

# rdf

## Revista de Fitoterapia



ÓRGANO OFICIAL



### SUMARIO

- 
- 3 Editorial
- 
- 5-21 Arándano americano (*Vaccinium macrocarpon*): conclusiones de la investigación y de la evidencia clínica  
Francisco Nohales Alfonso, Mar Nohales Córcoles
- 
- 23-33 Bayas de Goji (*Lycium barbarum* L.): aspectos farmacológicos y de eficacia  
Rosa María Giner Pons, Elisa Giner Ventura
- 
- 35-44 Os óleos essenciais como agentes anti-parasitários  
Marisa Machado, Maria do Céu Sousa, Lígia Salgueiro, Carlos Cavaleiro
- 
- 47-53 Efectos del zumo de alcachofa en el tratamiento de las molestias digestivas. Resultados de un estudio observacional  
Yvonne Winter, Tankred Wegener
- 
- 55-62 Análisis de la pervivencia, difusión y productividad de la Revista de Fitoterapia  
Elvira Gimeno Sieres
- 
- 63-69 Hemeroteca  
Ester Risco Rodríguez
- 
- 71-75 Biblioteca
- 
- 77-79 Reseña de congresos
- 
- 81 Congresos, reuniones, actividades
- 
- 83 Sociedad Española de Fitoterapia
- 
- 84 Asociación Mexicana de Fitoterapia
- 
- 85 Sociedad Chilena de Fitoterapia
- 
- 86 Sociedade Portuguesa de Fitoquímica e Fitoterapia
- 
- 87 Associação Brasileira de Fitoterapia
- 
- 89 Instrucciones para los autores

**Director editorial**

Bernat Vanaclocha Vanaclocha

**Editor científico**

Salvador Cañigüeral Folcará

**Consejo de redacción**Luis I. Bachiller Rodríguez  
*Sociedad Asturiana de Fitoterapia · Oviedo*Arnaldo L. Bandoni  
*Universidad de Buenos Aires · Argentina*Salvador Cañigüeral Folcará  
*Universidad de Barcelona*José Luis Fresquet Febrer  
*Universidad de Valencia*Juan I. Güenechea Salazar  
*Farmacéutico Comunitario · Bilbao*Mahabir P. Gupta  
*Universidad de Panamá*Antonio J. Lapa  
*Universidad Federal de Sao Paulo · Brasil*Ana Paula Martins  
*Universidade de Coimbra · SPFito · Portugal*Miguel Morales Segura  
*Universidad de Chile · Sochifito · Chile*M<sup>o</sup> Concepción Navarro Moll  
*Universidad de Granada*Ester Risco Rodríguez  
*Universidad de Barcelona*Erika Rivera Arce  
*Asociación Mexicana de Fitoterapia · México*Diego Rivera Núñez  
*Universidad de Murcia*Ligia Salgueiro  
*Universidade de Coimbra · SPFito · Portugal*Antonio Carlos Siani  
*Fundação Oswaldo Cruz · ABFIT · Brasil*Bernat Vanaclocha Vanaclocha  
*Médico Fitoterapeuta · Carlet (Valencia)*Roser Vila Casanovas  
*Universidad de Barcelona*Francisco Zaragoza García  
*Universidad de Alcalá de Henares***Secretaría editorial,  
administración, publicidad**CITA Publicaciones y Documentación, S.L.  
Na Jordana, 11  
46240 Carlet (Valencia) · España  
Tel.: 96 299 32 39  
cita@fitoterapia.net · www.fitoterapia.net  
www.medicina-naturista.net · www.homeopatia.net**Suscripciones**EDICIONES ROL  
C/ Sepúlveda, 45-47, Esc. B, Entlo. 2<sup>o</sup>  
08015 Barcelona  
Tel. 93 200 80 33 · Fax 93 200 27 62  
rol@e-rol.es · www.e-rol.es**Diseño, maquetación e impresión**

www.denou.com

Depósito legal V-490-2000 · ISSN 1576-0952

La Revista de Fitoterapia está indexada en el IME (Índice Médico Español), en Latindex, en la Base de Datos ICYT de Ciencia y Tecnología, en la Base de Datos IBECs (Biblioteca Nacional de Ciencias de la Salud), Ulrich's Periodicals Directory y EMBASE (Excerpta Medica Database).

Queda prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos de esta publicación sin permiso de la editorial.

Los autores son los responsables de las opiniones vertidas en sus artículos.

La publicación de mensajes publicitarios no presupone la conformidad de la editora con las informaciones ofrecidas, ni una recomendación de su uso frente a otros productos.

[www.fitoterapia.net/revista/revista.php](http://www.fitoterapia.net/revista/revista.php)**SUMARIO · SUMÁRIO · CONTENT**

rdf

2010; 10 (1)

3	Editorial
5-21	Arándano americano ( <i>Vaccinium macrocarpon</i> ): conclusiones de la investigación y de la evidencia clínica Arando americano ( <i>Vaccinium macrocarpon</i> ): conclusões da investigação e da evidência clínica Cranberry ( <i>Vaccinium macrocarpon</i> ): Research findings and clinical evidence Francisco Nohales Alfonso, Mar Nohales Córcoles
23-33	Bayas de Goji ( <i>Lycium barbarum</i> L.): aspectos farmacológicos y de eficacia Bagas de Goji ( <i>Lycium barbarum</i> L.): aspectos farmacológicos e de eficácia Goji berries ( <i>Lycium barbarum</i> L.): pharmacological aspects and effectiveness Rosa María Giner Pons, Elisa Giner Ventura
35-44	Os óleos essenciais como agentes anti-parasitários Los aceites esenciales como agentes antiparasitarios Essential oils as anti-parasitic agents Marisa Machado, Maria do Céu Sousa, Ligia Salgueiro, Carlos Cavaleiro
47-53	Efectos del zumo de alcachofa en el tratamiento de las molestias digestivas. Resultados de un estudio observacional Efeitos do suco de alcachofra fresca no tratamento de problemas digestivos. Resultados de um estudo observacional Efficacy of artichoke bud sap in treating dyspeptic complaints. Results of an open observational study Yvonne Winter, Tankred Wegener
55-62	Análisis de la pervivencia, difusión y productividad de la Revista de Fitoterapia Análise da existência, produtividade e distribuição da Revista de Fitoterapia Analysis of the survival, distribution and productivity of the Journal "Revista de Fitoterapia" Elvira Gimeno Sieres
63-79	Hemeroteca Ester Risco Rodríguez
71-75	Biblioteca
77-79	Reseña de congresos
81	Congresos, reuniones, actividades
83	Sociedad Española de Fitoterapia
84	Asociación Mexicana de Fitoterapia
85	Sociedad Chilena de Fitoterapia
86	Sociedade Portuguesa de Fitoquímica e Fitoterapia
87	Associação Brasileira de Fitoterapia
89	Instrucciones para los autores



FIGURA 1. *Thymra capitata*. Foto: B. Vanaclocha.

