



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E BIOTECNOLOGIA
– REDE BIONORTE

**BIOPROSPECÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMALÁRICA DE ESPÉCIES
VEGETAIS NO OESTE DO PARÁ, AMAZÔNIA BRASILEIRA**

MARIA BEATRIZ VIANA DOS SANTOS

SANTARÉM – PA
2024

MARIA BEATRIZ VIANA DOS SANTOS

**BIOPROSPECÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMALÁRICA DE ESPÉCIES
VEGETAIS NO OESTE DO PARÁ, AMAZÔNIA BRASILEIRA**

Defesa de tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA) como requisito para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra Rosa Helena Veras Mourão
Co-orientadora: Profa. Dra Alaíde Braga de Oliveira

SANTARÉM – PA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- V614b Viana dos Santos, Maria Beatriz.
BIOPROSPECÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMALÁRICA DE
ESPÉCIES VEGETAIS NO OESTE DO PARÁ, AMAZÔNIA
BRASILEIRA / Maria Beatriz Viana dos Santos. — 2024.
xii, 205 f. : il. color.
- Orientador(a): Prof^ª. Dra. Rosa Helena Veras Mourão
Coorientação: Prof^ª. Dra. Alaíde Braga de Oliveira
Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de
Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em
Biodiversidade e Biotecnologia, Belém, 2024.
1. Malária. 2. Plasmodium. 3. Acmella oleracea. 4.
Siparuna krukovii. 5. Trema micrantha. I. Título.

CDD 614.53209811

MARIA BEATRIZ VIANA DOS SANTOS

BIOPROSPECÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMALÁRICA DE ESPÉCIES VEGETAIS NO OESTE DO PARÁ, AMAZÔNIA BRASILEIRA

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA) como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Rosa Helena Veras Mourão

Co-orientadora: Profa. Dra. Alaíde Braga de Oliveira

Aprovada em 29/ 01/ 2024

Banca examinadora

Documento assinado digitalmente



ROSA HELENA VERAS MOURAO
Data: 11/03/2024 11:34:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra Rosa Helena Veras Mourão (Orientadora)
Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA)

Documento assinado digitalmente



MÁRIA REGINA COELHO FERREIRA
Data: 15/03/2024 19:22:02-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Márlia Regina Coelho Ferreira
(Museu Paraense Emílio Goeldi - MPEG)

Documento assinado digitalmente



JOYCE KELLY DO ROSÁRIO DA SILVA
Data: 12/03/2024 22:54:05-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Joyce Kelly do Rosário da Silva
(Universidade Federal do Pará - UFPA)

Documento assinado digitalmente



JOSE GUILHERME SOARES MAIA
Data: 19/03/2024 15:11:06-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. José Guilherme Soares Maia
(Universidade Federal do Amazonas - UFAM e Universidade Federal do Pará - UFPA)

Documento assinado digitalmente



ODAIR DOS SANTOS MONTEIRO
Data: 11/03/2024 12:02:07-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Odair dos Santos Monteiro
(Universidade Federal do Maranhão - UFMA)

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO

Eu, MARIA BEATRIZ VIANA DOS SANTOS, (X) autorizo () não autorizo a publicação da versão final aprovada de minha Tese de Doutorado intitulada “BIOPROSPECÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMALÁRICA DE ESPÉCIES VEGETAIS NO OESTE DO PARÁ, AMAZÔNIA BRASILEIRA” no Portal do Programa de Pós- Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE (PPG-BIONORTE), bem como no repositório de Teses da CAPES ou junto à biblioteca da Instituição Certificadora.

Local/Data: Santarém, 17 de Julho de 2024

Documento assinado digitalmente
 MARIA BEATRIZ VIANA DOS SANTOS
Data: 17/07/2024 18:29:24-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Maria Beatriz Viana dos Santos

CPF: 866.408.282-00

RG: 4637875

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais Benedito e Maria José,
Aos meus irmãos Joelma, Joyce e Márcio e aos meus
sobrinhos/ afilhados Juliene Alessandra e João Arthur

AGRADECIMENTOS

A Deus e a minha família, meus pais, irmãos e a minha sobrinha, que sempre estiveram ao meu lado me apoiando e me dando a força necessária para continuar seguindo. Por compreender as minhas ausências quando precisei me dedicar ao trabalho.

A minha orientadora, Dra. Rosa Helena Veras Mourão da Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA, pela paciência, amizade, atenção e por todo conhecimento dado ao longo desses anos e por estar ao meu lado, me apoiando e suportando junto comigo todas as adversidades nesse longo processo.

À minha co-orientadora Profa. Dra. Alaíde Braga de Oliveira da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, pelos ensinamentos, atenção dada aos experimentos e todo o apoio enquanto estive sob sua supervisão no Laboratório de Fitoquímica, na UFMG.

Ao Dr. Douglas Gontijo da UFMG, pelo auxílio nas análises estatísticas dos ensaios biológicos, nas análises do perfil fitoquímico/ cromatografias e pela amizade.

À Dra. Maria Fernanda Alves do Nascimento pela assistência na realização dos ensaios *in vitro* das atividades antiplasmodica e citotóxica, dos extratos etanólicos das plantas estudadas, durante o estágio sanduiche vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – PPGCF, na Faculdade Farmácia UFMG, pela amizade, mesmo a distância. À MSc. Letícia Hiromi Ohashi UFPA/ Belém, pela assistência e colaboração nos ensaios de prospecção fitoquímica e que estive ao meu lado durante todo o primeiro período que estive em Belo Horizonte. Gratidão!

Aos colegas do Laboratório de Bioprospecção e Biologia Experimental (LabBBEX), em especial ao técnico MSc. Adenilson Barroso, que além de amigo, foi fundamental nos meus primeiros aprendizados no laboratório, desde a coleta das plantas, preparação dos extratos, uso de equipamentos e todo o apoio dado em todos os procedimentos necessários durante a minha pesquisa. Antônio Júnior por todo o apoio durante esse processo de escrita de tese e artigo, pela amizade, e por compartilhar comigo nossas angústias durante esse processo no doutorado. À Maniusia, Kellyane, Nico, Antônio Bittencourt, Luiz Felipe, Lucas, Regiane e Yago pelas conversas e descontração nos momentos em que precisei de apoio. A Dinalva (*in memoriam*) pela amizade que construímos enquanto estive ao nosso lado no laboratório, você sempre será a minha saudade.

As amigas Margarida Pereira e Danúbia Valente do Laboratório de Estudos de Lepidópteros Neotropicais – UFOPA, que também fazem parte do programa BIONORTE.

Agradeço pela amizade de longa data, momentos de descontração, pelo auxílio as minhas dúvidas em relação ao curso, disciplinas, trabalhos e por estarmos juntas nessa jornada, por muitas vezes estressante e cansativa, mas necessária para o nosso futuro. Sou muito grata.

A Monique Natalle e Talita Ribas, que desde o início do curso estiveram me apoiando e por me ouvirem em todos os momentos bons e ruins, pela paciência e por não me deixarem desistir em momentos de extremo cansaço. Gratidão pela amizade. À Karen Auzier pela amizade e compartilhar momentos de distração e por todo o carinho.

Ao Dr. Luís Reginaldo Ribeiro Rodrigues do Laboratório de Genética e Biodiversidade – LGBio/UFOPA, meu eterno professor e ex orientador, que fez “brilhar meus olhos para a Ciência” e que hoje compartilho da sua amizade, que sempre me apoiou nos momentos que precisei, que me ouve e me dá conselhos quando necessário. A você minha eterna gratidão.

Ao professor Dr. Leandro Giacommin pela identificação da maioria das plantas utilizadas nas análises do meu trabalho.

A Dra. Kézia Scopel, Dra. Jessica Correia e MSc. Felipe Oliveira da UFJF pelo desenvolvimento dos testes antimaláricos *in vivo*. À Dra Renata Cristina de Paula pelo apoio das análises de citotoxicidade. À MSc. Maria José Bryanne, Prof. Dr. Ricardo Scher e Dra Silmara Pantaleão da Universidade Federal de Sergipe – UFS, pelo desenvolvimento dos ensaios de genotoxicidade *in vitro*.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - BIONORTE e aos professores vinculados ao programa pelos ensinamentos durante as disciplinas e aos coordenadores Dr. Sandro Percário e Dra. Eloísa Helena de Aguiar Andrade.

A FAPESPA pela bolsa de doutorado fornecida durante os 4 anos de curso e que tornou possível o desenvolvimento do projeto da tese de doutorado.

À CAPES, Consolidação da Pós-Graduação em Ciências da Saúde com foco em Biotecnologia e Inovação Terapêutica para Atenção à Saúde (Processo No. 88881.510177/2020-01), pelo apoio financeiro nas viagens que precisei fazer para a realização dos meus experimentos descritos nesta tese e nos artigos publicados.

À Dimension Science, por meio do programa DS Bridges (EUA), aos voluntários que participam do programa e em especial à coordenadora Márcia Fournier, pelo apoio financeiro fornecido nesses últimos 3 meses de doutorado que estive sem bolsa.

E a todos aqueles que direta ou indiretamente me apoiaram nesse processo. Gratidão!

SANTOS, Maria Beatriz Viana dos. **Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará** – 2024. xii, 205 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) – Universidade Federal do Oeste do Pará – Santarém/Pa, 2024

RESUMO

A malária é uma doença parasitária humana causada por parasitos do gênero *Plasmodium*, a qual é transmitida por mosquitos fêmea infectados do gênero *Anopheles*. Devido a resistência do parasito aos principais fármacos disponíveis, tem se buscado alternativas principalmente em extratos de plantas como novos modelos de desenvolvimento de antimaláricos. Diante disso, o objetivo desta pesquisa foi realizar a revisão da literatura a respeito de plantas com atividade antimalárica no Brasil e utilizar esses dados como base para realizar a bioprospecção de espécies vegetais provenientes do Oeste do Pará, incluindo atividade antimaláricas *in vitro* e *in vivo*, citotoxicidade e genotoxicidade dos extratos etanólicos das espécies mais ativas. Os resultados desta pesquisa estão dispostos em três capítulos. No capítulo 1, dados da revisão de literatura sobre plantas antimaláricas do Brasil obtido entre os anos de 2011 a 2022, foi registrado um total de 61 publicações, as quais foram citadas 36 famílias botânicas e 92 diferentes espécies analisadas contra diferentes cepas de *Plasmodium* em ensaios *in vitro* e *in vivo*. As famílias botânicas com maior número de espécies identificadas foram Rubiaceae, Apocynaceae, Fabaceae e Asteraceae e as espécies mais frequentemente citadas foram *Psychotria* L. (8) (Rubiaceae) *Aspidosperma* Mart. (12) (Apocynaceae). Um total de 75 compostos químicos foram identificados ou isolados a partir de 28 diferentes espécies, dos quais 31 são alcalóides. Das amostras de extratos, óleos, frações e compostos isolados, a maioria das pesquisas identificadas foram analisadas em clones W2 CQ-R *P. falciparum* (*in vitro*) e ANKA *P. berghei* (*in vivo*). Dos estados brasileiros com maior número de espécies analisadas, o Amazonas, Pará e Minas Gerais foram os mais citados. No capítulo 2, foi possível observar que das 11 espécies analisadas, o extrato de *Acmella oleracea*, *Siparuna krukovii* e *Trema micrantha* demonstraram alta taxa de inibição do crescimento do *Plasmodium* (W2) (90%), e resultado das análises em cepas *P. berghei* (NK65), houve uma variação na taxa de inibição da multiplicação do parasita (41.4% a 60.9%) na dose mais baixa – 25mg/kg. Em análises em HPLC-ESI-HRMS², uma nova alquilamida foi identificada no extrato de *A. oleracea* (Hidroxi-Spilanthalol ({(2*E*,6*Z*,8*E*)-5-hydroxy-*N*-isobutyldeca-2,6,8-trienamide)). No capítulo 3, análises genotóxicas *in vitro* (Ensaio cometa) dos extratos etanólicos de *A. oleracea* e *T. micrantha*, não apresentaram danos significativos no DNA de células HepG2 nas concentrações testadas (25,

50 e 100 µg/mL) em comparação ao controle positivo (H₂O₂ – peróxido de hidrogênio) ($p < 0,001$), não sendo, portanto, considerados genotóxicos. Diante dos dados obtidos nesta pesquisa, o extrato etanólico de flores de *Acmella oleracea*, conhecida como jambu, apresentou atividade antimalárica *in vitro* e *in vivo*, não apresentando citotoxicidade e genotoxicidade em células HepG2, demonstrando ser um potencial candidato ao desenvolvimento de um fitomedicamento.

Palavras-chave: Malária, *Plasmodium*, *Acmella oleracea*, *Siparuna krukovii*, *Trema micrantha*, HPLC-ESI-HRMS²

SANTOS, Maria Beatriz Viana dos. **Library System of the Federal University of Pará** – 2024. xii, 205 f. Thesis (PhD in Biodiversity and Biotechnology) – Federal University of Western Pará – Santarém/Pa - Brazil, 2024

ABSTRACT

Malaria is a human parasitic disease caused by parasites of the genus *Plasmodium*, which is transmitted by infected female mosquitoes of the genus *Anopheles*. Due to the parasite's resistance to the main available drugs, alternatives have been sought, mainly in plant extracts, as new models for the development of antimalarials. Therefore, the objective of this research was to review the literature regarding plants with antimalarial activity in Brazil and use this data as a basis to carry out bioprospecting of plant species from Western Pará, including antimalarial activity *in vitro* and *in vivo*, cytotoxicity and genotoxicity of ethanolic extracts of the most active species. The results of this research are arranged in three chapters. In chapter 1, data from the literature review on antimalarial plants in Brazil obtained between the years 2011 and 2022, a total of 61 publications were recorded, which cited 36 botanical families and 92 different species analyzed against different strains of *Plasmodium* in assays *in vitro* and *in vivo*. The botanical families with the highest number of species identified were Rubiaceae, Apocynaceae, Fabaceae and Asteraceae and the most frequently cited species were *Psychotria* L. (8) (Rubiaceae) *Aspidosperma* Mart. (12) (Apocynaceae). A total of 75 chemical compounds have been identified or isolated from 28 different species, of which 31 are alkaloids. Of the samples of extracts, oils, fractions and isolated compounds, the majority of research identified were analyzed in W2 CQ-R *P. falciparum* (*in vitro*) and ANKA *P. berghei* (*in vivo*) clones. Of the Brazilian states with the highest number of species analyzed, Amazonas, Pará and Minas Gerais were the most cited. In chapter 2, it was possible to observe that of the 11 species analyzed, the extract of *Acmella oleracea*, *Siparuna krukovii* and *Trema micrantha* demonstrated a high rate of inhibition of *Plasmodium* (W2) growth (90%), and the results of the analyzes on *P. berghei* strains (NK65), there was a variation in the inhibition rate of parasite multiplication (41.4% to 60.9%) at the lowest dose – 25mg/kg. In HPLC-ESI-HRMS2 analyses, a new alkylamide was identified in the extract of *A. oleracea* (Hydroxy-Spilanthal ((2E,6Z,8E)-5-hydroxy-N-isobutyldeca-2,6,8-trienamide)). In chapter 3, *in vitro* genotoxic analyzes (Comet assay) of ethanolic extracts of *A. oleracea* and *T. micrantha* did not show significant damage to the DNA of HepG2 cells at the concentrations tested (25, 50 and 100 µg/mL) compared to the control positive (H₂O₂ – hydrogen peroxide) ($p < 0.001$), therefore

not considered genotoxic. Given the data obtained in this research, the ethanolic extract of *Acmella oleracea* flowers, known as jambu, showed antimalarial activity *in vitro* and *in vivo*, without cytotoxicity and genotoxicity in HepG2 cells, demonstrating that it is a potential candidate for the development of a phytomedicine.

Keywords: Malaria, *Plasmodium*, *Acmella oleracea*, *Siparuna krukovii*, *Trema micrantha*, HPLC-ESI-HRMS2

APRESENTAÇÃO

Esta tese está estruturada em seções dispostas da seguinte forma:

- Introdução e Objetivos (geral e específicos),
- Revisão bibliográfica – Dispõe das considerações sobre o tema desenvolvido
- Os itens Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusão e Referências encontram-se inseridos como Artigos Científicos na seção 3: Capítulos, onde as Produções Científicas estão apresentadas na íntegra.
- Capítulo 1 – Artigo 1 (Dados de análises antimaláricas de espécies vegetais do Brasil - Artigo de revisão aceito pela *Journal of Ethnopharmacology* – Qualis A1)
- Capítulo 2 – Artigo 2 (Dados experimentais relacionados a tese – Artigo Publicado pela *Chemistry and Biodiversity* – Qualis A4)
- Capítulo 3 – Dados de análises genotóxicas (Não submetido e escrito de acordo com as normas da revista *Journal of Toxicology* – Qualis B1)
- Ao final encontra-se as Considerações finais relacionadas aos capítulos
- Referências bibliográficas referem-se às citações contidas nos itens Introdução e Revisão bibliográfica.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. OBJETIVO GERAL	4
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1. MALÁRIA.....	5
2.2. ESPÉCIES DE <i>Plasmodium</i> E A SINTOMATOLOGIA DA MALÁRIA.....	7
2.2.1. <i>Plasmodium falciparum</i>	8
2.2.2. <i>Plasmodium vivax</i>	9
2.2.3. Outras espécies de <i>Plasmodium</i>	10
2.3. O CICLO BIOLÓGICO DO <i>Plasmodium</i>	11
2.4. A QUIMIOTERAPIA E A RESISTÊNCIA A FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS	13
2.5. PLANTAS UTILIZADAS PARA O TRATAMENTO DA MALÁRIA	17
2.6. ESTUDOS FITOQUÍMICOS DE ESPÉCIES VEGETAIS ANTIMALÁRICAS	21
2.7. ANÁLISES TOXICOLÓGICAS DE ESPÉCIES VEGETAIS ANTIMALÁRICAS	23
3. CAPÍTULOS	26
3.1. CAPÍTULO 01 - BRAZILIAN PLANTS WITH ANTIMALARIAL ACTIVITY: A REVIEW OF THE PERIOD FROM 2011 TO 2022	27
3.2. CAPÍTULO 02 - <i>IN VITRO</i> AND <i>IN VIVO</i> ANTIMALARIAL ACTIVITY, CYTOTOXICITY AND PHYTOCHEMICAL HRMS ² PROFILE OF PLANTS FROM THE WESTERN PARÁ STATE, BRAZILIAN AMAZONIA.....	119
3.3. CAPÍTULO 03 - EXTRATOS ETANÓLICOS DE <i>Acmella oleracea</i> (L.) R.K. JANSEN E <i>Trema micrantha</i> (L.) BLUME NÃO APRESENTAM AÇÃO GENOTÓXICA EM CÉLULAS HEPG2 159	
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	176
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	177
6. ANEXOS	196

1. INTRODUÇÃO

A malária é uma doença parasitária que causa infecção em células sanguíneas por parasitas do gênero *Plasmodium*. Apesar da redução dos índices de casos e mortalidade, a doença ainda é considerada um problema de saúde pública recorrente em países tropicais e subtropicais no mundo. Das espécies de *Plasmodium* existentes, quatro são conhecidas por infectar humanos, sendo estas, *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale* e a transmissão ocorre por meio da picada do mosquito fêmea infectada do gênero *Anopheles* (UZOR, 2020).

A espécie *P. falciparum* é responsável pela forma mais severa da doença, podendo apresentar inúmeras variações clínicas graves que podem levar à óbitos. O determinante da virulência por esse parasita é a sua capacidade de adesão nos eritrócitos (citoaderência) que podem causar perfusão tecidual e consequente danos aos órgãos alvos, assim como modificações nas hemácias infectadas resultando na degradação das células (ZEKAR e SHERMAN, 2021). A espécie *P. vivax*, é um importante agente etiológico e as manifestações clínicas em relação aos períodos de latência decorrentes da infecção por este parasita variam em diferentes regiões, e os períodos considerados mais longos, são menos associados a recaídas (PRICE *et al.*, 2020; INWONG *et al.*, 2007).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que, em 2021, tenham ocorrido 247 milhões de casos de malária em todo o mundo e um número estimado de 619.000 mortes (WHO, 2022). Neste mesmo ano nas Américas, foi obtido um registro de 520 mil casos de malária e cerca de 126 mortes (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2023). No Brasil, de acordo com o Ministério da Saúde em 2021, foram registrados um total de 139.211 casos e 49 mortes (Ministério da Saúde, 2020). Já em 2022, foram estimados um total de 128 mil casos (AGÊNCIA BRASIL, 2023). Ao longo dos anos, inúmeras estratégias têm sido adotadas para o controle da doença, e a principal delas é a interrupção da cadeia de transmissão por meio do uso de medicamentos que agem de forma direta no ciclo de reprodução do *Plasmodium* no organismo.

Em relação aos antimaláricos utilizados no tratamento da doença, a cloroquina foi o primeiro medicamento a ser amplamente utilizado na década de 1950. A cloroquina é derivada de uma molécula sintética análoga a quinina, a qual foi isolada em 1820, sendo o primeiro antimalárico a ser utilizado no controle desta parasitose (MANZALI DE SÁ, 2011; FRANÇA *et al.*, 2008). Tendo em vista a resistência do parasita *Plasmodium* a cloroquina, pesquisas de novos antimaláricos tornaram-se necessárias, levando a descoberta da artemisinina e seus derivados, os quais obtiveram cerca de 95% de eficácia nos tratamentos antimaláricos

(MENARD e DONDORF, 2017; WHO, 2018). Embora a artemisinina tenha apresentado eficácia no combate a malária, resistência do parasita a este medicamento também foi observado em pacientes em tratamento, levando a busca de novas alternativas como a Terapia de Combinação a base de Artemisinina (TCA), composto híbrido também conhecida como ACT (sigla em inglês Artemisinin-based Combination Therapy), tornando-se o principal via de tratamento da malária recomendada pela Organização Mundial da Saúde (ALVEN e ADERIBIGBE, 2019; PACKARD, 2014).

A quinina e a artemisinina, antimaláricos considerados referência no tratamento desta parasitose, foram descobertas a partir do conhecimento tradicional de plantas medicinais, substâncias essas oriundas das espécies *Cinchona* spp. e *Artemisia annua*, respectivamente, e historicamente, fornecem um papel importante como fonte de antimaláricos provenientes de espécies vegetais (MENEGUETTI DUO *et al.*, 2014; OHASHI e OLIVEIRA, 2020). Em função disso, e com o surgimento de cepas resistentes de *Plasmodium*, pesquisas etnobotânicas/etnofarmacológicas vem sendo desenvolvidas ao longo dos anos com o intuito de descobrir novas espécies vegetais com atividade antimalárica. Na região da África, país com maior índice de casos e mortes por malária no mundo, muitas espécies vegetais e compostos bioativos têm sido identificados com propriedades antimaláricas, como demonstrado em estudos feitos por Bekono *et al.* (2020) e Tajbakhsh *et al.* (2021) por meio de pesquisas em banco de dados na literatura. Nas Américas, comunitários indígenas da região da Colômbia relataram 28 morfoespécies utilizadas como antimaláricas (RAMIREZ *et al.*, 2017). Ainda na América Latina, 609 espécies vegetais foram citadas para o tratamento de malária em trabalhos de pesquisas e outras 907 identificadas em outras fontes (livros, herbário, teses e dados não publicados) (MILLIKEN *et al.*, 2021).

No Brasil, em especial a região amazônica, conhecida por abrigar a maior biodiversidade de plantas do mundo (SCKIRYCZ *et al.*, 2016), diversas pesquisas tem demonstrado eficácia de espécies vegetais utilizadas no tratamento de malária como pode ser verificado em pesquisas feitas por Oliveira *et al.* (2015) na região de quilombos em Oriximiná-Pará e Kffuri *et al.* (2016) na região do Alto Rio Negro (Amazonas), os quais destacam estudos com espécies de plantas com efeito antimalárico mencionados por comunitários locais e indígenas, destacando a importância medicinal dessas espécies vegetais no controle clínico da doença. Estudos feitos na região de Porto Velho, Rondônia, pacientes mencionam 12 espécies com efeito antimalárico e outras 131 espécies, pertencentes a 61 famílias, foram identificadas com potencial medicinal por meio de dados da literatura (MARTINEZ *et al.*, 2018).

Além das espécies vegetais, a exemplo de quinina e artemisinina, muitos compostos químicos provenientes dos produtos naturais vêm sendo isolados ao longo dos últimos anos, se tornando importante fonte para o desenvolvimento de fármacos/fitoterápicos utilizados no tratamento de doenças. Análises em cromatografia de alta resolução (HPLC) acoplado a espectrometria de massas são ferramentas atualmente utilizadas na avaliação de substâncias, contribuindo para a identificação desses compostos (YANG *et al.*, 2009; BONTA, 2017). Outro fator importante, além da caracterização fitoquímica, são as análises toxicológicas, levando em consideração que muitas espécies apresentam pouco ou nenhum dado na literatura que comprove sua eficácia como fitomedicamento. No Brasil, a produção de fitoterápicos requer a avaliação de segurança preconizados pela ANVISA (2013) e análises iniciais incluem avaliação de citotoxicidade em células tumorais e normais (Ensaio MTT) e testes de genotoxicidade *in vitro*, considerados essenciais por contribuírem para a compreensão de alterações ou danos à nível celular (ALMEIDA-NETO *et al.*, 2005, OECD, 2014).

Diante das pesquisas mencionadas e o avanço biotecnológico na busca de produtos naturais eficazes para o tratamento da malária, em especial no Brasil, o objetivo desta pesquisa foi realizar a revisão da literatura a respeito de plantas com atividade antimalárica no Brasil e utilizar esses dados como base para realizar a bioprospecção de espécies vegetais provenientes da região de Santarém, Oeste do Pará, incluindo atividades antimaláricas *in vitro* e *in vivo*, citotoxicidade e genotoxicidade dos extratos das espécies mais ativas. Além disso, a pesquisa visa contribuir com novos dados da literatura em relação as espécies vegetais antimaláricas do Brasil.

1.1. OBJETIVO GERAL

Gerar informações sobre espécies vegetais antimaláricas do Brasil a partir de dados da literatura e realizar a bioprospecção com foco em espécies da região Oeste do Pará com a caracterização do perfil fitoquímico, citotoxicidade e análises de danos celulares e dessa forma, agregar valor as espécies da Amazônia.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Capítulo 1

- Identificar, por meio da literatura, artigos publicados a respeito de estudos com espécies vegetais antimaláricas do Brasil, entre o período de janeiro de 2011 a dezembro de 2022;
- Apresentar perspectivas de novos tratamentos e pesquisas futuras que incentivem a busca por produtos naturais e derivados antimaláricos.

- Capítulo 2

- Realizar a análise antiplasmodial *in vitro* de 11 espécies (*Acmella oleracea*, *Lippia origanoides*, *Senna quinquangulata*, *Siparuna krukovi*, *Trema micrantha*, *Abuta sp*, *Ampelozizyphus sp*, *Aniba sp*, *Aspidosperma sp*, *Croton sp* e *Virola sp*) da região de Santarém, Oeste do Pará, contra cepas de *Plasmodium falciparum* (clone W2);
- Avaliar a citotoxicidade *in vitro* em células HepG2 A16;
- Avaliar a atividade antimalárica *in vivo* em cepas de *Plasmodium berghei* (cepas NK65) nas espécies mais bioativas;
- Realizar a caracterização fitoquímica das espécies mais bioativas.

- Capítulo 3

- Realizar a análise genotóxica das espécies *Acmella oleracea* e *Trema micrantha* em células HepG2.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. MALÁRIA

A malária tem sido um problema de saúde desde o início da história da humanidade. O termo malária surgiu a partir da relação entre a doença e os pântanos, e o fisiologista grego Hipócrates, foi o primeiro a verificar essa relação entre a proximidade dos corpos d'água parados com a ocorrência de febres nas comunidades locais. A mal'aria (mal ar) foi descrita pelos italianos no século XIV, termo este que foi inserido na língua inglesa cerca de 200 anos depois e atribuída como resultado das doenças infecciosas e a presença do ar poluído ou corrompido por vapores nocivos produzidos por materiais em decomposição (DAGEN, 2020). Por conta disso, medidas de prevenção tiveram que ser tomadas como a remoção e drenagem de água parada e resíduos com mal cheiro, pois acreditavam que estes ambientes eram fontes de proliferação de mosquitos *Anopheles*, que atuam como vetor da malária (BRUCE-CHWATT, 1998). Semelhante a essas condições, os franceses criaram o termo “paludismo”, derivado de pântano, referindo-se a malária (FRANÇA *et al.*, 2008).

Muitos fatores contribuem para a distribuição e ciclo biológico da malária, dentre os principais são fatores antropogênicos, ambientais e ecológicos (PARHAM *et al.*, 2010; CHAVES *et al.*, 2021; DAZA *et al.*, 2023). No continente africano onde ocorrem a maioria dos casos de malária no mundo, práticas agrícolas urbanas e uso da terra mal monitorada, além da expansão urbana descontrolada, podem ser resultado do aumento da transmissão da doença na região. O estatuto socioeconômico também contribui para o aumento dos locais de reprodução de vetores, associados a periferias urbanas onde ocorrem habitações de má qualidade, estradas não pavimentadas e dificuldades de acesso aos cuidados de saúde (DE SILVA e MARSHALL, 2012). A propagação da malária em regiões da África também está associada com a mudança e variação de temperatura que atuam acelerando ou não o processo de desenvolvimento do parasita (MAFWELE e LEE, 2022). Na região amazônica, o desmatamento é um dos principais fatores responsáveis pelo aumento da malária, que surge especialmente por conta da expansão da infraestrutura urbana, práticas agrícolas, pecuária, mineração e de outras atividades humanas, fatores esses que aumentam a interface entre a floresta primária e os assentamentos humanos, facilitando a proliferação de vetores transmissores de doenças e a sua rápida adaptação (DAZA *et al.*, 2023; CHAVES *et al.*, 2021).

A malária é uma doença infecciosa causada por protozoários parasitas do gênero *Plasmodium* que afetam as células sanguíneas humanas. A incidência de casos de malária vem reduzindo ao longo dos anos, no entanto, ainda é caracterizado como um grave problema de

saúde pública com grande impacto na morbidade e mortalidade, especialmente em regiões tropicais e subtropicais onde a malária é comum e o sistema de saúde e saneamento ainda são precários e deficientes no que diz respeito ao controle do vetor (WHO, 2020). Em 2022, estima-se que ocorreram 249 milhões de casos de malária no mundo, um aumento de 5 milhões de casos comparados com 2021. Um total estimado de 608 mil mortes foram notificados, com prevalência em grávidas e crianças menores de 5 anos, especialmente na região da África, região com maior incidência de malária no mundo (WHO, 2023).

Nas Américas, dezenove países são considerados de risco na transmissão da malária, sendo o *Plasmodium vivax* o principal responsável pelas infecções, com percentual de 80% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). Segundo a Organização Mundial da Saúde, nos últimos 20 anos (2000 a 2021), os casos de malária reduziram em 60% e a incidência de notificações em 70% (de 1,5 milhão para 0,6 milhão e de 14 para 4, respectivamente). Em 2021, nas Américas foram registrados 520 mil casos de malária e cerca de 126 mortes. De 2015 a 2021 houve um aumento de 8% dos casos e redução de 26% nas mortes, sendo 74% causados por *P. vivax* e 26% por *P. falciparum* (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2023). De 2021 a 2022, os casos reduziram de 205 mil para 154 mil, respectivamente, e 343 mortes em 2022. A redução de casos e mortes pode estar relacionada com os baixos níveis de mobilidade populacional resultantes das restrições à pandemia da COVID-19 e um aumento nos produtos para diagnóstico e tratamento da malária (WHO, 2023).

No Brasil, existem dois tipos de cenários epidemiológicos: o de alta endemicidade na região amazônica, sendo esta a região de maior incidência de casos de malária no país, a qual alcança cerca de 99,9% e o de hipoendemicidade que ocorre na região extra-amazônica onde ocorre a maioria das mortes resultantes, principalmente pela negligência no diagnóstico da doença (OLIVEIRA-FERREIRA, 2010, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022). Na região amazônica, 33 municípios concentram cerca de 80% do total de casos autóctones registrados em 2021 (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2022). Ainda em 2021, foi verificada uma redução no número de casos em áreas rurais e indígenas, áreas estas consideradas de grande contaminação, apresentando um total de 13,3% e 5,4% dos casos, respectivamente, em relação ao ano anterior (2020). Já nas regiões de garimpo, consideradas de grande importância epidemiológica, ocorreu um aumento de 45,3% nos casos autóctones, sendo que 17,4% das transmissões foram causadas por *P. falciparum* e malária mista (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022). Em 2022, foram notificados 131.224 casos, uma redução de 6,6% em comparação ao ano anterior e 62 óbitos. Dos casos autóctones, 84,2% (108.594) foram causados por *P. viva* e 13,9% (17.981) por *P. falciparum*, enquanto as infecções mistas (*P. vivax* e *P.*

falciparum) representaram 1,8% (2.344) e 38 (<0,1%) dos casos registrados foram por *P. malariae* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2024).

No estado do Pará, de janeiro a outubro de 2023, a distribuição de casos confirmados por local de infecção foi de 17.695 casos representando uma redução de 3,7% comparado ao mesmo período de 2022. Dos 10 principais municípios com maior número de ocorrência de malária no estado, os municípios de Jacareacanga e Itaituba apresentam maior percentual no total de número de casos (36,19% e 20,95%, respectivamente) (SECRETARIA DE SAÚDE DO ESTADO DO PARÁ, 2023).

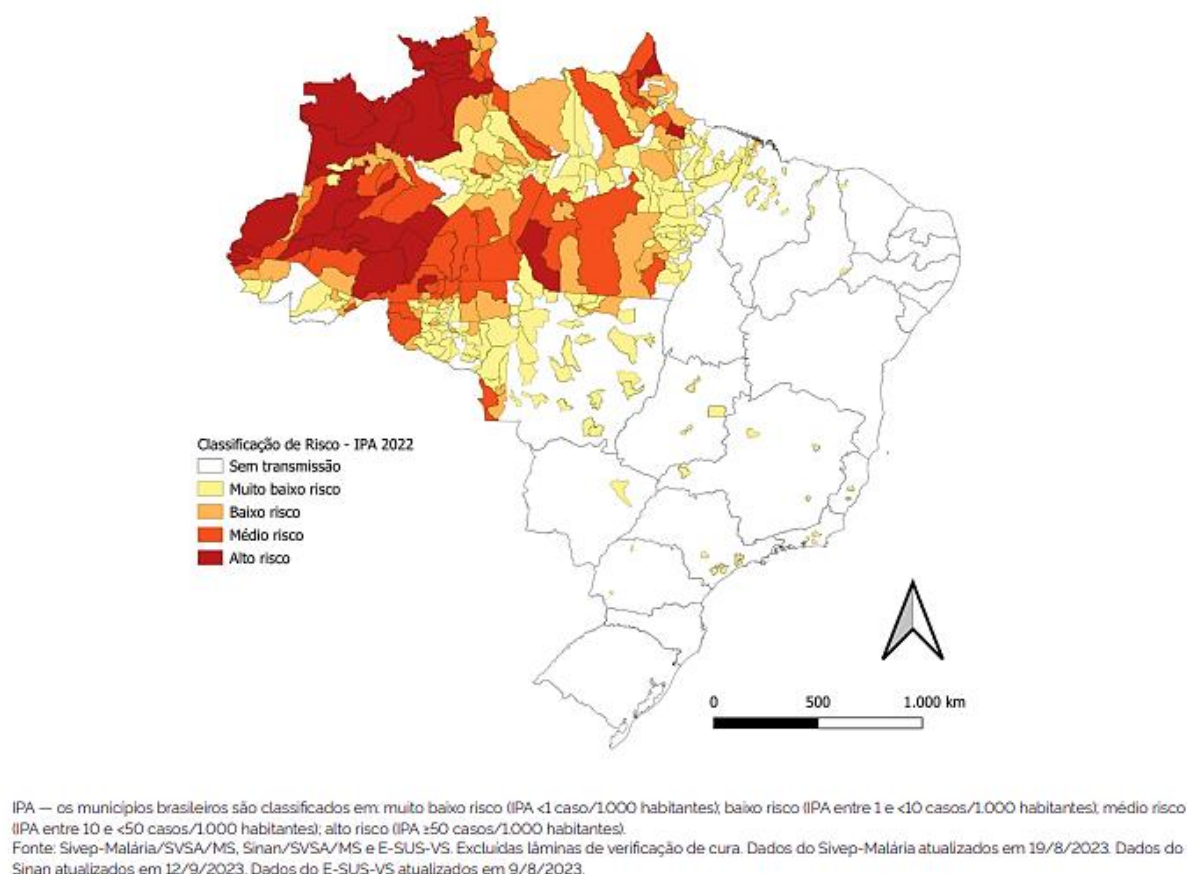


Figura 1: Mapa de transmissão da malária no Brasil.

2.2. ESPÉCIES DE *Plasmodium* E A SINTOMATOLOGIA DA MALÁRIA

Cinco espécies de *Plasmodium* são as mais conhecidas por infectar humanos: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, os quais se distribuem geograficamente na África, Ásia, América Central e Sul, e *P. ovale* que possui distribuição apenas na África. A espécie *P. knowlesi* é conhecida por infectar primatas, no entanto, já foi verificado casos de infecção por essa espécie na Ásia, onde ela é frequentemente encontrada (WHO, 2015; UZOR, 2020).

Historicamente, o escritor romano Celsius, na metade do século I, descreveu três tipos de febre para a malária, febre quartã, terçã e a semiterçã, a mais letal. Essas febres atualmente são conhecidas por serem causadas por *P. malariae*, *P. vivax* e *P. falciparum*, respectivamente (DAGEN, 2020).

2.2.1. *Plasmodium falciparum*

O parasita *Plasmodium falciparum* possui prevalência nos trópicos e subtropicais, onde os mosquitos *Anopheles* são mais presentes, sendo o parasita responsável pela forma mais severa da doença, a febre terçã maligna a qual é periódica e irregular, ocorrendo em período de 48 horas. A febre é o principal sintoma que reflete a maioria dos casos de infecções graves (FAIRHURT e WELLEMS, 2010). O *P. falciparum* é visto como principal responsável por todos os casos de letalidade (90%) à nível mundial, sendo atribuídas a infecções que incluem malária cerebral, anemia severa, distúrbios respiratórios, falha renal, convulsões múltiplas, edema pulmonar, lesão renal aguda, icterícia, choque e coma. Em crianças os sintomas são gastrointestinais e inespecíficos como febre, letargia, mal-estar, náuseas, vômitos, cólicas abdominais e sonolência (SILVA-JUNIOR *et al.*, 2017; ZEKAR e SHARMAN, 2021).

O período médio de incubação de *P. falciparum* é cerca de 7 – 14 dias e os primeiros sintomas graves são detectáveis do terceiro ao sétimo dia, embora alguns sintomas evoluam de forma rápida em alguns pacientes, podendo vir a óbito 24 horas após os primeiros sintomas (WHO, 2014). As principais características da patogênese da malária severa são resultantes da adesão dos eritrócitos infectados deste parasita que incluem ligações as células do endotélio (citoaderência), deformidade eritrocitária e aglomeração de eritrócitos infectados mediada por plaquetas. A adesão dos eritrócitos infectados pode causar obstrução dos capilares e interrupção da circulação sanguínea, perfusão tecidual prejudicada, acidose láctica com consequente danos aos órgãos alvo e, além disso, a destruição dos eritrócitos jovens e maduros (glóbulos vermelhos) (ROWE *et al.*, 2009).

Outra característica que torna a malária *falciparum* fatal é o sequestro do parasita nos tecidos, em conjunto com a regulação positiva de citosinas e outras substâncias tóxicas em contribuição com a ausência ou a não eficácia de terapias antimaláricas (MILNER, 2018; ZEKAR e SHARMAN, 2021). O processo de obstrução dos eritrócitos resultantes da malária *falciparum*, levam a liberação da hemozoína na circulação, um subproduto da degradação da hemoglobina pelo parasita, podendo afetar diretamente as funções normais da resposta imune adaptativa e assim, contribuir para a patofisiologia da doença (CORONADO *et al.*, 2014).

No Brasil, o parasita *P. falciparum* não representa uma espécie predominante e a taxa de letalidade é considerada baixa, comparado aos registros por *P. vivax*, no entanto, as transmissões ainda são prevalentes. A imunidade clínica adquirida contra a malária *falciparum* depende da exposição repetida e prolongada ao parasita e a imunidade natural efetiva para esta espécie é restrita a áreas de alto nível de transmissão e endemicidade, considerando a idade em reflexo ao grau de exposição (BAIRD JK, 1998; OLIVEIRA-FERREIRA *et al.*, 2010).

2.2.2. *Plasmodium vivax*

O parasita *Plasmodium vivax* é o segundo parasita da malária mais prevalente no mundo, sendo predominante na Ásia e na América Latina (MENDIS *et al.*, 2001; INWONG *et al.*, 2007). Embora a infecção por malária *vivax* não seja considerada fatal, casos graves ou óbitos têm sido registradas desde que a espécie foi reconhecida. A maioria dos casos em geral são associados a pacientes já debilitados e diagnósticos comparados a malária *falciparum*, além de que estudos não excluem possíveis comorbidades ou infecção mista por outra espécie de *Plasmodium*, o que torna necessário critérios específicos para facilitar a comparação entre casos e estabelecer sua prevalência (RAHIMI *et al.*, 2014; ANTONELLI *et al.*, 2019).

Manifestações clínicas de *P. vivax* variam em diferentes regiões. Em regiões tropicais os períodos de latência são curtos (3 – 5 semanas), enquanto regiões temperadas os períodos são considerados longos (5 – 10 meses) e menos associados a recaídas. Apesar de pouco compreendida, acredita-se que as frequências de recaídas estão relacionadas com o estágio de “dormência” no fígado, que podem reativar hipnozoítos após uma infecção inicial, variando de acordo com a imunidade do hospedeiro (PRICE *et al.*, 2020; INWONG *et al.*, 2007). Infecções assintomáticas por esta espécie são comumente relatadas na Bacia Amazônica, no entanto, a prevalência e duração média da gametocitemia nessas infecções permanecem desconhecidas (SILVA-NUNES *et al.*, 2012). Sintomas de *P. vivax* são considerados similares a *P. ovale*, onde a invasão do parasita as células eritrocitárias do indivíduo levam a deformações e lesões graves, com picos de febre (terça benigna) e calafrios em intervalos específicos (ZEKAR e SHARMAN, 2022).

No Brasil, após a redução dos casos de *P. falciparum*, ocorreu um aumento progressivo de infecções por *P. vivax* atribuída desde 1990, sendo responsável por cerca de 90% das transmissões em 2011 (SIQUEIRA *et al.*, 2016). Neste mesmo ano (2011), foram registrados mais de 247 mil casos de malária, incluindo *P. vivax*, *P. falciparum* e *P. malariae*, sendo que a maioria das notificações foram (87%) atribuídas a *P. vivax* (WHO, 2011; POHLIT *et al.*, 2013). A alta incidência de malária *vivax* também é registrada em mulheres grávidas e crianças com 6

meses de idade, no entanto, ainda não é bem conhecido se os casos são resultado de infecções primárias ou recorrentes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

A predominância de *P. vivax* no país pode ser explicada por suas características biológicas e registros de diagnósticos, visto que as infecções de baixa intensidade causadas por esta espécie são consideradas comuns em áreas que se aproximam da eliminação, além dos conhecidos estágios de dormência no fígado (casos assintomáticos) que podem eventualmente causar as recaídas e que, portanto, são raramente relatadas. Por esta razão, o tratamento da malária *vivax* tornou-se um desafio, que ao longo dos anos, dificulta as ações de controle e eliminação da doença (FERREIRA e CASTRO, 2016; RIECKMANN *et al.*, 1989).

2.2.3. Outras espécies de *Plasmodium*

O parasita *Plasmodium malariae* possui ampla distribuição geográfica, sendo responsável pela malária quartã benigna com períodos de incubação para os sintomas pós-infecção variando de 27 a 40 dias, com sintomas de febre intensos a cada 72 horas (HENRIQUEZ e WILLIAMS, 2020). Este parasita desencadeia, frequentemente, sintomas leves ou com aparência assintomática por um longo período. Caso ocorram infecções crônicas, estas podem levar a síndrome nefrótica em crianças, em especial aquelas que vivem em áreas endêmicas da malária (SILVA-NUNES *et al.*, 2012). É conhecida por ser a forma mais benigna de infecção por malária, as parasitemias são frequentemente menores, considerando que o número de merozoítos produzidos a cada ruptura de esquizonte é menor, comparadas aos outros tipos de infecções por outros parasitas *Plasmodium* (COLLINS e JEFFERY, 2007).

O *Plasmodium ovale* é endêmico da África ocidental e também pode ser encontrado nas Filipinas, Indonésia e Papua Nova Guiné (KAWAMOTO *et al.*, 1999; COLLINS e JEFFERY, 2005). Infecções severas e mortes são relativamente raras e o período de incubação varia de algumas semanas a vários meses. Assim como *P. vivax*, o parasita *P. ovale* também apresenta fase de dormência no fígado, podendo se manifestar em semanas, meses ou anos após a infecção inicial, causando as chamadas recaídas, sendo necessário assim, a inclusão do tratamento para a eliminação desses parasitas em estágio de dormência (OKAFOR e FINNIGAN, 2023). Os sintomas iniciais da infecção por *Plasmodium ovale* são inespecíficos. Os pacientes apresentam dor de cabeça, febre, mal-estar, dores musculares, fadiga, sudorese, tosse, anorexia, dor abdominal, diarreia e artralgia, além de náuseas, vômitos e hipotensão ortostática (SVENSON *et al.*, 1995) e, embora sintomas severos sejam raros, ruptura esplênica, trombocitopenia e coagulação intravascular disseminada foram associadas a infecção por este parasita. Para o tratamento desta infecção e outras malárias não-falciparum são utilizados a cloroquina e/ou

terapia em combinação com artemisinina (TCA/ACT), assim como a primaquina requerida para a eliminação de parasitas em estágio de hipnozoítos (OKAFOR e FINNIGAN, 2023)

O parasita *Plasmodium knowlesi* possui distribuição limitada na região da Indonésia, tendo casos relatados em outros países do sudeste asiático, incluindo Vietnã, Cingapura, Mianmar, Camboja, Tailândia e Filipinas (MULLER e SCHLAGENHAUF, 2014). É um parasita conhecido por infectar macacos, no entanto, já se tem relatos de ocorrência de infecções em humanos na região da Malásia, com altas taxas de mortalidade. A replicação do parasita nesta espécie, de maneira oposta a *P. malariae*, ocorre a cada 24 horas, resultando em picos de febre diários e hiperparasitemias (mais de 5% das hemácias parasitadas), além de outros sintomas associados ao diagnóstico como acidose metabólica, disfunção hepatorenal, estresse respiratório, anemia severa e hipotensão refratária, podendo ser fatais (FAIRHURT e WELLEMS, 2010; UZOR, 2020). Diferentemente de *P. vivax*, *P. knowlesi* não apresenta estágio hepático latente (hipnozoítos) e o estágio sanguíneo é assexuado e ocorre diariamente. Em comparação a *P. falciparum*, *P. knowlesi* não apresenta malária cerebral e anemias comuns em complicações de malária grave (ANTINORI *et al.*, 2013).

2.3. O CICLO BIOLÓGICO DO *Plasmodium*

As espécies de *Plasmodium*, agentes etiológicos da malária humana, possuem um complexo ciclo que alternam entre o mosquito fêmea *Anopheles* e o hospedeiro vertebrado (humano) (Figura 3). O ciclo de vida das cinco espécies de *Plasmodium* que infectam humanos são semelhantes e envolvem estágios haplóides assexuados no fígado e eritrócitos, já no mosquito, o ciclo envolve uma transição para formar o zigoto diplóide sexual no intestino, depois esporozoítos haplóides nas glândulas salivares (HENRIQUEZ e WILLIAMS, 2020).

O estágio pré-eritrocítico inicia quando o mosquito fêmea infectado *Anopheles* injeta esporozoítos do *Plasmodium* na pele ou na corrente sanguínea do hospedeiro por meio da picada (Passo1). Após a inoculação, alguns parasitas permanecem na pele e outros drenados para os gânglios linfáticos, os quais são eliminados por macrófagos residentes e a resposta imune é gerada (COWMAN *et al.*, 2016). Aqueles que chegam a corrente sanguínea, migram para o fígado – onde ocorre o ciclo de vida assexual – seguindo ao longo dos sinusóides (capilares presentes entre as placas dos hepatócitos) (Passo 2), migram através das células de Küpffer ou células endoteliais até atingir os hepatócitos em definitivo (Passo 3) (NIZ *et al.*, 2017). Esta migração pode ser vantajosa para a infecção na malária, por dois motivos: ativar o esporozoíto para a infecção e aumentar a sustentabilidade para os hepatócitos hospedeiros (MOTA e RODRIGUEZ, 2004). Os esporozoítos se movimentam através dos hepatócitos antes de invadir

e habitar o interior de um “vacúolo parasitóforo” onde irá ocorrer uma série de replicações assexuadas (estágio exo-eritrocítico), sem ainda provocar sintomas ao hospedeiro humano (Passos 4 a 7), por conta de que algumas espécies de *Plasmodium* (ex. *P. vivax*) permanecem dormentes por longos períodos até a sua manifestação. Além disso, recaídas são recorrentes e, assim como a maioria dessas espécies (*P. falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax* e *P. ovale*), o estágio finaliza com a liberação dos merozoítos na circulação periférica dentro dos merossomos (Passo 8) (MARKUS, 2011), os quais são transportados para os capilares dos pulmões onde se rompem e liberam os merozoítos que invadem as hemácias (Passo 9).

A invasão dos merozoítos nas hemácias é indicação de início do estágio sanguíneo e após esta invasão, os parasitas se desenvolvem em estágios de anel, que permanece por 24 a 32h, e então, se diferenciam em trofozoítos e finalmente, esquizonte que, por sua vez, se rompem, sendo capazes de liberar até 36 merozoítos na corrente sanguínea (Passo 10 – 13). O ciclo se repete desde a invasão dos eritrócitos a ruptura da célula, com a liberação da hemozoína (pigmento malárico) e outros produtos tóxicos das hemácias sanguíneas rompidas, resultando em aumento exponencial na carga parasitária, fase está ligada a patogênese de *P. falciparum* (HENRIQUEZ e WILLIAMS, 2020).

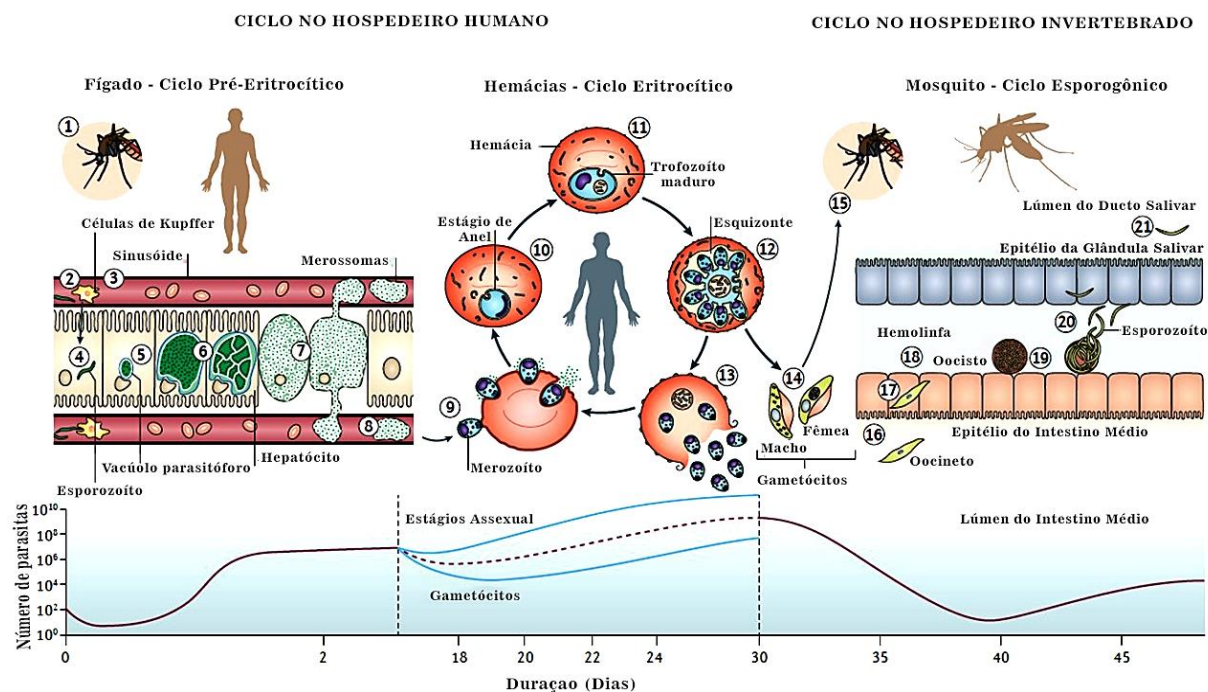


Figura 2: Ciclo biológico do *Plasmodium* sp. Fonte: NIZ *et al.*, 2017 com modificações.

A replicação exponencial assexuada também resulta na geração de estágios sexuais que podem ser, posteriormente, transmitidos a um mosquito suscetível durante a picada (período de alimentação) (Passo 14 e 15). Após a transmissão para o vetor, gametócitos se desenvolvem em gametas masculino e feminino que são liberados e se fundem dentro do intestino médio, originando os zigotos móveis ou oocinetos que deixam o lúmen do intestino médio e se acomodam sob a lâmina basal (Passo 16 a 18) onde se desenvolvem os oocistos e a produção de centenas de esporozoítos (Passo 19). Os oocistos são rompidos e liberam os esporozoítos que são transportados através da hemolinfa e eventualmente alcançando e invadindo as glândulas salivares do mosquito (Passo 20 a 21) que podem, então, ser injetados novamente em novos hospedeiros durante a picada do mosquito, retomando o ciclo, o qual pode levar várias semanas (NIZ *et al.*, 2017; FAIRHURT e WELLEMS, 2010).

2.4. A QUIMIOTERAPIA E A RESISTÊNCIA A FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS

Durante muitos anos, a malária tem sido endêmica em várias regiões da Ásia, Europa, Américas e, principalmente, na África, tornando-se um problema de saúde que incentivou a busca de medicamentos que atuassem no tratamento e eliminação dos sintomas graves resultantes da infecção pelo parasita *Plasmodium*. O primeiro medicamento utilizado para o tratamento e prevenção da malária durante séculos foi a quinina, um alcalóide com atividade antimalárica isolado em 1820 a partir da casca da árvore *Cinchona* nativa da América do Sul, utilizada na terapêutica ocidental a partir do século 17 até meados da Segunda Guerra Mundial (OLIVEIRA e SZCZERBOWSKI, 2009; FRANÇA, 2008). A quinina é capaz de inibir a rota de biocristalização da hemozoína, que resultam no acúmulo de hemes citotóxicos livres, os quais, eventualmente, causam a morte do parasita (FOLEY e TILLEY, 1997), e por isso, foi base do tratamento da malária por mais de cem anos. Devido ao bloqueio do cultivo da *Cinchona* em regiões da Ásia e a complexidade de sua estrutura, vários esforços foram feitos para sintetizar este alcalóide na tentativa de aliviar a dependência mundial de um derivado da casca e, após esse longo período, somente em 1944, a quinina foi sintetizada pela primeira vez (SCHALKWYK, 2015)

Com o intuito de sintetizar novos candidatos antimaláricos, foi desenvolvida por volta de 1930, a Cloroquina, a qual se tornou o principal medicamento antimalárico sintético amplamente utilizado durante os anos de 1960 e 1970, por ser mais potente e segura do que a quinina contra todas as espécies de *Plasmodium* responsável pela malária humana, além de ser mais estável, menos tóxica e principalmente com baixo custo, tornando-se amplamente disponível em países pobres, com baixo desenvolvimento e alto índice de contaminação

(PACKARD, 2014; JENSEN e MEHLHORN, 2009). O parasita da malária consome hemoglobina das células do hospedeiro humano, causando a liberação de moléculas heme que se polimerizam formando cristais inertes chamados de hemozoína. A cloroquina forma um complexo com a ferriprotoporfirina IX e age impedindo a liberação de hemes tóxicos interferindo na sua cristalização, tornando-se efetivo contra o desenvolvimento de trofozoítos intraeritrocíticos, porém, não é eficaz em outros estágios (gametocítico e esquizontes hepáticos) que não consomem hemoglobina ativamente (FAIRHURT e WELLEMS, 2010; SCHLITZER, 2007).

A primeira evidência de resistência a Cloroquina foi registrada na Tailândia em 1957, logo após no Sul e sudeste Asiático e, em seguida na África Sub-Sahariana e na América do Sul em 1970, o que contribuiu para o elevado número de mortes em todo mundo e por conta disso, houve a necessidade do desenvolvimento de novos antimaláricos sintéticos com o objetivo de contribuir com a prevenção da doença (PACKARD, 2014). Neste sentido, um composto a base de quinolina foi desenvolvido em 1946, a Amodiaquina, uma 4-aniloquinolina com estrutura e mecanismos de ação semelhante a cloroquina, considerada altamente potente e frequentemente usada contra cepas cloroquina-resistente a *P. falciparum* na África, entretanto, ineficaz na América do Sul, perfil este possivelmente relacionado a diferentes respostas atribuídas a distintos conjuntos de mutações (SÁ *et al.*, 2009). Atualmente a amodiaquina é utilizada na terapia de combinação e apesar da sua eficácia, exibe um grau de resistência e toxicidade (RAWE e MCDONNELL, 2020).

A mefloquina, análogo a quinina desenvolvida em 1970, tem ação no estágio sanguíneo de *P. falciparum* e *P. vivax*. Este medicamento é utilizado em terapias de combinação e tem como objetivo reduzir a propagação de parasitas resistentes (FAIRHURT e WELLEMS, 2010). Recentemente, a mefloquina apresentou resistência, mas apesar disso, o medicamento continua sendo útil no tratamento da malária nas regiões da África e da América do Sul (SCHALKWYK, 2015). A atovaquona foi o primeiro agente antimalárico capaz de agir no transporte de elétrons bloqueando partes do citocromo *b* do complexo citocromo *bc1* inibindo o transporte de elétrons do parasita, levando ao colapso do potencial de membrana mitocondrial (SRIVASTAVA *et al.*, 1997a e 1999b) e, além disso, é efetiva contra os estágios sexuais do parasita no hospedeiro e o mosquito, inibindo a transmissão. Em associação com proguanil, a atovaquona, comercializada como Malarone, tem efeito satisfatório em mulheres grávidas e crianças e provou ser eficaz no tratamento de parasitas resistentes a atovaquona (BELETE, 2020; ANTONY *et al.*, 2016).

A baixa disponibilidade de medicamentos para populações carentes e em alguns casos, o aumento dos efeitos colaterais adversos, incentivaram a produção de medicamentos mais resistentes como a Artemisinina, extraída da espécie *Artemisia annua*, originária da China. A artemisinina é potente composto antimalárico descoberto em 1971, o qual foi desenvolvido para substituir ou ao menos reduzir o uso de medicamentos sintéticos derivados da cloroquina e, apesar dos benefícios para o tratamento da malária, a artemisinina ainda é um medicamento difícil de sintetizar e, portanto, continua sendo extraída de plantas (MA *et al.*, 2020). Modificações em grupos funcionais da artemisinina resultaram no desenvolvimento de derivados semissintéticos como artemether e artenusato, as quais apresentam propriedades físico-químicas apropriadas, com mais eficácia do que a própria artemisinina, sendo recomendadas pela OMS (Organização Mundial da Saúde) como a principal linha de defesa contra a malária resistente (RAWE, 2020). Um dos mecanismos de ação mais aceitos para a artemisinina é a ativação da molécula pelo grupo heme e permite a produção de radicais livres que destroem as proteínas necessárias para a sobrevivência do parasito (TSE *et al.*, 2019), além disso, o medicamento inibe todas as fases do desenvolvimento do parasito e assim como seus derivados, são eficazes, potentes e tem ação rápida contra esquizontocidas sanguíneos de todas as espécies de *Plasmodium* e funciona como agente gametocítico, porém, sua eficiência ainda não é clara nos estágios latentes do parasita no fígado (LIU *et al.*, 2017).

