

FABÍOLA DE SOUZA CABRAL MAIER

AVALIAÇÃO DO EFEITO DE EXTRATOS VEGETAIS DE PLANTAS DO
CERRADO E PANTANAL SOBRE O CRESCIMENTO DE *Trypanosoma cruzi*

CAMPO GRANDE

2016

FABÍOLA DE SOUZA CABRAL MAIER

AVALIAÇÃO DO EFEITO DE EXTRATOS VEGETAIS DE PLANTAS DO
CERRADO E PANTANAL SOBRE O CRESCIMENTO DE *Trypanosoma cruzi*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul para a obtenção do título de mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Alda Maria Teixeira Ferreira.

CAMPO GRANDE

2016

Dedicatória

A produção deste trabalho não seria possível acontecer se minha perseverança e fé em Deus não fosse suficientemente forte para iluminar minha caminhada a cada dia de trabalho; fortalecendo minha obstinação frente aos obstáculos que não foram poucos;

Aos meus amados pais Oclécio e Maria Auxiliadora, meus irmão Faiza e Oclécio Filho, família amada que mesmo desconhecendo a importância de um curso de pós-graduação me apoiaram e fizeram dos longos 24 meses de estudo um período de dedicação exclusiva. Agradeço a Deus por vocês existirem na minha vida;

Ao meu marido Jeder Luciano pelo companheirismo e compreensão, pelos longos momentos de ausência pertinente ao processo da dissertação. Agradeço a preocupação e o seu empenho em auxiliar a realizar um objetivo importante na minha carreira, seu apoio incondicional me trouxe segurança e confiança nessa caminhada árdua mais cheia de satisfação;

Aos meus filhos Luciano Jesus e Jean Vinícius que fizeram parte de toda a pesquisa e foram responsáveis por várias ausências minhas no laboratório, eles com certeza fizeram meus dias nesses períodos serem mais difíceis, mas a vitória nunca vem para os fracos e eles me provaram isso meus amores eternos;

Aos colegas e amigos que me escutaram com tanta dedicação nos vários momentos de desespero e angústia. Meu muito obrigado!

Aos pacientes que convivem com a Doença de Chagas e esperam pela cura ou um tratamento eficaz para aliviar os sintomas da doença.

AGRADECIMENTOS

A Profa. Dra. Iandara Schettert Silva coordenadora do Programa de Pós-Graduação Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, da Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul a todos os docentes pelos ensinamentos proporcionados com tanto carinho e dedicação. As secretárias do programa Áurea, Alessandra e Vera sempre prontas a nos socorrer.

A minha linda orientadora Profa. Dra. Alda Maria Teixeira Ferreira, que com seu carinho e persuasão me acolheu para seu grupo de pesquisa e proporcionou a mim a honra de poder conhecer como em poucos locais que ainda existe ética na pesquisa científica, uma verdadeira mãe cuidando de seus filhos apesar de parecermos mais irmãs. Você deixa o ambiente por onde passa mais iluminado...

Aos Professores Doutores Walmir e Fernanda Garcez, pela parceria na obtenção dos extratos vegetais essenciais para a nosso grupo de pesquisa.

Aos Professores Inês, Cacilda e André pela convivência e dicas importantes para seguir em frente mesmo quando tudo parece que não vai dar certo. A história da **vaquinha** marcou momentos importantes do percurso do meu mestrado. E o apelido de Rapunzel me impediu de cortar os cabelos este ano...

Aos colegas e amigos do mestrado em especial Nathan Aratani por ser tão solícito nas horas de desespero. Você é um verdadeiro anjo...

A técnica de laboratório Camila, sempre solícita e prestativa nos momentos de dificuldade no laboratório.

Aos alunos de iniciação científica Carol, Leandro (baby), Gustavo e Cynthia (Irlandesa) que fizeram dos meus dias no laboratório mais alegres e produtivos.

Aos alunos de mestrado Thiago Prata, Júlio, Larissa pelo companheirismo e ao meu parceiro de todos os dias Tiago Andrade (papai do ano) que com sua humildade e fé fez a diferença no dia a dia de todos no laboratório de Imunologia.

Aos funcionários do laboratório de Biologia Molecular por nos acolher e nos auxiliar com na utilização do equipamento autoclave necessário para a realização da pesquisa.

Ao LACEN-MS por me dar suporte técnico e conceder meu afastamento para minha qualificação profissional.

A CAPES pelo apoio financeiro com a bolsa de estudo e a FUNDECT pelo apoio financeiro na aquisição do suporte para a realização da pesquisa.

EPÍGRAFE

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas eu não teria saído do lugar”.

(Chico Xavier)

RESUMO

A doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* (CHAGAS, 1909) é considerada um grave problema de saúde pública, acometendo milhares de pessoas anualmente. Estima-se que no Brasil aproximadamente cinco milhões de pessoas estejam infectadas pelo *T. cruzi*. Os fármacos utilizados para o tratamento da doença de Chagas são parcialmente eficazes na fase aguda e ineficazes na fase crônica da doença, além de provocarem efeitos adversos e toxicidade sistêmica. Em face ao problema relatado, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade biológica de extratos vegetais obtidos de plantas de Mato Grosso do Sul, incluindo espécies consideradas medicinais do Cerrado-Pantanal, sobre o crescimento de formas epimastigotas de *T. cruzi*. A triagem foi realizada por meio do ensaio colorimétrico do MTT com os extratos de *Aiouea trinervis* (Lauraceae), *Aniba heringerii* (Lauraceae), *Aspidosperma verbascifolium* (Apocynaceae), *Bowdichia virgilioides* (Fabaceae), *Centratherum punctatum* (Asteraceae), *Combretum lanceolatum* (Combretaceae), *Croton urucurana* (Euphorbiaceae), *Galianthe thalictroides* (Rubiaceae), *Guarea kunthiana* (Meliaceae), *Momordica charantia* (Cucurbitaceae), *Vernonia ferruginea* (Asteraceae) e *Vernonia rubricaulis* (Asteraceae). Os resultados obtidos neste estudo indicaram que o extrato mais ativo foi o extrato obtido dos frutos de *A. trinervis* ($IC_{50}=10,22 \mu\text{g/mL}$), seguido pelo extrato etanólico das folhas de *V. ferruginea* com ($IC_{50}=34,32 \mu\text{g/mL}$) e do extrato etanólico das sementes de *G. kunthiana* ($IC_{50}=41,45 \mu\text{g/mL}$). O presente estudo concluiu que dentre os 15 extratos brutos avaliados frente à forma epimastigota de *T. cruzi* cepa Dm28c, três extratos apresentaram atividade tripanocida com IC_{50} inferior a $50 \mu\text{g/mL}$.

Palavras-chave: Doença de Chagas. Extratos vegetais. Ensaio do MTT.

ABSTRACT

Chagas disease, caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) is considered a serious public health problem, because affect thousands of people by year. It is estimated that there are approximately five million people infected with *T.cruzi* in Brazil. The drugs used for the Chagas disease treatment are not very effective in acute and ineffective in the chronic phase of the disease as well as causes side effects and systemic toxicity. The aim of this study was to evaluate the biological activity of plants extracts obtained from plants of Mato Grosso do Sul State, including medicinal species from Cerrado-Pantanal on epimastigote forms of *T.cruzi*. The search was conducted by the colorimetric MTT method through the extracts of *Aiouea trinervis* (Lauraceae), *Aniba heringerii* (Lauraceae), *Aspidosperma verbascifolium* (Apocynaceae), *Bowdichia virgilioides* (Fabaceae), *Centratherum punctatum* (Asteraceae) *Combretum lanceolatum* (Combretaceae), *Croton urucurana* (Euphorbiaceae), *Galianthe thalictroides* (Rubiaceae) *Guarea kunthiana* (Meliaceae), *Momordica charantia* (Cucurbitaceae), *Vernonia ferruginea* (Asteraceae) and *Vernonia rubricaulis* (Asteraceae). The results of this study indicated that the most effective extract was that fruits of *A. trinervis* ($IC_{50}=10,22 \mu\text{g/mL}$) followed by the ethanol extract of the leaves of *V. ferruginea* ($IC_{50}=34,32 \mu\text{g/ mL}$) and ethanol extract of seeds the *G. kunthiana* ($IC_{50}=41,45 \mu\text{g/mL}$). This study found that among the 15 crude extracts weighed against the epimastigote of *T. cruzi* Dm28c three extracts showed trypanocidal activity with IC_{50} of less than 50 $\mu\text{g/mL}$.

Keywords: Chagas disease. Plants extracts. MTT assay.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – Principais alterações clínicas da Doença de Chagas: sinais de Romaña e inoculação no dorso da mão.....17
- FIGURA 2 – Hipertrofia do miocárdio na Doença de Chagas.....18
- FIGURA 3 – Ilustração da forma epimastigota de *Trypanosoma cruzi* e suas respectivas organelas.....20
- FIGURA 4– Ilustração da forma amastigota de *Trypanosoma cruzi* e suas respectivas organelas.....20
- FIGURA 5 – Ilustração da forma tripomastigota de *Trypanosoma cruzi* e suas respectivas organelas.....21
- FIGURA 6 – Principais vetores da Doença de Chagas na América Latina.....22
- FIGURA 7 – Ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi*.....23
- FIGURA 8 – Estruturas celulares da forma epimastigota de *Trypanosoma cruzi*.....25
- FIGURA 9 - Frutos de *Aiouea trinervis* Meisn.....27
- FIGURA 10 - Caule e folhas de *Aniba heringerii* Vattimo-Gil.....28
- FIGURA 11- Casca do caule de *Aspidosperma verbascifolium* Müll. Arg.....30

FIGURA 12- Aspecto geral de <i>Bowdichia virgilioides</i> Kunth.....	31
FIGURA 13- Partes aéreas de <i>Centraterum punctatum</i> Cass.....	32
FIGURA 14- Partes aéreas de <i>Vernonia ferruginea</i> Less.....	33
FIGURA 15- Folhas e inflorescências de <i>Vernonia rubricaulis</i> Humb & Bonpl.....	34
FIGURA 16- Galhos e folhas de <i>Combretum lanceolatum</i> Pohl.....	35
FIGURA 17- Aspecto geral de <i>Croton urucurana</i> Baillon.....	36
FIGURA 18- Aspecto geral de <i>Galianthe thalictroides</i> K. Schum.....	37
FIGURA 19- Partes aéreas, caule e frutos de <i>Guarea kunthiana</i> A. Juss.....	38
FIGURA 20- Fruto e partes aéreas de <i>Momordica charantia</i> L.....	40
FIGURA 21- Crescimento das formas epimastigotas de <i>T. cruzi</i> cultivada em LIT e LIT + DMSO 1%.....	46
FIGURA 22 – Efeito dos extratos de <i>A. trinervis</i> , <i>G. kunthiana</i> e <i>V. ferruginea</i> sobre a viabilidade de <i>T. cruzi</i>	48

LISTAS DE QUADRO E TABELAS

QUADRO 1 – Lista de plantas utilizadas no bioensaio de viabilidade para atividade tripanocida (epimastigotas, *in vitro*).....43

TABELA 1- Atividade tripanocida dos extratos brutos expressa em percentual de inibição do crescimento e IC₅₀ contra formas epimastigotas de *T. cruzi*.....47

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Bz	Benznidazol
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DP	Desvio Padrão
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
IC ₅₀	Concentração inibitória 50%
LAFEPE	Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco
LIT	<i>Liver Infusion Triptose</i>
MTT	Brometo de 3-(4,5 dimetiltiazol-2 il)-2,5-difeniltetrazolio
mL	Mililitro
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
Nf	Nifurtimox
UFMS	Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
µL	Microlitros
µg	Microgramas
UV	Ultravioleta
OMS	Organização Mundial de Saúde
pH	potencial Hidrogeniônico
SDS	Dodecil Sulfato de Sódio
SFB	Soro Fetal Bovino
<i>T. cruzi</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1 Doença de Chagas	16
2.2 Agente Etiológico	19
2.3 Estrutura Celular do <i>Trypanosoma cruzi</i>	23
2.4 Ensaio Biológicos <i>in vitro</i>	26
2.5 Espécies Botânicas	27
3. OBJETIVOS	41
3.1 Objetivo Geral	41
3.2 Objetivos Específicos	41
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	42
4.1 Cultura de <i>Trypanosoma cruzi</i>	42
4.2 Curva de Crescimento de <i>T. cruzi</i> em meio LIT e em meio com DMSO....	42
4.3 Extratos Vegetais	42
4.4 Ensaio de Viabilidade.....	43
4.5 Contagem das Formas Epimastigotas após Tratamento com Extratos ...	44
4.6 Análise Estatística	44
5. RESULTADOS	45
6. DISCUSSÃO	48
7. CONCLUSÕES	53
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

1. INTRODUÇÃO

A história descreve a importância das plantas medicinais e seus derivados como fonte de terapias medicamentosas que datam do século XVIII (PINTO *et al.*, 2002). Em 1804, o farmacêutico alemão Friedrich Wilhelm Sertürner isolou de *Papaver somniferum* (papoula), a morfina, considerado um potente analgésico que foi a base para o desenvolvimento de outros fármacos com a mesma posologia (ALMEIDA *et al.*, 2009; GRAGG; NEWMAN, 2014). Já em 1820, os franceses Joseph Bienaimé Caventou e Pierre Joseph Pelletier isolaram o alcaloide quinina da casca de *Cinchona officinalis* L. (Rubiaceae) conhecida popularmente por Quina-quina utilizado posteriormente para o tratamento da malária (ALMEIDA *et al.*, 2009; OLIVEIRA; SZEZERBOWSKI, 2009). Consideram-se plantas medicinais as espécies vegetais que atuam com ação farmacológica por alguma via quando administradas para o tratamento de alguma enfermidade (BARRACA, 1999).

Entre os anos de 1981 e 2002, os compostos naturais foram responsáveis por introduzir no mercado farmacêutico 49% de fitofármacos, isto é derivados ou sintetizados a partir dos produtos naturais. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), 80% da população mundial utiliza tratamento à base de plantas como paliativo para a saúde, que em países desenvolvidos podem ser adquiridos nos sistemas de saúde (GRAGG; NEWMAN, 2014).

Ao se estudar uma planta com relação às suas características fitoquímicas, deve-se considerar a existência de dois grupos distintos de metabólitos: os metabólitos primários e os metabólitos secundários. Metabólitos primários são encontrados em todos os sistemas vivos, são essenciais ao crescimento e à vida dos mesmos, como os aminoácidos, monossacarídeos, ácidos carboxílicos e lipídeos. Os metabólitos secundários são produtos de metabolismo específico, relacionados aos processos adaptativos. São biossintetizados a partir de metabólitos primários, com distribuição restrita a um dado grupo de microorganismos ou plantas, muitas vezes característicos de um dado gênero ou espécie (SANTOS, 2007). Muitos desses compostos, em plantas, apresentam papéis vitais para o organismo que os produz, como na defesa contra herbívoros e microorganismos, na proteção contra os raios UV e na atração de polinizadores ou animais dispersores de sementes (NIERO *et al.*, 2003).

As perspectivas sobre o conhecimento e a identificação de novas moléculas provenientes dos metabólitos vegetais de interesse terapêutico é uma área que proporciona grande avanço econômico e farmacológico (YUNES; CHECHINEL FILHO, 2014).

Ocupando cerca de 20% do território nacional, o Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, sendo superado em tamanho apenas pela Amazônia, além de ser considerado a última fronteira agrícola do planeta com aproximadamente 11 mil espécies de plantas já catalogadas. Abrange os Estados de Goiás, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Bahia, Maranhão, Piauí e Distrito Federal (BORLAUG, 2002; KLINK; MACHADO, 2005). O Cerrado é considerado um hotspot de biodiversidade e vem sofrendo ao longo das décadas com o desmatamento que ameaça de extinção espécies consideradas endêmicas (KLINK; MACHADO, 2005), justifica-se a importância do estudo de plantas que nele ocorre como fonte de potenciais novos agentes terapêuticos.

O Estado de Mato Grosso do Sul apresenta uma grande biodiversidade de espécies vegetais sendo, portanto, uma promissora fonte na busca por substâncias bioativas. Neste contexto, pesquisadores da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul orientam estudos sobre as espécies vegetais provenientes da região do Cerrado e Pantanal, como por exemplo, plantas das famílias Asteraceae, Apocynaceae, Combretaceae, Lauraceae e Fabaceae. Estudos de extratos vegetais advindos das plantas regionais com potencial atividade antiprotozoário representam expressiva fonte de publicações (MARQUES *et al.*, 2013; RIBEIRO *et al.*, 2014).

Os compostos químicos isolados de plantas promovem a busca por substâncias com potencial atividade biológica como exemplo: ação antitumoral e doenças infecciosas provocadas por protozoários como *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania sp* (GARCEZ *et al.*, 2005; GARCEZ *et al.*, 2006; GARCEZ *et al.*, 2011). O impacto causado por doenças infecciosas, como a doença de Chagas, assume relevância mundial porque atinge a população, provocando graves problemas à saúde pública (COURA; CASTRO, 2002; DIAS *et al.*, 2009).

A necessidade de novas alternativas terapêuticas para o tratamento da doença de Chagas impulsiona a busca por novos compostos com atividade biológica (MARQUES *et al.*, 2013; RIBEIRO *et al.*, 2014). Sendo assim, com base no exposto,

o presente estudo realizou a avaliação do efeito de extratos vegetais sobre o crescimento de *Trypanosoma cruzi*, por meio dos extratos etanólicos de espécies vegetais coletadas no Estado de Mato Grosso do Sul, pertencentes a nove famílias de plantas, algumas utilizadas na medicina tradicional.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Doença de Chagas

A tripanossomíase Americana ou doença de Chagas é uma doença tropical parasitária, provocada pelo protozoário cinetoplastida *Trypanosoma cruzi* (CHAGAS, 1909). A identificação e descrição do *T. cruzi* como agente causador da tripanossomíase foram feitas pelo médico sanitariano Carlos Ribeiro Justiniano Chagas, durante a construção da estrada de ferro Central do Brasil, em Lassance, Minas Gerais, em abril de 1909. Carlos Chagas descreveu em detalhes o agente etiológico, o vetor, o ciclo de vida, a transmissão do parasita e alguns aspectos clínicos, epidemiológicos e socioculturais da doença que acometia a população local incapacitando-a ao trabalho (COURA, 2008; COURA; BORGES-PEREIRA, 2010; PRATA *et al.*, 2011).

Embora a natureza infecciosa da doença de Chagas tenha sido descoberta no ano de 1909, pesquisas na área de paleoparasitologia descreveram a presença do DNA de *T. cruzi* em múmias humanas do Chile e Peru com sinais da fase crônica da patologia, demonstrando que a enfermidade acomete os seres humanos há mais de nove mil anos (AUFDERHEIDE *et al.*, 2004; CLAYTON, 2010; COURA; VIÑAS, 2010; PRATA *et al.*, 2011).

A doença de Chagas é considerada uma antropozoonose frequente na América Latina, onde é considerada uma enfermidade endêmica (SOBRINHO *et al.*, 2009), devido ao desequilíbrio ecológico causado pela invasão de matas e florestas pelo homem em busca de moradia e expansão de empreendimentos agropecuários (COURA; BORGES-PEREIRA, 2010). Atualmente, cerca de 25 milhões de indivíduos estão expostos ao risco de infecção, com aproximadamente 21 mil óbitos em decorrência de complicações crônicas (COURA; DE CASTRO, 2002; MORENO *et al.*, 2010; WHO, 2012).

Estima-se que entre 6-7 milhões de pessoas possam estar infectadas pelo parasito em países endêmicos e cerca de 300 a 400 mil em países não endêmicos como Estados Unidos, Japão, Austrália, Canadá (URBINA, 2010; GASCON *et al.*, 2010).

