

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS
DISCIPLINA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO II**

Yasmim de Oliveira Dalsenter

**Efeitos antimicrobianos e de toxicidade da planta *Tetradenia riparia* e seus derivados:
uma revisão sistemática de estudos pré-clínicos**

Florianópolis
2022

Yasmim de Oliveira Dalsenter

**Efeitos antimicrobianos e de toxicidade da planta *Tetradenia riparia* e seus derivados:
uma revisão sistemática de estudos pré-clínicos**

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para conclusão do Curso de Graduação em Farmácia.
Orientador: Prof.^a Dr.^a Izabel Galhardo Demarchi.

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Dalsenter, Yasmim de Oliveira Dalsenter
Efeitos antimicrobianos e de toxicidade da planta
Tetradenia riparia e seus derivados: uma revisão
sistemática de estudos pré-clínicos / Yasmim de Oliveira
Dalsenter Dalsenter ; orientador, Izabel Galhardo
Demarchi, 2022.
47 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Tetradenia riparia. 3. Revisão
sistemática. 4. Atividade antimicrobiana. 5. Toxicidade.
I. Galhardo Demarchi, Izabel. II. Universidade Federal de
Santa Catarina. Graduação em Farmácia. III. Título.

Yasmim de Oliveira Dalsenter

**Efeitos antimicrobianos e de toxicidade da planta *Tetradenia riparia* e seus derivados:
uma revisão sistemática de estudos pré-clínicos**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de "Farmacêutico" e aprovado em sua forma final pelo Curso de Farmácia.

Florianópolis, 25 de julho de 2022.



Documento assinado digitalmente

Liliete Canes Souza Cordeiro

Data: 01/08/2022 20:05:01-0300

CPF: 572.397.380-00

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Profa. Dra. Liliete Canes de Souza

Coordenadora do Curso



Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente

IZABEL GALHARDO DEMARCHI

Data: 01/08/2022 15:34:09-0300

CPF: 046.479.779-94

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Profa. Dra. Izabel Galhardo Demarchi

Orientadora

Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente

Iara Fabrícia Kretzer

Data: 02/08/2022 13:40:06-0300

CPF: 006.010.419-84

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Profa. Dra. Iara Fabrícia Kretzer

Avaliadora

Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente

EDUARDO MONGUILHOTT DALMARCO

Data: 01/08/2022 15:03:26-0300

CPF: 907.886.489-34

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. Eduardo Monguilhott Dalmarco

Avaliador

Universidade Federal de Santa Catarina

Dedico este trabalho a todos que acreditaram que eu era capaz ao longo desses 23 anos, mesmo quando eu mesma pensei que não conseguiria.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à minha avó, dona Adélia Savariz, por sempre ter acreditado que eu conseguiria conquistar as coisas que um dia sonhei e por ter me ensinado que a vida pode ser muito mais leve se observada da perspectiva do amor e não do ódio.

Agradeço também à pessoa que se esforçou tanto quanto eu para que eu chegasse até aqui com o máximo de estabilidade e tranquilidade possíveis, minha irmã Maitê, que é quem divide um neurônio comigo e que foi minha companhia e minha maior torcida em diversos momentos.

Agradeço aos meus pais, Iara e André, que me trouxeram ao mundo e me deram os maiores presentes que eu poderia querer, meus irmãos, Maitê, Marta, Marcella e André Matheus. Também serei eternamente grata a todos os meus tios e tias, que foram meus pilares em diversos momentos e que fizeram parte da construção de quem eu sou hoje, em especial aos meus tios Maurício e Ana por todos os ensinamentos quando eu era ainda apenas uma menininha tagarela. Às minhas primas Maria Júlia e Stéfani, por terem sonhado junto comigo e por terem estado sempre ao meu lado, desde o primeiro momento.

Agradeço aos meus amigos de infância Pâmela, Eduarda e Othávio, que nunca saíram do meu lado mesmo com toda a distância. Ao Cadu, à Eduarda S., à Eduarda L., ao Ricardo e à Pamela, por todas as conversas aleatórias, karaokês e noites viradas juntos ao longo dos últimos anos. À minha grande amiga, irmã de outra mãe, Rafaela, por ter me apresentado a profissão pela qual me apaixonei e por todos os momentos que compartilhamos. Ao meu querido Lucas, pelas risadas e incentivos.

Agradeço também aos presentes que ganhei nos meus anos de UFSC: Leticia e Vitória, minhas companheiras de militância e das infindáveis reuniões, discussões e perrengues inerentes ao movimento estudantil; Marina, minha caloura-filha e amiga nas horas boas e ruins; Kharol e Marcela, por todas as horas de trabalho juntas na farmácia clínica, todos os resumos compartilhados e todas as dúvidas esclarecidas; aos professores incríveis com quem tive a honra de aprender e hoje posso chamar de amigos e aos demais colegas de turma.

Gostaria de agradecer à minha família de Floripa: Vivian, Isabel e Priscila, minhas irmãs que encontrei por acaso dentro do laboratório e levarei comigo por toda a vida; Thaís, Hanna, Bruna, Victória, Vitória, Virgínia e João Vitor, os melhores companheiros de jornada que eu poderia ter ao lado nesses 5 longos anos. Amo cada um de vocês com todo meu coração, sem vocês eu não teria chegado aqui. Obrigada por salvarem e mudarem a minha

vida, por me aceitarem exatamente por quem eu sou e por nunca desistirem de mim, mesmo quando eu estava errada.

Obrigada Prof^a Dr^a Izabel Galhardo Demarchi por aceitar ser minha orientadora e ter confiado no meu trabalho e pela amizade, todo o aprendizado que tive contigo será levado para sempre na minha vida profissional e pessoal. Agradeço também aos professores Dr. Eduardo Dalmarco, Dr^a Ziliani Silva Buss e Dr^a Iara Fabrícia Kretzer por aceitarem serem minha banca.

Por fim, gostaria de agradecer à Universidade Federal de Santa Catarina por todo o acolhimento, por ser minha segunda casa e por me proporcionar alguns dos melhores momentos da minha vida. Foi um privilégio viver esses anos nessa instituição séria, de qualidade e comprometida com o futuro do país e do mundo. Serei eternamente grata.

*“Pushed from the precipice
Climbed right back up the cliff
Long story short, I survived”*

(Taylor Swift)

RESUMO

Esta revisão sistemática tem como objetivo avaliar o potencial antimicrobiano e a toxicidade da *Tetradenia riparia*, uma planta arbustiva rica em flores que costuma ser utilizada em práticas de medicina tradicional de diferentes regiões, e de seus derivados, em ensaios pré-clínicos. Realizamos este estudo de acordo com as recomendações do PRISMA e o registramos no PROSPERO (CRD42022309734). Pesquisamos em cinco bases de dados usando diferentes combinações de termos, como o nome da espécie vegetal, para recuperar o maior número possível de artigos. A estratégia PICOS foi aplicada para formular a questão de pesquisa, os critérios de elegibilidade (inclusão e exclusão) e a extração de dados. A seleção dos artigos foi realizada por dois pares de revisores independentes e cegados, com um especialista removendo as discrepâncias. Um total de 19 estudos foram incluídos na revisão. Os resultados obtidos demonstram que a planta estudada apresenta baixa toxicidade contra células humanas, o que demonstra que possivelmente a mesma é segura para uso. Também foram demonstrados resultados bastante promissores em se tratando das atividades antibacteriana, antifúngica, anti-helmíntica e antiparasitária, com destaque para os efeitos anti-*Leishmania* e anti-*M. tuberculosis*.

Palavras-chave: *Tetradenia riparia*. Revisão sistemática. Farmacologia. Antimicrobiano. Toxicidade.

ABSTRACT

This systematic review aims to evaluate the antimicrobial potential and toxicity of *Tetradenia riparia*, a flowering shrub that is commonly used in traditional medicine practices in different regions, and its derivatives, in pre-clinical trials. We performed this study in accordance with PRISMA recommendations and registered it with PROSPERO (CRD42022309734). We searched five databases using different combinations of terms, such as the name of the plant species, to retrieve as many articles as possible. The PICOS strategy was applied to formulate the research question, eligibility criteria (inclusion and exclusion) and data extraction. The selection of articles was performed by two pairs of independent and blinded reviewers, with an expert removing discrepancies. A total of 19 studies were included in the review. The results obtained demonstrate that the studied plant has low toxicity against human cells, which demonstrates that it is possibly safe for use. Very promising results were also shown in terms of antibacterial, antifungal, anthelmintic and antiparasitic activities, with emphasis on the anti-*Leishmania* and anti-*M. tuberculosis*.

Keywords: *Tetradenia riparia*. Systematic review. Pharmacology. Antimicrobial. Toxicity.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 JUSTIFICATIVA.....	13
3 OBJETIVOS.....	14
3.1 OBJETIVO GERAL.....	14
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
4 METODOLOGIA.....	15
4.1 ESTRATÉGIA DE PESQUISA E BUSCA NA LITERATURA.....	17
4.2 SELEÇÃO DOS ESTUDOS.....	18
4.3 EXTRAÇÃO DOS DADOS.....	19
4.4 ANÁLISE DO RISCO DE VIÉS.....	19
4.5 SÍNTESE DAS EVIDÊNCIAS.....	20
5 RESULTADOS.....	21
5.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS ESTUDOS INCLUÍDOS.....	21
5.2 TOXICIDADE.....	25
5.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	31
5.3.1 Atividade antibacteriana.....	31
5.3.2 Atividade antifúngica.....	34
5.3.3 Atividade antiparasitária.....	36
6 DISCUSSÃO.....	39
7 CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS.....	44

1 INTRODUÇÃO

Popularmente conhecida como pau-de-incenso ou falsa-mirra, a planta *Tetradenia riparia* (*T. riparia*), é uma espécie arbustiva pertencente à família Lamiaceae. Sua altura é variável, podendo chegar aos dois metros. Possui flores com coloração que pode variar do branco ao lilás, as quais possuem um perfume agradável, características atraentes para diversos agentes polinizadores. Suas folhas (Figura 1) são espessas, pubescentes, de cor verde-clara, com margens irregulares e levemente aromáticas, possuindo formas que podem variar de ovais a cordiformes (PATRO, 2016).

Figura 1 - Folhas da *T. riparia*



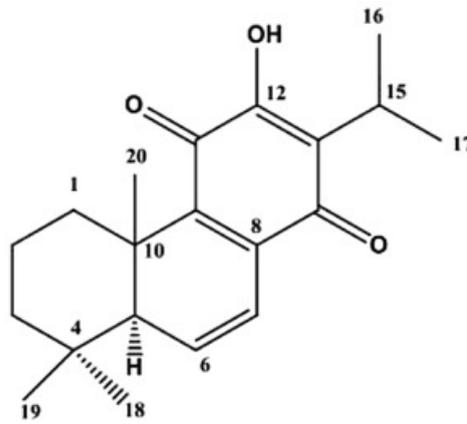
Fonte: Patro, 2016.

Por ser uma planta aromática e rica em flora, costuma ser utilizada de forma ornamental em jardins, parques e casas em regiões de clima subtropical e temperado, especialmente no Brasil, na África e na Ásia. Em práticas da medicina tradicional, tanto africana quanto asiática, o extrato da planta é utilizado no tratamento de doenças inflamatórias e infecciosas. *T. riparia* também pode ser conhecida por *Iboza riparia* ou *Moschoma riparium* (MARTINS *et al.*, 2008).

Os óleos essenciais (OE) extraídos das folhas de *T. riparia* são os maiores alvos de investigação científica para a busca de compostos com propriedades farmacológicas., já que neles são encontrados complexos de terpenóides que incluem monoterpenos, sesquiterpenos e

diterpenos (Figura 2), bem como α -pironas e compostos fenólicos (GAZIM *et al.*, 2010; DEMARCHI *et al.*, 2015a, 2016). As porcentagens dos isolados podem variar dependendo da estação do ano e do local de cultivo da planta. Um bom exemplo disso foi demonstrado quando extrações de OE de plantas cultivadas no Brasil apresentaram uma quantidade muito maior de sesquiterpenos quando comparadas com aquelas cultivadas no continente africano (CARDOSO *et al.*, 2015).

Figura 2 - Estrutura química do diterpeno 6,7-dehidrooleanona isolado do óleo essencial de *T. riparia*.



Fonte: Demarchi et al. 2015a.

A *T. riparia* e seus derivados têm mostrado potencial farmacológico para o tratamento de diversas doenças. Já foram descritas na literatura atividades antimicrobianas (GAZIM *et al.*, 2010), anti-micobactérias causadoras da tuberculose (BALDIN *et al.*, 2018), anti-*Leishmania* (DEMARCHI *et al.*, 2015a; CARDOSO *et al.*, 2015; DEMARCHI *et al.*, 2016; TERRON-MONICH *et al.*, 2018), anti-helmíntica (VAN PUYVELDE *et al.*, 2018), antioxidante (FRIEDRICH *et al.*, 2020), analgésica (GAZIM *et al.*, 2010), bem como foram descritos efeitos imunomodulatórios (DEMARCHI *et al.*, 2015b). Considerando as diversas publicações sobre o tema, e que a maioria dos estudos foram conduzidos *in vitro* e com escassos testes pré-clínicos, torna-se importante a síntese qualitativa e crítica dos resultados encontrados por esses estudos, a fim de levantar a melhor evidência sobre o potencial farmacológico desta planta e seus derivados.

Dentre os diversos modelos de síntese de evidências existentes, a revisão sistemática (RS) reúne da literatura os melhores estudos primários com alto rigor na seleção e interpretação, e é extensivamente utilizada para a formulação de políticas de saúde (DEKKERS, 2019; DE LUCA-CANTO *et al.*, 2020).