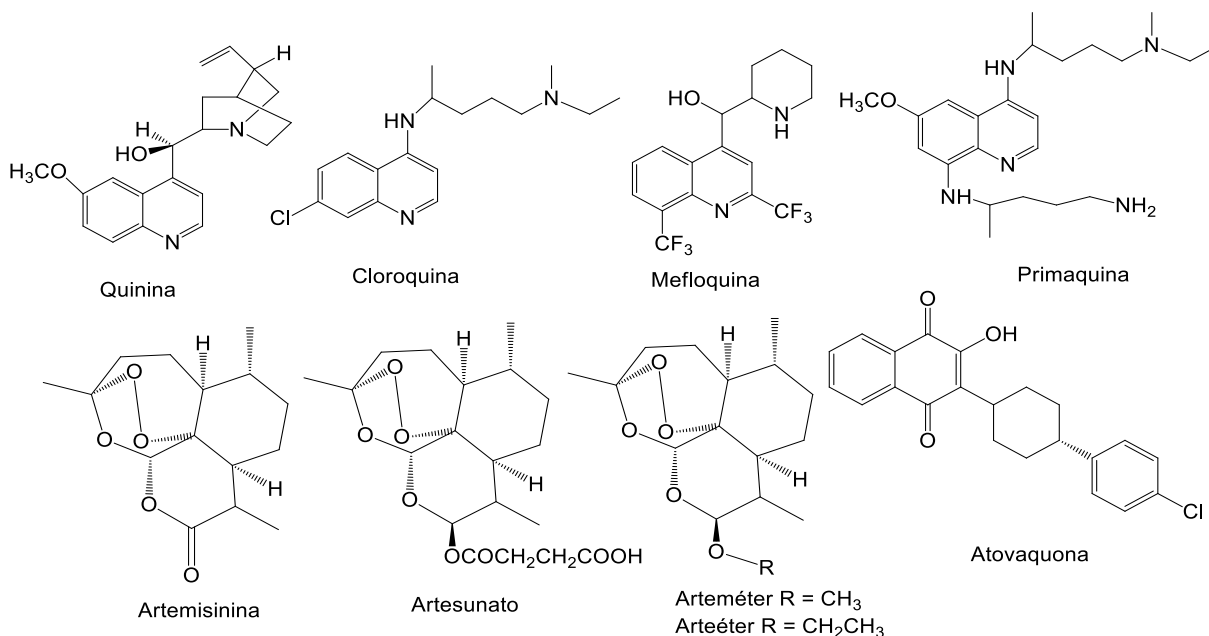


Figura 3: Estruturas químicas das moléculas derivadas dos medicamentos utilizados no tratamento da malária. Adaptado de Oliveira *et al.* (2009).

Embora o tratamento com a artemisinina tenha sido eficaz, o parasita começou a apresentar resistência ao medicamento, por conta da sua curta meia-vida e ineficácia a

monoterapia, tendo sua primeira evidência registrada em Camboja em 2008, se estendendo até a África (MENARD e DONDORP, 2017). Para prevenir ou ao menos retardar a propagação da resistência, as diretrizes atuais da OMS recomendam a terapia combinada com artemisinina e outros antimaláricos, a chamada Terapia de Combinação a base de Artemisinina (TCA), composto híbrido também conhecida como ACT (sigla em inglês Artemisinin-based Combination Therapy), a qual associa um derivado de artemisinina, artemether e outro antibiótico de longa duração, a lumefantrina e/ou halofantrina, além de outros agentes bioativos. A ACT resulta em 97% de eficácia no tratamento, sendo capaz de curar as formas mais mortais relacionadas a malária *falciparum* (ALVEN e ADERIBIGBE, 2019; PACKARD, 2014). Ao longo dos anos, o parasita começou a demonstrar resistência ao ACT, motivo este que pode estar relacionado com o uso generalizado do medicamento resultando em cepas resistentes e mais susceptíveis ao desenvolvimento de infecção pelo parasita, o que reforça a emergência do desenvolvimento de novos fármacos e/ou medicamentos promissores e capazes de controlar ou eliminar os graves danos causados pelo parasita no organismo humano (MENARD e DONDORP, 2017; BLASCO *et al.*, 2017).

Em relação ao tratamento da malária no Brasil, o estado do Acre e todos os estados da região extra-amazônica (compreende 18 estados das regiões do nordeste, sudeste e sul), utilizam o artenusato/mefloquina com sucesso, ressaltando que as terapias ACT, a base de artemisinina, ainda não foram avaliados de forma integrada no sistema de saúde. Em vista da emergência em relação a resistência do *P. falciparum* à artemisinina baseada em terapia de combinação e a ausência de tratamentos alternativos, programas de pesquisa para identificar novos medicamentos que possam ser complementares ou substituídos pelos atuais, são extremamente importantes e urgentemente necessários (OLIVEIRA-FERREIRA *et al.*, 2010). Em pacientes grávidas e crianças menores de 5 anos, o tratamento é feito com o uso de cloroquina por três dias e cloroquina profilática (5 mg/kg/dose/semana), já que a primaquina e a tafenoquina não são recomendadas para esse grupo funcional. A primaquina possui ação sinérgica a cloroquina, portanto quando este medicamento não é utilizado, a redução da parasitemia pode ser mais lenta e o uso de doses profiláticas auxiliam neste tratamento e previnem dos possíveis sintomas de recaídas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020; DOMBROWSKI *et al.*, 2022; COMMONS *et al.*, 2018). A tafenoquina foi aprovada pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) em 2019 e tem sido utilizado para o tratamento das infecções por *P. vivax* e, comparado a primaquina (administrada em 14 dias), apenas uma dose é requerida para o tratamento, reduzindo assim as chances de recaídas, as quais são comuns nas infecções por malária *vivax* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021, 2023).

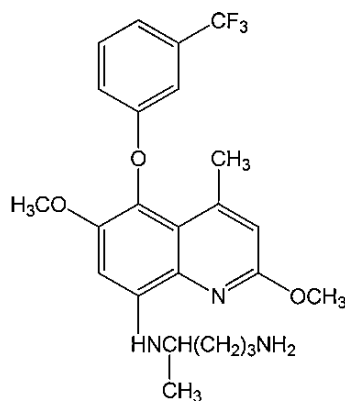


Figura 4: Estrutura química da tafenoquina. Li *et al.* (2014).

2.5. PLANTAS UTILIZADAS PARA O TRATAMENTO DA MALÁRIA

O uso potencial de plantas medicinais é uma prática comum na medicina tradicional e vem sendo utilizada para prevenir doenças desde a antiguidade. Tradicionalmente, as pesquisas por produtos naturais, envolvem coletas aleatórias e/ou triagem de espécies vegetais, além do uso do conhecimento etnobotânico, o qual desempenha um papel importante na preservação do conhecimento medicinal tradicional, assim como fornece novos caminhos para investigações farmacológicas e descoberta de substâncias bioativas (RASKIN *et al.*, 2002; GU *et al.*, 2014). Os primeiros estudos de compostos isolados provenientes de plantas foram descritas no início do século 19. A quinina isolada em 1820, foi o primeiro fármaco eficaz contra a malária, no entanto, por volta de 1960, principalmente durante a guerra do Vietnã, foi observado o aumento da mortalidade, tendo como provável responsável, a baixa eficácia nos tratamentos contra malária, os quais foram associados com a resistência do parasita *Plasmodium* ao medicamento (ANDRADE *et al.*, 2015, SILVA *et al.*, 2022).

Após intensas pesquisas, a aprovação da artemisinina em 1986, levou Tu Youyou Won, em 2015, a receber o prêmio Nobel em Fisiologia ou Medicina pela descoberta da nova terapia contra a malária (ANDRADE *et al.*, 2015). Apesar da eficácia do tratamento, o parasita *Plasmodium* passou a apresentar resistência ao medicamento. Em virtude dos constantes registros de resistência aos antimaláricos existentes, novas espécies vegetais vêm sendo descobertas por meio de estudos etnobotânicos, e testadas biologicamente, com o intuito de identificar novos potentes candidatos antimaláricos e renovar o arsenal quimioterapêutico da doença.

Na região da Índia, pesquisas etnobotânicas destacam a presença de 51 espécies de plantas pertencentes a 27 famílias, utilizadas pela população nativa para o tratamento de malária. Dessas espécies, *Cassia fistula*, *Adhatoda vasica* e *Swertia chirata* são as plantas

consideradas mais populares na região para uso antimalárico (QAYUM *et al.*, 2016). Muitos estudos tem sido desenvolvidos no continente africano, região onde ocorrem a maioria dos casos e mortes por malária no mundo. Pesquisas feitas no sudeste da África, relataram 80 espécies de plantas para uso no tratamento da malária e, apesar da ausência de dados etnobotânicos para muitos grupos étnicos nesse continente, foi verificado que mais de 180 espécies já foram documentadas em estudos antiplasmódicos, porém, avaliações adicionais da eficácia dessas plantas, tem sido pouco relatada (COCK *et al.*, 2019). Na região de Moçambique, foi verificado um total de 37 espécies de plantas utilizadas para o tratamento de malária, sendo que três dessas espécies *Ochna kirkii*, *Ehretia amoena* e *Pteleopsis myrtifolia* foram as mais frequentemente citadas por populares (MANUEL *et al.*, 2020).

Na região da África, 61 espécies pertencentes a 33 famílias foram mencionadas como resposta ao tratamento antimalárico, sendo que a família Caesalpiniaceae, com 7 espécies foi a mais representada, seguida por Euphorbiaceae e Poaceae com 4 espécies. As espécies mais citadas por populares na região foram *Newbouldia laevis*, *Sarcocephalus latifolius*, *Acanthospermum hispidum* e *Senna siamea* (AGBODEKA *et al.*, 2016). Avaliações etnobotânicas e etnofarmacológicas de plantas antimaláricas utilizadas por pessoas residentes em comunidades na Nigéria identificaram 59 espécies medicinais pertencentes a 33 famílias, sendo que as espécies *Azadirachta indica*, *Cassia fistula* e *Morinda lucida*, foram as mais indicadas (OLADEJI *et al.*, 2020). Na África é comum o uso de plantas medicinais no tratamento de malária por comunidades indígenas, como mencionado por pesquisas feitas por Tabuti *et al.* (2023) no distrito de Tororó, na Uganda. Neste estudo, foi identificado um total de 45 espécies de plantas pertencentes a 26 famílias e 44 gêneros utilizados no tratamento dos sintomas da malária.

Nos últimos anos, importantes resultados foram observados nas regiões da África, Ásia e Américas, a partir de análises com espécies vegetais. Diante disso, ensaios biológicos *in vivo* e *in vitro* têm sido estabelecidos para fins de comprovação científica desses produtos naturais e na determinação de fontes de valores para o desenvolvimento e/ou produção de novos fármacos. Apesar dos testes *in vitro* serem regularmente utilizados, análises *in vivo*, mesmo sendo técnicas caras e demoradas, são frequentemente requeridas para fins de triagem inicial (MOJAB, 2012). Pesquisas em dados eletrônicos, evidenciaram 182 espécies de plantas de 63 famílias diferentes utilizadas no tratamento da malária ao redor de comunidades na Uganda (África), no qual 112 foram analisadas para atividade antimalárica, sendo que 96% destas espécies apresentam resultados positivos em ambos os tratamentos, *in vitro*, em análises utilizando cepas *P. falciparum* (CQ-S e CQ-R) e *in vivo* em cepas de *P. berghei*. Algumas

espécies evidenciam forte atividade antimalárica, no entanto, cerca de 70 plantas (39%) não apresentam registros de investigação (OKELLO e KANG, 2019). Ainda na região da África, de acordo com banco de dados eletrônicos, 61 estudos identificaram 286 espécies de plantas com potencial antimalárico em diferentes comunidades do Kênia, tais espécies pertencem a 75 famílias botânicas, distribuídas em 192 gêneros. Das espécies identificadas, 139 (48,6%) tem sido investigadas com atividade antiplasmodial (18%) ou antimalárica (97,1%) em cepas de *Plasmodium* em testes *in vivo* e *in vitro* (OMARA, 2020).

Modelos de dados da literatura relacionados a atividade antimalárica de espécies provenientes da Ásia podem ser verificados em pesquisas feitas por Thiengsusuk *et al.* (2013), no qual foram investigados 27 plantas medicinais e 5 formulações utilizadas na medicina tradicional da Tailândia em testes *in vitro* utilizando cepas de *P. falciparum* (K1 e 3D7). Dos extratos/formulações, 19 tiveram resultados promissores e 10 (8 extratos/2 formulações) demonstraram potente atividade antimalárica. Na medicina tradicional indiana, 15 espécies de plantas medicinais são mencionadas por Biradar *et al.* (2019) em testes *in vitro* (cepas *P. falciparum* FCK2 (CQ-S) e INDO (CQ-R)), sendo que destas mais de 50% exibiram inibição do plasmódio e as demais apresentaram atividade promissora ou melhorada contra a resistência das cepas testadas. Pesquisas realizadas na África e Ásia com foco na família Laminaceae, 31 plantas foram avaliadas para atividade antimalárica, sendo 25 avaliadas para estudos *in vitro* contra *P. falciparum* e 10 *in vivo* contra *P. berghei* em camundongos, com resultados positivos para ambos os testes (TJITRARESM *et al.*, 2020).

Compostos puros derivados de plantas medicinais africanas com atividade antimalárica foram também revisadas entre os anos de 2013 a 2019. Dos 187 compostos descritos em atividades *in vivo* e *in vitro* utilizando cepas de *Plasmodium*, 30% são terpenoides, o que corresponde a maioria dos produtos naturais identificados, seguido de flavonoides (22%), alcaloides (19%) e quinonas (15%), sendo que a maioria dos compostos identificados são derivados de plantas da família Rubiaceae (BEKONO *et al.*, 2020). Pesquisa semelhante feita por Tajuddeen e Van Heerden (2019) a partir de trabalhos revisados ao redor do mundo entre os anos de 2010 a 2017, identificaram 1524 compostos naturais, os quais tem sido analisado contra pelo menos uma cepa de *Plasmodium*, sendo que 39% destes foram descritos como novos produtos naturais e alguns evidenciam potente atividade seletiva contra parasitas.

Na América Latina, análises de dados etnobotânicos atualizados por Milliken *et al.* (2021), verificou 2.490 registros de 1.002 espécies de plantas pertencentes a 573 gêneros e 145 famílias com relato de uso contra a malária. Em análises geoespaciais um total de 406 espécies foram utilizadas como antimaláricas no Brasil, sendo que a maioria são citadas na Amazônia,

com 164 espécies no Amazonas, 97 em Roraima, 65 no Mato Grosso e 63 no Pará. A Colômbia registrou 255, seguida do Peru com 229 e 139 nas Guianas. Em relação aos dados taxonômicos, os gêneros *Aspidosperma* e *Solanum* são os que tiveram o maior número de espécies citadas como antimaláricas, seguida por *Piper*, *Croton* e *Aristolochia*.

Nas Américas, Mariath *et al.* (2009) verificaram que 476 espécies de plantas foram relatadas com possível atividade antimalárica, das quais 198 foram ativas e 278 inativas para algum tipo de *Plasmodium*, quando avaliados em modelos de bioensaios *in vivo* e *in vitro* em cepas *P. falciparum*, *P. berguei*, *P. gallinaceum*, *P. vinckei*, *P. lophurae*, *P. cathemerium* e *P. yolii*. A maioria dos estudos foram feitos no Brasil e nos Estados Unidos, por conta da biodiversidade da flora que abrange estas regiões. Extratos e substâncias isoladas de 32 espécies foram listadas em pesquisas feitas na América do Sul, sendo estes produtos naturais analisados em cepas *P. falciparum* e *P. berghei* em testes *in vitro* e *in vivo*, por ensaios de inibição do crescimento de parasita e inibição de biocristalização de ferriprotoporfirina IX. Além disso, 37 moléculas têm sido identificadas a partir de fontes contra a malária em comunidades de química medicinal (CRUZ *et al.*, 2013).

No Brasil, a floresta Amazônica é a região que detém a maioria das pesquisas com atividade antimalárica, por conta da sua imensa biodiversidade de flora com potenciais medicinais. No Amazonas, município de Barcelos, foram registradas 55 espécies pertencentes a 29 famílias botânicas utilizadas para o tratamento de malária, sendo que a Apocynaceae, Simaroubaceae, Asteraceae, Arecaceae e Rhamanaceae foram as famílias mais frequentemente citadas como antimaláricas. De 52 plantas identificadas, 16 não foram descritas anteriormente em outras publicações e apenas 25 foram caracterizadas farmacologicamente (TOMCHINSKY *et al.*, 2017). Em São Gabriel da Cachoeira, no extremo norte do Amazonas, no Alto do Rio Negro, quarenta e seis espécies de 24 famílias foram mencionadas para tratamento da malária, destas 18 já têm sido estudadas por suas propriedades antimalariais e 26 não possuem ensaios laboratoriais em relação a sua atividade (KFFURI *et al.*, 2015). Em uma comunidade ribeirinha no Rio Mazagão no Estado do Amapá, foram identificadas 130 espécies, das quais sete foram citadas para uso no tratamento de malária e cinco para dor, febre e frio, sintomas estes também presentes no diagnóstico da doença (SARQUIS *et al.*, 2019).

Estudos etnofarmacológicos, extratos e substâncias isoladas de plantas comprovadamente ativas contra o parasita da malária na Amazônia foram abordados por Krettli *et al.* (2001). Das 300 espécies selecionadas aleatoriamente, cerca de 20% foram consideradas ativas entre 50 plantas baseadas no conhecimento tradicional. As espécies consideradas ativas foram testadas por meio de análises *in vitro* de culturas sanguíneas de *P. falciparum* e *in vivo*

por *P. berguei* a partir de extratos de etanol, butanol, hexano e clorofórmio. Duas espécies se destacam neste estudo, *Bidens pilosa*, ativa contra fases do parasita no sangue e *Ampelozizyphus amazonicus*, endêmica da Amazônia, a qual possui atividade esporozoíta de *P. gallinaceum* e/ou estágios primários extraeritrocitários, com redução significativa de parasitemia. Atividade contra o desenvolvimento de esporozoítos em *P. berguei* (cepa ANKA) por *A. amazonicus* proveniente da região do Amazonas, também foi observada em testes *in vivo* e *in vitro* feitos por Andrade-Neto *et al.* (2008).

O gênero *Aspidosperma*, mais conhecida como carapanaúba, é tradicionalmente utilizado no Brasil e em regiões da América do Sul, especialmente na Amazônia no tratamento de malária e febre. Revisão de literatura tem identificado 24 espécies de *Aspidosperma*, sendo que 19 já tem seus extratos e/ou compostos químicos, como alcalóides, avaliados com atividade antimalárica e com bons resultados em testes *in vivo* e *in vitro* utilizando cepas de espécies de *Plasmodium*. Dos 200 alcalóides indólitos conhecidos dessa espécie, apenas 20 foram testados para atividade antimalárica com inibição parasitária significativa (PAULA *et al.*, 2014).

No Estado do Pará, em comunidades quilombolas do município de Oriximiná, trinta e cinco etnoespécies correspondendo a 40 espécies de plantas foram registradas, as quais pertencem a 23 famílias botânicas, sendo 37 gêneros identificadas com potencial antimalárico, onze destas testadas contra *P. falciparum* (OLIVEIRA *et al.*, 2015). Pesquisas etnofarmacológicas desenvolvidas no município de Portel, sub-região do Marajó, no Pará, vinte e nove espécies distribuídas em 18 famílias foram mencionadas por comunitários utilizadas para prevenção e/ou cura da malária ou sintomas relacionados a doença. A família com o maior número de espécies citadas foi Asteraceae (27,8%), seguida da Fabaceae (22,2%), Rutaceae (16,7%), Arecaceae (11%) e Solanaceae (11%) (KELLY *et al.*, 2021).

2.6. ESTUDOS FITOQUÍMICOS DE ESPÉCIES VEGETAIS ANTIMALÁRICAS

O interesse por produtos naturais com diversas estruturas químicas e bioatividades contra diversas enfermidades, tornou-se crescente nos últimos anos pela comunidade científica em diversos países. Muitas espécies de vegetais produzem metabólitos secundários necessários para sua manutenção e defesa. Atualmente, estudos etnobotânicos e etnofarmacológicos possuem papel importante na coleta de informações para a pesquisas de moléculas biologicamente ativas que servirão como modelo para a síntese de novos fármacos (GU *et al.*, 2014; TANAKA E KASHIWADA, 2021).

A primeira etapa da caracterização química de espécies vegetais envolve a análise de extratos quanto a presença dos grupos ou classes de metabólitos mais relevantes, o que inclui

isolamento, elucidação estrutural e identificação (BARBOSA *et al.*, 2006). Os compostos mais frequentes em espécies lenhosas são fenóis, flavonóides e derivados, terpenos, alcalóides, compostos cianogênicos, quinonas e outros (WINK, 2013). Um dos primeiros compostos isolados a partir de espécies vegetais foi a quinina, um alcaloide isolado da espécie *Cinchona*, o qual foi o único princípio ativo contra o parasita *P. falciparum*, sendo responsável pelo desenvolvimento dos antimaláricos sintéticos pertencentes as classes das aminoquinolinas 4 e 8, como a cloroquina, primaquina entre outras (SAXENA *et al.*, 2003; VIEGAS-JÚNIOR *et al.*, 2006). Após a descoberta do alcaloide quinina, outras pesquisas tiveram como foco a busca de espécies vegetais com presença de alcaloides e ativos contra parasitas antimaláricos.

O gênero *Aspidosperma*, pertencente a família Apocynaceae, tem sido extensivamente estudada por ser rica em alcaloides indólicos que são os principais metabólitos secundários considerados bons marcadores químicos taxonômicos para este gênero, considerando que as atividades biológicas observadas nesta espécie são atribuídas a estes compostos (DOLABELA *et al.*, 2012; CHIERRITO *et al.*, 2014), além disso, muitos desses alcaloides indólicos possuem atividade antiplasmodial como aspidoscarpine, apparacine (CHIERRITO *et al.*, 2014) e ramiflorine A e B (Figura 4) (ALMEIDA *et al.*, 2019), contra parasitas de *P. falciparum*. Tais pesquisas demonstram a importância da abordagem taxonômica na seleção de espécies de plantas para a triagem antimalárica e o gênero *Aspidosperma* serve como exemplo de espécies que merecem investigações aprofundadas com foco na classe de alcaloides (DE PAULA *et al.*, 2014).

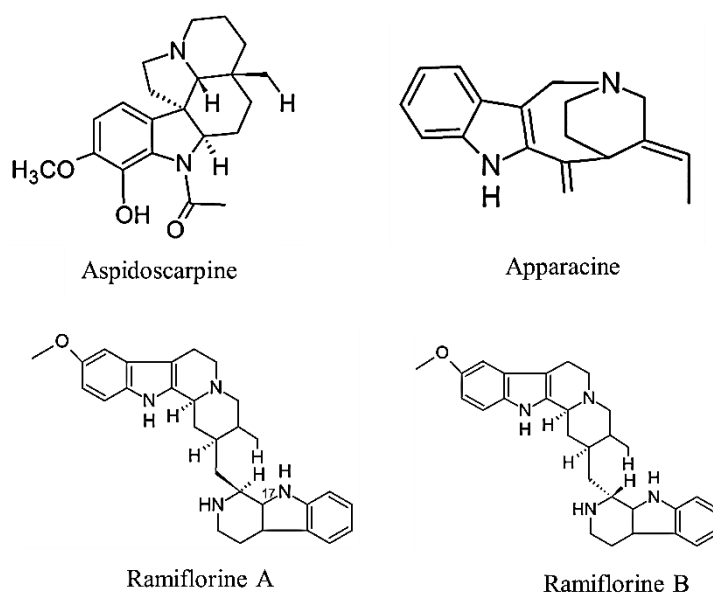


Figura 5: Exemplos de estruturas químicas de alcaloides indólicos provenientes de espécies do gênero *Aspidosperma*, com atividade antiplasmodica. Fonte: Almeida *et al.*, 2019.

Embora espécies vegetais com presença de alcaloides tenham demonstrado um potencial antimalárico, produtos naturais de outras classes estruturais também evidenciam atividade antiplasmodial, os quais pertencem a classes de terpenos, limonoides, flavonoides, cromonas, xantonas, antraquinonas, além de outros compostos diversos e relacionados (BATISTA *et al.*, 2009). Kaur *et al.* (2009) relataram um total de 266 produtos naturais antiplasmódicos e ou antimaláricos pertencentes tanto as classes de alcaloides, quanto terpenos, quassinoides, flavonoides, limonoides, chalconas, peptídeos, xantonas, quinonas, cumarinas e compostos diversos, além de 37 antimaláricos semissintéticos considerados promissores.

Análises cromatográficas têm contribuído de forma significativa para identificação de compostos bioativos de origem vegetal (CARVALHO-COSTA *et al.*, 2015). Para a realização de uma triagem eficiente, ensaios biológicos são requeridos em conjunto com métodos cromatográficos, como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), a qual permite a análise rápida de constituintes bioativos de amostras complexas, em combinação com outros métodos de detecção, tais como espectrometria de massa (MS) e ionização eletrospray (ESI) que representa uma interface bem-sucedida utilizada na configuração cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa (LC-MS), considerado eficiente na identificação de constituintes de extratos vegetais (YANG *et al.*, 2009; BONTA, 2017). Tais métodos de separação tornaram-se, atualmente, ferramentas poderosas e eficientes na detecção e identificação de constituintes químicos a partir de amostras vegetais, desempenhando um papel importante na pesquisa de produtos naturais para fins de desenvolvimento de novos fármacos.

2.7. ANÁLISES TOXICOLÓGICAS DE ESPÉCIES VEGETAIS ANTIMALÁRICAS

Plantas medicinais utilizadas para o tratamento de diversas doenças ainda são muito comuns, no entanto, é importante considerar que alguns constituintes presentes nos produtos naturais podem ser tóxicos para o organismo humano, e pesquisas *in vitro* tem revelado que muitas espécies vegetais utilizadas da medicina tradicional, são citotóxicas, mutagênicas e/ou genotóxicas às células (REBOUÇAS *et al.*, 2013).

Análises de citotoxicidade são uma etapa inicial na verificação de toxicidade de uma substância teste e desempenham um papel crucial em preparações farmacêuticas, as quais incluem análises de extratos de plantas ou compostos biologicamente ativos isolados de plantas (ÇELIK, 2018). Testes citotóxicos são indicadores importantes no sistema de avaliação biológica *in vitro* que tem como objetivo observar o crescimento celular, reprodução e efeitos morfológicos necessários em modelos de triagem como absorção, distribuição, metabolismo e eliminação (ADME) (LI *et al.*, 2015; OSLON *et al.*, 2000), além disso, oferecem vantagens em

estudos pré-clínicos devido a sua elegibilidade, custo-eficácia e reprodutibilidade (BÁCSKAY *et al.*, 2018).

Dentre os ensaios de citotoxicidade, o ensaio de redução de brometo, o MTT (brometo de 3-(4,5 dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio), é um dos mais popularmente conhecidos por ser uma técnica considerada de baixo custo, capaz de medir a morte celular, proliferação ou viabilidade celular (MOSMANN, 2005; FERREIRA e SOBRAL, 2020). Diversas linhagens de diferentes tipos celulares tem sido utilizadas em ensaios biológicos, e um exemplo dessas células é a linhagem HepG2 (carcinoma hepatocelular com propriedade aderente), a qual é considerada uma célula “imortalizada” por possuir alta capacidade proliferativa, o que torna possível a formação de bancos celulares a partir de sua criopreservação e por conta disso, são muito utilizadas em pesquisas como produção de fármacos e vacinas, sendo uma alternativa interessante em ensaios de citotoxicidade de compostos naturais bioativos e derivados (VERTREES, 2009; SILVA *et al.*, 2020).

O aumento contínuo de análises toxicológicas de substâncias, estimulou o avanço e a inclusão de métodos de detecção de danos celulares. De acordo com o guia de condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica da ANVISA (2013), estudos de genotoxicidade tem se tornado necessários para detecção do potencial de danos celulares de substâncias sob investigação. O Ensaio Cometa (EC) é um dos métodos *in vitro* considerado complementar, porém importante e bem aplicado em estudos de genotoxicidade, o qual é capaz de detectar danos primários ao DNA celular (OECD, 2016). Comparado a outras técnicas, o Ensaio Cometa possui vantagens como sensibilidade para detectar níveis baixos de danos ao DNA em pequenas quantidades de amostras, facilidade de aplicação, baixo custo, flexibilidade do ensaio e adaptação a uma variedade de requisitos experimentais (OLIVE *et al.*, 1990b; VANDGHANOONI e ESKANDANI, 2011; CORDELLI *et al.*, 2021).

Considerando a importância da aplicação de testes toxicológicos em resposta a eficácia do uso de plantas medicinais, muitas pesquisas têm sido desenvolvidas utilizando desses métodos para validação e segurança de substâncias, incluindo espécies vegetais de uso antimalárico. Um exemplo dessas análises podem ser verificadas em pesquisas feitas no composto Aspidospermina, um índole alcaloide, proveniente da espécie *Aspidosperma polyneuron*, avaliada por meio de testes de citotoxicidade e genotoxicidade em células HepG2 o qual demonstrou redução significativa de sobrevivência de células HepG2 nas concentrações testadas e os dados obtidos a partir dos parâmetros do ensaio cometa, evidenciou que a genotoxicidade associada ao tratamento com aspidospermina por 3h de exposição, foi dose-dependente, com viabilidade celular acima de 80% (COATTI *et al.*, 2016). Aspidospermina,

demonstra alto índice de seletividade, ou seja, alta atividade contra o parasita e baixa citotoxicidade contra célula do hospedeiro (MITAINE-OFFER *et al.*, 2002).

Outro estudo utilizando de análises mutagênica e genotóxica da espécie *Himatanthus articulatus*, conhecida como sucuuba, utilizada na Amazônia como fármaco fitoterápico, demonstrou que os extratos, provenientes desta espécie não são genotóxicos *in vivo* e que apresentam redução nos danos clastogênicos gerados pela indução do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em células (REBOUÇAS *et al.*, 2013). O extrato da espécie *Amasonia campestris*, proveniente do município de Macapá-AP, também utilizada para tratamento antimalárico, também não demonstrou genotoxicidade em testes *in vivo*, o que evidencia um possível uso seguro desta espécie, apesar da necessidade de novos testes pré-clínicos (SOUZA *et al.*, 2019).

3. CAPÍTULOS

3.1. CAPÍTULO 01 - BRAZILIAN PLANTS WITH ANTIMALARIAL ACTIVITY: A REVIEW OF THE PERIOD FROM 2011 TO 2022

Santos, M.B.V.; Oliveira, A.B.; Mourão, R.H.V.

Publicado na *Journal of Ethopharmacology* (<https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.117595>), Fator de impacto 5.4, Qualis A1 (Classificações de periódicos quadriênio 2017 – 2020). O artigo está disposto com as tabelas e figuras inseridas no corpo do texto para melhor avaliação dos membros da banca examinadora.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Ethnopharmacology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jethpharm

Brazilian plants with antimalarial activity: A review of the period from 2011 to 2022

Maria Beatriz Viana dos Santos^{a,b,**}, Alaíde Braga de Oliveira^{a,b,c},
Rosa Helena Veras Mourão^{a,b,*}

^a Laboratório de Bioprospecção e Biologia Experimental – LabBBEx, Universidade Federal do Oeste do Pará, Rua Vera Paz, s/n, Salé, 68035-110, Santarém, PA, Brazil

^b Programa de Pós-Graduação Doutorado em Rede de Biodiversidade e Biotecnologia – BIONORTE/Polos Pará. Universidade Federal do Pará, Rua Augusto Corrêa, 01, Guamá, 66075-110, Belém, PA, Brazil

^c Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – PPGCF, Faculdade de Farmácia, Departamento de Produtos Farmacêuticos, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Malaria
Plasmodium
Medicinal plants
Antimalarials

ABSTRACT

Ethnopharmacological relevance: Malaria continues to be a serious global public health problem in subtropical and tropical countries of the world. The main drugs used in the treatment of human malaria, quinine and artemisinin, are isolates of medicinal plants, making the use of plants a widespread practice in countries where malaria is endemic. Over the years, due to the increased resistance of the parasite to chloroquine and artemisinin in certain regions, new strategies for combating malaria have been employed, including research with medicinal plants. **Aim:** This review focuses on the scientific production regarding medicinal plants from Brazil whose antimalarial activity was evaluated during the period from 2011 to 2022.

2. Methodology: For this review, four electronic databases were selected for research: Pubmed, ScienceDirect, Scielo and Periódicos CAPES. Searches were made for full texts published in the form of scientific articles written in Portuguese or English and in a digital format. In addition, prospects for new treatments as well as future research that encourages the search for natural products and antimalarial derivatives are also presented.

Results: A total of 61 publications were encountered, which cited 36 botanical families and 92 species using different *Plasmodium* strains in *in vitro* and *in vivo* assays. The botanical families with the most expressive number of species found were Rubiaceae, Apocynaceae, Fabaceae and Asteraceae (14, 14, 9 and 6 species, respectively), and the most frequently cited species were of the genera *Psychotria* L. (8) and *Aspidosperma* Mart. (12), which belong to the families Rubiaceae and Apocynaceae. Altogether, 75 compounds were identified or isolated from 28 different species, 31 of which are alkaloids. In addition, the extracts of the analyzed species, including the isolated compounds, showed a significant reduction of parasitemia in *P. falciparum* and *P. berghei*, especially in the clones W2 CQ-R (*in vitro*) and ANKA (*in vivo*), respectively. The Brazilian regions with the highest number of species analyzed were those of the north, especially the states of Pará and Amazonas, and the southeast, especially the state of Minas Gerais.

Conclusion: Although many plant species with antimalarial potential have been identified in Brazil, studies of new antimalarial molecules are slow and have not evolved to the production of a phytotherapeutic medicine. Given this, investigations of plants of traditional use and biotechnological approaches are necessary for the discovery of natural antimalarial products that contribute to the treatment of the disease in the country and in other endemic regions.

* Corresponding author. Laboratório de Bioprospecção e Biologia Experimental – LabBBEx, Universidade Federal do Oeste do Pará, Rua Vera Paz, s/n, Salé, 68035-110, Santarém, PA, Brazil. " \o "mailto:rosa.mourao@ufopa.edu.br"rosa.mourao@ufopa.edu.br

** Corresponding author. Laboratório de Bioprospecção e Biologia Experimental – LabBBEx, Universidade Federal do Oeste do Pará, Rua Vera Paz, s/n, Salé, 68035-110, Santarém, PA, Brazil.

E-mail addresses: mbeatrizviana9@hotmail.com (M.B. Viana dos Santos), bragalaide@gmail.com (A. Braga de Oliveira).

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.117595>

Received 10 July 2023; Received in revised form 16 November 2023; Accepted 12 December 2023

Available online 18 December 2023

0378-8741/© 2023 Elsevier B.V. All rights reserved.

Brazilian plants with antimalarial activity: a review of the period from 2011 to 2022

Maria Beatriz Viana dos Santos^{a,b*}, Alaíde Braga de Oliveira^{a,b,c} Rosa Helena Veras Mourão^{a,b*}

^aLaboratório de Bioprospecção e Biologia Experimental – LabBBEx, Universidade Federal do Oeste do Pará, Rua Vera Paz, s/n, Salé, 68035-110, Santarém, PA, Brazil

^bPrograma de Pós-Graduação Doutorado em Rede de Biodiversidade e Biotecnologia – BIONORTE/Polo Pará. Universidade Federal do Pará, Rua Augusto Corrêa, 01, Guamá, 66075-110, Belém, PA, Brazil

^cPrograma de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – PPGCF, Faculdade de Farmácia, Departamento de Produtos Farmacêuticos, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil

dos Santos, MBV: mbeatrizviana9@hotmail.com

de Oliveira, AB: bragalaide@gmail.com

Mourão, RHV: rosa.mourao@ufopa.edu.br;

*Corresponding author: Tel: +5593991223301

email: rosa.mourao@ufopa.edu.br; ([RHV Mourão](#)).

Abstract

Ethnopharmacological relevance: Malaria continues to be a serious global public health problem in subtropical and tropical countries of the world. The main drugs used in the treatment of human malaria, quinine and artemisinin, are isolates of medicinal plants, making the use of plants a widespread practice in countries where malaria is endemic. Over the years, due to the increased resistance of the parasite to chloroquine and artemisinin in certain regions, new strategies for combating malaria have been employed, including research with medicinal plants.

Aim: This review focuses on the scientific production regarding medicinal plants from Brazil whose antimalarial activity was evaluated during the period from 2011 to 2022. **2.**

Methodology: For this review, four electronic databases were selected for research: Pubmed, ScienceDirect, Scielo and Periódicos CAPES. Searches were made for full texts published in the form of scientific articles written in Portuguese or English and in a digital format. In addition, prospects for new treatments as well as future research that encourages the search for natural products and antimalarial derivatives are also presented. **Results:** A total of 61 publications were encountered, which cited 36 botanical families and 92 species using different *Plasmodium* strains in *in vitro* and *in vivo* assays. The botanical families with the most expressive number of species found were Rubiaceae, Apocynaceae, Fabaceae and Asteraceae (14, 14, 9 and 6 species, respectively), and the most frequently cited species were of the genera *Psychotria* L. (8) and *Aspidosperma* Mart. (12), which belong to the families Rubiaceae and Apocynaceae. Altogether, 75 compounds were identified or isolated from 28 different species, 31 of which are alkaloids. In addition, the extracts of the analyzed species, including the isolated compounds, showed a significant reduction of parasitemia in *P. falciparum* and *P. berghei*, especially in the clones W2 CQ-R (*in vitro*) and ANKA (*in vivo*), respectively. The Brazilian regions with the highest number of species analyzed were those of the north, especially the states of Pará and Amazonas, and the southeast, especially the state of Minas Gerais. **Conclusion:** Although many plant species with antimalarial potential have been identified in Brazil, studies of new antimalarial molecules are slow and have not evolved to the production of a phytotherapeutic medicine. Given this, investigations of plants of traditional use and biotechnological approaches are necessary for the discovery of natural antimalarial products that contribute to the treatment of the disease in the country and in other endemic regions.

Keywords: Malaria, *Plasmodium*, medicinal plants, antimalarials

1. Introduction

Malaria is an infectious disease caused by parasites of the genus *Plasmodium*. It is transmitted by the bite of the female *Anopheles* mosquito when infected with *Plasmodium* (Tan and Arguin, 2020). The five species that can infect humans are *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* and *Plasmodium knowlesi*. *P. ovale* and *P. knowlesi* do not occur in Brazil. The parasite of greatest medical importance is *Plasmodium falciparum*, which is the most lethal and accounts for the majority of severe infections (90%) worldwide (Fairhurst and Wellems, 2015; Arrow et al., 2004). The main symptom of malaria is fever, which can reach peaks of up to 40 °C. The fever cycle varies according to the *Plasmodium* species, this being 48 hours for the species *P. falciparum*, *P. vivax*, and *P. ovale* and 72 h for *P. malariae* (Ashley et al., 2018; World Health Organization, 2022; Fairhurst and Wellems, 2015).

Malaria is a disease that still has a major impact on morbidity and mortality, especially in tropical and subtropical regions where malaria is endemic (World Health Organization, 2020). In 2021, it is estimated that there were 247 million cases of malaria in the world, most caused by the parasites *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax*. An estimated total of 619,000 deaths were reported, with a prevalence in pregnant women and children under 5 years of age, especially in the African region, which is the region with the highest incidence of malaria in the world (World Health Organization, 2022). In the Americas, *Plasmodium vivax* is the main cause of infections, with a percentage of 80% (Brazilian Ministry of Health, 2020). According to the World Health Organization, in the last 20 years (2000 to 2021), cases of malaria have reduced by 60% and the incidence of notifications by 70% (from 1.5 million to 0.6 million and from 14 million to 4 million, respectively). Deaths reduced by 64% and the mortality rate by 73% (from 919 to 334 and from 0.8 to 0.2, respectively), most occurring in adults (78%) (World Health Organization, 2022).

In Brazil, despite the reduction in cases in recent decades, malaria is still considered a public health problem and epidemiological data show that, between 2011 and 2020, about 1.8 million cases were registered, which resulted in 450 deaths (Garcia et al., 2022; Brazilian Ministry of Health, 2013), and most transmissions usually occur in the Amazon region of Brazil, where malaria is endemic, with a percentage of 99.9% of notifications (World Health Organization, 2022). According to the Brazilian Ministry of Health, in 2021, a total of 139,211 cases and 49 deaths were reported in the country, a reduction of 4.1% compared to the previous

year (2020), which recorded a total of 157,457 cases. The parasite *P. vivax* causes the highest number of cases in the country, which in 2021 was responsible for about 83.0% of infections (114,449 cases), while *P. falciparum* and mixed malaria were responsible for about 17.0% of infections (23,408 cases) (Brazilian Ministry of Health, 2022). Although the Amazon region has the highest number of deaths, the extra-Amazon region registered a relative lethality that was 123 times higher in 2019 (Garcia et al., 2022; Oliveira-Ferreira et al., 2010; Brazilian Ministry of Health, 2020).

Brazil is one of the most biodiverse countries in the world (Flora of Brazil, 2020) and presents a wide variety of unexplored plant species, though many have potential for the development and innovation of new antimalarial drugs. The main drugs commonly used in antimalarial therapy are derived from plants, such as quinine and artemisinin. However, despite their high efficacy, the resistance of *Plasmodium* species to these drugs is increasing and thus complicates disease control on a global basis (Dolabela et al., 2015; Lameira et al., 2021). In Brazil, the first evidence of chloroquine resistance was reported in Manaus, Amazonas, in 2000 (De Santana Filho et al., 2007) and, due to this, new perspectives for antimalarial treatment and studies aimed at reducing and controlling these infections have been developed. One valid and promising strategy is the ethnobotanical research of medicinal plants, associated with biological assays that attest to the antimalarial activity of these species. Since many medicinal plants are still unknown, it is necessary to investigate them in order to identify new possible candidates for antimalarial drugs, and thus renew the chemotherapeutic arsenal in the area.

Thus, the objective of this review was to identify the studies published in the last decade (January 2011 to December 2022) that were carried out on plant species in Brazil in regards to the treatment of malaria. In addition, prospects for new treatments and future research that encourages the search for natural products and antimalarial derivatives are also presented.

2. Methodology

For this review, four electronic databases were selected: Pubmed, Science Direct, Scielo and Periódicos CAPES, and searches were made for full texts published in the form of scientific articles written in Portuguese or English and in a digital format. As inclusion criteria, articles published between 2011 and 2022 were selected, taking into account the following information: *in vitro* and *in vivo* antimalarial activity of extracts, oils, fractions, substances isolated from samples of plant species and semi-synthetic derivatives against different strains of *Plasmodium* species. The keywords used were: “antimalarial”, “natural products” “antimalarial plant” “malaria in Brazil”. All archival findings with relevant (active) antimalarial activity and data

from moderately active and inactive species were included. Data regarding traditional/ethnobotanical use were not included and, moreover, chapters from books, theses or dissertations and scientific summaries published at events were not included.

This research aimed to review the literature from the last 11 years, and this selection is related to the implementation of the National Malaria Prevention and Control Program (PCNM/2003), within the scope of the Brazilian Ministry of Health, which has been working to reduce malaria in the country. This action led to the reduction of epidemiological data and the encouragement of funding of agencies for research into neglected diseases, resulting in the advancement of studies with substances extracted from plants for the treatment of malaria.

3. Resistance of infectious *Plasmodium* species to antimalarial drugs

For many years, malaria has been endemic in several regions of Asia, Europe and mainly in Africa, which has encouraged the search for drugs that can act in the treatment of the severe symptoms resulting from the infection by the *Plasmodium* parasite and its elimination. The first drug used for the treatment and prevention of malaria was quinine, a quinoline alkaloid that was isolated in 1820 from the bark of trees of the genus *Cinchona sp*, which is native to South America ((Oliveira and Szczerbowski, 2009; França et al., 2008). Antimalarial quinolines that are structurally similar to quinine, such as chloroquine, pyrimethamine, and primaquine, among others, have been developed. Chloroquine has been shown to be more potent and safer than quinine against all *Plasmodium* species. In addition, because it is more stable, less toxic and, especially, cheaper, chloroquine became the main synthetic antimalarial drug adopted in the Global Malaria Eradication Program in the period 1957-1969. However, the resistance of *Plasmodium falciparum* to chloroquine was reported in World Health Organization (WHO) reports in Thailand in 1957, then in Sub-Saharan Africa and South America in 1970, which has further contributed to the high number of deaths worldwide (Packard, 2014). The WHO then went on to stimulate the development of new synthetic antimalarials (Sweeney, 1984).

In the 1970s and 1980s, WRAIR (Walter Reed Army Institute of Research) developed the synthetic drugs fansidar, mefloquine and atovaquone/proguanil. However, the protozoan very quickly generated resistance to all of them (Sá, 2011). In combination with proguanil, atovaquone, marketed as Malarone, has a satisfactory effect in pregnant women and children and has proven to be effective in the treatment of atovaquone-resistant parasites (Belete, 2020; Antony and Parija, 2016).

A project on ethnopharmacology and screening of antimalarial plants of traditional use in China was developed under the coordination of the researcher Youyou Tu, who was subsequently awarded the 2015 Nobel Prize for Physiology/Medicine for her contribution in the fight against malaria. In this project, 2,000 recipes used in China for malaria treatment were catalogued, of which 200 were evaluated in rodents. *Artemisia annua* L. (Qinghao) was one of the most promising species. The chemical-biological investigation of active extracts led to the isolation and identification of artemisinin, a substance responsible for the antimalarial activity of *A. annua*, according to the researcher's communication to the team in 1971. However, the introduction of artemisinin into therapy did not begin until 1990. The team of Chinese researchers also synthesized semi-synthetic derivatives such as dihydroartemisine, artesunate and artemether artemisinin, which were extracted from the species *A. annua*, originally from China (Ma et al., 2020). Artemisinin has become one of the most widely used drugs in the treatment of *P. falciparum* malaria. However, the resistance of *P. falciparum* to artemisinin, which was first observed on the Cambodia-Thailand border in 2003, has become prevalent in Southeast Asia and Africa (Senegal, Uganda) and has resulted in the development of an artemisinin-based combination therapy (ACT), now recommended as the first choice for malaria treatment. Observations have been made that resistance to ACTs, mainly AS-MQ (artesunate-mefloquine) and DHA-PPQ (dihydroartemisinin-piperaquine), is due to artemisinin resistance and the possibility of its transcontinental expansion is of great concern (Ashley et al., 2014; Hanboonkunupakarn et al., 2022).

4. Malaria in Brazil

In Brazil, the mosquito vector of malaria is *Anopheles darlingi*, which is present in almost 80% of the country, with a higher incidence in the Amazon region (Oliveira-Ferreira et al., 2010). Three *Plasmodium* species are common in the country: *Plasmodium vivax*, *P. falciparum* and *P. malariae* and, according to the Brazilian Ministry of Health, in 2021, of the total number of notified cases, 99% (137,857) were autochthonous, with 17% (23,408) of the cases being transmitted by *P. falciparum* and mixed malaria and 83% (114,449) by *P. vivax* and other species of parasites (Brazilian Ministry of Health, 2022). Asymptomatic cases are considered rare in Brazil; however, infections with non-apparent symptoms by *P. falciparum* and *P. vivax* have been detected in the states of Rondônia and Amazonas, which may be related to acquired immunity resulting from repeated long-term exposure to the parasite (Tran et al., 2005; Carlos et al., 2019). Although *P. vivax* is responsible for about 90% of the cases registered

in Brazil, *P. falciparum* is the main cause of most severe cases and deaths (Naing et al., 2014; Tjitra et al., 2008; Carlos et al., 2019).

The rate of reduction in cases in 2019 was 19.1% when compared to the previous year (2018). From January to June 2020, cases of *P. falciparum* malaria and mixed malaria decreased by 16.2% (60,713 cases) and 14.4% (8,758), respectively. In the Brazilian Amazon, 99.9% of malaria cases are concentrated in 41 municipalities, most occurring in the states of Amazonas (16 cases – 39.0%) and Pará (8 cases – 19.5%) (Brazilian Ministry of Health, 2020). Significant impacts of the disease are concentrated especially in indigenous populations because they are considered more vulnerable and reside, for the most part, in remote areas with difficult access to health systems (Brazilian Ministry of Health, 2020). It is believed that the high rates of transmission in the western Amazon, especially by *P. falciparum*, are related to the extensive anthropogenic environmental changes; human migration between municipalities, states and countries, which may have resulted in increased contamination density and reduced vector control and, although most cases are considered autochthonous, importation between states may provide the information necessary to understand the dynamics of disease transmission in the country (Carlos et al., 2019).

The extra-Amazon region has two transmission cycles: introduced malaria that occurs from imported cases, which are caused by *P. falciparum* and which is usually transmitted by female mosquitoes of the genus *Anopheles*. The autochthonous malaria, called “bromeliad-malaria”, is considered the most important and is transmitted mainly by *Anopheles cruzii* female mosquitoes infected with *P. vivax* and *P. malariae* (Pina-Costa et al., 2014; Lorenz et al., 2015; Multini et al., 2019). The name “bromeliad-malaria” is related to the reproduction of mosquitoes in the water found on the leaves of plants of the Bromeliaceae family (Buery et al., 2021). In the extra-Amazon region, there is a lower number of cases of malaria; however, severe cases are higher in number, and lethality is greater when compared with the Amazon region. The higher incidence of cases and deaths in the Amazon is attributed to factors such as late diagnosis, lack of health professionals specialized in the area and the lack of knowledge of the population in relation to the symptoms that are often confused with dengue, thus hindering treatment, since only 19% of all cases are treated within 48 hours. It may also be attributed to underreporting of the disease (Pina-Costa et al., 2014; Lorenz et al., 2015; Limongi et al., 2008; Costa et al., 2012).

Regarding the treatment of malaria, combinations based on artemisinin or chloroquine in combination with primaquine have demonstrated efficacy in the treatment of *Plasmodium*

vivax, mainly in endemic areas (Melo et al., 2020). In 2019, ANVISA (the Brazilian National Health Surveillance Agency) approved tafenoquine, which has a quinoline structure similar to primaquine and was synthesized in the 1970s. Brazil was the first country with endemic malaria to approve the use of this drug since it was shown to be effective in combating *P. vivax* in only one dose in patients over 16 years of age, but there are still restrictions regarding its use. The Brazilian Ministry of Health, in partnership with other national institutions, believes that the implementation of this drug can assist in the treatment of *vivax* malaria in endemic regions, which is considered an important step in the control of the disease in the country (Brazilian Society of Tropical Medicine, 2019; Lacerda et al., 2019).

In the state of Acre and all states of the extra-Amazon region (northeast, southeast and south), artesunate-mefloquine is used in the treatment of malaria (Oliveira-Ferreira et al., 2010). Malaria therapy with ACT, recommended by the WHO since 2010, began with treatment in the areas of occurrence of *P. vivax*, although it also presents efficacy in *P. falciparum* malaria, which has encouraged the continued use of ACT for the maintenance of disease control in endemic areas (Daher et al., 2018). In addition to the various recommendations in malaria therapy, the emergence of parasite resistance to common drugs used in the treatment has made it necessary to promote research programs to identify new synthetic drugs or molecules from plant species that can contribute to the control and treatment of malaria in the country (Oliveira-Ferreira et al., 2010). In pregnant patients and children under 5 years of age, treatment is performed using chloroquine for three days and prophylactic chloroquine (5 mg/kg/dose/week), since primaquine and tafenoquine are not recommended for this functional group. Primaquine has a synergistic action with chloroquine, so, when this drug is not used, the reduction of parasitemia may be slower and the use of prophylactic doses help in this treatment and prevent possible relapses (Brazilian Ministry of Health, 2020; Dombrowski et al., 2022; Commons et al., 2018).

5. Antimalarial activity of medicinal plants from Brazil

Articles published between 2011 and 2022, in Portuguese or English, on the antimalarial activity of medicinal plants in Brazil were selected for this review. The data referenced in Table 1 refer to families and species, common names, regions where they were collected (states), the part of the plant used for the studies, the tested sample (extract, oil, fraction and/or semi-synthetic derivatives), experimental models (*Pf* (*Plasmodium falciparum*) strains *in vitro*) and antimalarial activity (IC₅₀ / %GI (growth inhibition)). In this review, individual plant species

were considered to be an independent study, considering that an article may contain more than analyzed one plant species or botanical family (Tables 1, and 2). Based on these criteria, 61 articles were found, with records of 36 botanical families and 92 different species. Of these families, the most expressive in number of different species analyzed were Rubiaceae, Apocynaceae (both with 14 species), and Fabaceae and Asteraceae, with 9 and 6 species, respectively. The plant species mentioned in this review were checked using “World Flora Online” (<http://www.worldfloraonline.org>).

In relation to the states with the highest number of plant collections, we can highlight the state of Pará with 30 species analyzed, followed by Amazonas with 23 species (Tables 1, and 2). The studies on antimalarial activity that were developed in the Amazon may be related to the percentage of records of traditional use of plant species in the region, considering that the Amazon has a wide biodiversity of medicinal plants. The middle Negro River (Amazonas state) is a region of interest in the search for new antimalarial compounds due to the common use of traditional knowledge for the treatment of diseases in combination with the high biodiversity of the region. The botanical families Simaroubaceae and Asteraceae have been mentioned in this region and deserve investigations aimed at evaluating their antimalarial potential (Thomchinsky et al., 2017), as well as plants belonging to the families Rhamanaceae, Apocynaceae, Arecaceae, Solanaceae, Fabaceae (Kffuri et al., 2016). In the state of Pará, ethnobotanical studies showed that 29 plant species distributed in 18 botanical families are used for the prevention and/or cure of malaria or treatment of malaria-related symptoms, with most of the species mentioned belonging to the families Asteraceae (27.8%), Fabaceae (22.2%), Rutaceae (16.7%), Arecaceae (11%) and Solanaceae (11%) (Davis et al., 2021). Another study, also in Pará, indicated 35 records of ethnospecies that comprise 40 different species belonging to 23 families and 37 genera identified as having antimalarial potential, and 11 selected species belonging to these genera were tested against *P. falciparum* (Oliveira et al., 2015).

In the extra-Amazon region, most of the records of species with antimalarial potential identified in this review were found in the state of Minas Gerais; a total of 37 species belonging to the families Annonaceae, Araliaceae, Arecaceae, Asteraceae, Apocynaceae, Bignoniaceae, Euphorbiaceae, Lauraceae, Melastomataceae, Rubiaceae, Solanaceae and Theaceae (e.g., Chierrito et al., 2014; Dolabela et al., 2012; Gontijo et al., 2018; Gontijo et al., 2019a,b,c; Lima et al., 2015; Mota et al., 2012; Santos et al., 2016; Oliveira et al., 2015). In the extra-Amazon region, there was an improvement in the notifications of cases and deaths; however, as it is not considered an endemic region for malaria, prevention measures are still neglected by the health system of the states in the area, which results in inaccurate diagnoses and inappropriate

treatments. The symptoms of the disease are usually nonspecific, which makes preventive action in the treatment of the infection difficult (Brazilian Ministry of Health, 2022).

In Latin America, several plant species have been reported as having antimalarial properties. In Colombia, 255 species were reported to be used as antimalarials, followed by Peru with 229, and 139 in the Guianas. Brazil represents the country with the highest number of species with antimalarial use (406), the majority cited in the Amazon region, with 164 in the state of Amazonas, 97 in Roraima, 65 in Mato Grosso and 63 in Pará. Of the botanical families, the most representative are Fabaceae with 101 species, followed by Asteraceae (90), Rubiaceae (86), Apocynaceae (41) and Solanaceae (33). Regarding the genera, *Aspidosperma* and *Solanum* stand out for having the largest number of species used as antimalarials (19 species) (Milliken et al., 2021).

Compared to other endemic countries, such as those of the African continent, where most cases and deaths from malaria occur, many ethnobotanical studies have been carried out with plant species recognized for their effectiveness in the treatment of malaria. In the Tororo district of Africa, a total of 45 plant species belonging to 26 families and 44 genera have been mentioned for use in the treatment of malaria. The most representative botanical families in this study were Fabaceae (17.8%), Asteraceae (8.9%), Lamiaceae and Rutaceae (6.7%), with the species *Vernonia amygdalina* Delile, *Chamaecrista nigricans* (Vahl.) Greene, *Aloe nobilis* (L.) Burman., *Warburgia ugandensis* Sprague, *Abrus precatorius* L., *Kedrostis foetidissima* Cogn., *Senna occidentalis* L., *Azadirachta indica*, and *Mangifera indica* L. being cited by six or more people (Tabuti et al., 2023). Ethnobotanical and ethnopharmacological evaluations of antimalarial plants used by people residing in communities in Nigeria identified 59 medicinal species belonging to 33 families (Oladeji et al., 2020). In India, the presence of 51 species of plants belonging to 27 families, used by the native population for the treatment of malaria, stands out. Of these species, *Cassia fistula*, *Adhatoda vasica* and *Swertia chirata* are the plants that are considered most popular in the region for antimalarial use (Qayum et al., 2016)

5.1. Families and botanical species in research using *in vitro* experimental models

Over the years, biological assays have been established for the purpose of scientific proof of extracts and active substances from medicinal plants of traditional use for the development of new antimalarials. *In vitro* assays are more widely used with a view to greater ease of execution and, therefore, are more frequently performed for the purpose of initial screening of medicinal plants and natural products (Mojab, 2012). Since Trager and Jensen (1976) reported a new method for the development of continuous *in vitro* culture of *P.*

falciparum in human erythrocytes, different methodologies have been introduced (Fidock et al., 2004; Sinha et al., 2017). One of the most widely employed techniques is the enzymatic assay using lactate dehydrogenase (pLDH), which is highly sensitive (Mackler et al., 1993) and can detect the parasite at low levels of parasitemia (<0.005%). This assay allows one to determine the susceptibility profile of *P. falciparum* to plant extracts, the fractions resulting from the fractionation of extracts and isolated substances.

Seven different *Plasmodium* strains have been used as experimental models for analysis of plant species in order to establish their efficacy in relation to the percentage reduction of parasitemia. The strains used were W2 and K1 (chloroquine resistant - CQ-R), 3D7, Dd2, HB3, NF54 and D6 (chloroquine sensitive - CQ-S), and *in vitro* assays were the most common in the studies (Table 1). Of the species analyzed, including individuals of the same species in different publications, the W2 chloroquine-resistant strain (CQ-R) was the most commonly found in *in vitro* assays (total of 88), followed by K1 CQ-R (total of 17) and 3D7 CQ-S (total of 18) (Table 1). The Indochina clone W2 is one of the strains of *P. falciparum* that presents high resistance to all common antimalarial agents, such as chloroquine and derivatives. This is related to its genetic characteristics, which can modify mechanisms capable of generating observable phenotypic resistance to a new drug (Rathod et al., 1997). Because of this, this strain is considered one of the most viable and frequently used in assays of antiplasmodial activity.