## Os óleos essenciais como agentes anti-parasitários

Marisa Machado <sup>a,b</sup>

Maria do Céu Sousa <sup>a</sup>

Ligia Salgueiro <sup>a</sup>

Carlos Cavaleiro <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Centro de Estudos Farmacêuticos. Faculdade de Farmácia. Universidade de Coimbra. Coimbra. Portugal.

<sup>b</sup> Departamento de Farmácia. Escola Superior de Saúde do Vale do Ave - Centro de Investigação em Tecnologias da Saúde - CICS. IPSN-CESPU. Vila Nova de Famalicão. Portugal.

Endereço para contato:

Marisa Machado

Centro de Estudos Farmacêuticos,  
Faculdade de Farmácia.  
Pólo das Ciências da Saúde da  
Universidade de Coimbra.  
3000-548 Azinhaga de Santa Comba  
Coimbra, Portugal  
smrmachado@gmail.com

### Resumo

A emergência de parasitas resistentes à terapêutica instituída, designadamente protozoários de géneros como a *Leishmania*, *Trypanosoma*, *Giardia*, *Plasmodium*, e/ou a falta de eficácia, os efeitos secundários graves e o custo elevado, torna urgente o desenvolvimento de novos agentes anti-parasitários. Nos últimos anos, a pesquisa por fármacos novos e alternativos no tratamento de infecções por parasitas, tem vindo a desenvolver-se. A descoberta de potenciais agentes terapêuticos a partir de fontes naturais como as plantas medicinais e dos seus extractos, nomeadamente os óleos essenciais, tem vindo a aumentar. Os óleos essenciais como o *Cymbopogon citratus*, o *Croton cajucara*, o *Ocimum gratissimum*, ou o *Thymus vulgaris*, têm demonstrado actividade anti-parasitária com um amplo espectro de actividades evidenciando, muitas vezes, eficácia equivalente à quimioterapia padrão .

### Palavras-chave

Óleos essenciais, Protozoários, *Leishmania*, *Giardia lamblia*, *Trypanosomacruzy*, *Plasmodium falciparum*.

## Los aceites esenciales como agentes antiparasitarios

### Resumen

La aparición de parásitos resistentes a la terapia, incluyendo protozoos de géneros como *Leishmania*, *Trypanosoma*, *Giardia* y *Plasmodium*, y/o la falta de eficacia, los efectos secundarios graves y el alto costo de la terapia, hace urgente desarrollar nuevos agentes antiparasitarios. En los últimos años se ha potenciado la búsqueda de nuevos medicamentos alternativos para el tratamiento de las infecciones por parásitos, habiendo aumentado el descubrimiento de potenciales agentes terapéuticos a partir de fuentes naturales como las plantas medicinales y sus extractos, incluyendo los aceites esenciales. Aceites esenciales, tales como los de *Cymbopogon citratus*, *Croton cajucara*, *Ocimum gratissimum* o *Thymus vulgaris*, han demostrado su actividad antiparasitaria, con un amplio espectro de actividad, a menudo demostrando eficacia equivalente a la quimioterapia establecida.

### Palabras clave

Aceites esenciales, Protozoa *Leishmania*, *Giardia lamblia*, *Trypanosoma cruzi*, *Plasmodium falciparum*.

## Essential oils as anti-parasitic agents

### Abstract

The emergence of parasites resistant to therapy, namely protozoa of genera *Leishmania*, *Trypanosoma*, *Giardia*, *Plasmodium*, and/or the lack of efficacy, the occurrence of serious side effects and the high cost of therapy, makes urgent the development of new anti-parasitic agents. In the last years, the search for new alternative drugs for the treatment of parasitic infections have been developed. The discovery of potential therapeutic agents from natural sources such as medicinal plants and their extracts, including essential oils, has increased. Essential oils from *Cymbopogon citratus*, *Croton cajucara*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris*, showed anti-parasitic activity with a broad spectrum of activities and often demonstrating equivalent effectiveness to established chemotherapy.

### Key words

Essential oils, Protozoa, *Leishmania*, *Giardia lamblia*, *Trypanosoma cruzi*, *Plasmodium falciparum*.

## Introdução

A utilização de plantas com propriedades terapêuticas é tão antiga como a civilização humana, sendo, inclusivamente, uma das estratégias mais comumente empregues no desenvolvimento de novos fármacos a partir de plantas medicinais, a observação do uso de recursos naturais, nomeadamente plantas, pela medicina tradicional de diferentes culturas, ao que chamamos etnobotânica ou etnofarmacologia<sup>(1-3)</sup>. Neste âmbito, o tratamento das patologias infecciosas por povos indígenas levou ao estudo de diversos extractos de plantas com potencial para aplicação na terapêutica anti-microbiana<sup>(3,4)</sup>.

Apesar dos recentes avanços na quimioterapia anti-microbiana, o tratamento de doenças parasitárias de importância médica, veterinária e socioeconómica, continua a ser problemático<sup>(5)</sup>. A elevada incidência de efeitos adversos, a ausência de eficácia na terapêutica, os custos e o aumento da resistência aos fármacos convencionais, principalmente entre a *Leishmania*<sup>(6)</sup> e o *Plasmodium*<sup>(7)</sup>, torna urgente o aparecimento de novos anti-parasitários<sup>(8)</sup>. A avaliação da actividade anti-parasitária de extractos ve-

getais é uma opção valiosa em investigação, relativamente a colecções de compostos sintéticos. Os extractos vegetais oferecem uma grande diversidade de composições e componentes, a maioria deles não disponíveis comercialmente e estruturalmente difíceis de sintetizar. Nos últimos anos verificou-se um renovado interesse e intensificação na investigação de produtos naturais não sendo de estranhar que muitos compostos derivados de plantas tenham demonstrado actividade anti-parasitária<sup>(3-5, 9)</sup>. Porém, na sua maioria, são extractos aquosos ou alcoólicos, compostos exclusivamente por moléculas polares, de modo que, um outro tipo de extractos que pode oferecer vantagens e novas expectativas são os extractos preparados por destilação, nomeadamente os óleos essenciais, que se apresentam como misturas complexas de uma grande diversidade de pequenos moléculas hidrofóbicas (< 300 Da), encontrando-se a maioria delas de acordo com os critérios da abordagem teórica de Lipinski<sup>(10)</sup> no que concerne à *druglikeness*. Estas moléculas difundem-se facilmente em todas as membranas celulares e, conseqüentemente, revelam vantagens no que diz respeito às interacções com

alvos intracelulares <sup>(11)</sup>. Os terpenos e terpenóides são activos contra bactérias, fungos e vírus, tendo sido referido que dos óleos essenciais e derivados analisados, cerca de 60% demonstraram um efeito inibitório em fungos e cerca de 30% demonstram esse efeito nas bactérias. O mecanismo de acção não se encontra totalmente compreendido, contudo especula-se sobre o envolvimento dos compostos lipofílicos nas alterações da membrana <sup>(4)</sup>.

