leite, J. R. S. A., Miura, L. M. C. V., Fernandes, D. L., Carneiro, S. M. P., Carvalho, F. A. A., Moraes, J. & Batista, M. C. Z. (2009b). *processo de obtenção de epiisopiloturina e sua aplicação no combate à infecções parasitárias*. https://lp.espacenet.com/publicationDetails/biblio?II=1&ND=3&adjacent=true&locale=pt_LP&FT=D&date=20110531&CC=BR&NR=PI0904110A2&KC=A2
- Lima, D. F., Silva, R. A. O., Marques, L. G. A., Vêras, L. M. C., Simões, E. R. B., Leite, J. R. S. A., Santos, M. R. M. C. & Pessoa, C. (2015). Prospecção tecnológica do jaborandi (*Pilocarpus Microphyllus*): espécie economicamente importante no norte e nordeste do Brasil. *Revista GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias*, 5 (1), 1626-1638.

- Lima, D. F., Lima, L. I., Rocha, J. A., Andrade, I. M., Grazina, L. G., Villa, C., Meira, L., Vêras, L. M., Azevedo, I. F., Biase, A. G., Costa, J., Oliveira, M. B., Mafra, I. & Leite, J. R. (2017). Seasonal change in main alkaloids of jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth), an economically important species from the Brazilian flora. *PLoS One*, 12 (2), e0170281.
- Lombardino, J. & Lowe, J. The role of the medicinal chemist in drug discovery — then and now. (2004). *Nature Reviews Drug Discovery*, 3, 853–862.
- Lucio, E. M. R. A., Rosalen, P. L., Sharapin, N. & Brito, A. R. M. S. Avaliação toxicológica aguda e screening hipocrático da epiisopilosina, alcalóide secundário de *Pilocarpus microphyllus* Stapf. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 9, n. 10, 2000.
- Macêdo, C. G., Fonseca, M. Y. N., Caldeira, A. D., Castro, S. P., Pacienza-Lima, W., Borsodi, M. P. G., Sartoratto, A., Silva, M. N., Salgado, C. G., Rossi-Bergmann, B. & Castro, K. C. F. (2020). Leishmanicidal activity of *Piper marginatum* Jacq. from Santarém-PA against *Leishmania amazonensis*. *Experimental Parasitology*, 210, 107847.
- Machado, P. A., Hilário, F. F., Carvalho, L. O., Silveira, M. L., Alves, R. B., Freitas, R. P. & Coimbra, E. S. (2012). Effect of 3-alkylpyridine marine alkaloid analogues in *Leishmania* species related to American cutaneous leishmaniasis. *Chemical Biology & Drug Design*, 80 (5), 745-751.
- Machín L., Tamargo, B., Piñón, A., Atíes, R. C., Scull, R., Setzer, W. N. & Monzote, L. (2019). *Bixa orellana* L. (Bixaceae) and *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (Amaranthaceae) Essential Oils Formulated in Nanocochleates against *Leishmania amazonensis*. *Molecules*, 24 (23), 4222.
- Mäder, P., Rennar, G. A., Ventura, A. M. P., Grevelding, C. G. & Schlitzer, M. (2018). Chemotherapy for Fighting Schistosomiasis: Past, Present and Future. *ChemMedChem*, 13 (22), 2374-2389.
- Magalhães, K. N., Guarniz, W. A. S., Sá, K. M., Freire, A. B., Monteiro, M. P., Nojosa, R. T., Bieski, I. G. C., Custódio, J. B., Balogun, S. O. & Bandeira, M. A. M. (2019). Medicinal plants of the Caatinga, northeastern Brazil: Ethnopharmacopeia (1980–1990) of the late professor Francisco José de Abreu Matos. *Journal of Ethnopharmacology*, 237, 314-353.
- Mannan, S. B., Elhadad, H., Loc, T. T. H., Sadik, M., Mohamed, M. Y. F., Nam, N. H., Thuong, N. D., Hoang-Trong, B.-L., Duc, N. T. M., Hoang, A. N., Elhusseiny, K. M., Minh, L. H. N., Quynh, T. T. H., Nghia, T. L. B., Nhu, Y. M., Tieu, T. M., Hirayama, K., Huy, N. T. & Hamano, S. (2021). Prevalence and associated factors of asymptomatic leishmaniasis: a systematic review and meta-analysis. *Parasitology International*, 81, 102229.
- Medina, R. P., Schuquel, I. T. A., Pomini, A. M., Silva, C. C., Oliveira, C. M. A., Kato, L., Nakamura, C. V. & Santin, S. M. O. (2016). Ixorine, a New Cyclopeptide Alkaloid from the Branches of *Ixora brevifolia*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 27 (4), 753-758.
- Melo, J.G., Amorim, E. L. C. & Albuquerque, U. P. (2009). Native medicinal plants commercialized in Brazil – priorities for conservation. *Environmental Monitoring and Assessment*, 156, 567-580.