2 JUSTIFICATIVA

Nas últimas décadas, os OE derivados de plantas ricas em terpenóides têm despertado o interesse da indústria farmacêutica para o desenvolvimento de novos medicamentos para o tratamento de diversas doenças, entre elas as infecções e doenças inflamatórias (CALIXTO, 2019). No Brasil, um país de extensa biodiversidade, existem recomendações via políticas públicas de saúde, que incentivam o uso de fitoterápicos, bem como a pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos e fármacos advindos de plantas medicinais com potencial terapêutico (BRASIL, 2006).

Nos últimos 10 anos, pesquisadores têm desenvolvido estudos com essa planta e seus derivados, e muitos resultados promissores têm sido reportados, como por exemplo atividades anti-helmínticas (VAN PUYVELDE *et al.*, 2018) e a capacidade do OE da *T. riparia* de induzir a morte de amastigotas de *Leishmania* (DEMARCHI *et al.*, 2016). Para nortear as pesquisas futuras e o uso seguro desta planta, torna-se fundamental a síntese crítica de estudos *in vitro* e *in vivo*. Em humanos, até o presente momento, apenas um estudo foi realizado com a finalidade de avaliar a atividade repelente da planta (OMOLO *et al.*, 2004).

Para agregar as melhores evidências sobre esse tema, a RS é a ferramenta mais adequada e de maior qualidade científica. Portanto, nessa RS, foi realizada a síntese das evidências sobre a eficácia antimicrobiana e toxicidade da *T. riparia* e seus derivados.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar sistematicamente as evidências encontradas na literatura acerca dos efeitos antimicrobianos e de toxicidade, *in vitro* e *in vivo*, da *T. riparia* e seus derivados.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar os estudos publicados na literatura referentes à *T. riparia* e selecionar aqueles que apresentam dados relevantes;
- Sintetizar as evidências sobre a eficácia antimicrobiana desta planta e seus derivados em estudos *in vitro* e *in vivo*;
- Sintetizar as evidências sobre a toxicidade *in vitro* e *in vivo* desta planta e seus derivados.

4 METODOLOGIA

Essa RS foi realizada de acordo com as recomendações SYRCLE-CAMARADE e a declaração PRISMA (Itens de Relatório Preferidos para Revisões Sistemáticas e Meta-Análises; do inglês *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) (MOHER et al., 2009). O protocolo deste estudo foi submetido e aceito na plataforma PROSPERO (Registro Prospectivo Internacional de Revisões Sistemáticas; do inglês *International Prospective Register of Systematic Reviews*; Reino Unido, <https://www.crd.york.ac.uk/>), sob o registro CRD42022309734.

A pergunta de pesquisa "Quais os efeitos antimicrobianos e de toxicidade da planta *Tetradenia riparia* e seus derivados *in vitro* e *in vivo*?" foi definida de acordo com a estratégia PICOS (população, intervenção, comparação, desfecho, design do estudo; do inglês, *Population, Intervention, Comparison, Outcomes and Study Design*) (HIGGINS et al., 2011) (Quadro 1).

Quadro 1 – Estratégia PICOS e pergunta científica.

PICOS	Critérios de Inclusão	Critérios de Exclusão
População	<i>In vitro</i> : protozoários, bactérias, vírus, fungos, helmintos E células de mamíferos (de qualquer tipo, bem como células co-cultivadas). <i>In vivo</i> : mamíferos infectados por patógenos (protozoários, bactérias, vírus, fungos, helmintos), de qualquer gênero, idade e peso.	<i>In vitro</i> : células não-mamíferas, não infectadas por patógenos (protozoários, bactérias, vírus, fungos, helmintos), coinfeccções. <i>In silica</i> <i>In vivo</i> : estudos em não-mamíferos, modelos não-infecciosos; animais com coinfeccções ou comorbidades; estudos em humanos, coinfeccções.
Intervenção	<i>In vitro</i> : qualquer intervenção utilizando a planta <i>T. riparia</i> ou seus derivados (como extratos brutos e fracionados, óleo essencial, compostos isolados e outros, combinados ou não com outras substâncias). Qualquer dose, tempo ou frequência. <i>In vivo</i> : qualquer intervenção utilizando a planta <i>T. riparia</i> ou seus derivados (como extratos brutos e fracionados, óleo essencial, compostos isolados e outros, combinados ou não com outras substâncias). Qualquer dose, tempo ou frequência.	<i>In vitro</i> : não testou <i>T. riparia</i> ou seus derivados. <i>In vivo</i> : não testou <i>T. riparia</i> ou seus derivados.
Comparação	<i>In vitro</i> : células sem tratamento (de mamíferos e patógenos), e células não infectadas, sem patógenos relatados, ou tratadas com fármacos de referência, agentes antimicrobianos ou veículos.	<i>In vitro</i> : sem a presença de grupos controle de acordo com o citado (células sem tratamento de mamíferos/patógenos, e células não infectadas, sem patógenos relatados, ou tratadas com fármacos de referência, agentes antimicrobianos

	<i>In vivo</i> : mamíferos sem tratamento, não infectados, ou tratados com fármacos de referência, agentes antimicrobianos, veículos ou placebo.	ou veículos). <i>In vivo</i> : sem a presença de grupos controle de acordo com o citado (mamíferos sem tratamento, não infectados, ou tratados com fármacos de referência, agentes antimicrobianos, veículos ou placebo).
Desfecho	<i>In vitro</i> : atividade antimicrobiana (dose letal, concentração inibitória) e toxicidade (citotoxicidade). Todas as unidades são elegíveis. <i>In vivo</i> : efeitos antimicrobianos (carga de patógeno [carga viral, carga parasitária, carga fúngica e outras]) e toxicidade (efeitos adversos, biópsia, histológicos)	Quaisquer desfechos que não mostrem resultados de atividade antimicrobiana ou toxicidade, como farmacocinética e farmacodinâmica.
Design do estudo	Estudos experimentais com grupo controle separado: estudos <i>in vitro</i> (fungos, vírus, bactérias, protozoários) e <i>in vivo</i> (modelos de mamíferos, com grupo controle separado). Estudos originais.	Para ambos os modelos: tipo de publicação (ensaios clínicos, revisões, diretrizes, cartas, editoriais, comentários, correspondências, notícias, resumos de conferências, teses e dissertações, relatos de caso, séries de casos e estudos observacionais). Estudos sem grupo controle separado. Estudos não originais.

Pergunta de pesquisa: de Quais os efeitos antimicrobianos e de toxicidade da planta *Tetradenia riparia* e seus derivados *in vitro* e *in vivo*?

Fonte: adaptado de *PICOS strategy for studies of intervention* (Needleman IG, 2002; Higgins JPT, Green S. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0 [updated March 2011]. England: John Wiley & Sons, Ltd; 2011).

4.1 ESTRATÉGIA DE PESQUISA E BUSCA NA LITERATURA

Em um estudo preliminar, foram definidos os descritores MeSH (do inglês, *Medical Subjects Headings*) do Pubmed/Medline. Assim, foi conduzida uma busca piloto utilizando tais descritores (Quadro 2) para verificar se seriam recuperados artigos em potencial, os quais foram identificados por uma especialista no tópico.

Quadro 2 - Estratégia de busca do estudo preliminar.

Pesquisa	Query/ Pubmed
Bloco 1 Planta #1	* <i>Tetradenia riparia</i> (termo livre) OR <i>Iboza</i> OR <i>Moschosma</i> (n= 376)

Bloco 2 Farmacologia #2	Pharmacology OR cell, cultured OR Biological assay (n= 7.795.477)
--	--

Bloco 3 #1 AND #2 (n=87)

Fonte: elaborado pela autora, 2021. Busca realizada em 23 de fevereiro de 2022.

Com base nessa busca inicial que comprovou a existência de artigos de interesse e conforme planejado, foi realizada pesquisa em cinco bases de dados eletrônicas principais: PubMed, EMBASE, Scopus, Web of Science e LILACS; e em uma base de dados cinzenta (Google Acadêmico). A busca foi realizada em maio de 2022. A pesquisa incluiu os operadores Booleanos (E/OU, no inglês *AND/OR*) e palavras-chave/descriptores para a planta *T. riparia* e termos relacionados a atividade antimicrobiana e de toxicidade conforme mostrado no Quadro 3.

Quadro 3 – Estratégia de pesquisa nas bases de dados.

Pesquisa	Query/ Pubmed	Web of Science	Embase	Scopus	Lilacs
Bloco 1 Planta	<i>Tetradenia riparia</i> (free term) OR <i>Iboza</i> (free term) OR <i>Moschosma</i> (free term) OR Lamiaceae	TS=(iboza) OR (moschosma) OR (<i>Tetradenia riparia</i>)	' <i>tetradenia riparia</i> '/exp OR <i>iboza</i> OR <i>moschosma</i>	TITLE-ABS-KEY ("tetradenia <i>riparia</i> " OR <i>iboza</i> OR <i>moschosma</i>)	<i>Tetradenia</i> (free term)
Bloco 2 Atividade antimicrobiana ou citotoxicidade	Anti-infective agents				
Bloco 3 Farmacologia	plant extracts/pharmacology OR plant leaves/pharmacology				
Combinação	#1 AND #2 AND #3 OR <i>Tetradenia riparia</i> (free term) (n=815)	n=90	n=84	n=112	n=82

Google: allintitle:tetradenia riparia (n=78).

Fonte: elaborado pela autora, 2022. Busca realizada em 12 de maio de 2022.

4.2 SELEÇÃO DOS ESTUDOS

O processo de seleção dos artigos (Figura 3) foi feito realizado por dois pares de pesquisadores cegados e independentes (YD e AC; JPa e TP), que fizeram a leitura dos títulos e resumos no aplicativo RAYYAN QCRI aplicando a estratégia PICOS (Quadro 1) para incluir ou excluir os estudos do trabalho.

4.3 EXTRAÇÃO DOS DADOS

Os dados dos artigos selecionados foram extraídos do texto ou das tabelas para um formulário padrão no Google Sheets (Google Drive) por dois revisores e foram verificados por pares de especialistas, com as discrepâncias sendo resolvidas por meio de discussão, e caso necessário, sendo consultado um terceiro investigador.

Abaixo estão citados os dados extraídos:

- Design do estudo: *in vitro* (tipo de célula, patógeno; fármaco testado versus grupo controle, densidade celular/patógeno, passagens, meio de cultura) e *in vivo*: (espécie do animal, número de animais nos grupos experimentais e controles, alocação randomizada dos animais, cegamento dos pesquisadores);
- Modelo: *in vitro* (tipo de cultura celular e fonte, cepa de patógeno e fonte, número de replicatas do experimento, parâmetros avaliados e metodologia, tempo de exposição) e *in vivo* (espécie/linhagem dos animais, gênero, peso e idade; modelo de toxicidade/infecção e espécie de patógeno utilizada para induzir a infecção nos animais, bem como os tempos, rotas de inoculação, replicatas e outros);
- Intervenções de interesse: *in vitro* (intervenção, veículo, tempo, concentração) e *in vivo* (intervenção, veículo, tempo, rota e número de administrações, dose, quanto tempo depois da infecção o tratamento foi iniciado, dias de acompanhamento)
- Desfechos primários: *in vitro* (viabilidade das células/patógenos ou citotoxicidade, dose letal e concentração inibitória em micromolar ou mg/mL) e *in vivo* (carga de patógenos, e.g. pg/mL, cópias de DNA/mL; cura, em número de eventos ou porcentagem; e efeitos adversos e tóxicos, em número de eventos ou porcentagem).

- Outros: para ambos os modelos de estudo, devem ser extraídos o nome dos autores, país, ano, título, o objetivo do estudo, conflitos de interesse, financiamento e dados de análise estatística.

4.4 ANÁLISE DO RISCO DE VIÉS

Essa etapa vem sendo realizada por outra acadêmica no seu Trabalho de Conclusão de Curso (PIOVEZAN, J. 2022), mas que será utilizada para publicação do manuscrito final. A avaliação do risco de viés será realizada utilizando a ferramenta SYRCLE (do inglês, Systematic Review Center for Laboratory animal Experimentation checklist (SYRCLE, NC3RS, United Kingdom) (HOOIJMANS et al., 2014). Dois revisores avaliarão de forma independente e cega dez critérios estabelecidos e revisados pelo especialista. As perguntas serão respondidas com 'Sim', 'Não' ou 'Não está claro'. As discrepâncias serão resolvidas por um especialista. O risco de viés dos estudos incluídos será sintetizado qualitativamente individualmente e entre os estudos.