A investigação relativa à utilização de óleos essenciais sobre protozoários patogénicos é limitada, e a maioria dos trabalhos baseia-se em plantas usadas tradicionalmente para tratar doenças provocadas pelos referidos parasitas (TABELA 1).

### ***Giardia lamblia***

A *Giardia lamblia* é um protozoário flagelado binuclear, causa comum de infecção intestinal no homem e um factor de morbilidade mundial <sup>(12)</sup>. Este parasita tem duas fases diferentes durante o seu ciclo de vida: a forma cística que é responsável pela transmissão da doença e a forma trofozoíto, que habita o intestino delgado do hospedeiro <sup>(13)</sup>. A fim de estabelecer a infecção, os trofozoítos aderem às células intestinais levando à desnutrição, diarreia, náuseas, cólicas e perda de peso <sup>(14)</sup>. A giardíase também pode ser completamente assintomática ou produzir uma doença moderada auto-limitada <sup>(15)</sup>. Nas crianças, idosos e pacientes imunocomprometidos, a giardíase pode levar a morbilidade e até mesmo à morte <sup>(16)</sup>. Esta é especialmente prevalente e incidente em países em desenvolvimento, onde as condições sanitárias deficientes facilitam a propagação. Na Ásia, África e América Latina, cerca de 200 milhões de pessoas padecem de giardíase sintomática, com 500.000 novos casos notificados em cada ano. Em países desenvolvidos um aumento da incidência da giardíase foi observado para as crianças, o que levou a classificar a giardíase como uma doença infecciosa “re-emergente” <sup>(12)</sup>. A transmissão de quistos de *Giardia* ocorre comumente através da ingestão de água e alimentos contaminados. Outros tipos de contágio incluem o contacto fecal-oral e práticas sexuais <sup>(13, 17)</sup>.

A abundância da *Giardia lamblia* em populações animais e humanas e em fontes ambientais sugere que a erradicação não é uma opção, sendo o seu tratamento uma abordagem mais realista <sup>(18)</sup>, pese embora os limitados recursos terapêuticos disponíveis. Vários fármacos foram desenvolvidos nos últimos anos, nomeadamente os 5-nitroimidazóis, os 5-nitrofuranos e, mais recentemente, benzimidazóis e pa-



FIGURA 2. *Thymus vulgaris*. Foto: B. Vanaclocha.

moato de pirantel. Apesar da eficácia dos medicamentos acima listados, muitos problemas têm sido associados à sua utilização, particularmente, pela elevada incidência de efeitos laterais desagradáveis, pelas falhas no tratamento e pelas preocupações com a carcinogenicidade, teratogenicidade e embriogenicidade <sup>(17)</sup>. Além disso, alguns estudos têm demonstrado um aumento da tolerância dos isolados clínicos de *G. lamblia* para os fármacos referidos <sup>(6)</sup>. Por estas razões, a busca de alternativas terapêuticas estão absolutamente justificadas.

O óleo essencial de *Thymus vulgaris* foi testado *in vitro* para avaliar a actividade contra quistos de *G. lamblia*, revelando após uma exposição de 60 minutos uma actividade tão eficaz quanto o metronidazol, na morte dos quistos (*T. vulgaris* - 91,1% de morte; metronidazol - 89,4% de morte) <sup>(19)</sup>. Para Moon *et al.*, baixas concentrações de óleo essencial de *Lavandula angustifolia* e *Lavandula x intermedia* (≤ 1%), eliminam completamente a *Giardia duodenalis*, sendo o óleo essencial da *L. angustifolia* numa concentração

Nome botânico	Protozoário alvo	Ref.
<i>Achillea millefolium</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>	38
<i>Antidesma laciniatum</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>	50
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	<i>Leishmania donovani</i>	28
	<i>Leishmania amazonensis</i>	28-31
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	<i>Tetratrichomonas gallinarum</i>	54
	<i>Histomonas melegridis</i>	54
<i>Citrus limon</i>	<i>Tetratrichomonas gallinarum</i>	54
	<i>Histomonas melegridis</i>	54
<i>Cochlospermum planchonii</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>	47
<i>Cochlospermum tinctorium</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>	47-48
<i>Croton cajucara</i>	<i>Leishmania amazonensis</i>	26
<i>Cymbopogon citratus</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>	36
	<i>Leishmania chagasi</i>	32
<i>Hexalobus crispiflorus</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>	50
<i>Lavandula angustifolia</i>	<i>Giardia duodenalis</i>	20
	<i>Trichomonas vaginalis</i>	20
	<i>Hexamita inflata</i>	20
<i>Lavandula x intermedia</i>	<i>Giardia duodenalis</i>	20
	<i>Hexamita inflata</i>	20
	<i>Trichomonas vaginalis</i>	20
<i>Lippia multiflora</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>	46
<i>Lippia sidoides Cham.</i>	<i>Leishmania chagasi</i>	32
<i>Melaleuca alternifolia</i>	<i>Trypanosoma brucei</i>	39
<i>Melissa officinalis</i>	<i>Trypanosoma brucei</i>	39
	<i>Leishmania major</i>	39
<i>Mentha piperita</i>	<i>Trypanosoma brucei</i>	39
<i>Nigella sativa</i>	<i>Schistosoma mansoni</i>	51
<i>Ocimum basilicum</i>	<i>Giardia lamblia</i>	21
	<i>Trypanosoma cruzi</i>	38
<i>Ocimum gratissimum</i>	<i>Leishmania amazonensis</i>	27
	<i>Haemonchus contortus</i>	52
	<i>Leishmania chagasi</i>	32
<i>Ocimum sanctum</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>	53
<i>Origanum vulgare</i>	<i>Eimeria tenella</i>	55
	<i>Trypanosoma cruzi</i>	37
<i>Pachypodanthium confine</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>	50
<i>Syzygium aromaticum L.</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>	38
<i>Thymus vulgaris</i>	<i>Giardia lamblia</i>	19
	<i>Trypanosoma brucei</i>	39
	<i>Trypanosoma cruzi</i>	37
<i>Viola surinamensis</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>	49
<i>Xylopiya aethiopica</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>	50

TABELA 1. Óleos essenciais com actividade anti-Protozoa.