- Mendes, N. P., Vieira, I. G. P., Freitas, J. C. C., Guedes, M. I. F. & Morais, S. M. (2018). *desenvolvimento de produtos fitoterápicos adjuvantes no tratamento da leishmaniose visceral canina*. https://p.espacenet.com/publicationDetails/biblio?II=3&ND=3&adjacent=true&locale=pt_LP&FT=D&date=20200107&CC=BR&NR=102018009796A2&KC=A2
- Morais, S. M., Cossolosso, D. S., Silva, A. A. S., Moraes Filho, M. O., Teixeira, M. J., Campello, C. C., Bonilla, O. H., Paula Júnior, V. F. & Vila-Nova, N. S. (2019). Essential Oils from *Croton* Species: Chemical Composition, *in vitro* and *in silico* Antileishmanial Evaluation, Antioxidant and Cytotoxicity Activities. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 30 (11), 2404-2412.
- Moreira, G., Lima, C., Andrade, D., Rego, N., Passos, I., Moraes, J., Lima, F. & Rocha, J. (2020). Study of metal complexes of ruthenium against schistosomiasis: A scientific and technological prospect. *Journal of Global Innovation*, 2 (1), 1-11.
- Moreira, R. K. V. P. P., Lameira, O. A., Campelo, M. F. & Ramires, A. C. S. (2021). Estudo fenológico do germoplasma de *Pilocarpus microphyllus* Stapf Ex Wardleworth correlacionado com elementos climáticos. *Research, Society and Development*, 10 (5), e7710514626.
- Nicolau, L. A. D., Carvalho, N. S., Pacífico, D. M., Lucetti, L. T., Aragão, K. S., Vêras, L. M. C., Souza, M. H. L. P., Leite, J. R. S. A. & Medeiros, J. V. R. (2017). Epiisopiloturine hydrochloride, an imidazole alkaloid isolated from *Pilocarpus microphyllus* leaves, protects against naproxen-induced gastrointestinal damage in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 87, 188-195.
- Nunes, T. A. L., Costa, L. H., Sousa, J. M. S., Souza, V. M. R., Rodrigues, R. R. L., Val, M. C. A., Pereira, A. C. T. C.; Ferreira, G. P., Silva, M. V., Costa, J. M. A. R., Vêras, L. M. C., Diniz, R. C. & Rodrigues, K. A. F. (2021). *Eugenia piauhiensis* Vellaff. essential oil and γ -elemene its major constituent exhibit antileishmanial activity, promoting cell membrane damage and *in vitro* immunomodulation. *Chemico-Biological Interactions*, 339, 109429.
- Parra, L. L. L., Bertonha, A. F., Severo, I. R. M., Aguiar, A. C. C., Souza, G. E., Oliva, G., Guido, R. V. C., Grazia, N., Costa, T. R., Miguel, D. C., Gadelha, F. R., Ferreira, A. G., Hajdu, E., Romo, D. & Berlinck, R. G. S. (2018). Isolation, Derivative Synthesis, and Structure-Activity Relationships of Antiparasitic Bromopyrrole Alkaloids from the Marine Sponge *Tedania brasiliensis*. *Journal of Natural Products*, 81 (1), 188-202.
- Pereira, M. D. P., Silva, T., Aguiar, A. C. C., Oliva, G., Guido, R. V. C., Yokoyama-Yasunaka, J. K. U., Uliana, S. R. B. & Lopes, L. M. X. (2017). Chemical Composition, Antiprotozoal and Cytotoxic Activities of Indole Alkaloids and Benzofuran Neolignan of *Aristolochia cordigera*. *Planta Medica*, 83 (11), 912-920.
- Pereira, R. C., Nonato, C. F. A., Camilo, C. J., Coutinho, H. D. M., Rodrigues, F. F. G., Xiao, J. & Costa, J. G. M. (2018). Development and validation of a rapid RP-HPLC-DAD analysis method for the quantification of pilocarpine in *Pilocarpus microphyllus* (Rutaceae). *Food and Chemical Toxicology*, 119, 106–111.
- Portes, M. C., Moraes, J., Vêras, L. M. C., Leite, J. R., Mafud, A. C., Mascarenhas, Y. P., Luz, A. E. V., Lima, F. C. D. A., Nascimento, R. R., Petrilli, H. M., Pinto, P. L. S., Althoff, G. & Ferreira, A. M. C. (2016). Structural and spectroscopic characterization of epiisopiloturine-metal complexes, and anthelmintic activity vs. *S. mansoni*. *Journal of Coordination Chemistry (Print)*, 69, 01-21.
- Powderly, W. G. (2016). *Public Policy and Infectious Disease Prevention and Control*. Prevention, Policy, and Public Health. Oxford, UK: Oxford University Press.