Table 1: *In vitro* antiplasmodial activity of extracts, fractions and semi-synthetic derivatives of Brazilian medicinal plants

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
Amaranthaceae	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	Erva-de-Santa-Maria, mentrasto, mastruz	Maranhão	EtOH / H ₂ O 70% leaf extract (1:5)	W2	IC ₅₀ 25.4 µg/mL (MA) IC ₅₀ (B) 36.6 µg/mL (1) (I) > 50 (2 – 3) (I) IC ₅₀ (L) 43.9 µg/mL (I)	Cysne et al. (2016)
					3D7		
Anacardiaceae	<i>Anacardium occidentale</i> L.	Cajueiro	Maranhão	CHCl ₃ (1) / EtOH (2) / H ₂ O (3) bark and leaf extracts	K1	> 50 (2) (I) 45µg/mL (3) (I)	Lima et al. (2015)
					W2		
	<i>Mangifera indica</i> L.	Manga grande	Pará	EtOH bark extract	W2	IC ₅₀ > 50µg/mL (I)	Oliveira et al. (2015)
Annonaceae	<i>Xylopia amazonica</i> R.E.Fr.	Envira sarassará	Amazonas	CHCl ₃ (1) / H ₂ O (2) / EtOH (3) leaf and branch extract	K1	IC ₅₀ 7.3 µg/mL (1) (A) 10.5 µg/mL (2) (MA)	Lima et al. (2015)
					W2		

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
						> 50 (3) (I)	
						IC ₅₀ 19.5µg/mL (1) (MA)	
						> 50 (2) (I)	
						9.8µg/mL (3) (A)	
				C ₆ H ₁₄		IC ₅₀ 83.4 µM > 80% (13) (MA)	
				Unripe fruit extract		94.5 µM – 60% (23) (MA)	
				xylopic acid derivates		56.3 µM > 70% (25) (MA)	
	<i>Xylopia frutescens</i> Gaertn.	Envira-preta, pindaíba- branca	Pará	(11 – 13, 24 – 27)	W2	<50% (11, 12, 24, 26, 27) (I)	Santos et al. (2016)
				EXS EtOH (1) / fractions CHCl ₃ (2) / insoluble (3) / H ₂ O (4) / C ₆ H ₁₄ (5) / MeOH-H ₂ O (9/1) (6) / MeOH-H ₂ O (9/1) / F3 (7) / EXS F MeOH-H ₂ O (9/1) / Alk (8) / EXS Alk 2°/3° (9) / EXS		IC ₅₀ 86.5% (1) (A)	
		Chapéu de sol, pimenta de macaco, pindaíba				53.0% (7) (MA)	
	<i>Xylopia sericea</i> A.St.-Hil	branca	Minas Gerais	Alk 2°/3°/F28 (10) – leaf	W2	61.0% (10) (MA) (2 – 6; 8 – 9) (I)	Gontijo et al. (2018)

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
Araceae	<i>Montrichardia linifera</i> (Arruda) Schott	Aninga	Pará	essencial oil (EOXS) (1) /	W2	%GI: 24% (1) (I)	Gontijo et al. (2019a)
				DCM extract (EXS DCM) (2) /		55.5% (2) (MA)	
				DCM/F7 (3) / EXS		74% (3) (A)	
				DCM/F7/F3, F5, F8, F27, F9/F4, F9/F8, F9/F9 (4) /		> 50% (4) (MA)	
				EXS DCM/F7/F9 (5) /		87% (5) (A)	
				EXS DCM/F7/F20 (6) – leaf		86% (6) (A)	
Araceae	<i>Montrichardia linifera</i> (Arruda) Schott	Aninga	Pará	EXS DCM (1) / EXS DCM/F2 (2) / EXS DCM/F2/F26 (3) /	W2	%GI: 55.5 % (1) (MA)	Gontijo et al. (2019b)
				EXS DCM/F2/F26/F4 (4) – leaf		>50 % (2 – 4)	
						CL ₅₀ (µg/ mL ⁻¹): > 100 (1) (I)	
						10 < CL ₅₀ < 100 (2) (MA)	
				C ₆ H ₁₄ (1) / EtOH (2) stalk extract		> 100 (3) (I) (I)	
				C ₆ H ₁₄ (3) / DCM (4) / C ₄ H ₈ O ₂ (5) / MeOH (6) fractions		CL ₅₀ <10 µg/ mL ⁻¹ (4) (A)	
Araceae	<i>Montrichardia linifera</i> (Arruda) Schott	Aninga	Pará		Dd2	10 < CL ₅₀ < 100 µg mL ⁻¹ (5) (MA)	Amarante et al. (2011)

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
						CL ₅₀ < 10 (6) (A)	
Araliaceae	<i>Schefflera calva</i> (Cham.) Frodin & Fiaschi	Embirutó, mandioqueira	Minas Gerais	EtOH / EtOH-H ₂ O / H ₂ O leaf extract	W2	%GI < 50% (I)	Gontijo et al. (2019c)
Arecaceae	<i>Euterpe oleracea</i> Mart.	Açaí	Minas Gerais	Total phenolics (1) / nonanthocyanin phenolics (2) / total anthocyanins (3) fractions Açaí pulp	HB3 Dd2	% I: 76.5% - 65.1% (10mg/L) 65.8% - 61.7% (20mg/L) (2) (MA) 1 / 3 (I)	Ferreira et al. (2019)
		Açaí	Pará	EtOH root extract	W2	IC ₅₀ > 50 µg/mL (I)	Oliveira et al. (2015)
Asteraceae	<i>Vanillosmopsis arborea</i> Baker	Candeeiro	Ceará	Essential oil Leaf	K1	IC ₅₀ 7 µg/mL (A)	Mota et al. (2012)

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
				C ₆ H ₁₄		IC ₅₀ 19.7 µM - > 90% (10) (A)	
				Aerial parts extract		53 µM - > 50% (20) (MA)	
	<i>Wedelia paludosa</i>	Arnica-do-mato, arnica-do-brejo	Minas Gerais	kaurenoic acid derivatives		94.5 µM - > 50% (23) (MA)	Santos et al.
	DC.			(8 – 10, 19 – 23)	W2	<50% (8, 9, 19, 21, 22) (I)	(2016)
						IC ₅₀ 8.2 µM (4) / 8.8 µM (5) (A)	
						9.6 µM (7) / 10.4 µM (8) (A)	
				EtOH		6.9 µM (9) / 5.4 µM (21) (A)	
				Aerial parts extract		8.4 µM (22) (A)	
				<i>ent</i> -kaurane derivatives (8 – 10b, 13a, 13b, 14, 15, 21-23);		34.7 µM (11) / 33.1 µM (13 ^a /13b) (MA)	Batista et al.
		Arnica-do-mato	Minas Gerais	7,11,12 and 24	W2	> 100 (14, 15, 18, 20, 23, 24) (I)	(2013)
		Carrapicho bravo, carrapicho					
	<i>Xanthium cavanillesii</i>	grande, abrolho	Rio Grande do Sul	EtOH			Taranto et al.
	Schouw			fruit extract	W2	IC ₅₀ 65.8 µg/mL (A)	al. (2016)

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
Apocynaceae	<i>Aspidosperma cylindrocarpon</i> Müll.Arg.	Peroba-de-minas, peroba-rosa, peroba-iquira	Minas Gerais	EtOH			
				trunk wood extract (EtOH-P-Tr)	W2	IC ₅₀ 44.0 / 39.0 µg/mL (A)	Dolabela et al. (2012)
					3D7	IC ₉₀ 104.5 / 89 µg/mL (A)	
						IC ₅₀ 23.68 µg/mL (1) (MA)	
						9.93 µg/mL (2) (A)	
						15.82 µg/mL (3) (MA)	
				EtOH 70% / H ₂ O			
				trunk bark extract (1:10)		12.78 µg/mL (4) / 8.75 µg/mL (5) (A)	
				ELAe (1) / ELAe-Alk (2) / Ae-Alk (3) / Ae-Alk1 (4) / Ae-Alk2 (5) / Ae-Alk3 (6) / FALk 1 (7) / FALk4 (8) / FALk 7 (9) / FALk10 (10)		34.17 µg/mL (6) (I)	
						13.18 µg/mL (7) / 12 µg/mL (8) (A)	
	<i>Aspidosperma excelsum</i> Benth.	Carapanaúba	Pará		W2	18.3 µg/mL (9)/ 18.52 µg/mL (10) (MA)	Nascimento et al. (2019)

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
				EtOH (1) – wood bark extract / MeOH-A (2) / B (3) / C (4) - bark extract. Fractions: MeOH- C/ FO III (5) / FO IV (6) / precipitate (7) / EtOH (8) / C ₃ H ₆ O (9) / H ₂ O (10) – leaf extract. EtOH (11) / H ₂ O (12) –branch extract.		IC ₅₀ 4.6 – 12.4 µg/mL (1 – 4) (A) 1.6 – 5.5/ 2.3 – 7.6 µg/mL (5 – 7) (A) 22 – 25.3 µg/mL (8) (MA) IC ₅₀ ≥ 50 (9 – 12) (I)	Coutinho et al. (2013)
	<i>Aspidosperma nitidum</i> Benth.	Carapanaúba	Amazonas	EtOH stem bark extract (EEAN – 1) alkaloid fraction (FAAN – 2) neutral fraction (FNAN – 3)	W2	IC ₅₀ 3.6 µg/mL (1) (A) 2.32 µg/mL (2) (A) 3.34 µg/mL (3) (A)	Brandão et al. (2020)
				MeOH – bark extract (1). Fractions: acid (2) / neutral (3) / basic (4) / neutral precipitate (NP) (5) / MeOH - leaf extract (6) Fractions: basic residue (7) / acid fraction (8)		IC ₅₀ 10.6 – 9.9 µg/mL (1) (A) 2.0 – 6.7/ 2.2 – 5.5 µg/mL (2 – 5) (A) 7.2 – 9.2 µg/mL (6) (A)	Chierrito et al. (2014)
	<i>Aspidosperma olivaceum</i> Müll.Arg.	amargoso, guatambu- amarelo, peroba-rosa	Paraná		W2		

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
						4.5 – 8.5/ 2.0 – 5.3 µg/mL (7 – 8) (A)	
		Guatambú-marfim, pequiá-marfim	Minas Gerais	DCM-S-L – ETOH- S-L – leaf DCM-S-Tr – trunk wood DCM-S-B – ETOH-S-B – trunk bark	W2 3D7	IC ₅₀ 5.0 – 7.0/ 5.0 – 25.5 µg/mL (A) IC ₉₀ 23 – 26.5/ 24.5 – 49.5 µg/mL (A/MA)	Dolabela et al. (2012)
	<i>Aspidosperma parvifolium</i> A.DC.	Guatambú, pequiá-marfim, peroba	Minas Gerais	ETOH-P-B Trunk bark extract	W2 3D7	IC ₅₀ 32.75 – 20.5 µg/mL (A) IC ₉₀ 74.5 – 38 µg/mL (A)	Dolabela et al. (2012)
						IC ₅₀ 10.11 µg/mL (A)/ 32.75 – 20.51 µg/mL (MA)/ 42.5 – 38.2 µg/mL (1) (A)	
		Peroba, pau-pereira, guatambu	Minas Gerais	EtOH – bark extract (EEAP) (1) Alkaloid (EEAPA) (2) Neutral (EEAPN) (3)	W2 3D7	8.0 µg/mL (A)/ 0.98 – 7.63 µg/mL (A)/ 0.43 – 43 µg/mL (2) (A/MA) 38 µg/mL (MA)/ 15 – 17.5 µg/mL (A)/ 9.71 – 18.2 µg/mL (3) (A)	Dolabela et al. (2015)

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
	<i>Aspidosperma pyriforme</i> Mart.	Carapanaúba	Alagoas	Stem bark (AP1) 1 / stem (AP4) 2 / root bark (AP9) 3 / roots (AP12) 4 / leaf EtOH 5 extract. Fractions: organic (C ₄ H ₈ O ₂) (AP3) 6 / H ₂ O (AP2) 7 / organic (C ₄ H ₈ O ₂) (AP5) 8 / alkaloid-rich (AP5F.ALC) 9 / H ₂ O (AP5F.AQ) 10 / BuOH (AP6) 11 / H ₂ O (AP7) 12	W2	IC ₅₀ 3µg/mL (1) / 9 µg/mL (6) / 6 µg/mL (8) / 5 µg/mL (9) (A) 17 µg/mL (2) / 14 µg/mL (3) / 18 µg/mL (4) / 12 µg/mL (5) / 20 µg/mL (7) (MA) ≥ 50 (10) / ≥40 (11) / 27 µg/mL (12) (I)	Ceravolo et al. (2018)
	<i>Aspidosperma ramiflorum</i> Müll.Arg.	Carapanaúba	Paraná	MeOH – acid (1) / neutral (2) / basic (3) / neutral precipitate (4) / methanolic residue (5) / non soluble (6) / H ₂ O (7) – stem bark extract MeOH (8), C ₃ H ₆ O (9) - leaf extract	W2	IC ₅₀ 0.5 – 3.8 µg/mL / 0.7 – 3.1 µg/mL (1 – 6) (A) 1.7 – 3.6 µg/mL / 1.4 µg/mL (9 /10) (A) >50 (7) (I)	Aguiar et al. (2015)
		Matambú, guatambú, guatambú-	Minas Gerais	ETOH-P-L - DCM-S-L – leaf ETOH-P-Tr / DCM-S-Tr /	3D7 W2	IC ₅₀ 19.7 – 36.5/ 0.98 – 48 µg/mL (A/MA) IC ₉₀ 30.7 – 61.7/ 16 – 60.5 µg/mL	Dolabela et al. (2012)

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
		amarelo		ETOH-S -Tr – trunk wood		(A/MA)	
				DCM- S-B – trunk bark			
						IC ₅₀ 6.0 µg/mL (1) (A)	
				EtOH (1) / DCM (2) / BuOH (3) / H ₂ O (4)		2.5 µg/mL (2) (A)	
	<i>Aspidosperma rigidum</i> Rusby	Carapanaúba	Pará	bark extract	W2	2.5 µg/mL (3) (A)	Oliveira et al. (2015)
						10.2 µg/mL (4) (A)	
		Amargoso, peroba, Guatambu-rugoso, quina-da-mata, pequiá-marfim		ETOH-P-L – DCM- S-L - leaf		IC ₅₀ 23.2 – 65/ 14 – 41.5µg/mL	
	<i>Aspidosperma spruceanum</i> Benth. ex Müll.Arg.			ETOH- P-Tr / DCM- S-Tr / CLOR-P-Tr – trunk wood		(A/MA)	
				ETOH-P-B / ETOH-P-B /	W2	IC ₉₀ 47 – 52/ 28.5 – 63.5 µg/mL	Dolabela et al. (2012)
			Minas Gerais	ETOH-S-B – trunk bark	3D7	(A/MA)	
						IC ₅₀ 20.5 – 26.5 / 3.0 – 38.5 µg/mL	
						(A)	
	<i>Aspidosperma tomentosum</i> Mart.	Pau-pereira-do-campo, pereiro-do-campo	Minas Gerais	ETOH-P-Tr – trunk wood / ETOH-P-L – leaf / ETOH-P-F - fruit; ETOH-P-Se – seed	W2	IC ₉₀ 37.5 – 54.7/ 27 - 61 µg/ml	Dolabela et al. (2012)
					3D7	(A/MA)	

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
				9-bromoellipticine (6) ca. 3:1 + 7,9-dibromoellipticine (7) 9-nitroellipticine (9) 7-nitroellipticine (10) ellipticine derivatives		IC ₅₀ 0.2 – 0.3 µg/mL (6 – 7) (A) 0.2 µg/mL (9) (A) 3.9 – 4.9 µg/mL (10) (A)	Montoia et al. (2014)
	<i>Aspidosperma vargasii</i> A.DC.	Carapanaúba	Amazonas		K1 W2		
				EtOH (EEHa) (1) DCM Ha (2) – stem bark extract. FrDCM (3) / FrAcOET (4) / FrMeOH (5) fractions.		IC ₅₀ 22.9 µg/mL (2) (A) > 50 µg/mL (1, 3 – 5) (I)	Vale et al. (2015)
	<i>Himatanthus articulatus</i> (Vahl) Woodson	Alamanda, alamanda-de-flor-grande, orélia	Pará		W2		
	<i>Parahancornia fasciculata</i> (Poir.) Benoist	Amapazeiro, amapá de leite, amapá amargoroso	Pará	Lupeol propargyl ether (13) 1,2,3-triazole lupeol derivatives (14a-e) DCM – bark	W2	IC ₅₀ 62.4 µmol L ⁻¹ (13) (MA) IC ₅₀ > 200 µmol L ⁻¹ (14a-e) (I)	Borgati et al. (2017a)

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
Bignoniaceae	<i>Tabebuia</i> sp	Ipê	Minas Gerais	HNQs (6a – h) (1) / FNQs (ortho -7a-h) (2) / FNQs (para – 8a-h) (3) /	W2	IC ₅₀ 11.65 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (8c) / 18.78 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (8f) / 19.91 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (7h) (A)	Borgati et al. (2017b)
				Lawsone glycidyl ether (9) (4) / ANQs (10a–c) (5) derivatives - lapachol		IC ₅₀ < 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (6f – 6h) (MA)	
				Timber residues – extract		IC ₅₀ < 30 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (7a-c, 7e-f, 7h/ 8a-d, 8f-g) (I)	
						IC ₅₀ < 10 μM (11, 13 – 17, 20, 22, 23, 25, 26) (A)	
Combretaceae	<i>Handroanthus serratifolius</i> (Vahl)	Ipê amarelo, ipê-tabaco, pau-d'arco-amarelo	Minas Gerais	Naphthoquinonolyl -1,2,3-triazole derivatives - lapachol (7 – 11, 13 – 28)	W2	4 μM (13) / 4.6 μM (14) / 4.1 μM (25)	Brandão et al. (2018)
				Na ₂ CO ₃ solution 2.5%		IC ₅₀ $\geq$ 10 μM (7, 18, 19, 24, 27,28) (A)	
				Trunk wood		IC ₅₀ > 104.6 μM (21)	
						IC ₅₀ 12.20 $\mu\text{g/mL}$ (2) (A)	
Combretaceae	<i>Combretum leprosum</i> Mart.	Mofumbo, carne-de-vaca, cipoaba, pente-de-macaco	Ceará	EtOH 99% – CLCrE (EtOH) (1) / CLHE (C ₆ H ₁₄) (2) / CLCIE (CHCl ₃) (3) / CLEAE (C ₄ H ₈ O ₂) (4) / CLME (MeOH) (5) -	W2	11.46 $\mu\text{g/mL}$ (4) (A)	Passarini et al. (2017)
						5.89 $\mu\text{g/mL}$ (5) (A)	

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
				flower extract		IC ₅₀ 25.25 / 3.97 µg/mL (1 – 3) (I)	
Convolvulaceae	<i>Operculina</i>			H ₂ O			
	<i>hamiltonii</i> (G.Don)						
	D.F.austin & Staples	Batatão	Pará	Potato extract	W2	IC ₅₀ > 50 µg/mL (I)	Oliveira et al. (2015)
Cyperaceae	<i>Cyperus articulatus</i>			Oil	W2	IC ₅₀ 1.21µg/mL ⁻¹ (A)	Silva et al.
	L.	Priprioca	Pará	Rhizome	3D7	2.30 µg/mL ⁻¹ (A)	(2019)
				EtOH 96%	W2	IC ₅₀ 1.21 µg/mL (A)	Assis et al.
		Priprioca	Pará	Rhizome extract	3D7	IC ₅₀ 1.10 µg/mL (A)	(2020)
						%GI: 51.5% (1) (LA)	
						89 – 100% (F4 – F6) (A)	
						≥ 50% (BF, F3) (MA)	
Euphorbiaceae	<i>Alchornea</i>	Tapíá,		EtOH (1) – leaf extract / DF,			
	<i>glandulosa</i> Poepp. &	tamanqueiro,		EAF, BF, WF, BF/F1 – F7		< 50% (DF, EAF, WF, F1,F2, F5,	Gontijo et al.
	Endl.	tapiá-mirim,		fractions	W2	F6) (I)	(2019c)
		caixeta	Minas Gerais				

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
	<i>Croton zehntneri</i> Pax & K.Hoffm.	Canela de cunhã, canelinha, canela-brava	Ceará	Essencial oil Leaf	K1	IC ₅₀ 15.20 µg/mL (MA)	Mota et al. (2012)
						IC ₅₀ (B) 29.1 µg/mL (1) (I) 17.2 µg/mL (2) (MA) > 50 µg/mL (3) (I)	
	<i>Croton cajucara</i> Benth.	Sacaca	Amazonas	CHCl ₃ (1) / EtOH (2) / H ₂ O (3) bark (B) and leaf (L) extract (white variety – WV)	W2 K1	IC ₅₀ (L) 11.3 µg/mL (1) (MA) 16.3 µg/mL (2) (MA) > 50 µg/mL (I)	Lima et al. (2015)
						IC ₅₀ (B) 32.2 µg/mL (1) (I) > 50 µg/mL (2/3) (I)	
				bark (B) and leaf (L) extract (red variety – RV)	W2	IC ₅₀ (L) 6.4 µg/mL (1) (A) 13.3 µg/mL (2) (MA)	Lima et al.
		Sacaca	Amazonas		K1	> 50 µg/mL (3) (I)	(2015)

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
Fabaceae				EtOH / H ₂ O (95:5 v/v)		IC ₅₀ 1.56 mg/mL (3) / 1.15 mg/mL (4) / 0.35 mg/mL (5) / 1.70 mg/mL (6) (A)	
	<i>Jatropha ribifolia</i> (Pohl) Baill.	Pinhão manso, pinhão rasteiro	Paraíba	Semi-synthetic derivatives (2 – 8) – 4 nerolidylcatechol catechol (9) / nerolidol (10)		11.24 mg/mL (2) / 8.88 mg/mL/ 7 - 10 (MA) 6 (I)	Pinto et al. (2014)
				Aerial parts extract	3D7		
				Oleo-resin			
	<i>Copaifera reticulata</i> Ducke	Copaíba	Pará	(β -caryophyllene (1) β -bisabolene) (2)	W2 3D7	IC ₅₀ 1.66 μ g/mL (A) 2.54 μ g/mL (A)	De Souza et al. (2017)
	<i>Caesalpinia pluviosa</i> DC.	Sibipiruna	Paraná	EtOH/H ₂ O (50%) CE (1) – stem bark extract. H ₂ O (F1) / C ₄ H ₈ O ₂ (F2) / EtOH/H ₂ O 50% (F3) / EtOH 100% (F4) / MeOH-H ₂ O 50% (F5) / MeOH 100% (F6) / C ₃ H ₆ O/H ₂ O 70% (F7) fractions	3D7 S20	IC ₅₀ 4.84 – 3.41 μ g/mL (1) (A) < 5 μ g/mL (F2 – F6) (A) > 10 μ g/mL (F1/ F7) (I)	Kayano et al. (2011)
	<i>Derris floribunda</i> (Benth.) Ducke	Timbó	Amazonas	CHCl ₃ (1) / H ₂ O (2) / MeOH (3)	W2	IC ₅₀ (B) > 50 μ g/ml (1 – 3) (I)	Lima et al. (2015)

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
Mimosaceae	<i>Diploteris</i> sp.	fava-de-morcego, garampara	Piauí	bark (B) and leaf (L) extract	K1	IC ₅₀ (L) 47.4 µg/mL (1) (I)	Alexandre et al. (2020)
						27.5 µg/mL (2) (I)	
						> 50 µg/mL (3) (I)	
	<i>Dipteryx lacunifera</i> Ducke	fava-de-morcego, garampara	Piauí	C ₆ H ₁₄ Fruit extract (Et ₂ O phase)	W2	%I: 89.46 (A)	Oliveira et al. (2015)
	<i>Machaerium ferox</i> (Mart. Ex Benth.) Ducke	Saratudo	Pará	EtOH stalk extract	W2	IC ₅₀ 20 µg/mL (MA)	
				CHCl ₃ (1) / H ₂ O (2) / MeOH (3)	W2	IC ₅₀ > 50 µg/mL (B and L) (1 – 3)	
	<i>Parkia nitida</i> Miq.	Faveira	Amazonas	bark and leaf extract	K1	(I)	Lima et al. (2015)
						IC ₅₀ 6.88 µg mL ⁻¹ (1) (A)	
	<i>Poincianella pluviosa</i> (DC.) L.P.Queiroz	Sibipiruna	Rio de Janeiro	H ₂ O (PI-E) – leaf extract (1) / C ₄ H ₈ O ₂ (P1-A) (2) / H ₂ O (P1-Aq) (3) fractions	W2	1.83 µg mL ⁻¹ (2) (A) > 50µg mL ⁻¹ (3) (I)	
	<i>Senna spectabilis</i> (DC.) H.S.Irwin & Barneby	Cássia-do-nordeste, canafístula-de-besouro	São Paulo	EtOH 95% – leaf extract Semi-synthetic derivatives:	3D7	IC ₅₀ 24.47 µM (3) (MA) 25.14 µM (4) (MA)	Pivatto et al. (2014)

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
				–)-3-O-Acetylcassine (3)			
				(–)-3-O-Acetylspectraline (4)			
				MeOH - root extract (1) / CHCl ₃ – root fraction (2) / EtOH – leaf extract (3) / CHCl ₃ – leaf fraction (4) / H ₂ O – root extract (5)		IC ₅₀ 10.5µg/mL (2) (MA) 35.8µg/mL (4) (LA) > 50µg/mL (1, 3, 5) (I)	Rocha-e-Silva et al. (2013)
Gentianaceae	<i>Tachia grandiflora</i> Maguire & Weaver	Taquia de folha grande	Amazonas		K1		
				H ₂ O			
Humiriaceae	<i>Endopleura uchi</i> (Huber) Cuatrec.	Uxi-liso	Pará	bark extract	W2	IC ₅₀ > 50 µg/mL (I)	Oliveira et al. (2015)
				EtOH / EtOH-H ₂ O / H ₂ O			
Lauraceae	<i>Nectandra oppositifolia</i> Nees & Mart.	Canela branca, canelinha, louro	Minas Gerais	Leaf extract	W2	%GI < 50% (I)	Gontijo et al. (2019c)
				EtOH / EtOH-H ₂ O / H ₂ O			
	<i>Ocotea odorifera</i> (Vell.) Rohwer	canela-sassafrás	Minas Gerais	Leaf extract	W2	%GI < 50% (I)	Gontijo et al. (2019c)
Lecythidaceae	<i>Bertholletia excelsa</i>	Castanheira	Pará	EtOH	W2	IC ₅₀ 4.5 µg/mL (F) (A)	Oliveira et

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
	Bonpl.			Fruit (F) bark (B) extract		2.0 µg/mL (B) (A)	al. (2015)
				bast – Sap (S)		7.5 µg/mL (S) (A)	
Malpighiaceae	<i>Stigmaphyllon sinuatum</i> A.Juss.	Cipó asa de gafanhoto	Amazonas	CHCl ₃ (1) / EtOH (2) / H ₂ O (3)	W2	IC ₅₀ > 50 µg/mL (1 – 3) (I)	Lima et al. (2015)
				Leaf extract	K1	IC ₅₀ (L) > 50 µg/mL (1/3) (I)	
						26.2 µg/mL µg/mL (2) (I)	
						IC ₅₀ (B) 13.5 µg/mL (1) (MA)	
Melastomataceae	<i>Clidemia bullosa</i> DC.	Caiuia	Amazonas	CHCl ₃ (1) / H ₂ O (2) / MeOH (3)	W2	21.2 µg/mL (2) (MA)	Lima et al. (2015)
				leaf (L) and branch (B) extract	K1	> 50 (3) µg/mL (I)	
						IC ₅₀ (B) 13.3 µg/mL (1) (MA)	
						> 50 µg/mL (2/3) (I)	
						IC ₅₀ (L) 12.4 µg/mL (1) (MA)	
	<i>Miconia nervosa</i>			CHCl ₃ (1) / H ₂ O (2) / MeOH (3)	W2	10.2 µg/mL (2) (MA)	Lima et al. (2015)
	Triana	Miraúba	Amazonas	bark (B) and leaf (L) extract	K1	9.9 µg/mL (3) (A)	

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
Meliaceae	<i>Miconia latecrenata</i> Naudin	Pixiricão	Minas Gerais	EtOH (1) – leaf extract		%GI: 53 % (1) (LA)	
				DF, EAF, BF, WF fractions	W2	56 % (BF) (LA) < 50% (DF, EAF, WF) (I)	Gontijo et al. (2019c)
		Andiroba	Pará	Oil			Oliveira et al. (2015)
				Seed	W2	IC ₅₀ > 50 µg/mL (I)	
						IC ₅₀ 8.2 – 3.1µg/mL – 100% (1/2) (A)	
						IC ₅₀ > 82 µg/mL (31%) (LA) / 9.4 µg/mL (71%)/ 8.4 µg/mL (88%) (1) (A)	
Myrtaceae	<i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) McVaugh	Camu-camu, caçari, araçá d'água	São Paulo	Oil (AO) (1)		2.8 µg/mL (56%) / 2.4 µg/mL (64%)	Miranda-Júnior et al. (2012)
				Limonoid-rich fraction (LRF)	W2		
				(2)	Dd2	0.4 µg/mL (82%) (2) (A)	
						IC ₅₀	
				100% H ₂ O / 100% EtOH / 50% H ₂ O + 50% EtOH / 25% H ₂ O + 75% EtOH / 75% H ₂ O + 25%	W2 3D7	15 µg/mL < IC ₅₀ ≤ 50 µg/mL (MA) 24.2 – 240.8 µL/mL (LA)	Carmo et al. (2020)

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
Olacaceae	<i>Minquartia guianensis</i> Aubl.	Camu-camu, caçari, araçá d'água	Tocantins	EtOH		> 50 µg/mL (LA)	
				Seed extract			
				DCM			Correia et al. (2016)
				Leaf extract	W2	IC ₅₀ 2.35 (1.05) µg/mL (A)	
Olacaceae	<i>Minquartia guianensis</i> Aubl.	Acariquara, acari, arariúba	Amazonas	DCM – leaf (L) (1)		%R: 50 – 100% (1) (MA)	Cursino et al. (2012)
				DCM branch (B) (2) extract	W2	Inactive (2) (MA)	
Piperaceae	<i>Piper clausenianum</i> C.DC.	Jaborandi	Espírito Santo Rio de Janeiro	Essential oil			Marques et al. (2015)
				Inflorescence (1)	W2	IC ₅₀ 7.9 µg/mL (1) (A)	
				FMeOH (1) / FCH ₂ Cl ₂ (2) /			
				FBuOH (3) / FAcOEt (4) /		IC ₅₀ 2.65 µg/mL (7) (A)	
Piperaceae	<i>Piper lucaeum</i> Kunth	Jaborandi	Espírito Santo Rio de Janeiro	Spathulenol rich fraction (5) /		24.79 µg/mL (5) (MA)	Marques et al. (2015)
				C ₆ H ₁₄ (6) / essential oil (7)		25 – 50 µg/mL (2) (LA)	
				aerial parts	W2	> 50 µg/mL (1, 3, 4, 6) (I)	

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
						IC ₅₀ 13.79 – 14.63 µg/mL (2) (A)	
				C ₆ H ₁₄ (1) / CHCl ₃ (2) /		50 – 32 µg/mL (1) (MA)	
Rhamnaceae	<i>Ampelozizyphus</i>			EtOH (3) / H ₂ O (4)	3D7	54.08 – 68.64 µg/mL (3) (MA)	Carmo et al.
	<i>amazonicus</i> Ducke	Saracura-mirá	Amazonas	root bark extract	Dd2	66.98 – 78.26 µg/mL (4) (MA)	(2015)
				H ₂ O			
		Saracuramirá	Pará	bark extract	W2	IC ₅₀ > 50 µg/mL (I)	Oliveira et al. (2015)
		Goiaba-de-peixe, marmelada					
Rubiaceae	<i>Amaioua guianensis</i>	brava, canela-		EtOH / EtOH-H ₂ O / H ₂ O			Gontijo et al.
	Aubl.	de-veado	Minas Gerais	Leaf extract	W2	%GI < 50% (I)	(2019c)
				EtOH / EtOH-H ₂ O 7/3 / EtOH-H ₂ O 1/1 / H ₂ O (S/L) Ext. (G1) / EtOH (L) / acid, neutral, basic (CHCl ₃) / Basic EtOAc / <i>n</i> -BuOH Fr (G2) EtOH (S) / <i>n</i> -BuOH Fr. / <i>n</i> -BuOH Fr. / EtOH	W2	%G1 80% / 78% / 92% (G2) (A) 65% / 64% (G3) (MA) < 50% (G1) (I)	Ohashi et al. (2021)
	<i>Palicourea hoffmannseggiana</i> (Roem & Schult.) Borhidi	Erva-de-rato	Pará				

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
				Ext. / basic DCM Fr. / n-BuOH Fr. (G3) – stem and leaf extract			
		Erva-de-rato, graúda	Pará	EtOH – leaf extract (Et) Acid-base extract (Ab)	W2	%GI: 60% (Ab) (MA)	Gontijo et al. (2021)
		Erva-de-rato, graúda	Minas Gerais	EtOH – leaf extract (Et) Acid-base extract (Ab)	W2	%GI: 50% (LA) 80% (Ab) (A)	Gontijo et al. (2021)
	<i>Palicourea macrobotrys</i> Roem. & Schult.	Erva-de-rato	Pará	EtOH – leaf extract (Et) Acid-base extract (Ab)	W2	%GI: 60% (Ab) (MA)	Gontijo et al. (2021)
	<i>Palicourea sessilis</i> (Vell.) C.M.Taylor	Quina-mole, canela-amarela	Minas Gerais	EtOH – leaf extract (Et) Acid-base Extract (Ab)	W2	%GI: 50% (Et) (MA)	Gontijo et al. (2021)
		Quina-mole, canela-	Minas Gerais		W2	%GI: 50% (Ab) (MA)	Gontijo et al. (2021)

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
		amarela		EtOH – leaf extract (Et)			
				Acid-base extract (Ab)		%GI: 70% (Et) (MA)	
						100% (Ab) (A)	
	<i>Psychotria apoda</i> (Steyerm.) Delprete & J.H.Kirkbr.	-	Pará	EtOH – leaf extract (Et)		80% (Et) (A)	Gontijo et al.
				Acid-base extract (Ab)	W2	100% (Ab) (A)	(2021)
	<i>Psychotria capitata</i> Ruiz & Pav.	-	Minas Gerais	EtOH – leaf extract (Et)		%GI: 90% (A)	Gontijo et al.
				Acid-base extract (Ab)	W2	100% (Ab) (A)	(2021)
	<i>Psychotria carthagenensis</i> Jacq.	Carne-de-vaca, cafeeiro-do-mato	Minas Gerais	EtOH – leaf extract (Et)			Gontijo et al.
				Acid-base extract (Ab)	W2	%GI < 50% (I)	(2021)
	<i>Psychotria colorata</i> (Hoffmanns. Ex Roem. & Schult.) Delprete & J.H.Kirkbr.	-	Pará	EtOH – leaf extract (Et)		%GI: 100% (Ab) (A)	
				Acid-base extract (Ab)	W2	100% (Ab) (A)	Gontijo et al.
						50% (Et) (LA)	(2021)

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
	<i>Psychotria mapourioides</i> Rich.	-	Pará	EtOH – leaf extract (Et) Acid-base extract (Ab)	W2	%GI < 50% (I)	Gontijo et al. (2021)
	<i>Psychotria poeppigiana</i> (Aubl.) Borhidi	-	Pará	EtOH – leaf extract (Et) Acid-base extract (Ab)	W2	%GI: 90% (A) 95% (Ab) (A)	Gontijo et al. (2021)
	<i>Psychotria suterella</i> Müll.Arg.	-	Minas Gerais	EtOH – leaf extract (Et) Acid-base extract (Ab)	W2	%GI: > 80% (Ab) (A) 70% (MA)	Gontijo et al. (2021)
		Araçá-de-macaco	Minas Gerais	EtOH (1) / EtOH-H ₂ O (2) / H ₂ O (3) leaf extract	W2	%GI: 50% (LA)	Gontijo et al. (2019c)
	<i>Psychotria vellosiana</i> Benth.	Jasmin	Minas Gerais	EtOH / EtOH-H ₂ O / H ₂ O leaf extract	W2	%GI: < 50% (I)	Gontijo et al. (2019c)
		Pimenteira-de-folha-larga, jasmin-do-	Minas Gerais	EtOH / EtOH-H ₂ O / H ₂ O leaf extract	W2	%GI < 50% (I)	Gontijo et al. (2019c)

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
	<i>Rudgea jasminoides</i> (Cham.) Müll.Arg.	mato, café-do-mato					
	<i>Uncaria guianensis</i> (Aubl.) J.F.Gmel.	Unha-de-gato	Pará	H ₂ O bark extract	W2	IC ₅₀ > 50 µg/mL (I) IC ₅₀ (L) 40.2 µg/mL (1) (I) 15.6 µg/mL (2) (MA) > 50 µg/mL (3) (I) IC ₅₀ (B) 17.4 µg/mL (1) (MA)	Oliveira et al. (2015)
Rutaceae	<i>Zanthoxylum djalmabatastae</i> (Albuq.) P.G.Waterman	Tamanqueira	Amazonas	CHCl ₃ (1) / H ₂ O (2) / MeOH (3) leaf (F) and branch (B) extracts	W2 K1	32.5 µg/mL (2) (I) 21.8 µg/mL (3) (I)	Lima et al. (2015)
Sapindaceae	<i>Paullinia cupana</i> Kunth	Guaraná	Amazonas	CHCl ₃ (1) / H ₂ O (2) / MeOH (3) leaf (L), fruit (F) branch (B) extracts	W2 K1	IC ₅₀ > 50 µg/mL (L) (I) IC ₅₀ 19.3 µg/mL (1) (MA) > 50 µg/mL (F) (I) IC ₅₀ 19.3 µg/mL (1) (MA)	Lima et al. (2015)

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
						> 50µg/mL (B) (I)	
Simaroubaceae	<i>Simaba cedron</i> Planch.	Pau-para-tudo	Pará	H ₂ O bark extract	W2	IC ₅₀ 1.6 µg/mL (A)	Oliveira et al. (2015)
	<i>Homalolepis suffruticosa</i> (Engl.) Devecchi & Pirani	Calunga, mata-cachorro-do-mato	Rio de Janeiro	MeOH root extract	W2	IC ₅₀ 1.88 µg/mL (A)	Boeno et al. (2022)
Solanaceae	<i>Solanum swartzianum</i> Roem. & Schult.	Fumeirinho	Minas Gerais	EtOH / EtOH-H ₂ O / H ₂ O leaf extract	W2	%GI < 50% (I)	Gontijo et al. (2019c)
Theaceae	<i>Laplacea fruticosa</i> (Schrad.) Kobuski	Santa-rita, pau-de-santa-rita, cedrinho-vermelho	Minas Gerais	EtOH (1) / EtOH-H ₂ O (2) / H ₂ O (3) leaf extract	W2	%GI 50% (3) (LA)	Gontijo et al. (2019c)
	<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	Chá-da-Índia	Minas Gerais	Kombucha (black tea)	W2 3D7	IC ₅₀ 686.3 µg/mL (A)	Noronha et al. (2022)

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Semi-synthetic derivatives	<i>Pf</i> strains	Antiplasmodial activity	References
Verbenaceae	<i>Lippia sidoides</i> Cham.	Alecrim-pimenta	Ceará	Essential oil			Mota et al. (2012)
				Leaf	K1	IC ₅₀ 10.50 µg/mL (MA)	
				Supercritical carbon dioxide scCO ₂ (SC) (1)		IC ₅₀ 16.25 µg/mL (1) (A)	Martinez-
				SCE - EtOH (2 nd step) (2)		16.07 µg/mL (3) (A)	Corrêa et al.
Zingiberaceae	<i>Curcuma longa</i> L.	Falso açafrão	Mato Grosso	EtOH (E) (3) – rhizome	3D7	23.78 µg/mL (2) (MA)	(2017)

Note: EtOH=Ethanol; H₂O=Water; CHCl₃= Chloroform; F=Fractions; MeOH=Metanol; EXS=Extract *Xylopia sericea*; EOXS= Essencial oil *Xylopia sericea*; AlK=alkaloid; DCM= dichloromethane; P=Percolation; S=Soxhlet extraction; B=Bark; Tr=Trunk wood; L=Leaves; GI=Grownt inhibition; C₆H₁₄=Hexano; C₄H₈O₂= Ethyl acetate; Na₂CO₃= Sodium carbonate; C₃H₆O=Acetone; NP=Neutral precipitate; EE=Ethanolic extract; AP=*Aspidosperma parviflorum*; A: Acidic; N=Neutral; HNQS= 2-Hydroxy-3-(1-alkenyl)-1,4-naphthoquinones; FQNs= Furanonaphthoquinones; ANQs=; CL=*Combretum leprosum*; CrE=Crude extract; ClE= chloroform extract; HE= Hexane extract; EAE= Ethyl acetate extract; ME= methanol extract; EAF=Ethyl Acetate Fraction; BF=Butanol Fraction; WF=Water Fraction; AO=Andiroba Oil; BuOH=Butanol; Fr=Fraction; WV= White variety; RV=Red variety.

A) Active; MA) Moderately active; LA) Low active; I) Inactive. GI: Growth inhibition; I: inhibition; R: Redution. *Pf*: *Plasmodium falciparum*.

Regarding the botanical families with the highest number of recorded species, we can highlight Rubiaceae with a total of 14 species, 8 of which belong to the genus *Psychotria* L. (Table 1), which is important in traditional medicine and is widely used by indigenous peoples in the Amazon (Calixto et al., 2016). Of the eight recorded species of the genus *Psychotria*, five were considered active against *P. falciparum* W2 strains, these being *Psychotria apoda* (Steierm.) Delprete & J.H.Kirkbr., *Psychotria capitata* Ruiz & Pav., *Psychotria poeppigiana* Müll.Arg., *Psychotria suterella* Müll.Arg. and *Psychotria colorata* Müll.Arg., with a percentage inhibition of between 70 and 100% (%GI) at the concentrations tested (25 and 50 µg/mL) (Gontijo et al., 2021). Another important species of this family analyzed in this study belongs to the genus *Palicourea* Aubl., namely *Palicourea hoffmannseggiana* (Roem. & Schult.) Borhidi, which is considered native and endemic to Brazil and, despite its medicinal properties, this species is considered toxic to animals (Mendonça et al., 2015). This species, as well as *Palicourea macrobotrys* Roem. & Schult., was considered to be moderately active with a percentage of inhibition of 60% (%GI). Studies involving species of the genus *Psychotria* and *Palicourea* are known for the presence of alkaloids of high structural diversity, such as indole alkaloids, β -carboline alkaloids, quinolines and isoquinolines, which have broad biological activity, including antiplasmodial activity (Martins e Nunez, 2015; Calixto et al., 2016; Ohashi e Oliveira, 2020).

The botanical family that showed the second highest number of active species was Apocynaceae, with a total of 14 species, 12 of which belong to the genus *Aspidosperma* Mart. Of these 12 species, five have more than one record: *Aspidosperma nitidum* Benth. ex Müll.Arg., *Aspidosperma parvifolium* A.DC., *Aspidosperma ramiflorum* Müll.Arg. and *Aspidosperma vargasii* A.DC., with two records each, and *Aspidosperma olivaceum* Müll.Arg. with three citations (Table 1). Species of the genus *Aspidosperma*, known in the Amazon as “carapanaúba”, occur in all phytogeographic domains of Brazil, such as the Amazon, Caatinga, Cerrado, Atlantic Forest, Pampas and Pantanal biomes (Castello et al., 2020). Due to its botanical diversity and mainly medicinal properties, this genus has been intensively studied in Central America and regions of the Amazon, and is traditionally used in Brazil for the treatment of malaria and fever. Through *in vivo* and *in vitro* biological assays, extracts and isolated compounds (in particular, alkaloids) have been shown to be active against different *Plasmodium* species (De Paula et al., 2014). Most publications have recorded significant antimalarial activity against different *Plasmodium* species, and the most commonly used material for preparations of extracts and, consequently, isolation of substances, is the bark of the trunk, followed by the leaves. Of the 12 species, six are from Minas Gerais: *Aspidosperma cylindrocarpon* Müll.Arg., *Aspidosperma spruceanum* Benth. ex Müll.Arg., *Aspidosperma tomentosum* Mart.,

Aspidosperma olivaceum, *Aspidosperma. parvifolium* and *Aspidosperma ramiflorum*, which showed activity against two strains of *P. falciparum* (W2-CQr and 3D7-CQs) evaluated using different extracts and plant parts (bark, leaf and fruit) (Dolabela et al., 2012). Five other species of this genus were recorded in the Brazilian Amazon, in the states of Pará and Amazonas, namely *Aspidosperma excelsum* Benth., *Aspidosperma rigidum* Rusby, *Aspidosperma nitidum* and *Aspidosperma vargasii* – including the species *Aspidosperma olivaceum*; in Alagoas (*Aspidosperma pyrifolium* Mart.) and Ceará (*Aspidosperma ulei* Markgr.), which also showed antimalarial activity for *Plasmodium falciparum* species (Nascimento et al., 2019; Coutinho et al., 2013; Brandão et al., 2020; Rocha-e-Silva et al., 2012; Montoia et al., 2014). Two other species of the Apocynaceae family, belonging to the genus *Himatanthus* Willd. (*Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson) and *Parahancornia* Ducke (*Parahancornia fasciculata* (Poir.) Benoist), also showed activity against W2 strains using a dichloromethane extract (IC₅₀ 22.9 µg/mL) (Vale et al., 2015) and triterpene derivatives (IC₅₀ 62.4 µmol L⁻¹) (Borgati et al., 2017a), respectively. These data show the importance of this botanical family in scientific studies that may guarantee the therapeutic efficacy and safety for its use in the treatment of malaria in endemic areas.

Of the Fabaceae family, with the third highest number of recorded species (9 species), we can highlight *Copaifera reticulata* Ducke, which is known in the Amazon for its medicinal properties, such as its anti-inflammatory, antibacterial, antifungal and antileishmanial action (Veiga-Junior and Pinto, 2002; Santos et al., 2008). Few studies regarding its antimalarial activity have been registered for this species and, between 2011 and 2022, only one article was found, in which activity was demonstrated against strains of *P. falciparum* (W2 and 3D7) (De Souza et al., 2017) (Table 1). Antimalarial analyses with another species of the genus *Copaifera* L. (*Copaifera religiosa* J.Léonard) demonstrated its activity against *P. falciparum* CQ-R and CQ-S strains (IC₅₀ 13.4 ± 3.6 µg/mL and 8.5 ± 4.7 µg/mL, respectively) using a dichloromethane extract (Lekana-Douki et al., 2011). In addition to *C. reticulata*, another two species were identified in the literature as being active, these being *Caesalpinia pluviosa* DC. (IC₅₀ <5 µg/mL) (Kayano et al., 2011) and *Poincianella pluviosa* (DC.) L.P.Queiroz (IC₅₀ 6.88 µg mL⁻¹) (De Souza et al., 2018) against different strains of *P. falciparum* (3D7, S20 and W2). Ethnobotanical studies with the Fabaceae family in regions of Africa demonstrated that 11 species have the potential for the treatment of fever and malaria with 19 records of use (Maroyi, 2023).

Of the six species of the Asteraceae family cited in the literature as having antimalarial activity, we can highlight *Wedelia paludosa* DC., which has activity against W2 strains using

kaurenoic acid derivatives (10 – 20) obtained from compounds isolated (see Table 3) from the hexane extract of the aerial parts of the plant (IC_{50} 19.7 μ M (10) and 53 μ M (20) (Santos et al., 2016) and *ent*-kaurene derivatives (Batista et al., 2013). The Asteraceae family has had numerous therapeutic applications recorded over the years, and reports of ethnobotanical use of species from this family in studies developed by Gras et al. (2021) demonstrated that, in the Mediterranean region, the Asteraceae botanical family was the second most relevant in pharmaceutical ethnobotanical studies, representing a total of 5,667 studies (11.90%). These studies demonstrate the importance of preserving medicinal species and performing biological assays that can validate information on traditional/ethnopharmacological use.

Other botanical families with more than one species analyzed were reported in this literature review. However, few records were found for species with antimalarial activity, some of them of important for their medicinal use. Of the family Annonaceae, the genus *Xylopia* L. was the most evaluated in this period, and it is known for its traditional use in the treatment of malaria in Cameroon, Colombia, Brazil, Peru and French Guiana (Frausin et al., 2014). Studies conducted with other species of this genus showed a significant reduction of parasitemia, with extracts and fractions (%GI > 80%) being used against *P. falciparum* W2 strains (Gontijo et al., 2018). The species *Xylopia amazonica* R.E.Fr. also demonstrated antimalarial activity against K1 and W2 strains (IC_{50} 7.3 μ g/mL). From the Euphorbiaceae family, we can highlight the species *Croton cajucara* Benth., which is used in traditional medicine for the treatment of malaria, and the leaf extract of $CHCl_3$ of the red variety exhibits significant activity (IC_{50} 6.4 μ g/mL) (Lima et al., 2015), as well as fractions obtained from the aqueous extract of *Archornea grandulosa* Poepp & Endl. (%GI 80 – 100%) (Gontijo et al., 2019c). A systematic review of African plants showed that of the families with the most active species with antiplasmodial activity Euphorbiaceae was the most active, with 43.8%, a significant percentage in studies of antimalarial plants of this family (Tajbakhsh et al., 2021). From the Meliaceae family, three publications were identified for the species *Carapa guianensis* Aubl. with activity against W2 strains (IC_{50} >50 μ g/mL) (Oliveira et al., 2015) and W2/Dd2 (IC_{50} 8.2 μ g/mL) (Miranda-Júnior et al., 2012).

From the Piperaceae family, four species were identified, of which *P. clausenianum* C.DC. and *Piper lucaeum* Kunth were potentially active against W2 *P. falciparum* strains (IC_{50} 2.65 μ g/mL and 7.9 μ g/mL, respectively) (Marques et al., 2015). The species *Ampelozizyphus amazonicus* Ducke, of the family Rhamanaceae, is known in the Amazon region for the prevention and treatment of malaria and fever, as well as for its anti-inflammatory activity and for treating snakebites (Amaral et al., 2008; Krettli et al., 2001). Two publications

were registered for this species, and only one of these studies reported the activity of the chloroform and aqueous extracts of this species with an IC₅₀ of 15 µg/mL against strains of *P. falciparum* (Carmo et al., 2015) (Table 1). Five botanical families were verified with at least two species of different genera: Anacardiaceae, Lauraceae, Simaroubaceae, Solanaceae and Theaceae, of these, only the species of the families Simaroubaceae (*Simaba cedron* Planch and *Homalolepis suffruticosa* (Engl.) Devecchi & Pirani) (Oliveira et al., 2015; Boeno et al., 2022) and Theaceae (*Laplacea fruticosa* (Schrader) Kobuski and *Camellia sinensis* (L.) Kuntze) (Gontijo et al., 2019c; Noronha et al., 2022) were active. In the Solanaceae family, only one species was active; all were analyzed (*Physalis angulata* L.) against *Plasmodium* W2 and/or 3D7 strains.

Of eighteen botanical families, only one species of the same genus was identified in this review, namely Amaranthaceae, Araceae, Araliaceae, Combretaceae, Convolvulaceae, Cyperaceae, Gentiniaceae, Humiriaceae, Lecythidaceae, Malpighiaceae, Myrtaceae, Olacaceae, Poaceae, Picrondendraceae, Rutaceae, Sapindaceae, Verbenaceae and Zingiberaceae. Of these species, only eight (*Chenopodium ambrosioides* L (Cysne et al., 2016), *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott (Amarante et al., 2011), *Combretum leprosum* Mart. (Passarini et al., 2017), *Cyperus articulatus* L. (Silva et al., 2019), *Bertholletia excelsa* Bonpl. (Oliveira et al., 2015), *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh (Carmo et al., 2020), *Piranhea trifoliata* Baill. (Pedroza et al., 2020) and *Curcuma longa* L. (Martinez-Corrêa et al., 2017) were active against *Plasmodium* W2 and/or 3D7, Dd2 strains.

5.2. Plant species with antimalarial activity in vivo experimental models

The screening of antimalarial compounds using *in vivo* assays is commonly used, and assays are usually initiated with the use of rodent malaria parasites, such as *P. berghei*, *P. yoelii*, *P. chabaudi* and *P. vinckei*. The model *Plasmodium chabaudi* is one of four species of African rodent malaria parasites that were discovered in sub-Saharan Central Africa during the late 1940s to the mid-1960s. It is the rodent parasite that is best suited for genetic studies on the basis of its resistance to antimalarial drugs, as it is wild type and is easily transmitted by laboratory mosquitoes and, in addition, it is the main experimental model for suppression of immune response against infections of human malaria (Stephens et al., 2012). *Plasmodium berghei* was discovered in mid-1948, and the strain *P. berghei* NK65 (NK – New York Katanga) was isolated from the species *Anopheles durenii millescampsi* in Katanga (Republic of Zaire) and *P. berghei* ANKA (ANKA – Anvers – Kasapa) was isolated from the same host in Kasapa (Deharo et al., 1996).

These are considered model species for these studies and are therefore extensively used in drug analysis and in the development of drugs in their early stages. The most widely used species is *P. berghei* and, less frequently, *P. chabaudi* (Fidock et al., 2004). Of the 21 studies identified in this review that employed *in vivo* analysis, 19 used *P. berghei* and two used *P. chabaudi*; in addition, the strains NK65 and ANKA were the most used in the assays (12 and 6, respectively). The results of the *in vivo* antimalarial activity are presented in Table 2.

In this review, the botanical family with the highest number of species with antimalarial activity *in vivo* was Apocynaceae, with six species analyzed, five belonging to the genus *Aspidosperma*, which were analyzed using *P. berghei* strains. Of these five species, three come from the state of Amazonas, and the main raw material used for the preparation of extracts in antimalarial analyses is the bark of the stem. Ethnobotanical studies confirm that the stem bark is the part of the plant most used by the natives of the Amazon for curing malaria. An example of one species in this genus is *A. nitidum*, which, in nine different regions, at least seven make use of the bark for the treatment of this infection (Machado et al., 2021). Of the genus *Aspidosperma*, a total of five different species were analyzed, with a significant reduction in parasitemia in NK65 and ANKA strains of *P. berghei*. The species that showed the highest percentage of reduction in parasitemia were *A. olivaceum* Müll.Arg. and *A. vargasii*, with activity of over 90% and 100%, respectively (Rocha-e-Silva et al., 2012). However, the stem bark extract of *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson (Asteraceae) showed low activity (35.4%) in *P. berghei* ANKA strains (Vale et al., 2015).

Table 2: *In vivo* antimalarial activity of extracts, fractions and oils of Brazilian medicinal plants

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Oil	<i>Plasmodium</i> species	Antimalarial activity/ dose/ day (%)	References
Amaranthaceae	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	Erva-de-Santa-Maria, mentrasto, mastruz	Maranhão	EtOH-H ₂ O 70% leaf extract (1:5)	ANKA	53% (A) (5 mg/kg/day 11)	Cysne et al. (2016)
				C ₆ H ₁₄ / CHCl ₃ I / II; <i>n</i> -butanolic / EtOH-H ₂ O (ACWF) wood fractions (1) C ₆ H ₁₄ / CHCl ₃ I; II / Solid CHCl ₃ II / H ₂ O basic / C ₄ H ₈ O ₂ / Solid C ₄ H ₈ O ₂ / <i>n</i> -butanolic		57 – 75% (2) (A) (12.5 mg/kg/ day 4)	
Annonaceae	<i>Annona crassiflora</i> Mart.	Marolo, cabeça-de-nego	Minas Gerais	(ACLF) leaf fraction (2)	NK65		Pimenta et al. (2014)
	<i>Xylopia amazonica</i> R.E.Fr.	Envira sarassará	Amazonas	CHCl ₃ leaf extract	NK65	52% (MA) (250 mg/kg/ days 5)	Lima et al. (2015)

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Oil	Plasmodium species	Antimalarial activity/ dose/ day (%)	References
Arecaceae	<i>Euterpe oleracea</i> Mart.	Açaí	Minas Gerais	Total phenolics Açaí pulp	<i>P. chabaudi</i>	89.4 – 77.3% (A) (20mg/kg/ days 6 – 7)	Ferreira et al. (2019)
						81 – 62.2%	
						(15 mg/kg/ days 6 – 7) (A)	
	<i>Vanillosmopsis arborea</i> Baker	Candeeiro	Ceará	Essential oil Stem	NK65	47 – 42% (100 mg/kg/ day 5) (LA) 47% (500 mg/kg/ day 7) (LA)	Mota et al. (2012)
Apocynaceae	<i>Aspidosperma nitidum</i> Benth.	Carapanaúba	Amazonas	MeOH-C (1) / FO III (2) / FO IV (3) / Precipitate (4) – fractions EtOH (5) – bark extract	NK65	67% (1) 100 mg/mL (MA) 48 – 66% (2) / 54 – 65% (3) 53 – 57% (4) (MA) (50 – 100 mg/mL/day 7)	Coutinho et al. (2013)
						54% (125, 250 mg/mL) (5) (MA)	

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Oil	<i>Plasmodium</i> species	Antimalarial activity/ dose/ day (%)	References
						77 – 75% (1) / 61 – 66% (2) (MA) (125, 250 mg/kg/ day 5)	
				EtOH extract (EEAN) (1)		5)	
				Alkaloid fraction (FAAN) (2)		80 – 86% (1 – 2) (A)	Brandão et
		Carapanaúba	Pará	Stem bark extract	ANKA	(500mg/kg/day 5)	al. (2020)
		amargoso, guatambu- amarelo,		Acidic (1) / Basic residue (2) – fraction		79% (100 mg/kg) (A)	Chierrito et
	<i>Aspidosperma olivaceum</i> Müll.Arg.	peroba-rosa	Paraná	Leaf	ANKA	58% (200 mg/kg) (1) (MA)	al. (2014)
						93% (4) (A)	
				Root bark (AP9) (1) / Root (AP12) (2) / EtOH leaf (3) extract.		79% (1) / 75% (2) / 79% (6) (A) (100mg/kg/ day 5)	
				H ₂ O (AP2) (4) / Organic (ethyl acetate) (AP3) (5) / Alkaloid-rich (AP5F.ALC)		52% (2) / 57% (4 – 6) (A) 40% (3) / 29% (1) (MA)	
	<i>Aspidosperma pyrifolium</i> Mart.	Carapanaúba	Alagoas	(6) – fraction	NK65	(100mg/kg/ day 7)	Ceravolo et al. (2018)

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Oil	Plasmodium species	Antimalarial activity/ dose/ day (%)	References
	<i>Aspidosperma ramiflorum</i> Müll.Arg.	Carapanaúba	Paraná	Neutral precipitate (1)	NK65	53 – 66% (1) (A)	Aguiar et al. (2015)
				Non soluble (2)		16 – 22% (2) (I)	
				bark fraction		(250; 500 mg/kg/day 10)	
	<i>Himatanthus articulatus</i> (Vahl) Woodson	Alamanda, alamanda-de-flor-grande	Pará	EtOH (EEHa)	ANKA	35.4% (A)	Vale et al. (2015)
				Stem bark extract		(200 mg/kg/day 10)	
Cyperaceae	<i>Cyperus articulatus</i> L.	Pripioca	Pará	Volatile Oil C.a. – VOCA	<i>P. berghei</i> (NI)	75.2 – 74.8% (4 – 5) (A)	Silva et al. (2019)
				(Groups 4, 5, 6)		48.9% (6) (MA)	
						(100mg/kg ⁻¹ / day 11 th)	
Euphorbiaceae	<i>Croton zehntneri</i> Pax & K.Hoffm.	Canela de cunhã, canelinha, canela-brava	Ceará	Essencial oil	NK65	53.50% (500 mg/kg/day 5)	Mota et al. (2012)
				Leaf		(MA)	
						43% (500 mg/kg/day 7) (LA)	
	<i>Croton cajucara</i> Benth.	Sacaca	Amazonas	CHCl ₃	NK65	19% (I)	Lima et al. (2015)

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Oil	<i>Plasmodium</i> species	Antimalarial activity/ dose/ day (%)	References
				leaf extract (RV)		(250mg/kg/day 5)	
						0.50 ± 0.08 – 96% (4) (A)	
Fabaceae	<i>Copaifera reticulata</i>			Oleoresin		0.77 ± 0.37% - 93% (5) (A)	De Souza et al. (2017)
	Ducke	Copaíba	Pará	(Groups 4, 5)	ANKA	(200, 100 mg/kg/day)	
						79.4 – 74.1% (A)	
						(50mg/kg/day 6 – 7)	
						63.6% (25mg/kg/day – 6) (MA)	
	<i>Caesalpinia pluviosa</i>			EtOH (F4 100%)		51 – 80%	Kayano et al. (2011)
	DC.	Sibipiruna	Paraná	bark fraction	<i>P. chabaudi</i>	(50mg/kg/day 3 – 7) (MA/A)	
				CHCl ₃ Basic –			
				leaves (FACB)			
	<i>Prosopis juliflora</i>	Algaroba,		CHCl ₃ Basic –		15 – 35% (1 – 2) (LA)	Batista et al. (2018)
	(Sw.) DC.	mesquite	Bahia	pod (BCE)	NK65	(2mg/kg/ day 15)	

Family	Species	Common name	State where collection occurred	Extract/ Fraction/ Oil	Plasmodium species	Antimalarial activity/ dose/ day (%)	References
						45 – 59% (1) (MA)	
Gentianaceae	<i>Tachia grandiflora</i> Maguire & Weaver	Taquia de folha grande	Amazonas	H ₂ O (1) / MeOH (2) / EtOH (3) – root and leaf extract	NK65	(500mg/kg/day 5 – 7, O/S) 39% (2) / 27% (3) (LA)	Rocha-e-Silva et al. (2013)
Poaceae	<i>Andropogon leucostachyus</i> Kunth	Capim-colchão	Amazonas	CHCl ₃ aerial parts extract	NK65	71% (A) (250mg/kg/day 5)	Lima et al. (2015)
Rhamnaceae	<i>Ampelozizyphus amazonicus</i> Ducke	Saracura-mirá	Amazonas	CHCl ₃ (CRBAa) (1) H ₂ O (AqRBAa) (2) root and bark extracts	ANKA	50% (IC ₅₀ 30.1) (1) (MA) IC ₅₀ 39.9 µg/mL (2) (MA)	Carmo et al. (2015)
Verbenaceae	<i>Lippia sidoides</i> Cham.	Alecrim-pimenta	Ceará	Essential oil Leaf	NK65	47 – 55% (day 5) (MA) 40 – 49% (day 7) (LA) (100, 500, 1000 mg/kg/day)	Mota et al. (2012)

Note: EtOH=Ethanol; H₂O=Water; CHCl₃= Chloroform; ACWF=*Annona crassiflora* wood fractions; ACLF=*Annona crassiflora* leaves fractions; F=Fractions; MeOH=Methanol; EEAN=Extract ethanolic *Aspidosperma nitidum*; FAAN=Alkaloid fraction *Aspidosperma nitidum*; AP=*Aspidosperma parviflorum*; BCE= Basic chloroform extract

of pods; FACB=Basic chloroform extract of leaves; C₆H₁₄=Hexano; AP5F.ALC= *Aspidosperma pyriforme* 5 Alkaloid-rich fraction; RV= Red variety; VOCA= Volatile Oil *Cyperus articulatus*; CRBAa= Chloroform root bark *Ampelozizyphus amazonicus*; AqRBAa=Aqueous-root bark *Ampelozizyphus amazonicus*; NI=Not identified

A) Active; MA) Moderately active; LA) Low active; I) Inactive. O: Oral; S: Subcutaneous

“World Flora Online” (<http://www.worldfloraonline.org>).