Segundo o Ministério da Saúde, na última década foram registrados mais de 1.570 casos da fase aguda da doença no Brasil. Surtos relacionados à ingestão de alimentos contaminados (DIAS, 2006), como caldo de cana e açaí aumentaram em

70% os casos da forma aguda da doença de Chagas, enquanto que a transmissão vetorial (FILHO *et al.*, 2008) e formas menos frequentes de transmissão como acidentes de laboratório e transfusões sanguíneas contribuíram com 7% e 22%, respectivamente (DIAS, 2006; GONTIJO *et al.*, 2009; PÉREZ-MOLINA *et al.*, 2012; WHO, 2014; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

No Brasil, a estimativa é de que haja aproximadamente 5 milhões de pessoas infectadas. A região Norte apresenta um índice de (91,1%), sendo o Estado do Pará a região que mais contribuiu com casos agudos da doença de Chagas e a região Centro-Oeste com menores proporções (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015). O elevado índice de casos na região Norte pode ser justificado em consequência dos grandes desmatamentos, desalojando os animais silvestres (hospedeiros vertebrados) e possíveis vetores que se adaptam facilmente ao peridomicílio humano (AGUILAR *et al.*, 2007; COURA; BORGES-PEREIRA, 2010).

A doença de Chagas compreende duas fases clínicas distintas:

Fase Aguda: Ocorre logo após a infecção com duração de 4 a 8 semanas, aproximadamente. Esta fase tem relação intrínseca com o estado imunológico do hospedeiro. Estima-se que 10% dos óbitos da forma aguda são por complicações relacionadas à meningoencefalite, a alta parasitemia e a presença de infiltrados inflamatórios em diversos tecidos como no sistema cardíaco. Esta é a forma mais violenta da doença (BRENER *et al.*, 1997; PINTO *et al.*, 2009). As manifestações locais, como edema no local da inoculação (sinal de Romaña) que aparecem em 50% dos casos agudos (NEVES *et al.*, 2000) regredem em dois meses (FIGURA 1).



Figura 1 – Principais alterações clínicas da doença de Chagas: sinal de Romaña e inoculação no dorso da mão

Fonte: Adaptado de Amorin (2014).

Fase crônica: Caracteriza-se por apresentar três formas: indeterminada, cardíaca e digestiva. Na forma indeterminada os indivíduos passam pela fase aguda apresentando infecção latente. Estudos relatam que apesar dos exames clínicos apresentarem resultados positivos nessa fase da doença, entre 60 a 70% dos doentes não irão desenvolver clinicamente a doença de Chagas. Na ineficácia de um tratamento, 30 a 40% dos pacientes progridem para a fase crônica, com lesões irreversíveis em tecidos cardíaco (FIGURA 2), digestivo e neurológico (NEVES *et al.*, 2000; COURA; DE CASTRO, 2002).

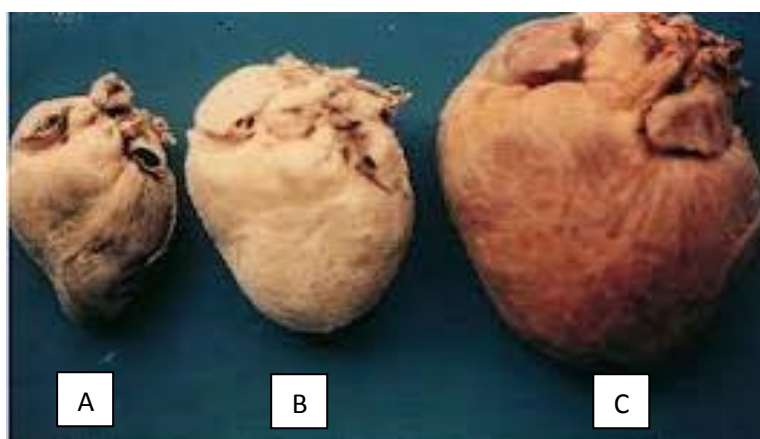


Figura 2- Hipertrofia do miocárdio na doença de Chagas

Legenda: Da esquerda para a direita: (A) Coração de paciente vítima de “morte súbita”; (B) Coração de paciente portador de visceromegalias (megaesôfago/megacolon); (C) Coração de paciente falecido na vigência de insuficiência cardíaca congestiva (ICC).

Fonte: Adaptado de Patge (2010).

Na fase crônica cardíaca, o principal sinal é a insuficiência cardíaca congestiva (ICC), devido ao acometimento lento e progressivo do miocárdio, com o comprometimento da função contrátil (76% dos casos desenvolvem insuficiência cardíaca), com anomalias semelhantes em doenças coronarianas (NEVES *et al.*, 2000; ACQUATELLA, 2007). Na forma digestiva a destruição dos gânglios autônomos ligados ao esôfago e cólon causa a sua dilatação com comprometimentos funcionais e morfológicos, caracterizando as síndromes de megacólon e megaesôfago, observadas em pacientes com faixa etária entre 20 e 40 anos, principalmente em países como Brasil e Argentina (NEVES *et al.*, 2000; MARIN-NETO *et al.*, 2007).

Para o tratamento da doença de Chagas dois medicamentos são indicados, o Benznidazol (Rochagan®) desenvolvido pelo laboratório Roche, em 1971,

atualmente produzido pelo Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco - LAFEPE (ANDRADE *et al.*, 2011) e o Nifurtimox (Lampit®, Laboratório Bayer), este último não sendo mais comercializado no Brasil, Argentina e Chile (WHO, 2012). A quimioterapia utilizada na terapêutica nem sempre é bem sucedida. Apresenta eficácia de 80% na fase aguda de 8 a 30% na fase crônica da doença, além dos efeitos adversos como elevada toxicidade, que pode levar à suspensão do tratamento (CANÇADO, 2002; COURA, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2008; MAYA *et al.*, 2010).

Os fármacos citados são compostos nitro-heterocíclicos que atuam na formação de radicais livres e metabólitos eletrofílicos, atingindo todas as macromoléculas do parasito (MAYA *et al.*, 2003). Estudos com produtos naturais e sintéticos colaboram para aumentar a lista de potenciais medicamentos com eficácia para o tratamento da doença de Chagas. Fármacos como o Alopurinol, Itraconazol e Posaconazol (os dois últimos antifúngicos imidazólicos) estão sendo investigados em pacientes chagásicos (APT *et al.*, 2005; URBINA, 2010; MOLINA *et al.*; 2014).

2.2 Agente Etiológico

O *T. cruzi* apresenta um ciclo biológico complexo, distribuído em duas fases distintas: a fase no hospedeiro invertebrado e a fase no hospedeiro vertebrado, por exemplo, o homem. Com as adversidades enfrentadas pelo parasito nos diversos ambientes ou fases do ciclo, este sofre modificações estruturais, morfológicas e bioquímicas capazes de desenvolver estratégias em longo prazo para sobrevivência e adaptação (ZELEDÓN, 1999; DE SOUZA, 2002).

Algumas dessas mudanças implicam em ciclos metabólicos variados, expressão gênica diferenciada de moléculas internas e de superfície, capacidade de multiplicação e resistência aos fármacos utilizados para o tratamento (DIAS *et al.*, 2009).

Durante o ciclo de vida do protozoário pode-se distinguir quatro principais formas evolutivas: formas epimastigotas e amastigotas (formas replicativas) e as formas tripomastigota sanguínea e tripomastigota metacíclica (formas não replicativas) (BRENER, 1973; ZELEDON, 1999; DE SOUZA, 2002).

As formas epimastigotas (FIGURA 3) são alongadas, variando entre 20 e 40 µm, com flagelo livre e cinetoplasto localizado próximo à bolsa flagelar e anterior ao

núcleo (TYLER; ENGMAN, 2001). Encontradas no tubo digestivo do vetor, são formas replicativas, não infectantes predominantes em culturas axênicas.

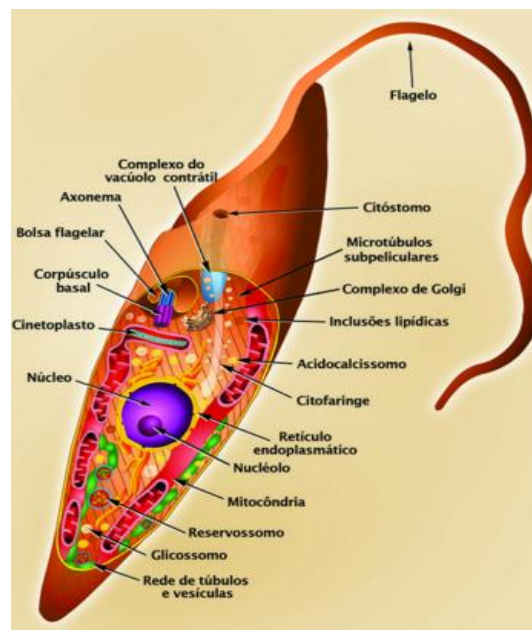


Figura 3 – Ilustração da forma epimastigota de *T. cruzi* e suas respectivas organelas
 Fonte: Open Learn Works (2013).

As formas amastigotas (FIGURA 4) são arredondadas, medindo aproximadamente 5 µm de diâmetro, com cinetoplasto em forma de bastão, localizado anterior ao núcleo e o flagelo no interior da bolsa flagelar. O núcleo é relativamente grande, arredondado e excêntrico. São formas intracelulares replicativas, encontradas no interior das células do hospedeiro vertebrado, com tropismo por células musculares, cardíacas e músculo liso (DE SOUZA, 2002; COURA; BORGES-PEREIRA, 2010).

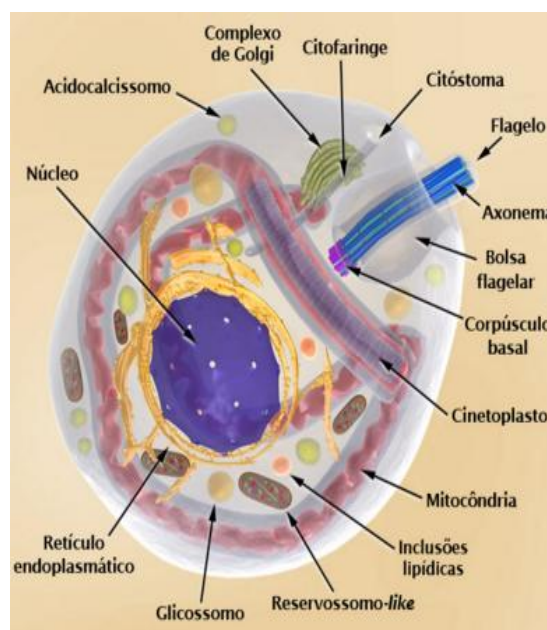


Figura 4- Ilustração da forma amastigota de *T. cruzi* e suas respectivas organelas

Fonte: Open Learn Works (2013).

As formas tripomastigotas (formas infectivas) são fusiformes, levemente abauladas medindo aproximadamente 25 μm . O cinetoplasto é arredondado e posterior ao núcleo, o flagelo emerge da região posterior aderindo-se à membrana plasmática, sendo aparente na região anterior. São incapazes de multiplicar-se e são encontradas no sangue do hospedeiro vertebrado denominada de tripomastigotas sanguíneas (FIGURA 5) e na porção final do intestino no vetor, denominadas de tripomastigotas metacíclicas (DE SOUZA, 2002).

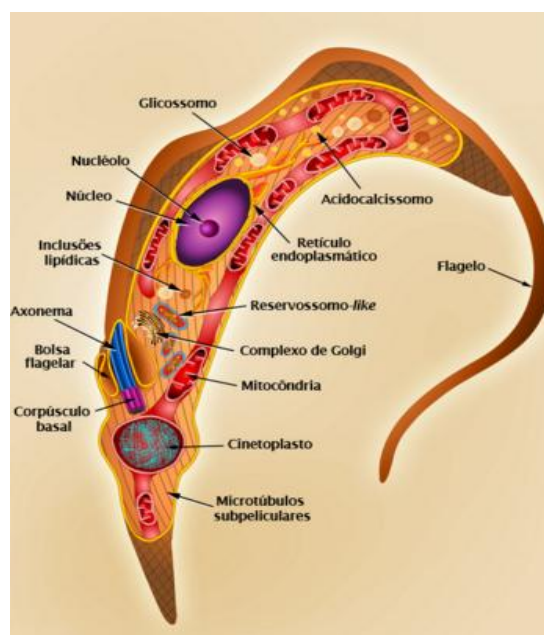


Figura 5 – Ilustração da forma tripomastigota de *T. cruzi* e suas respectivas organelas

Fonte: Open Learn Works (2013).

O *T. cruzi* (CHAGAS, 1909) é um parasito heteroxênico alternando seu ciclo entre insetos hemípteros da família Reduviidae, subfamília Triatominae, principalmente *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus* e *Triatoma dimidiata* conhecido popularmente, como barbeiro (FIGURA 6) e hospedeiros vertebrados mamíferos entre eles o homem (BARRETT *et al.*, 2003; GALVÃO *et al.*, 2003; ALVES *et al.*, 2007; RASSI *et al.*, 2010).

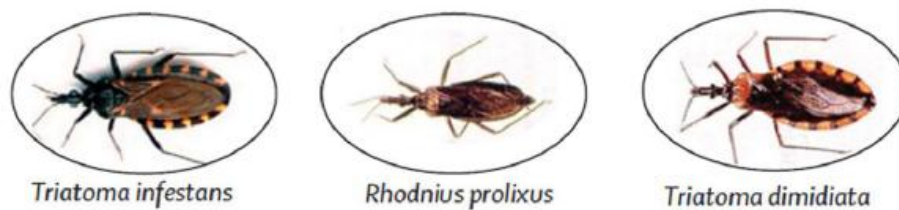


Figura 6 – Principais vetores da doença de Chagas na América Latina

Fonte: Adaptado de Rassi *et al.*, (2010).

Nos triatomíneos, o ciclo inicia-se durante o repasto sanguíneo quando estes sugam as formas tripomastigotas sanguíneas do hospedeiro vertebrado infectado. No estômago do inseto, estas formas diferenciam-se em epimastigotas e multiplicam-se por divisão binária no lúmen do intestino (NEVES *et al.*, 2000; RASSI *et al.*, 2010). Na porção final do intestino dos triatomíneos, diferenciam-se em tripomastigotas metacíclicas que são eliminadas nos dejetos (fezes e urina) do inseto durante o repasto sanguíneo no hospedeiro vertebrado. No local da picada há uma reação inflamatória que pode facilitar o acesso das formas tripomastigotas metacíclicas às células do tecido adjacente, por exemplo, macrófagos e posteriormente à corrente circulatória. No interior das células ocorre o processo de diferenciação em formas amastigotas, que se multiplicam por divisão binária e após um período de ciclos de multiplicação (FIGURA 7), transformam-se em tripomastigotas sanguíneas. Estas rompem a membrana da célula hospedeira e livres na corrente sanguínea, podem invadir novas células e tecidos ou serem ingeridas pelo triatomíneo, completando o ciclo biológico do parasito (NEVES *et al.*, 2000; RASSI *et al.*, 2010).

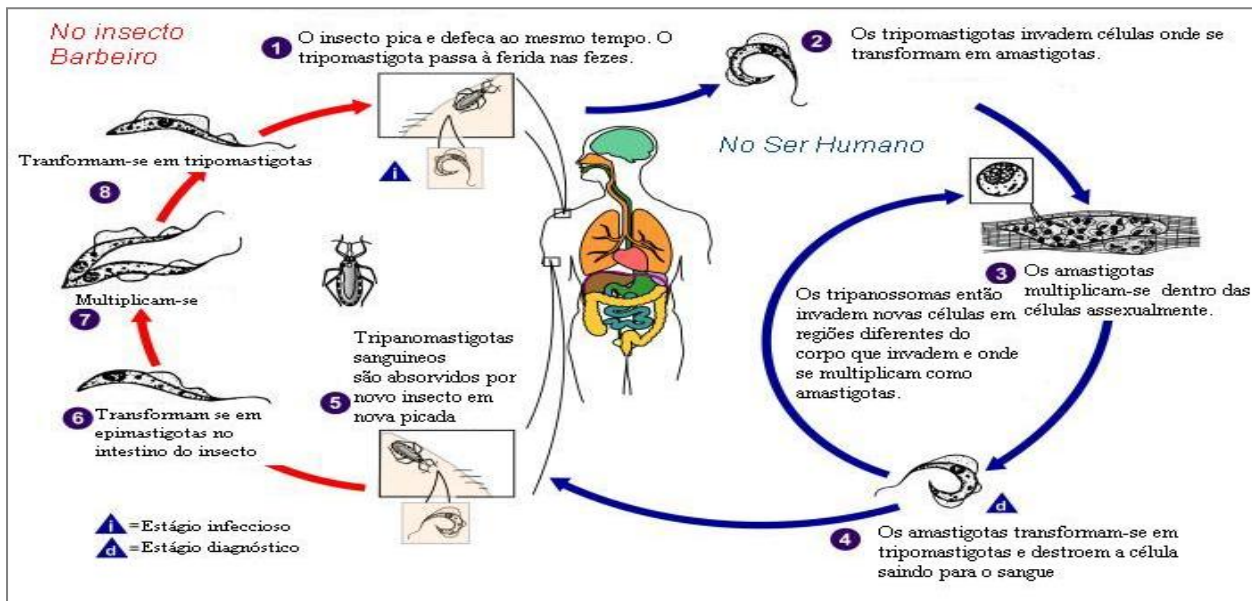


Figura 7- Ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi*

Fonte: Adaptado de CDC, (2015).

2.3 Estrutura celular do *Trypanosoma cruzi*

Semelhante aos demais eucariotos, os tripanossomatídeos apresentam: membrana plasmática, núcleo, retículo endoplasmático liso e granular, responsável pela síntese de lipídeos e proteínas, mitocôndria e aparelho de Golgi.

No entanto, existem algumas peculiaridades, como a presença de um único aparelho de Golgi, envolvido na glicosilação de proteínas e no tráfego de membranas para diversas regiões da célula (ARARIPE *et al.*, 2004), os acidocalcisomos responsáveis pela homeostasia intracelular, os microtúbulos subpeliculares que conferem maior resistência mecânica ao parasito, além de mitocôndria única que se estende por todo corpo celular (DE SOUZA, 2009; MENNA-BARRETO *et al.*, 2009). A mitocôndria da família Trypanosomatidae contém uma região especializada conhecida como cinetoplasto onde se localiza uma vasta rede de DNA, chamado de DNA do cinetoplasto (kDNA) (LIU *et al.*, 2005; DE SOUZA, 2009).

Os glicosossomos são estruturas que medem cerca de 3 µm, encontram-se distribuídos no citoplasma e representam um tipo especializado de peroxissomo, albergando algumas enzimas da via glicolítica, que em outros organismos, localizam-se no citoplasma (HANNAERT *et al.*, 2003).

Algumas estruturas especializadas da membrana plasmática conhecidas por microdomínios apresentam características distintas e estão envolvidas em funções vitais no protozoário (DE SOUZA, 2002; 2009; PARSONS, 2004). O citóstoma é uma dessas estruturas, visualizado nas formas amastigotas e epimastigotas, está localizado próximo à bolsa flagelar, constituído de uma profunda invaginação da membrana que se estende até a região do núcleo. Juntos o citóstoma e a bolsa flagelar estão envolvidos na absorção de nutrientes, através do mecanismo de endocitose (FIGUEIREDO *et al.*, 2000; PORTO-CARREIRO *et al.*, 2000; DE SOUZA, 2009).

Os reservossomos apresentam forma esférica com diâmetro de 700 ηm aproximadamente e são encontrados na região posterior de formas epimastigotas. O pH do interior dos reservossomos é ácido (pH=6,0), colocando-o como um compartimento pre-lisossomal (DE SOUZA, 2002). É uma organela responsável pelo armazenamento de macromoléculas ingeridas pelo parasito (endocitose) desaparecendo ao longo da diferenciação das formas epimastigotas para tripomastigotas (FIGUEIREDO *et al.*, 2000; DE SOUZA, 2002; 2008).

Com características ácidas, os acidocalcisomos, são organelas esféricas com cerca de 200 ηm de diâmetro, sua matriz apresenta depósitos eletrodensos por microscopia eletrônica e estão comumente localizados na periferia celular. São funções dessa organela o armazenamento de cálcio, magnésio, sódio, potássio, zinco, ferro, compostos fosforados, contribuindo para a osmorregulação celular, em associação com o vacúolo contrátil (MORENO; DOCAMPO, 2009).