de 0,1%, ligeiramente mais eficaz do que o óleo da *L. × intermedia* <sup>(20)</sup>. O óleo essencial de *Ocimum basilicum* (2 mg/mL) e os seus constituintes purificados demonstraram actividade anti-*Giardia*. O Linalool (300 µg/mL), após 1 h de incubação, foi capaz de eliminar 100% de parasitas. O pré-tratamento de macrófagos peritoneais de rato com uma concentração de 2 mg/mL de óleo essencial reduziu em 79% o índice de associação entre os macrófagos e a *G. lamblia*, com um aumento concomitante da produção de óxido nítrico em 153%. O perfil proteico e a actividade proteolítica do trofozoito tratado com 2 mg/mL de óleo essencial ou com linalool purificado (300 µg/mL) após 1 e 2 h de incubação, demonstraram diferenças significativas quando comparados aos controlo. Além disso, a actividade proteolítica, principalmente as proteases de cisteína, foi claramente inibida pelo óleo essencial (2 mg/mL) e pelo linalool purificado (300 µg/mL) <sup>(21)</sup>.

Machado e colaboradores, avaliaram o efeito de óleos essenciais ricos em fenóis, em culturas de *G. lamblia*, tendo verificado uma actividade contra os trofozoítos com valores de concentração inibitória a 50% ( $CI_{50}$ ) a variar entre 71 µg/mL para o óleo essencial de *Thymra capitata*, 85 µg/mL para o óleo de *Origanum virens*, 185 µg/mL para o óleo de *Thymus zygis subsp. sylvestris* e 257 µg/mL para o óleo de *Lippia graveolens* <sup>22</sup>. As culturas tratadas com os óleos essenciais evidenciaram alterações ao nível da morfologia e ultraestrutura, bem como na sua capacidade de adesão <sup>23</sup>.

### Leishmania

A Organização Mundial da Saúde classificou a leishmaniose como uma das principais doenças tropicais. Os protozoários do género *Leishmania* causam doenças viscerais, cutâneas e nas mucosas de humanos, que são referidas colectivamente como leishmaniose. Esta doença afecta mais de 12 milhões de pessoas no mundo com cerca de 350 milhões de pessoas em risco em mais de 88 países, e são responsáveis por elevadas taxas de mortalidade nos países tropicais e subtropicais, estimando-se 2 milhões de novos casos por ano, estando pelo menos 13 espécies identificadas com potencial infectante para o homem <sup>(24)</sup>.

A parasitose é caracterizada por manifestações clínicas dependentes da espécie de *Leishmania* infectante, revelando um padrão epidémico único. De um ponto de vista genérico, existem três principais manifestações de leishmaniose, causada por diferentes espécies de parasitas, a leishmaniose visceral (*L. donovani*, *L. infantum*), a

leishmaniose cutânea (*L. major*, *L. tropica*) e leishmaniose muco-cutânea. Um problema emergente é a co-infecção da *Leishmania* com o vírus da imunodeficiência humana, sobretudo porque não existe um tratamento eficaz para estes pacientes. A doença é transmitida ao hospedeiro vertebrado através da picada de flebótomos. O promastigota na fase estacionária de crescimento é a forma infectante do parasita, que penetra um fagócito mononuclear, diferencia-se em amastigota e prolifera intracelularmente <sup>(25)</sup>. O número e a eficácia dos fármacos disponíveis para o tratamento de leishmaniose humana e animal são limitados. O tratamento de escolha ainda é baseado no uso de antimónio pentavalente, apesar da sua toxicidade, mas outras alternativas terapêuticas contra a leishmaniose são utilizados, nomeadamente a pentamidina, anfotericina B, nifurtimox, mepacrina, alopurinol, aminosidina, metronidazol, cetoconazol, levamisol, ouro e derivados 8-aminoquinolinas. Uma das principais razões para a ausência de um fármaco eficaz é devido ao facto dos parasitas estarem protegidos dentro de macrófagos e, conseqüentemente, os compostos que são tóxicos para o parasita também são tóxicos para o hospedeiro. Considerando a toxicidade, os efeitos colaterais, a taxa de recaída, o custo, a duração do tratamento e a resistência, mais atenção deve ser dada aos extractos e compostos biologicamente activos isolados de espécies de plantas comumente utilizadas em fitoterapia, tanto mais que a maioria das pessoas em áreas endémicas de leishmaniose dependem da medicina natural e tradicional. Assim, o óleo essencial de *Croton cajucara* tem sido usado com sucesso contra a leishmaniose. O seu efeito sobre a *Leishmania amazonensis* tem sido extensivamente investigado. Foram observadas alterações morfológicas em promastigotas de *L. amazonensis in vitro*, uma hora após a aplicação de 15 ng/mL de óleo, levando à destruição nuclear e do cinetoplasto, seguido de lise celular. O tratamento de macrófagos de murganhos pré-infectados com 15 ng/mL de óleo, levou a uma redução de 50% em promastigotas infectantes de *L. amazonensis* e um aumento de 60% na produção de NO pelos macrófagos pré-infectados <sup>(26)</sup>. O Linalool, um álcool terpénico, é o principal constituinte do óleo, revelando-se mais leishmanicida do que o óleo essencial [Concentração inibitória a 50% ( $CI_{50}$ ) para os promastigotas e amastigotas, 8,3 ng/ml e 22 ng/mL de óleo essencial e de 4,3 ng/mL e 15,5 ng/mL de linalool, respectivamente]. Verificou-se pouca ou nenhuma toxicidade em macrófagos de murganhos infectados e não infectados e uma potente acção leishmanicida, tornando o óleo essencial de *C. cajucara* uma fonte útil



FIGURA 3. *Achillea millefolium*. Foto: B. Vanaclocha.

para novos fármacos. Também o óleo essencial de *Ocimum gratissimum* e o seu principal constituinte, o eugenol, demonstraram actividade leishmanicida contra a *Leishmania amazonensis* em concentrações variando de 100 a 1000 µg/mL. A Concentração inibitória a 50% do óleo essencial em promastigotas e amastigotas foi respectivamente 135 e 100 µg/mL e para o eugenol foi de 80 µg/mL para formas promastigotas. A *L. amazonensis* exposta ao óleo essencial em concentrações correspondentes à  $CI_{50}$  para promastigotas e para amastigotas sofreu consideráveis alterações ultra-estruturais, sugerindo interferência na divisão celular e alterações mitocondriais. A concentração mínima inibitória para ambos os promastigotas e amastigotas foi de 150 µg/mL. O pré-tratamento de macrófagos peritoneais de rato com 100 e 150 µg/mL de óleo essencial, reduziu o índice de associação entre os promastigotas e os macrófagos, seguido por um aumento na produção de óxido nítrico pelos macrófagos infectados<sup>(27)</sup>. O óleo essencial, não demonstrou efeitos citotóxicos em células de mamíferos.