Three species of the Fabaceae family were identified in the literature and two of these species showed a high reduction of parasitemia. Oleoresin from the *Copaifera reticulata* Ducke species showed parasitemia suppression levels of >90% against *P. berguei* ANKA strains (De Souza et al., 2017) and the ethanol fraction (100%) of the bark of *Caesalpinia pluviosa* DC. (% inhibition 70 – 80%) against *P. chabaudi* strains at concentrations of 24 – 50 mg/kg/day (Kayano et al., 2011). Ethnobotanical studies have identified that a species of the genus *Caesalpinia* (*C. ferrea* C.Mart.) (Ribeiro et al., 2017) and *Copaifera* sp (Veiga and Scudeller, 2015) are used to treat fever using the bark and oil, respectively, via infusion, decoction and/or maceration processes. Only two species from the botanical families Euphorbiaceae and Arecaceae were identified for this review. *Croton zehntneri* Pax & K.Hoffm. (Euphorbiaceae) was the only active species of the genus *Croton*, with an inhibition potential of >50% (500 mg/kg/day) (Mota et al., 2012). These data correlate with what is found for African *Croton* L. species. Fractions (chloroform, ethyl acetate, methanol and n-hexane) obtained from the root of the species *Croton zambesicus* Müll.Arg. showed significant chemosuppressive activities (75 – 77%) at doses of 54 mg/kg/day (Okokon and Nwafor, 2009) and *C. macrostachyus* Hochst ex Delile in ethyl acetate (58 – 82%), methanol (27 – 68%) and aqueous (24 – 72%) fractions (Obey et al., 2018), both analyzed against *P. berghei*. These results justify the use of species of this genus in traditional medicine. Of the species belonging to the Arecaceae family, analyses of total phenols from the species *Euterpe oleraceae* Mart. obtained an inhibition percentage of >80% against *P. chabaudi* strains (Ferreira et al., 2019) and *Vanillosmopsis arborea* Baker was moderately active (% inhibition >40%) against NK65 *P. berghei* strains (Mota et al., 2012). In the Amazon region, species of the genera *Croton* (*C. cajucara* and *C. saccoquinha*) and *Euterpe* (*E. precatória*) are used in the treatment of malaria and fever, using the leaves and roots, respectively (Veiga and Scudeller, 2015).

The families Amaranthaceae, Annonaceae, Cucurbitaceae, Cyperaceae, Gentiniaceae, Meliaceae, Piperaceae, Poaceae, Rhamanaceae, Solanaceae and Verbenaceae were identified with only one species in each family in this review and, of these, only two (*Cyperus articulatus* L. and *Andropogon leucostachyus* Kunth) showed potentially significant inhibition potential (inhibition of >70%) against *P. berghei* strains (Silva et al., 2019; Lima et al., 2015).

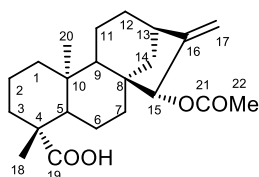
5.3. Antimalarial activity of active compounds isolated from plant species

Phytochemical analyses and bioguided fractionation of extracts and fractions from plant species have led to the isolation of substances with antimalarial properties. Procedures performed on high-performance chromatographic columns were described in the literature from 2011 to 2022. A total of 75 compounds (67 different compounds) were isolated from 28

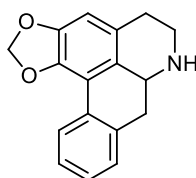
different plant species, 31 of which are alkaloids, 21 are triterpenes, five diterpenes, one withanolide (steroidal lactones), three are terpenes, three are polyphenols, two are flavonoids, two are naphthoquinones, two are orthonaphthoquinones, one is a monoterpene, one is a sesquiterpene, one is a coumarin, one is an orbitide (cyclic peptide) and one is an iridoid (Table 2). The structures of 48 of these compounds are shown in Figure 1. Using chromatography and identified via LC-MS, three aporphine alkaloids were isolated from the genus *Xylopia*: anonaine and O-methylmoscatotoline (Gontijo et al., 2018) and liriodenine (Gontijo et al., 2019a) from the species *Xylopia sericea* A.St.-Hil. In addition, three diterpenes were isolated: xylopic acid (Santos et al., 2016) and oxo-*ent*-kaurenoic acid (XS1) (Gontijo et al., 2019b) and from the species *Xylopia frutescens* Gaertn., kaurenoic acid in species of *Wedelia paludosa* DC. (Santos et al., 2016; Batista et al., 2013). Of these compounds, Anonaine (Gontijo et al., 2018) and liriodenin (Gontijo et al., 2019a) demonstrated antimalarial activity against *P. falciparum* W2 strains. Other botanical species showed the presence of anonaine in their composition and also demonstrated antimalarial activity against other strains of *P. falciparum* (D10, Dd2 and 3d7) (Graziose et al., 2011; Levrier et al., 2013), in addition to presenting important biological activities such as antioxidant and antimicrobial action (Li et al., 2013). Three alkylamides were isolated from the species *Acmella ciliata* (Kunth) Cass., namely spilanthol and dioxyacmelamide, which were active against the strain NF54 (IC₅₀ 4.5 and 5.1 μ M, respectively) and N-(2-phenylethyl)-2E-en-6,8-nonadienamide (IC₅₀ 2.1 μ M), which was active against *P. falciparum* K1 strains (Silveira et al., 2016). Spilanthol is an alkaloid that is commonly found in species of the genus *Acmella* Rich. Ex Pers. This substance has important analgesic and antibacterial effects (Barbosa et al., 2016), as well as activity against strains of *P. falciparum* (PFB and K1) when using the root extract from the species *Spilanthes acmella* Murr. (Spelman et al., 2011). Jacaranone was isolated from the extract of *Pentacalia desiderabilis* (Vell.) Cuatrec. leaves and demonstrated activity against K1 strains (IC₅₀ 7.82 μ g/mL), as well as potential anti-protozoan activity, which may contribute to the development of more effective drug models for neglected diseases (Morais et al., 2012).

Lupeol was isolated from the species *Parahancornia fasciculata* (Poir.) Benoist (Apocynaceae), a triterpene known for its vast occurrence in several species of plants and, like its derivatives, it demonstrates pharmaceutical interest due to its wide spectrum of biological activities (Gallo and Sarachine, 2009). The compound isolated (lupeol) from the bark of *P. fasciculata* demonstrated significant activity against the W2 *P. falciparum* strain (IC₅₀ 117.4 μ mol L⁻¹) (Borgati et al., 2017a). From species of the genus *Tabebuia* Gomes ex DC., lapachol and its derivatives α - and β -lapachone were isolated (Nascimento et al., 2020), as well as other synthetic naphthoquinones (*ortho* – FNQs and *para* – FNQs naphthoquinones), HNQs and

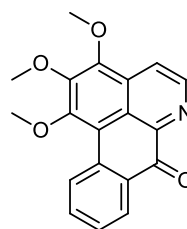
ANQs, which showed antimalarial activity against *P. falciparum* (see Table 1 and 3) (Borgati et al., 2017b). Lapachol and other synthetic naphthoquinones (naphthoquinonolyl-1,2,3-triazole hybrid) were also isolated from the species *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S.O.Grose, which were also active against W2 strains (see Table 1 and 3) (Brandão et al., 2018). Lapachol is a naphthoquinone that is isolated mainly from species of the genera *Tabebuia* and *Himatanthus* and was used as a model for the development of atovaquone, a synthetic drug commonly used in combination with proguanil (MalaroneTM) for the prevention of malaria in travelers or in the treatment of children and adults with mild symptoms (Osei-Akoto et al., 2005; Lalloo and Hill, 2008). The isolation of naphthoquinones from species of the Bignoniaceae family and other families has motivated the development of antimalarials from molecules of this class since they have potential activity against parasites (Hughes et al., 2011).



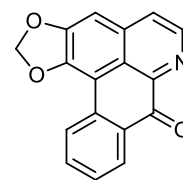
Xylopic acid



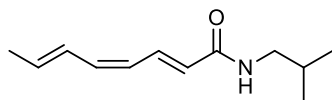
Annonaine



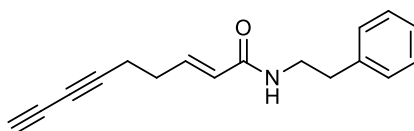
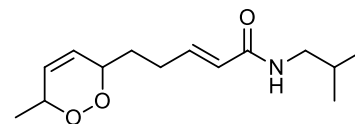
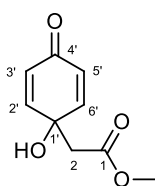
O-methylmoschatoline



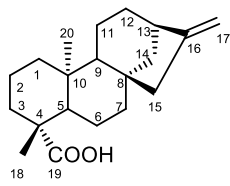
Liriodenine



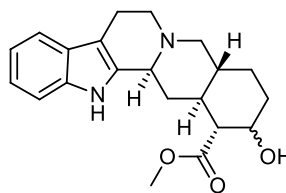
Spilanthal

*N*-(2-phenethyl)-2*E*-en-6,8-nonadynamide(2*E*,7*Z*)-6,9-endoperoxy-*N*-isobutyl-2,7-decadienamide

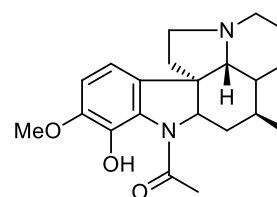
Jacaranone



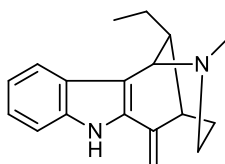
Kaurenoic acid



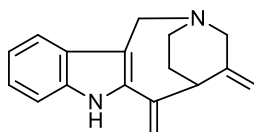
Yohimbine



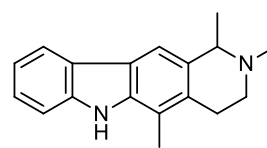
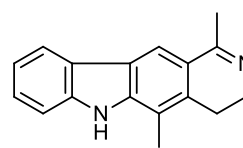
Aspidoscarpine



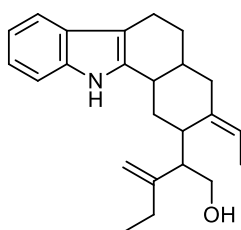
Uleine



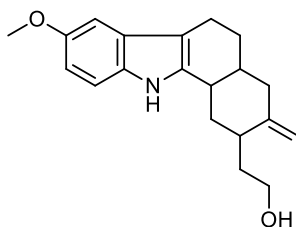
Apparacine

*N*-methyl-tetrahydrolivacine

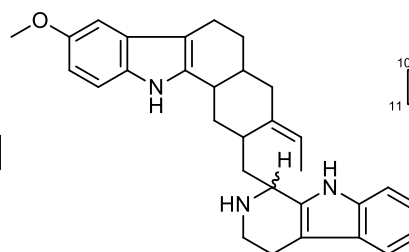
Olivacine



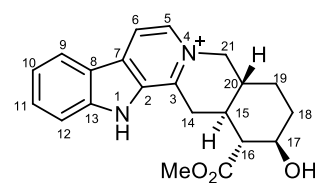
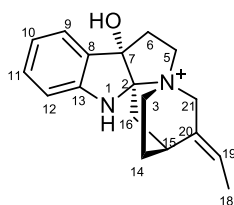
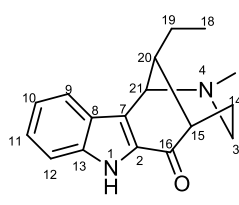
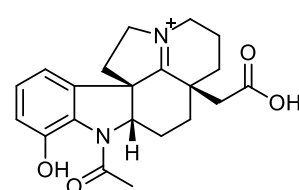
Isositsirikine

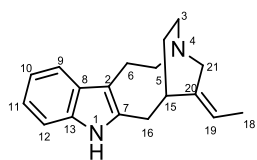


10-methoxy-geis soschizol

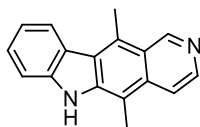


Ramiflorine

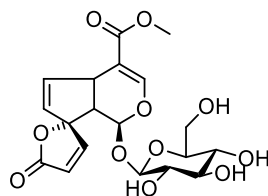
3,4,5,6-tetrahydro- β -yohimbine19-(*E*)-hunteracine20-*epi*-dasycarpidone12-hydroxy-*N*-acetyl-21(*N*)-dehydro-plumeran-18-oic acid



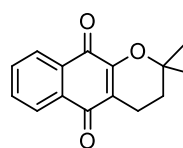
20-(E)-16,17-nor-subincanadine E



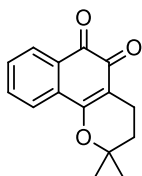
Ellipticine



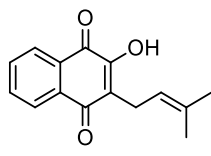
Plumieride



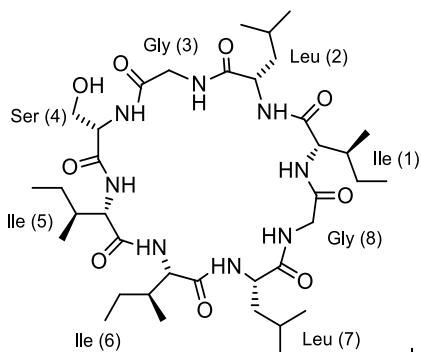
α-Lapachone



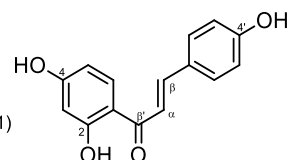
β-Lapachone



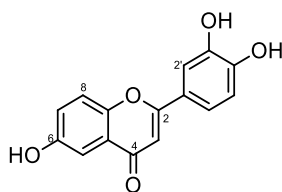
Lapachol



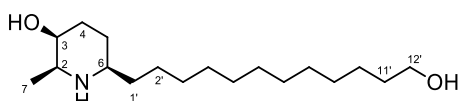
Ribitol



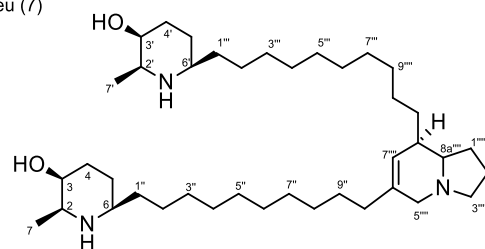
Isoliquiritigenin



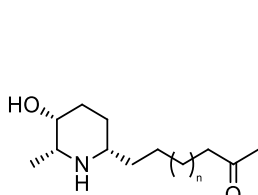
6,3',4'-Trihydroxyflavone



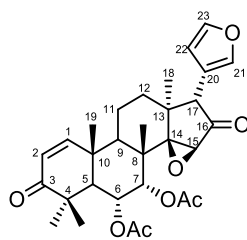
Julifloridine



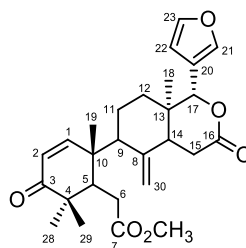
Juliprosopine



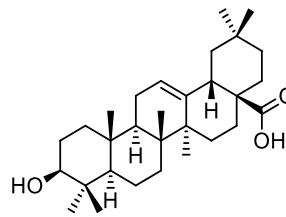
Piperidine alkaloids



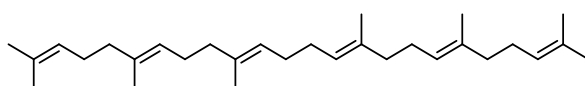
6α-acetoxyzadiradione



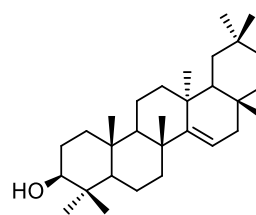
Andirobin



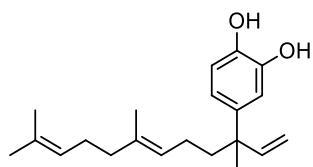
Oleanolic acid



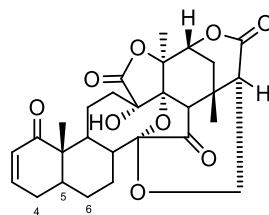
Squalene



Taraxerol



4-Nerolidylcatechol



Physalins

- 1 Δ⁵
- 2 5α-OH, 6β-OH
- 3 5β, 6β-epoxy
- 4 Δ⁴, 6α-OH

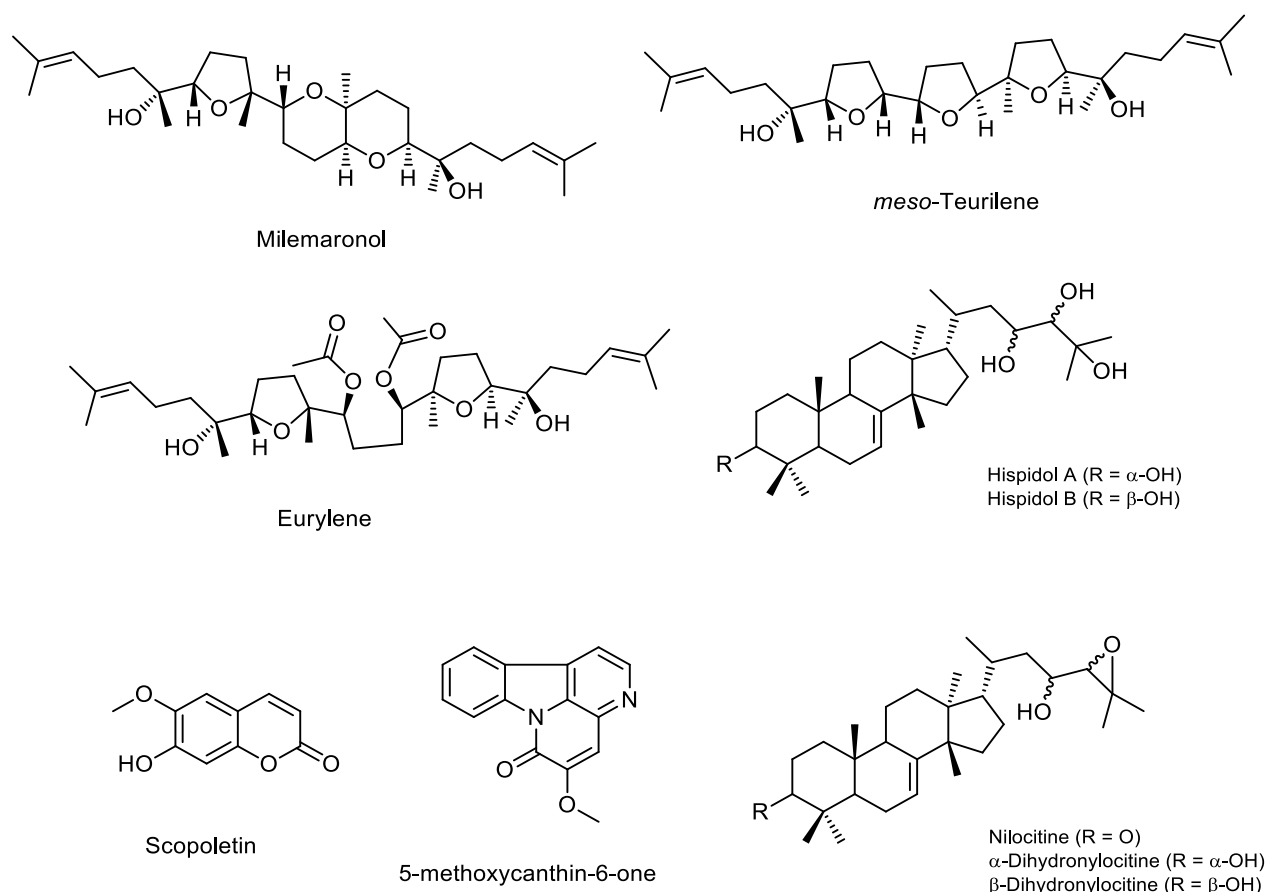


Figure 1: Structures of compounds from Brazilian medicinal plants.

Chromatography and NMR of the fractions of the extract of *Momordica balsamina* L. showed the presence of balsaminoside B and karavilagenin C, which are compounds that exhibit significant antimalarial activity against *P. berghei* strains (NK65 *in vivo*) (Rocha-e-Silva et al., 2015). Ribifolin, obtained from the hydroethanolic extract of *Jatropha ribifolia* (Pohl) Baill., was moderately active (IC_{50} 42 μ M – 3D7), in addition to other cyclic peptides from species of the genus *Jatropha* L. that have several biological activities, including antimalarial activities against strains of *P. falciparum* (Pinto et al., 2015). Two flavonoids, isoliquiritigenin and 6,3',4'-trihydroxyflavone, were isolated from the fruits of *Dipteryx lacunifera* Ducke and tested against the *P. falciparum* W2 strain and demonstrated parasite reduction of over 80%. These compounds showed a similar effect, but lower than in the Et₂O phase, which may be related to the synergistic effect of these compounds (Alexandre et al., 2020). The alkaloids julifloridine (IC_{50} 35.1 μ M) and juliprosopine (IC_{50} 604 nM), isolated from the chloroform extract of *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. leaves, showed significant inhibition of parasitemia at 2 mg/kg against *P. berghei* (NK65), which was an important advance in the development of new effective drugs for the treatment of malaria (Batista et al., 2018). Two piperidine alkaloids,

cassine and spectralin, were isolated from *Senna spectabilis* (DC.) H.S.Irwin & Barneby flowers and showed potent inhibition against 3D7 *P. falciparum* strains (IC₅₀ 1.82 μ M and IC₅₀ 2.76 μ M) (Pivatto et al., 2014). In addition, five limonoids derived from *Carapa guianensis* Aubl. oil showed marked inhibition of the *P. falciparum* K1 strain (IC₅₀ 20.7-5.0 μ M) (Pereira et al., 2014), as well as three other triterpenes (oleanolic acid, squalene and taraxerol) isolated from *Mimosa guianensis* Aubl. (50-67% – 50 μ g/mL) (Correia et al., 2016). Another triterpene, 4-nerolidylcatechol, isolated from the root extract of *Piper peltatum* L. (Rocha-e-Silva et al., 2011) and *Piper umbellatum* L. (Bagatela et al., 2013) was active *in vivo* against *P. berghei* (strain NK65) and *in vitro* against *P. falciparum* (strains 3D7, K1 and D6). In addition to these compounds, four physalins (B, D, F and G) were isolated from *Physalis angulata* L. and showed significant reduction of parasitemia in *in vitro* assays against *P. falciparum* (strain W2) and physalin F was active *in vivo* against *P. berguei* (NK65) (Sá et al., 2011). These substances are considered promising for future investigations regarding their antiparasitic potential.

The largest number substances was isolated from species of the genus *Aspidosperma* (family Apocynaceae), mainly alkaloids from the extracts of bark and leaves. From *A. excelsum*, the alkaloid yohimbine was isolated (Nascimento et al., 2019), as well as derivatives of this compound (3,4,5,6-tetrahydro- β -yohimbine; 19E-hunteracine; 20-epi-dasycarpidone; 12-hydroxy-N-acetyl-21(N)-dehydro-plumeran-18-oic acid and 20 (E)-nor-subincanadine E in *A. ulei*; however, unlike the compound isolated from *A. excelsum*, which showed moderate antiplasmodial activity, only the compound 20-epidasycarpidone from *A. ulei* was active against *P. falciparum* K1 CQ-R strains (Torres et al., 2013). Four alkaloids were obtained from *A. olivaceum*: aspidoscarpine (1), ulein (2), aparacin (3) and N-methyl-tetrahydrolivacin (4), of which only alkaloid 1 (aspidoscarpine), obtained from the extract of the bark and leaves of this species, was more active (IC₅₀ 0.007/SI >56 – *P. falciparum* W2), and was considered the most promising for future research of antimalarial drugs (Chierito et al., 2014). The alkaloids olivacin and ellipticin were also obtained from other *Aspidosperma* species and showed significant activity against *P. falciparum*. Olivacin has also been isolated from *A. vargasii* (Rocha-e-Silva et al., 2012), which presented a range of other alkaloids including ellipticin, 7,9-dibromoellipticin, 9-bromoellipticin, 9-nitroellipticin; 7-nitroellipticin and 2-methyl-1,2,3,4-tetrahydroellipticin, all active against *P. falciparum* K1 and 3D7 strains, with emphasis on 9-nitroellipticin (IC₅₀ 0.55 μ M) (Montoia et al., 2014). The compounds isositsirikine (5), ramiflorine B (3) and 10-MG (2) were isolated from leaf and bark extracts of the species *A. ramiflorum*, and alkaloid 5 (isositsirikine) showed greater activity (IC₅₀ 0.3 μ g/mL) (Aguiar et al., 2015). The genus *Aspidosperma* is rich in indole alkaloids and, until 2014, of the 200 known, only 20 had been tested for antimalarial activity, despite them showing significant

parasitic inhibition (De Paula et al., 2014), which makes it necessary to continue research with species of this genus, as they present alkaloids with potential for the development of antimalarials.

From the species *Homalopepis suffruticosa* (Engl.) Devecchi & Pirani (Simaroubaceae), six triterpenes were isolated (milemaronol (1), meso-teurilene (2), eurylene (3), hispidol A (4) and hispidol (A plus B) (5), α -dihydronylocytine plus β -dihydronylocytine (6)), one coumarin (scopo-letin (7)) and one alkaloid (5-methoxycanthin-6-one (8)) from the methanol extract of the roots. Of these compounds, 1, 2 – 4 and 8 had potent inhibition of GI parasite growth (>50%) at the two concentrations tested – 25 and 50 $\mu\text{g/mL}$ (IC_{50} : 10.8 $\mu\text{g/mL}$ (80 – 84%), 7.89 $\mu\text{g/mL}$ (76 – 89%), 0.0548 $\mu\text{g/mL}$ (88 – 92%), respectively) and the two mixtures hispidol A plus hispidol B (5) (24.58 $\mu\text{g/mL}$ (5)* (49 – 95%)) and α -dihydronylocytine plus β -dihydronylocytine (6) (26.65 $\mu\text{g/mL}$ (6)* (43 – 79%)) were moderately active (Boeno et al., 2022). Species belonging to the Simaroubaceae family are known in traditional medicine for the treatment of fever and malaria, taking as an example species of the genera *Simaba* and *Quassia*, also called “false quina” (Almeida et al., 2007). Furthermore, this family is characterized by the presence of quassinoids, secondary metabolites with diverse biological activities, including antimalarial and antiparasitic activities, which may contribute significantly as a basis for the development of potential antimalarials (Alves et al., 2014).

Table 3: Antiplasmodial activity of compounds from Brazilian medicinal plants.

Family	Species	Compounds	Antiplasmodial activity <i>Pf</i> strains (<i>in vitro</i>)	Antiplasmodial activity <i>Plasmodium</i> species (<i>in vivo</i>)	Common name	State where collection occurred	References
Annonaceae	<i>Xylopia frutescens</i> Gaertn.	Xylopic acid *	IC ₅₀ > 138.7µM (A) (K1)	-	Envira-preta, pindaíba- branca	Pará	Santos et al. (2016)
		Annonaine (1) *					
		O-methylmoschatoline (2) *	IC ₅₀ 23.2 (87.5) (1) (A) 33.5 (2) (I) (W2)	-	Chapéu de sol, pimenta de macaco, pindaíba branca	Minas Gerais	Gontijo et al. (2018)
	<i>Xylopia sericea</i> A.St.-Hil						
		Liriodenine (5) *	IC ₅₀ 6.1 µg/mL/ 22.2 µM (5) (A) 22.7 µg/mL (A) (W2)	-	Pindaíba, pimenta-de- macaco	Minas Gerais	Gontijo et al. (2019a)
		Acetogenin (annomontacin and 4-deoxy-annomontacin)	%GI 14.5 – 35.5 (A) (W2)	-	Pindaíba, pimenta-de- macaco		Gontijo et al. (2019b)

Family	Species	Compounds	Antiplasmodial activity	Antiplasmodial activity	Common name	State where collection occurred	References
			<i>Pf</i> strains (<i>in vitro</i>)	<i>Plasmodium</i> species (<i>in vivo</i>)			
		oxo- <i>ent</i> -kaurenoic acid				Minas Gerais	
Asteraceae	<i>Acmella ciliata</i> (Kunth) Cass.		IC ₅₀ 4.5 µM (1) (A)				
		Spilanthol (1) *	88 µM (2) (A)	-			
		N-(2-phenethyl) (...) (2) *	5.1µM (3) (A)				Silveira et al.
		(2E,7Z)-6,9- (...) (3) *	(NF54 / K1)		Jambu	Santa Catarina	(2016)
	<i>Pentacalia desiderabilis</i> (Vell.) Cuatrec.		IC ₅₀ 7.82 µg/mL (A)	-			Morais et al.
		Jacaranone *	(K1)		Catião-trepador	São Paulo	(2012)
	<i>Wedelia paludosa</i> DC.		IC ₅₀ 115.6 µM (A)	-	Arnica-do-mato, arnica-do-brejo		Santos et al.
		Kaurenoic acid *	(W2)			Minas Gerais	(2016)
		Kaurenoic acid (1)	IC ₅₀ 21.1 µM (1) (A)				
		Grandiflorenic (3)	23.3 µM (3) (A)	-	Arnica-do-mato	Minas Gerais	Batista et al.
			(W2)				(2013)

Family	Species	Compounds	Antiplasmodial activity	Antiplasmodial activity	Common name	State where collection occurred	References
			<i>Pf</i> strains (<i>in vitro</i>)	<i>Plasmodium</i> species (<i>in vivo</i>)			
Apocynaceae	<i>Aspidosperma excelsum</i> Benth	Yohimbine *	IC ₅₀ 14,35 µg/mL (A)	-	Carapanaúba	Pará	Nascimento et al. (2019)
			(W2)				
	<i>Aspidosperma olivaceum</i> Müll.Arg.	Aspidoscarpine (1) *					
		Uleine (2) *	IC ₅₀ 5.4 – 4.4 µg/mL (1) (A)				
		Apparacine (3) *	7 – 3.2 µg/mL (2) (A)	-			
		N-methyl-tetrahydrolivacine (5) *	3 – 3.2 µg/mL (3) (A)		amargoso, guatambu-amarelo, peroba-rosa		Chierrito et al. (2014)
			5.7 – 4 µg/mL (5) (A)			Paraná	
			(W2)				
				90 – 97% / 90 – 91% (A)			
			IC ₅₀ 1.4µM (A)	(100, 50 mg/kg/day 5 – 7/ O)			
			1.2µM (A)	64% (10 mg/kg/day 7/ O)			Rocha-e-Silva et al.
		Olivacine *	(K1 / 3D7)	(MA) (NK65)	Carapanaúba	Minas Gerais	(2012)
			IC ₅₀ < 1µg/mL (A)	-	Peroba, pau-pereira, guatambu		Dolabela et al. (2015)
		Uleine *	(W2 / 3D7)			Minas Gerais	

Family	Species	Compounds	Antiplasmodial activity	Antiplasmodial activity	Common name	State where collection occurred	References
			<i>Pf</i> strains (<i>in vitro</i>)	<i>Plasmodium</i> species (<i>in vivo</i>)			
	<i>Aspidosperma ramiflorum</i> Müll.Arg.		IC ₅₀ 0.3 µg/mL (5) (A)	-	Carapanaúba	Paraná	Aguiar et al. (2015)
		Isositsirikine (5) *	1.0 – 0.4 µg/mL (3) (A)				
		10-methoxygeissoschizol (10-MG) (3) *	1.2 – 0.9 µg/mL (2) (A)				
		Ramiflorine B (2) *	(W2)				
		3,4,5,6-tetrahydro-β-yohimbine (3) *					
		19-(E)-hunteracine (4) *	14 µg/mL/ 39.9 µM (3) (I)				
		20-epi-dasycarpidone (11) *	> 50/ > 176 (4) (I)				
		20(E)-nor-subincanadine E (12) *	4.5 µg/mL /16.7 µM (11) (MA)				
		12-hydroxy-N-acetyl-21 (...) (13) *	14.5 µg/mL/ 54.3 µM (12) (I)	-			
			> 50/ > 135 (13) (I)				
	<i>Aspidosperma ulei</i> Markgr.		(K1)		Pitiá, piquiá		Torres et al. (2013)

Family	Species	Compounds	Antiplasmodial activity	Antiplasmodial activity	Common name	State where collection occurred	References
			<i>Pf</i> strains (<i>in vitro</i>)	<i>Plasmodium</i> species (<i>in vivo</i>)			
						Ceará	
		Ellipticine (1) *					
		Olivacine (2) *	IC ₅₀ 0.19 – 3.9 µg/mL (1) (A)				
		2-methyl-1,2,3,4-tetrahydroellipticine (11)	0.81 – 13µM (2) (A)	-			
	<i>Aspidosperma vargasii</i> A.DC.		1.1 – 3.5 µg/mL (11) (A)				Montoia et al. (2014)
			(K1 / W2)		Carapanaúba	Amazonas	
				100% (50 mg/kg/day 5 – 7) (A)			
				77 – 70% (A)			
				(10 mg/kg/day 7 – O/S)			Rocha-e-Silva et al. (2012)
		Ellipticine *	IC ₅₀ 0.81 – 0.35µM (A)	(NK65)	Carapanaúba	Amazonas	
			(K1/3D7)				
	<i>Himatanthus articulatus</i> (Vahl) Woodson	Plumieride-iridoid (6) *	IC ₅₀ > 50 µg/mL (6) (I)	-	Alamanda, alamanda-de-flor-grande, orélia	Pará	Vale et al. (2015)
			(W2)				
	<i>Parahancornia fasciculata</i> (Poir.) Benoist		IC ₅₀ 117.4 µmol L ⁻¹ (A)		Amapazeiro, amapá de leite, amapá		Borgati et al. (2017a)
			(W2)	-			

Family	Species	Compounds	Antiplasmodial activity	Antiplasmodial activity	Common name	State where collection occurred	References
			<i>Pf</i> strains (<i>in vitro</i>)	<i>Plasmodium</i> species (<i>in vivo</i>)			
					amargoroso		
		Lupeol				Pará	
Bignoniaceae	<i>Tabebuia sp</i> (<i>Handroanthus</i>) Gomes ex DC.	α -lapachone (1) *	IC ₅₀ 22.64 μ M (1) (A)				
		β -lapachone (2) *	37.82 μ M (2) (A)	-			
		Lapachol (3) *	191.16 μ M (3) (I)				
			(W2)		Ipê	Minas Gerais	Nascimento et al. (2020)
	<i>Handroanthus serratifolius</i> (Vahl) S.O.Grose	Lapachol *	IC ₅₀ 123.5 μ M (A)	-	Ipê amarelo, ipê-tabaco, pau-d'arco-amarelo	Minas Gerais	Brandão et al. (2018)
	<i>Jatropha ribifolia</i> (Pohl) Baill.	Ribifolin *	IC ₅₀ 42 μ M (MA)	-	Pinhão manso, pinhão rasteiro	Paraíba	Pinto et al. (2015)
	<i>Dipteryx lacunifera</i> Ducke	Isoliquiritigenin (1) *	%GI 81.25% (1) (A)		fava-de-morcego,		Alexandre et al. (2020)
		6,3',4'-Trihydroxyflavone	88.98% (2) (A)	-	garampara		

Family	Species	Compounds	Antiplasmodial activity	Antiplasmodial activity	Common name	State where collection occurred	References
			<i>Pf</i> strains (<i>in vitro</i>)	<i>Plasmodium</i> species (<i>in vivo</i>)			
		(2) *	(W2)			Piauí	
	<i>Senna spectabilis</i> (DC.) H.S.Irwin & Barneby	Piperidine alkaloids * Cassine (1); Spectaline (2)	IC ₅₀ 1.82 µM (1) (A) 2.76 µM (2) (A) (3D7)	-	Cássia-do-nordeste, canafístula-de-besouro	São Paulo	Pivatto et al. (2014)
Cucurbitaceae	<i>Momordica balsamina</i> L.	Balsaminoside B (1) Karavilagenina C (2)	-	36 – 37% (1) (50 mg/kg ⁻¹ / day ⁻¹ 5 – O/S) (LA)	maçã bálamo ou abóbora africana	Amazonas	Rocha-e-Silva et al. (2015)
				33% (2) (50 mg/kg ⁻¹ / day ⁻¹ 5 – O (LA) (NK65)			
Fabaceae	<i>Prosopis juliflora</i> (Sw.) DC.	Julifloridine (1) * Juliprosopine (2) *	-	P < 0.05 (1 – 2) (LA) (2mg/kg/ day 5)	Algaroba, mesquite		Batista et al. (2018)

Family	Species	Compounds	Antiplasmodial activity	Antiplasmodial activity	Common name	State where collection occurred	References
			<i>Pf</i> strains (<i>in vitro</i>)	<i>Plasmodium</i> species (<i>in vivo</i>)			
				(NK65)		Bahia	
	<i>Poincianella pluviosa</i> (DC.) L.P.Queiroz	Ellagic acid (1.1), Gallic acid (3.1), Valoneic acid dilactone (2.1)	0.215 µg mL ⁻¹ (1.1) (A) 25 – 50 µg mL ⁻¹ (3.1 – 2.1) (MA) (W2)	-	Sibipiruna	Rio de Janeiro	De Souza et al. (2018)
		Limonoids: 6α-acetoxyzadiradione (1) *					
		Andirobin (2) *	IC ₅₀				
		6α-acetoxypedunin (3)	15.4 µM (1) (MA)				
		7-deacetyl-7-oxopedunin (4)	15.3 µM (2) (MA) 7.0 µM (3) (MA)	65.7% (3) (MA) 40.3% (4) (LA)			
		6α-hydroxydeacetylpedunin (5)	20 µM (4) (I) 5.0 µM (5) (A)	(100mg/kg/day 5/ O) (NK65)			
Meliaceae	<i>Carapa guianensis</i> Aubl.		(K1)		Andiroba	Amazonas	Pereira et al. (2014)
Olacaceae	<i>Minquartia guianensis</i> Aubl.	Oleanolic acid (3) *	%R: 28 – 50 % (3) (MA) 32 – 67% (5) (MA)	-	Acariquara, acari, arariúba		Cursino et al. (2012)

Family	Species	Compounds	Antiplasmodial activity	Antiplasmodial activity	Common name	State where collection occurred	References
			<i>Pf</i> strains (<i>in vitro</i>)	<i>Plasmodium</i> species (<i>in vivo</i>)			
Piperaceae	<i>Piper clausenianum</i> C.DC.	Squalene (5) *	34 – 64 % (6) (MA)				
		Taraxerol (6) *	(W2)			Amazonas	
			11.11 µg/mL (2) (A)				
			25 – 50 µg/mL (3) (LA)			Espírito Santo and Rio de Janeiro	Marques et al. (2015)
		Nerolidol (2); linalool (3)	(W2)	-	Jaborandi		
				63 – 59% (MA)			
			IC ₅₀ 0.05µg/mL (M1) (A)	(600mg/kg/day 5 – 7)			
			0.83 µg/mL (M2) (A)	48% (400mg/kg/day 7) (LA)			
			0.60 µg/mL (K1) (A)	54 – 61% (MA)			
			2.11 µg/mL (3D7) (MA)	(200, 600 mg/kg/day 7/ O/S) (NK65)			Rocha-e-Silva et al. (2011)
	<i>Piper peltatum</i> L.	4-Nerolidylcatechol *	(K1 / 3D7 / M1 / M2)		Capeba	Amazonas	
	<i>Piper umbellatum</i> L.	4-Nerolydilcatechol *	IC ₅₀ 1800 ng/mL (A) (D6)	-	Pariparoba, aguaxima, caapeba	São Paulo	Bagatela et al. (2013)
Rhamnaceae	<i>Ampelozizyphus amazonicus</i>		IC ₅₀ 80.30 – 54.22 µM (1)		Saracura-mirá		Carmo et al. (2015)

Family	Species	Compounds	Antiplasmodial activity	Antiplasmodial activity	Common name	State where collection occurred	References
			<i>Pf</i> strains (<i>in vitro</i>)	<i>Plasmodium</i> species (<i>in vivo</i>)			
	Ducke	Lupeol (1)	(A)				
		Betulinic acid (2)	5.60 – 8.23 µM (2) (A)				
		Betulin (3)	17.08 – 14.22 µM (3) (A)	-			
		Melaleucic acid (4)	508.74 – 710.1 µM (4) (A)				
			(3D7 / Dd2)			Amazonas	
		Milemaronol (1) *	IC ₅₀ 10.8 µg/mL > 80% (1)				
		meso-Teurilene (2) *	(A)				
		Eurylene (3) *	7.89 µg/mL > 80% (2) (A)				
		Hispidol A (4)	< 50% (3) (I)	-			
		Hispidol A plus Hispidol B (5) *	80% (4) (A)				
			24.5 µg/mL > 95% (5) (A)				
		α-dihydronylocytine plus β-dihydronylocytine (6) *	26.6 µg/mL > 70% (6) (A)			Rio de Janeiro	
	<i>Homalolepis suffruticosa</i>	Scopoletin (7) *	< 50% (7) (I)				
	(Engl.) Devecchi & Pirani	5-methoxycanthin-6-one (8) *	0.0548 µg/mL > 90% (8) (A)		Calunga, mata-cachorro-do-mato		Boeno et al. (2022)
			(W2)				

Family	Species	Compounds	Antiplasmodial activity	Antiplasmodial activity	Common name	State where collection occurred	References
			<i>Pf</i> strains (<i>in vitro</i>)	<i>Plasmodium</i> species (<i>in vivo</i>)			
Solanaceae	<i>Physalis angulata</i> L.	Physalins B (1), D (2), F (3), G (4) *	IC ₅₀ 2.8 µM (1) (A)				
			55 µM (2) (A)	65% (2) (MA)			
			2.2 µM (3) (A)	(50 – 100 mg/kg/ day 8)			
			6.7 µM (4) (A)	(NK65)			Sá et al.
			(W2)		Camapu	Pará	(2011)

A) Active; MA) Moderately active; LA) Low active; I) Inactive. *Pf*: *Plasmodium falciparum*. O: Oral; S: Subcutaneous

(*) Structure arranged in Figure 1.

“World Flora Online” (<http://www.worldfloraonline.org>)

6. Prospects for malaria control and vector control in Brazil

Malaria is a disease that still poses a risk to public health in endemic regions and most transmissions and deaths caused by this infection are mainly related to socioeconomic and environmental conditions. In Brazil, especially in its Amazon region, the use of medicinal plants in the treatment of malaria is still common; however, health actions to combat the disease in the region have increased over the years, with the development of prevention strategies such as the implementation of rapid diagnostic tests that function as an important tool for expanding the diagnosis and treatment network, especially in remote and difficult-to-access areas or places without the possibility of blood smear examinations using microscopy (Brazilian Ministry of Health, 2020). In Africa, the practice of using medicinal plants is still common in indigenous communities (Tabuti et al., 2023), despite the continuous increase in global health programs aimed at combating, preventing and eliminating malaria that have been developed by the World Health Organization (World Health Organization, 2021).

Although programs to combat and eliminate *Plasmodium* have been created over the years, ecological and behavioral factors of the vectors, as well as environmental conditions, especially in the Amazon, such as temperature, humidity and vegetation, also act as obstacles that hinder the adoption of strategies to combat the spread of malaria, since such characteristics favor the reproduction and proliferation of vectors in areas near rivers (Ferreira e Castro, 2016). Despite the reduction in cases in recent years, it is still essential to reinforce policies of initiatives that contribute to the reduction of environmental impacts, sanitary conditions and the establishment of relatively stable political and socioeconomic scenarios that contribute to vector control and, consequently, reduce the advance of disease transmission (Cohen et al., 2012; Siqueira et al., 2016).

Of the 8-aminoquinoline antimalarials used in the treatment of *P. vivax*, primaquine and tafenoquine are the only drugs currently available for the treatment of hypnozoites, but which also present specific safety problems, mainly in individuals deficient in the enzyme G6PD (glucose-6-phosphate dehydrogenase) (Taylor et al., 2023). Tafenoquine, approved in 2019 by ANVISA, has been incorporated into the public health system (SUS) in Brazil. It presents similar results to primaquine, which is already used by the SUS; however, it demonstrates advantages in relation to treatment regimens, as only a single dose is required, compared to

primaquine, which is administered for 14 days), thus reducing the chances of relapses. Because of this, there is an expectation of increased patient adherence to treatment, and it has become a new ally in the control and elimination of malaria (Brazilian Ministry of Health, 2021, Brazilian Ministry of Health, 2023).

In addition to primaquine and tafenoquine, two other important medications are also used to treat malaria in Brazil, chloroquine and artemisinin, which come from the synthesis of active molecules from medicinal plants. Over the last few decades, these discoveries have encouraged the search for new active molecules from plant species that lead to the production of new antimalarials and which, in the future, could contribute to the treatment of the disease in endemic areas (Dolabela et al., 2015). Thus, research aimed at the discovery of these substances, which are derived from natural products, remains in focus due to the need for potential candidates for the development of new drugs and/or phytotherapeutic drugs, as a result of the growing increase in resistance of *Plasmodium* strains, which has become one of the greatest challenges in combating and eliminating the disease. The process of biotechnological screening of species, including preclinical trials, has become indispensable for a better understanding of the mechanisms of action of the parasite against the action of molecules from plant species in tests that can be implemented in the future as antimalarial drugs (Lameira et al., 2021).

7. Conclusion

In Brazil, there are many plant species with antimalarial potential, and our research found 61 publications involving 36 botanical families and 92 species that use different strains of *Plasmodium* in *in vitro* and *in vivo* assays. Although many plant species with antimalarial potential have been identified in Brazil, the study of new antimalarial molecules is still considered incipient and studies have not yet evolved towards the production of a phytotherapeutic drug; therefore, there is a need for public policies and more efficient biotechnological approaches for the discovery of natural antimalarial products that can actually contribute to the treatment of the disease in the country and in other endemic regions. Because of this, future investigations are necessary, including control strategies that are considered indispensable in an attempt to reduce the proliferation and spread of the vectors that are responsible for the transmission of malaria in Brazil.

Acknowledgments: MBVS is grateful for the support from the Fundação de Amparo a Pesquisas do Estado do Pará (FAPESPA) in the form of the award of a PhD scholarship. The authors are also grateful to the Consolidação da Pós-Graduação em Ciências da Saúde com foco em Biotecnologia e Inovação Terapêutica para Atenção à Saúde (Process No. 88881.510177/2020-01) for its support, and to the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for the Senior Researcher grant awarded to ABO. The authors also thank Dr. Pablo Figueira (Universidade Estadual do Pará - UEPA) for his contribution to the design of the chemical structures of the isolated compounds.

Conflicts of interest: The author report that there are no conflicts of interest.

Author Contributions: This work was carried out in collaboration among all authors. dos Santos, MBV Conceptualization, Investigation, Writing - Original Draft Writing. de Oliveira, AB: Conceptualization, Investigation, Visualization, Writing - Original Draft Writing - Review & Editing. Mourão RHV: Conceptualization, Supervision, Writing - Review & Editing.

References

- Aguiar, A.C.C., Cunha, A.C., Ceravolo, I.P., Gonçalves, R.A.C., Oliveira, A.J.B., Krettli, A.U., 2015. *Aspidosperma* (Apocynaceae) plant cytotoxicity and activity towards malaria parasites. Part II: experimental studies with *Aspidosperma ramiflorum* *in vivo* and *in vitro*. Mem Inst Oswal. Cruz. 110 (7), 906–913.
- Alexandre, L.S., Oliveira, M.S., Dittz, D., Sousa, R.W.R., Ferreira, P.M.P., Pessoa, C., Varotti, F.P., Sanchez, B.A.M., Banfi, F.F., Chaves, M.H., Vieira Júnior, G.M., 2020. Flavonoids, Cytotoxic, and Antimalarial Activities of *Dipteryx lacunifera*. Braz. J. Pharmacogn. 30, 544–550.

- Almeida, M.M.B., Arriaga, A.M.C., Santos, A.K.L., 2007. Ocorrência e atividade biológica de quassinóides da última década. *Quim. Nova*. 30 (4), 935–951.
- Alves, I.A.B.S., Miranda, H.M., Soares, L.A.L., Randau, K.P., 2014. Simaroubaceae family: botany, chemical composition and biological activities. *Braz. J. Pharmacogn.* 24, 481–501. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2014.07.021>
- Amaral, A.C., Pereira, J.L., Moura, D.F., Carvalho, J.R., Ohana, D.T., Echevarria, A., et al., 2008. Updated studies on *Ampelozizyphus amazonicus*, a medicinal plant used in the Amazonian Region. *Pharmacogn Rev.* 2, 308–16.
- Amarante, C.B., Muller, A.H., Póvoa, M.M., Dolabela, M.F., 2011. Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmodica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*). *Acta Amazon.* 41(3), 431–434.
- Antony, H.A., Parija, S.C., 2016. Antimalarial drug resistance: an overview. *Trop. Parasitol.* 6 (1), 30. doi:10.4103/2229-5070.175081
- Arrow, K.J., Panosian, C., Gelband, H., 2004. Saving Lives, Buying Time: Economics of Malaria Drugs in an Age of Resistance. (Eds), Committee on the Economics of Antimalarial Drugs. Saving lives, buying time: Economics of Malaria Drugs in an age of resistance – The Nat. Academ. Press. ISBN: 0-309-53233-7, pp. 388 6 x 9.
- Ashley, E.A., Phyto, A.P., Woodrow, C.J., 2018. Malaria. *Lancet*. 391, 1608–21.
- Ashley, E.A., Dhordam M., Fairhurst, R.M., Amaratunga, C., Lim, P., Suon, S., et al., 2014. Spread of artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *New Engl. J. Medicine*. 371, 411–23. DOI: 10.1056/NEJMoa1314981
- Assis, F.F.V., Silva, N.C., Moraes, W.P., Barata, L.E.S., Minervino, A.H.H., 2020. Chemical composition and *in vitro* antiplasmodial activity of the ethanolic extract of *Cyperus articulatus* var. nodosus residue. *Pathogens*. 9, 889. doi:10.3390/pathogens9110889.
- Bagatela, B.S., Lopes, A.P., Fonseca, F.L.A., Andreo, M.A., Nanayakkara, D.N.P., Bastos, J.K., Perazzo., 2013. Evaluation of antimicrobial and antimalarial activities of crude extract, fractions and 4-nerolidylcathecol from the aerial parts of *Piper umbellata* L.

- (Piperaceae). Nat. Prod. Research. 27 (23), 2202–2209.
<http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2013.821123>.
- Barbosa, A.F., Carvalho, M.G., Smith, R.E., Sabaa-Srur, A.U.O., 2016. Spilanthal: occurrence, extraction, chemistry and biological activities. Braz. J. Pharmacogn. 26, 128–133.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2015.07.024>
- Batista, R., García, P.A., Castro, M.A., et al., 2013. Synthesis, cytotoxicity and antiplasmodial activity of novel ent-kaurane derivatives. Eur J. Medi Chem. 62, 168–176
- Batista, R., Santana, C.C., Azevedo-Santos, A.V., Suare-Fontes, A.M., Ferraz, J.L.A.A., Silva, L.A.M., Vannier-Santos, M., 2018. *In vivo* antimalarial extracts and constituents of *Prosopis juliflora* (Fabaceae). J. Funct. Foods. 44, 74–78.
- Borgati, T.F., Pereira, G.R., Brandão, G.C., Santos, J.O., Fernandes, D.A.M., et al., 2017a. Synthesis by click reactions and antiplasmodial activity of lupeol 1,2,3-triazole derivatives. J. Braz. Chem. Society. 28 (10), 1850–1856.
<http://dx.doi.org/10.1590/0021-9791-2016-0001>
- Borgati, T.F., Nascimento, M.F.A., Bernardino, J.F., Martins, L.C., Taranto, A.G., Oliveira, A.B., 2017b. Synthesis, SAR, and docking studies disclose 2-arylfuran-1,4-naphthoquinones as *in vitro* antiplasmodial hits. J. Trop. Med.
<https://doi.org/10.1155/2017/7496934>
- Brandão, D.L.N., Martins, M.T., Silva, A.O., Almeida, A.D., et al., 2020. Anti-malarial activity and toxicity of *Aspidosperma nitidum* Benth: a plant used in traditional medicine in the Brazilian Amazon. Res. Soc. Develop. 9 (10), e5059108817. DOI:
<http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i10.8817>
- Brazilian Society of Tropical Medicine., 2019. <https://sbmt.org.br/anvisa-libera-novo-medicamento-para-tratar-malaria>. (Accessed March 2022).
- Brandão, G.C., Missias, F.C.R., Arantes, L.M., et al., 2018. Antimalarial naphthoquinones. Synthesis via click chemistry, *in vitro* activity, docking to PfDHODH and SAR of lapachol-based compounds. Eur J. Medi Chem.
- Brazilian Ministry of Health, 2013. Epidemiological situation of malaria in Brazil, 2000 to 2011., 2013., Secretariat of Health Surveillance. Epidemiol. Bulletin. 1, 44.

- Brazilian Ministry of Health, 2020. Malaria. Secretariat of Health Surveillance. Epidemiol. Bulletin. Special Number..
- Brazilian Ministry of Health, 2021. Epidemiol. Bulletin. Special Number. 1, 100.
- Brazilian Ministry of Health, 2022. Epidemiological panorama of malaria in 2021: looking for the path to eliminate malaria in Brazil. Secretariat of Health Surveillance. Epidemiol. Bulletin. 17, 53.
- Brazilian Ministry of Health., 2023. Ministério da Saúde incorpora medicamento inovador para malária ao SUS (Ministry of Health incorporates innovative medicine for malaria into the SUS). <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2023/junho/ministerio-da-saude-incorpora-medicamento-inovador-para-malaria-ao-sus>. (Accessed 22 September 2023).
- Belete, T.M., 2020. Recent Progress in the Development of New Antimalarial Drugs with Novel Targets. Drug Des. Develop. Therapy. 14, 3875–3889.
- Boeno, S.I., Vieira, I.J.C., Braz-Filho, R., Passos, M.S., et al., 2022. Antiplasmodial and cytotoxic effects of the methanol extract, canthinone alkaloids, squalene- and protolimonoid-type triterpenes from *Homalolepis suffruticosa* roots. J. Ethnopharmacol. 285, 114890. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114890>
- Buery, J.C., Alencar, F.E.C., Duarte, A.M.R.C., Loss, A.C., et al., 2021. Atlantic Forest Malaria: A review of more than 20 years of epidemiological investigation. Microorgan. 9, 132. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010132>
- Calixto, N., Pinto, M., Ramalho, S., Burguer, M., et al., 2016. The genus *Psychotria*: phytochemistry, chemotaxonomy, ethnopharmacology and biological properties. J. Braz. Chem. Soc. 27, 1355–1378.
- Carlos, B.C., Rona, L.D.P., Christophides, G.K., Souza-Neto, J.A., 2019. A comprehensive analysis of malaria transmission in Brazil. Patho. Glob. Health. 113 (1) 1–13. <https://doi.org/10.1080/20477724.2019.1581463>
- Carmo, D.F.M., Amaral, A.C.F., Machado, M., Lopes, D., et al., 2015. Evaluation of antiplasmodial activity of extracts and constituents from *Ampelozizyphus amazonicus*. Pharmacogn. Mag. 11 (Suppl 2), S244–S250. doi: [10.4103/0973-1296.166071](https://doi.org/10.4103/0973-1296.166071)

- Carmo, M.A.V., Fidelis, M., Sanchez, C.A., Castro, A.P., Camps, I., et al., 2020. Camu-camu (*Myrciaria dubia*) seeds as a novel source of bioactive compounds with promising antimalarial and antischistosomicidal Properties. *Food Res. Intern.* 136, 109334.
- Castello, A.C.D., Pereira, A.S.S., Simões, A.O., Koch, I., 2020. *Aspidosperma* in Flora do Brasil. *Jard. Bot. Rio de Janeiro*. <https://floradobrasil2020.jbrj.gov.br/FB4520>
- Ceravolo, I.P., Zani, C.L., Figueiredo, F.J.B., Kohlhoff, M., Santana, A.E.G., Krettli, A.U., 2018. *Aspidosperma pyriforme*, a medicinal plant from the Brazilian caatinga, displays a high antiplasmodial activity and low cytotoxicity. *Malar. J.* 17, 436. <https://doi.org/10.1186/s12936-018-2568-y>
- Chieritto, T.P.C., Aguiar, A.C.C., Andrade, I.M., Ceravolo, I.P., et al., 2014. Anti-malarial activity of indole alkaloids isolated from *Aspidosperma olivaceum*. *Malar. J.*, 13, 142 <http://www.malariajournal.com/content/13/1/142>
- Cohen, J.M., Smith, D.L., Cotter, C., Ward, A., Yamey, G., Sabot, O.J., Moonen, B., 2012. Malaria resurgence: a systematic review and assessment of its causes. *Malar. J.* 11, 122.
- Commons, R.J., Simpson, J.A., Thriemer, K., Humphreys, G., et al., 2018. The effect of chloroquine dose and primaquine on *Plasmodium vivax* recurrence: a Worldwide antimalarial resistance network systematic review and individual patient pooled meta-analysis. *The Lanc. Infect. Diseases.*, 18, 1025–1034.
- Coutinho, J.P., Aguiar, A.C.C., Santos, P.A., Lima, J.C., Rocha, M.G.L., et al., 2013. *Aspidosperma* (Apocynaceae) plant cytotoxicity and activity towards malaria parasites. Part I: *Aspidosperma nitidum* (Benth) used as a remedy to treat fever and malaria in the Amazon. *Mem. Inst. Oswal. Cruz.* 108 (8), 974–982.
- Correia, V.C.S., Lima, N.O., Oliveira, F.A.S., Santos, A.P.A., et al., 2016. Evaluation of the antiplasmodial and leishmanicidal potential of *Myrciaria dubia* (Myrtaceae) extract. *Ver. Soc. Bras. Med. Trop.* 49 (5), 586–592. doi:10.1590/0037-8682-0227-2016.
- Costa, F.T., Lopes, S.C., Albrecht, L., Ataíde, R., Siqueira, A.M., et al., 2012. On the pathogenesis of *Plasmodium vivax* malaria: perspectives from the Brazilian field. *Int. J. Parasitol.* 42, 1099–1105.