4.5 SÍNTESE DAS EVIDÊNCIAS

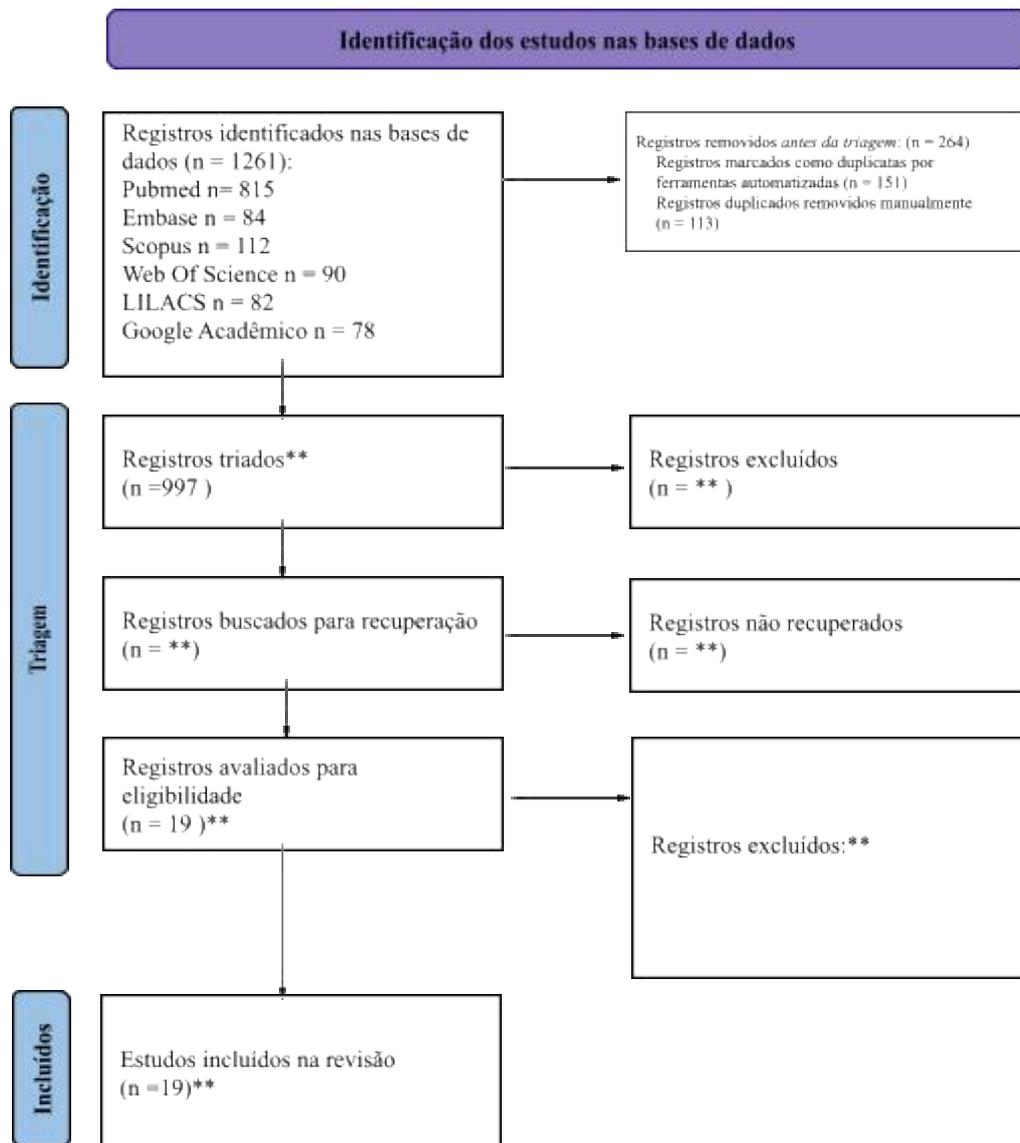
Os resultados encontrados nos estudos incluídos foram sintetizados de forma narrativa e estruturados em torno dos modelos *in vitro* e *in vivo*.

5 RESULTADOS

Um total de 1261 artigos foram recuperados durante a pesquisa, os quais foram transferidos para um software de gerenciamento de referência (My Web EndNote, Thomson Reuters) onde parte das duplicatas foi removida, com o estudos restantes tendo sido então transferidos para o aplicativo Rayyan QCRI, totalizando 1110 trabalhos (Figura 3).

Destes 1110, já no referido aplicativo, ainda foram removidas mais duplicatas manualmente, tendo restado para seleção um total de 997 estudos. Nenhuma restrição de data de publicação ou de idioma foi aplicada. As listas de referências dos estudos incluídos também estão sendo revisadas em busca de estudos elegíveis adicionais que não tenham sido recuperados por nossa pesquisa.

Figura 3 - Fluxograma resumo da identificação e seleção dos estudos



**Procedimentos em andamento até o presente momento.

Fonte: adaptado de Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* 2021;372:n71. doi: 10.1136/bmj.n71

5.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

A maioria dos estudos incluídos até agora nesta revisão (11/19) foi realizada no Brasil (Quadro 4) (BALDIN *et al.* 2018; CARDOSO *et al.* 2018; DEMARCHI *et al.* 2015a, 2016; ENDO *et al.* 2015; FERNANDEZ *et al.* 2017; GAZIM *et al.* 2010, 2011; MELO *et al.* 2015a, 2015b; TERRON-MONICH *et al.* 2018). A região mais citada como origem das plantas utilizadas nos experimentos, foi a região Sul do Brasil, com destaque para a cidade de Umuarama no estado do Paraná (BALDIN *et al.* 2018; CARDOSO *et al.* 2018; DEMARCHI *et al.* . 2015a, 2016; ENDO *et al.* 2015; FERNANDEZ *et al.* 2017; GAZIM *et al.* 2010, 2011; TERRON-MONICH *et al.* 2018), sendo São Paulo, da região Sudeste, outro estado do país onde foram coletadas plantas para estudos (MELO *et al.* 2015a, 2015b).

Outros países, das regiões Meridional, Oriental e Central do continente africano foram relatados como fonte de *T. riparia*, sendo eles: África do Sul (2/19, OKEM *et al.* 2012; YORK *et al.*, 2012), Quênia (2/19, NDIKU E NGULE, 2014; NGULE *et al.* 2014), Ruanda (2/19, VAN PUYVELDE *et al.* 1986, 2018), Uganda (1/19, KAKANDE *et al.* 2019) e República Democrática do Congo (1/19, NGBOLUA *et al.* 2016) (Quadro 4).

Todos os estudos utilizaram as folhas como base para conduzir os experimentos (Quadro 4), das quais foi obtido o óleo essencial de *T. riparia* (OETr) (BALDIN *et al.* 2018; CARDOSO *et al.* 2018; DEMARCHI *et al.* 2015a, 2016; GAZIM *et al.* 2010, 2011; MELO *et al.* 2015a, 2015b; TERRON-MONICH *et al.* 2018), a partir do qual foram isolados os diferentes compostos avaliados: 6,7-dehidrooleanona (TrROY) (BALDIN *et al.* 2018; DEMARCHI *et al.* 2015a; TERRON-MONICH *et al.* 2018), 8(14),15-Sandaracopimaradieno-7alfa,18-diol (VAN PUYVELDE *et al.* 1986, 2018).

Outros derivados foram testados como extratos hidroalcoólicos (ENDO *et al.* 2015), extrato bruto (EB) (FERNANDEZ *et al.* 2017; KAKANDE *et al.* 2019; NDIKU E NGULE, 2014; NGBOLUA *et al.* 2016; OKEM *et al.*, 2012) e FR como FR-I (abieta-7,9(11)-dien-13β-ol), FR-II (Ibozol), FR-III (8(14), 15-sandaracopimaradieno-2alfa,18-diol e 8(14), 15-sandaracopimaradieno-7alfa,18-diol) e FR-IV (astragalina, boronolida e luteolina) (FERNANDEZ *et al.* 2017).

Gazim *et al.* (2010) identificaram uma produção variada de OETr de acordo com a estação do ano. A maior extração de OETr foi encontrada durante o inverno (0,265% ± 0,02),

sendo que a mesma reduziu significativamente na primavera para $0,168\% \pm 0,02$. Além disso, foi destacado que durante a primavera, os índices pluviométricos foram muito maiores do que nas outras estações na região na qual foram coletadas as folhas de *T. riparia*. A influência sazonal na produção de OETr também foi descrita por Cardoso *et al.* (2015), sendo que eles estudaram o OETr obtido em diferentes estações em experimentos com leishmaniose *in vitro* e *in vivo*.

Quadro 4 - Resumo das características dos artigos incluídos (n=19).

Estudo/País	Parte utilizada e derivados	Modelo do estudo	Objetivo do estudo	População (cepas/linhagens, células, animais)
<i>In vitro</i>				
Baldin <i>et al.</i> 2018/ Brasil	OETr e TrROY (obtidos de folhas de <i>T. riparia</i>)	<i>In vitro</i>	Avaliar a citotoxicidade e atividade <i>in vitro</i> do OETr e do composto puro TrROY contra <i>M. tuberculosis</i> H37Rv e isolados clínicos suscetíveis e resistentes.	1. <i>Bacillus cereus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Salmonella typhimurium</i> . 2. <i>M. tuberculosis</i> H37Rv e 19 <i>M. tuberculosis</i> isolados (sete suscetíveis à medicamentos anti-TB, seis resistentes à isoniazida e seis MDR); 3. Macrófagos peritoneais de murinos (camundongos BALB/c)
Cardoso <i>et al.</i> 2018/Brasil	Folhas (OETr obtido na primavera, no verão, no outono e no inverno)	<i>In vitro</i>	Avaliar a atividade do OETr obtido em diferentes épocas contra <i>L. (L.) amazonensis in vitro</i> para determinar seu potencial para o tratamento da leishmaniose.	1. <i>L. (L.) amazonensis</i> promastigota (estirpe); 2. Eritrócitos humanos (tipo O+); 3. Macrófagos J774.A1; 4. Macrófagos peritoneais foram obtidos de camundongos BALB/c; 5. amastigotas intracelulares.
Demarchi <i>et al.</i> 2015a/Brasil	OETr de folhas frescas e TrROY isolado do OE	<i>In vitro</i>	Avaliar o potencial do OE e do TrROY isolado da <i>T. riparia</i> nas formas promastigota e amastigota de <i>L. (L.) amazonensis</i> , sua citotoxicidade em eritrócitos humanos e macrófagos murinos, a produção nítrica e expressão de mRNA de sintetase de óxido nítrico induzível (iNOS).	1. Eritrócitos humanos (tipo O+); 2. Macrófagos peritoneais murinos (camundongos BALB/c) 3. Formas promastigotas de <i>L. (L.) amazonensis</i> 4. Formas amastigotas de <i>L. (L.) amazonensis</i>
Demarchi <i>et al.</i> 2016/ Brasil	OETr de folhas frescas	<i>In vitro</i>	Avaliar os efeitos do OETr na produção de citocinas por células do líquido peritoneal infectadas com <i>L. (L.) amazonensis</i> , demonstrando a atividade antileishmania e os efeitos imunomoduladores do OETr.	1. Células do fluido peritoneal murino (camundongos BALB/c) 2. Células murinas peritoneais residentes (camundongos BALB/c) 3. <i>L. (L.) amazonensis</i>
Endo <i>et al.</i> 2015/Brasil	Extratos hidroalcoólicos de folhas de <i>T. riparia</i>	<i>In vitro</i>	Avaliar a atividade anti-dermatofítica dos extratos hidroalcoólicos de <i>R. officinalis</i> , <i>P. guajava</i> e <i>T. riparia</i> .	<i>Trichophyton rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> e <i>Microsporum gypseum</i>
Fernandez <i>et al.</i> 2017/Brasil	EB de folhas e FR	<i>In vitro</i>	Avaliar a atividade antioxidante por métodos de DPPH, ácido b-carotenolínoleico, RFAA e fenóis totais, e a atividade antimicrobiana pelo método de microdiluição em caldo do EB e FR de <i>T. riparia</i> por cromatografia clássica.	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , e <i>Aeromonas hydrophila</i>
Gazim <i>et al.</i> 2010/Brasil	OETr de folhas frescas	<i>In vitro</i>	Investigar e relatar a composição química do OE isolado de folhas	<i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>E. faecalis</i> ,

			frescas de <i>T. riparia</i> cultivada no sul do Brasil, afetada por diferentes épocas de cultivo, juntamente com suas atividades anti-inflamatória e antimicrobiana.	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>Salmonella enterica</i> e <i>Candida albicans</i> .
Gazim <i>et al.</i> 2011/Brasil	OETr de folhas frescas durante o verão	<i>In vitro</i>	Avaliar a atividade acaricida do OE de folhas frescas de <i>T. riparia</i> frente aos ácaros de <i>R. (B.) microplus</i> .	300 fêmeas ingurgitadas de <i>R. (B.) microplus</i> .
Kakande <i>et al.</i> 2019/ Uganda	Extrato etanólico bruto de folhas de <i>T. riparia</i>	<i>In vitro</i>	Determinar a prevalência de dermatofitose e a atividade antifúngica do extrato etanólico bruto de folhas de <i>T. riparia</i> contra dermatófitos isolados de pacientes atendidos no <i>Kampala International University Teaching Hospital</i> , Uganda	<i>T. tonsurans</i> , <i>T. mentagrophyte</i> , e <i>M. audouinii</i>
Melo <i>et al.</i> 2015a/Brasil	Folhas frescas	<i>In vitro</i>	Composição química e atividade antimicrobiana do OE de folhas de <i>T. riparia</i> cultivadas no Sudeste do Brasil frente a um painel representativo de bactérias cariogênicas.	<i>Streptococcus (S.salivarius, S. sobrinus, S. mutans, S. mitis, S. sanguinis)</i> e <i>Lactobacillus casei</i>
Melo <i>et al.</i> 2015b/Brasil	OETr de folhas frescas	<i>In vitro</i>	Avaliar os efeitos anti-helmínticos <i>in vitro</i> do OETr em vermes e ovos adultos de <i>S. mansoni</i> , bem como sua citotoxicidade contra células de mamíferos V79.	Vermes e ovos adultos de <i>Schistosoma mansoni</i>
Ndiku e Ngule 2014/ Quênia	Extrato de folhas	<i>In vitro</i>	Analisar a atividade fitoquímica e antibacteriana do extrato de folhas de <i>T. riparia</i> .	<i>Serratia liquefaciens</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>E.coli</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> e <i>Bacillus cereus</i>
Ngbolua <i>et al.</i> 2016/República Democrática do Congo	Extrato de folhas	<i>In vitro</i>	Investigar as atividades antifalciformes e antibacteriana direta <i>in vitro</i> das antocianinas e ácidos orgânicos extraídos de <i>G. punctata</i> e <i>T. riparia</i> .	1. Eritrócitos; 2. <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>S. aureus</i> ATCC 25923, MRSA ATCC 1625, MSSA ATCC 5668) e <i>E. coli</i> (<i>E. coli</i> ATCC 25922)
Ngule <i>et al.</i> 2014/Quênia	Folhas frescas	<i>In vitro</i>	Analisar a atividade antibacteriana dos fitoconstituintes da <i>T. riparia</i> .	<i>B. cereus</i> , <i>Serratia liquefacions</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>E. coli</i> , <i>Proteus vulgaris</i> e <i>Staphylococcus epidermidis</i>
Okem <i>et al.</i> 2012/ África do Sul	Extratos das folhas de <i>T. riparia</i> obtidos com água, EtOAc e EtOH	<i>In vitro</i>	Avaliar a eficácia de sete plantas medicinais sul-africanas usadas na medicina tradicional para o tratamento de doenças relacionadas ao estômago. Os extratos de plantas foram selecionados para atividades antibacterianas e antifúngicas contra alguns dos agentes patogênicos conhecidos por causar doenças relacionadas ao estômago em pacientes imunossuprimidos. Extratos de plantas também foram selecionados para atividades anti-helmínticas e inibidoras da ciclooxigenase (anti-inflamatória). O teste de genotoxicidade foi feito para estabelecer o uso seguro dos extratos vegetais como agentes terapêuticos.	1. <i>E coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Enterococcus faecalis</i> ; 2. <i>Candida albicans</i> ; 3. <i>Caenorhabditis elegans</i> ; 4. solução das enzimas COX-1 e -2; 5. Cepas teste de <i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100 e TA1537 sem ativação metabólica
Terron-Monich <i>et al.</i> 2018/ Brasil	TrROY (obtido de OETr de folhas de <i>T. riparia</i>)	<i>In vitro</i>	Investigar os efeitos de TrROY na produção de citocinas por macrófagos murinos infectados com <i>L. (L.) amazonensis</i>	Macrófagos peritoneais obtidos de camundongos BALB/c