A actividade leishmanicida do óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* foi avaliada contra a promastigotas e amastigotas de *Leishmania donovani* verificando-se uma  $CI_{50}$  de 4,45 e 5,1 µg/mL, respectivamente, revelando um efeito inibitório irreversível do crescimento<sup>(28)</sup>. Também contra a *L. amazonensis* o óleo essencial de *C. ambrosioides* mostrou ser activo ( $CI_{50}$  = 3,7 µg/ml em promastigotas e 4,6 µg/mL em amastigotas). Foi avaliada ainda, a actividade do óleo essencial de *C. ambrosioides* em murganhos BALB/c infectados com *L. amazonensis*, por via intraperitoneal, oral ou intralesional. A administração intraperitoneal do óleo essencial na dose de 30 mg/kg impediu o desenvolvimento da lesão e o aumento do parasita. A administração oral retardou a infecção no modelo experimental, em comparação com os murganhos não tratados, embora tenha sido menos eficaz que a via intraperitoneal. A administração por via intralesional não mostrou actividade. O tratamento Intraperitoneal e oral na dose de 30 mg/kg com o óleo essencial demonstrou melhor acção anti-*Leishmania* do que o tratamento com o fármaco de referência, a anfotericina B a 1 mg/kg, porém verificou-se toxicidade nos animais tratados por via intraperitoneal. A possibilidade de associação entre os óleos essenciais e a terapia padrão instituída foi também avaliada por Monzote<sup>(29)</sup>, tendo verificado que o óleo essencial de *C. ambrosioides* demonstra uma actividade sinérgica após a sua incubação conjunta com a pentamidina contra os promastigotas de *L. Amazonensis*<sup>(29-31)</sup>.

Os óleos essenciais de *Cymbopogon citratus*, *Lippia sidoides* e *Ocimum gratissimum* revelaram efeitos inibitórios no crescimento das formas promastigotas de *Leishmania chagasi* com uma  $CI_{50}$  às 72 h de 45, 89, and 75 µg/mL, respectivamente<sup>(32)</sup>. Também o óleo de *Melissa officinalis* possui actividade in vitro contra a *Leishmania major* ( $CI_{50}$  = 7 µg/mL; anfotericina B  $CI_{50}$  = 0,3 µg/mL)<sup>(38)</sup>.

### **Trypanosoma**

A Tripanossomiase americana ou doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, afecta 24 milhões de pessoas desde a Califórnia do Sul (E.U.A.), Argentina e Chile. Segundo os relatórios da Organização Mundial da Saúde, as taxas de mortalidade variam de 8% a 12% dependendo do país, da idade e do tratamento recebido<sup>(33)</sup>. O parasita possui um ciclo de vida complexo, alternando entre hospedeiros mamíferos e insectos, compreendendo a forma tripomastigota infectante, que é inoculada pelo insecto vector no sangue circulante de mamíferos; a forma amastigota intracelular, que mantém a infecção, e a forma

epimastigota encontrados no insecto. O tratamento desta doença baseia-se em compostos nitro-heterocíclicos, nifurtimox e benznidazol, que apresentam baixa eficácia, acrescida de efeitos colaterais graves, tornando-se urgente a necessidade de desenvolver novos fármacos<sup>(34-35)</sup>.

Santoro<sup>(36)</sup> avaliou o efeito anti-proliferativo do óleo essencial do *Cymbopogon citratus* (DC) e do seu principal componente (citrал, mistura de do isómero neral e geranial), em todas as 3 formas evolutivas de *Trypanosoma cruzi*, amastigotas intracelulares, tripomastigotas da corrente sanguínea e epimastigotas de cultura. A  $CI_{50}$  às 24h do óleo essencial em epimastigotas foi de 126,5 µg/mL, enquanto que para a lise de tripomastigotas a  $CI_{50}$  foi de 15,5 µg/mL. A  $CI_{50}$  às 48 h para o Índice de Associação (% macrófagos infectados pelo número de amastigotas por célula) foi de 5,1 µg/mL, traduzindo uma forte inibição da proliferação intracelular de amastigotas<sup>(36)</sup>. Santoro<sup>(37)</sup> avaliou ainda a actividade do *Origanum vulgare* L. e do *Thymus vulgaris* L. e do timol, principal constituinte do tomilho, contra o *T. cruzi*, de modo que o óleo essencial de orégão inibiu o crescimento dos epimastigotas ( $CI_{50}/24h = 175 \mu\text{g/mL}$ ) e também induziu a lise em tripomastigotas ( $CI_{50}/24h = 115 \mu\text{g/mL}$ ). O óleo essencial de tomilho apresentou valores de  $CI_{50}/24h$  de 77 µg/mL para Epimastigotas e de 38 µg/mL para tripomastigotas, enquanto que o tratamento com timol resultou num  $CI_{50}/24h$  de 62 µg/mL para formas epimastigotas e 53 µg/mL para tripomastigotas. O tratamento de culturas de *T. cruzi* com óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* L., *Ocimum basilicum* L. e da *Achillea millefolium* L. e os constituintes isolados eugenol e linalool, revelaram uma actividade tripanocida com inibição do crescimento, sendo mais activo o óleo essencial de *S. aromaticum* com uma  $CI_{50}$  de 99,5 µg/mL para epimastigotas e 57,5 µg/mL para os tripomastigotas. Relativamente aos constituintes puros, para os epimastigotas tratados com eugenol e linalool os  $CI_{50}$  foram de 246 e 162,5 µg/mL, respectivamente. Para os tripomastigotas verificou-se uma  $CI_{50}/24h$  de 76 µg/mL para o eugenol e de 264 µg/mL para o linalool<sup>(38)</sup>. Os óleos essenciais de *Melissa officinalis*, *Mentha piperita*, *Thymus vulgaris* e *Melaleuca alternifolia* foram testados in vitro para avaliar a actividade contra *Trypanosoma brucei*. O óleo essencial de *M. alternifolia* é mais activo, seguido pela *M. piperita* e *M. officinalis* ( $CI_{50} = 3,9 \mu\text{g/mL}$ ). O óleo de *T. vulgaris* inibe o crescimento do *T. brucei* in vitro ( $CI_{50} = 0,4 \mu\text{g/mL}$ ), a um nível comparável ao da suramina ( $CI_{50} = 0,5 \mu\text{g/mL}$ ). O óleo essencial de *M. alternifolia* também poderia constituir uma alternativa à suramina para o tratamento da tripanossomiase. Um dos principais constituintes



FIGURA 3. *Ocimum basilicum*. Foto: B. Vanaclocha.

do óleo essencial da *M. alternifolia* é o terpinen-4-ol, que possui uma maior acção inibitória sobre as formas sanguíneas de *T. brucei* ( $CI_{50} = 0,02 \mu\text{g/mL}$ ) e cerca de 1000 vezes mais tóxico para o parasita do que para a linha celular de linfócitos humanos HL-60 (similar à suramina)<sup>(39)</sup>. Futuras investigações para a actividade anti-*Trypanosoma* do terpinen-4-ol devem ser realizadas para determinar a sua eficácia como um novo fármaco. Todos os óleos testados apresentaram maior toxicidade para o parasita do que para as linhas celulares de mamíferos, de modo que também eles poderiam ser fontes de novos fármacos.