- Cursino, L.M.C., Nunez, C.V., Paula, R.C. Nascimento, M.F.A., Santos, P.A., 2012. Triterpenes from *Minquartia guianensis* (Olacaceae) and *in vitro* antimalarial activity. *Quim. Nova.*, 35 (11), 2165–2168.
- Cysne, D.N., Fortes, T.S., Reis, A.S., Ribeiro, B.P., Ferreira, A.S., et al., 2016. Antimalarial potential of leaves of *Chenopodium ambrosioides* L. *Parasitol Res.* 115, 4327–4334. DOI 10.1007/s00436-016-5216-x
- Davis, K., Guimarães, D.O., Davis, T., Amarante, C.B., 2021. Ethnobotanical study of anti-malarials among communities in the municipal of Portel-PA, Brazil. *Rev. Fitos.* 15 (2), 166-177 | e-ISSN: 2446-4775.
- Daher, A., Pereira, D., Lacerda, M.V.G., Alexandre, M.A.A., Nascimento, C.T., et al., 2018. Efficacy and safety of artemisinin-based combination therapy and chloroquine with concomitant primaquine to treat *Plasmodium vivax* malaria in Brazil: an open label randomized clinical trial. *Malar. J.* 17, 45. <https://doi.org/10.1186/s12936-018-2192-x>
- Deharo, E., Coquelin, F., Chabaud, A.G., Landau, I., 1996. The erythrocytic schizogony of two synchronized strains of *Plasmodium berghei*, NK65 and ANKA, in normocytes and reticulocytes. *Parasitol. Res.* 82, 178 – 182.
- De Santana Filho, F.S., Arcanjo, A.R., Chehuan, Y.M., Costa, M.R. et al., 2007. Alecrim, M. Chloroquine-resistant *Plasmodium vivax*. *Braz. Amazon. Emerg Infect Dis.* 13, 1125–1126.
- De Paula, R.C., Dolabela., M.F., Oliveira, A.B., 2014. *Aspidosperma* Species as Sources of Antimalarials. Part III. A Review of Traditional Use and Antimalarial Activity. *Planta Med.* 0, 378–386.
- De Souza, G.A.G., Silva, N.C., Souza, J., Oliveira, K.R.M., Fonseca, A.L., et al., 2017. *In vitro* and *in vivo* antimalarial potential of oleoresin obtained from *Copaifera reticulata* Ducke (Fabaceae) in the Brazilian Amazon rainforest. *Phytomed.* 24, 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.11.021>
- De Souza, J.E., Nascimento, M.F.A., Borsodi, M.P.G., Almeida, A.P., Rossi-Bergmann, B., Oliveira, A.B., Costa, S.S., 2018. Leaves from the tree *Poincianella pluviosa* as a renewable source of antiplasmodial compounds against chloroquine-resistant *Plasmodium*

- falciparum*. J. Braz. Chem. Soc., 29 (6) 1318-1327. <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20170228>
- Dolabela, M.F., Oliveira, S.G., Peres, J.M., Nascimento, J.M.S., Póvoa, M.M., Oliveira, A.B., 2012. *In vitro* antimalarial activity of six *Aspidosperma* species from the state of Minas Gerais (Brazil). Anais Acad. Bras. de Ciên. 84 (4), 899–910.
- Dolabela, M. F., Póvoa, M. M., Brandão, G. C., Rocha, F. D., Soares, L. F., et al., 2015. *Aspidosperma* species as sources of anti- malarials: uleine is the major anti-malarial indole alkaloid from *Aspidosperma parvifolium* (Apocynaceae). Malar. J. 14, 498–510.
- Dombrowski, J.G., Gomes, L.C., Lorez, C., Palasia, R.G.S., Manchesini, P., et al., 2022. Mapping and characterizing areas with high levels of malaria in pregnancy in Brazil: A spatiotemporal analysis. The Lancet. 12, 100285.
- Fairhurst, R.M., Wellems, T.E., 2015. Malaria (*Plasmodium* Species). In: Principles and practice of infectious diseases. Bennet, J.E., Dolin, R., Blaser, M.J. Eight Ed. 3070–3090. DOI <https://doi.org/10.1016/C2012-1-00075-6>
- Ferreira, M.U., Castro, M.C., 2016. Challenges for malaria elimination in Brazil. Malar. J. 15, 284. DOI 10.1186/s12936-016-1335-1
- Ferreira, L.T., Venancio, V.P., Kawano, T., Abrão, L.C.C., Tavella, T.A., et al., 2019. Chemical genomic profiling unveils the *in vitro* and *in vivo* antiplasmodial mechanism of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) polyphenols. ACS Omega. 4 (13), 15628-15635. DOI: 10.1021/acsomega.9b02127
- Fidock, D.A., Rosenthal, P.J., Croft, S.L., Brun, R., Nwaka, S., 2004. Antimalarial drug discovery: efficacy models for compound screening. Nat. Rev. Drug Disc. 3, 509–520. doi:10.1038/nrd1416
- Flora of Brazil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2020. < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >.
- França, T.C.C., Santos, M.G., Figueroa-Villar, J.D., 2008. Malária: aspectos históricos e quimioterapia. Quim. Nova. 1 (5) 1271–1278.
- Frausin, G., Lima, R.B.S., Hidalgo, A.F., Maas, P., Pohlit, A.M. et al., 2014. Plants of the annonaceae traditionally used as antimalarials: a review. Rev. Bras. Frut. 315–337.

- Gallo, M.B.C., Sarachine, M.J., 2009. Biological activities of lupeol. Intern. J. Biom. Pharm. Sciences. Special Issue, 1. 46–66.
- Garcia, K.K.S., Abrahão, A.A., Oliveira, A.F.M., Henriques, K.M.D., et al., 2022. Malaria time series in the extra-amazon region of Brazil: epidemiological scenario and a two-year prediction model. Malar. J. 21, 157. <https://doi.org/10.1186/s12936-022-04162-1>
- Gontijo, D.C., Nascimento, M.F.A., Rod, H.V.S., Magalhães, R.A., et al., 2021. *In vitro* antiplasmodial activity, targeted LC–MS metabolite profiling, and identification of major natural product in the bioactive extracts of *Palicourea* and *Psychotria* species from the Amazonia and Atlantic Forest biomes, Brazil. Metabol. 17, 81.
- Gontijo, D.C., Brandão, G.C., Nascimento, M.F.A., Oliveira, A.B., 2018. Antiplasmodial activity and cytotoxicity, isolation of active alkaloids, and dereplication of *Xylopia sericea* leaves ethanol extract by UPLC-DAD-ESI-MS/MS. J. Pharm. Pharmacol. 71 (2), 260–269. doi: 10.1111/jphp.13029.
- Gontijo, D.C., Nascimento, M.F.A., Brandão, G.C., Oliveira, A.B., 2019a. Phytochemistry and antiplasmodial activity of *Xylopia sericea* leaves. Nat. Prod. Res. 34, 3526–3530. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1577838>
- Gontijo, D.C., Nascimento, M.F.A., Borgati, T.F., Speziali, N.L., Souza-Filho, J.D., Oliveira, A.B., 2019b. A Comprehensive view on (–)-7-Oxo-*ent*-kaur-16-en-19-oic acid, the major constituent of *Xylopia sericea* leaves extract: Complete NMR assignments, X-Ray crystallographic structure, *in vitro* antimalarial activity and cytotoxicity. Chem & Biod. 16, 7: e1900141. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201900141>
- Gontijo, D.C., Leite, J.P.V., Nascimento, M.F.A., Brandão, G.C., Oliveira, A.B., 2019c. Bioprospection for antiplasmodial activity, and identification of bioactive metabolites of native plants species from the Mata Atlantica biome, Brazil. Nat. Prod. Res. 1732-1737.
- Gras, A., Hidalgo, O., D'Ambrosio, U., Parada, M., Garnatje, T., Vallès, J., 2021. The role of botanical families in medicinal ethnobotany: A phylogenetic perspective. Plants. 10, 163. <https://doi.org/10.3390/plants10010163>

- Graziose, R., Rathinasabapathy, T., Lategan, C., Poulev, A., et al., 2011. Antiplasmodial activity of aporphine and sesquiterpene lactones from *Liriodendron tulipifera* L. J. Ethnopharmacol. 133, 26–30.
- Hanboonkunupakarn, B., Tarning, J., Pukrittayakamee, S., Chotivanich, K., 2022. “Artemisinin Resistance and Malaria Elimination: Where Are We Now?” Front. in Pharmacol. 13: 876282. doi: [10.3389/fphar.2022.876282](https://doi.org/10.3389/fphar.2022.876282)
- Hughes, L.M., Lanteri, C.A., O’Neil, M.T., Johnson, J.D., Gribble, G.W., Trumppower, B.L., 2011. Design of anti-parasitic and anti-fungal hydroxynaphthoquinones that are less susceptible to drug resistance. Mol. Biochem. Parasitol. 177 (1), 12–19. 10.1016/j.molbiopara.2011.01.
- Kayano, A.C.A.V., Lopes, S.C.P., Bueno, F.G., Cabral, E.C., Souza-Neiras, W.C.; et al., 2011. *In vitro* and *in vivo* assessment of the antimalarial activity of *Caesalpinia pluviosa*. Malar. J. 10, 112. <http://www.malariajournal.com/content/10/1/112>
- Kffuri, C.A., Lopes, M.A., Ming, L.C., Odone, G., Kinupp, V.F., 2016. ‘Antimalarial plants used by indigenous people of the Upper Rio Negro in Amazonas, Brazil’. J. Ethnopharmacol. 178, 188–198.
- Krettli, A.U., Andrade-Neto, V.F., Brandão, M.G., Ferrari, W.M., 2001. The search for new antimalarial drugs from plants used to treat fever and malaria or plants randomly selected: A review. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 96, 1033–42.
- Lacerda, M.V.G., Llanos-Cuentas, A., Krudsood, S., Lon, C., Saunders, D.L., et al., 2019. Single-dose tafenoquine to prevent relapse of *Plasmodium vivax* malaria. T. New Eng. J. Med. 380, 3, 2015 – 228.
- Lalloo, D.G., Hill, D.R., 2008. Preventing malaria in travellers. BMJ. 336, 1362–6.
- Lameira, C.N., Póvoa, M.M., Oliveira, S.G.; Siqueira, N.N.C.; Nascimento, J.M.S., 2021. Contribuições das plantas medicinais para o tratamento da malária: um referencial teórico. In. Pesquisa em Saúde & Ambiente na Amazônia: perspectivas para sustentabilidade humana e ambiental na região. (Ed). Científica Digital. 14, 241–257. DOI 10.37885/210504800

- Lekana-Douki, J.B., Oyegue Liabagui, S.L., Bongui, J.B., Zatra, R., et al., 2011. *In vitro* antiplasmodial activity of crude extracts of *Tetrapleura tetraptera* and *Copaifera religiosa*. BMC Res Notes. 4: 506. [<http://dx.doi.org/10.1186/1756-0500-4-506>] [PMID: 22112366]
- Levrier, C., Balastrier, M., Beattie, K.D., Carroll, A.R., Martin, F., Choomuenwai, V., Davis, R.A., 2013. Pyridocoumarin, aristolactam and aporphine alkaloids from the Australian rainforest plant *Goniiothalamus australis*. Phytochem. 86, 121–126.
- Li, H.T., Wu, H.M., Chen, H.L., Liu, C.M., Chen, C.Y., 2013. The pharmacological activities of ()-Anonaine. Molecules. 18, 8257–8263.
- Lima, R.B.S., Rocha-e-Silva, L.F., Melo, M.R.S., Costa, J.S., Picanço, N.S., et al., 2015. *In vitro* and *in vivo* anti-malarial activity of plants from the Brazilian Amazon. Malar. J. 14, 508. DOI 10.1186/s12936-015-0999-2.
- Limongi, J.E., Chaves, K.M., Paula, M.B.C.D., Costa, F.C.D., Lopes, I.D.S., Neto, P., et al., 2008. Malaria outbreaks in a non-endemic area of Brazil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 41, 232–7.
- Lorenz, C., Virginio, F., Aguiar, B.S., Suesdek, L., Chiaravalloti-Neto, F., 2015. Spatial and temporal epidemiology of malaria in extra-Amazonian regions of Brazil. Malar. J. 14, 408. DOI 10.1186/s12936-015-0934-6
- Ma, N., Zhang, Z., Liao, F., Jiang, T., Tu, Y., 2020. The birth of artemisinin. Pharm & Therap. 216, 107658. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107658>
- Machado, I.R., Mendes, K.R., Tavares, M.K.S.M., Arêdes, A., Cerqueira, H.G., 2021. Ethnobotanical and Pharmacological Study of *Aspidosperma nitidum* Benth (Apocynaceae) – a Review. Braz. Biodivers. 12 (1), 1–10. DOI: 10.37002/biobrasil.v12i1.1716
- Makler, J. M., Ries, J. A., Williams, J. E., Bancroft, R. C., Piper, B. L., Gibbins, D. J., 1993. Hinrichs, ‘Parasite lactate dehydrogenase as an assay for *Plasmodium falciparum* drug sensitivity’ Am. J. Trop. Med. Hyg. 48, 739–741.
- Maroyi, A., 2023. Medicinal Uses of the Fabaceae Family in Zimbabwe: A Review. Plants. 12, 1255. <https://doi.org/10.3390/plants12061255>

- Martins, D., Nunez, C.V., 2015. Secondary metabolites from Rubiaceae species. *Molecules*. 20, 13422–13495.
- Martinez-Correa, H.A., Paula, J.T., Kayano, A.C.A.V., Queiroga, C.L., Magalhães, P.M., Costa, F.T.M., Cabral, F.A., 2017. Composition and antimalarial activity of extracts of *Curcuma longa* L. obtained by a combination of extraction processes using supercritical CO₂, ethanol and water as solvents. *T. J. Superc. Fluids*. 119, 122–129.
- Marques, A.M., Peixoto, A.C., Paula, R.C., Nascimento, M.F., Soares, L.F., Velozo, L.S.M., Guimarães, E.F., Kaplan, A.C., 2015. Phytochemical investigation of antiplasmodial metabolites from Brazilian native *Piper* species. *J. Ess. Oil Bear. Plants*. 18 (1), 74–81.
- Melo, J.O., Padilha, M.A.O., Barbosa, R.T.A., Alonso, W.J., Vittor, A.Y., Laporta, G.Z., 2020. Evaluation of the malaria elimination policy in Brazil: a systematic review and epidemiological analysis study. *Trop. Biomed*. 37 (2), 513–535.
- Mendonça, A.C.A.M., Silva, M.A.P., Andrade, A.O., Alencar, S.R., 2015. Prospecção fitoquímica de *Psychotria colorata* (willd. Ex. R. & s.) Müll. Arg. e *P. hoffmannseggiana* (r. & s.) Müll. Arg. *Cad. Cult. Ciência*. 13 (2), 7–16.
- Miranda-Júnior, R.N.C., Dolabela, M.F., Silva, M.N., Póvoa, M.M., Maia, J.G.S., 2012. Antiplasmodial activity of the andiroba (*Carapa guianensis* Aubl., Meliaceae) oil and its limonoid-rich fraction. *J. Ethnopharmacol*. 142, 679–683.
- Milliken, W., Walker, B.E., Homes, M-J.R., Forest, F., Lughadha, E.N., 2021. Plants used traditionally as antimalarials in Latin America: Mining the tree of life for potential new medicines. *J. Ethnopharmacol*. 279, 114221.
- Mojab, F., 2012. Antimalarial natural products: a review. *Avicenna J. Phytomed. Spring*. 2 (2), 52–62.
- Montoia, A., Rocha-e-Silva, L.F.; Torres, Z.E.; Costa, D.S.; Henrique, M.C.; et al., 2014. Antiplasmodial activity of synthetic ellipticine derivatives and an isolated analog. *Bioorgan. Med. Chem. Let*. 24, 2631–2634. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.04.070>
- Morais, T.R., Romoff, P., Fávero, O.A., Reimão, J.Q., Lourenço, W.C., Tempone, A.G., et al., 2012. Anti-malarial, anti-trypanosomal, and anti-leishmanial activities of jacaranone

- isolated from *Pentacalia desiderabilis* (Vell.) Cuatrec. (Asteraceae). Parasitol. Res. 110, 95–101. DOI 10.1007/s00436-011-2454-9.
- Mota, M.L., Lobo, T.C., Costa, J.G.M., Costa, L.S., Rocha, H.A.O., et al., 2012. *In vitro* and *in vivo* antimalarial activity of essential oils and chemical components from three medicinal plants found in northeastern Brazil. Planta Med. 78, 658–664.
- Multini, L.C., Marrelli, M.T., Beier, J.C., Wilke, A.B.B., 2019. Increasing complexity threatens the elimination of extra-amazonian malaria in Brazil. Trends Parasitol. 35, 383–387. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.03.009>
- Naing, C., Whittaker, Ma., Nyunt Wai, V., et al., 2014. Is *Plasmodium vivax* malaria a severe malaria? a systematic review and meta-analysis. PLoS Negl. Trop. Dis. 8 (8), e3071.
- Nascimento, M.S., Pina, N.P.V., Silva, A.S.B., Gomes, L.F.S., Vasconcelos, F., et al., 2019. *In vitro* antiplasmodial activity and identification, using tandem LC-MS, of alkaloids from *Aspidosperma excelsum*, a plant used to treat malaria in Amazonia. J. Ethnopharmacol. 228, 99–109. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.09.012>
- Nascimento, M.F.A., Borgati, T.F., Souza, L.C.R., Tagliati, C.A., Oliveira, A.B., 2020. In silico, *in vitro* and *in vivo* evaluation of natural Bignoniaceous naphthoquinones in comparison with atovaquone targeting the selection of potential antimalarial candidates. Toxicol. Applied Pharmacol. 401, 115074.
- Noronha, M.C., Cardoso, R.R., D’Almeida, C.T.S., et al., 2022. Black tea kombucha: Physicochemical, microbiological and comprehensive phenolic profile changes during fermentation, and antimalarial activity. Food Chem 384, 132515.
- Obey, J.K., Ngeiywa, M.M., Kiprono, P., Omar, S., Wright, A.V., et al., 2018. Antimalarial activity of *Croton macrostachyus* stem bark extracts against *Plasmodium berghei* *in vivo*. J. Pathogens. Article ID 2393854, 6 p. <https://doi.org/10.1155/2018/2393854>.
- Ohashi, L.H., Gontijo, D.C., Nascimento, M.F.A., Margalho, L.F., Brandão, G.C., Oliveira, A.B., 2021. Extraction and Fractionation Effects on Antiplasmodial activity and phytochemical composition of *Palicourea hoffmannseggiana*. Plant. Med. Int. Open. 8, e34–e42

- Ohashi, L.H., Oliveira, A.B., 2020. *Palicourea hoffmannseggiana* (Schult.) Borhidi (Rubiaceae): a revision on botanical taxonomy, phytochemistry, biological activities and antimalarial activity. *Elec. J. Collect Health*. 43, e3027.
- Okokon, J.E., Nwafor, P.A., 2009. Antiplasmodial activity of root extract and fractions of *Croton zambesicus*. *J. Ethnopharmacol.* 121, 74–78. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.09.034>
- Oladeji, O.S., Oluyori, A.P., Bankole, D.T., Afolabi, Y. 2020. Ethnobotanical description and biological activities of *Senna alata*. *Evid. Bas. Compl. Altern. Med.* Article ID 2580259, 12. <https://doi.org/10.1155/2020/2580259>.
- Oliveira, A.R.M., Szczerbowski, D., 2009. Quinina: 470 anos de história, controvérsias e desenvolvimento. *Quim. Nova*. 32 (7), 1971–1974.
- Oliveira-Ferreira, J., Lacerda, M.V.G., Brasil, P., Ladislau, J.L.B., et al., 2010. Review Malaria in Brazil: an overview. *Malar. J.* 9, 115 <http://www.malariajournal.com/content/9/1/115>.
- Oliveira, D.R., Kretlli, A.U.A., Aguiar, C.C., Leitão, G.G., Vieira, M.N., et al., 2015. ‘Ethnopharmacological evaluation of medicinal plants used against malaria by quilombola communities from Oriximiná, Brazil’. *J. Ethnopharmacol.* 173, 424–434.
- Osei-Akoto, A., Orton, L.C., Owusu-Ofori, S., 2005. Atovaquone-proguanil for treating uncomplicated malaria. *Cochr. Database Syst. Rev.* Issue 4: CD004529.
- Packard, R.M., 2014. The origins of antimalarial-drug resistance. *T. New Eng. J. Medic.* 371, 5.
- Passarini, G.M., Medeiros, D.S., Meneguetti, D.U.O., Lima, R.A., Facundo, V.A.; Medeiros, P.S.M. 2017. *In vitro* antiplasmodial activity of flower extracts from *Combretum leprosum* Mart (mofumbo). *Ciênc. Nat.* 39 (1), 84–90.
- Pedroza, L.S., Salazar, M.G.M., Osório, M.I.C.; Fachin-Espinar, M.T.; Paula, R.C.; et al., 2020. Estudo químico e avaliação da atividade antimalárica dos galhos de *Piranhea trifoliata*. *Rev. Fitos.* 14 (4), 476–491. DOI 10.32712/2446-4775.2020.905
- Pereira, T.B., Rocha-e-Silva, L., Amorim, R.C.N., Melo, M.R.S., Souza, R.C.Z.; et al., 2014. *In vitro* and *in vivo* anti-malarial activity of limonoids isolated from the residual seed

- biomass from *Carapa guianensis* (andiroba) oil production. Malar. J. 13, 317. <http://www.malariajournal.com/content/13/1/317>
- Pimenta, L.P.S., Garcia, G.M., Gonçalves, S.G.V., Dionísio, B.L., Braga, E.M., Mosqueira, V.C.F. 2014. *In vivo* antimalarial efficacy of acetogenins, alkaloids and flavonoids enriched fractions from *Annona crassiflora* Mart. Nat. Product Res. 28 (16), 1254–1259. <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2014.900496>
- Pinto, M.E.F., Batista Jr, J.M., Koehbach, J., Gaur, P., Sharma, A., 2015. Ribifolin, an Orbitide from *Jatropha ribifolia*, and its potential antimalarial activity. J. Nat. Prod. 78 (3), 374–380. <https://doi.org/10.1021/np5007668>
- Pina-Costa, A.D., Brasil, P., Santi, S.M.D., Araujo, M.P.D., Suárez-Mutis, M.C., Oliveira-Ferreira, J., et al., 2014. Malaria in Brazil: what happens outside the Amazonian endemic region. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 109, 618–33.
- Pivatto, M., Baccini, L.R., Sharma, A., Nakabashi, M.; Danuello, A., et al., 2014. Antimalarial Activity of Piperidine Alkaloids from *Senna spectabilis* and Semisynthetic Derivatives. J. Braz. Chem. Soc. 25 (10), 1900–1906.
- Qayum, A., Arya, R., Lynn, A. 2016. Ethnobotanical perspective of antimalarial plants: traditional knowledge based study. BMC Res. Notes. 9, 67.
- Rathod, P.K., McErlean, T., Lee, P.C., 1997. Variations in frequencies of drug resistance in *Plasmodium falciparum*. Proc. Natl. Acad. Sci. Microbiol. 94, 9389–9393.
- Ribeiro, R.V., Bieski, I.G.C., Balogun, S.O., Martins, D.T.O., 2017. Ethnobotanical study of medicinal plants used by Ribeirinhos in the North Araguaia microregion, Mato Grosso, Brazil. J. Ethnopharmacol. 205, 69–102. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2017.04.023>
- Rocha-e-Silva, L.F., Pinto, A.C.S., Pohlitz, A.M., Quignard, E.L.j., et al., 2011. *In vivo* and *in vitro* antimalarial activity of 4-Nerolidylcatechol. Phytother. Res. 25, 1181–1188.
- Rocha-e-Silva, L.F., Montoia, A., Amorim, R.C.N., Melo, M.R., Henrique, M.C., et al., 2012. Comparative *in vitro* and *in vivo* antimalarial activity of the indole alkaloids ellipticine, olivacine, cryptolepine and a synthetic cryptolepine analog. Phytomed. 20, 71–76. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.09.008>

- Rocha-e-Silva, L.F., Lima, E.S., Vasconcelos, M.C.; Aranha, E.S.P.; Costa, D.S.; et al., 2013. *In vitro* and *in vivo* antimalarial activity and cytotoxicity of extracts, fractions and a substance isolated from the Amazonian plant *Tachia grandiflora* (Gentianaceae). Mem. Inst. Oswal. Cruz. 108(4), 501–507.
- Rocha-e-Silva, L.F., Ramalhete, C., Nogueira, K.L., Mulhovo, S., Ferreira, M.J.U., Pohlit, A.M., 2015. *In vivo* evaluation of isolated triterpenes and semi-synthetic derivatives as antimalarial agents. Europ. J. Med. Chem. 102, 398–402.
- Sá, M.S., Menezes, M.N., Krettli, A.U., Ribeiro, I.M., Tomassini, T.C.B.; et al., 2011. Antimalarial activity of Physalins B, D, F, and G. J. Nat. Prod. 74, 2269–227. [dx.doi.org/10.1021/np200260f](https://doi.org/10.1021/np200260f)
- Sá, M., 2011. A resistência à cloroquina e a busca de antimalariais entre as décadas de 1960 e 1980. Chloroquine resistance and the search for antimalarial drugs from the 1960s to 1980s. Hist., Cienc., Saúde – Manguinhos. 18, 2: 407–430. <https://doi.org/10.1590/S0104-59702011000200008>
- Santos, J.O., Pereira, G.R., Brandão, G.C., Borgati, T.F., et al., 2016. Synthesis, *in vitro* antimalarial activity and *in silico* studies of hybrid Kauranoid 1,2,3-triazoles derived from naturally occurring Diterpenes. J. Braz. Chem. Soc. 27 (3), 551–565. <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20150287>
- Santos, A.O.; Ueda-Nakamura, T.; Dias Filho, B.P.; Veiga-Junior, V.F.; Pinto, A.C.; Nakamura, C.V., 2008. Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 103, 277–281.
- Silva, N.C., Gonçalves, S.F., Araújo, L.S., Kasper, A.A.M., et al., 2019. *In vitro* and *in vivo* antimalarial activity of the volatile oil of *Cyperus articulatus* (Cyperaceae). Acta Amazonica. 49, 334 – 342.
- Silveira, N., Saar, J., Santos, A.D.C., Barison, A., et al., 2016. ‘A New Alkamide with na endoperoxide structure from *Acmella ciliata* (Asteraceae) and its *in vitro* antiplasmodial activity’ *Molecules*. 21, 1–10.

- Sinha, S., Sarma, P., Sehgal, R., Medhi, B., 2017. Development in assay methods for *in vitro* antimalarial drug efficacy testing: A systematic review. *Front. in Pharmacol.* 23, 8:754. doi: 10.3389/fphar.2017.00754
- Siqueira, A.M., Mesones-Lapouble, O., Marchesini, P., Sampaio, V.S., et al., 2016. *Plasmodium vivax* landscape in Brazil: Scenario and Challenges. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 95 (Suppl 6), 87–96. doi:10.4269/ajtmh.16-0204
- Spelman, K., Depoix, D., McCray, M., Mouray, E., Grellier, P., 2011. ‘The traditional medicine *Spilanthes acmella*, and the alkylamides Spilanthol and Undeca-2*E* -ene-8,10-diynoic acid isobutylamide, demonstrate *in vitro* and *in vivo* antimalarial activity’. *Phytother. Res.* 25, 1098–1101.
- Stephens, R., Culleton, R., Lamb, T.J., 2012. The contribution of *Plasmodium chabaudi* to our understanding of malária. *Trend. Parasitol.* 28 (2), 73–82. doi:10.1016/j.pt.2011.10.006
- Sweeney, T.R., 1984. Drugs with quinine-like action. In *Antimalarial Drugs. II. Current antimalarials and new drug developments.* (Eds.) Peters, W. & Richards, W. H. G., 267–324. Berlin, Heidelberg, New York, Toronto: SpringerVerlag.
- Tabuti, J.R.S., Obakiro, S.B., Nabatanzi, A., Anywar, G., et al., 2023. Medicinal plants used for treatment of malaria by indigenous communities of Tororo District, Eastern Uganda. *Trop. Med. Health.* 51, 34. <https://doi.org/10.1186/s41182-023-00526-8>
- Tajbakhsh, E., Kwenti, T.E., Kheuri, S., Nezaratzade, S., Lindsay, D., Khamesipour, F., 2021. Antiplasmodial, antimalarial activities and toxicity of African medicinal plants: a systematic review of literature. *Malar. J.* 20, 349.
- Tan, K.R., Arguin, P.M., 2020. Malaria. In: *Centers for Disease Control and Prevention – CDC Yellow Book, 2020.* Health Information for International Travel.: Travel-Related Infectious Diseases. Chapter 4. (Accessed March 2020).
- Taranto, A.G., Costa, S.C.C., Leite, F.H.A., Sá, M.S., Soares, M.B.P., Mussi, M.M., Branco, A., 2016. Caffeoylquinic acids from antiplasmodial active extract of *Xanthium cavanillesii* fruits and their molecular modelling studies. *Nat. Prod. Res.* 1 – 5. <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2016.1219856>

- Taylor, W.R.J., Meagher, N., Ley, B., et al., 2023. Weekly primaquine for radical cure of patients with *Plasmodium vivax* malaria and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. PLOS Negl Trop Dis. 17(9), e0011522. | <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011522>
- Thomchinsky, B., Ming, L.C., Kinupp, V.F., Hidalgo, A.F., Chaves, F.C.M., 2017. 'Ethnobotanical study of antimalarial plants in the middle region of the Negro River, Amazonas, Brazil' Acta Amazon. 47, 203–212.
- Tjitra, E., Anstey, N.M., Sugiarto, P., et al., 2008. Multidrug-resistant *Plasmodium vivax* associated with severe and fatal malaria: a prospective study in Papua, Indonesia. PLoS Med. 17, 5 (6), e128.
- Torres, Z.E.S., Silveira, E.R., Rocha-e-Silva, L.F., Lima, E.S., et al., 2013. Chemical Composition of *Aspidosperma ulei* Markgr. and antiplasmodial activity of selected indole alkaloids. Molecules. 18, 6281–6297. doi:10.3390/molecules18066281
- Trager, W., Jensen, J.B., 1976. Human malaria parasites in continuous culture. Science. 193, 673–675.
- Tran, T.M., Oliveira-Ferreira, J., Moreno, A., Santos, F., et al., 2005. Comparison of IgG reactivities to *Plasmodium vivax* merozoite invasion antigens in a Brazilian Amazon population. Am. J. Trop. Med. Hyg. 73:244–255
- Vale, V.V., Vilhena, T.C., Trindade, R.C.S., Ferreira, M.R.C., et al., 2015. Anti-malarial activity and toxicity assessment of *Himatanthus articulatus*, a plant used to treat malaria in the Brazilian Amazon. Malar. J. 14, 132. DOI 10.1186/s12936-015-0643-1
- Veiga-Junior, V.F., Pinto, A.C., 2002. O gênero *Copaifera* L. Quim. Nova. 25, 273–286.
- Veiga, J.B., Scudeller, V.V., 2015. Etnobotânica e medicina popular no tratamento de malária e males associados na comunidade ribeirinha Julião – baixo Rio Negro (Amazônia Central). Rev. Brasil. Plant. Medic. 17 (4), 737–747.
- World Health Organization, 2020. World malaria report: 20 years of global progress and challenges. Geneva. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240015791> (Accessed: 29 de November, 2020).

World Health Organization, 2021. World malaria report. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240040496>. (Accessed: 22 de December, 2021).

World Health Organization, 2022. World Malaria Report. <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2022>.

World Flora Online. <http://www.worldfloraonline.org>. (Accessed 8 July, 2023)

3.2. CAPÍTULO 02 - *IN VITRO* AND *IN VIVO* ANTIMALARIAL ACTIVITY, CYTOTOXICITY AND PHYTOCHEMICAL HRMS² PROFILE OF PLANTS FROM THE WESTERN PARÁ STATE, BRAZILIAN AMAZONIA

Santos, M.B.V., Gontijo, D.C.G., Nascimento, M.F.A., De Paula, R.C., Bellei, J.C.B., Raimundo, F.O., Scopel, K.G., Oliveira, A.B., Mourão, R.H.V.

Publicado na revista *Chemistry and Biodiversity* (<https://doi.org/10.1002/cbdv.202301082>). Fator de impacto 2.9, Qualis A4 (Classificações de periódicos quadriênio 2017 – 2020). O artigo está disposto com as tabelas e figuras inseridas no corpo do texto para melhor avaliação dos membros da banca examinadora.

***In Vitro* and *in Vivo* Antimalarial Activity, Cytotoxicity and Phytochemical HRMS² Profile of Plants from the Western Pará State, Brazilian Amazon**

Maria Beatriz Viana dos Santos,^[a, b, c] Douglas Costa Gontijo,^[c, d]
 Maria Fernanda Alves do Nascimento,^[c] Renata Cristina de Paula,^[c]
 Jessica Correia Bezerra Bellei,^[e] Felipe Oliveira Raimundo,^[e] Kezia Katiani Gorza Scopel,^[e]
 Alaíde Braga de Oliveira,^{*, [a, b, c]} and Rosa Helena Veras Mourão^[a, b]

Ethnopharmacology and botanical taxonomy are valid criteria used to selecting plants for antimalarial bioprospection purposes. Based on these two criteria, ethanol extracts 11 plants from Santarém City vicinities, Western Pará State, Brazilian Amazonia, had their *in vitro* antiplasmodial activity against chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* (W2 clone) assessed by the *PLDH* method, whereas their cytotoxicity to HepG2-A16 cells was assessed through MTT assay. *Acmella oleracea*, *Siparuna krukovi* and *Trema micrantha* extracts disclosed the highest rate of parasite growth inhibition (90 %) in

screening tests. *In vivo* antimalarial assays were conducted with these species extracts against *Plasmodium berghei* (NK 65 strain) infected mice. Inhibition rate of parasite multiplication ranged from 41.4 % to 60.9 % at the lowest extract dose (25 mg/kg). HPLC-ESI-HRMS² analyses allowed the putative identification of alkylamides, fatty acids, flavonoid glycosides and alkaloids in ethanol extracts deriving from these three plant species. Results pointed towards *A. oleracea* flowers ethanol extract as the most promising potential candidate to preclinical studies aiming the development of antimalarial phytomedicine.

■■Dear author, please add the academic titles■■■

Introduction

Amazonian biodiversity is internationally regarded as bioprospection hotspot that could afford therapeutic agents to treat any disease type, as well as food to fight famine besides being of fundamental importance to questions such climate change

and biodiversity conservation.^[1] Ethnopharmacological data of Amazonian plants are available in the literature and support the use of such information in scientific investigations^[2,3,4,5] In fact, natural products have directly or indirectly contributed to the discovery of antimalarial drugs, as chemical entities, derivatives and templates for the synthesis of structurally related drugs.^[6]

Therefore, it is important reminding that human malaria is an endemic disease in 84 tropical and subtropical regions in African, South-Eastern Asian, Eastern Mediterranean and South American countries. According to WHO (World Health Organization), there was a global increase in malaria cases and associated deaths from 2015 to 2020.^[7] With respect to Latin America, the estimated increase in the number of malaria cases was mainly observed in Venezuela, Brazil and Colombia, accounting for 77 % of cases in this region. Malaria is also endemic in the Amazonian biome in Brazil, accounting for over 99 % of malaria cases in Brazil. *P. falciparum* and *P. vivax* are the main malaria parasites, *P. vivax* is the prevalent one in Brazil (68 %).^[7,8]

Eleven plant species occurring in the Western Pará State, which is a malaria hotspot in the Brazilian Amazonia, had their *in vitro* antiplasmodial activity and cytotoxicity as well as *in vivo* antimalarial activity aiming to contribute to a rational research on plants traditionally used to treat malaria. Phytochemical profile of the most bioactive plants was also performed. *Acmella oleracea*,^[3] *Lippia origanoides*,^[9] *Senna quinquangulata*,^[10] and *Trema micrantha*^[11] were selected based on ethnopharmacological data. Furthermore, the herein adopted taxonomic approach encouraged investigation on plants belonging to genera traditionally used by local populations, namely: *Siparuna*

[a] M. B. Viana dos Santos, A. B. de Oliveira, R. H. Veras Mourão
 Laboratório de Bioprospecção e Biologia Experimental – LabBBEx,
 Universidade Federal do Oeste do Pará, Rua Vera Paz, s/n, Salé, 68035-110,
 Santarém, PA, Brazil
 E-mail: alaidebragaoliveira@gmail.com

[b] M. B. Viana dos Santos, A. B. de Oliveira, R. H. Veras Mourão
 Programa de Pós-Graduação Doutorado em Rede de Biodiversidade e
 Biotecnologia – BIONORTE/Polos Pará, Universidade Federal do Pará, Rua
 Augusto Corrêa, 01, Guamá, 66075-110, Belém, PA, Brazil

[c] M. B. Viana dos Santos, D. Costa Gontijo, M. F. Alves do Nascimento,
 R. C. de Paula, A. B. de Oliveira
 Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – PPGCF,
 Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio
 Carlos, 6627, Pampulha, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil

[d] D. Costa Gontijo
 Divisão de Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade de
 Brasília, s/n, Asa Norte, 70910-900, Brasília, DF, Brazil

[e] J. C. Bezerra Bellei, F. O. Raimundo, K. K. Gorza Scopel
 Department of Parasitology, Microbiology and Immunology and Programa
 de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Research Centre of Parasitology,
 Universidade Federal de Juiz de Fora, Rua José Lourenço Kelmer, s/n, São
 Pedro, 36036-900, Juiz de Fora, MG, Brazil

Supporting information for this article is available on the WWW under
<https://doi.org/10.1002/cbdv.202301082>

***In Vitro* and *In Vivo* Antimalarial Activity, Cytotoxicity and Phytochemical HRMS2 Profile of Plants from the Western Pará State, Brazilian Amazon**

Maria Beatriz Viana dos Santos,[a, b, c] Douglas Costa Gontijo,[c, d] Maria Fernanda Alves do Nascimento,[c] Renata Cristina de Paula,[c] Jessica Correia Bezerra Bellei,[e] Felipe Oliveira Raimundo,[e] Kezia Katiani Gorza Scopel,[e] Alaíde Braga de Oliveira,*[a, b, c] and Rosa Helena Veras Mourão[a, b]

[a] M. B. Viana dos Santos, A. B. de Oliveira, R. H. Veras Mourão Laboratório de Bioprospecção e Biologia Experimental – LabBBEx, Universidade Federal do Oeste do Pará, Rua Vera Paz, s/n, Salé, 68035-110, Santarém, PA, Brazil E-mail: alaidebragaoliveira@gmail.com

[b] M. B. Viana dos Santos, A. B. de Oliveira, R. H. Veras Mourão Programa de Pós-Graduação Doutorado em Rede de Biodiversidade e Biotecnologia – BIONORTE/Polos Pará, Universidade Federal do Pará, Rua Augusto Corrêa, 01, Guamá, 66075-110, Belém, PA, Brazil

[c] M. B. Viana dos Santos, D. Costa Gontijo, M. F. Alves do Nascimento, R. C. de Paula, A. B. de Oliveira Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – PPGCF, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil

[d] D. Costa Gontijo Divisão de Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade de Brasília, s/n, Asa Norte, 70910-900, Brasília, DF, Brazil

[e] J. C. Bezerra Bellei, F. O. Raimundo, K. K. Gorza Scopel Department of Parasitology, Microbiology and Immunology and Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Research Centre of Parasitology, Universidade Federal de Juiz de Fora, Rua José Lourenço Kelmer, s/n, São Pedro, 36036-900, Juiz de Fora, MG, Brazil

Supporting information for this article is available on the WWW under <https://doi.org/10.1002/cbdv.202301082>

Abstract

Ethnopharmacology and botanical taxonomy are valid criteria used to selecting plants for antimalarial bioprospection purposes. Based on these two criteria, ethanol extracts 11 plants from Santarém City vicinities, Western Pará State, Brazilian Amazonia, had their *in vitro* antiplasmodial activity against chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* (W2 clone) assessed by the PfLDH method, whereas their cytotoxicity to HepG2-A16 cells was assessed through MTT assay. *Acmella oleracea*, *Siparuna krukovii* and *Trema micrantha* extracts disclosed the highest rate of parasite growth inhibition (90%) in screening tests. *In vivo* antimalarial assays were conducted with these species extracts against *Plasmodium berghei* (NK 65 strain) infected mice. Inhibition rate of parasite multiplication ranged from 41.4% to 60.9% at the lowest extract dose (25 mg/kg). HPLC-ESI-HRMS2 analyses allowed the putative identification of alkylamides, fatty acids, flavonoid glycosides and alkaloids in ethanol extracts deriving from these three plant species. Results pointed towards *A. oleracea* flowers ethanol extract as the most promising potential candidate to preclinical studies aiming the development of antimalarial phytomedicine.

Introduction

Amazonian biodiversity is internationally regarded as bioprospection hotspot that could afford therapeutic agents to treat any disease type, as well as food to fight famine besides being of fundamental importance to questions such climate change and biodiversity conservation.[1] Ethnopharmacological data of Amazonian plants are available in the literature and support the use of such information in scientific investigations [2,3,4,5] In fact, natural products have directly or indirectly contributed to the discovery of antimalarial drugs, as chemical entities, derivatives and templates for the synthesis of structurally related drugs.[6]

Therefore, it is important reminding that human malaria is an endemic disease in 84 tropical and subtropical regions in African, South-Eastern Asian, Eastern Mediterranean and South American countries. According to WHO (World Health Organization), there was a global increase in malaria cases and associated deaths from 2015 to 2020.[7] With respect to Latin America, the estimated increase in the number of malaria cases was mainly observed in Venezuela, Brazil and Colombia, accounting for 77% of cases in this region. Malaria is also endemic in the Amazonian biome in Brazil, accounting for over 99% of malaria cases in Brazil.

P. falciparum and *P. vivax* are the main malaria parasites, *P. vivax* is the prevalent one in Brazil (68%).[7,8]

Eleven plant species occurring in the Western Pará State, which is a malaria hotspot in the Brazilian Amazonia, had their *in vitro* antiplasmodial activity and cytotoxicity as well as *in vivo* antimalarial activity aiming to contribute to a rational research on plants traditionally used to treat malaria. Phytochemical profile of the most bioactive plants was also performed. *Acmella oleracea*, [3] *Lippia origanoides*, [9] *Senna quinquangulata*, [10] and *Trema micrantha* [11] were selected based on ethnopharmacological data. Furthermore, the herein adopted taxonomic approach encouraged investigation on plants belonging to genera traditionally used by local populations, namely: *Siparuna krukovii*, [12,13] *Abuta* sp, [4,14,15] *Ampelozizyphus* sp, [3,4,15] *Aniba* sp, [15,16] *Aspidosperma* sp, [3,15] *Croton* sp, [3,4,15] and *Virola* sp.[14,17]

Results

Biological Activity Screening ethanol extracts of plants occurring in Western Pará State, Brazilian Amazonia, for *in vitro* antiplasmodial and cytotoxicity effects

Primary screening of ethanol extracts from the 11 selected plants was carried out to investigate for their *in vitro* antiplasmodial activity against chloroquine-resistant *P. falciparum* (W2 strain), as well as their cytotoxicity to HepG2 cell cultures. Results are shown in Table 1. Extracts with % GI >50 in antiplasmodial assay were considered potentially active. Furthermore, most extracts did not show cytotoxicity at the concentration of 100 µg/mL. *Abuta* sp ethanol extract was the only cytotoxic one (CC₅₀ 31.9 ± 2.7 µg/mL), *Aniba* sp and *Virola* sp disclosed CC₅₀ 57.5 ± 1.8 µg/mL and 57.6 ± 2.5 µg/mL, respectively; they were thus considered moderately cytotoxic (Table 1). Because *Abuta* sp and *Croton* sp were not taxonomically determined, their extracts were not phytochemically featured. *A. oleracea*, *S. krukovii* and *T. micrantha* ethanol extracts were statically equivalents with %GI close to 90 at the concentration of 50 µg/mL. Therefore, these three plant species stood out as the most promising ones of the 11 screened by *in vitro* and *in vivo* assessment herein reported support the further studies aiming to validate their antimalarial potential [18,19,20,21]

Table 1. *Plasmodium falciparum* (W2) growth inhibition rate (% GI) and 50% cytotoxicity concentration (CC₅₀) of HepG2 cells observed for extracts from plants occurring in Western Pará State, Brazilian Amazonia.

Species	Plant part	% Growth inhibition		Cytotoxicity CC ₅₀ (µg/mL)
		[100.0 µg/mL]	[50.0 µg/mL]	
<i>Acmella oleracea</i>	Flowers	94.70 ± 5.10 ^A	92.30 ± 7.60 ^A	> 100.00 ^C
<i>Lippia origanoides</i>	Leaves	69.00 ± 6.20 ^{BC}	57.00 ± 3.70 ^B	> 100.00 ^C
<i>Senna quinquangulata</i>	Leaves	66.00 ± 5.00 ^{BC}	47.00 ± 2.00 ^C	> 100.00 ^C
<i>Siparuna krukovii</i>	Leaves	91.60 ± 8.50 ^A	73.00 ± 3.60 ^{AB}	> 100.00 ^C
<i>Trema micrantha</i>	Leaves	95.30 ± 3.50 ^A	82.00 ± 8.80 ^A	> 100.00 ^C
<i>Abuta sp</i>	Leaves	91.30 ± 7.80 ^A	89.30 ± 8.40 ^A	31.90 ± 2.70 ^A
<i>Ampelozizyphus sp</i>	Bark	26.00 ± 6.20 ^D	17.30 ± 5.80 ^E	> 100.00 ^C
<i>Aniba sp</i>	Bark	62.70 ± 6.00 ^C	46.30 ± 1.50 ^C	57.50 ± 1.80 ^B
<i>Aspidosperma sp</i>	Bark	71.00 ± 2.70 ^B	56.70 ± 2.30 ^B	> 100.00 ^C
<i>Croton sp</i>	Bark	88.70 ± 3.20 ^A	84.70 ± 2.50 ^A	> 100.00 ^C
<i>Virola sp</i>	Bark	53.00 ± 3.60 ^C	35.70 ± 6.80 ^D	57.60 ± 2.50 ^B
Chloroquine diphosphate	—	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00*	32.10 ± 1.70 ^A

Note: Means (± SD, n = 3) followed by different letters were significantly different within columns (Tukey test's, $p = 0.05$). Statistical analyses of parasitemia reduction at 100.0 and 50.0 µg/mL were performed separately for each concentration analyzed. *Statistical analysis of the antiplasmodial activity of the chloroquine control was performed separately for each sample and concentration, and significant to $p < 0.05$.

Based on the current results, *Acmella oleracea*, *Siparuna krukovii* and *Trema micrantha* stood out as the most active species out of the eleven assayed ones (Table 1) – their ethanol extracts had their activity in vitro assessed to determining their IC₅₀. Thus, the highest antiplasmodial activity was recorded for *A. oleracea* flowers extract, followed by *T. micrantha* and, finally, by *S. krukovii* – IC₅₀=28.93 ± 6.97 µg/mL, 25.05 ± 1.71 µg/mL, and 23.08 ± 8.70 µg/mL, respectively. However, differences in IC₅₀ values among these species were not statistically significant ($p=0.05$).

***In vivo* antimalarial activity of *Acmella oleracea*, *Siparuna krukovii* and *Trema micrantha* extracts against *Plasmodium berghei* (NK65 strain) infected mice**

The inhibition rate of parasite multiplication was determined at the 4th dpi (day post infection), after the last dose of the extracts was administered to infected mice. Parasitemia levels have significantly reduced in all treated groups, mean parasite multiplication inhibition rate ranged from 41.4% to 60.9% and no dose-effect association was observed (Table 2). The highest parasite inhibition rate (60.9%) was observed for the lowest *T. micrantha* extract dose (25 mg/kg); it was close to that observed for the CQ-treated group (66% inhibition). On the 6th dpi (exactly 48 hours after the last dose of treatment) an expressive rate decrease, was observed especially in those mice that received *A. oleracea* and *T. micrantha* extracts. The lowest extract effectiveness was observed in the 6th dpi, in animals treated with *T. micrantha* extract, for which no parasites inhibition was observed (Table 2). Mean parasitemia observed for each extract at the 8th dpi was similar in both treated and non-treated. No side effects were observed in any of the herein applied doses (Table 2).

Table 2. *In vivo* antimalarial activity of *Acmella oleracea*, *Siparuna krukovii* and *Trema micrantha* extracts against *Plasmodium berghei* (NK65 strain) infected mice.

Ethanol extract	Dose (mg/kg)	Parasitemia on 4 th dpi (Mean $\pm$ SD)	Parasitemia on 6 th dpi (Mean $\pm$ SD)	Parasitemia on 8 th dpi (Mean $\pm$ SD)	Inhibition of parasite multiplication (%) on 4 th dpi	Inhibition of parasite multiplication (%) on 6 th dpi	Inhibition of parasite multiplication (%) on 8 th dpi	n/group on 4 th dpi	n/group on 6 th dpi	n/group on 8 th dpi
<i>Acmella oleracea</i> flowers	25	0.75 $\pm$ 0.10 ^{AB}	5.40 $\pm$ 0.55	6.70 $\pm$ 0.29	41.41	0.74	0	5/5	5/5	5/5
	50	0.72 $\pm$ 0.21 ^{AB}	5.00 $\pm$ 0.50	6.20 $\pm$ 0.98	43.75	8.09	0	5/5	5/5	5/5
	100	0.66 $\pm$ 0.09 ^{AB}	5.14 $\pm$ 1.10	6.52 $\pm$ 0.76	48.44	5.51	0	5/5	5/5	5/5
<i>Siparuna krukovii</i> leaves	25	0.60 $\pm$ 0.25 ^{AB}	4.00 $\pm$ 0.56 ^A	7.50 $\pm$ 0.69	49.15	25.95	0	5/5	5/5	5/5
	50	0.50 $\pm$ 0.11 ^{AB}	3.90 $\pm$ 0.44 ^A	7.70 $\pm$ 0.70	57.63	27.77	0	5/5	5/5	5/5
	100	0.60 $\pm$ 0.35 ^{AB}	4.10 $\pm$ 0.46 ^A	7.78 $\pm$ 0.56	49.15	24.07	0	5/5	5/5	5/5
<i>Trema micrantha</i> leaves	25	0.50 $\pm$ 0.09 ^{AB}	5.80 $\pm$ 1.22	7.90 $\pm$ 0.64	60.90	0	0	5/5	5/5	5/5
	50	0.60 $\pm$ 0.15 ^{AB}	6.30 $\pm$ 0.42	7.90 $\pm$ 1.52	53.13	0	0	5/5	5/5	5/5
	100	0.75 $\pm$ 0.26 ^{AB}	5.45 $\pm$ 0.76	8.50 $\pm$ 0.86	41.40	0	0	5/5	5/5	5/5
CQ	10	0.48 $\pm$ 0.16 ^A	0.70 $\pm$ 0.10 ^A	0.90 $\pm$ 0.16 ^A	66%	85%	83%	5/5	5/5	5/5
Vehicle	mL	1.28 $\pm$ 0.16	5.44 $\pm$ 0.36	6.00 $\pm$ 0.23	–	–	–	5/5	5/5	5/5

Note: CQ = Chloroquine; Vehicle = treated water; dpi = day post infection; a = *p* value < 0.05 (compared to the Vehicle group); b = *p* value > 0.05 (compared to the CQ-treated group). ANOVA + Post Tukey Test.

Phytochemical Analysis

TIC's (Total Ion Chromatogram) major constituent peaks detected in HPLC-ESI-HRMS² acquisitions were putatively identified in ethanol extracts from *Acmella oleracea*, *Siparuna krukovii* and *Trema micrantha* (Table S1). LC-MS characterization is described in the literature for most putatively identified compounds.[22,23] Nine compounds belonging to different structural classes, such as alkamides, sugar, phenolic acids and fatty acids, were putatively identified in the ethanol extract from *A. oleracea* flowers, in comparison to data available in the literature (Figure 1). The alkylamide known as Spilanthol (Figure 1.8) is the major constituent of *A. oleracea* flowers. To the best of our knowledge, a new hydroxy-alkamide is herein described for the first time and its proposed fragmentations are shown in Figure 2.

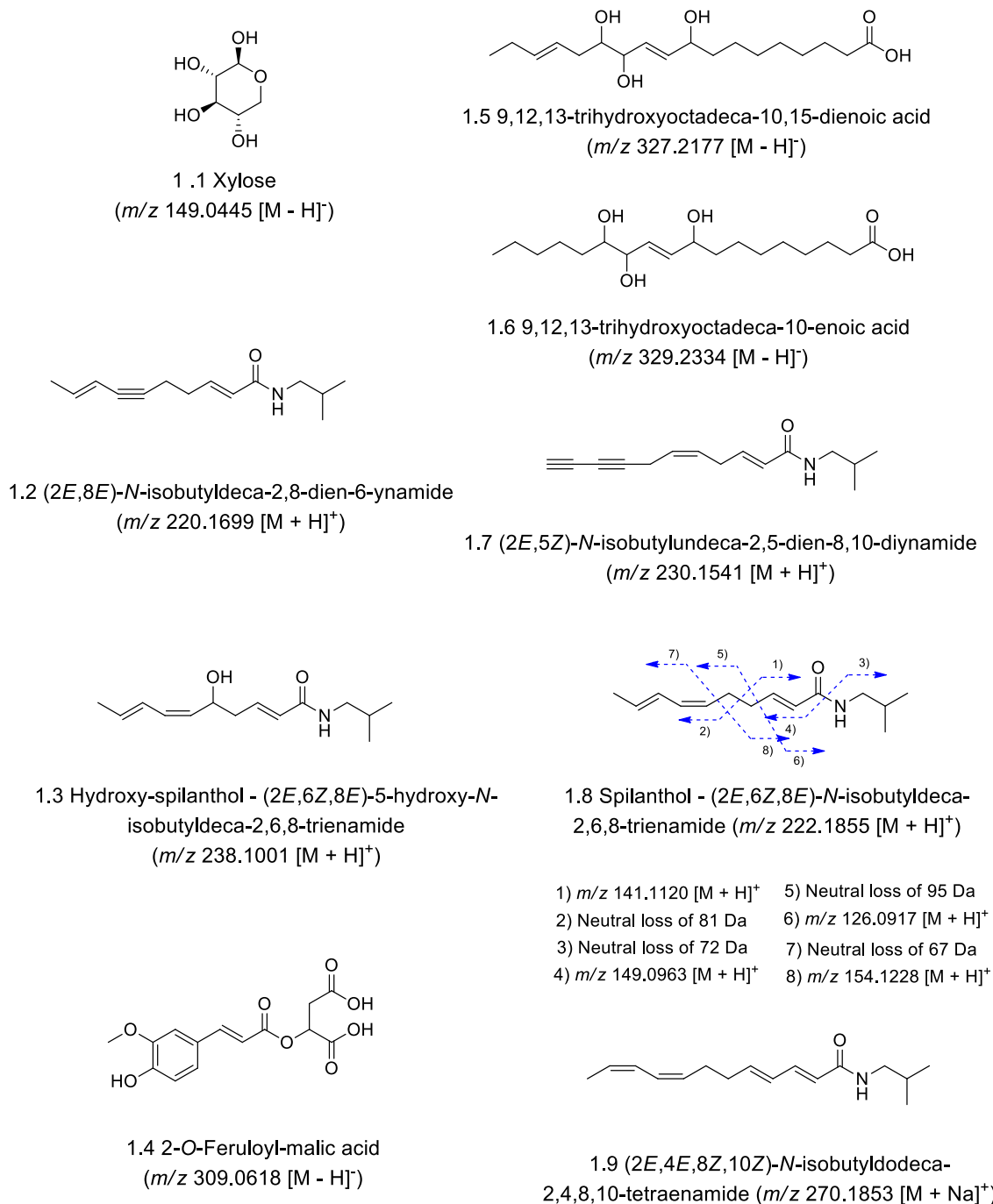


Figure 1. Chemical structures of compounds putatively identified by HPLC-ESI-HRMS² in flowers ethanol extracts from *Acmella oleracea* occurring in Pará State, Brazilian Amazonia.

BIA_AO_PRM_POS #1392 RT: 6.21 AV: 1 NL: 1.01E7

F: FTMS + p ESI Full ms2 238.1806@hcd30.00 [100.0000-260.0000]

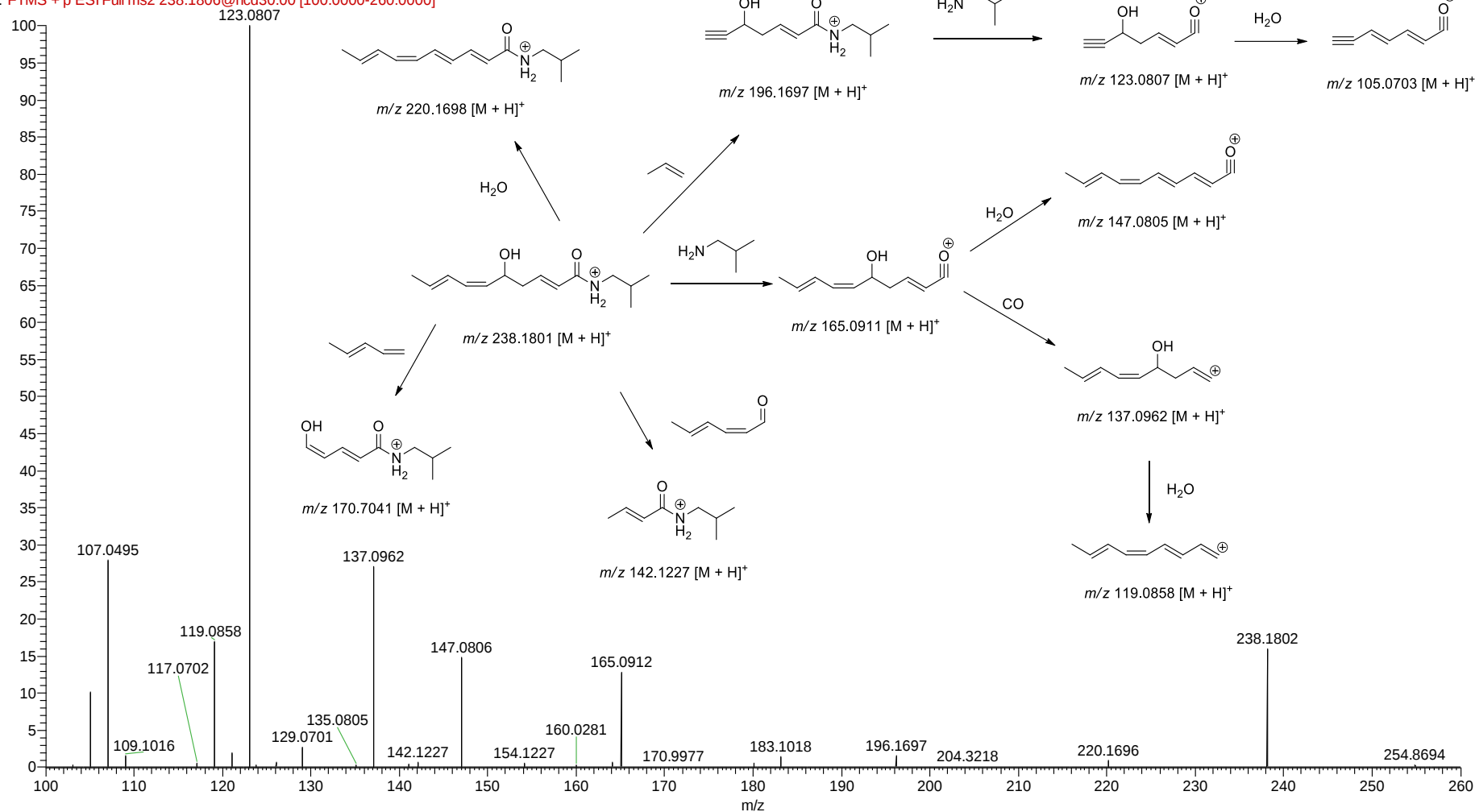


Figure 2. Proposed HRMS² fragmentations for hydroxy-spilanthol ((2E,6Z,8E)-5-hydroxy-N-isobutyldeca-2,6,8-trienamide), molecular ion at m/z 238.1801 [M + H]⁺, a supposed new alkylamide.