Van Puyvelde <i>et al.</i> 1986/Ruanda	8(14),15-Sandaracopimaradieno-7alfa18-diol, isolado do extrato clorofórmico das folhas de <i>T. riparia</i>	In vitro	Relatar a atividade antimicrobiana do diterpenodiol 8(14),15-sandaracopimaradieno-7alfa18-diol.	<i>Bacillus subtilis</i> ; <i>Enterobacter cloacae</i> ; <i>E. coli</i> ; <i>Klebsiella pneumoniae</i> ; <i>Mycobacterium smegmatis</i> ; <i>Proteus vulgaris</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>Pseudomonas solanacearum</i> . <i>Salmonella typhimurium</i> ; <i>Serratia marcescens</i> ; <i>Shigella dysenteriae</i> ; <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Streptococcus pyogenes</i> . <i>Allescheria boydii</i> ; <i>Aspergillus flavus</i> ; <i>Candida albicans</i> ; <i>Epidermophyton floccosum</i> ; <i>Microsporium ferrugineum</i> ; <i>Microsporium canis</i> ; <i>Microsporium gypseum</i> ; <i>Paecilomyces</i> ; <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ; <i>Trichophyton schoenleinii</i> e <i>Microsporium breuseghenii</i> .
Van Puyvelde <i>et al.</i> 2018/Ruanda	Folhas	In vitro	Identificar os compostos ativos contra helmintos da <i>T. riparia</i> .	<i>Caenorhabditis elegans</i> de tipo selvagem N2
York <i>et al.</i> 2012/África do Sul	Extrato das folhas e OETr	In vitro	Determinar a eficácia antimicrobiana de 30 espécies de plantas (independentemente e combinações) usadas para infecções respiratórias na área rural de Maputaland.	<i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Mycobacterium smegmatis</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>
In vivo				
Cardoso <i>et al.</i> 2018/Brasil	Folhas (OETr obtido na primavera, no verão, no outono e no inverno)	In vivo	Avaliar a atividade do OETr obtido em diferentes épocas contra <i>L. (L.) amazonensis</i> em camundongos BALB/c para determinar seu potencial para o tratamento da leishmaniose.	Camundongos BALB/c fêmeas infectados
Gazim <i>et al.</i> 2010/Brasil	OETr de folhas frescas	In vivo	Investigar e relatar a composição química do OE isolado de folhas frescas de <i>T. riparia</i> cultivada no sul do Brasil, afetada por diferentes épocas de cultivo, juntamente com suas atividades anti-inflamatória e antimicrobiana.	Camundongos Swiss albinos.

OETr= Óleo essencial de *Tetradenia riparia*; OE= Óleo essencial; RFAA=Redutor de ferro/Atividade antioxidante; EtOAc=Etil Acetato; EtOH=Etanol; TrROY=6,7-dehidrooleanona; Anti-TB=Anti-tuberculose MDR=Resistente a múltiplos medicamentos

Fonte: elaborado pela autora.

5.2 TOXICIDADE

A toxicidade foi relatada por 7 estudos *in vitro* (BALDIN *et al.*, 2018; CARDOSO *et al.* 2018; DEMARCHI *et al.* 2015a, 2016; MELO *et al.* 2015b; NGBOLUA *et al.* 2016; OKEM *et al.* 2012;) (Quadro 5).

O OETr foi citotóxico para macrófagos murinos em três estudos (concentração de citotoxicidade de 50% (CC50) ~ 3 mg/mL) (BALDIN *et al.* 2018; CARDOSO *et al.* 2018; DEMARCHI *et al.* 2015a), e dois mostraram que o TrROY tinha um alto potencial de toxicidade em macrófagos murinos (CC50 <1 mg/mL) (BALDIN *et al.* 2018; DEMARCHI *et*

al. 2015a). Melo *et al.* (2015b) observaram que o OETr a 200 µg/mL foi citotóxico contra células de fibroblastos de pulmão de hamster chinês (V79).

Baldin *et al.* (2018) avaliaram *in vitro* a citotoxicidade do TrEO e do TrROY em macrófagos peritoneais murinos de camundongos machos BALB/c usando o ensaio Alamar Blue (MIKUS E STEVERDING, 2000). OETr e TrROY foram adicionados de 0,39 a 100 µg/mL, e o resultado foi expresso em CC50 e índice de seletividade (SI) (BALDIN *et al.* 2018). A CC50 de OETr foi de 122 µg/mL com SI de 1,9, e a CC50 para o TrROY foi de 247 µg/mL com SI de 7,9 (Quadro 5). O SI foi determinado pelo ensaio CC50/MIC do *Mycobacterium tuberculosis*. O TrROY mostrou menos citotoxicidade para macrófagos murinos do que o OETr, o que é aceitável, pois o OE é uma combinação de diversos compostos, no qual podem ocorrer interações sinérgicas (BALDIN *et al.* 2018; DEMARCHI *et al.* 2015a)

Cardoso *et al.* (2018) utilizando do ensaio Alamar Blue, testaram OETr obtido de diferentes estações do ano (de 0,002 a 0,2 µg/mL). A CC50 foi de cerca de 90 ng/mL para OEs de verão e outono. O SI foi medido por comparação entre CC50 e ensaio de promastigota antileishmania, sendo que as principais estações apresentaram SI acima de um (valores abaixo de 1 são considerados mais tóxicos ao hospedeiro), com o melhor resultado obtido pela extração de OE do verão (SI=6,01). Também foi testada a citotoxicidade em macrófagos J774.A1 usando o ensaio colorimétrico XTT (2,3-Bis[2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil]-2H-tetrazólio-5-carboxinilida), testando o OETr em 4.800, 480, 300, 30, 3 ou 0,3 ng/mL. Nesse ensaio, o maior resultado de CC50 também foi para o OETr do verão (1476 ng/mL), com o OE do outono obtendo o valor mais baixo (391,66 ng/mL) (CARDOSO *et al.* 2018) sendo que resultados semelhantes foram apresentados por Demarchi *et al.* (2015a).

A toxicidade eritrocitária baixa ou ausente do OETr e do TrROY foi descrita por Demarchi *et al.* (2015a) e Cardoso *et al.* (2018). Para realização do ensaio, sangue humano desfibrinado fresco foi obtido, o TrROY e o OETr foram dissolvidos em dimetilsulfóxido (DMSO, concentração não citotóxica). Em seguida, foi realizada uma diluição seriada em placas, onde a concentração para o OETr variou de 5,0 a 0,1 µg/mL e para o TrROY de 50 a 0,1 µg/mL, após incubação com os eritrócitos. A porcentagem de hemólise que ocorreu foi determinada após 2h de incubação, e o resultado obtido foi de cerca de 3% de hemólise a 5 µg/mL de OETr e a 50 µg/mL de TrROY. Tais resultados foram inferiores aos 18% demonstrados pelo medicamento de referência utilizado no ensaio, que foi a anfotericina B (AnB).

Cardoso *et al.* (2018) testaram OETr obtido de diferentes estações do ano e mostraram que na concentração mais alta, de 2,4 µg/mL, o TrEO causa menos hemólise do que a AnB. Também foram ressaltadas diferenças entre o período do ano no qual as folhas são obtidas, sendo que o OE obtido no verão apresentou o menor potencial de hemólise (0,63%), enquanto obtido no outono obteve o maior (4,01%) (CARDOSO *et al.* 2018).

Nos estudos de Demarchi *et al.* (2015a, 2016) a citotoxicidade em macrófagos peritoneais murinos foi determinada utilizando o ensaio colorimétrico de determinação de viabilidade celular XTT. A CC50 para TrROY foi de 0,53 µg/mL, mostrando 0,22 de SI (índice de seletividade terapêutica, TSI foi de 0,03). Para o OETr a CC50 foi de 0,17 µg/mL, resultando em 5,67 para SI e 0,34 para TSI. Em ambos os ensaios (DEMARCHI *et al.* 2015a, 2016) os resultados apresentados para este teste foram muito próximos.

Melo *et al.* (2015b) realizaram um estudo para descobrir a atividade antiesquistossomótica e também a citotoxicidade do OE vegetal. Células de fibroblastos de pulmão de hamster chinês (V79) foram testadas usando o mesmo método de citotoxicidade para macrófagos murinos mencionados acima (DEMARCHI *et al.* 2015a; 2016). A concentração de OETr utilizada foi de 3,12 a 400 µg/mL dissolvido em DMSO. Este estudo mostrou que a concentração de 200 µg/mL foi tóxica para este tipo de célula.

Outros estudos testaram extratos de folhas de *T. riparia*. Uma seleção de plantas utilizadas na África do Sul para doenças relacionadas ao estômago, foi relatada por Okem *et al.* (2012), que realizaram extratos em EtOAc, EtOH e água das folhas da planta *T. riparia*. O método de avaliação da genotoxicidade, feito para garantir a segurança do uso terapêutico da planta, foi com o ensaio do microsoma de Salmonella, chamado teste de Ames. Os resultados mostraram que nenhum dos extratos é agente mutagênico, contudo, é importante ressaltar que neste teste não há ativação metabólica, o que implica na ausência de biotransformação dos compostos, não devendo ser descartada a possibilidade de que metabólitos deste processo sejam mutagênicos quando testados *in vivo*.

Quadro 5 - Resumo dos resultados dos artigos incluídos (n=19).

Estudo/País	Ensaio Farmacológicos	Métodos	Conclusão
<i>In vitro</i>			
Baldin <i>et al.</i> 2018/ Brasil	1. Ensaio antimicrobiano 2. Atividade anti- <i>M. tuberculosis</i> 3. Ensaio de citotoxicidade em macrófagos	1. Método de microdiluição em caldo usando meio CAMHB 2. Placa de ensaio de microtitulação de resazurina (REMA). 3. Ensaio colorimétrico (Alamar Blue).	OE isolado de folhas de <i>T. riparia</i> e o composto puro TrROY apresentam boa atividade contra isolados clínicos de <i>M. tuberculosis</i> , incluindo isolados MDR, com baixa citotoxicidade para macrófagos murinos. O composto TrROY é um candidato potencial para fármacos anti-TB. Além disso, o TrROY não mostrou efeitos significativos

	peritoneais murinos		sobre as bactérias da microbiota humana, um fato extremamente importante ao estudar um novo composto com atividade contra microrganismos patogênicos.
Cardoso <i>et al.</i> 2018/Brasil	1. Atividade antileishmania (promastigota); 2. Ensaio de atividade hemolítica (HA); 3. Citotoxicidade de macrófagos J774.A1; 4. Citotoxicidade de macrófagos murinos 5. Determinação de nitrito; 6. Atividade contra amastigotas intracelulares	1. Contagem microscópica em câmara de Neubauer; 2. Ensaio colorimétrico (absorbância do sobrenadante foi determinada a 550 nm para estimativa de hemólise); 3. Ensaio colorimétrico XTT; 4. Ensaio de azul de tripano (contagem microscópica); 5. Ensaio colorimétrico de Griess; 6. Contagem microscópica	O OETr mostra potencial para o desenvolvimento de um novo fármaco mais seguro e com menos efeitos colaterais para o tratamento da leishmaniose.
Demarchi <i>et al.</i> 2015a/Brasil	1. Ensaio de hemólise (toxicidade eritrocitária); 2. Citotoxicidade de macrófagos; 3. Ensaios antileishmania em formas promastigotas: a) Viabilidade; b) Inibição do crescimento c) Alterações ultraestruturais 4. Ensaios de antileishmania em formas amastigotas; 5. Ensaio de nitrito 6. Expressão de mRNA de iNOS	1. Ensaio colorimétrico; 2. Ensaio colorimétrico XTT; 3a. XTT; 3b. Contagem microscópica; 3c. Microscopia eletrônica de transmissão; 4. Contagem microscópica; 5. Ensaio colorimétrico (Griess); 6. Reação em cadeia da polimerase de transcriptase reversa semiquantitativa (RT-PCR) e citometria de fluxo	TrROY e principalmente OETr provocaram a morte de <i>Leishmania</i> , e TrROY mostrou perda de toxicidade para células eritrocitárias. Outros compostos derivados de <i>T. riparia</i> e do OE podem ser explorados para desenvolver uma nova alternativa de tratamento para leishmaniose.
Demarchi <i>et al.</i> 2016/ Brasil	1. Citotoxicidade; 2. Efeitos imunomoduladores; 3. Atividade antileishmania;	1. Método colorimétrico de viabilidade celular XTT; 2. RT-PCR (expressão de mRNA de citocinas) e citometria de fluxo; 3. qPCR	Os efeitos antileishmania e imunomoduladores do OETr corroboram com o uso de plantas da medicina tradicional, como a <i>T. riparia</i> , para o tratamento de infecções parasitárias. O OETr pode ser uma terapia alternativa para leishmaniose considerando seus efeitos antileishmania e imunomoduladores.
Endo <i>et al.</i> 2015/Brasil	Ensaios antifúngicos	1. Método de disco-difusão; 2. Microscopia de fluorescência 3. Microscopia eletrônica de varredura	O estudo relata que as folhas de <i>R. officinalis</i> e <i>T. riparia</i> contêm compostos bioativos antifúngicos. Os extratos hidroalcoólicos de ambas as espécies mostraram-se eficazes contra dermatófitos, inibindo o crescimento de fungos e causando alterações morfológicas em suas hifas. Isso apoia seu uso na medicina popular para tratar distúrbios da pele. Essas espécies são fontes potenciais para o desenvolvimento de estratégias de tratamento antifúngico.
Fernandez <i>et al.</i> 2017/Brasil	1. Ensaios antimicrobianos 2. Ensaios de antioxidantes	1. A determinar pelo método de microdiluição em caldo usando caldo Mueller-Hinton (<i>Difco Laboratories Sparks</i>) com CAMHB, por recomendação do <i>Clinical and Laboratory</i>	Demonstrou que o fracionamento do extrato foi extremamente importante para detectar a presença de FR com atividade antioxidante e antimicrobiana superior ao EB. O EB e o FR-IV apresentaram resultados promissores de potencial antioxidante e o FR-I na ação antimicrobiana sobre as cepas de