### **Trichomonas vaginalis**

Tricomoniase, a doença não viral sexualmente transmissível mais comum, causada pelo parasita protozoário unicelular *Trichomonas vaginalis*, com cerca de 170 milhões de novas infecções adquiridas a nível mundial anualmente, tem sido relacionada com a esterilidade, partos prematuros, baixo peso ao nascer e elevada mortalidade infantil e, mais recentemente, a um aumento da susceptibilidade a

infecção pelo HIV <sup>(6, 40, 41)</sup>. É responsável por 11% de todos os casos de uretrite não gonocócica, bem como prostatite, epididimite e infertilidade no sexo masculino <sup>(42, 43)</sup>. Na pesquisa por novos fármacos verificou-se que baixas concentrações de óleo essencial de *Lavandula angustifolia* e *Lavandula x intermedia* ( $\leq 1\%$ ), podem eliminar completamente a *Trichomonas vaginalis* <sup>(20)</sup>.

### **Plasmodium falciparum**

A malária é uma das infecções mais prevalentes em todo o mundo. Constitui uma das principais causas de morte dos trópicos. A malária é causada por parasitas do género *Plasmodium*, após transmissão pelo mosquito *Anopheles*. A forma mais severa da malária é provocada pelo *Plasmodium falciparum*, sendo esta espécie responsável por mais de um milhão de mortes por ano <sup>(44)</sup>. O *P. falciparum* está cada vez mais resistente aos agentes antimaláricos disponíveis e, por isso, a identificação de novos compostos activos contra o parasita é uma prioridade <sup>(45)</sup>.

Valentin e seus colaboradores <sup>(46)</sup>, verificaram que o óleo essencial de *Lippia multiflora* era activo contra culturas de *P. falciparum*. O óleo essencial da planta Africana *Cochlospermum planchonii*, usada como remédio tradicional para a malária foi testado no *P. falciparum* in vitro. O óleo essencial, cujos principais componentes são o  $\beta$ -cariofileno, (*E,E*)-a-farneseno e tetradecan-3-ona, inibiu a proliferação do parasita ( $CI_{50} = 22-35 \mu\text{g/mL}$  para 24-72 horas de exposição; cloroquina  $CI_{50} = 150 \mu\text{g/ml}$  para cada tempo de exposição) <sup>(47)</sup>. A *Cochlospermum planchonii* foi testada em pacientes com uma forma não severa de malária, revelando-se segura e tão eficaz quanto a cloroquina no tratamento de infecções não-complicadas por *P. falciparum* <sup>(48)</sup>.

As folhas de *Viola surinamensis* são utilizadas pelos Índios Waiãpi da Amazônia para o tratamento da malária. A actividade do óleo essencial das referidas folhas foi avaliada in vitro tendo-se verificado uma inibição de 100% no crescimento após 48 h, e o sesquiterpeno nerodiol ( $100 \mu\text{g/mL}$ ), identificado como sendo um dos constituintes activos, evidenciou esse mesmo efeito que poderá estar relacionado com a sua acção ao nível da inibição da biossíntese de glicoproteínas <sup>(49)</sup>.

Cinco óleos essenciais de plantas da flora dos Camarões, *Xylopiya phloiodora* ( $CI_{50} = 17,9 \mu\text{g/mL}$ ), *Pachypodanthium confine* ( $CI_{50} = 16,6 \mu\text{g/mL}$ ), *Antidesma laciniatum* ( $CI_{50} = 29,4 \mu\text{g/mL}$ ), *Xylopiya aethiopica* ( $CI_{50} = 17,8 \mu\text{g/mL}$ ), e *Hexalobus crispiflorus* ( $CI_{50} = 2 \mu\text{g/mL}$ ) evidenciaram actividade antiparasitária contra o *Plasmodium falciparum* in vitro <sup>(50)</sup>.

### **Helmintas**

Poucos óleos essenciais têm sido testados contra helmintas, particularmente aqueles patogénicos para o homem, principalmente devido à dificuldade em manter os seus ciclos de vida in vitro. No entanto, in vivo, os trabalhos têm sido extensivamente realizadas com *Nigella sativa*. O óleo essencial de *N. sativa*, quando administrado a murganhos infectados por *Schistosoma mansoni*, reduz os ovos do parasita ao aumentar a resposta imunitária do hospedeiro; reduz ainda o dano hepático induzido pelo parasita <sup>(51)</sup>.

Os óleos essenciais de manjeriço (*Ocimum gratissimum* e *Ocimum sanctum*), distribuídos por zonas quentes e tropicais, e vastamente utilizados pela medicina tradicional, possuem potentes propriedades anti-helmintas. Uma concentração de 0,5% de óleo essencial de *Ocimum gratissimum* inibiu completamente a eclosão dos ovos de *Haemonchus contortus* isolados de ovinos e caprinos infectados experimentalmente. A mesma concentração foi igualmente eficaz para o eugenol, o principal constituinte do óleo essencial, e foi comparável com a mesma concentração de tiabendazol <sup>(52)</sup>. No *Caenorhabditis elegans*, o óleo essencial de *Ocimum sanctum* e o eugenol foram eficazes na inibição do crescimento nematóide em níveis comparáveis ao de fármacos reconhecidos (levamisol, p-anisalaldeído) <sup>(53)</sup>.

### **Outros parasitas**

Os óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum* e de *Citrus limon* possuem actividade contra *T. gallinarum* e *H. meleagridis*, in vivo. A concentração letal mínima efectiva do óleo essencial de *C. zeylanicum* contra o *T. gallinarum* e o *H. meleagridis* foi de 0,25  $\mu\text{l/mL}$  e 0,5  $\mu\text{l/mL}$ , respectivamente; e do óleo de *C. limon* foi de 0,125  $\mu\text{l/ml}$  e 1  $\mu\text{l/ml}$ , respectivamente <sup>(54)</sup>. O óleo essencial de *Origanum vulgare*, dado na alimentação de frangos infectados experimentalmente com o coccídio *E. tenella*, reduziu a excreção de oocistos e aumentou a sobrevivência do hóspede <sup>(55)</sup>.