Benzyltetrahydroisoquinolines, protoberberines and aporphines are often found in plants belonging to family Siparunaceae. Fragment ions detected in positive LC-HRMS² support the proposed structures of reticuline, coclaurine, isocorypalmine and anonaine (Figure 3) putatively identified as the major compounds in *S. krukovii* extract. This finding corroborates reports on LC–MS analyses applied to the aforementioned species,[24,25] as shown in Table S1. On the other hand, the supposed identification of compounds in ethanol extract from *T. micrantha* leaves was inferred based on LC-ESI-HRMS² data. Losses of neutral 132 Da and 150 Da fragments corresponding to ions' fragmentation at m/z 449.1080 [M+H–132]⁺ and m/z 431.0974 [M+H–132–18]⁺, respectively, were indicative of pentose residue in the chemical structure of this compound.[26] In addition, the association between these data and the aforementioned fragment ions, as well as lack of neutral loss of 60 Da ([M+H–60 Da]⁺ fragment) in the HRMS² spectrum, which is often generated by C-pentose derivatives' fragmentation, have suggested that this sugar may be an O-pentoside, likely one of the stereoisomers arabinoside or xyloside. Furthermore, peaks observed at m/z 329.0655 [M+ H–132–120]⁺, at the base peak, and the one observed at m/z 359.0762 [M+H–132–90]⁺ were indicative of C-glycosyl residue linked to flavone genin, as well as consistent with likely regioisomers, such as orientin or isoorientin. Thus, the putative compound might be (iso)orientin-2''-O-(arabinoside or xyloside) (Figure 4.1). Based on similar analyses applied to the main peaks observed at m/z 433.1128 [M+H–132]⁺ and to the base peak observed at m/z 313.0704 [M+H–132–120]⁺, the second major peak detected in the extract could be attributed to (iso)vitexin2''-O-(arabinoside or xyloside) (Figure 4.2). Negative fragment ions observed for both flavone heterosides have confirmed the structural proposals deriving from LC-HRMS² analyses under positive conditions (Table S1). LC–MS data about the supposed flavone heterosides were not found in the literature; thus, their likely structures were inferred based on HRMS² analyses, whose results have shown agreement with fragmentations observed for (iso)vitexin and (iso)orientin compounds.[27] Vitexin was isolated from ethanol extract deriving from *Trema micrantha* leaves;[28] therefore, (iso)vitexin-2''-O-(arabinoside or xyloside) putative identification was consistent with the reported observation for both vitexin and its derivatives as phytochemical markers in plant species belonging to the genus *Trema*.

Discussion

The emergence and spread of multidrug-resistant malaria parasite strains to artemisinin and ACTs [29] have raised concerns about the urgent need of finding new antimalarial drugs, as well as the rational and sustainable development of phytomedicines. The rich Amazonian biodiversity is a potential source of new drugs to be explored. Indeed, traditional and folk medicinal plants used in this biome for malaria treatment should be intensively investigated. Basic requirements that must be attended for preclinical studies for antimalarial phytomedicines activity and cytotoxicity screening, as well as active compounds' identification and quantification, standardization of extracts to be used and pre-clinical studies to develop efficient and safe phytomedicines.[30,31]

LC–MS analysis has evidenced the simple phytochemical profile of *A. oleracea* ethanol extract, which presented spilanthol as its major metabolite; therefore, it can be considered a phytochemical marker of this species and this feature can help developing a new phytomedicine. Furthermore, the herein proposed identification of major metabolites based on HRMS² data can also guide phytochemical studies focused on isolating antimalarial compounds in bioactive extracts. *A. oleracea* naturally grows in tropical regions near the Equator line, mainly in Africa, Asia and South America, is called jambú in Brazil. The whole plant is used as medicinal remedy, mainly to treat toothache.[32] Pharmacological study has shown that spilanthol presented antimalarial activity against two *P. falciparum* strains (PFB strain originated from Brazil and chloroquine-resistant K1 strain originated from Thailand). Spilanthol has shown good antimalarial activity – its IC₅₀ ranged from 5.8 to 41.4 µg/mL.[33] The antimalarial activity herein described for *A. oleracea* flowers may be associated with the presence of spilanthol and undeca2E-ene-8,10-diynoic acid isobutylamide in its ethanol extract given their well-known antimalarial activity against *P. falciparum*. [33,34] Indeed, the current data corroborate a study conducted *in vivo*, which evidenced that water extract deriving from *S. acmella*, at the concentration of 50 mg/kg, reduced parasitemia in mice infected with *Plasmodium yoelii* by up to 53%, at the 5th dpi.[34] It is noteworthy that the *in vivo* antimalarial activity observed of *S. acmella* flowers ethanol extract described here showed, in the 4th dpi, the inhibition of parasite multiplication was of 41.4%, 43.75% and 48.44% in doses of 25, 50 and 100 mg/kg, respectively. This is a good result since, in the *in vivo* assays, a sample is considered active when it promotes a parasitemia reduction >30%.[35] However, it is worth

emphasizing that in the aforementioned study the extracts were administered by intraperitoneal route whereas the current study gavage (oral route) was used. However, it is worthy pinpointing that the investigated extracts did not show sterilizing-type antimalarial activity throughout the five-day treatment; besides, its activity has significantly decreased within 48 hours after the end of the treatment. This finding may be associated with the fast excretion of the most active compounds found in these extracts, although this assumption requires further investigation. On the other hand, CQ's long effect on parasite development is linked to its long half-life (20– 60 days, on average) in the bloodstream.[36,37] Finally, just as few studies focused on investigating the antiplasmodial activity *in vivo* of *A. oleracea* extracts,[38] few toxicological studies conducted with *A. oleracea* extracts are available in the literature and none of them was carried out with humans. No toxic effects on animal model was observed for hydroethanol extract deriving from *A. oleracea* flowers or for its major compound, i. e., spilanthol. These findings reinforce the safety of long-term *A. oleracea* consumption.[39] Thus, the extensive use of jambú in the traditional cuisine of Northern Brazil can be also a sign of its safety for human consumption purposes.

No citation about the phytochemistry and ethnopharmacology of *Siparuna krukovii* A. C. Sm. (syn. *Siparuna langsdorfii* Tolm.), which mainly grows in the Amazonian rainforest, was found in the literature.[40] The current study is the first to report antimalarial activity by this plant species, which was selected based on taxonomic approach, since several antiplasmodial alkaloids deriving from *Siparuna* species, such as coclaurine and reticuline, were reported in the literature.[24,41,42,43] Complex LCHRMS phytochemical profile was herein observed for *S. krukovii* extract - such a profile is capable of hindering its standardization process, which is a fundamental step in medicinal plant validation processes.

Trema micrantha (Cannabaceae) is found in the Americas, from Florida (USA) to Southern Brazil. It is the only *Trema* species growing in all Brazilian biomes [44] and its ethnopharmacological use as antimalarial drug is well known in the Brazilian Amazon.[11] To the best of our knowledge, the current study was the first to report antiplasmodial activity of *T. micrantha* plants growing in Brazil. However, *T. micrantha* leaves have shown significant toxicity associated with both natural and experimental poisoning in goats, sheep and horses, who presented liver necrosis and encephalopathy.[45] Other *Trema* species, such as *Trema orientalis* Linn. Blume (syn. *Celtis orientalis* Linn.), are widely distributed in South Africa,

Middle East, India, as well as from Southern China to Southeast Asia and Australia. This species is used in Nigeria as prophylactic agent, as well as to treat malaria, a fact that turns it into one of the most investigated *Trema* species in antimalarial assays conducted *in vitro* and/or *in vivo*. [46,47,48]

Conclusions

The present research showed that *A. oleracea* (Asteraceae), *S. krukovii* (Siparunaceae) and *T. micrantha* (Cannabaceae) were the most active out of the 11 plant extracts investigated for antimalarial activity. HPLC-ESI-HRMS² data of the three most bioactive extracts, showed the presence mainly of alkylamides (*A. oleracea*), alkaloids (*S. krukovii*) and flavones (*T. micrantha*). The *in vivo* assays against *P. berghei* infected mice showed that *A. oleracea* (syn. *Spilanthes acmella*) an herbal plant used in traditional medicine in Brazil and in other malarial countries, has the best profile as a potential candidate to the development of an antimalarial phytomedicine. However, the limited knowledge on *A. oleracea* preclinical studies in animals are requirements to confirming a candidate to the development of an antimalarial phytomedicine before translation to clinical trials. The results described here demonstrate that ethanol extract of *A. oleracea* flowers deserve further preclinical investigation as a potential antimalarial phytomedicine.

Experimental Section

Plant material

The 11 plant materials were collected in 2019 in the West Pará State, Brazilian Amazon (Table S2). The research with these plants was registered in Brazil, SisGEN System, under the Code A287942.

Preparation of ethanol extracts

After drying in a circulating air oven at 40°C, the different plant parts were milled and the powders were submitted to extraction. Thus, powdered part of each plant was submitted to extraction with ethanol (96%) under heating at 50°C for 30 min (plant:solvent ratio, 1:10 w/v). Subsequently, the extractive solutions were concentrated in a rotary evaporator affording the dry ethanol extracts (Table S2).

HPLC-ESI-HRMS² Acquisition

Mass detection of extract metabolites was performed in a system consisting of an Ultimate 3000 HPLC (Thermo Scientific) coupled to a QExactive high-resolution mass spectrometer (Thermo Scientific). An H-ESI (heated electrospray ionization) source in positive and negative modes was used for monitoring the compounds by HRFS (high resolution full scan) and in the parallel reaction monitoring (PRM) experiments. Phenyl-hexyl C-18 column at 20°C was used in liquid chromatography separation. The mobile phase consisted of water 0.1% formic acid (solvent A) and acetonitrile 0.1% formic acid (solvent B). The elution protocol was 0–18 min with curved gradient (5) from 30% to 75% B, isocratic elution with 75% B in 18–25 min, curved gradient (5) between 25–32 min with curved gradient (5) from 75% to 100% B, and kept in 100% B between 32–35 min. The flow rate was 0.3 mL min⁻¹, and the sample injection volume was 10.0 µL. The mass spectra were generated by heated electrospray ionization (HESI) that were operated in the following conditions: positive and negative ion modes; capillary temperature, 350°C; vaporizer temperature, 250 °C; sheath gas, 30 psi; and collision energy was set at 35 eV. Analyses were run in the full scan mode (100–100 Da). The data were processed using the Xcalibur® program. The different classes of secondary metabolites were characterized based on the typical fragmentation patterns by sequential MS² analyses (HRMS²) and comparison to the literature data.

In vitro Antiplasmodial assay

Chloroquine resistant *P. falciparum* (W2 strain) was grown and synchronized with 5.0% sorbitol.[49] Evaluation of the *in vitro* antiplasmodial activity was performed by the quantification of the parasitic enzyme lactate dehydrogenase (PfLDH).[50] Ring trophozoite stage cultures (parasitemia of 2% and hematocrit of 1%) and two concentrations of the extracts (50.0 and 100.0 µg/mL) were used in the screening assays. For determination of the IC₅₀ (Inhibitory Concentration 50%), 5 different concentrations (6.25, 12.5, 25.0, 50.0 and 100.0 µg/mL) of the ethanol extracts were evaluated to obtain concentration-response curves plotted with sigmoidal fit. In each experiment, wells with uninfected and infected red blood cells (RBC) without drug were included as negative and positive controls of growth, respectively. Chloroquine diphosphate salt was the standard antimalarial drug. After 48h of incubation under CO₂, plates were frozen (twice) to promote cell lysis. The lysate (15 µL) was added to Malstat reagent (100 µL) and NBT (nitroblue tetrazolium)/PES (phenazine ethosulphate) (25.0 µL),

followed by incubation (1 h at 37°C) under light and subsequent reading at 540 nm. Cell viability (%) was calculated as the ratio between non-infected (100% viable) and infected without treatment (0% viable) RBCs.

***In vitro* Cytotoxicity assay**

Cell viability was determined by the MTT (3-(4,5-dimethyltriazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) method.[51] HepG2 A16 cells (human hepatocellular carcinoma) (4×10⁵ cells/0.1 mL) were grown in RPMI-1640 medium, supplemented with 5% of fetal calf serum, kept in a 5% CO₂ atmosphere at 37°C. The extracts were dissolved in RPMI-1640 and dimethyl sulphoxide (DMSO) (0.02%, v/v). Chloroquine, the standard drug in the antimalarial assay was also used as reference in the cytotoxicity evaluations. After 24h, the extracts were added at the concentration of 100 µg/mL followed by 24h of further incubation. The MTT (2.0 mg/mL) was added, followed by incubation at 37°C in an atmosphere of 5% CO₂ for 4 h. DMSO was added to each well, and the reactions were mixed to solubilize the formazan crystals. The optical density was determined at 570 nm and 630 nm to measure the signal and background, respectively. The cell viability was expressed as a percentage of the control absorbance in the untreated cells after subtracting the appropriate background.

***In vivo* antimalarial assays**

The *in vivo* antimalarial activity was evaluated in C57BL/6 female mice, 6–8 weeks of age, were inoculated with 10⁵ *Plasmodium berghei* (NK 65 strain) infected red blood cells (iRBC) through gavage (oral route) and randomly distributed in groups of five mice each. The animals were supplied by the Biology Research Center, Federal University of Juiz de Fora after protocol approval by Ethical Committee for animal use (process # 28/2022). Afterwards the ethanol extracts of *A. oleracea* flowers, *S. krukovii* leaves and *T. micrantha* leaves, the three most active in the *in vitro* antiplasmodial assays (Table 1), were evaluated by the classical *in vivo* suppressive test.[52] The extracts were diluted in 3% dimethyl sulfoxide (DMSO)/ultrapure water to the concentration of 120 mg/ mL, followed by another dilution in water to obtain the treatment concentration (25, 50 or 100 mg/kg). The extracts were administrated to *P. berghei* (NK 65 strain) infected mice by gavage for five consecutive days (D0 to D4), beginning four hours after experimental infection with *P. berghei*. Two control groups were used: one receiving the standard antimalarial drug chloroquine (10 mg/ kg) and the other receiving vehicle (water). Giemsa-stained blood smears were prepared from day 4 to 9

post infection and were then examined by optical microscopy for determination of parasitemia. The inhibition rate of parasite multiplication was determined by comparing treated with untreated groups by the formula $j(A-B)/A_j \times 100$, where A=control group parasitemia and B=test group parasitemia. The extract was considered active when promoting a parasitemia reduction major or equal to 30%.[53]

Statistical analyses

All data were expressed as means $\pm$ standard deviations of triplicate measurements. In vitro antiplasmodial activity and cytotoxicity, and in vivo antimalarial effects of the extracts were submitted to ANOVA and the Tukey test. All statistical analyses were performed using the software SigmaPlot 12.5[54] ($p=0.05$).

Abbreviations

ANOVA (Analysis of Variance)

CC₅₀ (Cytotoxicity Concentration 50%)

Da (Dalton) Dpi (day post infection)

HPLC-HRMS (High-Performance Liquid Chromatography High-Resolution Mass Spectrometry by Electron Spray Ionization)

IC₅₀ (Inhibitory Concentration 50%)

Ip (intraperitoneal route)

iRBC (infected Red Blood Cells)

MTT (3-(4,5-dimethyltriazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide)

NBT (NitroNlue Tetrazolium)

PES (Phenazine EthoSulphate)

PfLDH (Plasmodium falciparum Lactate dehydrogenase) % GI (percentage of parasite growth inhibition)

RT (Retention Time).

Author Contributions

MBVS was responsible for the phytochemical work. MFAN and RCP performed the in vitro antiplasmodial and cytotoxicity assays. JCBB and FOR performed the in vivo antimalarial, under the supervision of Prof Dr. KKGS. DCG and ABO performed the HPLC-ESI-MS data

analyses and wrote the manuscript. KKGS, ABO, and RHVM proposed and supervised this study.

Acknowledgements

This research was supported by Consolidação da Pós-Graduação em Ciências da Saúde com foco em Biotecnologia e Inovação Terapêutica para Atenção à Saúde (Grant Number 88881.510177/2020-01). We also acknowledge to Fundação de Amparo à Pesquisas do Estado do Pará – FAPESPA for a PhD Fellowship to MBVS. To Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES for a Postdoctoral fellowship to Dr. DCG at the Programa de Pós-graduação in Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, UFMG, under the supervision of Prof. Dr. ABO. To Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq for a Senior Research Fellowship to the Emeritus Professor ABO. To Prof. Dr. CMA Oliveira, for LC-HRMSn data acquisition at CRTI, Centro Regional para o Desenvolvimento Tecnológico e Inovação, UFG. To Prof. Dr. EM Braga, Laboratório de Malária, Instituto de Ciências Biológicas, UFMG, for supporting Dr. RC de Paula to performing the in vitro antiplasmodial assays for IC₅₀ determination.

Conflict of Interests

The authors declare no conflict of interest.

Data Availability Statement

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request. Keywords: *Acmella oleracea* · LC-HRMS2 · malaria · *Siparuna krukovii* · *Trema micrantha*

[1] C. Muller, 2020. [https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/IDAN/2020/648792/IPOL_IDA\(2020\)648792_EN.pdf](https://www.europarl.europa.eu/RegData/etudes/IDAN/2020/648792/IPOL_IDA(2020)648792_EN.pdf). Accessed on: September 07, 2022.

[2] D. U. O. Meneguetti, R. M. Cunha, R. A. Lima, F. A. S. Oliveira, D. S. Medeiros, G. M. Passarini, P. S. M. Medeiros, J. S. L. T. Militão, V. A. Facundo, J. Bas. Appl. Pharma. Sci. 2014, 5, 577–587.

- [3] D. R. Oliveira, A. U. Kretlli, A. C. C. Aguiar, G. G. Leitão, M. N. Vieira, K. S. Martins, S. G. Leitão, *J. Ethnopharmacol.* 2015, 173, 424–434.
- [4] C. A. Kffuri, M. A. Lopes, L. C. Ming, G. Odonne, V. F. Kinupp, *J. Ethnopharmacol.* 2016, 178, 188–198.
- [5] W. Milliken, B. E. Walker, M. J. R. Howes, F. Forest, E. N. Lughadha, *J. Ethnopharmacol.* 2021, 279, 14221.
- [6] D. J. Newman, G. M. Cragg, *J. Nat. Prod.* 2020, 83, 770–803.
- [7] WHO. World Health Organization, 2021. Available at <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2021> Accessed on: December 05, 2022.
- [8] MS. Ministério da Saúde Brasil, 2022. Available at <https://www.gov.br/pt-br/assuntos/saude-de-a-z/m/malaria>. Accessed on: June 29, 2022.
- [9] D. R. Oliveira, G. G. Leitão, S. S. Santos, H. R. Bizzo, D. Lopes, C. Alviano, S. G. Leitão, *J. Ethnopharmacol.* 2006, 108, 103–108.
- [10] W. B. Mors, C. T. Rizzini, N. A. Pereira, R. A. DeFilipps, *Medicinal Plants of Brazil*, Algonac: Reference Publishing Inc., Brazil, 2000, p. 501.
- [11] E. V. M. Costa, *Estudo Etnobotânico sobre Plantas Medicinais utilizadas como Antimaláricas no Estado do Amapá, Avaliação da Atividade Antimalárica e toxicidade Aguda por Via Oral de Amasonia campestres (Aubl.) Moldenke*, Tese: Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical, Universidade Federal do Amapá, 2013, p. 142. Available on: <https://www2.unifap.br/ppgbio/files/2012/02/Tese-vers%C3%A3o-finalElizabeth.pdf>.
- [12] A. G. Tempone, S. E. T. Borborema, H. F. Andrade Jr, N. C. Gualda, A. Yogi, C. S. Carvalho, D. Bachiega, F. N. Lupo, S. V. Bonotto, D. C. H. Fischer, *Phytomedicine* 2005, 12, 383–390.
- [13] V. Céline, P. Adraina, D. Eric, A. C. Joaquina, E. Yannick, L. F. Augusto, R. Rosario, G. Dionicia, S. Michel, C. Denis, B. Geneviève, *J. Ethnopharmacol.* 2009, 123, 413–422.
- [14] V. Roumy, G. Garcia-Pizango, A. L. Gutierrez-Choquevilca, L. Ruiz, V. Jullian, P. Winterton, N. Fabre, C. Moulis, A. Valentin, *J. Ethnopharmacol.* 2007, 112, 487–489.

- [15] G. Frausin, A. F. Hidalgo, R. B. S. Lima, V. Kinupp, L. C. Ming, A. M. Pohlit, W. Milliken, *J. Ethnopharmacol.* 2015, 174, 238–252.
- [16] A. S. Botsaris, *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 2007, 3, 1–8.
- [17] N. P. Lopes, M. J. Kato, E. H. A. Andrade, J. G. S. Maia, M. Yoshida, A. R. Planchart, A. M. Katzin, *J. Ethnopharmacol.* 1999, 67, 313–319.
- [18] G. Garavito, J. Rincón, L. Arteaga, Y. Hata, G. Bourdy, A. Gimenez, R. Pinzón, E. Deharo, *J. Ethnopharmacol.* 2006, 107, 460–462.
- [19] J. C. P. Steele, M. S. J. Simmonds, N. C. Veitch, D. C. Warhust, *Planta Med.* 1999, 65, 413–416.
- [20] E. A. Prozesky, J. J. M. Meyer, A. I. Louw, *J. Ethnopharmacol.* 2001, 76, 239–245.
- [21] C. Clarkson, V. J. Maharaj, N. R. Crouch, O. M. Grace, P. Pillay, M. G. Matsabisa, N. Bhagwandin, P. J. Smith, P. I. Folb, *J. Ethnopharmacol.* 2004, 92, 177–191.
- [22] L. E. S. Nascimento, N. D. A. Arriola, L. A. L. Silva, L. G. Faqueti, L. P. Sandjo, C. E. S. Araújo, M. W. Biavatti, J. L. Barcelos-Oliveira, R. D. M. C. Amboni, *Food Chem.* 2020, 332, 127393.
- [23] J. Boonen, B. Baert, C. Burvenich, P. Blondeel, S. Saeger, B. Spiegeleer, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2010, 53, 243–249.
- [24] C. M. Leal, R. C. Simas, M. D. Miranda, M. F. Campos, B. A. Gomes, M. M. Siqueira, G. Vale, C. V. G. Almeida, S. G. Leitão, G. G. Leitão, *J. Ethnopharmacol.* 2021, 270, 113788.
- [25] C. M. Leal, S. G. Leitão, L. L. O. Mello, I. C. Rangel, C. V. A. Silva, M. D. Miranda, A. R. Tucci, C. B. Assis, C. Q. Sacramento, N. Finteman Rodrigues, H. H. F. Koolen, B. G. Vaz, R. C. Simas, G. G. Leitão, *Molecules* 2022, 27, 399.
- [26] G. Gattuso, C. Caristi, C. Gargiulli, E. Bellocco, G. Toscano, U. Leuzzi, *J. Agric. Food Chem.* 2006, 54, 3924–3935.
- [27] S. G. Leitão, G. G. Leitão, D. K. T. Vicco, J. P. B. Pereira, G. M. Simão, D. R. Oliveira, R. Celano, L. Campone, A. L. Piccinelli, L. Rastrelli, *J. Chromatogr. A* 2017, 1570, 83–90.

- [28] A. E. Frimmel, J. L. B. Peixoto, M. H. Sarragiotto, G. J. Vidotti, *Biochem. Syst. Ecol.* 2000, 28, 495–496.
- [29] M. Dhorda, C. Amaratunga, A. M. Dondorp, *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2021, 34, 432–439.
- [30] R. Batista, A. J. Silva-Junior, A. B. Oliveira, *Molecules* 2009, 14, 3037–3072.
- [31] MS. Ministério da Saúde Brasil. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica, 2012. Available at <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sectics/daf/pnpmf/orientacao-ao-prescritor/Publicacoes/praticas-integrativas-e-complementares-plantas-medicinais-e-fitoterapia-na-atencao-basica.pdf/view>. Accessed on July 10, 2023.
- [32] B. Gilbert, R. Favoreto, *Fitos* 2010, 5, 83–91.
- [33] F. Mbeunkui, M. H. Grace, C. Lategan, P. J. Smith, I. Raskin, M. A. Lila, *J. Chromatogr. B.* 2011, 879, 1886–1892.
- [34] K. Spelman, D. Depoix, M. McCray, E. Mouray, P. Grellier, *Phytother. Res.* 2011, 25, 1098–1101. [35] M. Gasquet, F. Delmas, P. Timon-David, A. Keita, M. Guindo, N. Koita, D. Diallo, O. Doumbo, *Fitoterapia* 1993, 64, 423–426.
- [36] S. Tett, D. Cutler, R. Day, K. Brown, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1989, 27, 771– 779.
- [37] J. Ducharme, R. Farinotti, *Clin. Pharmacokinet.* 1996, 31, 257–274.
- [38] R. Sharman, N. Arumugan, *Future Foods* 2021, 3, 100022.
- [39] E. T. Rodrigues, P. Peretti, R. M. Bezerra, M. F. Biancardi, F. D. O. Sousa, E. P. Mendes, J. B. R. Dutra, C. C. R. Silveira, C. H. Castro, J. N. Cruz, C. B. R. Santos, F. C. A. Santos, M. T. Pinheiro, *Evid.-Based Complement. Altern. Med.* 2023, ■■Dear author, please add volume-number■■, 1278720.
- [40] A. L. Peixoto, E. J. Lirio, M. Pignal, *Siparunaceae in Flora do Brasil* 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2022. Available at: [https:// floradobrasil.jbrj.gov/FB24835](https://floradobrasil.jbrj.gov/FB24835)> Accessed on: July 23, 2022.
- [41] K. Jenett-Siems, F. P. Mockenhaupt, U. Bienzle, M. P. Gupta, E. Eich, *Trop. Med. Int. Health* 1999, 4, 611–615.

- [42] N. P. Vieira, Fitoquímica e atividade antiplasmódica de *Siparuna poeppigii* (Tul.) A. DC. (Siparunaceae), Dissertação: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pará, 2016, p. 103. Available on: http://repositorio.ufpa.br/jspui/bitstream/2011/10551/1/Dissertacao_FitoquimicaAtividadeAntiplasmodica.pdf.
- [43] O. El Mahdi, O. Abdelmoughite, M. Lachkar, *Phytochemistry* 2022, 202, 113291.
- [44] A. F. P. Machado, *Trema in Flora e Fauna do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020. Available at: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB622616>. Accessed on: July 20, 2022.
- [45] O. Abiodun, G. Gbotosho, E. Ajaiyeoba, T. Happi, M. Falade, S. Wittlin, A. Sowunmi, R. Brun, A. Oduola, *Pharm. Biol.* 2011, 49, 9–14.
- [46] J. O. Olanlokun, O. M. David, A. J. Afolayan, *BMC Complementary Altern. Med.* 2017, 17, 407.
- [47] O. E. Oyebola, O. A. Morenikeji, I. O. Ademola, *J. Parasit. Dis.* 2017, 41, 398–404.
- [48] M. P. Lorenzetti, P. R. Pereira, D. M. Bassuino, G. Konradt, W. Panziera, M. V. Bianchi, F. F. Argenta, M. E. Hammerschmitt, R. A. Capriolo, C. S. L. Barros, S. P. Pavarini, D. Driemeier, *Equine Vet. J.* 2018, 50, 192–195.
- [49] W. Trager, J. B. Jensen, *Science* 1976, 193, 673–675.
- [50] M. T. Makler, J. M. Ries, J. A. Williams, J. E. Bancroft, R. C. Piper, B. L. Gibbins, D. J. Hinrichs, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1993, 48, 739–741.
- [51] T. Mosman, *J. Immunol. Methods* 1983, 65, 55–63.
- [52] W. Peters, *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 1975, 69, 155–171.
- [53] L. H. Carvalho, M. G. L. Brandão, D. Santos-Filho, J. L. C. Lopes, A. U. Krettli, *Braz. J. Med. Biol. Res.* 1991, 24, 1113–1123.
- [54] Systat. Software, San Jose, CA, USA, 2013.

Manuscript received: July 22, 2023 Version of record online:

Chemistry & Biodiversity

Supporting Information

***In Vitro* and *in Vivo* Antimalarial Activity, Cytotoxicity and Phytochemical HRMS² Profile of Plants from the Western Pará State, Brazilian Amazonia**

Maria Beatriz Viana dos Santos, Douglas Costa Gontijo, Maria Fernanda Alves do Nascimento, Renata Cristina de Paula, Jessica Correia Bezerra Bellei, Felipe Oliveira Raimundo, Kézia Katiani Gorza Scopel, Alaíde Braga de Oliveira,* and Rosa Helena Veras Mourão

Table S1. HPLC-ESI-HRMS² data for compounds putative identified in the ethanol extracts of *Acmella oleracea*, *Siparuna krukovii* and *Trema micrantha* from the Western Pará State, Brazilian Amazon.

Ethanol Extracts	RT (min)	<i>m/z</i> observed [M + H] ⁺ and/or [M – H] [–]	Theoretical exact mass (<i>m/z</i>)	Mass accuracy (Δppm)	Major Fragments (<i>m/z</i>) (MS/MS ⁺ and/or MS/MS [–])	Putative Identification	Metabolite Class	References
	3.15	149.0445 [M – H] [–]	149.0455	6.7094	131.0338 [M – H – 18] [–] ; 120.9536 [M – H – 29] [–] ; 103.0388 [M – H – 46] [–]	Xylose Figure 1.1	Sugar	[22]
	5.71	220.1698 [M + H] ⁺	220.1696	– 1.3625	164.1073 [M + H – 56] ⁺ ; 154.1229 [M + H – 66] ⁺ ; 147.0807 [M + H – 73] ⁺ ; 141.1150 [M + H – 79] ⁺ ; 126.0917 [M + H – 94] ⁺ ; 121.1016 [M + H – 99] ⁺ ; 119.0859 [M + H – 101] ⁺ ; 105.0704 [M + H – 115] ⁺	<i>N</i> -isobutyldeca- 2,8-dien-6- ynamide Figure 1.2	<i>N</i> -isobutyl- amide	[2]
	6.21	238.1805 [M + H] ⁺	238.1802	0.4198	220.1698 [M + H – 18] ⁺ ; 196.1697 [M + H – 42] ⁺ ; 170.7041 [M + H – 68] ⁺ ; 165.0911 [M + H – 73] ⁺ ; 147.0805 [M + H – 91] ⁺ ; 142.1227 [M + H – 96] ⁺ ; 137.0962 [M + H – 101] ⁺ ; 123.0807 [M + H – 115] ⁺ ; 119.0858 [M + H – 119] ⁺ ; 107.0495 [M + H – 131] ⁺ ; 105.0703 [M + H – 133] ⁺	Hydroxy- spilanthol {(2 <i>E</i> ,6 <i>Z</i> ,8 <i>E</i>)-5- hydroxy- <i>N</i> - isobutyldeca- 2,6,8-trienamide} Figure 1.3	<i>N</i> -isobutyl- amide	–

<i>Acmella oleracea</i>	6.89	309.0618 [M – H] [–]	309.0615	– 0.9706	193.0499 [M – H – 116][–] ; 178.0263 [M – H – 131] [–] ; 149.0598 [M – H – 160] [–] ; 134.0363 [M – H – 175] [–] ; 115.0025 [M – H – 194] [–] ; 137.0961 [M – H – 190] [–]	Feruloylmalic acid isomer Figure 1.4	Phenolic ester	[22]
	10.75	327.2177 [M – H][–]	327.2176	– 0.3056	291.1967 [M – H – 36] [–] ; 239.1286 [M – H – 88][–] ; 221.1178 [M – H – 106] [–] ; 211.1334 [M – H – 116] [–] ; 171.1017 [M – H – 156][–] ; 137.0961 [M – H – 190] [–]	9,12,13-trihydroxyoctadec a-10,15-dienoic acid Figure 1.5	Fatty acid	[22]
	11.61	329.2334 [M – H][–]	329.2333	– 0.3037	229.1441 [M – H – 100] [–] ; 211.1334 [M – H – 118][–] ; 183.1382 [M – H – 146] [–] ; 171.1017 [M – H – 158] [–] ; 139.1118 [M – H – 190] [–] ; 127.1117 [M – H – 202] [–]	9,12,13-trihydroxyoctadec a-10-enoic acid Figure 1.6	Fatty acid	[22]
	18.37	230.1541 [M + H] ⁺	230.1540	– 0.4344	174.0916 [M + H – 56] ⁺ ; 167.1307 [M + H – 63] ⁺ ; 157.0650 [M + H – 73] ⁺ ; 147.0806 [M + H – 83] ⁺ ; 131.0858 [M + H – 99] ⁺ ; 129.0701 [M + H – 101]⁺ ; 116.0624 [M + H – 114] ⁺ ; 105.0704 [M + H – 125] ⁺	(2 <i>E</i> ,5 <i>Z</i>)- <i>N</i> -isobutylundeca-2,5-dien-8,10-diynamide Figure 1.7	<i>N</i> -isobutylamide	[22,23]

<i>Siparuna krukovii</i>	19.47	222.1855 [M + H]⁺	222.1853	– 0.9001	168.1385 [M + H – 54] ⁺ ; 166.1230 [M + H – 56] ⁺ ; 154.1228 [M + H – 68] ⁺ ; 149.0963 [M + H – 73] ⁺ ; 141.1150 [M + H – 81]⁺ ; 126.0917 [M + H – 96] ⁺ ; 123.1172 [M + H – 99] ⁺ ; 121.1015 [M + H – 101] ⁺ ; 107.0860 [M + H – 115] ⁺	Spilanthol (2 <i>E</i> ,6 <i>Z</i> ,8 <i>E</i>)- <i>N</i> - isobutyl-2,6,8- decatrienamide Figure 1.8	<i>N</i> -isobutyl- amide	[22,23]
		244.1699 [M + Na] ⁺	244.1677	– 9.0101				
	21.74	270.1853 [M + Na] ⁺	270.1834	– 7.0322	189.1149 [M + H – 81] ⁺ ; 174.0914 [M + H – 96] ⁺ ; 149.0963 [M + H – 121] ⁺ ; 148.0758 [M + H – 122] ⁺ ; 131.0857 [M + H – 139] ⁺ ; 123.1171 [M + H – 147] ⁺ ; 121.1015 [M + H – 145] ⁺ ; 107.0859 [M + H – 163] ⁺ ; 105.0703 [M + H – 165]⁺	(2 <i>E</i> ,4 <i>E</i> ,8 <i>Z</i> ,10 <i>Z</i>)- <i>N</i> - isobutyldodeca- 2,4,8,10- tetraenamide Figure 1.9	<i>N</i> -isobutyl- amide	–
	4.56	330.1701 [M + H] ⁺	330.1700	1.2114	299.1274 [M + H – 31] ⁺ ; 267.1014 [M + H – 63] ⁺ ; 192.1017 [M + H – 138]⁺ ; 175.0753 [M + H – 155] ⁺ ; 137.0597 [M + H – 193] ⁺	Reticuline Figure 3.1	Benzyl- tetrahydro- isoquinolin e alkaloid	[24]
	4.98	286.1436 [M + H] ⁺	286.1438	0.3494	269.1171 [M + H – 17]⁺ ; 237.0909 [M + H – 49] ⁺ ; 209.0961 [M + H – 77] ⁺ ; 178.0863 [M + H – 108] ⁺ ; 175.0754 [M + H – 111] ⁺ ;	Coclaurine Figure 3.2	Benzyl- tetrahydro- isoquinolin e alkaloid	[24]

<i>Trema micrantha</i>				143.0492 [M + H – 143] ⁺ ; 107.0495 [M + H – 179] ⁺			
	6.39	342.1700 [M + H] ⁺	342.1700	0.0000	192.1021 [M + H – 150] ⁺ ; 178.0864 [M + H – 164]⁺ ; 165.0911 [M + H – 177] ⁺ ; 151.0755 [M + H – 47] ⁺	Isocorypalmine Figure 3.3	Proto-berberine alkaloid [25]
	8.48	266.1174 [M + H] ⁺	266.1176	0.3494	249.0910 [M + H – 17]⁺ ; 219.0805 [M + H – 47] ⁺ ; 191.0856 [M + H – 75] ⁺	Anonaine Figure 3.4	Aporphine alkaloid [25]
	4.58	581.1497 [M + H] ⁺	581.1501	0.6882	449.1080 [M + H – 132] ⁺ ; 431.0974 [M + H – 132 – 18] ⁺ ; 413.0868 [M + H – 132 – 18 – 18] ⁺ ; 359.0762 [M + H – 132 – 90] ⁺ ; 329.0655 [M + H – 132 – 120]⁺ ; 299.0551 [M + H – 132 – 150] ⁺	Orientin- or isoorientin 2''-O- (arabinoside or xyloside) Figure 4.1	Flavone glycoside –
		579.1357 [M – H] [–]	579.1355	0.2726	429.0826 [M – H – 132 – 18] [–] ; 357.0616 [M – H – 132 – 90] [–] ; 327.0509 [M – H – 132 – 120][–] ; 309.0404 [M – H – 132 – 18 – 120] [–]		
	4.65	565.1553 [M + H] ⁺	565.1552	0.3538	433.1128 [M + H – 132] ⁺ ; 415.1021 [M + H – 132 – 18] ⁺ ; 397.0916 [M + H – 132 – 18 – 18] ⁺ ; 343.0810 [M + H – 132 – 90] ⁺ ; 313.0704 [M +	Vitexin- or isovitexin 2''-O- (arabinoside or xyloside)	Flavone glycoside –

			H – 132 – 120]⁺ ; 283.0599 [M + H – 132 – 150] ⁺
563.1404 [M – H] [–]	563.1406	0.3551	413.0880 [M – H – 132 – 18] [–] ; 357.0616 [M – H – 132 – 90] [–] ; 311.0562 [M – H – 132 – 120] [–] ; 293.0456 [M – H – 132 – 18 – 120][–]

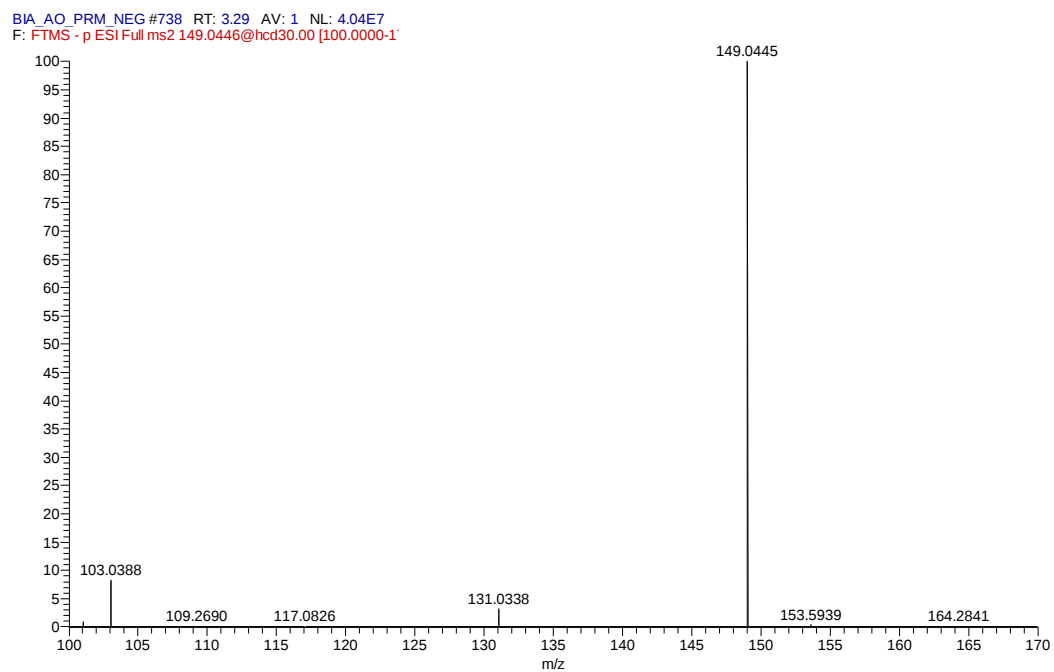
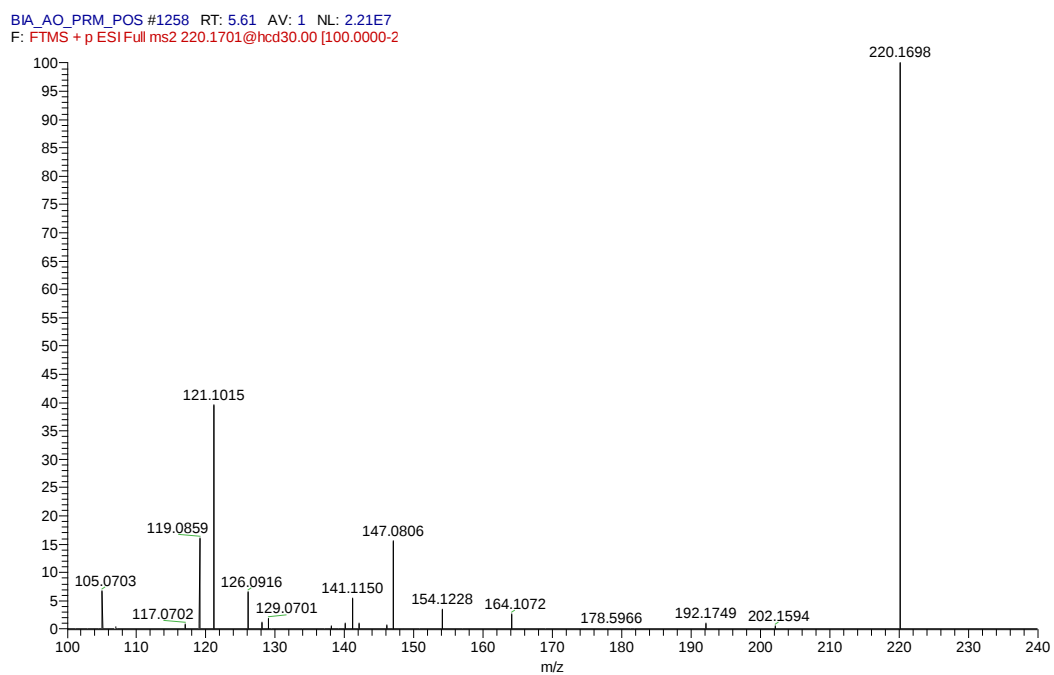
Figure 4.2

Note: in bold: base peak; –: absence; RT: Retention Time.

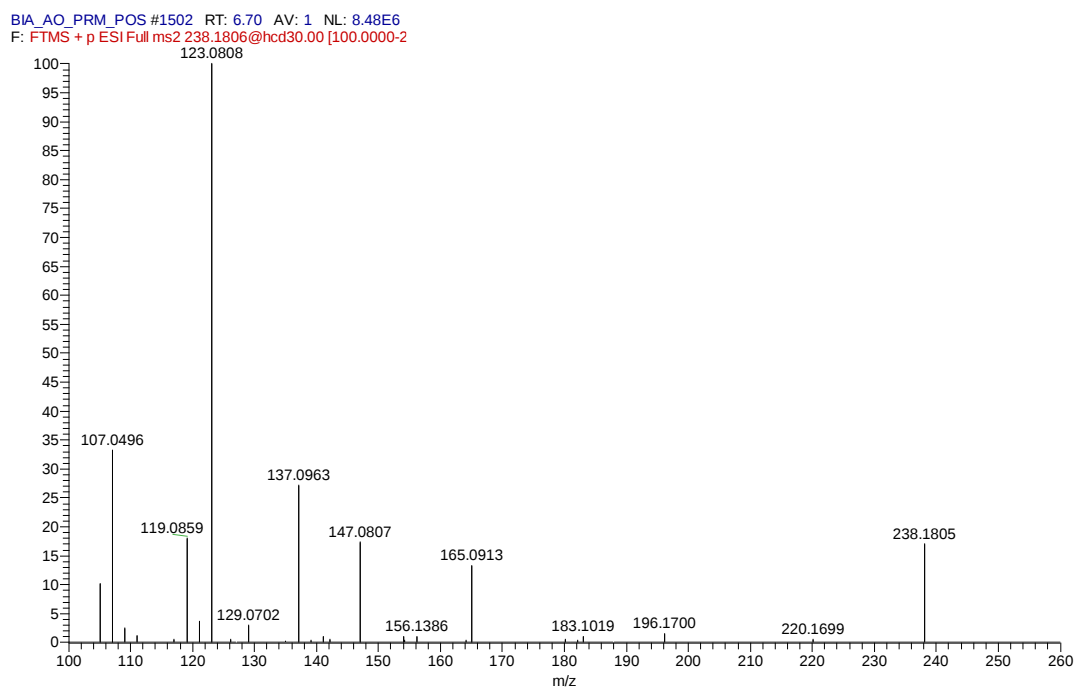
Table S2. Collection and extraction data for plant species from the Western Pará State, Brazilian Amazon.

Plant species (Botanical Family)	Popular Name	Collection data (GPS, local, date)	Voucher Number	Plant Part	Solvent Extract	Extract	
						Mass (g)	Yield (%)
<i>Acmella oleracea</i> (L) R.K. Jansen. (Asteraceae)	Jambu	02° 29' 46.7" S 54° 40' 4.8" W; Santarém (August 2020)	¹ IAN-188088	Flowers	Ethanol	0.5	5.0
<i>Lippia origanoides</i> Kunth (Verbenaceae)	Alecrim-pimenta	02° 30' 8.7" S 54° 56' 41.6" W; Santarém (May 2020)	¹ IAN-184688	Leaves	Ethanol	0.5	5.0
<i>Senna quinquangulata</i> (Rich) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae)	Sene, fedegoso	02° 36' 10.9" S 54° 56' 35.8" W; Belterra (August 2020)	² HSTM-14702	Leaves	Ethanol	1.0	14.0
<i>Siparuna krukovi</i> A.C.Sm. (Siparunaceae)	Capitú da Mata	02° 38' 21.6" S 54° 56' 30.1" W; Belterra (August 2020)	² HSTM-14700	Leaves	Ethanol	2.7	6.7
<i>Trema micranta</i> (L) Blume (Cannabaceae)	Curumim	02° 27' 13" S 54° 46' 5.0" W; Santarém (March 2020)	² HSTM-14067	Leaves	Ethanol	2.4	12.0
<i>Abuta</i> sp (Menispermaceae)	–	02° 36' 25" S 54° 56' 27" W; Belterra (August 2020)	–	Leaves	Ethanol	1.3	6.8
<i>Ampelozizyphus</i> sp (Rhamanaceae)	–	02° 38' 21.6" S 54° 56' 30.1" W; Santarém (September 2019)	–	Bark	Ethanol	4.6	14.4
<i>Aniba</i> sp (Lauraceae)	–	02° 17' 50" S 54° 51' 31.0" W; Santarém (September 2019)	–	Bark	Ethanol	10.4	20.0
<i>Aspidosperma</i> sp (Apocynaceae)	–	02° 17' 50" S 54° 51' 31.0" W; Santarém (August 2019)	–	Bark	Ethanol	7.7	18.0
<i>Croton</i> sp (Euphorbiaceae)	–	02° 17' 54" S 54° 51' 31.0" W; Santarém (February 2020)	–	Bark	Ethanol	1.6	6.9
<i>Virola</i> sp (Myristicaceae)	–	02° 35' 36" S 54° 57' 12" W; Belterra (August 2020)	–	Bark	Ethanol	3.8	16.6

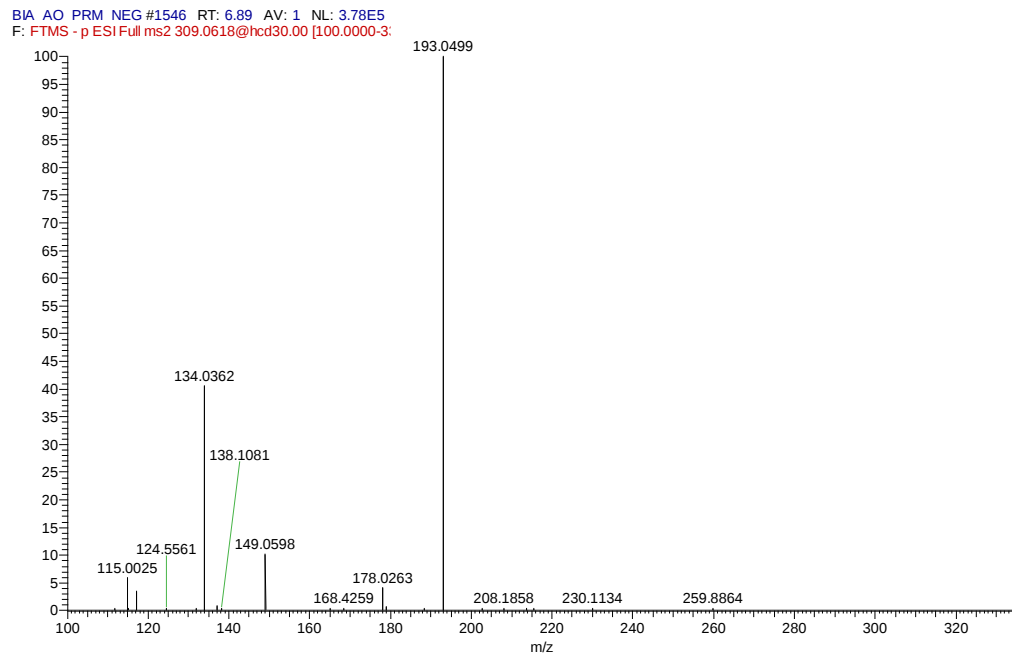
Note: ¹Herbarium EMBRAPA; ²Herbarium Universidade Federal do Oeste do Pará.