O núcleo de *T. cruzi* é uma organela com diâmetro acerca de 2,5 μm , com cromatina altamente condensada, associada à face interna do envelope nuclear que apresenta contiguidade com a membrana do retículo endoplasmático. Nas formas tripomastigotas o núcleo é central e alongado, enquanto que nas formas epimastigotas (FIGURA 8), e amastigotas apresenta-se arredondado e com nucléolo evidente (DE SOUZA, 2002).

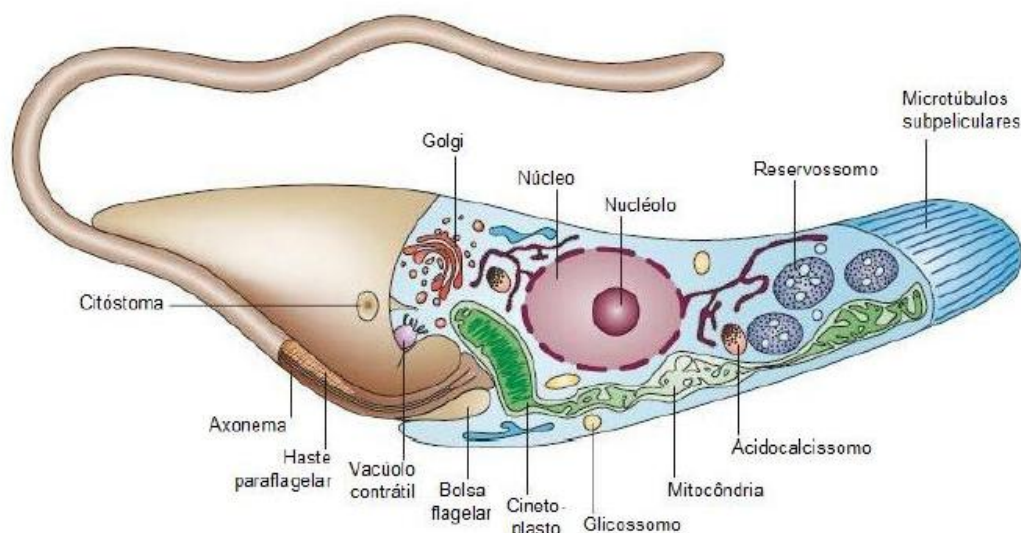


Figura 8 - Estruturas celulares da forma epimastigota de *T. cruzi*

Fonte: Adaptado de DOCAMPO (*et al.*, 2005).

2.4 Ensaios biológicos *in vitro*

Para a busca de compostos com potenciais atividades biológicas, os ensaios *in vitro* são amplamente utilizados. Alguns ensaios biológicos são empregados para avaliar a citotoxicidade em cultura de células ou medir células viáveis em alto rendimento, sem a necessidade de contagens elaboradas, empregando alguns parâmetros que variam de pequenas alterações morfológicas até morte celular (VAN MEERLOO *et al.*, 2011).

Com a utilização de ensaios *in vitro* é possível avaliar um número muito grande de amostras com várias concentrações da droga ou composto a ser testado demonstrando a capacidade de ação dos compostos e restringindo o uso de animais nas fases iniciais da pesquisa. Adicionalmente é possível citar algumas outras vantagens importantes como reprodutibilidade, sensibilidade e baixo custo, em comparação aos testes *in vivo* (FRESHNEY, 2005).

Os metabólitos secundários presentes nos extratos vegetais são compostos complexos na sua maioria e sensíveis aos fatores ambientais, isto é, o período da coleta do material botânico interfere na quantidade e variedade dos isolados químicos. Realizar o rastreamento biomonitorado dos extratos brutos através de ensaios biológicos requer alguns cuidados quanto à escolha do processo metodológico para avaliar se o extrato inibiu efetivamente a viabilidade celular (HENRIKSSON *et al.*, 2006; SOUZA *et al.*, 2011). Neste contexto a contagem celular

e os ensaios colorimétricos podem determinar o real efeito dos produtos vegetais sobre a inibição do crescimento celular.

O teste do MTT (Brometo de 3-(4,5 dimetiltiazol-2 il)-2,5-difeniltetrazolio) é um ensaio colorimétrico utilizado como ferramenta para determinar a viabilidade celular. Baseia-se na quantificação do dano induzido por compostos químicos, por exemplo, (os presentes em extratos vegetais) no metabolismo celular (STOCKERT *et al.*, 2012). Ao ser acrescentado ao meio analisado durante um período pré-estabelecido, o MTT é reduzido pela atividade metabólica celular (NADH/NAD⁺) com a formação de cristais insolúveis em meio aquoso (formazan) apresentando uma coloração roxa. A quantidade de formazan produzida é medida em um equipamento espectrofotométrico. O resultado é expresso em absorbância que é diretamente proporcional à viabilidade celular (MOSSMAN, 1983; MUELAS-SERRANO *et al.*, 2000).

2.5 Espécies Botânicas

A família Lauraceae Nees é composta por árvores e arbustos, distribuídos em regiões tropicais e subtropicais, nas Américas, Ásia, Austrália e com alguns exemplares no sul da África. Tem grande importância econômica devido à qualidade da madeira produzida, e a riqueza de óleos essenciais. Aproximadamente 3.000 espécies de plantas distribuem-se em 50 gêneros (BROTTO *et al.*, 2009; ALCÂNTARA *et al.*, 2010). Segundo Lorenzi e Matos (2008), no Brasil são encontrados 22 gêneros com aproximadamente 400 espécies, algumas ameaçadas de extinção.

Na literatura, várias espécies pertencentes a esta família foram relatadas em estudos etnobotânicos, devido à sua utilização na culinária e na medicina tradicional, como *Persea americana* (Abacate) e *Cinnamomum zeylanicum* (Canela) (BARATA-SILVA; MACEDO; GOMES, 2005).

Diversas atividades biológicas têm sido atribuídas a membros da família Lauraceae, como atividade antimicrobiana (CATÃO *et al.*, 2005), inseticida e antifúngica (PRIETO *et al.*, 2010), antioxidante (GARCEZ *et al.*, 2005; TÓFOLI *et al.*, 2012) e larvicida no controle de *Aedes aegypti* (ARAÚJO, 2012).

Os metabólitos secundários ocorrentes na família Lauraceae pertencem às classes dos alcaloides, lignanas, flavonoides, sesquiterpenos, pironas (GARCEZ *et*

al., 2011), γ -lactonas com potencial atividade biológica e farmacológica (GUTERRES *et al.*, 2014).

O gênero *Aiouea* é restrito à região neotropical, com 25 espécies, sendo que no Brasil são encontradas 16 espécies (BAITELLO, 2001). Entretanto, na região de Mato Grosso do Sul o gênero é representado por *Aiouea trinervis* Meisn (FIGURA 9), conhecida como Brinco-de-princesa ou Louro-de-Goiás. São árvores ou arbustos com até 7 m de altura (ALVES; ISHII, 2007; GARCEZ *et al.*, 2016). Segundo Garcez (2005), o extrato etanólico das raízes, folhas e caules subterrâneos foram ativos no teste de letalidade contra *Artemia salina*. No estudo fitoquímico foram isolados quatro butanolídeos e lignanas com atividade antiproliferativa.



Figura 9- Frutos de *Aiouea trinervis* Meisn

Fonte: www.myspecies.info, (2011).

Outro representante da família Lauraceae, o gênero *Aniba* destaca-se pela sua importância econômica na indústria madeireira e devido à constituição de seus óleos essenciais, concentrados principalmente em sua casca, cuja propriedade antimicrobiana e antifúngica já foi relatada (BAKKALI *et al.*, 2008; TÓFOLI *et al.*, 2012). Neste gênero estão catalogadas aproximadamente 41 espécies vegetais, localizadas nas Guianas e em diversas regiões do Brasil (MORAES, 2005). Na medicina tradicional plantas do gênero *Aniba* são utilizadas como antimicrobiano e

anti-inflamatório. Em estudo *in vivo* com modelos experimentais a espécie *Aniba* apresentou atividade ansiolítica, anticonvulsivante e tóxica contra cepas de *Candida albicans* (MARQUES, 2001; MELO, 2006; CARVALHO, 2011).

No Brasil a espécie *Aniba heringerii* (FIGURA 10), conhecida popularmente por Canela ou Pau-louro ocorre principalmente no cerrado e na caatinga. Na região de Mato Grosso do Sul é a única representante do gênero (MORAES, 2005; ALVES; ISHII, 2007). O composto espatulenol, um sesquiterpeno extraído da espécie *A. heringerii* apresentou moderada atividade antitumoral (MARTINS, 2014).



Figura 10- Caule e folhas de *Aniba heringerii* Vattino-Gil

Fonte: Neotropical Plants, (2015).

A família Apocynaceae tem 350 gêneros divididos em cinco subfamílias (ENDRESS; BRUYNS, 2000) e aproximadamente 3.700 espécies localizadas principalmente em áreas de clima tropical e subtropical (NOGUEIRA *et al.*, 2004; SANTOS *et al.*, 2013). No Brasil há 95 gêneros catalogados, dos quais 32 são encontrados na região Amazônica (PEREIRA *et al.*, 2007; SANTOS *et al.*, 2013). As plantas dessa família são caracterizadas pela presença de látex e podem ser encontradas na natureza como arbustos, trepadeiras, árvores e raramente como ervas (NOGUEIRA *et al.*, 2004; MOROKAWA *et al.*, 2013).

Estudos fitoquímicos identificaram compostos como alcaloides indólicos, triterpenos que farmacologicamente apresentam propriedades leishmanicida e tripanocida (MESQUITA *et al.*, 2005), cicatrizante (CASTILHO *et al.*, 2007) e antimicrobiano contra cepas de *Clostridium hystolyticum* (NETO *et al.*, 2002).

Espécies do gênero *Aspidosperma*, como por exemplo, *A. nittidum* (Carapaúna preta) e *A. auriculatum* (Carapanaúba) são amplamente utilizadas na medicina tradicional indígena e cabocla para o tratamento da malária (BRANDÃO *et al.*, 1992).

Os alcaloides indólicos de *A. ramiflorum* (Guatambu) foram ativos contra formas promastigotas de *Leishmania (L.) amazonensis* (TANAKA *et al.*, 2007). Alcaloides isolados de *Aspidospermas* são metabólitos secundários com atividade sobre o sistema nervoso central de efeito alucinógeno e tóxico (LUCA; PIERRE, 2000).

Na Argentina, aproximadamente 273 espécies do gênero *Aspidosperma* foram relatadas pelo seu uso medicinal como cicatrizante, antiasmático e antipirético (DEL VITTO; PETENATTI; PETENATTI, 1997). Há relatos da atividade antimicrobiana contra cepas de *Escherichia coli*, do extrato etanólico das folhas e caule de *A. ramiflorum* (AGRIPINO *et al.*, 2004). Alcaloides extraídos das raízes de *Aspidosperma ulei* (Pitiá) atuaram em mecanismos dopaminérgicos, auxiliando no tratamento da disfunção erétil em animais experimentais (CAMPOS *et al.*, 2006).

Braekman e colaboradores (1969) isolaram de *Aspidosperma verbascifolium* (FIGURA 11), conhecida popularmente como Peroba-do-campo ou Bolsinha (PROENÇA; OLIVEIRA; SILVA, 2006), alcaloides indólicos kopsanona, kopsanol e N α -formilkopsanol.

Levantamento bibliográfico realizado nos anos de 1995-2010 sobre a distribuição geográfica e as propriedades químicas, farmacológicas e etnobotânicas das espécies de Apocynaceae contextualizado no Brasil, relatou que dentre os gêneros com maior número de espécies encontra-se o gênero *Aspidosperma*. As espécies *A. dispersum* (Catingueira), *A. parvifolium* (Guatambu-oliva) e *A. macrocarpum* (Guatambu-do-cerrado) apresentaram propriedades anticonceptiva e anti-inflamatória, efeito antidiabético, hipoglicemiante e tripanocida respectivamente (RAPINI *et al.*, 2010; SANTOS *et al.*, 2013).



Figura 11- Casca do caule de *Aspidosperma verbascifolium* Müll. Arg

Fonte: Lorenzi, (2002).

A família Fabaceae ou Leguminosae está dividida em três subfamílias: Papilionoideae (Faboideae), Caesalpinioideae e Mimosoideae (LORENZI, 1992; KLITGARD; LEWIS, 2010). Compreendendo aproximadamente 727 gêneros com 19.325 espécies descritas, está entre as três famílias com maior distribuição geográfica dentre as Angiospermas (LEWIS *et al.*, 2005).

No Brasil, foram catalogados aproximadamente 212 gêneros e 2.732 espécies. As plantas da família Fabaceae tem grande valor econômico, pois são utilizadas como fonte alimentícia e como plantas medicinais (VASUDEVA *et al.*, 2009; LIMA *et al.*, 2013). Várias espécies são consideradas cosmopolitas, isto é, são encontradas em diversos biomas e ecossistemas em regiões de clima tropical e subtropical e apresentam-se na forma de arbustos, árvores e trepadeiras lenhosas.

A espécie *Bowdichia virgilioides* (Figura 12) conhecida popularmente como Sucupira ou Sucupira-preta é amplamente distribuída no Brasil. São árvores de porte médio, resistentes ao clima seco e consideradas indicadores de vegetação primária, sendo muito utilizada em ambientes de restauração de áreas degradadas por seu crescimento rápido (ALBUQUERQUE; GUIMARÃES, 2007; LORENZI; MATOS, 2008).

A casca e a raiz de *B. virgilioides* são utilizadas na medicina tradicional como antireumático, hipoglicemiante e adstringente (MACEDO; FERREIRA, 2004). Já os óleos essenciais extraídos das folhas apresentam propriedade antimicrobiana (ALMEIDA *et al.*, 2006). O extrato etanólico bruto foi avaliado quanto a sua atividade anticonvulsivante (QUINTANS-JUNIOR *et al.*, 2002) e antimalárico (DEHARO *et al.*,

2001). Estudos fitoquímicos relatam o isolamento de flavonoides (ARRIAGA; GOMES; BRAZ-FILHO, 2000), benzofuranos (MELO *et al.*, 2001), triterpenos e alcaloides (BARBOSA-FILHO *et al.*, 2004).



Figura 12 – Aspecto geral de *Bowdichia virgilioides* Kunth

Fonte: Lorenzi, (1992).

Dentro do bioma Cerrado, a família Asteraceae tem relevância em muitos estudos fitoquímicos e ampla utilização na medicina tradicional. As espécies vegetais dessa família são morfologicamente variadas, podendo se apresentar na forma de arbustos, trepadeiras ou arbóreas. A família Asteraceae é a maior dentro do grupo das Angiospermas com aproximadamente 1.600 gêneros pertencentes a 25.000 espécies. No Brasil foram catalogados aproximadamente 196 gêneros e cerca de 1.900 espécies (LORENZI, 2002).

Estudos fitoquímicos destacam os flavonoides como a classe de metabólitos secundários com maior presença dentro da família Asteraceae sendo esta classe alocada como marcador quimiotaxonômico (VERDI *et al.*, 2005; HATTORI; NAKAJIMA, 2008).

O gênero *Centratherum* revisado por Kirkman (1981) compreende apenas duas espécies: *Centratherum confertum* K. Kirkman e *Centratherum punctatum* Cass. (Figura 13), ambas distribuídas nas Américas Central e do Sul. Na região Sul do Brasil predomina a espécie *C. confertum* K. Kirkman, (KISSMANN; GROTH, 1999; ALMEIDA; DEMATTEIS, 2014), enquanto a espécie *C. punctatum* encontra-se amplamente distribuída no país. Tais espécies são encontradas como ervas ou

subarbustos popularmente conhecidos por Perpétua ou Perpétua-roxa (NAKAJIMA; SEMIR, 2001).

Segundo Amanian e Brindha (2013), foram detectados em *C. punctatum* o eugenol (fenilpropanoide), ativo contra o câncer do colo uterino, o espatulenol (sesquiterpeno) imunomodulador e o esqualeno (triterpeno) antioxidante e antitumoral dentre outros compostos.



Figura 13 – Partes aéreas de *Centhraterum punctatum* Cass

Fonte: Brazilian Buttom Flower, (2014).

O gênero *Vernonia* com cerca de 1.000 espécies distribuídas nas Américas, África e Ásia está dividido em dois subgêneros com quatro seções delimitadas pela presença de substâncias químicas, em especial as lactonas sesquiterpênicas (BUSKUHL *et al.*, 2009). No Brasil existem aproximadamente 200 espécies (PAGNO *et al.*, 2006).

Dentre as atividades biológicas relatadas para espécies de Vernonias pode-se citar as ações anti-inflamatória (MAZUMDER *et al.*, 2003), citotóxica, imunomoduladora (BUSKUHL *et al.*, 2009), leishmanicida contra *Leishmania (L.) amazonensis* e antifúngica (BRAGA *et al.*, 2007), assim como seu uso no tratamento da malária (ABOSI; RASEROKA, 2003).

A espécie *Vernonia ferruginea* (FIGURA 14), conhecida popularmente por Assa-peixe é uma planta arbustiva ou arbórea com 4 m de altura aproximadamente e folhas com pilosidades ásperas na face ventral (KISSMANN; GROTH, 1999).

Estudos com extratos e compostos isolados de *V. ferruginea* relatam atividade antiulcerogênica e anti-inflamatória gastrointestinal em experimentos com animais, sendo que esta atividade foi atribuída ao composto lupeol (triterpeno pentacíclico). A espécie apresenta também flavonoides e outros terpenoides (BARBASTEFANO, 2007) e relato de atividade leishmanicida (MARQUES *et al.*, 2013).



Figura 14 – Partes aéreas de *Vernonia ferruginea* Less

Fonte: Lorenzi (*et al.*, 2002).

A espécie *Vernonia rubricaulis* (FIGURA 15), conhecida por Vernônia, apresenta elevada toxicidade, causando mortes em rebanhos bovinos, causando assim grandes prejuízos econômicos para a pecuária (BRUM *et al.*, 2002). Quimicamente foram isolados alguns compostos, como o lupeol (triterpeno pentacíclico), o ácido ursólico, o α -tocoferol, além de flavonoides dentre outros (BOHRER *et al.*, 2014).



Figura 15– Folhas e inflorescências de *Vernonia rubricaulis* Humb & Bonpl

Fonte: Foto cedida gentilmente pelo Professor Marcos Barbosa Ferreira.

A família Combretaceae compreende aproximadamente 20 gêneros e 600 espécies com ampla distribuição geográfica em regiões de clima tropical e subtropical. O gênero *Combretum* tem importância na indústria madeireira com 250 espécies lenhosas, mas também são utilizadas na medicina tradicional, como cicatrizante, antinociceptivo, anti-inflamatório e anticolinesterásico (FACUNDO *et al.*, 2005), anti-helmínticos e anti-inflamatórios (Mac GAW *et al.*, 2001).

Estudos fitoquímicos revelaram a presença de triterpenos, flavonoides glicosilados e quercetina nas folhas e raízes de *Combretum leprosum* conhecida popularmente por Mofumbo (FACUNDO *et al.*, 2005; PIETROVSKI *et al.*, 2006). O extrato etanólico dos frutos de *C. leprosum* inibiu o crescimento de formas epimastigotas de *T. cruzi* na concentração de 100 µg/mL (ALMEIDA, 2011). Teles e colaboradores (2011) demonstraram atividade contra formas promastigotas de *L. amazonensis*.

A espécie *Combretum lanceolatum* (FIGURA 16), conhecida por Pombeiro-vermelho, ocorre de Norte a Sul do Brasil (MARQUETE; VALENTE, 2010). As espécies da família Combretaceae são muito apreciadas na Região Pantaneira na medicina tradicional (POTT *et al.*, 2011; DECHANDT *et al.*, 2013). O extrato etanólico das flores de *C. lanceolatum* tem como principal composto químico a

quercetina com atividade anti-hiperglicêmica por meio de um mecanismo de ação semelhante à metformina (DECHANDT *et al.*, 2013).



Figura 16 – Galhos e folhas de *Combretum lanceolatum* Pohl

Fonte: EMBRAPA, (2006).

A família Euphorbiaceae compreende 317 gêneros e aproximadamente 8.000 mil espécies vegetais, de ocorrência em regiões temperadas e tropicais. Sátiro e Roque (2008) realizaram um levantamento florístico na região da caatinga e catalogaram mais de 1.000 espécies em regiões arenosas. Os membros da família Euphorbiaceae possuem grande importância econômica, alimentícia e medicinal.