Os óleos essenciais de *L. angustifolia* e *L. intermedia* ( $\leq 1\%$ ) são activos contra a *Hexamita inflata* in vitro, sendo o primeiro ligeiramente mais eficaz <sup>(20)</sup>.

### **Conclusão**

No tratamento de doenças parasitárias, a intervenção com melhor relação custo-eficácia é a quimioterapia, porém a emergência e a re-emergência de doenças parasitárias, bem como o surgimento de organismos resistentes e multi-resistentes, juntamente com a gravidade dos efeitos secundários tóxicos, a adesão à terapêutica, a disponibi-

lidade e o custo (especialmente em focos endêmicos), e a ineficácia de alguns fármacos da actual terapia medicamentosa exigem novos esforços para a descoberta de novos fármacos a partir de fontes naturais ou sintéticas. Em alguns focos endêmicos de parasitismo, as plantas e os seus extractos são as únicas formas de tratamento prontamente disponíveis, e esse conhecimento deve ser preservado e analisado cientificamente para a descoberta de novos fármacos.

A baixa densidade dos óleos essenciais e a sua rápida difusão através das membranas celulares pode melhorar a o *targeting* dos constituintes activos dos óleos essenciais para os endo-parasitas. Podendo ainda oferecer alternativas para as vias de administração, incluindo a via transcutânea.

Deste modo, os medicamentos tradicionais podem ser tão eficazes quanto as formulações farmacêuticas, devendo por isso ser testados como fontes na busca de novos medicamentos, principalmente quando se trata de plantas vastamente distribuídas e de fácil acesso, caso do *Cymbopogon citratus*, *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*. Torna-se também evidente a importância da composição dos óleos essenciais na busca por metabolitos secundários activos onde a presença do grupo hidroxilo parece estar relacionada com uma maior actividade, como comprovam os constituintes timol, carvacrol, eugenol, linalool, citral, responsáveis pela actividade de alguns dos óleos essenciais referidos (TABELA 1). Assim, investigação nesta área deve ser aprofundada de modo a viabilizar o aparecimento de novos agentes antiparasitários mais eficazes, seguros e económicos, principalmente em países em desenvolvimento e em áreas endémicas.

### Referências bibliográficas

1. Rates SMK. Plants as source of drugs. *Toxicon* 2001; 39: 603-613.
2. Rishton GM. Natural products as a robust source of new drugs and drug leads: past successes and present day issues. *Am J Cardiol* 2008; 101 (10A): 43D-49D.
3. Gurib-Fakim A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol Aspects Med* 2006; 27(1): 1-93.
4. Cowan MM. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews* 1999; 564-582.
5. Anthony JP, Fyfe L, Smith, H. Plant active components - a resource for antiparasitic agents? *Trends Parasitol* 2005; 21: 462-468.
6. Upcroft P, Upcroft JA. Drug targets and mechanisms of resistance in the anaerobic protozoa. *Clin Microbiol Ver* 2001; 14: 150-164.
7. Croft SL, Coombs GH. Leishmaniasis - current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. *Trends Parasitol* 2003; 19: 502-508.
8. Sibley CH, Hunt SY. Drug resistance in parasites: can we stay ahead of the evolutionary curve? *Trends Parasitol* 2003; 19: 532-537.
9. Kaur K, Jain M, Kaur T, Jain R. Antimalarials from nature. *Bioorg Med Chem* 2009; 17 (9): 3229-56.
10. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews* 1997; 23: 3-25.
11. Edris AE. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy Research* 2007; 21: 308-323.
12. Thompson RC. Giardiasis as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. *International Journal of Parasitology* 2000; 30: 1259-67.
13. Adam RD. Biology of *Giardia lamblia*. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 447-475.
14. Eckmann L. Mucosal defences against *Giardia*. *Parasite Immunol* 2003; 25: 259-270.
15. Flanagan PA. *Giardia* diagnosis, clinical course and epidemiology. A review. *Epidemiology and Infection* 1992; 109: 1-22.
16. Faubert G. Immune response to *Giardia duodenalis*. *Clinical Microbiology Reviews* 2000; 13: 35-54.
17. Gardner TB, Hill DR. Treatment of giardiasis. *Clinical Microbiology Reviews* 2001; 14: 114-128.
18. Gillin FD, Reiner DS, McCaffery JM. Cell biology of the primitive eukaryote *Giardia lamblia*. *Annual Review of Microbiology* 1996; 50: 679-705.
19. Sahebani N, Movahed A. Lethal effect of *Thymus vulgaris* on *Giardia* cyst in vitro. *Malaysian Soc Parasitol Trop Med* 2004; 137.
20. Moon T, Wilkinson JM, Cavanagh HM. Antiparasitic activity of two *Lavandula* essential oils against *Giardia duodenalis*, *Trichomonas vaginalis* and *Hexamita inflata*. *Parasitol Res* 2006; 99: 722-728.
21. De Almeida I, Alviano DS, Vieira DP, Alves PB, Blank AF, Lopes AH, Alviano CS, Rosa MDO S. Antigiardial activity of *Ocimum basilicum* essential oil. *Parasitol Res* 2007; 101 (2): 443-52.
22. Machado M, Sousa MC, Salgueiro L, Cavaleiro C. "Effects of essential oils on the growth of *Giardia lamblia* trophozoites" *Nat Prod Commun.* 2010; 5(1): 137-41.
23. Machado M, Dinis AM, Salgueiro L, Cavaleiro C, Custódio J, Sousa MC. Anti-*Giardia* activity of phenolic-Rich Essential Oils: effects of *Thymbra capitata*, *Origanum virens*, *Thymus zygis* subsp. *sylvestris* and *Lippia graveolens* on trophozoites growth, viability, adherence and ultrastructure. *Parasitol Res* 2010; 106(5): 1205-15.
24. World Health Organization (2004) Report of the Scientific Working Group meeting on leishmaniasis
25. Hammarton TC, Mottram JC, Doerig C. The cell cycle of parasitic protozoa: potential for chemotherapeutic exploitation. *Prog Cell Cycle Res.* 2003; 5: 91-101.
26. Rosa MDS, Mendonça-Filho RR, Bizzo HR, Rodrigues IAR, Soares RM, Souto-Pradon T, Alviano CS, Lopes AHCSL. Antileish-

manial activity of a linalool-rich essential oil from *Croton cajucara*. *Antimicrob. Agents Chemother* 2003; 47: 1895-1901.

27. Ueda-Nakamura T, Mendonca-Filho RR, Morgado-Diaz JA, Korehisa Maza P, Prado Dias Filho B, Aparicio Garcia Cortez D, Alviano DS, Rosa MDO S, Lopes AH, Alviano CS, Nakamura C V. Antileishmanial activity of Eugenol-rich essential oil from *Ocimum gratissimum*. *Parasitol Int* 2006; 55: 99-105.