HRMS spectra of the ethanol *Acmella oleracea* extract m/z 149.0445 $[M - H]^-$  m/z 220.1698 $[M + H]^+$ 

m/z 238.1805 $[M + H]^+$

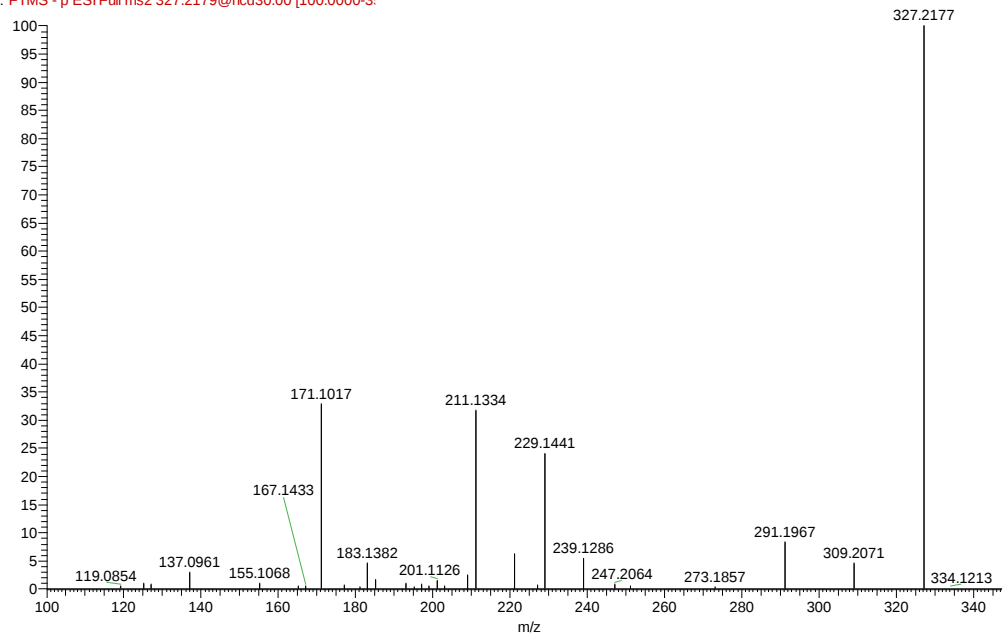


m/z 309.0618 $[M - H]^-$



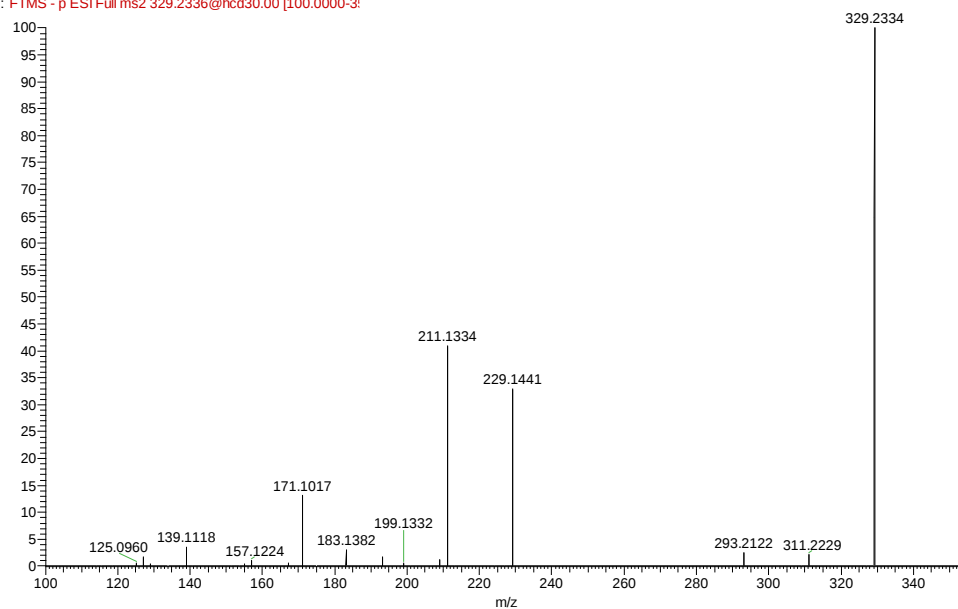
m/z 327.2177 $[M - H]^-$

BIA_AO_PRM_NEG #2380 RT: 10.61 AV: 1 NL: 7.42E6
F: FTMS - p ESI Full ms2 327.2179@hcd30.00 [100.0000-3]



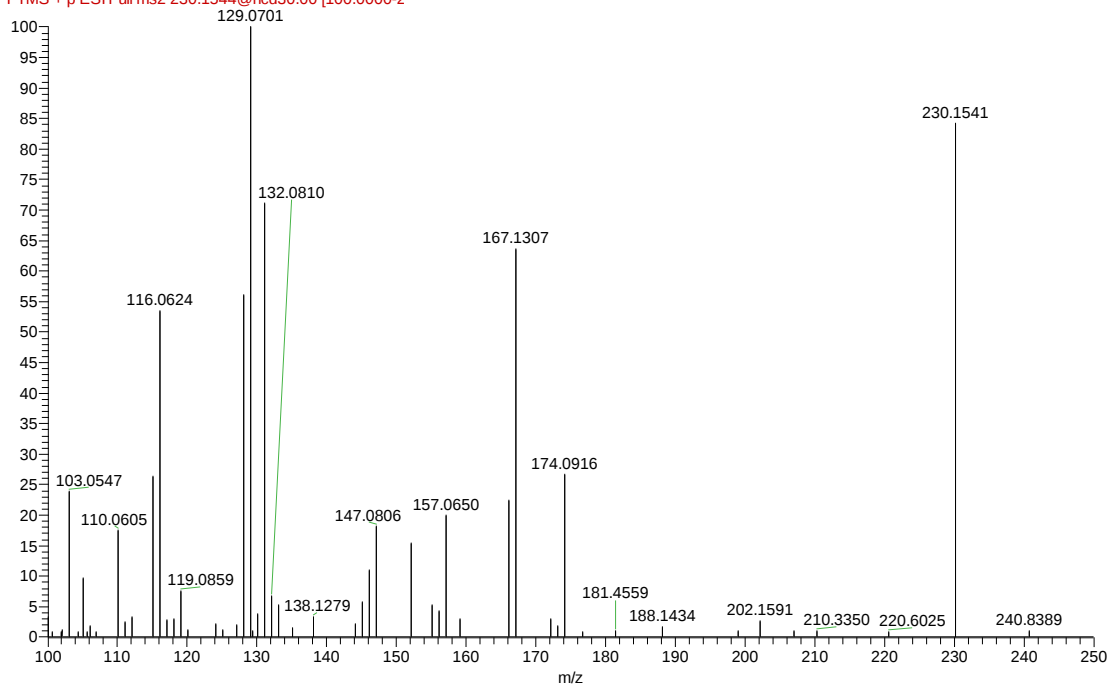
m/z 329.2334 $[M - H]^-$

BIA_AO_PRM_NEG #2606 RT: 11.61 AV: 1 NL: 7.62E6
F: FTMS - p ESI Full ms2 329.2336@hcd30.00 [100.0000-3]



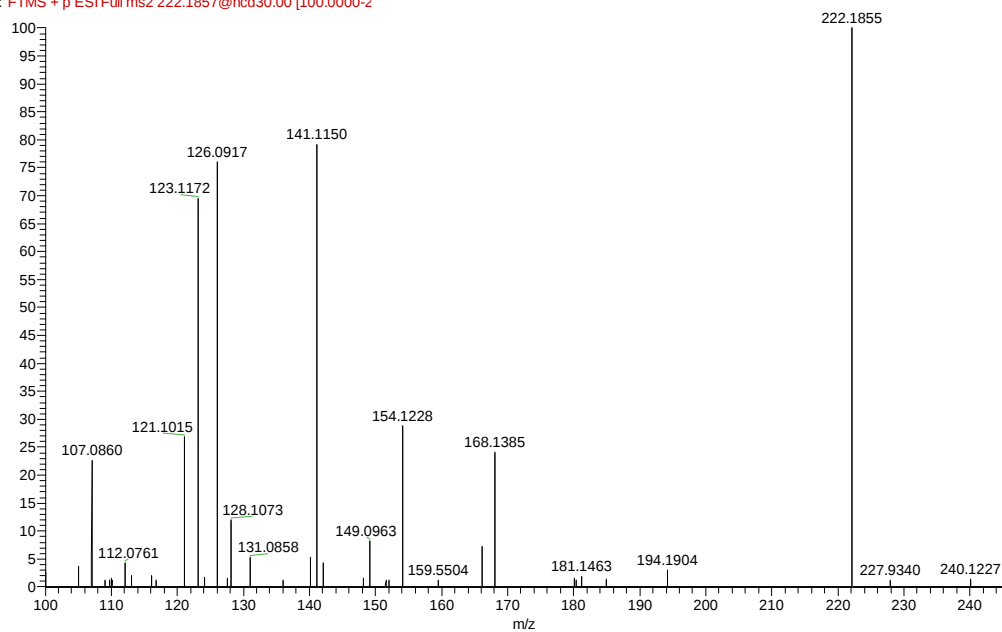
m/z 230.1541 $[M + H]^+$

BIA_AO_PRM_POS #4122 RT: 18.37 AV: 1 NL: 3.42E7
F: FTMS + p ESI Full ms2 230.1544@hcd30.00 [100.0000-2]



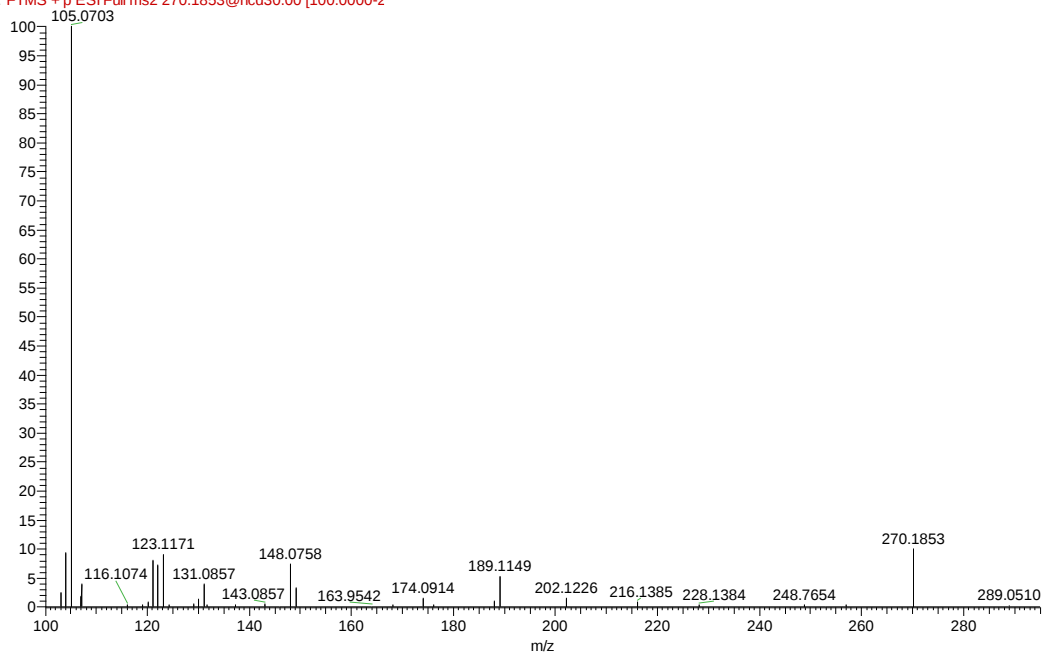
m/z 222.1855 $[M + H]^+$

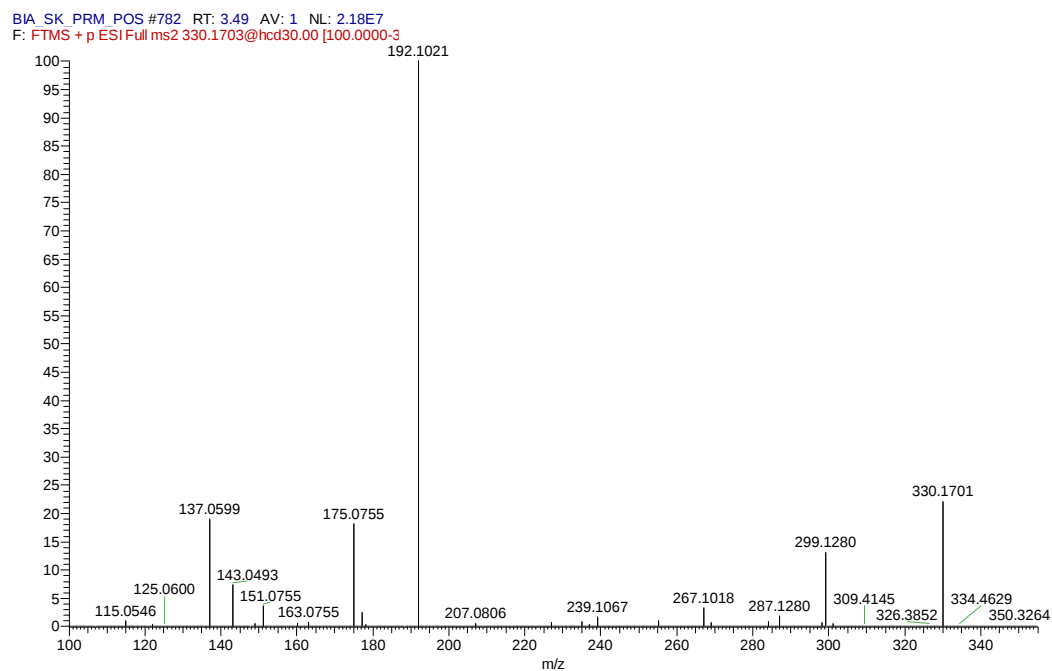
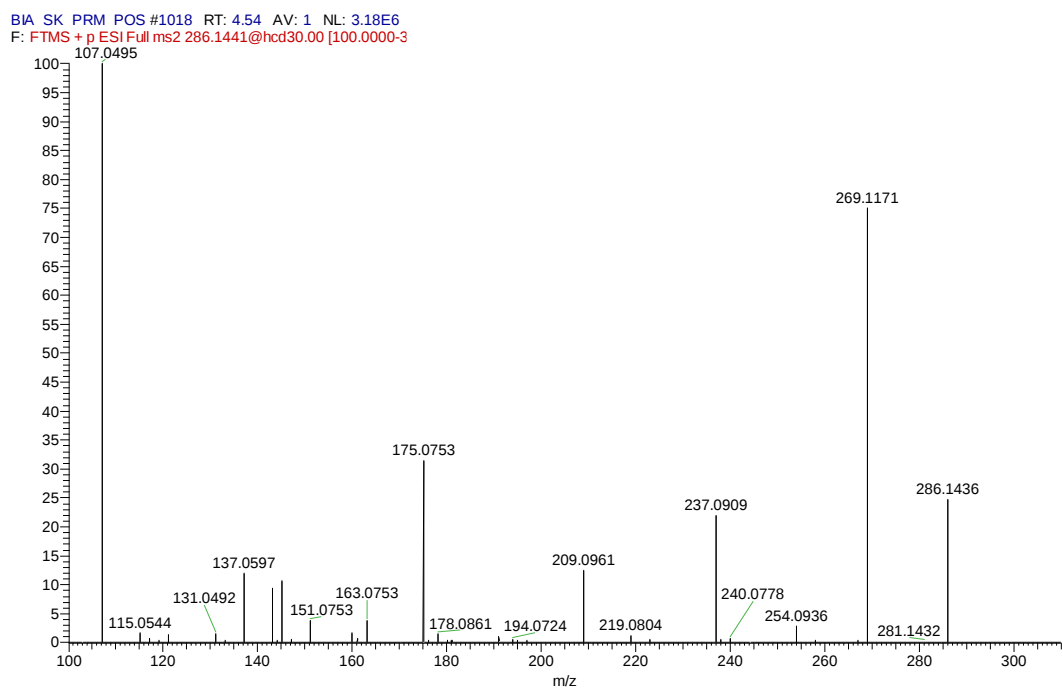
BIA_AO_PRM_POS #4368 RT: 19.47 AV: 1 NL: 4.90E7
F: FTMS + p ESI Full ms2 222.1857@hcd30.00 [100.0000-2]



m/z 270.1853 $[M + Na]^+$

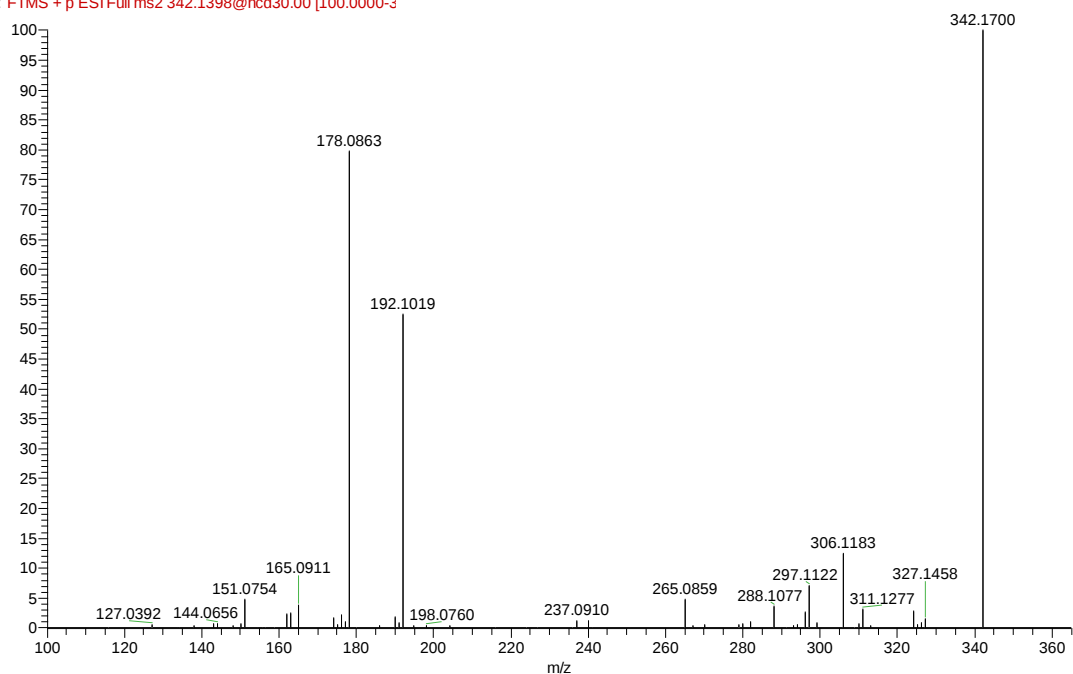
BIA_AO_PRM_POS #4878 RT: 21.74 AV: 1 NL: 6.81E7
F: FTMS + p ESI Full ms2 270.1853@hcd30.00 [100.0000-2]



HRMS spectra of the ethanol *Siparuna krukovichii* extract m/z 330.1701 $[M + H]^+$  m/z 286.1437 $[M + H]^+$ 

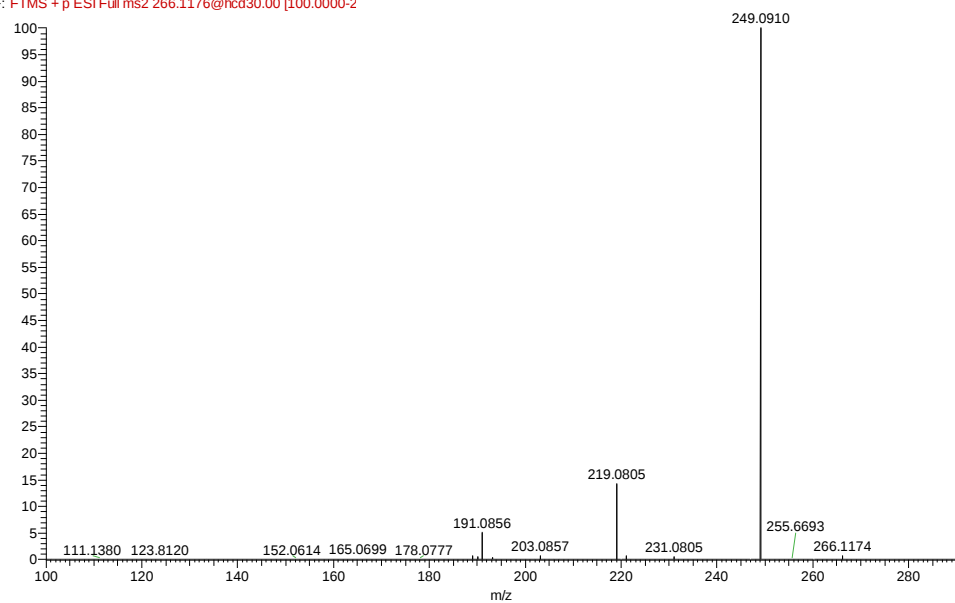
m/z 342.1700 $[M + H]^+$

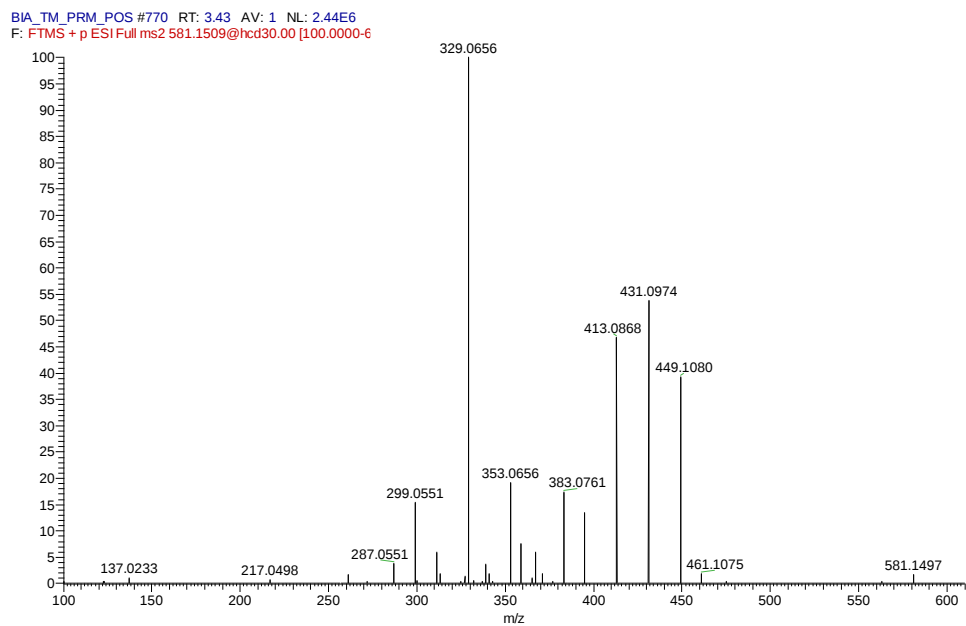
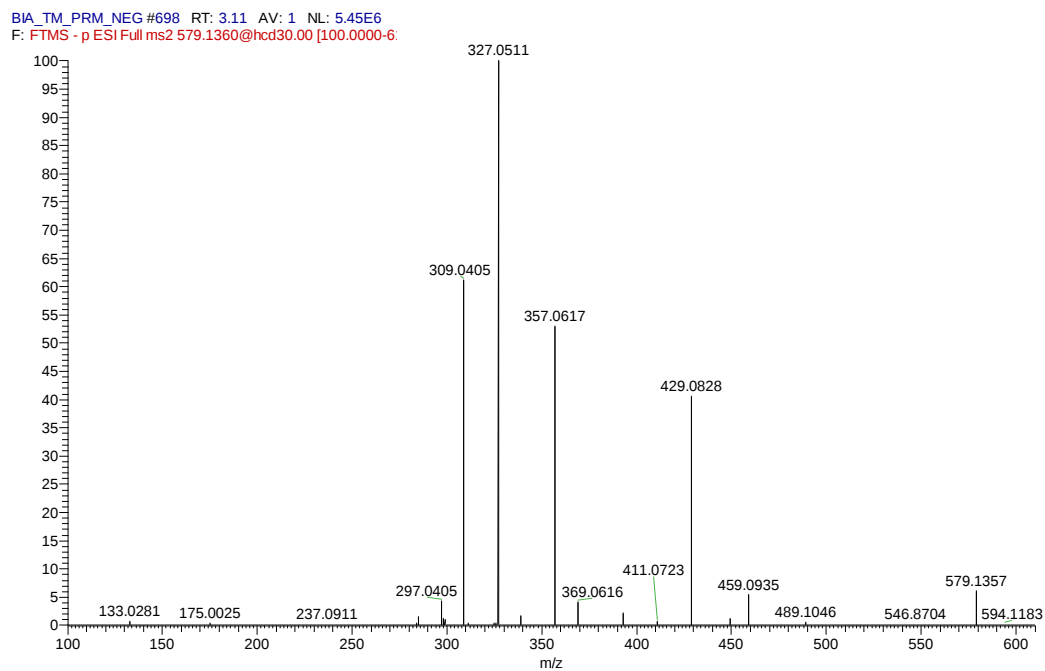
BIA_SK_PRM_POS #774 RT: 3.45 AV: 1 NL: 3.22E6
F: FTMS + p ESI Full ms2 342.1398@hcd30.00 [100.0000-3]



m/z 266.1180 $[M + H]^+$

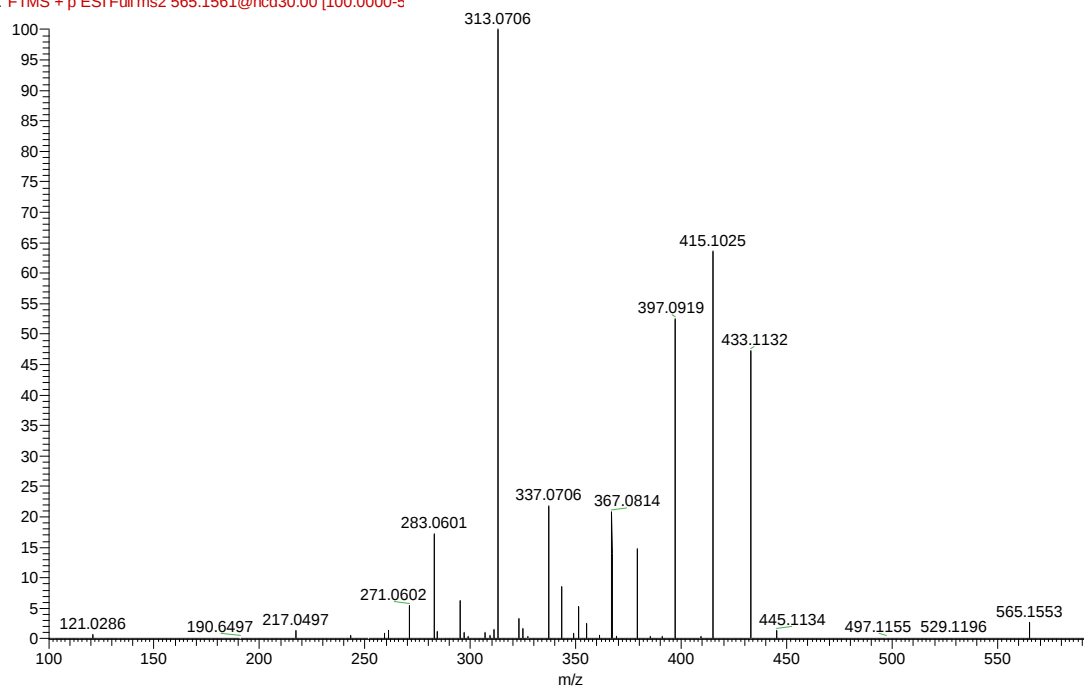
BIA_SK_PRM_POS #1870 RT: 8.34 AV: 1 NL: 1.57E7
F: FTMS + p ESI Full ms2 266.1176@hcd30.00 [100.0000-2]



HRMS spectra of the ethanol *Trema micrantha* extract m/z 581.1497 $[M + H]^+$  m/z 579.1357 $[M - H]^-$ 

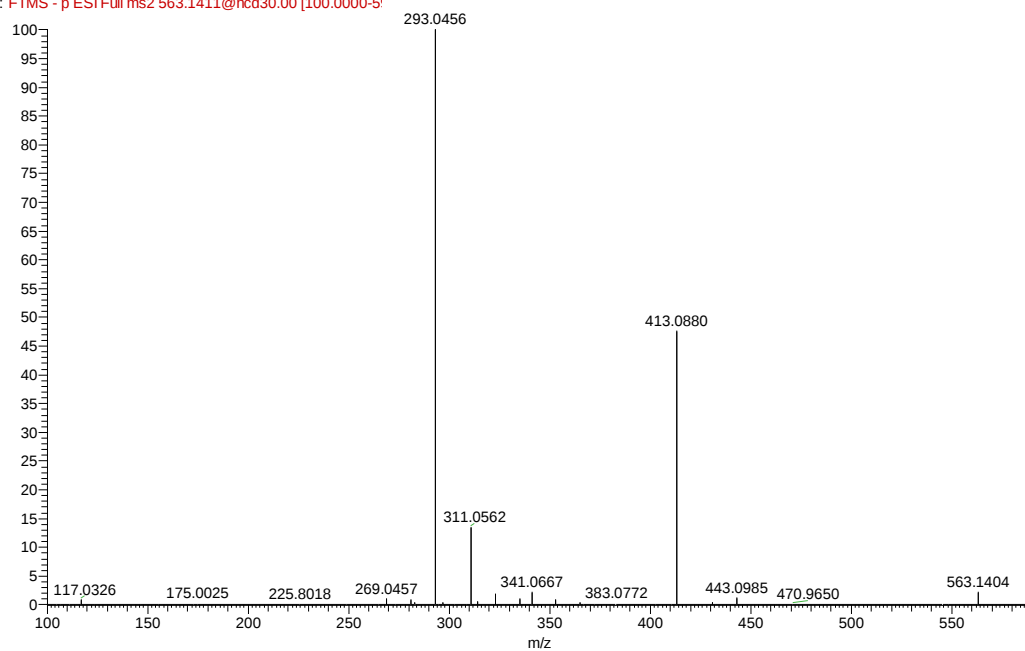
m/z 565.1553 $[M + H]^+$

BIA_TM_PRM_POS #1028 RT: 4.58 AV: 1 NL: 4.58E7
F: FTMS + p ESI Full ms2 565.1561@hcd30.00 [100.0000-5



m/z 563.1004 $[M - H]^-$

BIA_TM_PRM_NEG #1020 RT: 4.55 AV: 1 NL: 4.39E7
F: FTMS - p ESI Full ms2 563.1411@hcd30.00 [100.0000-5



References

- [22] L. E. S. Nascimento, N. D. A. Arriola, L. A. L. Silva, L. G. Faqueti, L. P. Sandjo, C. E. S. Araújo, M. W. Biavatti, J. L. Barcelos-Oliveira, R. D. M. C. Amboni, *Food Chem.* **2020**, 332, 127393.
- [23] J. Boonen, B. Baert, C. Burvenich, P. Blondeel, S. Saeger, B. Spiegeleer, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2010**, 53, 243-249.
- [24] C. M. Leal, R. C. Simas, M. D. Miranda, M. F. Campos, B. A. Gomes, M. M. Siqueira, G. Vale, C. V. G. Almeida, S. G. Leitão, G. G. Leitão, *J. Ethnopharmacol.* **2021**, 270, 113788.
- [25] C. M. Leal, S. G. Leitão, L. L. O. Mello, I. C. Rangel, C. V. A. Silva, M. D. Miranda, A. R. Tucci, C. B. Assis, C. Q. Sacramento, N. Finteman-Rodrigues, H. H. F. Koolen, B. G. Vaz, R. C. Simas, G. G. Leitão, *Molecules* **2022**, 27, 399.

3.3. CAPÍTULO 03 - EXTRATOS ETANÓLICOS DE *Acmella oleracea* (L.) R.K. JANSEN E *Trema micrantha* (L.) BLUME NÃO APRESENTAM AÇÃO GENOTÓXICA EM CÉLULAS HEPG2

Santos, M.B.V., Santos, M.J.B; Scher, R., Pantaleão, S.M., Mourão, R.H.V.

Esta sessão compõe os dados experimentais da tese ainda não submetidos para publicação e em português. O artigo escrito seguiu o modelo da revista *Journal of Toxicology*. Fator de impacto 2.9, Qualis B1 (Classificações de periódicos quadriênio 2017 – 2020).

Extratos etanólicos de *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen e *Trema micrantha* (L.) Blume não apresentam ação genotóxica em células HepG2

Maria Beatriz Viana dos Santos^{1,2}, Maria José Bryanne Araújo Santos^{3,4}, Ricardo Scher³, Silmara de Moraes Pantaleão⁴, Rosa Helena Veras Mourão^{1,2*}

¹ Laboratório de Bioprospecção e Biologia Experimental – LabBBEx; Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, Santarém, Pará, Brasil

² Programa de Pós-Graduação Doutorado em Rede de Biodiversidade e Biotecnologia – BIONORTE / Pólo Pará. Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, Belém, Pará, Brasil

³ Laboratório de Genética e Conservação de Recursos Naturais (GECON) da Universidade Federal de Sergipe (UFS), Campus São Cristóvão, Sergipe, Brasil

⁴ Laboratório de Imunologia e Biologia Celular do Câncer e Leishmania – LABICeL. Departamento de Morfologia da Universidade Federal de Sergipe (UFS), Campus São Cristóvão, Sergipe, Brasil

Santos, MBV: mbeatrizviana9@hotmail.com

Santos, MJBA: bryanne-araujo@academico.ufs.br

Scher, R.: rica.scher@gmail.com

Pantaleão, SM.: spleao51@gmail.com

Mourão, RHV.: rosa.mourao@ufopa.edu.br

*Autor correspondente: email: rosa.mourao@ufopa.edu.br; ([RHV Mourão](#))

Resumo

A prática do uso de plantas medicinais para fins terapêuticos ainda é comum em comunidades tradicionais, entretanto, seu uso é feito sem quaisquer segurança ou avaliações toxicológicas como análises de danos celulares. *Acmella oleracea* e *Trema micrantha* apresentam diversas propriedades medicinais, no entanto, pouco é conhecido sobre efeitos genotóxicos e possíveis danos ao DNA celular dessas espécies. Nesse sentido, o objetivo desta pesquisa foi avaliar se os extratos etanólicos de flores de *A. oleracea* e folhas de *Trema micrantha* apresenta genotoxicidade em células HepG2 por meio do Ensaio Cometa *in vitro*. Nossos resultados não evidenciaram danos ao DNA das células HepG2 cultivadas nas concentrações testadas (25, 50 e 100µg/mL) comparadas ao controle positivo (H₂O₂ – peróxido de hidrogênio), não sendo, portanto, consideradas genotóxicas ($p < 0,001$) nas condições teste em que as amostras foram investigadas. Estes resultados são as primeiras evidências de análises genotóxicas relacionadas ao dano de DNA celular para extratos de *A. oleracea* e *T. micrantha* e, embora esses dados sejam considerados promissores, ainda são necessários estudos adicionais em modelos *in vivo* que confirmem o uso seguro dessas espécies no tratamento de doenças.

Palavras-chave: Ensaio Cometa, genotóxicos, medicinais, *Acmella oleracea*, *Trema micrantha*

Introdução

O uso de plantas medicinais ainda é comum na medicina tradicional e segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), plantas têm sido reconhecidas como fonte confiável na terapêutica [1]. No entanto, é importante ressaltar que muitas espécies vêm sendo utilizadas sem quaisquer análises toxicológicas prévias, acreditando que por se tratar de produtos naturais, não há risco a saúde, considerando que muitas espécies vegetais possuem constituintes químicos que podem ser tóxicos para o organismo humano, podendo causar efeitos indesejáveis

que podem ser observados em estudos com plantas frequentemente utilizadas na medicina popular [2, 3, 4]. Neste sentido, tendo em vista que nem todas as plantas medicinais são seguras, torna-se necessária a avaliação toxicológica de espécies de plantas com o intuito de garantir a sua eficácia em tratamentos terapêuticos.

Acmella oleracea (L.) R.K. Jansen (Asteraceae) é comumente encontrada em regiões tropicais e nativas da América do Sul. É popularmente conhecida como jambú, sendo utilizada para fins alimentícios e na medicina tradicional para o tratamento de tosse, reumatismo, anemia assim como ação anestésica, antibacteriana, antifúngica, inseticida [5, 6, 7], anti-inflamatória [8] e atividade antimalárica [9]. *Acmella oleracea* também é conhecida por sua rica fonte de compostos bioativos que são atribuídos a diferentes atividades biológicas [5]. Dentre esses compostos, um alcalóide anti-séptico N-isobutilamida do ácido (2E, 6Z, 8E)-deca-2,6,8-trienóico) conhecido como espilantol, é um dos principais constituintes de espécies deste gênero, o qual também apresenta atividade antimicrobiana, larvicida, inseticida, antimalárico [10] e anti-inflamatório [8]. Análises toxicológicas para esta espécie têm sido identificadas em estudos com zebrafish (*Danio rerio*), sendo observados características comportamentais, histopatológicas e reprodutivas [19, 20], além de dados de mutagenicidade *in vitro* em espécie de *Spilanthus* (sin. de *Acmella*) [11].

Trema micrantha (L.) Blume (Cannabaceae), é popularmente conhecida como candiúba, grandiúva. É utilizada na medicina tradicional no tratamento de doenças respiratórias, sífilis, reumatismo, diabetes, analgésica e atividades anti-inflamatória, anti-helmíntico, anti-inflamatório [12] e antimalárica [9]. Em relação aos principais constituintes químicos presentes estão os triterpenos / esteróides e flavonóides [12]. Registros toxicológicos para esta espécie são escassos e a maioria está relacionada com intoxicação em animais como pneumotoxicozes e hepatotoxicidade [13, 14].

Embora *A. oleracea* e *T. micrantha* apresentem diversas propriedades medicinais, ainda há uma carência de registros na literatura de dados relacionados à danos ao DNA celular e análises toxicológicas que a tornem seguras para o uso na terapêutica. Neste sentido, o

objetivo deste estudo é avaliar se os extratos etanólicos de *Acmella oleracea* e *Trema micrantha* apresentam efeitos genotóxicos em linhagens de células HepG2.

Material e Métodos

Coleta do material vegetal e preparação dos extratos

As flores de *Acmella oleracea* e folhas de *Trema micrantha* foram coletadas em Santarém, região Oeste do Pará, Brasil, na comunidade de Cucurunã (PA – 457) (02° 29' 46.7" S 0.54° 40' 04.8" W e Rodovia Everaldo Martins (02° 27' 13" S 54° 46' 5.0" W), respectivamente. Amostras das duas espécies foram também coletadas para identificação botânica e confecção de excisatas, depositadas nos Herbário IAN da Embrapa Amazônia Oriental (IAN-188088) e HSTM da Universidade Federal do Oeste do Pará (HSTM-14067). A pesquisa com essas espécies foi registrada no sistema SisGen sob o código de cadastro A28942.

As amostras de flores e folhas foram desidratadas em estufa com circulação e renovação de ar a 40° C e trituradas para a obtenção do pó. Os extratos etanólicos de cada planta foram preparados a partir do pó na proporção de 1:10 (planta/etanol 96%) a 50° C por 30 minutos. Posteriormente, foram filtradas, o etanol foi evaporado em temperatura ambiente e o extrato foi liofilizado.

Cultivo celular

Foi utilizada linhagem de células de hepatocarcinoma humano (HepG2) cedida pelo Laboratório de Fitoquímica da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), do Departamento de Farmácia (UFMG) pela profa. Dra. Alaíde Braga de Oliveira. O cultivo das células foi realizado no Laboratório de Imunologia e Biologia Celular do Câncer e Leishmania (LABICeL), do Departamento de Morfologia da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão/SE (UFS). As células foram cultivadas em condições estéreis, em garrafas de poliestireno em Meio Dulbeccos's Modified Eagle Medium (DMEM), suplementado com 10% de soro bovino fetal (SBF) e 1% de antibiótico (penicilina e estreptomicina), sendo mantidas

em estufa umidificada sob atmosfera de 37° C e 5% de CO₂. O crescimento das células foi acompanhado diariamente com auxílio do microscópio invertido, sendo observadas morfologia, aderência e confluência. Ao atingirem 80% de confluência, foram realizados repiques das culturas celulares. As células foram desprendidas das garrafas de cultura utilizando uma solução de tripsina e EDTA (2,5 g/L de tripsina a [1:250] e 0,38 g/L de EDTA em DMEM) por 3 minutos a 37° C, seguidos da adição de meio DMEM suplementado a 10% com SBF para inativação da tripsina. As células em suspensão foram transferidas para tubos falcon de 15mL e centrifugadas a 1200 rpm, a 4° C por 10 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e as células precipitadas (pellet) foram ressuspensas em meio DMEM completo. O subcultivo das células foi realizado durante toda a pesquisa, com a finalidade de manutenção da linhagem celular para a realização dos experimentos.

Avaliação da genotoxicidade utilizando o Ensaio Cometa in vitro

O ensaio foi realizado na versão alcalina [15] com modificações. Os testes foram conduzidos no Laboratório de Genética e Conservação de Recurso Naturais (GECON) da Universidade Federal de Sergipe (UFS). Todos os procedimentos metodológicos foram realizados sob abrigo de luz e em baixa temperatura, com a finalidade de evitar possíveis alterações ou danos adicionais ao DNA das células em análise.

Foi utilizada uma placa de 6 poços e foram semeadas aproximadamente 3×10^5 a 1×10^5 /poço e incubadas por 24h para aderência e proliferação celular. Para a avaliação da genotoxicidade dos extratos de *Acmella oleracea* e *Trema micrantha*, as células foram expostas ao tratamento em três diferentes concentrações (25, 50 e 100 µg/mL), as quais foram selecionadas com base nos resultados do ensaio do MTT (viabilidade celular maior que 70%) [9]. Como controle negativo as células HepG2 foram mantidas em meio DMEM suplementado a 10% com SBF e a placa incubada por 24h a 37° C, em atmosfera enriquecida com 5% de CO₂.

Após o tempo de tratamento, as células HepG2 foram submetidas ao processo de desprendimento do fundo do poço com adição de 500 µL de tripsina e a placa incubada por 10

a 15 minutos na estufa de CO₂. As células em suspensão foram colhidas em microtubos e centrifugadas a 1500 rpm, 4° C e por 10 minutos. Ao término da centrifugação, as células foram ressuspensas em 200 µL de PBS.

Uma alíquota de 20µL da suspensão de células, misturada com 120µL de agarose de baixo ponto de fusão (*low melting point* ou LMP) a 1% (p/v), foi gotejada em lâminas de microscopia pré-revestidas com uma fina camada de agarose de ponto de fusão normal (*normal melting point* ou NMP) a 1,5% (p/v) e em seguida, cobertas com uma lamínula (24 x 32 mm) e incubadas a 4° C por 20 minutos para solidificação. Após este período, as lamínulas foram removidas e as lâminas imersas por 1h a 4° C na solução de lise (89 ml de uma solução estoque (2,5 M NaCl, EDTA 100 mM, Tris 10 mM, 10 g de lauril sarcosinato, 890 mL de água destilada e pH ajustado para 10,0 com 10 g de NaOH, 1 mL de Triton X-100 e 10 mL de DMSO)). Após a lise, as lâminas foram transferidas para uma cuba de eletroforese e cobertas com tampão alcalino o (NaOH 10 N e EDTA 200 mM, com pH > 13), onde permaneceram por 20 minutos em repouso para a desnaturação do DNA. Em seguida, as lâminas foram submetidas a eletroforese em banho de gelo (4° C) por 20 minutos a 25 Volts (V), 300 miliampères (mA) e ao abrigo de luz. Após a eletroforese, as lâminas foram neutralizadas (solução de 0,4 M de Tris-HCl, pH 7,5) por 15 minutos e fixadas em etanol absoluto (100%) por 10 minutos e, em seguida, secas por 24h em temperatura ambiente.

Para a coloração, as lâminas foram rehidratadas por 5 minutos com água destilada e em seguida dispostas verticalmente em cubeta de vidro, sendo adicionado à solução de coloração com nitrato de prata (53 mL de solução A: 25g de Carbonato de Sódio (5%) e 27 mL de solução B: constituída de Nitrato de prata (0,1%)). A cubeta de vidro foi incubada em banho-maria a 37° C por 30 minutos e após este procedimento, as lâminas foram lavadas com água destilada (3X) e expostas à solução de interrupção de coloração (ácido acético 1%), por 5 minutos. Para finalizar, as lâminas foram lavadas com água destilada (3X) e secas em temperatura ambiente, para posterior análise.

A visualização dos nucleóides foi realizada em microscópio óptico comum (Olympus) com aumento de 400X. Foram analisados em média 150 nucleóides, sendo desconsiderados os

nucleóides posicionados à margem das lâminas, sobrepostos ou com aspecto de apoptose. O dano do DNA foi avaliado pelo método quantitativo, por meio do score visual, como descrito por [16] e classificados em: classe 0 (sem causa), classe 1 (cauda mais curta que o diâmetro da cabeça), classe 2 (tamanho da cauda uma ou duas vezes maior do que o diâmetro da cabeça). A pontuação total do cometa foi calculada por meio da equação (% de células em classe 0 x 0) + (% de células em classe 1 x 1) + (% de células em classe 2 x 2) + (% de células em classe 3 x 3).

$$(\%) R = \frac{\text{Média total (score A)} - \text{Média total (score B)}}{\text{Média total (score A)} - \text{Média total (score C)}} \times 100$$

Análise estatística

Os resultados foram expressos em média $\pm$ erro padrão da média (EPM) de três experimentos independentes. A análise estatística dos dados foi realizada usando análise de variância (*one-way* ANOVA), seguido pelo teste de Dunnett, utilizando o software GraphPad Prism 8.0.1 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). Os dados de (%) de redução de danos foram submetidos à ANOVA (*one-way*), seguido de pós-teste de Tukey, com nível de significância ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Os danos no DNA celular foram avaliados com base nas classes de danos, levando em consideração o tamanho dos nucleóides, formato e padrão de migração da cauda. Nas amostras analisadas dos extratos de flores de *Acmella oleracea* e folhas de *Trema micrantha*, não foi possível observar danos significativos no DNA celular nas concentrações testadas em comparação ao controle positivo (H_2O_2 – peróxido de hidrogênio) ($p < 0,001$), portanto, podemos inferir que os extratos etanólicos dessas espécies não são considerados genotóxicos para as células HepG2. Os dados das análises estão dispostos nas tabelas 1 e 2, e figura 1.

Tabela 1. Migração do DNA (média $\pm$ EPM) para avaliação da genotoxicidade do extrato de *Acmella oleracea* em células da linhagem HepG2, com base nas classes de danos observadas.

Tratamentos	Classe de Dano				Scores (1-3)
	0	1	2	3	
Controle Negativo					
(DMEM)	99,82 $\pm$ 0,17	0,17 $\pm$ 0,17	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,17 $\pm$ 0,17
H ₂ O ₂ [75 μ M]	77,30 $\pm$ 1,75 ^a	1,55 $\pm$ 0,25 ^b	4,93 $\pm$ 0,97 ^a	16,20 $\pm$ 2,34 ^a	60,04 $\pm$ 5,81 ^a
AO [100 μ g/mL]					
por 24h	99,29 $\pm$ 0,46	0,35 $\pm$ 0,17	0,35 $\pm$ 0,35	0,00 $\pm$ 0,00	1,05 $\pm$ 0,80
AO [50 μ g/mL]					
por 24h	100 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
AO [25 μ g/mL]					
por 24h	99,83 $\pm$ 0,17	0,17 $\pm$ 0,17	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,17 $\pm$ 0,17

Legenda: Os dados são apresentados como médias $\pm$ EPM de três experimentos independentes. Foi realizada a análise de variância unilateral (ANOVA) e teste de Dunnett, sendo considerado estatisticamente diferente do controle negativo, quando: ^a($p < 0,0001$) e ^b($p < 0,001$). H₂O₂ = Peróxido de Hidrogênio. DMEM: Meio de Eagle modificado por Dulbecco. AO = *Acmella oleracea*.

Pesquisas com análises de dano de DNA ainda são escassos para espécies do gênero *Acmella*. Um estudo desenvolvido com extrato metanólico de flores de *Spilanthes calva* (*sin. Acmella*) não apresentou mutagenicidade em cepas TA102 *Salmonella typhimurium* por meio do Teste de Ames e, além disso, o extrato tem demonstrado efeito antimutagênico com inibição dose dependente de mutagenicidade (86,4% - $P < 0.001$) a 2mg/placa. [11], em cepas TA102. O espilantol (affinin), obtido a partir do extrato etanólicos de raízes de *Heliopsis longipes* (A.Gray) Blake, constituinte químico também comumente encontrado em espécies do gênero *Acmella*, tem demonstrado atividade antimutagênica, sendo capaz de reduzir em 40% mutações induzidas por 2AA (2-aminoantraceno) e dano oxidativo gerado por NOR (norfloxacina) (37 –

50%), não causando, portanto, aumento no número de colônias revertentes His⁺ em relação ao controle negativo em cepas TA 100 e TA 98 *Salmonella Typhimurium*, com ou sem mistura S9. O espilantol, tem demonstrado propriedades antioxidantes, o qual possui habilidade na redução de mutações por 2AA (2-aminoantraceno) e NOR (norfloxacina) [17, 18]. Comparado aos nossos resultados, a presença do espilantol, pode ser um dos constituintes químicos responsáveis pela redução dos danos do DNA das células HepG2 detectados em nossos estudos, no entanto, são necessárias análises adicionais para que possa confirmar a viabilidade e segurança desta espécie para uso medicinal.

Outros estudos toxicológicos com espécies do gênero *Acmella* envolvem análises com zebrafish (*Danio rerio*). Souza e colaboradores [19] demonstraram em estudos com extrato hidroetanólico de raiz de *Spilanthes acmella* L. em zebrafish, que em administrações orais ou por imersão, os animais em análise apresentaram alteração de comportamento como o aumento na atividade de natação e em alguns casos mortes. De acordo com o autor, esses comportamentos podem estar relacionados com as características químicas do extrato e presença do espilantol, sugerindo que os danos histopatológicos observados são dependentes da dose utilizada no estudo. Além disso, foi observada toxicidade reprodutiva *in vivo*, como efeitos teratogênicos que incluem deformação da calda, edema cardíaco, escoliose e retardo no crescimento, características essas mais evidentes em grupos de recém-nascidos com progenitores expostos a altas concentrações (100 a 200 µg/L). Embora os embriões tenham apresentado alterações, seus progenitores não foram afetados quanto a sua fertilidade [20]. Efeitos potenciais para anestesia também foram observados em peixes, utilizando extratos (etanol 70%) de flores de *Acmella oleracea*, no entanto, esse efeito pode variar de acordo com o peso e comprimento do indivíduo, além da concentração utilizada [21].

Tabela 2. Migração do DNA (média $\pm$ EPM) para avaliação da genotoxicidade do extrato de *Trema micrantha* em células da linhagem HepG2, com base nas classes de danos observadas.

Tratamentos	Classe de Dano				Scores (1-3)
	0	1	2	3	
Controle Negativo					
(DMEM)	99,62 $\pm$ 0,37	0,18 $\pm$ 0,18	0,00 $\pm$ 0,00	0,18 $\pm$ 0,18	0,74 $\pm$ 0,74
H ₂ O ₂ [75 μ M]	77,3 $\pm$ 1,75 ^a	1,55 $\pm$ 0,25	4,93 $\pm$ 0,97 ^b	16,20 $\pm$ 2,34 ^a	60,04 $\pm$ 5,81 ^a
TM [100 μ g/mL]					
por 24h	97,25 $\pm$ 2,22	2,34 $\pm$ 2,07	0,18 $\pm$ 0,18	0,21 $\pm$ 0,21	3,36 $\pm$ 2,58
TM [50 μ g/mL]					
por 24h	99,79 $\pm$ 0,21	0,21 $\pm$ 0,21	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,21 $\pm$ 0,21
TM [25 μ g/mL]					
por 24h	99,45 $\pm$ 0,54	0,00 $\pm$ 0,00	0,54 $\pm$ 0,54	0,00 $\pm$ 0,00	1,09 $\pm$ 1,09

Legenda: Os dados são apresentados como médias $\pm$ EPM de três experimentos independentes. Foi realizada a análise de variância unilateral (ANOVA) e teste de Dunnett, sendo considerado estatisticamente diferente do controle negativo, quando: ^a($p < 0,0001$) e ^b($p < 0,001$). H₂O₂ = Peróxido de Hidrogênio. DMEM: Meio de Eagle modificado por Dulbecco. TM = *Trema micrantha*.

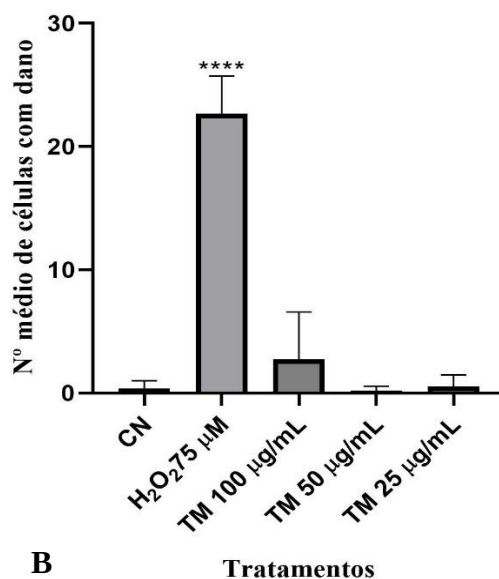
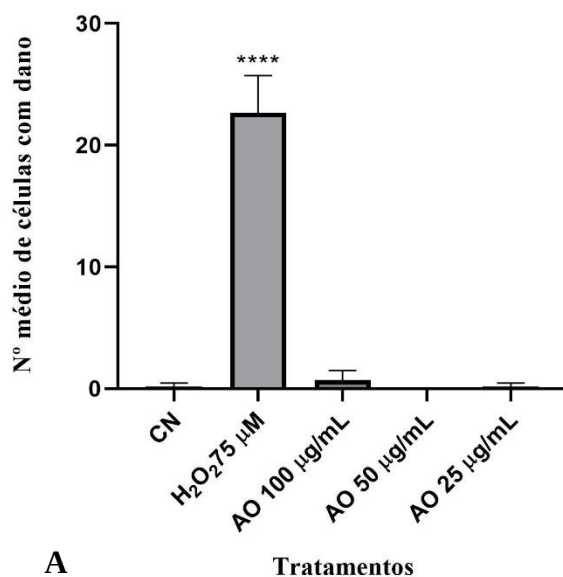


Figura 1: Avaliação de danos de DNA em células da linhagem HepG2 em Ensaio Cometa. Número médio de células com dano ao DNA (soma das classes 1 + 2 + 3). Os dados são apresentados como médias $\pm$ EPM de três experimentos independentes nas concentrações de 25, 50 e 100 $\mu\text{g/mL}$. Foi realizada a análise de variância unilateral (ANOVA) e teste de Dunnett, sendo considerado estatisticamente diferente do controle negativo: ****($p < 0,0001$). CN = Controle Negativo. H_2O_2 = Peróxido de Hidrogênio. (A) Análise dos extratos etanólicos de flores de *Acmella oleracea*, (B) Análise dos extratos etanólicos de folhas de *Trema micrantha*.

Em relação a espécie *Trema micrantha*, não existem evidências na literatura de estudos relacionados a danos no DNA celular e/ou mutagenicidade. No entanto, pesquisas tem demonstrado efeitos toxicológicos em caprinos, os quais demonstraram necrose hepática após a ingestão de folhas verdes [13], além de hepatotoxicidade e efeitos neurotóxicos em equinos [22] e pneumotóxicos em ovelhas [23], Embora *T. micrantha* apresente evidências de toxicidade em animais, estudos feitos por Schoenfelder et al. [24] em tratamento agudo com modelos de ratos, demonstraram uma redução significativa nos níveis de glicose no sangue em ratos diabéticos, sendo, portanto, considerada boa candidata a medicina alternativa e/ou complementar no tratamento do diabetes mellitos, por apresentarem efeitos benéficos na redução dos níveis de glicose no sangue. Apesar do extrato de folhas de *T. micrantha* não terem apresentado efeito genotóxico em nossos estudos, assim como ausência de citotoxicidade [9] ambos em análises de modelo celular *in vitro*, ainda é necessário cautela no uso desta espécie para fins terapêuticos.

Ensaio *in vitro* utilizando culturas de células HepG2 são comumente utilizadas em análises toxicológicas. Em função disso, muitas pesquisas com espécies vegetais utilizando células HepG2 como modelo celular em testes *in vitro*, têm sido realizadas recentemente, demonstrando ser um bom indicador para análises de genotoxicidade. Pesquisas com formulações herbáceas conhecidas na medicina Persiana denominada de AT (“Absinth tablet), utilizada no tratamento de doenças hepáticas, tem sido avaliada por seu efeito antigenotóxico e citoprotetivo utilizando ensaio cometa em culturas de células HepG2. Todas as frações provenientes dessa formulação demonstraram efeito hepatoprotetivo. O extrato metanólico e as

frações evidenciaram atividade antigenotóxica contra danos de DNA induzidos por peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a $25\mu M$ e em altas concentrações ($200\mu g/mL$). Não foi observado alterações na quantidade de danos de DNA e porcentagem significativa de fragmentação na cauda dos nucleóides ($p < 0.05$) [25]. Outros estudos tem sido desenvolvidos utilizando células HepG2 em espécies vegetais por meio do ensaio cometa, no entanto, algumas espécies vegetais apresentaram danos ao DNA celular, como o extrato de *Pterolobium stellatum* [26] e extratos de sementes de *Sapindus saponaria* [27], resultados estes que podem estar relacionados com as propriedades físico-química dessas espécies, modo de preparo dos extratos, solvente, concentrações testadas, além das condições teste.

Conclusão

Os extratos etanólicos das flores de *Acmella oleracea* e folha de *Trema micrantha* não exibem danos ao DNA celular detectáveis pelo ensaio cometa, não sendo, portanto, considerados genotóxicos em células da linhagem HepG2 (hepatocarcinoma humano). No entanto, esses ensaios ainda são preliminares e estudos adicionais de genototoxicidade e/ou mutagenicidade em modelos *in vitro* e *in vivo* são requeridos para a melhor comprovação da viabilidade e segurança do uso dessas espécies vegetais no tratamento de doenças.

Disponibilidade de dados

Os dados de análise genotóxica dos extratos etanólicos das espécies *Acmella oleracea* e *Trema micrantha* são dispostos nesta sessão do artigo, não havendo, portanto, material suplementar.

Conflitos de interesse

Os autores declaram que não há conflitos de interesse

Agradecimentos

FAPESPA pela concessão da bolsa de doutorado. Este trabalho foi financiado pelo Projeto: 88881.510177/2020-01 - Consolidação da Pós-Graduação em Ciências da Saúde com foco em Biotecnologia e Inovação terapêutica para atenção à saúde - N.º AUXPE 817/2020. A parceria entre o Laboratório de Bioprospecção e Biologia Experimental (LABBBEx) da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA) e o Laboratório de Fitoquímica da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Laboratório de Genética e Conservação de Recursos Naturais (GECON) e Laboratório de Imunologia e Biologia Celular do Câncer e Leishmania – LABICeL da Universidade Federal de Sergipe (UFS).

Referências

- [1] World Health Organization, WHO Traditional Medicine Strategy 2002–2005, World Health Organization (WHO), Geneva, Switzerland, 2002.
- [2] A. Bardoloi, A.D. Sore, Genotoxicity induced by medicinal plants. *Bulletin of the National Research Centre*, vol. 46, pp. 119, 2022. <https://doi.org/10.1186/s42269-022-00803-2>
- [3] V. Ertekin, M.A. Selimoglu, S. Altinkaynak, “A combination of unusual presentations of *Datura stramonium* intoxication in a child: rhabdomyolysis and fulminant hepatitis,” *Journal of Emergency Medicine*, vol. 28, n° 2, pp. 227-228, 2005.
- [4] S. Sirikantaramas, M. Yamazaki, K. Saito, “Mechanisms of resistance to self-produced toxic secondary metabolites in plants,” *Phytochemistry Reviews*, vol. 7, n° 3, pp. 467– 477, 2008.
- [5] P.B. Savant, M.S. Kareppa, [A Systemetic and Scientific Review on the *Acmella oleracea* and its Traditional Medical and Pharmacological uses](#). *Asian Journal of Pharmaceutical Research*. vol. 12 n° 1, pp. 71 – 75, 2022.
- [6] D.A. Neves, M. Schmiele, J.A.L. Pallone, E.A. Orlando, E.M. Risso, E.C.E. Cunha, H.T. Godoy, Chemical and nutritional characterization of raw and hydrothermal processed jambu (*Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen). *Food Research International*, vol.116, pp. 1144 – 1152, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.060>

- [7] R. Favoreto, B. Gilbert. *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen (Asteraceae) – Jambu. *Revista Fitos*, vol.5 (1), pp. 83 – 91, 2010.
- [8] R. Stein, M. Berger, B.S. Cerco, L.P. Mallmann, P.B. Terraciano, D. Driemeier, E. Rodrigues, W.O. Beys-da-Silva, E.L. Konrath, Chymase inhibition: A key factor in the anti-inflammatory activity of ethanolic extracts and spilanthol isolated from *Acmella oleracea*. *Journal of Ethnopharmacology*. 270, 113610, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113610>
- [9] M.B.V. Santos, D.C. Gontijo, M.F.A. Nascimento, R.C. De Paula, J.C.B. Bellei, F.O. Raimundo, K.K.G. Scopel, A.B. Oliveira, R.H.V. Mourão. *In Vitro and in Vivo* Antimalarial Activity, Cytotoxicity and Phytochemical HRMS2 Profile of Plants from the Western Pará State, Brazilian Amazonia. *Chemistry & Biodiversity*, pp. 1 – 10, 2024. doi.org/10.1002/cbdv.202301082
- [10] A.F. Barbosa, M.G. Carvalho, R.E. Smith, A. Sabaa-Srur, Spilanthol: occurrence, extraction, chemistry and biological activities. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, vol. 26, pp. 128 – 133, 2016.
- [11] K. Sukumaran, R. Kuttan, Inhibition of tobacco-induced mutagenesis by eugenol and plant extracts. *Mutation Research*, vol. 343, pp. 25 – 30, 1995.
- [12] C.S. Magalhães, R.D. Sá, S.L.S.M.A. Baltar, Randau, K.P. Microscopic, histochemical and preliminary phytochemical characterization of leaves of *Trema micrantha* (L.) Blume. *Anales de Biología*, vol. 43, pp. 93 – 99, 2021.
- [13] S.D. Traverso, P. Zlotowski, M. Germer, C.E.F. CruzDriemeier, D. Spontaneous poisoning by *Trema micrantha* (Ulmaceae) in goats*, *Acta Scientiae Veterinariae*, vol. 33(2), pp. 207-210, 2005.
- [14] F. Wouters, A.T.B. Wouters, T.T.N. Watanabe, M.P. Soares, C.E.F. Cruz, D. Driemeier, Pneumotoxycosis in Sheep Caused by Ingestion of *Trema Micrantha*, *Domestic Mammal Disease*, vol. 50 (5), pp. 775 – 778, 2013. DOI: 10.1177/0300985813478208

- [15] R.R. Tice, E. Agurell, D. Anderson, Burlinson, B. et al. Single cell gel/comet assay: guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing. *Environment Molecular Mutagenic*, vol. 35 (3), pp. 206 – 21, 2000.
- [16] A. R. Collins, The comet assay for DNA damage and repair: Principles, applications, and limitations. *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part B Molecular Biotechnology*, vol. 26, nº 3, pp. 249–261, 2004.
- [17] J. Paulraj, R. Govindarajan, P. Palpu, The Genus *Spilanthes* Ethnopharmacology, Phytochemistry, and Pharmacological Properties: A Review. *Hindawi Publishing Corporation Advances in Pharmacological Sciences*. Article ID 510298. 22, 2013.
- [18] M. Arriaga-Alba, M.Y. Rios, M. Déciga-Campos, Antimutagenic properties of affinin isolated from *Heliopsis longipes* extract. *Pharmaceutical Biology*, vol. 51 (8), pp. 1035 – 1039, 2013.
- [19] G.C. Souza, I.D.R. Da Silva, M.D. Viana, , N.C., Melo Sánchez-Ortiz, B.L., Oliveira, M.M.R., Barbosa, W.C., Ferreira, I.M., Carvalho, J.C.T. Acute Toxicity of the Hydroethanolic Extract of the Flowers of *Acmella oleracea* L. in Zebrafish (*Danio rerio*): Behavioral and Histopathological Studies. *Pharmaceuticals*. 12, 173, 2019a. doi:10.3390/ph12040173
- [20] G.C. Souza, A.C.M. Pereira, M.D., Viana, Ferreira, A.M., Da Silva, I.D.R., Oliveira, M.M.R., Barbosa, W.L.R., Silva, L.B., Ferreira, I.M., Santos, C.B.R., Carvalho, J.C.T. *Acmella oleracea* (L) R. K. Jansen Reproductive Toxicity in Zebrafish: An *In Vivo* and *In Silico* Assessment. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article ID 1237301, vol. 19, 2019b. <https://doi.org/10.1155/2019/1237301>
- [21] M. Leite, H. Tercya, B.G. Nascimento, J. Rodrigues, R. Santos, B.P.D. Costa, W.L. Nascimento., Z.G. Luis, M. Lima-Maximino, C., Maximino, D.H. Siqueira-Silva, Anesthesia or seizure-like behavior? The effects of two Amazonian plants, *Acmella oleracea* and *Piper alatabaccum* in zebrafish (*Danio rerio*). *Brazilian Journal of Biology*, vol. 82, e266010, 2022. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.266010>

- [22] P.M. Bandara, S.P. Pavarini, D.L. Ramundo, A.M.R. Corrêa, P.M.O. Pedroso, Driemeier, D. *Trema micrantha* toxicity in horses in Brazil. *Equine Veterinary Journal*, vol. 42 (5), pp. 45 – 9, 2010.
- [23] L.S. Quevedo, T.G. Cristo, A.L.O. Cunha, D. Hemcmeier, *et al.*, Toxic pneumopathy by *Trema micrantha* in sheep in the State of Santa Catarina, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research*. 42, e07128, 2022.
- [24] Schoenfelder, T., Cirimbelli, T.M., Citadini-Zanette, V. Acute effect of *Trema micrantha* (Ulmaceae) on serum glucose levels in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 11, 107 (3): 456 – 9, 2006. doi: 10.1016/j.jep.2006.07.027.
- [25] F. Soltani, O.F. Moghadam, N. Nadalizadeh, S.A. Emami, B. Javadi, Anti-genotoxic and cytoprotective effects of a multi-herbal extract against oxidative stress induced by hydrogen peroxide in HepG2 cells. *South African Journal of Botany*, vol. 140, pp. 11 – 16, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.03.029>
- [26] W. Kahaliw, B. Hellman, E. Engidawork, Genotoxicity study of Ethiopian medicinal plant extracts on HepG2 cells. *BMC Complement Alternative Medicine and Therapies*. 18:45, 2018. doi: [10.1186/s12906-017-2056-x](https://doi.org/10.1186/s12906-017-2056-x)
- [27] G.D.B. Tavares, C.A.F. Aiub, I; Felzenszwalb, E.K.C. Dantas, C.F. Araújo-Lima, C.L. Siqueira-Júnior, In vitro biochemical characterization and genotoxicity assessment of *Sapindus saponaria* seed extract. *Journal of Etnopharmacology*, vol. 276, 114170, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114170>

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A malária atualmente ainda é considerada um problema de saúde pública, e apesar dos grandes avanços biotecnológicos e a descoberta de novas alternativas terapêuticas para o tratamento no mundo, o cenário ainda é de preocupação por conta da contínua resistência do parasita *Plasmodium* aos antimaláricos disponíveis. Nesse sentido, as plantas medicinais continuam sendo umas das principais fontes de tratamento, especialmente em comunidades tradicionais ou regiões com alto índice de transmissão e carência no acesso aos sistemas básico de saúde. Além da descoberta de espécies vegetais antimaláricas, tornam-se necessário o isolamento e a identificação dos seus constituintes químicos, os quais podem servir de fontes para o desenvolvimento de novos fármacos antimaláricos, podendo contribuir para a ampliação dos recursos terapêuticos e, conseqüentemente, auxiliar no tratamento e redução de casos graves decorrentes da infecção pelo parasito.