Raj, S., Sasidharan, S., Balaji, S. N., Dubey, V. K. & Saudagar, P. (2020). Review on natural products as an alternative to contemporary anti-leishmanial therapeutics. *Journal of Proteins and Proteomics*, 11, 135-158.

Reuther, G. R. (1991). *1. US5059531 - PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE PILOCARPINA A PARTIR DE CULTURAS IN VITRO DE PILOCARPUS*. https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=US38014749&_cid=P21-KNI7Q6-22667-1

Rocha, J. A., Andrade, I. M., Vêras, L. M., Quelemes, P. V., Lima, D. F., Soares, M. J., Pinto, P. L., Mayo, S. J., Ivanova, G., Rangel, M., Correia, M., Mafud, A. C., Mascarenhas, Y. P., Delerue-Matos, C., Moraes, J., Eaton, P. & Leite, J. R. (2017). Anthelmintic, Antibacterial and Cytotoxicity Activity of Imidazole Alkaloids from *Pilocarpus microphyllus* Leaves. *Phytotherapy Research*, 31 (4), 624-630.

Rocha, J. A., Rego, N. C. S., Carvalho, B. T. S., Silva, F. I., Sousa, J. A., Ramos, R. M., Passos, I. N. G., Moraes, J., Leite, J. R. S. A. & Lima, F. C. A. (2018). Computational quantum chemistry, molecular docking, and ADMET predictions of imidazole alkaloids of *Pilocarpus microphyllus* with schistosomicidal properties. *PLOS ONE*, 13 (6), e0198476.

Rocha, T. M., Machado, N. J., Sousa, J. A. C., Araujo, E. V. O., Guimaraes, M. A., Lima, D. F., Leite, J. R. S. A. & Leal, L. K. A. M. (2019). Imidazole alkaloids inhibit the pro-inflammatory mechanisms of human neutrophil and exhibit anti-inflammatory properties *in vivo*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 71, 849-859.

Rodrigues, J. A., Araújo, A. R., Pitombeira, N. A., Plácido, A., Almeida, M. P., Veras, L. M. C., Delerue-Matos, C., Lima, F. C. D. A., Batagin Neto, A., Paula, R. C. M., Feitosa, J. P. A., Eaton, P., Leite, J. R. S. A. & Silva, D. A. (2019). Acetylated cashew gum-based nanoparticles for the incorporation of alkaloid epiisopiloturine. *International Journal of Biological Macromolecules*, 128, 965-972.