		Standards Institute 2. Fenóis totais; DPPH; Método do sistema beta-caroteno/ácido linoleico; Método de Redução Férrica/Potência Antioxidante (RFPA);	bactérias Gram-positivas.
Gazim <i>et al.</i> 2010/Brasil	1. Determinação da atividade antimicrobiana	1. Método de disco-difusão	O óleo de <i>T. riparia</i> apresentou boa atividade antimicrobiana afetada pela variação sazonal. Essas diferenças podem ser atribuídas às mudanças na precipitação e temperatura.
Gazim <i>et al.</i> 2011/Brasil	1. teste acaricida 2. teste de pacote larval (LPT)	Estereomicroscópio de contagem	O estudo mostra que o óleo essencial de <i>T. riparia</i> cultivado no sul do Brasil apresentou alta atividade acaricida contra o carrapato <i>R. (B.) microplus</i> . Os resultados mostraram que o óleo essencial de <i>T. riparia</i> é um promissor candidato a biocontrole para uso contra cepas de <i>R. (B.) microplus</i> resistentes a pesticidas.
Kakande <i>et al.</i> 2019/ Uganda	Atividade antidermatofítica	1. Método de difusão de ágar em poços modificado 2. Método de tubo-diluição	Os achados deste estudo relataram a presença de dermatófitos causadores de dermatofitoses entre os pacientes atendidos no KIU-TH. Os resultados do mostraram que o EB etanólico das folhas de <i>T. riparia</i> possui atividade antidermatofítica contra os dermatófitos testados.
Melo <i>et al.</i> 2015a/Brasil	Ensaio antimicrobianos	Método de microdiluição em caldo em microplacas de 96 poços (CLSI 2009) usando DMSO.	O OETr apresenta atividade antimicrobiana promissora contra algumas bactérias cariogênicas, incluindo <i>Streptococcus mutans</i> , que é um dos principais agentes causadores de cárie dentária. A composição química do OETr foi ligeiramente diferente da relatada em estudos anteriores. Em conjunto, os resultados sugeriram que este OE pode ser promissor para o desenvolvimento de novos produtos de higiene bucal.
Melo <i>et al.</i> 2015b/Brasil	1. Ensaio esquistossomicidas 2. Atividade citotóxica	1. Ensaio MTT; 2. Kit de ensaio colorimétrico de toxicologia <i>in vitro</i> (XTT; <i>Roche Diagnostics</i>)	O OETr foi eficaz contra vermes adultos de <i>S. mansoni</i> e inibiu o desenvolvimento de ovos. Os presentes resultados sugerem que a atividade esquistossomicida deste OE merece uma investigação mais aprofundada para identificar os constituintes químicos que propiciam essa atividade.
Ndiku and Ngule 2014/ Quênia	Atividade antibacteriana	Placas de ágar Mueller-Hinton	A planta <i>T. riparia</i> demonstrou grande potencial como fonte de novos antibióticos no tratamento contra as infecções causadas pelos microrganismos testados. Os resultados desta pesquisa são indicativos de que a planta extraída da forma tradicional pode ser utilizada para o tratamento de diversas doenças que acometem os seres humanos atualmente. A ação da planta contra os microrganismos pode ser devido a um efeito sinérgico de dois ou mais compostos encontrados na planta.
Ngbolua <i>et al.</i> 2016/República Democrática do Congo	1. Atividade antibacteriana 2. Experiências anti-falciformes e hemolíticas;	1. método de microdiluição em microplacas de 96 poços diluídas com Mueller Hinton Broth 2.1 Ensaio de hemólise induzida por hipóxia; 2.2 Teste de fragilidade osmótica; 2.3 Teste de ITANO; 2.4 Teste de redução da meta-hemoglobina.	A avaliação da composição química de <i>Garcinia punctata</i> e <i>T. riparia</i> e os efeitos antifalciforme e antibacteriano de antocianinas e ácidos orgânicos extraídos das espécies vegetais mencionadas, sugere que os extratos dessas plantas podem ser uma fonte natural de agentes antifalciformes e antibacterianos.

Ngule <i>et al.</i> 2014/Quênia	Atividade antibacteriana	O bioensaio foi feito usando o método de difusão em poço	A presença de importantes fitoconstituintes farmacológicos e a atividade antibacteriana observada no extrato aquoso das folhas frescas da planta indicam a importância medicinal de <i>T. riparia</i> . O estudo pode ser uma justificativa científica parcial do uso de plantas no tratamento contra as infecções causadas pelos microrganismos testados.
Okem <i>et al.</i> 2012/ África do Sul	1. Atividade antibacteriana; 2. Atividade antifúngica; 3. Atividade anti-helmíntica; 4. Ensaio anti-inflamatório; 5. Potencial de genotoxicidade;	1 e 2. ensaio de microdiluição 3. determinação in vitro da viabilidade de larvas de nematóides de vida livre; 4. Ensaio de radioatividade 5. Ensaio de microssoma de <i>Salmonella</i>	Os resultados da triagem farmacológica apresentados neste estudo validam até certo ponto a eficácia das plantas medicinais selecionadas usadas no tratamento de doenças relacionadas ao estômago. Contudo, os demais aspectos de doenças relacionadas ao estômago, como úlceras gástricas, distúrbios de motilidade, indigestão e infecções do trato gastrointestinal inferior não foram abordados neste estudo. O teste de genotoxicidade mostrou que nenhum dos extratos vegetais foi mutagênico para as cepas teste de <i>Salmonella</i> . A análise fitoquímica revelou diferentes classes de metabólitos secundários nas espécies vegetais estudadas.
Terron-Monich <i>et al.</i> 2018/ Brasil	1. atividade anti- <i>Leishmania</i> 2. efeitos imunomoduladores;	1. Contagem microscópica 2. <i>Cytokine Magnetic 10-Plex Panel Multiplex Mouse Kit</i> ,	TrROY pode ser um promissor agente anti- <i>Leishmania</i> que pode estimular a resposta imune protetora contra patógenos intracelulares e inibir reações imunes indesejáveis. TrROY pode ser um agente terapêutico alternativo para leishmaniose. Além disso, considerando a modulação da IL-4 liberada pelo TrROY, este diterpeno deve ser avaliado em outras parasitoses que induzam o viés TH2. A expressão e atividade da arginase também devem ser investigadas para elucidar os efeitos imunomoduladores da TrROY nesta via.
Van Puyvelde <i>et al.</i> 1986/Ruanda	Atividade antimicrobiana	Método de diluição líquida.	Anteriormente, novas substâncias foram isoladas das folhas da <i>T. riparia</i> , incluindo o 8(14),15-sandaracopimaradieno-7alfa,18diol. Este diterpeno diol apresenta atividade antimicrobiana significativa contra várias bactérias e fungos. A concentração inibitória mínima (CIM) da substância para os microrganismos inibidos variou de 6,25 a 100 pg/ml.
Van Puyvelde <i>et al.</i> 2018/Ruanda	Atividade anti-helmíntica	O ensaio anti-helmíntico foi realizado em uma microplaca de 96 poços	Foi identificado o composto bioativo da <i>T. riparia</i> responsável por sua atividade anti-helmíntica: 8(14),15-sandaracopimaradieno-7 α ,18-diol.
York <i>et al.</i> 2012/África do Sul	Actividade antimicrobiana	Ensaio de microdiluição	Embora este estudo in vitro apoie o uso tradicional de algumas plantas independentemente e em combinação para o tratamento de doenças respiratórias na área rural de Maputaland, os resultados demonstram que a seleção tradicional de plantas com maior frequência não necessariamente se correlaciona com maior eficácia antimicrobiana.
<i>In vitro</i>			
Cardoso <i>et al.</i> 2018/Brasil	Atividade anti- <i>Leishmania</i> em camundongos BALB/c infectados)	Carga parasitária nos linfonodos e baço (contagem microscópica usando microdiluição em placa)	O OETr mostra potencial para o desenvolvimento de um novo fármaco mais seguro e com menos efeitos colaterais para o tratamento da leishmaniose.

Gazim <i>et al.</i> 2010/Brasil	Determinação da atividade anti-inflamatória/analgésica	Teste de constrição	O óleo de <i>T. riparia</i> apresentou boa atividade analgésica, que não apresentou variação sazonal.
---------------------------------	--	---------------------	---

IL= interleucina; CAMHB=meio com ajuste de Ca²⁺ e Mg²⁺;

Fonte: elaborado pela autora

5.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A atividade antimicrobiana da *T. riparia* foi relatada *in vitro* por 18 estudos (BALDIN *et al.* 2018; CARDOSO *et al.* 2018; DEMARCHI *et al.* 2015a, 2016; ENDO *et al.* 2015; FERNANDEZ *et al.* 2017; GAZIM *et al.* 2010; KAKANDE *et al.* 2019; MELO *et al.* 2015a, 2015b; NDIKU E NGULE 2014; NGBOLUA *et al.* 2016; NGULE *et al.* 2014; OKEM *et al.* 2012; TERRON-MONICH *et al.* 2018; VAN PUYVELDE *et al.* 1986, 2018; YORK *et al.* 2012). Apenas um estudo foi testado *in vivo* (CARDOSO *et al.* 2018) (Quadro 4).

Um total de dez estudos trabalhou com atividades antibacterianas (BALDIN *et al.* 2018; FERNANDEZ *et al.* 2017; GAZIM *et al.* 2010; MELO *et al.* 2015a; NDIKU E NGULE 2014; NGOBOLUA *et al.* 2016; NGULE *et al.* 2014; OKEM *et al.* 2012; VAN PUYVELDE *et al.* 1986; York, Van Vuuren e Wet, 2012), seis com atividades antifúngicas (ENDO *et al.* 2015; GAZIM *et al.* 2010; KAKANDE *et al.* 2019; OKEM *et al.* 2012; VAN PUYVELDE *et al.* 1986; YORK *et al.* 2012), quatro observaram atividades antiprotozoários (CARDOSO *et al.* 2018; DEMARCHI *et al.* 2015a e 2016; TERRON-MONICH *et al.* 2018), e três atividades anti-helmínticas (MELO *et al.* 2015b; OKEM *et al.* 2012; VAN PUYVELDE *et al.* 2018) (Quadros 4 e 5).

5.3.1 Atividade antibacteriana

Dos 19 estudos, 10 realizaram testes para determinar a atividade antibacteriana da planta (BALDIN *et al.* 2018; FERNANDEZ *et al.* 2017; GAZIM *et al.* 2010; MELO *et al.* 2015a; NDIKU E NGULE 2014; NGBOLUA *et al.* 2016; NGULE *et al.* 2014; OKEM *et al.* 2012; VAN PUYVELDE *et al.* 1986; YORK *et al.* 2012) (Quadro 5), sendo que todos utilizaram testes *in vitro* (Quadro 4).

Todos os estudos utilizaram as folhas, com seis tratando do potencial do extrato (FERNANDEZ *et al.* 2017; NDIKU E NGULE 2014; NGBOLUA *et al.* 2016; NGULE *et al.* 2014; OKEM *et al.* 2012 e YORK *et al.* 2012), três do OETr (BALDIN *et al.* 2018; GAZIM *et al.* 2010 e MELO *et al.* 2015a;), um do TrROY (BALDIN *et al.* 2018) e um utilizou de FR (FERNANDEZ *et al.* 2017) (Quadro 4).

A variedade de gêneros bacterianos estudados foi diversa entre os artigos. Dez estudos mostraram atividade sobre algumas bactérias, dentre as quais se destacaram as bactérias gram-positivas. Fernandez *et al.* (2017) avaliaram a CIM do EB e de algumas FR, anteriormente citadas, na concentração de 0,49 a 500 µg/mL utilizando o método de microdiluição em microplaca com 96 poços em fundo em U, em caldo Mueller-Hinton, CAMHB. Os resultados foram interpretados pela menor concentração de EB e FR sem coloração, o que é indicativo de que há inibição do crescimento bacteriano (BERRIDGE *et al.* 1996; FERNANDEZ *et al.* 2017). A FR-I (abieta-7,9(11)-dien-13-beta-ol) precisou de uma concentração mais baixa para inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* (0,98 µg/mL), *Enterococcus faecalis* (31,2 µg/mL) e *Bacillus cereus* (31,2 µg/mL) e para *Escherichia coli* e *Salmonella Typhimurium*, 125 µg/mL e 62,5 µg/mL, respectivamente. O FR-II também apresentou bons resultados para CIM, principalmente para *B. cereus* (62,5 µg/mL). Não foram encontrados potenciais de inibição significativos para *Pseudomonas aeruginosa* e *Aeromonas hydrophila* em nenhuma das FR ou no EB.