A espécie *Manihot esculenta* (Mandioca) é fonte alimentícia apreciada em várias regiões brasileiras. Já a espécie *Hevea brasiliensis* (Seringueira) é utilizada na extração de látex para a produção da borracha na região Amazônica (LORENZI; MATOS, 2008), enquanto os óleos extraídos da espécie *Croton* e *Jatropha* são usados em misturas de combustíveis. Na medicina popular as algumas espécies de *Croton* são utilizadas na preparação de chás e infusões (ABREU, 2001) como agente antiviral, antioxidante (GUPTA *et al.*, 2008) e hepatoprotetor (VEIGA JR *et al.*, 2005).

O gênero *Croton* representa cerca de 1.300 espécies distribuídas geograficamente entre as Américas e a Ásia. A espécie *Croton urucurana* (Figura 17) é representada por árvores de 6 a 8 metros de altura, com folhas em forma de coração. Quando seu tronco é cortado libera uma seiva (látex) de cor avermelhada, razão pela qual é nominada popularmente por sangra d'água. O látex é utilizado

como cicatrizante (PERES *et al.*, 1997; LORENZI *et al.*, 2003), além da comprovada atividade antifúngica (GURGEL *et al.*, 2005).

A casca e a resina dessa espécie são exportadas para a indústria farmacêutica dos Estados Unidos, indicados para o tratamento de doenças respiratórias. Os principais constituintes químicos isolados foram as lignanas (dimetilcedrusina) e alcaloides (taspina) com propriedades cicatrizantes (LORENZI; MATOS, 2008) da casca do caule o campesteol, β -sitosterol, estigmasterol, catequinas (PERES *et al.*, 1997). Os extratos metanólicos das folhas e da casca apresentam atividade antimicrobiana (OLIVEIRA *et al.*, 2008).



Figura 17 – Aspecto geral de *Croton urucurana* Baillon

Fonte: Árvores do Brasil (2010).

A família Rubiaceae compreende aproximadamente 99 gêneros distribuídos nas regiões tropicais, África e Chile. Na América do Sul existem cerca de 1.300 espécies (LORENZI, 2002). No Brasil existem 101 gêneros e mais de 1.000 espécies representadas por ervas, arbustos e árvores, com representatividade no bioma Cerrado (BOLZANI *et al.*, 2001). Os frutos da espécie *Coffea arabica* (Café) são comestíveis e possuem grande importância econômica, enquanto que a espécie *Uncaria tomentosa*, conhecida popularmente como Unha-de-gato, apresenta grande potencial na medicina tradicional, sendo empregada no tratamento de artrite e reumatismo (KEPLINGER *et al.*, 1999). Alguns metabólitos secundários isolados das rubiaceas são os iridoides (MOURA *et al.*, 2006), os alcaloides (HENRIQUES *et al.*, 2004), as antraquinonas (LING *et al.*, 2002), as lignanas (SILVA *et al.*, 2006), flavonoides, derivados fenólicos, triterpenos, cumarinas (BOLZANI *et al.*, 2001).

O gênero *Galianthe* (Rubiaceae) está inserido no Bioma Cerrado onde algumas de suas espécies são endêmicas. Em Mato Grosso do Sul, na cidade de Bonito, as raízes de plantas da espécie *Galianthe thalictroides* (Figura 18) são utilizadas como anticancerígeno pela população (FIGUEIREDO, 2010).

Segundo Cabral (2009), em seu estudo revisional sobre o subgênero *Galianthe*, há correlação entre suas características morfológicas e genéticas ao gênero *Borreria*, demonstrando que Schumann (1888) atribuiu a espécie *Galianthe thalictroides* (Baicuru) o nome de *Borreria thalictroides* (sinonímia). Estudos fitoquímicos do extrato etanólico das raízes de *G. thalictroides* demonstram a presença de alcaloides indólicos responsáveis pela atividade antiproliferativa (FIGUEIREDO, 2010; FERNANDES *et al.*, 2013) além de outros constituintes, como por exemplo antraquinonas, cumarinas e esteroides (DE OLIVEIRA FIGUEIREDO *et al.*, 2014). Segundo Cabral (2001), estudos fitoquímicos farmacológicos sobre os espécimes vegetais são escassos na literatura científica (FIGUEIREDO *et al.*, 2016).



Figura 18- Exsicata de *Galianthe thalictroides* K. Schum

Fonte: Fernandes, (2011).

A família Meliaceae é representada por aproximadamente 51 gêneros e 550 espécies, representadas por árvores e arbustos distribuídos geograficamente em diversos biomas de regiões neotropicais. A madeira das espécies *Cedrela fissilis* (Cedro-rosa) e *Swietenia macrophylla* (Mogno) representa uma importante fonte econômica para indústria de móveis, além da extração de óleos essenciais (STEFANO *et al.*, 2010).

No Brasil são encontrados oito gêneros e 86 espécies em vários biomas, como Cerrado, Mata Atlântica e Caatinga. Na medicina popular as resinas produzidas pela espécie *Azadiracta indica*, conhecida popularmente como Neem, apresentaram compostos ativos conhecidos por limonoides utilizados como repelentes de insetos, pesticida (GREGER *et al.*, 2001; SIMMONDS *et al.*, 2001) e bactericida (ABOUTALB *et al.*, 2000).

Garcez e colaboradores (2004) isolaram de plantas do gênero *Guarea* compostos químicos como diterpenos, sesquiterpenos e limonoide das folhas, galhos e frutos. Das folhas de *Guarea kunthiana* conhecida popularmente como Figo-do-mato, foram isolados principalmente diterpenos com esqueleto diversificados e sesquiterpenos.

O extrato metanólico das folhas de *G. rophalocarpa* foi ativo contra as formas promastigotas de *Leishmania donovani* e contra as formas tripomastigotas de *Trypanosoma brucei* (CAMACHO, 2001). Já o extrato etanólico das folhas de *Guarea kunthiana* (FIGURA 19) apresentou atividade leishmanicida (LIMA, 2006). O extrato dos frutos de *G. kunthiana* inibiu a postura de carrapatos bovinos *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (99,1% de inibição) o estudo químico biomonitorado revelou no isolamento de vários protolimonoides, sendo 3 β -O-higloilmelianol o responsável pela atividade (MIGUITA *et al.*, 2015; GARCEZ *et al.*, 2016).



Figura 19 – Partes aéreas, caule e fruto de *Guarea kunthiana* A. Juss

Fonte: UNICENTRO, (2011).

A família Cucurbitaceae Juss compreende 118 gêneros e aproximadamente 825 espécies, das quais 26 espécies são cultivadas como hortícolas distribuídas nos trópicos úmidos e áridos nos Continentes Asiático, Europeu e Americano (LORENZI *et al.*, 2003).

Com relação ao gênero *Momordica*, há relatos sobre suas atividades farmacológicas, como exemplo, atividade imunomoduladora (TSOI *et al.*, 2006) e propriedades inseticidas (NARASIMHAN *et al.*, 2005). Representantes desse gênero vegetal são utilizados na medicina tradicional para o controle da glicemia, embora seja considerada tóxica, pois apresentam metabólitos secundários como glicosídeos cianogênicos (KUMAR *et al.*, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2010).

Momordica charantia (FIGURA 20) é uma planta herbácea (trepadeira) originária da Índia e cultivada na Ásia, África e na região Amazônica. No Brasil é conhecida, popularmente como melão-de-São-Caetano e indicada na medicina popular para tratamentos de cólicas, doenças virais, infecções microbianas (*E. coli*, *Streptococcus*), com propriedades laxativas, afrodisíacas, anti-inflamatória, cicatrizantes e antialérgicas. Compõe a lista de espécies vegetais, amplamente utilizada na medicina tradicional brasileira (GROVER *et al.*, 2002; BRASIL, 2010; KUMAR *et al.*, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2010).

Diversos estudos fitoquímicos relataram o isolamento a partir de *M. charantia* de alguns metabólitos secundários como alcaloides, triterpenos, taninos, flavonoides, saponinas, catequinas, esteroides, ácido linoleico carboidratos e proteínas (BEGUM *et al.*, 1997; RODRIGUES *et al.*, 2010). A partir de análises biomonitoradas foi possível atribuir um amplo espectro de propriedades, tais como atividade citoprotetora (CHEN *et al.*, 2010), hipoglicemiantes (SHIH *et al.*, 2009), antimicrobiana e anti-helmíntico (GROVER; YADAV, 2004), hepatoprotetor (PEREIRA *et al.*, 2010), anticarcinogênico (RAY *et al.*, 2010) e leishmanicida (SANTOS *et al.*, 2008; GUPTA *et al.*, 2010; MARQUES *et al.*; 2013).



Figura 20- Fruto e partes aéreas de *Mormordica charantia* L

Fonte: Smithsonian Tropical Research Institute, (2009).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a atividade biológica de extratos obtidos de plantas de Mato Grosso do Sul, incluindo espécies consideradas medicinais, sobre o crescimento de *Trypanosoma cruzi*.

3.2 Objetivos Específicos

3.2.1 Determinar a curva de crescimento de *Trypanosoma cruzi* em meio LIT com e sem DMSO;

3.2.2 Determinar a concentração dos extratos de quinze espécies vegetais pertencentes a nove diferentes famílias, capaz de inibir 50% da viabilidade celular (IC_{50}) de epimastigotas de *T. cruzi* por meio do ensaio do MTT.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Cultura de *Trypanosoma cruzi*

As formas epimastigotas de *T. cruzi*, cepa Dm28c, originalmente isoladas de gambás, *Didelphis marsupialis* (GOLDENBERG *et al.*, 1984, CONTRERAS *et al.*, 1985), foram gentilmente cedidas pelo Instituto Carlos Chagas-Fiocruz/PR e armazenadas no Laboratório de Imunologia, Bioensaios e Biologia Molecular (LABIMUNOBIO) do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul de Campo Grande/MS. Os parasitas foram mantidos em cultivo em meio LIT (*Liver Infusion Tryptose*) (CAMARGO, 1964), em estufa com demanda bioquímica de oxigênio (B.O.D), em temperatura de 28 °C. O meio de cultura usado foi suplementado com 10% de soro fetal bovino (Cultilab) e com 1% de hemina (Sigma). Após o quarto dia de incubação, o número de parasitos foi obtido por contagem em câmara de Neubauer. Para os experimentos foram utilizados parasitos de culturas na fase exponencial 1×10^6 parasitas/mL.

4.2 Curva de Crescimento de *T. cruzi* em Meio LIT e em Meio Contendo DMSO

Uma vez que o DMSO é utilizado para a solubilização dos compostos vegetais a serem testados fez-se necessário a avaliação do efeito deste solvente sobre a viabilidade dos parasitas.

Formas epimastigotas foram inoculadas no meio de cultivo a uma concentração de 1×10^6 parasitas/mL, na presença de distintas concentrações de DMSO (0,5%, 0,8% e 1%). Como controle, foram utilizados parasitas cultivados sem DMSO. A concentração de parasitas na curva foi determinada a partir da contagem em câmara de Neubauer a cada 24 horas, durante 96 horas. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

4.3 Extratos Vegetais

As plantas descritas no Quadro 1, foram coletadas em municípios do Estado de Mato Grosso do Sul, dentro de um programa amplo de coleta de espécies vegetais do Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais Bioativos (LP1-Instituto de Química-UFMS). As partes das plantas coletadas (cerca de 500g) foram secas à temperatura ambiente, moídas e extraídas com etanol 95%, por maceração, com

exceção do extrato de *Croton urucurana*, onde as cascas foram extraídas separadamente com metanol e acetona 70%. Os extratos etanólicos obtidos foram concentrados em rotavaporador, sob pressão reduzida.

Os extratos vegetais neste estudo foram produzidos e fornecidos pela equipe do LP1, coordenada pelos pesquisadores Dra. Fernanda Rodrigues Garcez e Dr. Walmir Silva Garcez (INQUI-UFMS).

Os extratos avaliados foram solubilizados em DMSO 100% para a obtenção de uma solução estoque na concentração de 10 mg/mL. A solução estoque foi utilizada para a obtenção das demais soluções nas concentrações a serem utilizadas no ensaio do MTT. A concentração de DMSO não ultrapassou 1% (v/v) em cada tubete, por ensaio.

Quadro 1- Lista das plantas utilizadas no bioensaio *in vitro* de viabilidade para atividade tripanocida sobre formas epimastigotas de *T. cruzi*

Família	Espécies das Plantas	Nome popular	Parte das plantas	Local da Coleta	Exsiccatas
Lauraceae	<i>Aiouea trinervis</i>	Louro-de-goiás	Frutos	Campo Grande	CGMS 8810
Lauraceae	<i>Aniba heringerii</i>	Canela	Caule	Campo Grande	WG 260
Lauraceae	<i>Aniba heringerii</i>	Canela	Folhas	Campo Grande	WG 260
Apocynaceae	<i>Aspidosperma verbascifolium</i>	Peroba-do-campo	Casca	Campo Grande	WG 288
Fabaceae	<i>Bowdichia virgilioides</i> <i>Centratherum</i>	Sucupira-do-cerrado	Folhas	Bonito	WG 266
Asteraceae	<i>punctatum</i>	Perpétua-roxa-do-mato	Aéreas	Bonito	WG 268
Combretaceae	<i>Combretum lanceolatum</i>	Pombeiro-vermelho	Folhas	Corumbá	CGMS 49230
Combretaceae	<i>Combretum lanceolatum</i>	Pombeiro-vermelho	Galhos	Corumbá	CGMS 49230
Euphorbiaceae	<i>Croton urucurana</i>	Sangra d'água	Casca/metanólico**	Campo Grande	CGMS 30924
Euphorbiaceae	<i>Croton urucurana</i>	Sangra d'água	Casca/acet. 70%*	Campo Grande	CGMS 30924
Rubiaceae	<i>Galianthe thalictroides</i>	Baicuru	Raiz	Bonito	CGMS 29003
Meliaceae	<i>Guarea kunthiana</i>	Figo -do- mato	Sementes	Bonito	CGMS 112217
Cucurbitaceae	<i>Momordica charantia</i>	Melão-de-São-caetano	Aéreas	Bonito	WG 273
Asteraceae	<i>Vernonia ferruginea</i>	Assa-peixe	Folhas	Bonito	WG 276
Asteraceae	<i>Vernonia rubricaulis</i>	Vernônia	Folhas	Porto Murtinho	CGMS 5432

Legenda: ** Extrato metanólico. * Extrato em acetona 70%

4.4 Ensaio de Viabilidade

O efeito da amostra testada sobre a viabilidade de formas extracelulares do parasito foi determinado pelo ensaio do MTT adaptado (MUELAS-SERRANO *et al.*, 2000). O ensaio se baseia na redução do sal de tetrazólio (MTT) em uma substância colorida insolúvel em meio aquoso, o formazan, avaliando a atividade

metabólica ou a viabilidade em culturas de células, através da ação da enzima succinato desidrogenase das mitocôndrias (DUTTA *et al.*, 2005).

Parasitas em fase exponencial foram contados em câmara de Neubauer e a concentração foi ajustada para 1×10^6 parasitos/mL. As células foram incubadas por 72 horas na presença de seis concentrações (100 µg/mL até 3,125 µg/mL) dos extratos e mantidos a 28 °C em estufa B.O.D. Em paralelo, para cada concentração, foram realizados ensaios em sistema livre de células (LIT+extrato). Após a incubação, foram adicionados 50 µL da solução de MTT (5 mg/mL) a cada amostra seguido por incubação de quatro horas a 37 °C em mini incubadora. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 1.700 xg por 10 minutos e o sobrenadante foi retirado e ao sedimento foi adicionado um volume de 50 µL de SDS 10%, para promover a lise das células. Após agitação vigorosa acrescentou-se 150 µL de DMSO para promover a solubilização dos cristais de formazan. Em seguida foi transferida uma alíquota de 150 µL para microplaca de 96 cavidades e posteriormente foi realizada a leitura da absorbância em comprimento de onda de 570 nm em leitor de microplacas (µQuant). Todo o experimento foi realizado em quintuplicata, utilizando como controle negativo parasitas tratados com DMSO 1% e como controle positivo, parasitas tratados com Benznidazol 2,603 µg/mL.

Para a obtenção dos resultados de viabilidade celular utilizou-se os valores de absorbância obtidos de cada tratamento subtraídos do valor da absorbância dos respectivos controles (LIT+Extrato = sistema livre de células). Considerou-se o controle com DMSO como 100% de viabilidade. Os dados de viabilidade foram utilizados para o cálculo da IC₅₀.

Os resultados foram expressos como a concentração da amostra capaz de inibir a viabilidade dos parasitas em 50%, concentração inibitória 50% (IC₅₀). Compostos com IC₅₀ ≤ 50 µg/mL foram considerados ativos (MARQUES *et al.*, 2013).

4.5 Contagem das Formas Epimastigotas após Tratamento com Extratos

Paralelamente ao ensaio do MTT foram realizadas contagens em câmara de Neubauer, das formas submetidas às concentrações testadas, comparando-se então com o crescimento da cultura controle não tratada. O experimento foi realizado em triplicata, utilizando como controle negativo parasitas tratados com DMSO 1% e

como controle positivo, parasitas tratados com Benznidazol 2,603 $\mu\text{g/mL}$. Os resultados foram expressos em percentual de inibição.

4.6 Análise Estatística

O cálculo para a obtenção do valor de IC_{50} foi efetuado, utilizando-se a análise de regressão não linear no programa Prisma® versão 5.01 (GraphPad Software Incorporated, San Diego).

5. RESULTADOS

A Figura 21 ilustra o crescimento das formas epimastigotas de *T. cruzi* em meio LIT sem DMSO e meio LIT com 1% DMSO. A análise dos resultados revelou que não houve alteração do crescimento dos parasitos na presença de DMSO 1%, com isso o mesmo pôde ser utilizado na solubilização dos compostos desde que não ultrapasse tal concentração.

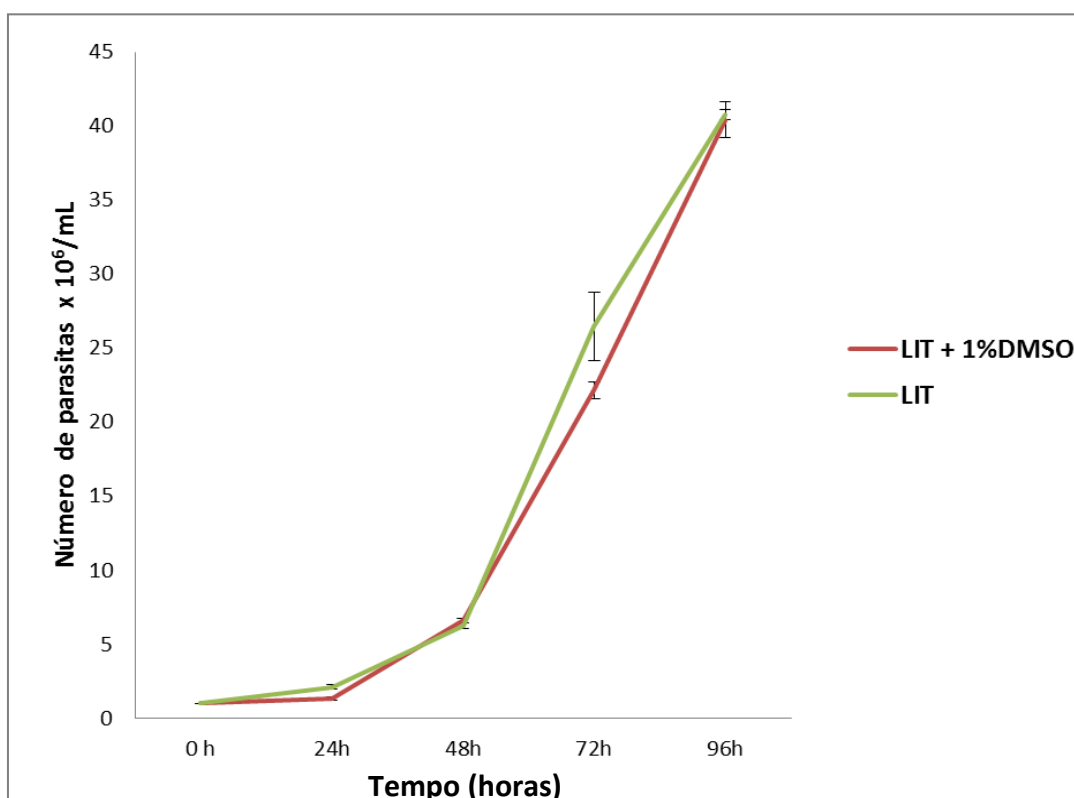


Figura 21 – Crescimento das formas epimastigotas de *T. cruzi* cultivadas em meio contendo LIT e LIT+DMSO 1%.