28. Monzote L, Garcia M, Montalvo AM, Scull R, Miranda M, Abreu J. In vitro activity of an essential oil against *Leishmania donovani*. *Phytother Res* 2007; 21 (11):1055-8.

29. Monzote L, Montalvo AM, Almanonni S, Scull R, Miranda M, Abreu J. Activity of the essential oil from *Chenopodium ambrosioides* grown in Cuba against *Leishmania amazonensis*. *Chemotherapy* 2006; 52: 130-136.

30. Monzote L, Montalvo AM, Scull R, Miranda M, Abreu J. Activity, toxicity and analysis of resistance of essential oil from *Chenopodium ambrosioides* after intraperitoneal, oral and intralesional administration in BALB/c mice infected with *Leishmania amazonensis*: a preliminary study. *Biomed Pharmacother* 2007; 61 (2-3): 148-53. Epub 2006 Dec 28.

31. Monzote I, Montalvo AM, Scull R, Miranda M, Abreu J. Combined effect of the essential oil from *Chenopodium ambrosioides* and antileishmanial drugs on Promastigotes of *leishmania amazonensis*. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 2007; 49 (4): 257-260.

32. Oliveira VC, Moura DM, Lopes JA, de Andrade PP, da Silva NH, Figueiredo RC. Effects of essential oils from *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf., *Lippia sidoides* Cham., and *Ocimum gratissimum* L. on growth and ultrastructure of *Leishmania chagasi* promastigotes. *Parasitol Res* 2009; 104 (5): 1053-9.

33. WHO The World Health Report. Fighting disease fostering development. Geneva: World Health Organization; 2002.

34. Coura JR, DE Castro SL. A critical review on Chagas disease chemotherapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002; 97:3-24.

35. Moncayo A, Ortiz-Yanine MI. An update on Chagas disease (human American trypanosomiasis). *Ann Trop Med Parasitol* 2006; 100:663-677.

36. Santoro GF, Cardoso MG, Guimarães LG, Freire JM, Soares MJ. Anti-proliferative effect of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (lemongrass) on intracellular amastigotes, bloodstream trypomastigotes and culture epimastigotes of *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida). *Parasitology* 2007; 134 (Pt 11): 1649-56.

37. Santoro GF, Das Graças Cardoso M, Guimarães LG, Salgado AP, Menna-Barreto RF, Soares MJ. Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure. *Parasitol Res* 2007; 100: 783-790.

38. Santoro GF, Cardoso MG, Guimarães LG, Mendonça LZ, Soares MJ. *Trypanosoma cruzi*: activity of essential oils from *Achillea millefolium* L., *Syzygium aromaticum* L. and *Ocimum basilicum* L. on epimastigotes and trypomastigotes. *Exp Parasitol* 2007;116(3):283-90.

39. Mikus J, Harkenthal M, Steverding D, Reichling J. In vitro effect of essential oils and isolated mono- and sesquiterpenes on *Leishmania major* and *Trypanosoma brucei*. *Planta Medica* 2000; 66: 366-368.

40. Dunne RL, Dunn LA, Upcroft P, O'Donoghue PJ, Upcroft JA. Drug resistance in the sexually transmitted protozoan *Trichomonas vaginalis*. *Cell Res* 2003; 13 (4): 239-49.

41. Schwebke JR, Burgess D. Trichomoniasis. *Clin Microbiol Rev* 2004; 17 (4): 794-803.

42. Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, Garber G. Clinical and Microbiological Aspects of *Trichomonas vaginalis*. *Clinical Microbiology Reviews* 1998; 11 (2): 300-317.

43. Cudmore SL, Delgaty KL, Hayward-McClelland SF, Petrin DP, Garber GE. Treatment of infections caused by metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis*. Review. *Clin Microbiol Rev* 2004; 17(4): 783-93.

44. Breman JG. The ears of the hippopotamus: manifestations, determinants, and estimates of the malaria burden. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2001; 64: 1-11.

45. Ridley RG. Medical need, scientific opportunity and the drive for antimalarial drugs. *Nature* 2002; 415: 686-693.

46. Valentin A, Pelissier Y, Benoit F, Marion C, Kone D, Mallie M, Bastide JM, Bessiere JM. Composition and antimalarial activity in vitro of volatile components of *Lippia multiflora*. *Phytochemistry* 1995; 40: 1439-1442.

47. Benoit-Vical F, Valentin A, Mallié M, Bastide JM, Bessière JM. In vitro antimalarial activity and cytotoxicity of *Cochlospermum tinctorium* and *C. planchonii* leaf extracts and essential oils. *Planta Med* 1999; 65: 378-381.

48. Benoit-Vical F, Valentin A, Da B, Dakuyo Z, Descamps L, Mallié M. N'Dribala (*Cochlospermum planchonii*) versus chloroquine for treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. *J Ethnopharmacol* 2003; 89: 111-114.

49. Lopes NP, Kato MJ, Andrade EH, Maia JG, Yoshida M, Planchart AR, Katzin AM. Antimalarial use of volatile oil from leaves of *Virolo surinamensis* (Rol.) Warb. by Waiãpi Amazon Indians. *J Ethnopharmacol* 1999; 67 (3): 313-9.

50. Boyom FF, Nguoua V, Zollo PH, Menut C, Bessiere JM, Gut J, Rosenthal PJ. Composition and anti-plasmodial activities of essential oils from some Cameroonian medicinal plants. *Phytochemistry* 2003; 64 (7): 1269-75.

51. Mahmoud MR, El-Abhar HS, Saleh S. The effect of *Nigella sativa* oil against the liver damage induced by *Schistosoma mansoni* infection in mice. *J Ethnopharmacol* 2002; 79: 1-11.

52. Pessoa LM, Morais SM, Bevilacqua CM, Luciano JH. Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn. and eugenol against *Haemonchus contortus*. *Vet Parasitol* 2000; 109: 59-63.

53. Asha MK, Prashanth D, Murali B, Padmaja R, Amit A. Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum sanctum* and eugenol. *Fitoterapia* 2001; 72: 669-670.

54. Zenner L, Callait MP, Granier C, Chauve C. In vitro effect of essential oils from *Cinnamomum aromaticum*, *Citrus limon*, and *Allium sativum* on two intestinal flagellates of poultry, *Tetratrichomonas gallinarum* and *Histomonas meleagridis*. *Parasite* 2003; 10: 153-157.

55. Giannenas I, Florou-Paneri P, Papazahariadou M, Christaki E, Botsoglou NA, Spais AB. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*. *Arch Tierernähr* 2003; 57(2): 99-106.