Van Puyvelde *et al.* (1986) já havia isolado um dos compostos presentes na FR-III (FERNANDEZ *et al.* 2017), que corresponde ao diterpeno 8(14),15-sandaracopimaradieno-7alfa,18diol, extraído com clorofórmio (Quadro 4). Utilizando-se o método de diluição líquida, com concentrações do diterpenodiol de no mínimo 0,39 e no máximo 50 µg/mL foi obtida melhor inibição de bactérias gram-positivas. Comparado ao estudo anterior (FERNANDEZ *et al.* 2017) no qual *S. aureus* exigiu uma CIM de 500 µg/mL com a FR-III, o isolado obteve uma maior inibição para este microrganismo, com CIM de 12,5 µg/mL (VAN PUYVELDE *et al.* 1986). Em se tratando de bactérias gram-negativas, foram encontrados valores significativos de inibição para *P. vulgaris* (25 µg/mL), *P. solanacearum* (25 µg/mL) e *Shigella dysenteriae* (12,5 µg/mL) (Quadro 5).

Ngbolua *et al.* (2016) usando o mesmo método, testaram a CIM e a concentração bactericida mínima (CBM) (ágar de soja tripticase, TSA) para *S. aureus* e *E. coli*. Foram obtidos os resultados de 31,25 µg/mL do extrato orgânico para *E. coli*, resultado este referente à CIM e à CBM. Já para *S. aureus*, o extrato apresentou resultado de 125 µg/mL.

Okem *et al.* (2012) descreveram a diferença no potencial antibacteriano de extratos de *T. riparia* obtidos a partir de diferentes solventes (EtOAc, EtOH e água) para *E. coli*, *S. aureus* e *E. faecalis*. A extração realizada com EtOAc apresentou os melhores resultados para *E. coli* e *E. faecalis*, com CIM de 0,19 e 0,04 mg/mL respectivamente. Já para *S. aureus*, o extrato etanólico apresentou o melhor resultado, com CIM de 0,39 mg/mL. Os resultados para

os demais solventes apresentaram valores inferiores a 1 mg/mL. Os resultados para CBM não foram significativos.

Ngule *et al.* (2014) utilizaram água como solvente extrator, sendo o extrato aquoso testado em diferentes culturas de bactérias, em ágar Mueller-Hinton (Quadro 4). Todos mostraram uma zona de inibição, com *E. coli* apresentando o menor halo (9,67 mm). Já para *Salmonella typhi*, o extrato apresentou um grande halo de inibição, muito próximo ao controle positivo, a penicilina: 21,00 mm e 22,67 mm, respectivamente. Seguido por *S. epidermidis*, *B. cereus* e *P. vulgaris*, todos valores em torno de 18 mm. As duas espécies estudadas do gênero *Serratia*, por outro lado, apresentaram um halo de inibição de 13 mm, consideravelmente menor do que os halos obtidos com a penicilina, que foram todos superiores a 20 mm.

Ndiku e Ngule (2014) realizaram uma infusão das folhas da planta para analisar os efeitos do extrato. Cepas de *Serratia liquefaciens*, *Salmonella typhi*, *Proteus vulgaris*, *E. coli*, *Enterobacter aerogenes* e *B. cereus* foram testadas (Quadro 4). O extrato foi capaz de inibir todas as espécies testadas, com destaque para *B. cereus* com halo de inibição de 22,67 mm, seguido por *S. liquefaciens* com halo de 21,00 mm. Em comparação com o estudo anterior (NGULE *et al.* 2014), *E. coli* apresentou um halo ligeiramente maior neste estudo, de 13,33 mm, tendo se obtido este mesmo valor para *S. typhi*, muito menor do que o halo do estudo anterior (21,00 mm) (NGULE *et al.* 2014). Outros resultados para os microrganismos testados foram: *E. aerogenes* 14,33 mm e *P. vulgaris* 12,33 mm (Quadro 5).

York *et al* (2012) estudaram algumas bactérias causadoras de infecções respiratórias. A partir da extração de folhas de *T. riparia* com diclorometano-metanol ou água (Quadro 4), foi realizada microdiluição para expressar os valores de CIM, sendo os valores inferiores a 1 mg/mL considerados significativos. O extrato orgânico apresentou as menores CIM para inibir agentes infecciosos. O melhor resultado para *S. aureus* foi 0,03 mg/mL, seguido por *Moraxella catarrhalis* 0,10 mg/mL (Quadro 5).

O OETr também foi testado como agente antibacteriano por Gazim *et al.* (2010), que testaram extratos com variação de sazonalidade contra oito espécies bacterianas (Quadro 4). No método de disco de difusão, *K. pneumoniae* apresentou a inibição mais significativa no outono (24,3 mm), obtendo um halo maior que o controle positivo utilizado, a gentamicina (20,6 mm) seguido de *S. aureus*, que no óleo extraído das folhas do verão apresentou inibição de 23,3 mm. Assim como *E. coli*, *S. enterica* e *B. cereus* também apresentaram melhor inibição com folhas coletadas no verão. *E. faecalis* e *P. aeruginosa*, obtiveram os melhores valores no outono. Já para *P. mirabilis*, não foi visualizado halo de inibição em nenhum dos OE. Os resultados de CIM de *S. aureus* e *B. subtilis* apresentaram os menores valores de

inibição, com concentrações variando de 7,80 a 31,2 µg/mL, com destaque para o OETr do verão, com valor de CIM de 7,80 µg/mL. York *et al.* (2012) utilizaram também o OETr em seu estudo, tendo considerado significativos os valores de inibição $\leq 2,00$ mg/mL, sendo que para *S. aureus*, *M. smegmatis*, *M. catarrhalis* e *K. pneumoniae* eles ficaram acima desse valor.

A microdiluição usando CAMBH também foi um método para avaliar os efeitos do TrROY isolado do OETr (BALDIN *et al.* 2018) (Quadro 4). Os resultados para este composto também foram melhores para bactérias gram-positivas, como *E. faecalis* e *S. aureus*, ambas com CIM de 62,5 µg/mL.

Por fim, Baldin *et al.* (2018) testaram, além do TrROY, os efeitos do OE sobre a bactéria causadora da tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*. Para o teste, foram utilizados 19 isolados clínicos (7 suscetíveis a medicamentos anti-TB, 6 resistentes à isoniazida e 6 MDR), e uma cepa conhecida também foi estudada. O método *Resazurin Microtiter Assay Plate* (REMA) foi utilizado (PALOMINO *et al.* 2002, BALDIN *et al.* 2018). Tanto o OE quanto o TrROY foram diluídos a uma concentração de 0,98 a 250 µg/mL e adicionados às microplacas juntamente com o inóculo do microrganismo. Após incubação de sete dias, foi adicionada a solução de resazurina. A interpretação foi feita pela alteração da cor da solução de azul para rosa, indicando crescimento bacteriano. O TrROY mostrou-se um composto com potencial atividade contra *M. tuberculosis*, considerando que os resultados de CIM obtidos para todos os isolados foram de 31,2 µg/mL. Para o OETr, os valores variaram de 31,2 a 62,5 µg/mL. De acordo com um estudo de GU *et al.* (2004), bons candidatos a medicamentos para o manejo da tuberculose apresentam CIM de 64 µg/mL.

5.3.2 Atividade antifúngica

A atividade antifúngica foi investigada por seis estudos (ENDO *et al.* 2015; GAZIM *et al.* 2010; KAKANDE *et al.* 2019; OKEM *et al.* 2012; VAN PUYVELDE *et al.* 1986; YORK *et al.* 2012) (Quadro 4). Todos testaram as folhas da planta. Três estudos testaram a atividade antifúngica em fungos dermatófitos dos gêneros *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton* (ENDO *et al.* 2015; KAKANDE *et al.* 2019; VAN PUYVELDE *et al.* 1986). Três estudaram *Candida albicans* (GAZIM *et al.* 2010; OKEM *et al.* 2012; VAN PUYVELDE *et al.* 1986), e um *Cryptococcus neoformans* (YORK *et al.* 2012) (Quadro 4).

Dos seis estudos que tratam do potencial antifúngico da planta, cinco mostraram atividade (ENDO *et al.* 2015; GAZIM *et al.* 2010; KAKANDE *et al.* 2019; OKEM *et al.*

2012; e YORK *et al.* 2012) e um deles, não foi observada boa atividade antifúngica (VAN PUYVELDE *et al.* 1986).

Endo *et al.* (2015) utilizaram em seu estudo o extrato hidroalcoólico das folhas das plantas *R. officinalis*, *P. guajava* e *T. riparia*. O método de microdiluição em placa de 96 poços foi utilizado para estimar a CIM e a concentração fungicida mínima (CFM), que para a planta foco desta revisão foi de 62,5 a 250 mg/mL. Também foi realizado o método de disco-difusão, onde *T. riparia* apresentou resultados satisfatórios para os três microrganismos. Além do método de disco difusão, foi utilizado um microscópio de fluorescência para medir a concentração inibitória do crescimento de hifas, onde confirmou-se o resultado obtido no método de disco-difusão, que não foi diferente quando analisado no microscópio eletrônico de varredura. Este estudo mostrou que o extrato apresentou maior ação inibitória para *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* do que para *M. gypseum*.

Kakande *et al.* (2019) aplicaram o mesmo método e testaram nas espécies *T. tonsurans*, *T. mentagrophytes* e *M. audouinii*. Todos foram suscetíveis ao EB na concentração de 1 g/mL, sendo que *T. tonsurans* foi o mais suscetível, apresentando CIM de 62,5 mg/mL, seguido do *T. mentagrophytes* (125 mg/mL) e do *M. audouinii* (250 mg/mL). Obteve-se CFM com valores baixos para *T. tonsurans* e *T. mentagrophytes* sugerindo que ambos foram suscetíveis ao extrato, enquanto que para *M. audouinii* este valor foi alto, sugerindo que esta espécie de dermatófito foi menos suscetível ao extrato de *T. riparia*. (quadro 5)

Como mencionado anteriormente, Van Puyvelde *et al.* (1986) isolaram o diterpenodiol 8(14),15-Sandaracopimaradieno-7Q8diol no extrato clorofórmico da *T. riparia*. Diluições seriadas foram usadas para determinação da CIM antifúngica de forma semelhante a realizada para determinação da CIM antibacteriana. Contudo, o resultado deste estudo para ação antifúngica não foi tão eficiente quanto para antibacteriano (Quadro 5).

Gazim *et al.* (2010) demonstrou que há realmente uma diferença sazonal na composição do OETr. *Candida albicans*, mostrou-se muito sensível ao OE de todas as estações, testado pelo método de microdiluição e também por disco-difusão (Quadro 4). A zona de inibição para este microrganismo foi de 19,3 a 22,3 mm e a CIM foi de 31,2 a 62,4 µg/mL, sendo que a melhor atividade foi apresentada no verão. Os métodos de extração utilizados por Okem *et al.* (2012) já relatados neste estudo, mostraram que os extratos também são farmacologicamente ativos contra *Candida albicans*. Após utilizar o mesmo método de Gazim *et al.* (2010), foram obtidas CIM de 0,39 a 12,5 mg/mL e MFC de 1,56 a 6,25 mg/mL, sendo o solvente com melhor desempenho o EtOAc (Quadro 5).

Em seu estudo acerca do uso plantas no tratamento de doenças infecciosas do trato respiratório York *et al.* (2012) descreveu a atividade de 30 espécies de plantas contra algumas bactérias, como já mencionado, e também contra o fungo da espécie *Cryptococcus neoformans*. O método utilizado foi baseado em microdiluições do extrato de uma única planta ou combinações entre diferentes espécies. Foram obtidos dois tipos de extratos: orgânico e aquoso, para os quais os resultados de CIM para *T. riparia* foram 0,60 e 1,00 mg/mL respectivamente. Para o OETr a CIM obtida foi de 0,83 mg/mL.

5.3.3 Atividade antiparasitária

Dos 19 artigos, quatro deles trataram do potencial do OETr sobre o protozoário do gênero *Leishmania* (CARDOSO *et al.* 2018; DEMARCHI *et al.* 2015a, 2016; TERRON-MONICH *et al.* 2018), e dois também estudaram o efeito do TrROY isolado do OE (DEMARCHI *et al.* 2015a; TERRON-MONICH *et al.* 2018) (Quadro 4). Em dois estudos, foram realizados testes para as formas promastigota e amastigota (intracelular) (CARDOSO *et al.* 2018; DEMARCHI *et al.* 2015a), enquanto os outros dois utilizaram apenas a forma intracelular (DEMARCHI *et al.* 2016; TERRON-MONICH *et al.* 2018) de *Leishmania (Leishmania) amazonensis* (Quadro 4). Todos os quatro estudos realizaram experimentos *in vitro* (CARDOSO *et al.* 2018; DEMARCHI *et al.* 2015a, 2016; TERRON-MONICH *et al.* 2018) sendo que apenas um dos autores realizou também um ensaio *in vivo* acerca da atividade anti-*Leishmania* em camundongos BALB/c infectados (CARDOSO *et al.* 2018) (Quadro 4).

Todos os quatro estudos mostraram efeitos significativos do OETr contra *L. (L.) amazonensis* (CARDOSO *et al.* 2018; DEMARCHI *et al.* 2015a, 2016; TERRON-MONICH *et al.* 2019) e TrROY (TERRON-MONICH *et al.* 2019) (Quadro 5). O OETr foi mais potente *in vitro* contra as formas promastigota e amastigota do que o isolado (CARDOSO *et al.* 2018), achado que também foi observado por Demarchi *et al.* (2015a).