Quinze extratos obtidos a partir de 12 espécies vegetais pertencentes a nove famílias de plantas do Cerrado e Pantanal Sul-Mato-Grossenses foram avaliados *in vitro* quanto ao seu potencial tripanocida contra as formas epimastigotas de *T. cruzi* (TABELA 1).

Os extratos etanólicos dos frutos de *Aiouea trinervis*, das sementes de *Guarea kunthiana* e das folhas de *Vernonia ferruginea* apresentaram atividade contra *T. cruzi* com IC_{50} de 10,22 $\mu\text{g/mL}$; 41,45 $\mu\text{g/mL}$ e 34,32 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.

Os mesmos extratos reduziram o crescimento de formas epimastigotas em 19,89 ($\pm 1,18$); 19,89 ($\pm 1,20$) e 36,62 ($\pm 1,34$), respectivamente.

Tabela 1 - Atividade tripanocida dos extratos, expressa em percentual de inibição do crescimento e IC₅₀ contra formas epimastigotas de *T. cruzi*.

Espécies vegetais	Partes das plantas	Inibição do crescimento (%)	IC ₅₀ µg/mL (95% IC)
<i>Aiouea trinervis</i>	Frutos	19,89 \pm 1,18	10,22 (8,8-11,9)
<i>Aniba heringerii</i>	Caule	50,92 \pm 1,45	137,63 (43,2-438,2)
<i>Aniba heringerii</i>	Folhas	33,31 \pm 1,75	446,02 (43,2-438,2)
<i>Aspidosperma verbascifolium</i>	Casca	24,14 \pm 1,52	160,03 (50,2-314,0)
<i>Bowdichia virgilioides</i>	Folhas	29,83 \pm 1,33	388,74 (172,4-876,3)
<i>Centhraterum punctatum</i>	Aéreas	19,12 \pm 1,59	124,63 (62,9-409,5)
<i>Combretum lanceolatum</i>	Folhas	12,64 \pm 1,57	>450,0
<i>Combretum lanceolatum</i>	Galhos	62,51 \pm 2,00	238,34 (56,0-397,1)
<i>Croton urucurana</i>	Casca/metanol	40,32 \pm 1,55	>450,0
<i>Croton urucurana</i> *	Casca/acet. 70%	36,44 \pm 1,46	114,02 (58,1-223,6)
<i>Galianthe thalictroides</i>	Raiz	33,12 \pm 1,78	64,64 (30,8-135,5)
<i>Guarea kunthiana</i>	Sementes	19,89 \pm 1,20	41,45 (20,0-55,3)
<i>Momordica charantia</i>	Aéreas	19,10 \pm 1,21	75,91 (37,1-155,4)
<i>Vernonia ferruginea</i>	Folhas	36,62 \pm 1,34	34,32 (25,4-71,1)
<i>Vernonia rubricaulis</i>	Folhas	59,64 \pm 1,47	>450,0

* *Croton urucurana* extrato acetona 70%; \pm , desvio padrão; IC, intervalo de confiança

Vale ressaltar que os resultados obtidos pela contagem dos parasitos e os valores de IC₅₀ obtidos no ensaio do MTT foram realizados em paralelo, com o intuito de visualizar microscopicamente a presença dos parasitos no bioensaio e calcular o percentual de inibição do crescimento.

A Figura 22 ilustra a atividade tripanocida dos extratos biologicamente ativos sobre a viabilidade de formas epimastigotas de *T. cruzi*. Observa-se que os extratos causam uma inibição dose-dependente na viabilidade dos parasitos.

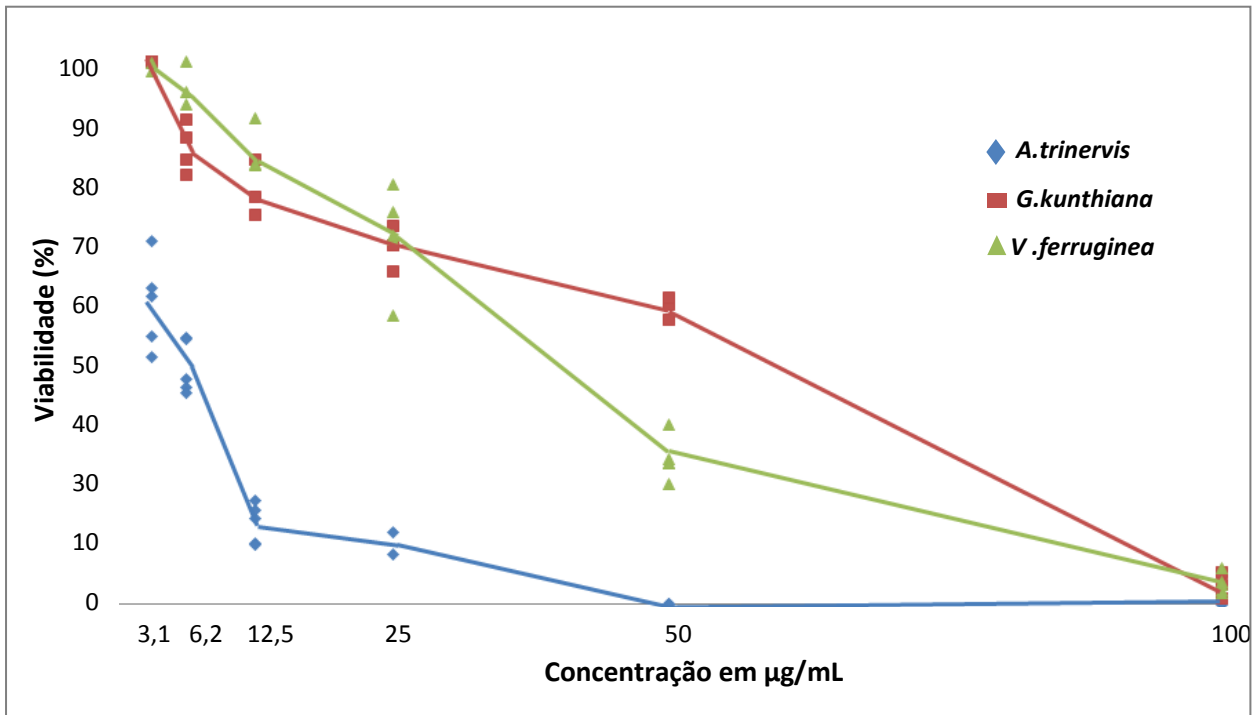


Figura 22- Efeito dos extratos de *A. trinervis*, *G. kunthiana* e *V. ferruginea* sobre a viabilidade de *T. cruzi*

6. DISCUSSÃO

Este trabalho avaliou o potencial efeito tripanocida de 15 extratos pertencentes a nove famílias de plantas, algumas de uso medicinal e outras descritas com atividade fitoterápica de acordo com ensaio previsto na Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 2010; THOMAZZI *et al.*, 2010).

A escolha das espécies vegetais incluídas no presente estudo foi baseada em diversos trabalhos relatando o potencial farmacológico atribuído aos representantes dos gêneros e/ou família por meio de suas atividades biológicas com tripanossomatídeos publicados na literatura.

Para a solubilização dos extratos foi utilizado o DMSO, um solvente com características anfipáticas e que é amplamente utilizado para solubilizar amostras em bioensaios. No entanto, devido à sua alta penetrabilidade, pode apresentar certa toxicidade quando utilizado em elevadas concentrações ou em exposições prolongadas (HUBÁLEK, 2003; SANTOS *et al.*, 2003). Por essa razão foi necessário avaliar o efeito desse solvente sobre os parasitos e verificou-se que na presença de 1% de DMSO, nas condições empregadas neste estudo, não houve alteração no crescimento dos parasitos.

Para a realização da triagem dos extratos vegetais, utilizou-se como ferramenta o teste colorimétrico do MTT, por apresentar boa reprodutibilidade e mostrar-se eficiente por avaliar um número grande de amostras em diferentes concentrações. Este bioensaio baseia-se na quantificação da redução do sal de tetrazólio na presença do metabolismo celular.

Os bioensaios realizados neste estudo foram avaliados em paralelo, nas mesmas condições de concentração, tempo e temperatura. Neste contexto, a porcentagem da inibição do crescimento indicou que os parasitos utilizados estavam viáveis na concentração de 1×10^6 parasitos/mL.

Vale ressaltar que os valores obtidos pela contagem dos parasitos em câmara de Neubauer e os valores de IC_{50} obtidos no ensaio do MTT não foram concordantes. No entanto, por se tratar de métodos cujos parâmetros analisados são distintos, sua concordância não necessariamente precisa ser estabelecida, uma vez que o ensaio do MTT revela o estado metabólico dos parasitos e a contagem, o número efetivo de parasitos vivos na cultura. Mesmo com valores discordantes, as análises demonstraram que o ensaio do MTT é uma ferramenta importante na

triagem de compostos biologicamente ativos por se tratar de um método simples e rápido, revelando o estado metabólico geral da cultura tratada.

Dentre os extratos avaliados, três apresentaram atividade biológica sobre as formas epimastigotas de *T. cruzi*. São eles: *Aiouea trinervis* frutos (Lauraceae), *Vernonia ferruginea* folhas (Asteraceae) e *Guarea kunthiana* sementes (Meliaceae).

Utilizando formas epimastigotas de *T. cruzi* cepa Dm28c, verificou-se que o extrato etanólico de *A. trinervis* apresentou potente atividade biológica *in vitro*, com $IC_{50} = 10,22 \mu\text{g/mL}$, com efeito dependente das concentrações avaliadas. Já os extratos de *V. ferruginea* e *G. kunthiana* causaram uma inibição parcial, se considerarmos o valor de corte que incluímos no presente estudo, que foi de $IC_{50} \leq 50 \mu\text{g/mL}$.

Utilizando a IC_{50} do mesmo extrato vegetal de *A. trinervis*, Garcia e Padovani (2015) avaliaram o perfil proteico de formas epimastigotas e verificaram alterações significativas nas bandas eletroforéticas.

Algumas plantas da família Lauraceae são ricas em metabólitos secundários como os alcaloides aporfínicos localizados na espécie *Ocotea* (ZANIN; LORDELLO, 2007). Este demonstrou atividade biológica em *Leishmania (L.) amazonensis*, afetando estruturas como o cinetoplasto e membrana plasmática, causando tumefação e condensação da cromatina, além de danos mitocondriais. O cinetoplasto é uma organela presente apenas nos protozoários da família Trypanosomatidae, sendo um importante alvo para ensaios com drogas em decorrência de sua associação ao DNA mitocondrial (MORAES, 2014).

Ao avaliar a citotoxicidade de compostos isolados de *A. trinervis* frente a linhagens de células neoplásicas, GARCEZ e colaboradores (2016) verificaram atividade para butanolídeos ($IC_{50} = 5,96 \mu\text{g/mL}$) e lignanas ($IC_{50} = 4,95 \mu\text{g/mL}$). No entanto, o estudo utilizou caule subterrâneo e raízes da planta, enquanto que neste estudo foi avaliado o extrato etanólico dos frutos.

Cabral e colaboradores (2010) em estudo com duas espécies da família Lauraceae coletadas na Região Nordeste do Brasil demonstrou atividade tripanocida sobre formas epimastigotas de *T. cruzi* cepa Dm28c. Os compostos conhecidos por neolignanas (fenilpropanoides), Licarina A isolado de *Nectandra glabrescens* (Canela preta) e Burchelina isolado de *Ocotea cymbarum* (Louro canela) foram avaliados por meio do ensaio do MTT e microscopia eletrônica de transmissão.

Detectaram alterações no complexo de Golgi, desorganização da cromatina nuclear e sinais de lise celular.

O extrato etanólico de *V. ferruginea* avaliado neste estudo apresentou atividade tripanocida com $IC_{50} = 34,32 \mu\text{g/mL}$. Não há relatos de atividade desta espécie vegetal contra *T. cruzi*, até o presente estudo. Marques e colaboradores (2013) relatam em um estudo de *screening* que o extrato etanólico das folhas e caule *V. ferruginea* foram ativos para *Leishmania amazonensis*. Há relatos de outras atividades, como anti-inflamatória e anti-ulcerogênica (BARBASTEFANO, 2007).

O extrato etanólico das sementes de *Guarea kunthiana* apresentou atividade tripanocida com $IC_{50} = 41,45 \mu\text{g/mL}$. Há relatos de atividade leishmanicida atribuída aos componentes isolados de *G. kunthiana* (LIMA, 2006) e inseticida dos extratos das folhas (PANDINI *et al.*, 2015).

Do extrato bruto das folhas de *Guarea kunthiana*, foram isolados diterpenos, sesquiterpenos, poliprenol e α - e δ - tocoferóis (GARCEZ *et al.*, 2004). Duas espécies da família Meliaceae, *G. guidonia* (sementes) conhecida popularmente por Taúva e *G. polymera* (folhas) nominada por Bombaça-da-terra, apresentaram atividade antiprotozoário quando foram avaliadas com relação a seus efeitos *in vitro* sobre *Leishmania* spp, *Plasmodium falciparum* e *T. cruzi* (cepa Tulahuem) (WENIGER *et al.*, 2001).

Embora a literatura relate a atividade tripanocida para espécies do gênero Combretum (*C. leprosun*) e Aspidosperma (*A. macrocarpum*), os extratos de *C. lanceolatum* e *A. verbascifolium* avaliados no presente trabalho não se mostraram ativos frente a formas epimastigotas de *T. cruzi*.

O presente estudo não detectou atividade biológica do extrato etanólico das folhas de *Bowdichia virgilioides* sobre *T. cruzi*, entretanto estudos utilizando as sementes da planta indicaram atividade contra as formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (MARQUES *et al.*, 2013; GARCEZ *et al.*, 2016).

O extrato etanólico das partes aéreas de *Momordica charantia* não apresentou atividade contra as formas epimastigotas de *T. cruzi* cepa Dm28c, entretanto na contagem dos parasitos para o teste de inibição do crescimento, observou-se que morfológicamente os protozoários apresentaram moderada turgidez no tratamento com concentrações maiores que $6,25 \mu\text{g/mL}$.

Todavia nos estudos de MESIA e colaboradores 2008 e SANTOS e colaboradores 2012 detectaram atividade tripanocida para *T. cruzi*. Haja vista que as cepas utilizadas, período de coleta bem como a parte da planta analisada podem ser responsáveis por determinar tais diferenças (SOUZA *et al.*, 2011). O mesmo extrato etanólico das partes aéreas apresentou atividade contra as formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* com $IC_{50} = 6,25 \mu\text{g/mL}$ (MARQUES *et al.*, 2013; GARCEZ *et al.*, 2016).

Os resultados obtidos sugerem a realização de estudos futuros para determinar o perfil químico das partes de *A. trinervis*, de modo a se verificar se os butanolídeos e lignanas obtidos das outras partes da planta (GARCEZ *et al.*, 2005) estão também presentes nos frutos, o que os tornaria potenciais candidatos a responsáveis pela atividade tripanocida. Estes dados podem subsidiar estudos químicos biomonitorados a serem conduzidos por meio dos frutos desta espécie.

Com relação à *G. kunthiana*, os protolimonoides e/ou limonoides ocorrentes nas sementes desta espécie (MIGUITA *et al.*, 2014) podem ser responsáveis pela atividade do extrato. Assim, estudos posteriores sobre a avaliação de suas respectivas atividades tripanocidas devem, portanto, ser realizados, visando à descoberta de novos agentes antichagásicos.

Da mesma forma, a investigação química das folhas de *V. ferruginea* por meio de fracionamento biomonitorado, para se isolar e caracterizar a(s) substância (s) mais ativa (s), também deve ser pesquisado.

Os compostos bioativos isolados das espécies supracitadas podem ser úteis na busca por novos agentes naturais antichagásicos mais efetivos e biodegradáveis.

7. CONCLUSÕES

- No presente estudo, os extratos etanólicos de *Aiouea trinervis* (frutos), *Vernonia ferruginea* (folha) e *Guarea kunthiana* (sementes) apresentaram atividade tripanocida frente à forma epimasigota de *T. cruzi*;

- O extrato etanólico de *Aiouea trinervis* apresentou melhor resultado;

- O percentual de inibição do crescimento é uma boa ferramenta auxiliar adotada para este estudo, quantificando os parasitos nas diferentes concentrações dos extratos vegetais avaliados;

- Concluiu-se que o DMSO como solvente solubilizante na concentração de 1% não interfere na viabilidade nem no crescimento dos parasitos;

- O teste colorimétrico do MTT como ferramenta de triagem dos extratos vegetais demonstrou eficácia permitindo a identificação por meio da IC₅₀ no bioensaio proposto.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, F.; NAGAFUJI, S.; YAMAUCHI, T.; OKABE, H.; MAKI, J.; HIGO, H.; AKAHANE, H.; AGUILAR, A.; JIMÉNEZ-ESTRADA, M.; and REYES-CHILPA, R. Trypanocidal constituents in plants 1. Evaluation of some Mexican plants for their trypanocidal activity and active constituents in guaco, roots of *Aristolochia taliscana*. **Biology Pharmacology Bulletin**, v. 25, n. 9, p. 1188-1191, 2002.

ABOSI, A. O.; RASEROKA, B. H. In vivo antimalarial activity of *Vernonia amygdalina*. **British Journal of Biomedical Science**, v. 60, p. 89-91, 2003.

ABREU, A. S. BARBOSA, P. S.; MÜLLER, A. H.; GUILHON, G. M. S. P. Constituintes químicos do caule e das cascas do caule de *Croton pullei* var *Glabrior* (Euphorbiaceae). **Revista Virtual de Iniciação Científica**, UFPA, v. 1, n. 2, p. 1-9, 2001.

ACQUATELA, H. Echocardiography in Chagas heart disease. **Circulation Journal of the American Heart Association**, Dallas, v. 115, p. 1124-1131, 2007.

AGRIPINO, D. G.; LIMA, M. E. L.; SILVA, M. R. S.; MEDAM C. I.; BOLZANI, V. S.; CORDEIRO, I.; YOUNG, M. C. M.; MORENO, P. R. H. Screening of Brazilian plants for antimicrobial and DNA damaging activities. I. Atlantic rain forest-Ecological Station Juréia-Itatins. **Biota Neotropica**, v.4, n. 2, p. 1-15, 2004.

AGUILAR, H. M.; ABAD-FRANCH, F.; DIAS, J. C. P.; JUNQUEIRA, A. C.V.; COURA, J. R. Chagas disease in the Amazon Region. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, p. 47-55, 2007.

ALBUQUERQUE, K. S.; GUIMARÃES, R. M. Avaliação da qualidade de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth) pelo teste de raios x. **Ciência Agrotecnologia Lavras**, v. 32, n. 6, p. 1713-1718, 2007.

ALCÂNTARA, J. M.; YAMAGUCHI, K. K.; VEIGA JUNIOR, V. F.; LIMA, E. S. Composição química de óleos essenciais de espécies *Aniba* e *Licaria* e suas atividades antioxidante e antiagregante plaquetária. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 141-145, 2010.

ALMEIDA, G. DEMATTEIS, M. *Centratherum* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabor/floradobrasil/FB111110>. Acesso em 02 de nov. 2015.

ALMEIDA, I. B. **Atividade protozoicida do extrato etanólico e do lupano e seus derivados semi-sintéticos isolados dos frutos de *Combretum leprosum* contra *Leishmania (V.) braziliensis*, *Leishmania (V.) guyanensis* e *Trypanosoma cruzi***. Dissertação (Mestrado em Biologia Experimental) Núcleo de Saúde (NUSAU). Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental, Fundação Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, 2011.