Rodrigues, R. R. L., Nunes, T. A. L., Araújo, A. R., Marinho Filho, J. D. B., Silva, M. V., Carvalho, F. A. A., Pessoa, O. D. L., Freitas, H. P. S., Rodrigues, K. A. F. & Araújo, A. J. (2021). Antileishmanial activity of cordiaquinone E towards *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. *International Immunopharmacology*, 90, 1-9.

Salama, I. C., Arrais-Lima, C. & Arrais-Silva, W. W. (2017). Evaluation of Boldine Activity against Intracellular Amastigotes of *Leishmania amazonensis*. *The Korean Journal of Parasitology*, 55 (3), 337-340.

Santos, A. P. & Moreno, P. R. H. (2004). *Pilocarpus* spp.: A survey of its chemical constituents and biological activities. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 40 (2).

Silva, F. M. A., Koolen, H. H. F., Lima, J. P. S., Santos, D. M. F., Jardim, I. S., Souza, A. D. L. & Pinheiro, M. L. B. (2012). Leishmanicidal activity of fractions rich in aporphine alkaloids from Amazonian *Unonopsis* species. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22 (6), 1368-1371.

Silva, L. A. L., Moraes, M. H., Scotti, M. T., Scotti, L., Souza R. J., Ouete, J. L. N., Biavatti, M. W., Steindel, M. & Sandjo, L. P. (2019). Antiprotozoal investigation of 20 plant metabolites on *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania amazonensis* amastigotes. Atalantoflavone alters the mitochondrial membrane potential. *Parasitology*, 146 (7), 849-856

Sousa, P. S. A., Rodrigues, M. G. & Alvarenga, E. M. (2020). Prospecção Tecnológica, com Ênfase nas Atividades Biológicas Nematicida e Larvicida, do Óleo Essencial do Cravo-da-Índia e do Eugenol. *Cadernos de Prospecção*, 13 (1), 154-170.

Theophile, J. M. (1994). composições cosméticas compreendendo os extratos de *pilocarpus* jaborandi, aloe vera. <https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/004058058/publication/WO9616667A1?q=pn%3DWO9616667A1>

Vallejo, J. C. A., Garcia, A. S. & Soto, R. G. (2018). 15. *MX2017001880 - formulação nutracêutica para administração oral de pilocarpus microphyllus, lactoferrina e óleo de peixe em humanos*. https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=MX233150202&_cid=P21-KNI7V7-23870-2

Veras, L. M., Guimaraes, M. A., Campelo, Y. D., Vieira, M. M., Nascimento, C., Lima, D. F., Vasconcelos, L., Nakano, E., Kuckelhaus, S. S., Batista, M. C., Leite, J. R. & Moraes, J. (2012). Activity of epiisopiloturine against *Schistosoma mansoni*. *Current Medicinal Chemistry*, 19 (13), 2051-2058.

Vêras, L. M. C., Cunha, V. R. R., Lima, F. C. D. A., Guimarães, M. A., Vieira, M. M., Campelo, Y. D. M., Sakai, V. Y., Lima, D. F., Carvalho Júnior, P. S., Ellena, J. A., Silva, P. R. P., Vasconcelos, L. C., Godejohann, M., Petrilli, H. M., Constantino, V. R. L., Mascarenhas, Y. P. & Leite, J. R. S. A. (2013). Industrial Scale Isolation, Structural and Spectroscopic Characterization of Epiisopiloturine from *Pilocarpus microphyllus* Stapf Leaves: A Promising Alkaloid against Schistosomiasis. *PLOS ONE*, 8 (6), e66702.

Wink, M. (2015). Modes of Action of Herbal Medicines and Plant Secondary Metabolites. *Medicines*, 2, 251-286.

World Intellectual Property Organization – WIPO. (2020). *IPC Publication*. <https://www.wipo.int/classifications/ipc/ipcpub/?notion=scheme&version=20200101&symbol=none&menulang=en&lang=en&viewmode=f&fipipc=no&sho wdeleted=yes&indexes=no&headings=yes¬es=yes&direction=o2n&initial=A&cwid=none&tree=no&searchmode=smart>

World Health Organization – WHO. (2020). *Leishmaniasis*. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>