O estudo que avaliou a atividade *in vivo* (CARDOSO *et al.* 2018) em camundongos BALB/c infectados, utilizando OETr tópico, extraído no verão, nas concentrações de 0,5% e 1% (Quadro 4). Após avaliação do teste tópico, a carga parasitária nos linfonodos e no baço dos camundongos foi quantificada seguindo o método descrito por Lonardoni *et al.* (2000), por microdiluição em placas de 96 poços e contagem das células infectadas ao microscópio. Este experimento não mostrou redução na lesão de pele, entretanto a carga parasitária no baço foi reduzida. O estudo realizado para avaliar a atividade anti-*Leishmania in vitro* por Cardoso

et al. (2018) mostrou um bom potencial inibitório sobre o crescimento de formas promastigotas, com IC50 variando de 13,31 a 15,67 ng/mL, obtendo desempenho melhor que o controle positivo, que nesse caso foi a AnB. Foi observado ainda que a administração tópica não foi eficaz para curar as lesões cutâneas na concentração estudada (Cardoso et al. 2018) (Quadro 5).

Demarchi *et al.* (2016) realizou experimentos a partir de macrófagos infectados com promastigotas de *L. (L.) amazonensis* os quais foram tratados com o OETr a 30 ng/mL (Quadro 4). A contagem microscópica de amastigotas e macrófagos infectados foi realizada por microscopia óptica. Na concentração utilizada, houve uma diminuição de 50% na taxa de infecção. Os efeitos do OETr sobre a carga parasitária em macrófagos infectados também foram verificados por qPCR (Quadro 5), com redução de 91% nos macrófagos tratados com OETr.

O OETr e o TrROY foram testados contra promastigotas e amastigotas de *L. (L.) amazonensis* (DEMARCHI *et al.* 2015a). Para as formas promastigotas, a viabilidade parasitária foi primeiramente avaliada pelo método XTT e definida pela dose que reduziu em pela metade a sobrevivência dos parasitas tratados em relação aos não tratados (DL50). O OETr apresentou melhor atividade (DL50= 0,5 µg/mL), sem diferença significativa para a AnB, o medicamento referência. O TrROY mostrou menor eficácia, tendo exigido uma concentração maior para reduzir a sobrevivência do parasita. A contagem microscópica mostrou que a concentração necessária para inibir o crescimento em 50% (IC50) foi de 0,03 µg/mL para o OETr, enquanto para o isolado foi de 2,45 µg/mL. As alterações ocorridas nas estruturas do parasita foram analisadas em microscópio eletrônico de transmissão nas concentrações de 0,03 µg/mL e 0,5 µg/mL de OETr, sendo observadas alterações na morfologia da promastigota para ambas as concentrações (Quadro 5).

Os efeitos intracelulares do TrROY em amastigotas foram testados por Terron-Monich *et al.* (2018). Macrófagos murinos infectados com *L. (L.) amazonensis* foram tratados com o isolado, sendo a porcentagem de células infectadas multiplicada pelo número médio de parasitas por célula, a taxa de redução da infecção de macrófagos murinos foi de 31% na concentração de 0,1 µg/mL (TERRON-MONICH *et al.* 2018) (Quadro 5). O mesmo teste foi realizado por Demarchi *et al.* (2015a) e mostrou uma redução muito semelhante à encontrada por Terron-Monich *et al.* (2018): na concentração de 0,03 µg/mL, não apresentou citotoxicidade e promoveu redução de 65% na infecção (DEMARCHI *et al.* 2015a) (Quadro 5).

Dentre todos os estudos, apenas três trataram da atividade anti-helmíntica da planta (MELO *et al.* 2015b; OKEM *et al.* 2012; VAN PUYVELDE *et al.* 2018), dentre eles dois utilizaram *Caenorhabditis elegans* como população (OKEM *et al.* 2012; VAN PUYVELDE *et al.* 2018) e o outro *Schistosoma mansoni* (MELO *et al.* 2015b). Todos os testes foram realizados *in vitro* e foram obtidos através das folhas da planta, porém com diferentes derivados. Todos os 3 obtiveram resultados positivos na ação anti-helmíntica.

Foi utilizado por Melo *et al.* (2015b) o OE obtido pelo método de hidrodestilação em aparelho tipo *Clevenger*. Para o ensaio esquistossomicida, utilizou-se a diluição de OETr em DMSO em diferentes concentrações e, em seguida, seguiu-se o método MTT (MAGALHÃES *et al.* 2012; MELO *et al.* 2015b) para avaliar a viabilidade dos parasitas. Foram obtidos resultados positivos, pois houve diminuição da viabilidade dos vermes após o tratamento tanto com a menor concentração de OETr (10 µg/mL) quanto na maior concentração (100 µg/mL), de forma semelhante ao grupo controle.

Em outro dos artigos (OKEM *et al.* 2012), a extração foi realizada com EtOAc, EtOH e água. Para determinar a viabilidade de *C. elegans*, foram utilizados testes de microdiluição para cada extrato vegetal, sendo que o extrato de *T. riparia* com acetato de etila se destacou, tendo apresentado a melhor atividade anti-helmíntica com concentração letal mínima (CLM) de 0,004 mg/mL, tendo em vista que o estudo constatou que extratos vegetais com valor de CLM inferior a 1 mg/mL apresentaram alta atividade anti-helmíntica (OKEM *et al.* 2012).

Em seu estudo, Van Puyvelde *et al.* (2018) investigaram o potencial farmacológico do isolado 8(14),15-sandaracopimaradieno-7 α ,18-diol extraído com os solventes hexano, EtOAc, metanol e água. O ensaio foi realizado em uma microplaca de 96 poços, sendo adicionado juntamente com as larvas extrato vegetal, FR ou solução estoque do composto puro, com o resultado sendo estimado pela IC50. Dentre os achados apresentados, concluiu-se que apenas o extrato hexânico foi ativo, a partir do qual o composto mencionado foi isolado. Este, apresentou potencial anti-helmíntico com IC50 de $5,4 \pm 0,9$ µg /ml.

A atividade acaricida do OETr foi avaliada em apenas um dos estudos (GAZIM *et al.* 2011). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* foi utilizado como população estudada, tendo em vista que atualmente são utilizados agentes químicos que causam resistência ao princípio ativo, o estudo é de grande interesse. (CHAGAS *et al.* 2003; GAZIM *et al.* 2011). Tanto para o teste acaricida (AIT) quanto para o teste do pacote larval (LPT) foi utilizada uma diluição seriada do OETr, adicionando um agente emulsificante (*Tween* 80). Um grupo de fêmeas grávidas foi adicionado, removido e incubado por 14 dias. Após a incubação, as fêmeas que puseram ovos foram quantificadas. Os ovos foram então pesados e incubados durante 21 dias

e a eficácia do tratamento contra fêmeas ingurgitadas foi avaliada medindo a mortalidade de fêmeas grávidas, o número total de ovos, peso do ovo, porcentagem de eclodibilidade e eficiência do produto (GAZIM et al. 2011). Para o LPT as larvas foram acondicionadas em envelopes de papel filtro contendo solução de teste e incubadas por 24 horas, tendo o resultado desse sido medido pela porcentagem de mortalidade de larvas de *R. (B.) microplus* expostas a diferentes concentrações. Os resultados demonstraram que a mortalidade é dose-dependente: em concentrações mais baixas a taxa de mortalidade foi alta. Exemplificando, em uma concentração de 12,50%(p/v), a porcentagem média foi de 97,60%, resultado este bastante promissor (Quadro 5).

6 DISCUSSÃO

Nesta revisão, foi demonstrado que as publicações acerca da toxicidade e das atividades antimicrobianas da *T. riparia* concentram-se essencialmente no Brasil e em diferentes regiões do continente africano. Como já mencionado anteriormente, esta planta é amplamente difundida nessas regiões, especialmente pelo clima subtropical e temperado, o que torna a obtenção da mesma para fins de estudo mais acessível. As folhas da planta foram a fonte principal de matéria prima para retirada de extratos, do OE e de compostos isolados.

Existe uma grande demanda para encontrar tratamentos alternativos para diversas condições de saúde, sendo um destes o uso de OEs, chás e extratos. Os OEs são substâncias complexas, compostas pela mistura de uma ampla variedade de componentes que contêm centenas de moléculas químicas (RAMSEY *et al.* 2018), ou seja, são uma mistura de compostos em proporções ideais, que atuam de maneira sinérgica para os efeitos da planta. (SCUTERI *et al.* 2021). Os OEs, em geral, são substâncias lipofílicas com alta volatilidade, com os seus componentes sendo em sua maioria terpenóides lipofílicos, além de derivados de hidrocarbonetos de cadeia alifática e fenilpropanóides redutores (KUBECZKA 1979; TUREK E STINTZING 2013). Diversos estudos utilizaram o OETr para realização dos experimentos. Fazendo uso de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM) na realização da análise fitoquímica do OETr, Gazim *et al.* (2010) descreveu o mesmo como um complexo especialmente rico em terpenoides.

Houve uma variação significativa do rendimento da quantidade de OE obtida das folhas, a qual pode ser explicada devido à época em que a matéria base vegetal foi colhida (GAZIM *et al.* 2010). Gazim *et al.* (2010) e Cardoso *et al.* (2018) expuseram que o valor de rendimento máximo ocorreu no inverno, e o valor mínimo ocorreu na primavera. Essa variação sazonal pode ser explicada pelas diferenças na umidade, na exposição à luz, na temperatura bem como nos índices pluviométricos entre as quatro estações do ano (SARMA 2002; CARDOSO *et al.* 2018). Apesar dessa variação, a composição do óleo se manteve ao longo do ano, sempre com o predomínio de sesquiterpenos oxigenados (GAZIM *et al.* 2010; CARDOSO *et al.* 2018)

O diterpeno TrROY isolado do OETr também foi analisado em busca de elucidar seus efeitos, e como é esperado para compostos isolados, necessitou de concentrações maiores para obtenção de resultados semelhantes ao do OETr (BASSOLE E JULIANI 2012; DEMARCHI *et al.* 2015a). De acordo com Demarchi *et al.* (2015a), o OETr mostrou citotoxicidade superior

ao TrROY sozinho em macrófagos murinos, fato que pode ser explicado justamente pela composição do óleo ser rica em uma grande variedade de diferentes moléculas.

Diferentes estudos (BALDIN *et al.* 2018; DEMARCHI *et al.* 2015a) demonstraram que o OETr não apresentou citotoxicidade em células humanas. Este achado é bom, pois é um indicativo de que o uso desse composto pode ser seguro para utilização por humanos.

A medicina tradicional africana utiliza as folhas da *T. riparia* há muito tempo para tratar uma grande variedade de doenças infecciosas. Assim, despertou-se o interesse para investigar as possíveis atividades antimicrobianas desta planta contra bactérias, fungos, protozoários e helmintos.

A busca por novos compostos antibacterianos é incessante devido ao grande número de bactérias multirresistentes aos medicamentos existentes, aumentando portanto o estudo de substâncias isoladas de plantas, como por exemplo os isoprenos, os quais estão amplamente presentes nas folhas de *T. riparia* (KOROCH *et al.* 2007; BALDIN *et al.* 2018). As bactérias possuem uma parede celular com características lipofílicas, sendo assim, os OEs, que apresentam as mesmas características, são capazes de atravessar a membrana citoplasmática das células bacterianas causando a ruptura da célula (BHARDWAJ *et al.* 2013; BALDIN *et al.* 2018).

A atividade antibacteriana do OETr contra a principal bactéria causadora das cáries dentárias, *Streptococcus mutans*, tem sido reportada nos últimos anos: a aplicação tópica deste é capaz de reduzir a aderência de microorganismos em questão nos dentes (MELO *et al.* 2015a). Mudanças sazonais estudadas por Gazim *et al.* (2010) demonstraram que as bactérias mais suscetíveis entre as 9 estudadas são *S. aureus* e *B. subtilis*, sendo as melhores suscetibilidades encontradas foram obtidas a partir das folhas colhidas no verão. Baldin *et al.* (2018) testou ainda o potencial anti-TB do OETr e do TrROY, sendo que ambos apresentaram resultados satisfatórios contra o *M. tuberculosis*, o que representa um futuro promissor no tratamento de cepas resistentes aos fármacos existentes no mercado.

Os efeitos antifúngicos foram verificados para diferentes tipos de fungo, dentre os quais estão inclusos os dermatófitos. Estes são causadores de infecções de pele, cabelo e unhas e são bastante difundidos em regiões subtropicais, em locais quentes e úmidos (KAKANDE *et al.* 2019). Para tratar essas doenças geralmente é necessário um longo período de tratamento, o que facilita a evasão do paciente e ajuda na promoção da resistência, sendo portanto necessário encontrar novas alternativas. A maioria dos estudos encontrados utilizou o método de disco-difusão para avaliar a capacidade antifúngica da planta, já que este método é simples e

permite que várias substâncias sejam estudadas simultaneamente, sendo que através desse método, Endo *et al.* relataram que o extrato mostrou inibição do crescimento de hifas.

Tanto o OE, quanto o extrato vegetal, quanto o isolado 8(14),15-sandaracopimaradieno-7alfa,18diol. demonstraram boa atividade contra *Candida albicans*, fato este que é de grande importância tendo em vista que esse fungo, devido à sua boa flexibilidade genética, acaba se tornando menos suscetível aos tratamentos já disponíveis (BUWA E VAN STADEN, 2006; OKEM *et al.* 2012).