ALMEIDA, J. R. G. S.; SILVA-FILHO, R. N.; NUNES, X. P.; DIAS, C. S.; PEREIRA, F. O.; LIMA, E. O. Antimicrobial activity of the essential oil of *Bowdichia virgilioides* Kunth. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, p. 638-641, 2006.

ALMEIDA, M. R.; LIMA, A. J.; SANTOS, N. P.; PINTO, A. C. Pereirina: o primeiro alcaloide isolado no Brasil? **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 942-952, 2009.

ALVES, C. R.; ALBUQUERQUE-CUNHA, J. M.; MELLO, C. B.; GARCIA, E. S.; NOGUEIRA, N. F.; BOURGUINGNON, S. C.; DE SOUZA, W.; AZAMBUJA, P.; GONZALES, M. S. *Trypanosoma cruzi*: attachment to perimicrovillar membrane glycoproteins of *Rhodnius prolixus*. **Experimental Parasitology**, v. 116, p. 44-52, 2007.

ALVES, F. M.; ISHII, I.H. Lauraceae no município de Corumbá, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Rodriguésia**, v. 58, p. 179-192, 2007.

AMANIAN, R. S.; BRINDHA, P. *In vitro* cytotoxic, antioxidant and GC-MS studies *Centratherum punctatum* Cass. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 3, p. 364-367, 2013.

ANDRADE, J. P.; MARIN-NETO, J. A; PAOLA, A. A.; VILAS-BOAS, F.; OLIVEIRA, G. M.; BACAL, F.; BOCCHI, E. A.; ALMEIDA, D. R.; FRAGARA FILHO, A. A.; MOREIRA, M. C.; XAVIER, S. S.; OLIVEIRA JUNIOR, W. A.; DIAS, J. C. I Diretriz Latino Americana para o diagnóstico e tratamento da cardiopatia chagásica. Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 97, n. 2, Suppl. 3, p. 66-782, 2011.

APT, W.; ARRIBADA, A.; ZULANTAY, I.; SOLARI, A.; SÁNCHEZ, G.; MUNDACA, K.; CORONADO, X.; RODRÍGUEZ, J.; GIL, L. C.; OSUNA, A. Itraconazole or allopurinol in the treatment of chronic American Trypanosomiasis: the results of clinical and parasitological examinations 11 years post-treatment. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 99, n. 8, p. 733-741, 2005.

APT, W. Current and developing therapeutic agents in the treatment of Chagas disease. **Drug Design, Development and Therapy**, Review, v. 4, p. 243-253, 2010.

ARARIPE, J. R.; CUNHA E SILVA, N. L.; LEAL, S. T.; DE SOUZA, W.; RONDINELLI, E. *Trypanosoma cruzi*: TcRAB 7 protein is localized at the Golgi apparatus in epimastigotes. **Biochemistry Biophysical Research Communications**, v. 321, p. 397-402, 2004.

ARAÚJO, A. C. R. **Estudo fitoquímico e avaliação das atividades alelopáticas, antioxidantes, antilarvicida e citotoxicidade das folhas de *Ocotea pulchella* Mart. (Lauraceae)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná- UFPR, 2012.

ÁRVORES DO BRASIL. **Informações e estudos sobre árvores nativas do brasileiras.** Disponível em:

<http://www.arvores.brasil.nom.br/new/sangradagua/index.htm>.2010. Acesso em 12 jul. 2105.

ARRIAGA, A. M. C.; GOMES, G. A.; BRAZ-FILHO, R. Constituents of *Bowdichia virgilioides*. **Fitoterapia**, v. 71, p. 211-212, 2000.

AUFDERHEIDE, A. C.; SALO, W.; MADDEN, M.; STREITZ, J.; BUIKSTRA, J.; GUHL, F.; ARRIAZA, B.; RENIER, C.; WITTMERS, L. E.; JR, G. F.; ALLISON, M. A 9,000-year record of Chagas disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the States of America**, Washington, v. 101, n. 7, p. 2034-2039, 2004.

BAITELLO, J. B. Novas espécies de Lauraceae para a Flora brasileira. **Acta Botanica Brasilica**, v. 15, n. 3, p. 445-450, 2001.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oil: a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.

BARBASTEFANO, V. **Atividade antiulcerogênica de extratos brutos, frações semi-purificadas e substância ativa de duas espécies do gênero *Vernonia*: *Vernonia polyanthes* e *Vernonia ferruginea***. Tese (Doutrado em Biologia Funcional e Molecular) Programa de Pós-Graduação em Biologia Funcional e Molecular. Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP, Instituto de Biologia, 2007.

BARBOSA-FILHO, J. M.; ALMEIDA, J. R. G. S.; COSTA, V. C. O.; DA-CUNHA, E. V. L.; SILVA, M. S.; BRAZ-FILHO, R. Bowdichine, a new diaza-adamantane alkaloid from *Bowdichia virgilioides*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 6, p. 11-17, 2004.

BARBOSA, M. B.; FARIA, M. G. T. Produtos naturais como alternativa terapêutica para o tratamento da Candidíase bucal. **Revista UNINGÁ**, v. 20, n.1, p. 103-107, 2014.

BARRACA, S. A. Relatório do estágio supervisionado produção vegetal II: **Manejo e produção de plantas medicinais e aromáticas**. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Departamento de Produção Vegetal, Universidade de São Paulo, 1999.

BARATA-SILVA, A. W.; MACEDO, R. L. G.; GOMES, J. E. Potencial de utilização de espécies arbóreas medicinais no Rio Grande do Sul. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, ano III, n. 6, 2005.

BARRET, M. P.; BURCHMORE, R. J.; STICH, A.; LAZZARI, J. O.; FRASCH, A. C.; CAZZULLO, J. J.; KRISHNA, S. The trypanosomiasis. **Lancet**, v. 362, n. 1, p. 1469-1480, 2003.

BARROS, M. P.; INNOCENTE, A. M.; SILVA, G. N. S.; DUARTE, M.; VUNDA, S. L. L.; TASCA, T. Mecanismos específicos de patogenicidade de protozoários intracelulares: *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania* spp., *Toxoplasma gondii* e *Plasmodium* spp. **Revista Liberato**. Novo Hamburgo, v. 13, n. 20, p. 01-20, 2012.

BEGUN, S.; AHMED, M.; SIDDIQUI, B. S.; KHAN, A.; SAIFAY, Z. S.; ARIF, M. Triterpenes, a sterol and monocyclic alcohol from *Momordica charantia*. **Phytochemistry**, v. 44, n. 7, p. 1313-1320, 1997.

BERN, C Antitrypanosomal therapy for chronic Chagas' disease. Review. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 364, n. 26, p. 2527-2534, 2011.

BOHRER, H. R.; MIRANDA, M. L. D.; GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S. Estudo químico das folhas de *Vernonia rubricaulis* Humb. & Bonpl. (Asteraceae): uma espécie tóxica para o gado. **Sociedade Brasileira de Química**, 37^o Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Natal-RN, 2014.

BOLZANI, V. S.; YOUNG, M. C. M.; FURLAN, M.; CAVALHEIRO, A. J.; ARAÚJO, A. R.; SILVA, D. H. S.; LOPES, M. N. Secondary metabolites from Brazilian Rubiaceae plant species: chemotaxonomica and biological significance. **Recent Research Developments in Phytochemistry**, v. 5, p. 19- 31, 2001.

BORLAUG, N.; E. Feeding a world of 10 billion people: the miracle ahead. In: R. Bailey. **Global warming and other eco-myths**. Competitive Enterprise Institute, Roseville, EUA, 2002, p. 29-60.

BORTOLOTTI, I. M.; GUARIM NETO, G. **Conservação da natureza em uma escola rural do distrito de Albuquerque para a educação no contexto da etnobotânica**. 1998. Disponível em: <http://www.ufmt.br/revista/arquivo/rev11/conservacao-da-natureza.html>. Acesso em: 06 nov. 2015.

BRAEKMAN, J. C.; HOOTELE, C.; VAN MOORLEGHEM, C.; KAISIN, M.; PECHER, J.; ANTOACCIO, L. D.; GILBERT, B. Indole alkaloids XVII five dihydroindole from *Aspidosperma verbacifolium*. **Bulletin des Societes Chimiques**, v.78, p. 63-68, 1969.

BRAGA, F. C.; BOUZADA, M. L. M.; FABRI, R. L.; MATOS, M. O.; MOREIRA, F. O.; SCIO, E.; COIMBRA, E. S. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 396-402, 2007.

BRANDÃO, M. G. L.; GRANDI, T.; ROCHA, E.; SAWER, D.; KRETTLI, A. Survey of medicinal plants used as antimalarials in the Amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 36, p. 175-182, 1992.

BRANDÃO, H. N.; DAVID, J. P.; COUTO, R. D.; NASCIMENTO, J. A. P.; DAVID, J. M. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1359-1369, 2010.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC n. 10 de 9 de março de 2010**. Diário Oficial da União. Seção 1. P. 52-59, Brasília, DF: ANVISA, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Doença de Chagas aguda no Brasil: série histórica de 2000 a 2013**. Boletim Epidemiológico, v. 46, n. 21, p. 1-9, 2015. Disponível em: <http://www.portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2015/agosto/03/2014-020.pdf>. Acesso em: 12 dez. 2015.

BRAZILIAN BUTTON FLOWER. Disponível em: <http://www.flickrriver.com/photos/tags/centratherumpunctatum/interesting.2014>. Acesso em: 11 nov. 2015.

BRENER, Z. **Terapêutica experimental na doença de Chagas**. In Brener, Z.; Andrade, Z. A.; Barral-Neto, M. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas, 2 ed, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 379-388, 2000.

BRENER, Z.; GAZZINELLI, R. T. Immunological control of *Trypanosoma cruzi* infection and pathogenesis of Chagas' disease. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 114, p. 103-110, 1997.

BROTTO, M. L.; SANTOS, E. P.; BAITELLO, J. B. Lauraceae no morro dos perdidos (Floresta Atlântica), Paraná, Brasil. **Rodriguésia**, v. 60, n. 2, p. 445-459, 2009.

BRUM, K. B.; PURISCO, E., LEMOS, R. A. A.; RIET-CORREA, F. Intoxicação por *Vernonia rubricaulis* em bovinos no Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 22, n. 3, p. 119-128, 2002.

BUENO, N. R.; CASTILHO, R. O.; COSTA, R. B.; POTT, A.; POTT, V. J.; SCHEIDT, G. N.; BATISTA, M. S. Medicinal plants used by the Kaiowá and Guarani indigenous populations in the Caarapó reserve, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Acta Botânica**, v. 9, n. 1, p. 39-44, 2005.

BUSKUHL, H.; FREITAS, R. A.; DELLE MONACHE, F.; BARISON, A.; CAMPOS, F. R.; CORILO, Y.; EBERLIN, M. N.; BIAVATTI, M. W. A new polyacetylene from *Vernonia scorpioides* (Lam.) Pers. (Asteraceae) and its *in vitro* antitumoral activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 7, p. 1327-1333, 2009.

CABRAL, E. L. **Revisión del género *Galianthe* (Rubiaceae-Spermococeae)**. In: 52º Congresso Nacional de Botânica. João Pessoa- Paraíba, Brasil, p. 22-27, 2001.

CABRAL, E. L. Revisión Sinóptica de "Galianthe" subgen. *Galianthe* (Rubiaceae: Spermococeae), com uma sección. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 96, n. 1, p. 27-60, 2009.

CABRAL, M. M. O.; BARBOSA-FILHO, J. M.; MAIA, G. L. A.; CHAVES, M. C. O.; BRAGA, M. V.; DE SOUZA, W.; SOARES, R. O. A. Neolignans from plants in northeastern Brazil (Lauraceae) with activity against *Trypanosoma cruzi*. **Experimental Parasitology**, v. 124, p. 319-324, 2010.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Disponível em: <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx.2015>. Acesso em: 02 fev. 2015.

CAMARGO, E. P. Growth and differentiation in *Trypanosoma cruzi*. I- Origin of metacyclic trypomastigotes in liquid media. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 6, p. 93-100, 1964.

CAMPOS, A. R.; LIMA, R. C.JR.; UCHOA, D. E. A.; SILVEIRA, E. R.; SANTOS, F. A.; RAO, V. S. N. Pro-erectile effects of an alkaloidal rich fraction from *Aspidosperma ulei* root bark in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 104, p. 240-244, 2006.

CAMPOS, M. C. O.; SALOMÃO, K.; CASTRO-PINTO, D. B.; LEON, L. L.; BARBOSA, H. S.; MACIEL, M. A. M.; CASTRO, S. L. *Croton cajucara* crude extract and isolated terpene: activity on *Trypanosoma cruzi*. **Parasitology Research**, v. 107, p. 1193-1204, 2010.

CANÇADO, J. R. Long term evaluation of etiological treatment of Chagas disease with Benznidazole. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 44, n. 1, p. 29-37, 2002.

CARVALHO, A. M. R. **Estudo da atividade antinociceptiva e antiinflamatória da riparina II (O-Metil-N-2-Hidroxi-Benzoil Tiramina) em modelos experimentais**. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina, Fortaleza, 2011.

CASTILHO, D.; AREVALO, J.; HERRERA, F.; RUIZ, C.; ROJAS, R.; RENGIFO, E.; VAISBERG, A.; LOCK, O.; LEMESTRE, L. J.; GORNITZKA, H.; SAUVAIN, M. Spirolactone iridoids might be responsible for the antileishmanial activity of a Peruvian traditional remedy made with *Himatanthus sucuuba* (Apocynaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, p. 410-414, 2007.

CATÃO, R. M. R.; BARBOSA-FILHO, J. M.; GUTIERREZ, S. J. C.; LIMA, E. D. O.; PEREIRA, M. D. S. V.; ARRUDA, T. A. D.; ANTUNES, R. M. P. Avaliação da atividade antimicrobiana de Riparinas sobre cepas resistentes de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* multirresistentes. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 37, n. 4, p. 247-249, 2005.

CAVALCANTI, D. P.; SHIMADA, M. K.; PROBST, C. M.; PADRÓN-SOUTO, T. C. B. S.; DE SOUZA, W.; GOLDENBERG, S.; FRANGOSO, P. S.; MOTTA, M. C. M. Expression and subcellular localization of kinetoplast associated proteins in the different developmental stages of *Trypanosoma cruzi*. **BMC Microbiology**, v. 4, n. 9, p. 120, 2009.

CLAYTON, J. Chagas disease 101. **Nature**, p. S4-S5, 2010. Disponível em: <http://www.nature.com/outlooks>. Acesso em: 11 set. 2015.

CHAGAS, C. Nova tripanossomíase humana. Estudos sobre morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp. agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.1, p. 159-218, 1909. Disponível em: [www.scielo.br/pdf/mioc/v1n2/tomo01\(f2\)_159-218.pdf](http://www.scielo.br/pdf/mioc/v1n2/tomo01(f2)_159-218.pdf). Acesso em: 24 out. 2015.

CHEN, C. R.; LIAO, Y. W.; WANG, L.; KUO, Y. H.; LIU, H. J.; SHIH, W. L.; CHENG, H. L.; CHANG, C. I. Cucurbitane triterpenoids from *Momordica charantia* and their cytoprotective activity in ter-butyl hydroperoxide- induced hepatotoxicity of HepG2 cells. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 58, p.1639-1642, 2010.

CONTRERAS, V. T.; SALES, J. M.; THOMAS, N.; MOREL, C. M.; GOLDENBERG, S. In vitro differentiation of *Trypanosoma cruzi* under chemically defined conditions. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 16, p. 315-327, 1985.

COURA, J. R.; DE CASTRO, S. L. A critical review on Chagas disease chemotherapy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, p. 3-24, 2002.

COURA, J. R. **Síntese das doenças infecciosas e parasitárias**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 14-18, 2008.

COURA, J. R.; BORGES-PEREIRA, J. Chagas disease: 100 years after its Discovery. A systemic review. **Acta Tropica**, v. 115, p. 5-13, 2010.

COURA, J. R.; VIÑAS, P. A.; Chagas disease: a new worldwide challenge. **Nature**, p. S6-S7, 2010. Disponível em: <http://www.nature.com./outlooks>. Acesso em: 07 nov. 2015.

CUNHA, W. R.; CREVELIN, E.J.; ARANTES, G. M.; CROTTI, A. E. M.; ANDRADE E SILVA, M. L.; FURTADO, N. A. J.; ALBUQUERQUE, S.; FERREIRA, D. S. A study of the trypanocidal activity of triterpene acids isolated from *Miconia* Species. **Phytotherapy Research**, v. 20, p. 474-478, 2006.

DECHANDT, C. R. P. SIQUEIRA, J. T.; SOUZA, D. L. P.; ARAUJO, L. C. J.; SILVA, V. C.; SOUSA-JUNIOR, P. T.; ANDRADE, C. M. B.; KAWASHITA, N. H.; BAVIERA, A. M. *Combretum lanceolatum* flowers extracts shows antidiabetic activity through activation of AMPK by quercetin. **Brazilian Journal of Pharmacology**, v. 23, n. 2, p. 291-300, 2013.

DEL VITTO, L. A.; PETENATTI, E. M.; PETENATTI, M. E. Recursos herbolarios de San Luis (Republica Argentina). Primeira parte: Plantas Nativas. Multequina. **Latin American Journal of Natural Resources**, v. 6, p. 49-66, 1997. Disponível em: <http://www.redalyc.org/pdf/428/428006606.pdf>. Acesso em: 27 jul. 2015.

DE SOUZA, W. Basic cell biology of *Trypanosoma cruzi*. **Current Pharmaceutical Desing**, v. 8, p. 269-285, 2002.

DE SOUZA, W. Structural organization of *Trypanosoma cruzi*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 89-100, 2009.

DE SOUZA, W., CARVALHO, T. M. U.; BARRIAS, E. S. Review on *Trypanosoma cruzi*: host cell interaction. **International Journal of Cell Biology**, p. 1-18, 2010.

DEHARO, E.; BOURDY, G.; QUENEVO, C.; MUNOZ, V.; RUIZ, G.; SAUVAIN, M. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary

approach. Part V. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the *Tacanaí indians*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 77, p. 91-98, 2001.

DIAS, J. L. P. Doença de Chagas e transfusão de sangue no Brasil: vigilância e desafios. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, Brasil, v. 28, p. 81-87, 2006.

DIAS, J. L. P. Notas sobre o *Trypanosoma cruzi* e suas características bioecológicas, como agentes de enfermidade transmitida por alimentos. Artigo de revisão. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 4, p. 370-375, 2006.

DIAS, L. C.; DESSOY, M. A.; SILVA, J. J. N.; THIEMANN, O. H.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D. Quimioterapia da doença de Chagas: estado da arte e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2444-2457, 2009.

DI STASI, L. C.; OLIVEIRA, G. P.; CARVALHAES, M. A.; QUEIROZ-JUNIOR, M.; TIENI, O. S.; KAKINAMI, S. H.; REIS, M. S. Medicinal plants popularly used in the Brazilian Tropical Atlantic Forest. **Fitoterapia**, v. 73, p. 69-91, 2002.

DUTTA, A.; BANDYOPADHYAY, S.; MANDAL, C.; CHATTERJEE, M. Development of modified MTT assay for screening antimonial resistant field isolates of Indian visceral leishmaniasis. **Parasitology International**, v. 54, p. 119-122, 2005.

ELIAS, M. C.Q B.; MARQUES-PORTO, R.; FREYMÜLLER, E.; SCHENCKMAN, S. Transcription rate modulation through the *Trypanosoma cruzi* life cycle occurs in parallel with changes in nuclear organization. **Molecular, Biochemical & Parasitology**, v. 112, p. 79-90, 2001.

EMBRAPA. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. Disponível em: <http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/BP66.pdf>. 2006. Acesso em: 20 nov. 2015.

ENDRESS, M. E.; BRUYNS, P. V. A revised classification of the Apocynaceae s. l. **Botanical Review**, v. 66, p. 1-51, 2000.

FACUNDO, V. A.; RIOS, K. A.; MEDEIROS, C. M.; MILITÃO, J. S. L. T.; MIRANDA, A. L. P.; EPIFANIO, R. A.; CARVALHO, M. P.; ANDRADE, A. T.; PINTO, A. C.; REZENDE, C. M. Arjunolic Acid in the ethanolic extract of *Combretum leprosum* root and its use as a potential multi-functional phytomedicine and drug for neurodegenerative disorders: anti-inflammatory and anticholinesterasic activities. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6B, p. 1309-1312, 2005.