A triagem de plantas investigadas em nosso estudo, demonstrou que *Acmella oleracea*, conhecida como jambu, é a mais promissora, evidenciando potencial antimalárico acima de 90% em cepas de *Plasmodium* e cerca de 60% de redução da malária em camundongos, conduzida em testes *in vivo*, além de não evidenciar toxicidade em células HepG2. Diante disso, podemos considerar que *A. oleracea*, abundante na região amazônica e com inúmeras propriedades medicinais, está entre as espécies com potencial para o futuro desenvolvimento de um fitoterápico, considerando que esta espécie já é conhecida por possuir moléculas com princípios ativos contra cepas de *Plasmodium*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Guia para a conclusão de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos**, Gerência de Avaliação de Segurança e Eficácia – GESEF. Brasília, versão 2, 2013.

AGBODEKA, K.; GBEKLEY, H.E.; KAROU, S.D.; ANANI, K.; AGBONON, A.; TCHACONDO, T.; *et al.* Ethnobotanical Study of Medicinal Plants Used for the Treatment of Malaria in the Plateau Region, Togo. **Pharmacognosy Research**, v. 8, p. S12 – 8, 2016.

ALMEIDA, V.L.; SILVA, C.G.; SILVA, A.F.; CAMPANA, P.R.V.; FOUBERT, K.; LOPES, J.C.D.; *et al.* *Aspidosperma* species: A review of their chemistry and biological activities. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 231, p. 1225 – 140, 2019.

ALVEN, S.; ADERIBIGBE, B. Combination Therapy Strategies for the Treatment of Malaria. **Molecules**, v. 24, p. 3601, 2019. doi:10.3390/molecules24193601.

ANDRADE, R.O. **Um Nobel para doenças causadas por parasitas**. Revista Pesquisa FAPESP, 2015, Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/um-nobel-para-doencas-causadas-por-parasitas/>. Acesso: Agosto/2023.

ANDRADE-NETO, V.F.; BRANDÃO, M.G.L.; NOGUEIRA, F.; ROSÁRIO, V.E.; KRETTLI, A.U. *Ampeloziziphus amazonicus* Ducke (Rhamnaceae), a medicinal plant used to prevent malaria in the Amazon Region, hampers the development of *Plasmodium berghei* sporozoites. **International Journal of Parasitology**, v. 38, p. 1505 – 1511, 2008. doi:10.1016/j.ijpara.2008.05.007.

ANTINORI, S.; GALIMBERTI, L.; MILAZZO, L.; CORBELLINO, M. *Plasmodium knowlesi*: The emerging zoonotic malaria parasite. **Acta Tropica**, v. 125, n. 2, p. 191 – 201, 2012. doi: 10.1016/j.actatropica.2012.10.008.

ANTONELLI, L.R., JUNQUEIRA, C., VINETZ, J.M., GOLENBOCK, D.T., FERREIRA, M.U., GAZZINELLI. The immunology of *Plasmodium vivax* malaria. **Immunological Reviews**, v. 00, p. 1 – 27, 2019. doi: 10.1111/imr.12816.

ANTONY, H.A., PARIJA, S. C. Antimalarial drug resistance: an overview. **Tropical Parasitology**, v. 6, n. 1, p. 30, 2016. doi:10.4103/2229-5070.175081.

ARROW, K.J.; PANOSIAN, C.; GELBAND, H. Saving Lives, Buying Time: Economics of Malaria Drugs in an Age of Resistance. Editors, Committee on the Economics of Antimalarial Drugs. Saving Lives, Buying Time: **Economics of Malaria Drugs in an Age of Resistance** [The National Academies Press. ISBN: 0-309-53233-7, p. 388 6 x 9, 2004.

BÁCSKAY, I.; NEMES, D., FENYVESI, F., VÁRADI, J.; VASVÁRI, G.; FEHÉR, P.; *et al.* Role of Cytotoxicity Experiments in Pharmaceutical Development. Chapter 8. In: ÇELIK, T. A. **Citotoxicity**. 2018. doi:[10.5772/intechopen.72539](https://doi.org/10.5772/intechopen.72539).

BAIRD, J.K. Age-dependent characteristics of protection v. susceptibility to *Plasmodium falciparum*. **Annals of Tropical Medicine Parasitology**, v. 92, n. 4, p. 367 – 390, 1998. doi: 10.1080/00034989859366.

BARBOSA, A.P.; PALMEIRA, R.C.F.; NASCIMENTO, C.S.; FEITOZA, D.S.; CUNHA, M.S.C. Leguminosas Florestais da Amazônia Central. I. Prospecção das classes de compostos presentes na casca de espécies arbóreas. **Revista Fitos**, v. 1, n. 3, p. 47 – 57, 2006.

BATISTA, R.; SILVA JÚNIOR, A.J.; OLIVEIRA, A.B. Plant-Derived Antimalarial Agents: New Leads and Efficient Phytomedicines. Part II. Non-Alkaloidal Natural Products. **Molecules**, v. 14, p. 3037 – 3072, 2009. doi:10.3390/molecules14083037.

BEKONO, B.D.; NTIE-KANG, F.; ONGUÉNÉ, P.A.; LIFONGO, L.L.; SIPPL, W.; FESTER, K.; *et al.* The potential of anti-malarial compounds derived from African medicinal plants: a review of pharmacological evaluations from 2013 to 2019. **Malaria Journal**, v. 19, p. 183, 2020. <https://doi.org/10.1186/s12936-020-03231-7>.

BELETE, T. M. Recent Progress in the Development of New Antimalarial Drugs with Novel Targets. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 14, p. 3875 – 3889, 2020.

BIRADAR, Y.S.; BODUPALLY, S.; PADH, H. Evaluation of antiplasmodial properties in 15 selected traditional medicinal plants from India. **Journal of Integrative Medicine**, Journal Pre-proofs, v. 12, 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.joim.2019.11.001>.

BLASCO, B.; LEROY, D.; FIDOCK, D.A. Antimalarial drug resistance: linking *Plasmodium falciparum* parasite biology to the clinic. **Natural Medicine**, v. 23, n. 8, p. 917 – 928, 2017. doi:10.1038/nm.4381.

BONTA, R.K. Application of HPLC and ESI-MS techniques in the analysis of phenolic acids and flavonoids from green leafy vegetables (GLVs). **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 7, p. 349 – 364, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpha.2017.06.005>.

BRUCE-CHWATT, L. J. **Malaria: Principles and Practice of Malariology**. In: Wernsdorfer, W. H.; McGregor, I., Eds.; Churchill Livingstone: Edinburgh, pp. 1 – 59. 5, 1988.

CARVALHO-COSTA, D.; COSTA, H.S.; ALBUQUERQUE, T.G.; RAMOS, R.; CASTILHO, M.C.; SANCHES-SILVA, A. Advances in phenolic compounds analysis of aromatic plants and their potential applications. **Trends Food Science & Technology**, v. 45, n. 2, p. 336 – 354, 2015. doi:10.1016/j.tifs.2015.06.009.

CHAVES, L.S.M.; BERGO, E.S.; CONN, J.E.; LAPORTA, G.Z.; PRIST, P.R.; SALLUM, M.A.M. Anthropogenic landscape decreases mosquito biodiversity and drives malaria vector

proliferation in the Amazon rainforest. **PLoS ONE**, v. 16 (1): e0245087, 2021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245087>.

CHIERITO, T.P.C.; AGUIAR, A.C.C.; ANDRADE, I.M.; CERAVOLO, I.P.; GONÇALVES, R.A.C.; OLIVEIRA, A.J.B.; *et al.* Anti-malarial activity of indole alkaloids isolated from *Aspidosperma olivaceum*. **Malaria Journal**, v. 13, p. 142, 2014. <http://www.malariajournal.com/content/13/1/142>.

COATTI, G.C.; MARCARINI, J.C.; SARTORI, D.; FIDELIS, Q.C.; FERREIRA, D.T.; MANTOVANI, M.S. Cytotoxicity, genotoxicity and mechanism of action (via gene expression analysis) of the indole alkaloid aspidospermine (antiparasitic) extracted from *Aspidosperma polyneuron* in HepG2 cells. **Cytotechnology**, v. 68, p. 1161 – 1170, 2016.

CORDELLI, E.; BIGNAMI, M.; PACCHIEROTTI, F. Comet assay: a versatile but complex tool in genotoxicity testing. **Toxicology Research**, v. 10, p. 68 – 78, 2021. doi: 10.1093/toxres/tfaa093.

COCK, I.E.; SELESHO, M.I.; VUUREN, S.F.V. A review of the traditional use of southern African medicinal plants for the treatment of malária. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 245, 112176, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112176>.

COMMONS, R.J.; SIMPSON, J.A.; THRIEMER, K.; HUMPHREYS, G.; ABRECHA, T.; ALEMU, S.G.; *et al.* The effect of chloroquine dose and primaquine on *Plasmodium vivax* recurrence: a World Wide Antimalarial Resistance Network systematic review and individual patient pooled meta-analysis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, p. 1025 – 1034, 2018.

CORONADO, L.M.; NADOVICH, C.T.; SPADAFORA, C. Malaria Hemozoin: From target to tool. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1840, n. 6, p. 2032 – 2041, 2014. doi:10.1016/j.bbagen.2014.02.009 (71,77).

COLLINS, W.E.; JEFFERY, G.M. *Plasmodium malariae*: Parasite and disease. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n. 4, p. 579 – 592, 2007. doi: [10.1128/CMR.00027-07](https://doi.org/10.1128/CMR.00027-07).

CRUZ, L.R.; SPANGENBERG, T.; LACERDA, M.V.G.; WELLS, T.N.C. Malaria in South America: a drug discovery perspective. **Malaria Journal**, v. 12:168, 2013. <http://www.malariajournal.com/content/12/1/168>.

ÇELİK, T. A. **Introductory Chapter: Cytotoxicity**. Chapter 1, p. 278, 2018. doi: [10.5772/intechopen.69919](https://doi.org/10.5772/intechopen.69919).

DAGEN, M. History of Malaria and its Treatment. In: **Antimalarial Agents: Design and Mechanism of Action**. Edited. PATRICK, G.L., Elsevier, p. 1 – 48, 2020. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101210-9.00001-9>.

DAZA, W.G.; MUYLEAERT, R.L.; SOBRAL-SOUZA, T.; LANDEIRO, V.L. Malaria Risk Drivers in the Brazilian Amazon: Land Use – Land Cover Interactions and Biological Diversity. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 1, n. 20(15), p. 6497, 2023. doi: [10.3390/ijerph20156497](https://doi.org/10.3390/ijerph20156497).

DE PAULA, R.C.; DOLABELA., M.F.; OLIVEIRA, A.B. *Aspidosperma species* as sources of antimalarials. Part III. A Review of Traditional Use and Antimalarial Activity. **Planta Medica**, v. 80, p. 378 – 386, 2014.

DE SILVA, P.; MARSHALL, J.M. Factors Contributing to Urban Malaria Transmission in Sub-Saharan Africa: A Systematic Review. **Journal of Tropical Medicine**, Article ID 819563, p. 10, 2012. doi:[10.1155/2012/819563](https://doi.org/10.1155/2012/819563).

DOLABELA, M.F.; OLIVEIRA, S.G.; PERES, J.M.; NASCIMENTO, J.M.S.; PÓVOA, M.M.; OLIVEIRA, A.B. *In vitro* antimalarial activity of six *Aspidosperma* species from the state of Minas Gerais (Brazil). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 84 (4), p. 899 – 910, 2012.

DOMBROWSKI, J.G.; GOMES, L.C.; LOREZ, C.; PALASIA, R.G.S.; MANCHESINI, P.; EPIPHANIA, S.; *et al.* Mapping and characterizing areas with high levels of malaria in pregnancy in Brazil: A spatiotemporal analysis. **The Lancet**, v. 12, 2022.

FAIRHURST, R.M.; WELLEMS, T.E. *Plasmodium* species (Malaria). In: Mandell, G.L., Bennett, J.E., Dolin, R. Editores. Mandell, Douglas e Bennett's. **Principles and practice of infectious diseases**. 7^a ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; p. 3437 – 62, 2010.

FRANÇA, T.C.C.; SANTOS, M.G.; FIGUEROA-VILLAR, J.D. Malária: aspectos históricos e quimioterapia. **Química Nova**, v. 31, n. 5, 1271 – 1278, 2008.

FERREIRA, M.U.; CASTRO, M.C. Challenges for malaria elimination in Brazil. **Malaria Journal**, v.15, p. 284, 2016. doi:10.1186/s12936-016-1335-1.

FERREIRA, R.C.F.; SOBRAL, M.V. Ensaio de Redução do MTT. Cap. 12. In: GONÇALVES, J.C.R.; SOBRAL. **Cultivo de Células: da teoria à bancada**. Editora UFPB. João Pessoa, p. 166, 2020.

FOLEY, M.; TILLEY, L. Quinoline antimalarials: mechanisms of action and resistance. **International Journal for Parasitology**, v. 27, n. 2, p. 231 – 240, 1997.

GU, R.; WANG, Y.; LONG, B.; KENNELLY, E.; WU, S.; LIU, B.; *et al.* Prospecting for bioactive constituents from traditional medicinal plants through ethnobotanical approaches. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 37, n. 6, p. 903 – 915, 2014.

HENRIQUEZ, F.L.; WILLIAMS, R.A.M. Knowing one's enemy: The *Plasmodium* parasite. In: Graham, P.L. **Antimalarial Agents**. eBook ISBN: 9780081012413, Elsevier, 1^a Edição. Maio 30, 2020. <https://doi.org/10.1016/C2015-0-06338-9>.

INWONG, M.; SNOUNOU, G.; PUKRITTAYAKAMEE, S.; TANOMSING, N.; KIM, J.R.; NANDY, A., *et al.* Relapses of *Plasmodium vivax* Infection Usually Result from Activation of Heterologous Hypnozoites. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 195, p. 927 – 33, 2007.

JENSEN, M.; MEHLHORN, H. Seventy-five years of Resochin® in the fight against malaria. **Parasitology Research**, v. 105, p. 609–627, 2009.

KAUR, K.; JAIN, M.; KAUR, T.; JAIN, R. Antimalarials from nature. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 9, p. 173229 – 3256, 2009. doi: 10.1016/j.bmc.2009.02.050.

KAWAMOTO, F.; LIU, Q.; FERREIRA, M.U.; TANTULAR, I.S. How prevalent are *Plasmodium ovale* and *P. malariae* in East Asia? **Parasitol Today**, v. 15(10), p. 422 – 6, 1999.

KELLY, D.; GUIMARÃES, D.O.; TIMOTHY, D.; AMARANTE, C.B. Ethnobotanical study of anti-malarials among communities in the municipal of Portel-PA, Brazil. **Artigo de Pesquisa**, 2021. <http://dx.doi.org/10.32712/2446-4775.2021.1079>.

KFFURI, C.W.; LOPES, M.A.; MING, L.C.; ODONNE, G.; KINUPP, V.F. Antimalarial plants used by indigenous people of the Upper Rio Negro in Amazonas, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 178, p. 188 – 198, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.11.048>.

KRETTLI, A.U.; ANDRADE-NETO, V.; BRANDÃO, M.G.L.; FERRARI, W.M.S. The Search for New Antimalarial Drugs from Plants Used to Treat Fever and Malaria or Plants Randomly Selected: a Review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 8, p. 1033 – 1042, 2001.

LI, W.; ZHOU, J.; XU, Y. Study of the *in vitro* cytotoxicity testing of medical devices (review). **Biomedical Reports**, v. 3, p. 617 – 620, 2015. <https://doi.org/10.3892/br.2015.481>.

LIU, C.X. Discovery and Development of Artemisinin and Related Compounds. **Chinese Herbal Medicines**, v. 9, n. 2, p. 101 – 114, 2017. [https://doi.org/10.1016/S1674-6384\(17\)60084-4](https://doi.org/10.1016/S1674-6384(17)60084-4).

MA, N.; ZHANG, Z.; LIAO, F.; JIANG, T.; TU, Y. The birth of artemisinin. **Pharmacology & Therapeutics**, p. 4, 2020. [https://doi.org/10.1016/j. Pharmthera.2020.107658](https://doi.org/10.1016/j.Pharmthera.2020.107658).

MAFWELE, B.; LEE, J.W. Relationships between transmission of malaria in Africa and climate factors. **Scientific Reports**, v. 12:14392, 2022. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18782-9>.

MANUEL, L.; BECHEL, A.; NOORMAHOMED, E.V.; HLASHWAYO, D.F.; MADUREIRA, M.C. Ethnobotanical study of plants used by the traditional healers to treat malaria in Mogovolas district, northern Mozambique. **Heliyon**, v. 6: e05746, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05746>.

MARIATH, I. R.; FALCÃO, H.S.; BARBOSA-FILHO, J.M.; SOUSA, L.C.F.; TOMAZ, A.C.A.; BATISTA, L.M.; *et al.* Plants of the American continent with antimalarial activity. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. (1A), p. 158 – 192. 2009. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000100026>.

MARKUS, M.B. Thehypnozoite concept, with particular reference to malaria. **Parasitology Research**, v. 108, p. 247 – 252, 2011.

MARTINEZ, L.N.; SANTOS, M.G.; RODRIGUES, F.L.S.; COSTA, J.D.N.; PANSINI, S.; SILVA, D.C.; *et al.* Avaliação etnobotânica de plantas utilizadas como potenciais antimaláricos na região da Amazônia ocidental brasileira. **Interfaces Científicas – Saúde e Ambiente. Aracaju**, v. 6, n.2, p. 9 – 20, 2018. doi: 10.17564/2316-3798.2018v6n2p9-20.

MANZALI DE SÁ, I.A resistência à cloroquina e a busca de antimalariais entre as décadas de 1960 e 1980. **História, Ciências, Saúde – Manguinhos, RJ**, v. 18, n. 2, p. 407 – 430, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0104-59702011000200008>.

MENARD, D.; DONDORP, A. Animalarial drug resistance: A threat to malaria elimination; p. 255-278. *In: Malaria: Biology in the Era of Eradication*. WIRTH, D.F.; ALONSO, P.L. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 2017.

MENEGUETTI, D.U.O.; CUNHA, R.M.; LIMA, R.A.; OLIVEIRA, F.A.S.; MEDEIROS, D.S.S.; PASSARINI, G.M.; *et al.* Antimalarial ethnopharmacology in the Brazilian Amazon. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 4, p. 577 – 587, 2014.

MENDIS, K.; SINA, B.J.; MARCHESINI, P.; CARTER, R. The neglected burden of *Plasmodium vivax* malaria. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 64, p. 97 – 106, 2001.

MILLIKEN, W.; WALKER, B.E.; HOWES, M.J.; FOREST, F.; LUGHADHA, E.N. Plants used traditionally as antimalarials in Latin America: Mining the tree of life for potential new medicines. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 279, 114221, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114221>.

MILNER JR, D. A. Malaria pathogenesis. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 8, n. 1: a025569, 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Malária. Boletim Epidemiológico**. Secretaria de Vigilância Sanitária. Número especial/ Nov., p. 1 – 118, 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Malária. Boletim Epidemiológico**. Secretaria de Vigilância Sanitária. Número especial/ Nov., p. 1 – 100. 2021.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Panorama epidemiológico da malária em 2021: buscando o caminho para a eliminação da malária no Brasil.** Boletim Epidemiológico. Secretaria de Vigilância Sanitária, v. 53, n. 17, 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Ministério da Saúde incorpora medicamento inovador para malária ao SUS, 2023.** Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2023/junho/ministerio-da-saude-incorpora-medicamento-inovador-para-malaria-ao-sus>. Acesso: 30 de julho de 2023.

MITAINE-OFFER, A.C.; SAUVAIN, M.; VALENTIN, A.; CALLAPA, J.; MALLIÉ, M.; ZÈCHES-HANROT, M. Antiplasmodial activity of *Aspidosperma* indole alkaloids. **Phytomedicine**, v. 9, n. 2, p. 142 – 5, 2002. doi: 10.1078/0944-7113-00094.

MOJAB, F. Antimalarial natural products: a review. **Avicenna Journal of Phytomedicine**, v. 2, n. 2, p. 52 – 62. 2012.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxic assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1 – 2, p. 55-63, 1983, [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4).

MOTA, M.M.; RODRIGUEZ, A. Migration through host cells: the first steps of *Plasmodium* sporozoites in the mammalian host. **Cellular Microbiology**, v. 6, n. 12, p. 1113 – 1118, 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2004.00460.x>.

MULLER, M.; SCHLAGENHAUF, P. *Plasmodium knowlesi* in travellers, update 2014. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 22, p. 55 – 64, 2014. doi: 10.1016/j.ijid.2013.12.016.

NASCIMENTO, M.S.; PINA, N.P.V.; SILVA, A.S.B.; GOMES, L.F.S.; VASCONCELOS, F., BRANDÃO, G.C.; *et al.* *In vitro* antiplasmodial activity and identification, using tandem LC-

MS, of alkaloids from *Aspidosperma excelsum*, a plant used to treat malaria in Amazonia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 228, p. 99 – 109, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.09.012> .

NIZ, M.D.; BURDA, P.C.; KAISER, G.; PORTILLO, H.A.D.; SPIELMANN, T.; FRISCHKNECHT, F.; *et al.* Progress in imaging methods: insights gained into *Plasmodium* biology. **Nature Reviews/ Microbiology**, v. 15, p. 37 – 53, 2017. doi:10.1038/nrmicro.2016.158

OECD. **Guideline for the testing of chemicals. 489. In vivo mammalian alkaline comet assay**, p. 1 – 27, 2016. Disponível em: <https://www.oecd.org/env/test-no-489-in-vivo-mammalian-alkaline-comet-assay-9789264264885-en.htm>. Acesso em: Janeiro/ 2020.

OHASHI, L.H.; OLIVEIRA, A.B. *Palicourea hoffmannseggiana* (Schult.) Borhidi (Rubiaceae): uma revisão de taxonomia botânica, fitoquímica, atividades biológicas e atividade antimalárica. **Revista Eletrônica Acervo Saúde / Electronic Journal Collection Health**, v. Sup. n. 43, p. e3027, 2020. doi: <https://doi.org/10.25248/reas.e3027.2020>.

OKAFOR, C.N.; FINNIGAN, N.A. ***Plasmodium ovale* malaria**. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan. 2023 Aug 14. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519021/>. Acesso em: Dezembro/ 2022.

OKELLO, D.; KANG, Y. Exploring Antimalarial Herbal Plants across Communities in Uganda Based on Electronic Data. **Hindawi Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 27, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/3057180>.

OLADEJI. O.S.; OLUYORI, A.P.; BANKOLE, D.T.; AFOLABI, Y. Ethnobotanical description and biological activities of *Senna alata*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, Article ID 2580259, p. 12, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/2580259>.

OLIVE, P.L.; BANATH, J.P.; DURAND, R.E. Heterogeneity in radiation-induced DNA damage and repair in tumor and normal cells measured using the "comet" assay. **Radiation Research**, v. 122, n. 1, p. 86 – 94, 1990.

OLIVEIRA, A.R.M.; SZCZERBOWSKI, D. Quinina: 470 anos de história, controvérsias e desenvolvimento. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1971 – 1974, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000700048>.

OLIVEIRA, D.R.; KRETTLI, A.U.; AGUIAR, A.C.C.; LEITÃO, G.G.; VIEIRA, M.N.; MARTINS, K.S.; *et al.* Ethnopharmacological evaluation of medicinal plants used against malaria by quilombola communities from Oriximiná, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 173, p. 424 – 434, 2015. doi: 10.1016/j.jep.2015.07.035.

OLIVEIRA, D.R.; KRETTLI, A.U.A.; AGUIAR, C.C.; LEITÃO, G.G.; VIEIRA, M.N.; MARTINS, K. S.; *et al.* 'Ethnopharmacological evaluation of medicinal plants used against malaria by quilombola communities from Oriximiná, Brazil'. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 173, p. 424 – 434, 2015.

OLIVEIRA-FERREIRA, J.; LACERDA, M.V.G.; BRASIL, P.; LADISLAU, J.L.B.; TAUIL, P.; DANIEL-RIBEIRO, T. Malaria in Brazil: an overview. **Malaria Journal**, v. 9: 115, 2010. <http://www.malariajournal.com/content/9/1/115>.

OLSON, H.; BETTON, G.; ROBINSON, D.; THOMAS, K.; MONRO, A.; KOLAJA, G.; *et al.* Concordance of the toxicity of pharmaceuticals in humans and in animals. **Regulator Toxicology and Pharmacology**, v. 32, n. 1, p. 56 – 67, 2000. doi: 10.1006/rtph.2000.139.

OMARA, T. Antimalarial Plants Used across Kenyan Communities. **Hindawi Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 31, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/4538602>.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE, 2023. **Malária: Situação nas Américas**. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/malaria>. Acesso: 05/ 08/ 2023.

O'SULLIVAN, L.; JARDINE, A.; COOK, A.; Weinstein, P. Deforestation, Mosquitoes, and Ancient Rome: Lessons for Today. **Bioscience**, v. 58, n. 8, p. 756 – 760, 2008. <https://doi.org/10.1641/B580812>.

PACKARD, R.M. The Origins of Antimalarial-Drug Resistance. **The New England Journal of Medicine**, v. 5, p. 317, 2014.

PARHAM, P.E.; MICHAEL, E. Modeling the Effects of Weather and Climate Change on Malaria Transmission. **Environmental Health Perspectives**, v. 118, p. 620 – 626, 2010.

POHLIT, A.M.; LIMA, R.B.S.; FRAUSIN, G.; ROCHA E SILVA, L.F.; LOPES, S.C.P.; MORAES, C.B.; *et al.* Amazonian Plant Natural Products: Perspectives for Discovery of New Antimalarial Drug Leads. **Molecules**, 18, 9219 – 9240, 2013. doi:10.3390/molecules18089219.

PRICE, R.N.; COMMONS, R.J.; BATTLE, K.E.; THRIEMER, K.; MENDIS, K. *Plasmodium vivax* in the Era of the Shrinking *P. falciparum* Map. **Trends in Parasitology**, v. 36, n. 6, p. 560 – 570, 2020. doi:10.1016/j.pt.2020.03.009.

QAYUM, A.; ARYA, R.; LYNN, A. Ethnobotanical perspective of antimalarial plants: traditional knowledge based study. **BMC Research Notes**, v. 9:67, 2016.

RAMÍREZ, O.; BLAIR, S.; VAUPÉS MEDIA, T.V.; CARDONA, F.; PABÓN, A. Ethnobotany of medicinal plants used to treat malaria by traditional healers from ten indigenous Colombian communities located in Waupes Medio. **Biodiversity International Journal**, v. 1 (4): p. 151 – 167, 2017.

RASKIN, I.; RIBNICKY, D.M.; KOMARNYTSKY, S.; ILIC, N.; POULEV, A.; BORISJUK, N.; *et al.* Plants and human health in the twenty-first century. **Trends in Biotechnology**, v. 20, n. 2, p. 522 – 531, 2002.

RAHIMI, B.A.; THAKKINSTIAN, A.; WHITE, N.J.; SIRIVICHAYAKUL, C.; DONDORP, A.M.; CHOKEJINDACHAI, W. Severe *vivax* malaria: a systematic review and meta-analysis of clinical studies since 1900. **Malaria Journal**, v. 13, p. 481, 2014. <http://www.malariajournal.com/content/13/1/481>.

RAWE, S.L.; McDONNEL, L. The cinchona alkaloids and the aminoquinolines. In: Graham, P.L. **Antimalarial Agents**. eBook ISBN: 9780081012413, Elsevier, 1ª Edição. Maio 30, 2020.

RAWE, J.A.; CLAESSENS, A.; CORRIGAN, R.A.; ARMAN, M. Adhesion of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes to human cells: molecular mechanisms and therapeutic implications. **Expert Reviews in molecular medicine**, v. 11. E16, 2009. doi:10.1017/S1462399409001082

RAWE, S. L. Artemisinin and Artemisinin-related agents. Capítulo 4, p. 99 – 132, Elsevier. In: Patrick, G. L. **Antimalarial agents: Design and mechanism of action**, 2020. <https://doi.org/10.1016/C2015-0-06338-9>.

REBOUÇAS, S.O.; SILVA, J.; BERTONI, R.S.; DECKER, N.; SANTOS, M.S.; ROSSATTO, R.R.; *et al.* Assessment of the genotoxic and mutagenic properties of *Himatanthus articulatus* bark extracts used as phytotherapeutic drug in the Amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 147, p. 474 – 480, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2013.03.041>.

RIECKMANN, K.H.; DAVIS, D.R.; HUTTON, D.C. *Plasmodium vivax* resistance to chloroquine? **Lancet**, v. 2, p. 1183 – 1184, 1989.

SÁ, J.M.; TWU, O.; HAYTON, K.; REYES, S.; FAY, M.P.; RINGWALD, P.; WELLEMS, T. Geographic patterns of *Plasmodium falciparum* drug resistance distinguished by differential

responses to amodiaquine and chloroquine. **Proceedings of the National Academic of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 45, p. 18883 – 9, 2009. doi: 10.1073/pnas.0911317106.

SARQUIS, R.S.F.R.; SARQUIS, I.R.; SARQUIS, I.R.; FERNANDES, C.P.; SILVA, G.A.; LIMA-e-SILVA, R.B.; *et al.* The use of medicinal plants in the riverside community of the Mazagão river in the Brazilian Amazon, Amapá, Brazil: Ethobotanical and Etnopharmacological studies. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. Article ID 6087509, p. 25, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/6087509>.

SAXENA, S.; PANT, N.; JAIN, D.C.; BHAKUNI, R.S. Antimalarial agents from plant sources. **Current Science**, v. 85, n. 9, p. 1314 – 1329, 2003.

SCHALKWYK, D.A.V. **History of antimalarial agents**. In: eLS. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, 2015. doi: 10.1002/9780470015902.a0003624.pub3.

SCHLITZER, M. Malaria Chemotherapeutics Part I: History of Antimalarial Drug Development, Currently Used Therapeutics, and Drugs in Clinical Development. **ChemMedChem**, v.2, p. 944 – 989, 2007. doi: 10.1002/cmdc.200600240.

SECRETARIA DE SAÚDE PÚBLICA DO ESTADO DO PARÁ – **Boletim Epidemiológico da Malária** – Belém – No 10/ p. 1 – 12, 2023. Coordenação Estadual do Programa de Controle de Malária. Disponível em: <http://www.saude.pa.gov.br/wp-content/uploads/2023/11/Boletim-Epidemiologico-Malaria-no10-2023-1.pdf>. Acesso em: Dezembro/ 2023.

SILVA, D.K.F.; DONATO, M.F.; GONÇALVES, D.J.C.R. Tipos de Culturas Celulares. Cap.2. In: GONÇALVES, J.C.R.; SOBRAL. **Cultivo de Células: da teoria à bancada**. Editora UFPB. João Pessoa, p. 166, 2020.

SILVA, D.H.S.; MANNOCHIO-RUSSO, H.; LAGO, J.H.G.; BUENO, P.C.P.; MEDINA, R.P.; BOLZANI, V.S., *et al.* Bioprospecting as a strategy for conservation and sustainable use

of the Brazilian Flora. **Biota Neotropica**, v. 22(spe): e20221356, 2022. <http://dx.doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2022-1356>.

SILVA-JÚNIOR, G.B.; PINTO, J.R.; BARROS, E.J.G.; FARIAS, G.M.N.; DAHEI, E.F. Kidney involvement in malaria: an update. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 59:e53, 2017. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201759053>.

SILVA-NUNES, M.; MORENO, M.; CONN, J.E.; GAMBOA, D.; ABELES, S.; VINETZ, J.M.; *et al.* Amazonian malaria: Asymptomatic human reservoirs, diagnostic challenges, environmentally-driven changes in mosquito vector populations, and the mandate for sustainable control strategies. **Acta Tropica**, v. 121, n. 3, p. 281 – 291, 2012. doi:10.1016/j.actatropica.2011.10.001.

SIQUEIRA, A.M.; MESONES-LAPOUBLE, O.; MARCHESINI, P.; SAMPAIO, V.S.; BRASIL, P.; TAUIL, P.L.; *et al.* *Plasmodium vivax* Landscape in Brazil: Scenario and Challenges. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95(Suppl 6), p. 87 – 96, 2016. doi:10.4269/ajtmh.16-0204.

SKIRYCH, A.; KIERSZNIOWSKA, S.; MÉRET, M.; WILLMITZER, L.; TZOTZOS, G. Medicinal Bioprospecting of the Amazon Rainsforest: A Modern Eldorado? **Trends Biotechnology**, v. 34, n. 10, p. 781 – 790, 2016. doi: 10.1016/j.tibtech.2016.03.006.

SOUZA, K.H.S.; NASCIMENTO, A.A.; RIBEIRO, E.C.S.; FRAZÃO, G.F.; MONTEIRO-NETO, M.A.B.; BRITO, N.S.; *et al.* Evaluation of the genotoxic/antigenotoxic activities of the methanolic extract of *Amasonia campestris* (Aubl.) **Moldenke**, 2019. doi: 10.15343/0104-7809.20194302390405.

SRIVASTAVA, I.K.; MORRISEY, J.M.; DARROUZET, E.; DALDAL, F.; VAIDYA, A.B. Resistance mutations reveal the atovaquone-binding domain of cytochrome b. *In*. Malaria

Parasites. **Molecular Microbiology**, n. 33, p. 704 – 711, 1999. doi: 10.1046/j.1365-2958.1999.01515.x.

SRIVASTAVA, I.K.; ROTTENBERG, H.; VAIDYA, A.B. Atovaquone, a broad spectrum antiparasitic drug, collapses mitochondrial membrane potential in a malarial parasite. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272, p. 3961 – 3966, 1997. doi: 10.1074/jbc.272.7.3961.

SVENSON, J.E.; MACLEAN, J.D.; GYORKOS, T.W.; KEYSTONE, J. Imported malaria. Clinical presentation and examination of symptomatic travelers. **Archives International Medicine**, v. 24, n. 155 (8): p. 861 – 8, 1995.

TABUTI, J.R.S.; OBAKIRO, S.B.; NABATANZI, A.; ANYWAR, G.; *et al.* Medicinal plants used for treatment of malaria by indigenous communities of Tororo District, Eastern Uganda. **Tropical Medicine Health**, v. 51, p. 34, 2023. <https://doi.org/10.1186/s41182-023-00526-8>.

TAJBAKHSH, E.; KWENTI, T. E.; KHEYRI, P.; NEZARATIZADE, S.; LINDSAY, D. S.; KHAMESIPOUR, F. Antiplasmodial, antimalarial activities and toxicity of African medicinal plants: a systematic review of literature. **Malaria Journal**, v. 20(1), p. 349, 2021. doi: 10.1186/s12936-021-03866-0.

TAJUDDEEN, N.; HEERDEN, F. R. V. Antiplasmodial natural products: an update. **Malaria Journal**, v. 18, n. 18, p. 404, 2019. <https://doi.org/10.1186/s12936-019-3026-1>.

TANAKA, N.; KASHIWADA, Y. Phytochemical studies on traditional herbal medicines based on the ethnopharmacological information obtained by field studies. **Journal of Natural Medicines**, v. 75, p. 762 – 783, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11418-021-01545-7>.

THIENGUSUK, A.; CHAIJAROENKUL, W.; NA-BANGCHANG, K. Antimalarial activities of medicinal plants and herbal formulations used in Thai traditional medicine. **Parasitology Research**, 2013. doi 10.1007/s00436-013-3294-6.

TJITRARESMI, A.; MOEKTIWARDYOYO, M.; SUSILAWATI, Y.; SHIONO, Y. Antimalarial Activity of Lamiaceae Family Plants: Review. **Systematic Reviews in Pharmacy**, v. 11, n. 7, p. 324 – 333, 2020.

TOMCHINSKY, B.; LIN CHAU MING, L.C.; KINUPP, V.F.; HIDALGO, A.F.; CHAVES, F.C.M. Ethnobotanical study of antimalarial plants in the middle region of the Negro River, Amazonas, Brazil. **Acta Amazonica**, v. 47, p. 203 – 212, 2017. <https://doi.org/10.1590/1809-4392201701191>.

TSE, E.G.; KORSIK, M.; TODD, M.H. The past, present and future of anti-malarial medicines. **Malaria Journal**, v. 18, n. 1, p. 93, 2019. doi: 10.1186/s12936-019-2724-z.

UZOR, P.F. Alkaloids from plants with antimalarial activity: A review of recent studies. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, Article ID 8749083, p. 13, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/8749083>.

VANDGHANOONI, S.; ESKANDANI, M. Comet Assay: A Method to Evaluate Genotoxicity of Nano-Drug Delivery System. **BioImpacts**, v. 1, n. 2, p. 87 – 97, 2011.

VERTREES, R. A.; GOODWIN, T.; JORDAN, J. M.; ZWISCHENBERGER, J. B. Tissue Culture Models. In: ALLEN, T.; CAGLE, P. **Basic Concepts of Molecular Pathology**. Springer: Molecular Pathology Library, n. 2, 159 – 182, 2009. doi: 10.1007/978-0-387-89626-7_18.

VIEGAS-JÚNIOR, C.; BOLZANI, V.S.; BARREIRO, E.J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326 – 337, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000200025>.

WINK, M. Evolution of secondary metabolites in legumes (Fabaceae). **South African Journal of Botany**, v. 89, p. 164 – 175, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2013.06.00>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World Malaria Report 2011**. World Health Organization: Geneva, Switzerland, p. 246, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Malaria: Policy guidance – List of publications by year**. Geneva, World Health Organization, 2014. Disponível em: <http://www.who.int/malaria/publications/policy/en/>. Acesso: 16/ 11/ 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Technical Strategy for Malaria 2016-2030**. Geneva, World Health Organization, 2015. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/200018>. Acesso: 05/ 05/ 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World Malaria Report 2018**. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/275867>. Acesso: 26/ 05/ 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World malaria report 2020: 20 years of global progress and challenges**. Geneva: World Health Organization, 2020. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240015791>. Acesso: 29/ 11/ 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World Malaria Report. 2022**. Disponível em: <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2022>. Acesso: Maio/ 2023.

YANG, M.; SUN, J.; LU, Z.; CHEN, G.; GUAN, S.; LIU, X.; *et al*. Phytochemical analysis of traditional Chinese medicine using liquid chromatography coupled with mass spectrometry. **Journal Chromatography**, v. 13:1216, n. 11, p. 2045 – 2062, 2009. doi: 10.1016/j.chroma.2008.08.097.

ZEKAR, L.; SHARMAN, T. **Plasmodium falciparum Malaria**. [Updated 2021 Aug 11]. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2021.

6. ANEXOS



ATIVIDADE ANTIPLASMODIAL, CITOTÓXICA E PERFIL FITOQUÍMICO DE FLORES DE *Acmella oleracea* (L) R. K. Jansen (ASTERACEAE)

Maria Beatriz Viana dos Santos^{1,2*}, Maria Fernanda Alves do Nascimento³, Alaíde Braga de Oliveira³, Rosa Helena Veras Mourão^{1,2}

¹ Laboratório de Bioprospecção e Biologia Experimental – LabBBEx; Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, rosa.mourao@ufopa.edu.br

² Programa de Pós-Graduação Doutorado em Rede de Biodiversidade e Biotecnologia – BIONORTE / Pólo Pará. Universidade Federal do Oeste do Pará, ppg.para@bionorte.org.br

³ Departamento de Produtos Farmacêuticos, Laboratório de Fitoquímica, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, alaidebragaoliveira@gmail.com

Palavras-chave: malária, extratos bioativos, *Plasmodium falciparum*, jambú

Introdução

A malária é uma doença parasitária que ainda é considerada um problema de saúde pública. Com o surgimento de cepas de *Plasmodium falciparum* resistentes aos antimaláricos disponíveis, em especial a Cloroquina [1], pesquisas de novos fármacos têm apontado um número significativo de espécies vegetais de uso tradicional com potencial antimalárico [2],[3]. Na Amazônia, *Acmella oleracea* (L) R. K. Jansen (Asteraceae), popularmente conhecida como jambú, é utilizada principalmente na culinária, porém estudos têm mostrado o uso da espécie para tratar dor de dente devido sua ação anestésica, além de atividade antibacteriana e antifúngica [4]. O objetivo deste estudo foi verificar se o extrato das flores de *Acmella oleracea* possui efeito antiplasmodial contra cepas W2 de *P. falciparum*, bem como determinar a citotoxicidade em células HepG2 e seu perfil fitoquímico.

Material e Métodos

O material vegetal de *A. oleracea* (flores) foi coletado na comunidade de Cucurunã (PA-457) (02° 29' 46.7" S 0.54° 40' 04.8" W), Santarém – PA, em 2019, identificada e depositada no herbário da EMBRAPA, sob o código IAN-188088/EMBRAPA. As flores foram desidratadas em estufa a 40°C e trituradas para obtenção do pó. A partir do pó, foi preparado extrato etanólico (96%) na proporção 1:10 (50°C). Em seguida, filtrado e, posteriormente, liofilizado.

O perfil fitoquímico do extrato foi determinado por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e avaliados os seguintes metabólitos: alcalóides, cumarinas, triterpenos/esteróides e derivados flavônicos (geninas e heterosídeos) de acordo com Wagner et al. [5].

Para a atividade antiplasmodial do extrato, cepas de *P. falciparum* (W2) foram cultivados em hemácias humanas e o ensaio realizado por meio do método da quantificação da lactato desidrogenase (*Pf*LDH) [6]. Culturas sincronizadas de hemácias infectadas, foram distribuídas em placas de 96 poços (180 µL e 20µL dos extratos/poço), nas concentrações de 50

e 100 µg/mL (triplicata). Para o controle do experimento foi utilizado hemácias infectadas com acréscimo de difosfato de cloroquina. As leituras foram feitas a 540 nm, em espectrofotômetro e a viabilidade celular descrita em percentual de redução (% Red) do crescimento da cepa (W2) na presença das amostras. Para o ensaio de citotoxicidade, foram utilizadas células HepG2 e para cada teste, oito concentrações foram feitas (diluições 1:2/ triplicata), com concentração máxima de 100µM (µg/mL). A citotoxicidade foi determinada pelo método MTT e a concentração citotóxica (CC₅₀) feita de acordo com Varotti et al. [7].

Os dados foram expressos como média ± desvio padrão ($n=3$). Os ensaios biológicos foram submetidos a ANOVA e Teste de Tukey em comparação as médias ($\alpha = 0.05$).

Resultados e Discussão

O extrato etanólico de *A. oleracea* rico em alcalóides, triterpenos e esteróides (Tabela 1) demonstrou potencial antiplasmodial contra cepa W2 *P. falciparum* com redução da parasitemia acima de 90% (% red > 50) em ambas as concentrações testadas (Tabela 2). A atividade antiplasmodial observada para *A. oleracea* pode estar relacionada com a presença do espilantol, um alcalóide do grupo das alquilamidas, conhecido por apresentar atividade antimalárica em cepas *P. falciparum* em *S. acmella*, espécie sinônima de *A. oleracea* [8], [9]. Espécies contendo alcalóides tem apresentado atividade antimalárica em tratamentos *in vivo* e *in vitro* contra cepas de *Plasmodium* [10] por conta de sua capacidade de interferir na degradação da hemoglobina, o qual pode estar agindo no processo de inibição da infecção por meio da interação desses compostos com o grupo heme das hemácias, evitando um consequente aumento da parasitemia celular [11]. A redução da parasitemia também pode ser resultante da presença de triterpenos e esteróides, que se apresentam de forma livre e juntos podem estar relacionados com diversos efeitos farmacológicos como ação anti-inflamatória e antioxidante [12]. Os radicais livres produzidos durante o processo de infecção celular pelo parasita, são capturados, resultando na inibição da produção de óxido nítrico, o qual interfere nos danos as células infectadas, reduzindo assim os sintomas característicos da malária, como o diagnóstico de febre alta [13]; [14].

O extrato de *A. oleracea* não apresentou citotoxicidade em linhagens de células HepG2 (CC₅₀ > 100 µg/mL) e, portanto, não inibiu de forma significativa o crescimento celular nas oito concentrações testadas, apresentando 100% de viabilidade (Tabela 2).

Tabela 1: Prospecção fitoquímica de extrato de flores de *A. oleracea* por Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Espécie	Alcalóides	Cumarinas	Triterpenos/ esteróides	Geninas flavônicas	Heterosídeos flavônicos
<i>Acmella oleracea</i>	+	-	+	-	-

Tabela 2: Atividade antiplasmodial e citotoxicidade do extrato de flores de *Acmella oleracea*

Código de depósito	Espécie	Parte da planta	Atividade antiplasmodial (% red - W2 <i>P. falciparum</i>)		Citotoxicidade (HepG2/CC ₅₀) CC ₅₀ >100µg/ml
			50 µg/mL	100 µg/mL	
IAN-188088	<i>Acmella oleracea</i>	Flores	92.3 ± 7.6*	94.7 ± 5.1*	Não citotóxica >100
CQ*			100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	32,13 ± 1,72

Legenda: O controle CQ* (Cloroquina), foi significativa para $p < 0.05$ (Média ± SD, $n = 3$), (Teste de Tukey $\alpha = 0.05$). Análise citotóxica HepG2 A16 (CC₅₀ > 100 µg/mL, $n = 3$)

Conclusão

O extrato etanólico da flor de *A. oleracea* (jambú), contém substâncias ativas capazes de reduzir a parasitemia de cepas W2 *P. falciparum*. Além disso, o extrato não foi citotóxico para as células HepG2, o que demonstra um potencial candidato ao desenvolvimento de novos agentes antiplasmodiais, os quais podem tornar-se importantes fontes para a inovação do arsenal quimioterapêutico da doença.

Agradecimentos

Ao Laboratório de Fitoquímica da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Este trabalho foi financiado pelo Projeto: 88881.510177/2020-01 - Consolidação da Pós-Graduação em Ciências da Saúde com foco em Biotecnologia e Inovação terapêutica para atenção à saúde - N.º AUXPE 817/2020. A FAPESPA pela concessão da bolsa de doutorado.

CITAÇÕES E LISTA DE REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] WHO, World Health Organization. World Malaria Report 2020.
- [2] MARIATH, I. R., FALCÃO, H.S., BARBOSA-FILHO, J.M., SOUSA, L.C.F., TOMAZ, A.C., BATISTA, et al. Plants of the American continent with antimalarial activity. Brazilian Journal of Pharmacognosy. v. 19, n 1A, p. 158 – 192, 2009.
- [3] GONTIJO, D. C., LEITE, J.P.V., NASCIMENTO, M.F.A., BRANDÃO, G.C., OLIVEIRA, A.B. Bioprospection for antiplasmodial activity, and identification of bioactive metabolites of native plant species from the Mata Atlântica biome, Brazil. Natural Product Research. Short Communication, 2019.
- [4] FAVORETO, R., GILBERT, B. *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen (Asteraceae) – Jambu. Revista Fitos, v. 5, n. 01, p. 83 – 91, 2010.
- [5] WAGNER, H., BLADT, S., ZGAINSKI, E. M. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. Berlim: Springer Verlag, ed. 1ª, Berlim: Springer-Verlag, 1984. p. 320p

- [6] MAKLER, M. T.; HINRICHS, D. J. Measurement of the lactate dehydrogenase activity of *Plasmodium falciparum* as an assessment of parasitemia. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, v. 48, n. 2, p. 205-210, 1993.
- [7] VAROTTI, F.P., BOTELHO, A.C., ANDRADE, A.A., DE PAULA, R.C., FAGUNDES, E.M.S., VALVERDE, A. et al. Synthesis, Antimalarial Activity, and Intracellular Targets of MEFAS, a New Hybrid Compound Derived from Mefloquine and Artesunate. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 52, p. 3868-3874, 2008.
- [8] MBEUNKUI, F., GRACE, M.H., LATEGAN, C., SMITH, P.J., RASKIN, I., LILA, M.A. Isolation and identification of antiplasmodial N-alkylamides from *Spilanthes acmella* flowers using centrifugal partition chromatography and ESI-IT-TOF-MS. Journal of Chromatography B, v. 879, p. 1886 – 1892, 2011.
- [9] SPELMAN, K., DEPOIX, S., MCGRAY, M., MOURAY, E., GRELLIER, P. The traditional medicine *Spilanthes acmella*, and the alkylamides spilanthol and undeca-2E-ene-8, 10-diynoic acid isobutylamide, demonstrate *in vitro* and *in vivo* anti-malarial activity. Phytotherapy Research, v. 25 (7): 1098 – 1101, 2011.
- [10] OLIVEIRA, A.B., DOLABELA, M.F., BRAGA, F.C., JÁCOME, R.L.R.P., VAROTTI, F.P., PÓVOA, M.M. Plant-derived antimalarial agentes: new leads and efficient phythomedicines. Part I. Alkaloids. Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 81, n. 4, p. 715 – 740, 2009.
- [11] FRANÇA, T.C.C., SANTOS, M.G., FIGUEROA-VILLAR, J.D. Malária: aspectos históricos e quimioterapia. Química Nova, v. 31, n. 5, p. 1271-1278, 2008.
- [12] HUSSEIN, R.A., EL-ANSSARY. Plants Secondary Metabolites: The Key Drivers of the Pharmacological actions of medicinal plants. In: Herbal Medicine, cap. 2, n. 5. 2018, 11 – 30p.
- [13] DOLABELLA, M.F., DA SILVA, A.R.P., OHASHI, L.H., BASTOS, M.L.C., DA SILVA, M.C.M., VALE, V.V. Estudo *in silico* das atividades de triterpenos e iridoides isolados de *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson. Revista Fitos, v. 12, n. 3, p. 227 – 242, 2018.
- [14] PERCÁRIO, S., MOREIRA, D.R., GOMES, B.A.Q., FERREIRA, M.E.S., GONÇALVES, A.C.M., LAURINDO, P.S.O., et al. Oxidative Stress in Malaria. Internacional Journal of Molecular Sciences, v. 13, p. 16346 – 16372, 2012.



ATIVIDADE ANTIPLASMÓDICA E CITOTÓXICA *IN VITRO* E PERFIL FITOQUÍMICO DO EXTRATO ETANÓLICO DE FOLHAS DE *Trema micrantha* (L) Blume Cannabaceae

Maria Beatriz Viana dos Santos^{1,2*}, Maria Fernanda Alves do Nascimento³, Alaíde Braga de Oliveira³, Rosa Helena Veras Mourão^{1,2}

¹Laboratório de Bioprospecção e Biologia Experimental – LabBBEx; Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA

²Programa de Pós-Graduação Doutorado em Rede de Biodiversidade e Biotecnologia – BIONORTE / Pólo Pará. Universidade Federal do Oeste do Pará

³Departamento de Produtos Farmacêuticos, Laboratório de Fitoquímica, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

*Email: mbeatrizviana9@hotmail.com

A malária continua sendo um problema global de saúde pública e cerca de 90% dos casos graves são resultado de infecções causadas pelo parasita *Plasmodium falciparum*. A resistência aos fármacos antimaláricos, em especial a cloroquina, tornou-se um desafio que levou a diversas pesquisas etnobotânicas e etnofarmacológicas na busca de moléculas antimaláricas a partir de espécies vegetais, principalmente aquelas de uso tradicional e de interesse para o desenvolvimento de novos fármacos ou fitoterápicos. *Trema micrantha* (L) Blume, pertencente à família Cannabaceae, conhecida como pau de pólvora, grandiúva, candiúba, é uma planta nativa com ocorrência desde a Flórida (EUA) até o sul do Brasil, sendo comumente utilizada no tratamento antiofídico, reumatismo e diabetes. Além disso, extratos de folhas tem apresentado atividade analgésica e anti-inflamatória. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar as atividades antiplasmódica, citotóxica e determinar o perfil fitoquímico do extrato etanólico de folhas de *T. micrantha* coletadas na Rodovia Fernando Guilhon, Santarém – PA (HSTM-14067). A pesquisa foi registrada no sistema SisGen sob o código A287942. A atividade antiplasmódica do extrato foi determinada pelo método de quantificação da lactato desidrogenase do parasita (PfLDH) em cepas de *P. falciparum* (W2) e a citotoxicidade foi avaliada em culturas de células HepG2 A16 pelo método MTT, ambos ensaios conduzidos *in vitro*. A caracterização fitoquímica do extrato foi realizada por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), sendo observadas manchas de triterpenos, esteróides e derivados flavônicos (geninas e heterosídeos). A triagem da atividade

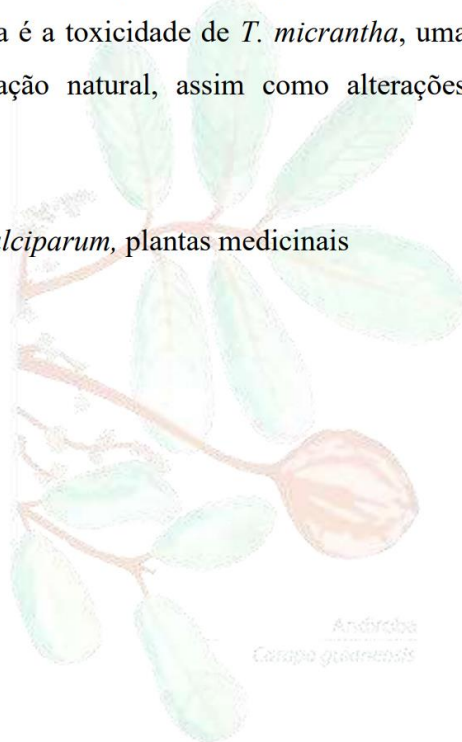
antiplasmodica mostrou redução significativa do crescimento do *P. falciparum* (W2) nas concentrações de 50 µg/mL ($82,0 \pm 8,8$ µg/mL) e 100 µg/mL ($95,3 \pm 3,5$ µg/mL) e não se observou citotoxicidade para células HepG2 na concentração de 100 µg/mL ($CC_{50} > 100$ µg/mL). A presença de triterpenos, esteróides e flavonóides no extrato etanólico pode estar relacionado com a redução da parasitemia, pois estes compostos apresentam atividade anti-inflamatória e antioxidante. Os radicais livres produzidos durante o processo de infecção celular pelo parasita são capturados, resultando na inibição da produção de óxido nítrico, impedindo danos as células infectadas, reduzindo assim os sintomas característicos da malária, o que torna de interesse a investigação do extrato de folhas de *T. micrantha* para o desenvolvimento de novas substâncias antimaláricas ou fitoterápicos, visto que a malária é endêmica na Amazônia. Uma questão a ser investigada é a toxicidade de *T. micrantha*, uma vez que foi descrita morte de animais por intoxicação natural, assim como alterações neuronais eno fígado.

Palavras-chave: Malária; citotoxicidade, *Plasmodium falciparum*, plantas medicinais

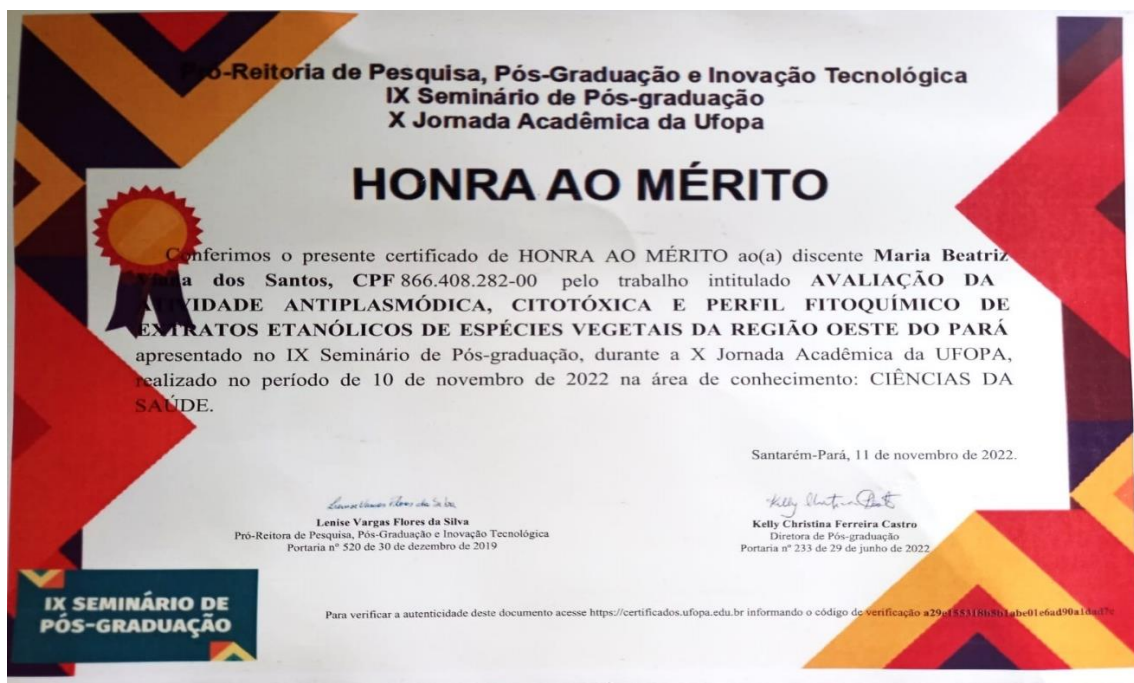
SANTARÉM - PA
XXVI SIMPÓSIO
DE PLANTAS
MEDICINAIS
DO BRASIL

INTEGRANDO CONHECIMENTO
TRADICIONAL E CIENTÍFICO

26 A 28 DE OUTUBRO DE 2022



Andiroba
Carapa guianensis





VII WORKSHOP
BRASILEIRO DE
BIODIVERSIDADE
E BIOTECNOLOGIA
DA AMAZÔNIA

CERTIFICADO

Certificamos que

MARIA BEATRIZ VIANA DOS SANTOS

participou do VII WORKSHOP BRASILEIRO DE BIODIVERSIDADE E BIOTECNOLOGIA DA AMAZÔNIA, evento promovido pelo Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede BIONORTE, no período de 30 de novembro a 02 de dezembro de 2023, Hotel Sagres, em Belém – PA. Duração: 45 horas.

Belém, 02 de dezembro de 2023.



Documento assinado digitalmente
Alberdan Silva Santos
Data: 06/12/2023 16:42:43-0300
Verifique em <https://validar.jli.gov.br>

Alberdan Silva Santos
Presidente da Comissão Científica do WBBBA

MARIA DAS

Assinado de forma
digital por MARIA DAS

GRACAS FERRAZ GRACAS FERRAZ
RF7FRRA:057473 BEZERRA:0574231215
31215 Data: 06/12/2023 13:40:08-0300

Maria das Graças Ferraz Bezerra
Presidente do WBBBA



VII WORKSHOP
BRASILEIRO DE
BIODIVERSIDADE
E BIOTECNOLOGIA
DA AMAZÔNIA

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho intitulado "EXTRATOS ETANÓLICOS DE ACMEIA OLERACEA (L.) R.K. JANSEN E TREMA MICRANTHA (L.) BLUME NÃO APRESENTAM AÇÃO GENOTÓXICA EM CÉLULAS HEPG2" dos autores Maria Beatriz Viana dos Santos, MARIA JOSÉ BRYANNE ARAÚJO SANTOS, RICARDO SCHER, SILMARA DE MORAES PANTALEÃO, ALAÍDE BRAGA DE OLIVEIRA, ROSA HELENA VERAS MOURÃO foi apresentado na modalidade E-pôster no VII WORKSHOP BRASILEIRO DE BIODIVERSIDADE E BIOTECNOLOGIA DA AMAZÔNIA, evento promovido pelo Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede BIONORTE, no período de 30 de novembro a 02 de dezembro de 2023, Hotel Sagres, em Belém – PA.

Belém, 02 de dezembro de 2023.



Documento assinado digitalmente
Alberdan Silva Santos
Data: 06/12/2023 16:42:43-0300
Verifique em <https://validar.jli.gov.br>

Alberdan Silva Santos
Presidente da Comissão Científica do WBBBA

MARIA DAS

Assinado de forma
digital por MARIA DAS

GRACAS FERRAZ GRACAS FERRAZ
RF7FRRA:057473 BEZERRA:0574231215
31215 Data: 06/12/2023 13:40:08-0300

Maria das Graças Ferraz Bezerra
Presidente do WBBBA