Alguns estudos *in vitro* reportaram as potenciais atividades anti-*Leishmania* da *T. riparia* e seus derivados (DEMARCHI *et al.* 2015a, 2016, CARDOSO *et al.* 2018; TERRON-MONICH *et al.* 2018). A procura por novos compostos para o tratamento da leishmaniose tem sido amplamente encorajada (*Drugs for Neglected Diseases initiative*, DNDi, 2021). Atualmente o tratamento dessa doença é baseado no uso de antimoniais pentavalentes e anfotericina, que apesar de serem eficazes, representam um grande desafio na área da saúde: por apresentarem alta toxicidade e uma grande gama de efeitos adversos, o abandono do tratamento é um problema que muitas vezes pode levar o paciente a óbito (BERBERT *et al.* 2018).

A partir dos estudos, foi possível verificar que o OETr apresenta uma boa atividade anti-*Leishmania in vitro*. Este também se mostrou promissor para combater a forma intracelular da infecção, pois em concentrações não citotóxicas para a célula hospedeira, foi capaz de reduzir significativamente a taxa de infecção (DEMARCHI *et al.* 2015a). Em comparação o TrROY precisou de concentrações mais altas para induzir a morte de *L. (L.) amazonensis*, fato que, como discutido anteriormente, possivelmente se deve ao fato de que o OETr possui mais componentes que atuam de maneira sinérgica. Tanto o TrROY quanto o OETr apresentaram efeitos no metabolismo respiratório mitocondrial do parasita (DEMARCHI *et al.* 2015a; CARDOSO *et al.* 2018).

Efeitos anti-helmínticos promissores também foram relatados (MELO *et al.* 2015b; OKEM *et al.* 2012; VAN PUYVELDE *et al.* 2018). Melo *et al.* (2015b) estudou os efeitos do OETr contra o *S. mansoni*, agente causador da esquistossomose, doença tropical que afeta milhões de pessoas, demonstrando que o óleo foi efetivo contra a viabilidade de vermes adultos e de novos ovos. Dois dos estudos utilizaram *Caenorhabditis elegans* como população (OKEM *et al.* 2012; VAN PUYVELDE *et al.* 2018) por ser um nematoide de fácil cultivo, otimizando o processo de pesquisa. Nos experimentos conduzidos por Okem *et al.* (2012) o extrato obtido com EtOAc apresentou uma boa atividade contra *C. elegans*, resultado este bastante promissor. A identificação e o isolamento do composto supostamente responsável

pela atividade anti-helmíntica foi realizada por Van Puyvelde *et al.* (2018), sendo este o composto 8(14),15-sandaracopimaradieno-7alfa,18-diol, o qual apresentou atividade anti-helmíntica similar à descrita no estudo citado anteriormente (OKEM *et al.* 2012), evidências as quais fortalecem a ideia do uso dessa planta tradicional como agente anti-helmíntico. Contudo, ainda faz-se necessária a elucidação dos mecanismos pelos quais essa ação ocorre.

Ainda no espectro da ação antiparasitária, foram encontradas boas evidências do potencial antiacaricida da *T. riparia* contra o parasita do gado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, causador de vários problemas nas criações da América do Sul, sendo constatado que o OETr é um ótimo candidato para o controle de linhagens resistentes a pesticidas já utilizados no mercado (GAZIM *et al.* 2011).

Por fim, além da toxicidade e dos efeitos antimicrobianos, outras potenciais ações farmacológicas foram demonstradas nos estudos, como por exemplo as atividades imunomodulatórias descritas por Demarchi *et al.* 2016 e Terron-Monich *et al.* 2018, as quais também podem ser benéficas no tratamento de doenças infecciosas, bem como os efeitos anti-inflamatórios (OKEM *et al.* 2012) e analgésicos (GAZIM *et al.* 2010).

7 CONCLUSÃO

Com base nos estudos selecionados, pode-se verificar que a *T. riparia* demonstra potencial atividade antimicrobiana contra uma ampla gama de microrganismos, desde bactérias como *S. aureus*, a fungos dermatófitos, bem como contra diferentes parasitas, como protozoários e helmintos. Os resultados das atividades anti-*Leishmania* e anti-*M. tuberculosis* foram especialmente promissores devido à grande necessidade de novos tratamentos para a leishmaniose e para a tuberculose, respectivamente. Além disso, a toxicidade da planta e seus derivados parece ser baixa *in vitro*, o que mostra que possivelmente o uso dessa planta é seguro em baixas concentrações, sendo necessários mais estudos pré-clínicos para confirmar essa hipótese.

Este trabalho está sendo realizado em conjunto com o trabalho de conclusão de curso de outra graduanda do curso de Farmácia, no qual será realizada a análise do risco de viés, e além disso, novos estudos estão sendo inseridos nessa RS. Assim que possível, planeja-se publicar a junção desses dois trabalhos em formato de artigo científico em uma revista científica da área.

REFERÊNCIAS

- BALDIN, Vanessa Pietrowski et al. Anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity of essential oil and 6, 7-dehydroroyleanone isolated from leaves of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae). *Phytomedicine*, v. 47, p. 34-39, 2018.
- BASSOLÉ, Imaël Henri Nestor; JULIANI, H. Rodolfo. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*, v. 17, n. 4, p. 3989-4006, 2012.
- BERRIDGE, Michael V. et al. The biochemical and cellular basis of cell proliferation assays that use tetrazolium salts. *Biochemica*, v. 4, n. 1, p. 14-19, 1996.
- BHARDWAJ, Priya; ALOK, Utkarsh; KHANNA, Arpit. In vitro cytotoxicity of essential oils: A review. *Int. J. Res. Pharm. Chem*, v. 3, n. 3, p. 675-681, 2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília, DF: MS, 2006.
- BUWA, L. V.; VAN STADEN, J. Antibacterial and antifungal activity of traditional medicinal plants used against venereal diseases in South Africa. *Journal of ethnopharmacology*, v. 103, n. 1, p. 139-142, 2006.
- CALIXTO, Joao B. The role of natural products in modern drug discovery. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 91, 2019.
- CARDOSO, Bruna Muller et al. Antileishmanial activity of the essential oil from *Tetradenia riparia* obtained in different seasons. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 110, p. 1024-1034, 2015.
- DE LUCA-CANTO, G. et al. Revisões sistemáticas da literatura: guia prático. Curitiba: Brazil Publishing, 2020.
- DEKKERS, Olaf M. et al. COSMOS-E: Guidance on conducting systematic reviews and meta-analyses of observational studies of etiology. *PLoS Medicine*, v. 16, n.2, e1002742. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6383865/>. Acesso em: 15 fev. 2022.
- DEMARCHI, Izabel G. et al. Immunomodulatory activity of essential oil from *Tetradenia riparia* (Hochstetter) Codd in murine macrophages. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 30, n. 6, p. 428-438, 2015b.
- DEMARCHI, Izabel Galhardo et al. Antileishmanial activity of essential oil and 6, 7-dehydroroyleanone isolated from *Tetradenia riparia*. *Experimental Parasitology*, v. 157, p. 128-137, 2015a.
- DEMARCHI, Izabel Galhardo et al. Antileishmanial and immunomodulatory effects of the essential oil from *Tetradenia riparia* (Hochstetter) Codd. *Parasite Immunology*, v. 38, n. 1, p. 64-77, 2016.

ENDO, E. H. et al. Antidermatophytic activity of hydroalcoholic extracts from *Rosmarinus officinalis* and *Tetradenia riparia*. *Journal de mycologie medicale*, v. 25, n. 4, p. 274-279, 2015.

FRIEDRICH, Jussara CC et al. Improved antioxidant activity of a starch and gelatin-based biodegradable coating containing *Tetradenia riparia* extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 165, p. 1038-1046, 2020.

FERNANDEZ, Ana Claudia AM et al. Antimicrobial and antioxidant activities of the extract and fractions of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae) leaves from Brazil. *Current microbiology*, v. 74, n. 12, p. 1453-1460, 2017.

GAZIM, Zilda Cristiani et al. Acaricidal activity of the essential oil from *Tetradenia riparia* (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari; Ixodidae). *Experimental parasitology*, v. 129, n. 2, p. 175-178, 2011.

GAZIM, Zilda Cristiani et al. Seasonal variation, chemical composition, and analgesic and antimicrobial activities of the essential oil from leaves of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd in Southern Brazil. *Molecules*, v. 15, n. 8, p. 5509-5524, 2010.

GU, Jian-Qiao et al. Antitubercular constituents of *Valeriana laxiflora*. *Planta medica*, v. 70, n. 06, p. 509-514, 2004.

HIGGINS, J. P. Cochrane handbook for systematic reviews of interventions. Version 5.1. 0 [updated March 2011]. The Cochrane Collaboration. www.cochrane-handbook.org, 2011.

HOOIJMANS, Carlijn R. et al. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC medical research methodology*, v. 14, n. 1, p. 1-9, 2014.

KAKANDE, Taufik et al. Prevalence of dermatophytosis and antifungal activity of ethanolic crude leaf extract of *Tetradenia riparia* against dermatophytes isolated from patients attending Kampala International University Teaching Hospital, Uganda. *Dermatology research and practice*, v. 2019, 2019.

KUBECZKA, K. H. Possibilities of quality determination of essential oils which are used in medicine. *Vorkommen und Analytik ätherischer Ole*. Stuttgart, Germany: Thieme. p, p. 60-71, 1979.

LONARDONI, Maria Valdrinez Campana; RUSSO, Momtchillo; JANCAR, Sonia. Essential role of platelet-activating factor in control of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* infection. *Infection and immunity*, v. 68, n. 11, p. 6355-6361, 2000.

MARTINS, Maria Bernadete Gonçalves; MARTINS, Raphael Gonçalves Martins; CAVALHEIRO, José Alberto. Histoquímica e atividade antibacteriana de folhas do incenso (*Tetradenia riparia*). *Revista Biociências*, v. 14, n. 2, 2008.

MAGALHÃES, Lizandra G. et al. In vitro efficacy of the essential oil of *Piper cubeba* L. (Piperaceae) against *Schistosoma mansoni*. *Parasitology research*, v. 110, n. 5, p. 1747-1754, 2012.

MELO, Nathalya I. de et al. Antischistosomal and cytotoxic effects of the essential oil of *Tetradenia riparia* (Lamiaceae). *Natural Product Communications*, v. 10, n. 9, p. 1934578X1501000934, 2015b.

MELO, Nathalya I. de et al. Antimicrobial activity of the essential oil of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd.(Lamiaceae) against cariogenic bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 46, p. 519-525, 2015a.

MOHER, D. et al. The PRISMA Group preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses. *PLoS Med*, v. 6, n. 7, p. e1000097, 2009.

NDIKU, Mueni Hellen; CHRISPUS NGULE, Mutuku. Antibacterial activity and Preliminary phytochemical screening of hot-aqua extract of *Tetradenia riparia* leaves. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, v. 5, n. 8, 2014.

NGBOLUA, K. N. et al. Antisickling and antibacterial activities of *Garcinia punctata* Oliv.(Clusiaceae) and *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae) from Democratic Republic of the Congo. *J. Adv. Med. & Life Sci. V4I1*. DOI, v. 10, 2016.

NGULE, Mutuku Chrispus et al. Preliminary phytochemical and antibacterial screening of fresh *Tetradenia riparia* leaves water extract against selected pathogenic microorganisms. *Int J Bioassays*, v. 3, p. 3413-3418, 2014.

OKEM, A.; FINNIE, J. F.; VAN STADEN, J. Pharmacological, genotoxic and phytochemical properties of selected South African medicinal plants used in treating stomach-related ailments. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 139, n. 3, p. 712-720, 2012.

OMOLO, Maurice O. et al. Repellency of essential oils of some Kenyan plants against *Anopheles gambiae*. *Phytochemistry*, v. 65, n. 20, p. 2797-2802, 2004.

PALOMINO, Juan-Carlos et al. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, v. 46, n. 8, p. 2720-2722, 2002.

PATRO, Raquel. Pluma-de-névoa – *Tetradenia riparia*. In: PATRO, Raquel. Pluma-de-névoa – *Tetradenia riparia*. 2016. Disponível em: <https://www.jardineiro.net/plantas/pluma-de-nevoa-tetradenia-riparia.html>. Acesso em: 15 fev. 2022.

RAMSEY, J. Tyler et al. Focus: Plant-based medicine and pharmacology: Essential oils and health. *The Yale journal of biology and medicine*, v. 93, n. 2, p. 291, 2020.

SARMA, T. C. Variation in oil and its major constituents due to season and stage of the crop in Java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.). *J Spices Arom Crops*, v. 11, p. 97-100, 2002.

SCUTERI, et al., Eficácia dos óleos essenciais na dor: uma revisão sistemática e meta-análise de evidências pré-clínicas. *Frontiers in Pharmacology*, v 12: 2021

TERRON-MONICH, Mariana de Souza et al. 6, 7-Dehydroroyleanone diterpene derived from *Tetradenia riparia* essential oil modulates IL-4/IL-12 release by macrophages that are infected with *Leishmania amazonensis*. *Parasitology research*, v. 118, n. 1, p. 369-376, 2018.

TUREK, Claudia; STINTZING, Florian C. Stability of essential oils: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, v. 12, n. 1, p. 40-53, 2013.

VAN PUYVELDE, Luc et al. Active principles of *Tetradenia riparia*. I. Antimicrobial activity of 8 (14), 15-sandaracopimaradiene-7 α , 18-diol. *Journal of ethnopharmacology*, v. 17, n. 3, p. 269-275, 1986.

VAN PUYVELDE, Luc et al. Active principles of *Tetradenia riparia*. IV. Anthelmintic activity of 8 (14), 15-sandaracopimaradiene-7 α , 18-diol. *Journal of ethnopharmacology*, v. 216, p. 229-232, 2018.

YORK, T.; VAN VUUREN, S. F.; DE WET, H. An antimicrobial evaluation of plants used for the treatment of respiratory infections in rural Maputaland, KwaZulu-Natal, South Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 144, n. 1, p. 118-127, 2012.