FERNANDES, L. M. **Avaliação da atividade genotóxica de extrato e do alcaloide indol-monoterpênico obtidos das raízes de *Galianthe thalictroides* (Rubiaceae)**. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste). Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Faculdade de Medicina, Campo Grande, 2011.

FERNANDES, L. M.; GARCEZ, W. S.; MANTOVANI, M. S.; FIGUEIREDO, P. O.; FERNANDES, C. A.; GARCEZ, F. R.; GUTERRES, Z. R. Assessment of the in vitro and in vivo genotoxicity of extracts and indole monoterpene alkaloid from the roots of *Galianthe thalictroides* (Rubiaceae). **Food and Chemical Toxicology**, v. 59, p. 405-411, 2013.

FILARDIS, L. S.; BRENER, Z. Susceptibility and natural resistance of *Trypanosoma cruzi* strains to drug used clinically in Chagas disease. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 81, n. 5, p.755-759, 1987.

FILHO, A. A. F.; CORREIA, E. B.; FILHO, R. B.; VASCONCELOS, M. O.; JANCZUK, D.; MARTINS, C. S. S. Sequência de transmissões não habituais da infecção chagásica em uma mesma família: transfusional para a mãe e congênita para o filho, de cepa *Trypanosoma cruzi* resistente ao tratamento. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasil, v. 41, p. 73-75, 2008.

FIGUEIREDO, P. O. **Estudo químico das raízes de *Galianthe thalictroides* (Rubiaceae) guiado pela atividade citotóxica *in vitro* frente a linhagens de células tumorais**. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste) Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, UFMS, Campo Grande, MS, 2010.

FIGUEIREDO, R. C.; ROSA, D. S.; SOARES, M. J. Differentiation of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes: metacyclogenesis and adhesion to substrate are triggered by nutritional stress. **Journal Parasitology**, v. 86, p. 1213-1218, 2000.

FRESHNEY, I. R. **Culture of animal cells a manual of basic technique**. 5thed. New York: Wiley-Liss, 2005.

GALVÃO, C.; CARCAVALLO, R.; ROCHA, D. S.; JURBERG, J. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera: Reduviidae) and their geographical distribution with nomenclatural and taxonomic notes. **Zootaxa**, v. 202, p. 1-36, 2003.

GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; MARTINS, M.; MATOS, M. F. C.; GUTERRES, Z. R.; MANTOVANI, M. S.; MISU, C. K.; NAKASHITA, S. T. Cytotoxic and genotoxic butanolides and lignans from *Aiouea trinervis*. **Planta Medica**, v. 71, p. 923-927, 2005.

GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; SILVA, A. F. G.; BAZZO, R. C.; RESENDE, U. M. Terpenoid constituents from leaves of *Guarea kunthiana*. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 15, n.5, p. 767-772, 2004.

GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; SANTANA, A. L. B. D.; ALVES, M. M.; MATOS, M. F. C. Bioactive flavonoids and triterpenes from *Terminalia fagifolia*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 17, n.7, p. 1223-1228, 2006.

GARCEZ, F. R.; SILVA, A. F. G.; GARCEZ, W. S.; LINCK, G.; MATOS, M. F. C.; SANTOS, E. C. S.; QUEIROZ, L. M. M. Cytotoxic aporphine alkaloids from *Ocotea acutifolia*. **Planta Medica**, v. 77, n. 4, p. 383-387, 2011.

GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; YOSHIDA, N. C.; FIGUEIREDO, P. O. A diversidade dos constituintes químicos da flora de Mato Grosso do Sul e sua relevância como fonte de substâncias bioativas. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, 2016. No prelo.

GARCIA, C. S.; PADOVANI, C. T. J. **Perfil proteico de epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* após tratamento *in vitro* com extratos vegetais.** In: ENCONTRO ANUAL DE PESQUISA DO PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (PIBIC), Campo Grande. UFMS, 2015.

GASCON, J.; BERN, C.; PINAZO, M. J. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. **Acta Tropica**, v. 115, p. 22-27, 2010.

GOLDENBERG, S.; CONTRERAS, V. T.; SALLES, J. M.; BONALDO, M. C.; FRANCO, M. P. A. L.; LINSS, J.; LAFAILLE, J.; VALLE, D.; MOREL, C. M. Facts and Hypothesis on *Trypanosoma cruzi* differentiation. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 79, p. 39-44, 1984.

GONTIJO, E. D.; ANDRADE, G. M. Q.; SANTOS, S. E.; GALVÃO, L. M. C.; MOREIRA, E. F.; PINTO, F. S.; DIAS, J. C. P.; JANUÁRIO, J. N. Triagem neonatal da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* em Minas Gerais, Brasil: transmissão congênita e mapeamento das áreas endêmicas. **Revista de Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 18, n. 3, p. 243-245, 2009.

GRAGG, G. M.; NEWMAN, D.; J. Biodiversidade: um componente essencial na descoberta de novos fármacos. In: YUNES, R.; A.; FILHO CECHINEL, V. (Org.). **Química de produtos naturais novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 4. ed. Itajaí: UNIVALI, p. 55-83. 2014.

GROVER, J. K.; YADAV, S.; VATS, V. Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 81, p. 81-100, 2002.

GROVER, J. K.; YADAV, S. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, p. 123-132, 2004.

GUPTA, D.; BLEKLEY, B.; GUPTA, R. K. Dragon's blood: botanic, chemistry and therapeutic use. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 115, p. 361-380, 2008.

GUPTA, S.; RAYCHAUDHURI, B.; BANERJEE, S.; DAS, B., MUKHOPADHAYA, S.; DATTA, S. C. Momordicatin purified from fruits of *Momordica charantia* is effective to act as a potent antileishmania agent. **Parasitology International**, v. 59, p. 192-197, 2010.

GURGEL, L. A.; SIDRIM, J. J. C.; MARTINS, D. T.; CHECINEL FILHO, V.; RAO, V. S. In vitro antifungal activity of dragon's blood from *Croton urucurana* against dermatophytes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 409-412, 2005.

GUTERRES, Z. R.; GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W.; SILVA, L.M. G. E.; SILVA, A. F. G.; DUARTE, C. U. N. B. D.; BATISTA-SILVA, V. F. Evaluation of the genotoxic activity of ethanol extract and secondary metabolites isolated from *Aiouea trinervis* Meisn. (Lauraceae). **Genetics and Molecular Research**, v. 13, p. 972-979, 2014.

HANNAERT, V.; BRINGAUD, F.; OPPERDOES, F. R.; MICHELS, P. A. Evolution of energy metabolism and its compartimentation in Kinetoplastida. **Kinetoplastida Biology and Disease**, p. 2-11, 2003.

HATTORI, E. K. O.; NAKAJIMA, J. N. A. A família Asteraceae na estação de pesquisa e desenvolvimento ambiental galheiros, Perdizes, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 59, n. 4, p. 687-749, 2008.

HENRIKSSON, E.; KJELLÉN, E.; WAHLBERG, P., WENNERBERG, J.; KJELLSTROM, J. H. Differences in estimates of cisplatin-induced cell kill in vitro between colorimetric and cell count/ colony assays. **In vitro Cellular & Developmental Biology – Animal**, v. 42, n. 10, p. 320-323, 2006.

HENRIQUES, A. T.; LIMBERGER, R. P.; KERBER, V. A.; MORENO, P. R. H. **Alcalóides: generalidades e aspectos básicos**. In: SIMÕES, C. M. O.; SCKENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. L. P.; MENTZ, L. A.; PETROCİK, P. R. (Org.) *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5 ed. Porto Alegre/Florianópolis. Editora da UFSC, p. 765-792, 2004.

HUBÁLEK, Z. **Protectants used in the cryopreservation of microorganisms**. *Cryobiology*, New York, v. 46, p. 205-229, 2003.

KEPLINGER, K.; LAUS, G.; WURN, M.; DIERICH, M. P.; TEPPNER, H. *Uncaria tomentosa* (Willd) D.C – Ethnomedicinal use and new pharmacological, toxicological and botanical results. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 64, p. 23-24, 1999.

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. **Plantas Infestantes e nocivas**. 2 ed. BASF, São Paulo, v. 2, p. 978, 1999.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. **A conservação do cerrado brasileiro**. *Megadiversidade*, v. 1, n.1, p. 147-155, 2005.

KUMAR, D. S.; SARATHNATH, P.; YOGESWARA, A.; HARANI, K.; SUDHAKAR, P.; SUDHA, D. B. A medicinal potency of *Momordica charantia*. **Internacional Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 1, n. 2, p. 95-100, 2010.

LEWIS, G. P.; SCHRIRE, B.; MACHINDER, R.; LOCK, M. Legumes of the world. Kew: **Royal Botanic Gardens**, p. 577, 2005.

LIMA, H. C.; QUEIROZ, L. P.; MORIM, M. P.; SOUZA, V. C.; DUTRA, V. F.; BORTOLUZZI, R. L. C.; IGANCI, J. R. V.; FORTUNATO, R. H.; VAZ, A. M. S. F.; SOUZA, E. R.; FILARDI, F. L. R.; VALLS, J. F. M.; GARCIA, F. C. P.; FERNANDES, J. M.; MARTINS-DA-SILVA, R. C. V.; PEREZ, A. P. F.; MANSANO, V. F.; MIOTTO, S. T. S.; TOZZI, A. M. G. A.; MEIRELES, J. E.; LIMA, L. C. P.; OLIVEIRA, M. L. A. A.; FLORES, A. S.; TORKE, B. M.; PINTO, R. B.; LEWIS, G. P.; BARROS, M. J. F.;

SCHÜTL, R.; PENNINGTON, T.; KLITGAARD, B. B.; RANDO, J. G.; SCALON, V. R.; CARDOSO, D. B. O. S.; COSTA, L. C.; SILVA, M. J.; MOURA, T. M.; BARROS, L. A. V.; SILVA, M. C. R. QUEIROZ, R. T.; SARTORI, A. L. B.; CAMARGO, R. A.; LIMA, I. B. Fabaceae. *In*: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2013. Disponível em:<http://www.floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB115>. Acesso em 10 ago. 2015.

LIMA, R. C. **Limonóide de *Guarea kunthiana* com potencial leishmanicida**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde), Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

LING, S. K.; LOMORITA, A.; TANAKA, T.; FUJIOKA, T.; MIHASHI, K.; KOUNO, I. Iridoids and anthraquinones from the Malaysian medicinal plant, *Saprosma scortechinii* (Rubiaceae). **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 50, n. 8, p. 1035-1040, 2002.

LIRA, S. R. D.; ALMEIDA, R. N.; ALMEIDA, F. R. C.; OLIVEIRA, F. S.; DUARTE, J. C. Preliminary studies on the analgesic properties of the ethanol extract of *Combretum leprosum*, **Pharmaceutical Biology**, v. 40, p. 213-215, 2002.

LIU, B.; LIU, Y.; MOTYKA, S. A.; AGDO, E. E. C.; ENGLUND, P. T. Fellowship o the rings: the replication of Kinetoplast DNA. **Trends Parasitology**, v. 21, n.8, p. 363-369, 2005.

LORENZI, H. **Árvores Brasileira: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, v. 2, p. 358, 1992.

LORENZI, H. **Árvores Brasileira: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. 4 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, v. 1, p. 368, 2002.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. 2 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, p. 576, 2008.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; TORRES, M. A. V.; BACHER, L. B. **Árvores exóticas no Brasil madeireiras, ornamentais e aromáticas**. 2 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, p. 368, 2003.

LUCA, V.; PIERRE, B. S. The cell and developmental biology of alkaloid biosynthesis. **Trends in Plant Science**, v. 5, p. 169-173, 2000.

MACEDO, M.; FERREIRA, A. R. Plantas hipoglicemiantes utilizadas por comunidades tradicionais na Bacia do Alto Paraguai e Vale do Guaporé, Mato Grosso-Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.14, n.1, p. 45-47, 2004.

Mc GAW, L. J., RABE, T.; SPARG, S. G.; JAGER, A. K.; ELOFF, J. N.; van STADEN, J. An investigation on the biological activity of *Combretum* species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 75, p.45-50, 2001.

MARIN-NETO, J. A.; CUNHA-NETO, E. MACIEL, B. C.; SIMÕES, M. V. Pathogenesis of chronic Chagas heart disease. **Circulation**, v. 115, p. 1109- s1123, 2007.

MARTINS, L. A. V. **Avaliação do potencial anticâncer de espécies vegetais de Mato Grosso do Sul**. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste) Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS, Campo Grande, MS, 2014.

MARQUES, C. A. Importância Econômica da Família Lauraceae Lindl. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n. 1, p. 195-206, 2001.

MARQUES, M. C. S.; HAMERSKI, L.; GARCEZ, F. R.; TIEPPO, C.; VASCONCELOS, M.; TORRES-SANTOS, E. C.; CHANG, M.; GARCEZ, W. S. *In vitro* biological screening and evaluation of free radical scavenging activities of medicinal plants from the Brazilian Cerrado. **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 7, p. 957-962, 2013.

MARQUETE, N.; VALENTE, M. C. **Combretaceae**. Lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://www.floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB006904>, acesso em: 20 nov. 2015.

MAYA, J. D.; BOLLO, S.; NÚÑEZ-VERGARA, L. J.; SQUELLA, J. A.; REPETTO, Y.; MORELLO, A.; PERIE, J.; CHAUVIERE, G. *Trypanosoma cruzi*: effect and mode of action of nitroimidazole and nitrofurán derivatives. **Biochemical Pharmacology**, v. 65, p. 999-1006, 2003.

MAYA, J. D.; ORELLANA, M.; FERREIRA, J.; KEMMERLING, U.; LÓPEZ-MUÑOZ, R.; MORELLO, A. Chagas disease: present status of pathogenic mechanisms and chemotherapy. **Biological Research**, v. 43, p. 323-331, 2010.

MAZUMDER, U. K.; GUPTA, M.; MANIKANDAN, L.; BHATTACHARYA, S.; HALDAR, P. K.; ROY, S. Evaluation of anti-inflammatory activity of *Vernonia cinerea* Less. Extract in rats. **Phytomedicine**, v. 10, p. 185-188, 2003.

MELO, C. T. V. **Estudo do efeito farmacológico de (O-Metil)-N-2,6-Dihidroxibenzoil tiramina (Riparina III) de *Aniba riparia* (Ness) Mez (Lauraceae) em modelos comportamentais de ansiedade e depressão em camundongos**. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Fortaleza, 2006.

MELO, F. N.; NAVARRO, V. R.; SILVA, M. S.; CUNHA, E. V. L.; BARBOSA-FILHO, J. M.; BRAZ-FILHO, R. Bowdenol, a 2,3-dihydrobenzofuran constituent from *Bowdichia virgilioides*. **Natural Product Letters**, v. 15, p. 261-266, 2001.

MENNA-BARRETO, R. F. S.; SALOMÃO, K.; DANTAS, A. P.; SANTA-RITA, R. M.; SOARES, M. J.; BARBOSA, H. S.; CASTRO, S. L. Different cell death pathways induced by drugs in *Trypanosoma cruzi*: an ultrastructural study. **Micron**, Oxford, v. 40, p. 157-168, 2009.

MESIA, G. K.; TONA, G.L.; NANGA, T. H.; CIMANGA, R. K.; APERS, S.; COS, P.; MAES, L.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A.J. Antiprotozoal and cytotoxic screening of 45 plants extracts from Democratic Republic of Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 115, p. 409-414, 2008.

MESQUITA, M. L.; DESRIVOT, J.; BORIES, C.; FOURNET, A.; DE PAULA, J. E.; GRELLIER, P.; ESPINDOLA, L. S. Antileishmanial and trypanocidal activity of Brazilian cerrado plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.100, n. 7, p. 783-787, 2005.

MIGUITA, C. H.; SARMENTO, U. C.; HAMERSKI, L.; GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R. Mexicanolide and andirobine type limonoids from the fruits of *Guarea kunthiana*. **Record of Natural Products**, v.8, p. 290-293, 2014.

MOLINA-GARZA, Z. J.; BAZALDÚA-RODRIGUEZ, A. F.; QUINTANILLA-LICEA, R.; GALAVIZ-SILVA, L. Anti-*Trypanosoma cruzi* activity of 10 medicinal plants used in northeast Mexico. **Acta Tropica**, v. 136, p. 14-18, 2014.

MOLINA, I.; PRAT, J. G.; SALVADOR, F.; TREVIÑO, B.; SULLEIRO, E.; SERRE, N.; POU, D.; ROURE, S.; CABEZOS, J.; VALERIO, L.; BLANCO-GRAU, A.; SÁNCHEZ-MONTALVÁ, A.; VIDAL, X.; PAHISSA, A. Randomized trial of posaconazole and benznidazole for chronic Chagas disease. **The New England Journal of Medicine**, v. 370, p. 1899-1908, 2014.

MORAES, L. S. **Ação do alcaloide (+)- Filantidina sobre o protozoário *Leishmania (Leishmania) amazonensis* e a célula hospedeira**. Dissertação (Mestrado em Neurociências e Biologia Celular), Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, 2014.

MORAES, P. L. R. Sinopse das lauráceas nos Estados de Goiás e Tocantins, Brasil. **Biota Neotropica**, v.5, n. 2, p. 253-270, 2005.

MORAES-SOUZA, H.; FERREIRA-SILVA, M. M. **O controle da transmissão transfusional**. Revisão. História sobre a doença de Chagas no Brasil, v. 44, Suplemento II, p. 64-67, 2011.

MORENO, M.; D'AVILA, D. A.; SILVA, M. N.; GALVÃO, L.; M., C.; MACEDO, A. M.; CHIARI, E.; GONTIJO, E. D.; ZINGALES, B. *Trypanosoma cruzi* benznidazole susceptibility in vitro does not predict the therapeutic outcome of human Chagas disease. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 105, n. 7, p. 918-924, 2010.

MORENO, S. N.; DOCAMPO, R. The role of acidocalcisomes in parasitic protists. **Journal Eukaryot Microbiology**, v. 56, p. 208-213, 2009.

MOROKAWA, R.; SIMÕES, A. O.; KINOSHITA, L. S. Apocynaceae s. str. do parque nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 64, n. 1, p. 179-199, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rod/v64n1/15.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2015.

MOSSMAN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.

MOURA, V. M.; SANTOS, D. P.; SANTINI, S. M. O. Constituintes químicos de *Galianthe brasiliensis* (Rubiaceae). **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 452-455, 2006.

MUELAS-SERRANO, S.; NOGAL-RUIZ, J. J.; GÓMEZ-BARRIO, A. Setting of a colorimetric method to determine the viability of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. **Parasitology Research**, v. 86, p. 999-1002, 2000.

MYSPECIES. Disponível em:
<http://www.lauraceae.myspecies.info/category/lauraceae-taxonomy/aiouea-trinervis>.
Acesso em: 11 set. 2015.

NAKAJIMA, J. N.; SEMIR, J. Asteraceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n.4 p. 471-478, 2001.

NARASIMHAN, S.; KANNAN, S.; ILANGO, K.; MAHARAJAN, G. Antifeedant activity of *Momordica dioica* fruit pulp extracts on *Spodoptera litura*. **Fitoterapia**, v. 76, p. 715-717, 2005.

NEOTROPICAL PLANTS. Disponível em:
http://www.kew.org/science/tropamerica/imagedatabase/large1/cat_single1-211.htm.
Acesso em: 27 out. 2015.

NETO, C. C.; OWENS, C. W.; LANGFIELD, R. D.; COMEAU, A. B.; ONGE, J. St.; VAISBERG, A. J.; HAMMOND, G. B. Antibacterial activity of some Peruvian medicinal plants from the Callejon de Huaylas. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, p. 133-138, 2002.

NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, P. M. **Parasitologia Humana**. 10 ed. São Paulo Editora Atheneu, p. 73-96, 2000.

NIERO, R.; MALHEIROS, A.; BITTENCOURT, C. M. S.; BIAVATTI, M. W. , LEITE, S. N. CECHINEL FILHO, V. **Aspectos químicos e biológicos de plantas medicinais e considerações sobre fitoterápicos**. In: BRESOLIN, T. M. B.; CECHINEL FILHO, V. Ciências farmacêuticas: contribuição ao desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos. Editora UNIVALI, p. 239, 2003.

NOGUEIRA, P. C. L.; ANDRADE, M. S.; SAMPAIO, T. S.; RIBEIRO, A. S.; MORAES, V. R. S.; MACHADO, S. M. F.; ALVES, P. B.; OLIVA, G.; THIEMANN, O. H. **Estudo fitoquímico e avaliação farmacológica de plantas da família Apocynaceae e Guttiferae** do estado de Sergipe. II Seminário de Pesquisa FAP-SE, Aracajú, 2004.

NUNES, G. P.; SILVA, M. F.; RESENDE, U. M.; SIQUEIRA, J. M. Plantas medicinais comercializadas por raizeiros no centro de Campo Grande Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 83-92, 2003.

OLIVEIRA, A. R. M.; SZEZERBOWSKI, D. Quinina: 470 anos de história, controvérsias e desenvolvimento. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1971-1974, 2009.

OLIVEIRA, I. S.; LIMA, J. C. S.; SILVA, R. M.; MARTINS, D. T. O. Triagem da atividade antibacteriana in vitro do látex e extratos de *Croton urucurana* Baillon. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 587-593, 2008.

OLIVEIRA, M. F.; NAGAO-DIAS, A.; PONTES, V. M. O.; JÚNIOR, A. S. S.; COELHO, H. L. L.; COELHO, C. B. Tratamento etiológico da doença de Chagas no Brasil. Atualização. **Revista de Patologia Tropical**, v. 37, n. 3, p. 209-228, 2008.

OPEN LEARN WORKS. Disponível em: <http://www.open.edu/openlearnworks/mod/page/view.php?id=40798>. Acesso em: 10 jan. 2016.

PAES, L. S.; MANTILHA, B. S.; BARISÓN, M. J.; WRENGER, C.; SILBER, A. M. The uniqueness of the *Trypanosoma cruzi* mitochondrion: opportunities to target new drugs against Chagas' disease. **Current Pharmaceutical Desing**, v. 17, p. 2074-2099, 2011.

PAGNO, T.; BLIND, L. Z.; BIAVATTI, M. W.; KREUGER, M. R. O. Cytotoxic activity of the dicloromethane fraction from *Vernonia scorpioides* (Lam.) Pers. (Asteraceae) against Ehrlich's tumor cells in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 39, p. 1483-1491, 2006.

PANDINI, J. A.; PINTO, F. G. S.; SCUR, M. C.; ALVES, L. F. A.; MARTINS, C. C. Antimicrobial, insecticidal and antioxidant activity of essential oil and extracts of *Guarea kunthiana* A. Juss. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 9, n. 3, p. 48-55, 2015.

PARSONS, M. Glycosomes: parasites and the divergence of peroxisomal purpose. **Molecular Microbiology**, v. 53, n. 3, p. 717-724, 2004.

PEREIRA, B. S.; NUNES-PINHEIRO, D. C. S.; VASCONCELOS, A. K. P.; PINHEIRO, A. D. N.; RODRIGUES, P. A. Atividade hepatoprotetora dos extratos etanólico e hexânico das folhas de *Momordica charantia* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 3, p. 311-316, 2010.

PEREIRA, L. R. P.; DOSSIN, F. M.; RAMOS, T. C.; FREYMÜLLER, E.; SCKENKMAN, S. Active transcription and ultrastructural changes during *Trypanosoma cruzi* metacyclogenesis. **Annals of Brazilian Academy of Sciences**, v. 80, n. 1, p. 157-166, 2008.

PEREIRA, M. D.; JÁCOME, R. L. R. P.; ALCÂNTARA, A. F. D. C.; ALVES, R. B.; RASLAN, D. S. Alcalóides indólicos isolados de espécies do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae). **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 970-983, 2007.

PEREIRA, M. G.; VISBAL, G.; SALGADO, L. T.; VIDAL, J. C.; GODINHO, J. L. P.; CICCIO, N. N. T.; ATELLA, G. C.; DE SOUZA, W.; CUNHA E SILVA, N.

Trypanosoma cruzi are able to manage internal cholesterol level under nutritional lipid stress conditions. Research Article. **Plos One**, v. 11, p. 11-17, 2015.

PERES, M. T. L. P.; MONACHE, F. D.; CRUZ, A. B.; PIZZOLATTI, M. G.; YUNES, R. A. Chemical and antimicrobial activity of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 56, p. 223-226, 1997.

PÉREZ-MOLINA, J. A.; NORMAN, F.; LÓPEZ-VÉLEZ, R. Chagas disease in non-endemic countries: epidemiology, clinical presentation and treatment. **Current Infectious Disease Reports**, v. 14, p. 263-274, 2012.

PIETROVSKI, E. F.; ROSA, K. A.; FACUNDO, V. A.; RIOS, K.; MARQUES, M. C. A.; SANTOS, A. R. S. Antinociceptive properties of the ethanolic extract and of the tritepene 3 β , 6 β 16 β -trihidroxilup-20(29)-ene obtained from the flowers of *Combretum leprosum* in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 83, p. 90-99, 2006.

PINTO, A. Y. N. ; JUNIOR, A. G. F. ; VALENTE, V. C. ; HARADA, G. S. ; VALENTE, S. A. S. Urban outbreak of acute Chagas disease in Amazon region of Brazil: four-year treatment with benznidazole. **Revista Panamericana de Salud Publica**, México, v. 25, p. 77-83, 2009.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v. 25, supl. 1, p. 45-61, 2002.

PORTO-CARREIRO, I.; AATIAS, M.; MIRANDA, K., DE SOUZA, W.; CUNHA-SILVA, N. *Trypanosoma cruzi* epimastigote endocytic pathway: cargo enters the cytostome and passes through an early endosomal network before storage in reservosome. **European Journal Cell Biology**, v. 79, p. 858-869, 2000.

POTT, A., OLIVEIRA, A. K.; DAMASCENO-JUNIOR, G. A.; SILVA, J. S. Plant diversity of the Pantanal wetland. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, p. 265-273, 2011.

PRATA, A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. Review. **Lancet Infectious Diseases**, v.1, p. 92-100, 2001.

PRATA, A.; DIAS, J. C. P.; COURA, J. R. Os primórdios da doença. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 2, p. 6-11, 2011.

PRIETO, J. A.; PABLÓN, L. C.; PATIÑO, O. J.; DELGADO, W. A.; CUCA, L. E. Constituyentes químicos, actividad insecticida y antifúngica de los aceites esenciales de hojas de dos especies Colombianas del género *Ocotea* (Lauraceae). **Revista Colombiana de Química**, Bogotá, v. 39, n. 2, p. 199-209, 2010.

PROENÇA, C.; OLIVEIRA, R. S.; SILVA, A. P. **Flores e frutos do cerrado**. 2 ed. Brasília: Editora, Rede de Sementes Cerrado, p. 226, 2006.

PUPO, M. T.; GALLO, M. B. Biologia química: uma estratégia, moderna para pesquisa em produtos naturais. **Química Nova**, v. 30, n. 6, p. 1446-1455, 2007.

QUINTANS-JUNIOR, L. J.; ALMEIDA, R. N.; FALCÃO, A. C. Q. M.; AGRA, M. F.; SOUSA, M. F. V.; BARBOSA-FILHO, J. M. Avaliação da atividade anticonvulsivante de plantas do Nordeste Brasileiro. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 21, n. 3, p. 179-184, 2002.

RAPINI, A.; KOCK, I.; KINOSHITA, L. S.; SIMÕES, A. O.; SPINA, A. P. **Apocynaceae**. In: FORZZA, R. C (Org.). Catálogo de plantas e fungos do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, v. 1, p. 617-644, 2010.

RASSI, A. JR.; RASSI, A. MARIN-NETO, J. A. Chagas disease. **Lancet**, v. 375, p. 1388-1402, 2010.

RAY, R. B.; RAYCHOUDHURI, A.; STEELE, R.; NERURKAR, P. Bitter Melon (*Momordica charantia*) extract inhibits breast cancer cell proliferation by modulating cell cycle regulatory genes and promotes apoptosis. **The Journal of Cancer Research**, v. 70, p. 1925-1931, 2010.

RIBEIRO, T. G.; CHÁVEZ-FUMAGALLI, M. A.; VALADARES, D. G.; FRANÇA, J. R.; LAGE, P. S.; DUARTE, M. C.; ANDRADE, P. H. R.; MARTINS, V. T.; COSTA, L. E.; ARRUDA, A. L. A.; FARACO, A. A. G.; COELHO, E. A. F.; CASTILHO, R. O. Antileishmanial activity and cytotoxicity of Brazilian plants. **Experimental Parasitology**, v. 143, p. 60-68, 2014.

RITTER, M. R.; SOBIERAJSKI, G. R.; SCHENKEL, E. P.; MENTZ, L. A. Plantas usadas como medicinais no município de Ipê, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.12, n. 2, p. 51-62, 2002.

RODRIGUES, K. A. F.; DIAS, C. N.; FLORÊNCIO, J. C.; VILANOVA, C. M.; GONÇALVES, J. R. S.; COUTINHO-MORAES, D. F. Phytochemical prospection and molluscicidal activity of the leaves of *Momordica charantia* L. **Caderno de Pesquisa**, Research Gate, v. 17, n. 2, p. 69-76, 2010.

ROJAS, R.; BUSTAMANTE, B.; BAUER, J.; FERNÁNDEZ, I.; ALBAN, J.; LOCK, O. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 88, p. 199-204, 2003.

SANTOS, A. C. B.; SILVA, M. A. P.; SANTOS, M. A. F.; LEITE, T. R. Levantamento etnobotânico, químico e farmacológico de espécies de Apocynaceae Juss. ocorrentes no Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 3, p.442-458, 2013.

SANTOS, K. K. A.; MATIAS, E. F. F.; SOBRAL-SOUZA, C. E. ; TINTINO, S. R.; MORAIS-BRAGA, M. F. B.; GUEDES, G. M. M.; ROLÓN, M.; VEGA, C. ARIAS, A. R.; COSTA, J. G. M.; MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H. D. M. Trypanocide, cytotoxic and antifungal activities of *Momordica charantia*. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 2, p. 162-166, 2012.

SANTOS, N. C.; FIGUEIRA-COELHO, J.; MARTINS-SILVA, J. SALDANHA, C. Multidisciplinary utilization of dimethyl sulfoxide: pharmacological, cellular, and molecular aspects. **Biochemical Pharmacology**, v. 65, p. 1035-1041, 2003.

SANTOS, R. I. **Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários**. In: SIMÕES, C. M. O.; SCKENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. L. P.; MENTZ, L. A.; PETROCİK, P. R. (Org.) Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6 ed. Porto Alegre: Editora UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, p. 403-434, 2007.

SARAIVA, J.; VEJA, C.; ROLON, M.; SILVA, R.; SILVA, M. L. A.; DONATE, P. M.; BASTOS, J. K.; GOMEZ-BARRIO, A.; ALBUQUERQUE, S. *In vitro* and *in vivo* activity of lignan lactones derivatives against *Trypanosoma cruzi*. **Parasitology Research**, v.100, p. 791-795, 2007.

SÁTIRO, L. N.; ROQUE, N. A família Euphorbiaceae nas caatingas arenosas do médio rio São Francisco, BA, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v. 22, n. 1, p. 99-118, 2008.

SCHUMUNIS, G. A.; YADON, Z. E. Chagas disease: a Latin American health problem becoming a world health problem. **Acta Tropica**, v. 115, p. 14-21, 2010.

SHIH, C. C.; LIN, C. H.; LIN, W. L.; WU, J. B. *Momordica charantia* extract on insulin resistance and the skeletal muscle GLUT4 protein in fructose-fed rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 123, n. 1, p. 82-90, 2009.

SILVA, M. A. B.; VALDIANE, L. L.; RIBEIRO, R. V.; SOUZA, J. P. M.; LIMA, J. C. S.; MARTINS, D. T. O.; SILVA, R. M. Levantamento etnobotânico de plantas utilizadas como anti-hiperlipidêmicas e anorexígenas pela população de Nova Xavantina- MT, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 549-562, 2010.

SILVA, V. C.; SILVA, B. G. H.; BOLZANI, V. S.; LOPES, M. N. Isolation of lignans glycosides from *Alibertia sessilis* (Vell.) K. Schum. (Rubiaceae) by preparative high-performance liquid chromatography. **Eclética Química**, v. 31, n. 4, p. 55-58, 2006.

SIMIONATTO, E.; BONANI, V. F. L.; MOREL, A. F.; RÉ POPPI, N.; RAPOSO JÚNIOR, J. L.; STUKER, C. Z.; PERUZZO, G. M.; PERES, M. T. L. P.; HESS, S. C. Chemical composition and evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae) stem bark. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 5, n. 18, p. 879-885, 2007.

SOBRINHO, J. L. S.; FONTES, D. A. F.; LYRA, M. A. M.; SOARES, M. F. L. R.; NETO, P. J. R. Doença de Chagas: 100 anos de descoberta. **Revista Brasileira de Farmacoepidemiologia**, v. 90, n. 4, p. 283-289, 2009.

STEFANO, M. V.; CALAZANS, L. S. B.; SAKURAGUI, C. M. **Meliaceae**. In: Lista de espécies da flora do Brasil. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br>. Acesso em: 10 jul. 2015.

STOCKERT, J. C.; BLÁSQUEZ-CASTRO, A.; CAÑETE, M.; HOROBIN, R. W.; VILLANUEVA, Á. MTT assay for cell viability: intracellular localization of the formazan product is in lipid droplets. **Acta Histochemica**, v. 114, p. 785-796, 2012.

SOUZA, M. F.; MANGANOTTI, S. A.; SOUZA, P. N. S.; MEIRA, M. R.; MATOS, C. C.; MARTINS, E. R. Influência do horário da coleta, orientação geográfica e dossel na produção de óleo essencial de *Cordia Verbanaceae* DC. **Biotemas**, v. 24, n. 1, p. 9-14, 2011.

TANAKA, J. L. A.; SILVA, L. L.; FERREIRA, I. L. P.; MACHADO, G. M. L.; LEON, L. L.; OLIVEIRA, A. J.B. Antileishmanial activity of indole alkaloids from *Aspidosperma ramiflorum*. **Phytomedicine**, v. 14, p. 377-380, 2007.

TARLETON, R. L.; GÜRTLER, R. E.; URBINA, J. A.; RAMSEY, J.; VIOTTI. Chagas disease and the London declaration on neglected tropical diseases. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 10, p. e3219, 2014.

TELES, C. B. G.; MOREIRA, L. S.; SILVA, A. A. E.; FACUNDO, V. A.; ZULIANI, J. P.; STÁBELI, R. G.; SILVA-JARDIM, I. Activity of the Lupane isolated from *Combretum leprosum* against *Leishmania amazonensis* promastigotes. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 5, p. 936-942, 2011.

THOMAZZI, S. M.; SILVA, C. B.; SILVEIRA, D. C. R.; VASCONCELLOS, C. L. C.; LIRA, A. F.; CAMBUI, E. V. F.; ESTEVAM, C. S.; ANTONIOLLI, A. R. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Bowdichia virgilioides* (sucupira). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 541-456, 2010.

TCHINDA, A. T.; TSOPMO, A.; TANEA, P.; AYAFORA, J. F.; CONNOLLYB, J. D.; STERNERC. Vernoguinoesterol and vernoguinoside, trypanocidal stigmastane derivatives from *Vernonia guineensis* (Asteraceae). **Phytochemistry**, v. 59, p. 371-374, 2002.

TÓFOLI, D.; VIOLANTE, I. M. P.; GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R. Estudo químico e atividade antifúngica do óleo essencial das folhas de *Aniba heringerii*. In: **35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, Águas de Lindóia. Resumos da 35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, v. 1, p. QPN 138, 2012.

TSOI, A. Y.; NG, T. B.; FONG, W. P. Immunomodulatory activity of a chymotrypsin inhibitor from *Momordica cochinchinensis* seeds. **Journal of Peptide Science**, v. 12, p. 605-611, 2006.

TYLER, K. M.; ENGMAN, D. M. The life cycle of *Trypanosoma cruzi* revisited. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p. 472-481, 2001.

UNICENTRO. **Laboratório de Manejo Florestal**. Disponível em: <http://sites.unicentro.br/wp/manejoflorestal/6729-2.2011>. Acesso em: 2 jun. 2015.

URBINA, J. A. Parasitological cure of Chagas disease: Is it possible? Is it relevant? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Brazil, v. 94, p. 349-355, 1999.

URBINA, J.A. Specific chemotherapy of Chagas disease: relevance, current limitations and new approaches. **Act Tropica**, v. 115, p. 55-68, 2010.

VALENCIA, L.; MUÑOZ, D. L.; ROBLEDO, S. M.; ECHEVERRI, F.; ARANGO, G. J.; VELEZ, I. D.; TRIANA, O. Actividad tripanocida y citotóxica de extractos de plantas colombianas. **Biomédica**, v. 31, p. 552-559, 2011.

VAN MEERLOO, J.; KASPERS, J. L.; CLOOS, J. **Cell sensitivity assays: the MTT assay**. In: Cancer cell culture methods and protocol, 2 ed. v. 731, p. 237-245, 2011.

VASUDEVA, N.; MANISHA, V.; SHARMA, S. K.; SARDANA, S. Chemistry and biological activities of the genus *Dalbergia*. **Pharmacognosy Reviews**, v. 3, p. 307-319, 2009.

VEIGA JR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VELÁSQUEZ, A. M. A.; FRANCISCO, A. I.; KOHATSU, A. A. N.; SILVA, F. A. J.; RODRIGUES, D. F.; TEIXEIRA, R. G. S.; CHIARI, B. G.; ALMEIDA, M. G. J.; ISAAC, V. L. B.; VARGAS, M. D.; CICARELLI, M. B. Synthesis and tripanocidal activity of ferrocenyl and benzyl diamines against *Trypanosoma brucei* and *Trypanosoma cruzi*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 24, p. 1707-1710, 2014.

VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): Aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Química Nova**, v. 28, n.1, p. 85-94, 2005.

WALTRICH, K. K.; HOSCHIED, J.; PROCHNAU, I. S. Antimicrobial activity of crude extracts and fractions of *Vernonia polyanthes* Less (assa-peixe) flowers. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 4, p. 909-914, 2015.

WENIGER, B.; ROBLEDO, S.; ARANGO, G. J.; DEHARO, E.; ARAGÓN, R.; MUNÓZ, V.; CALLAPA, J.; LOBSTEIN, A., ANTON, R. Antiprotozoal activities of Colombian plants. **Journal Ethnopharmacology**, v. 78, p. 193-200, 2001.

WHO (World Health Organization). **Control of Chagas disease**. Report a WHO Expert Committee. Geneva. WHO Tech. Rep. Sers. v. 905, p. 1-109, 2014. Acesso em: 12 dez. 2015.

WHO (World Health Organization). Chagas disease (American Trypanosomiasis). In: Fact sheet N° 340, 2012. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>. Acesso em: 13 out. 2015.

YOSHIDA, N. Molecular mechanics of *Trypanosoma cruzi* infection by oral route. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Brasil, v. 104, p. 101-107, 2009.

YUNES, R.; A.; FILHO CECHINEL, V. Novas perspectivas dos produtos naturais na química medicinal moderna. *In*: YUNES, R.; A.; FILHO CECHINEL, V. (Org.) **Química de produtos naturais novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 4 ed. Itajaí: UNIVALI, Cap. 1, p. 11-34, 2014.

ZANI, C.; CHAVES, P.; QUEIROZ, R.; DE OLIVEIRA, A.; CARDOSO, J.; ANJOS, A.; GRANDI, T. S. M. Brine shrimp lethality assay as a prescreening system for anti-*Trypanosoma cruzi* activity. **Phytomedicine**, v. 2, n. 1, p. 47-50, 1995.

ZANIN, S. M.; LORDELLO, A. L. L. Alcalóides aporfinóides do gênero *Ocotea* (Lauraceae). **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 92-98, 2007.

ZELEDÓN, R. Some morphological and molecular aspects of the life cycle of *Trypanosoma cruzi* in the insect vector. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 217-218, 1999.