

## AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE E ATIVIDADE LEISHMANICIDA E TRIPANOCIDA DE EXTRATOS DE *PASSIFLORA CINCINNATA* MAST L.

Gyllyandeson de Araújo Delmondes<sup>1</sup>; Francisco Rodolpho Sobreira Dantas Nóbrega de Figueiredo<sup>1</sup>; Saulo Relison Tintino<sup>2</sup>; Larissa Rolim de Oliveira<sup>1</sup>; Álefe Brito Monteiro<sup>1</sup>; Valterlúcio dos Santos Sales<sup>1</sup>; Cristina Kelly de Sousa Rodrigues<sup>1</sup>; Emmily Petícia do Nascimento<sup>1</sup>; Maria Celeste Vega Gomez<sup>4</sup>; Cathia Coronel<sup>4</sup>; José Galberto Martins da Costa<sup>3</sup>; Henrique Douglas Melo Coutinho<sup>2</sup>; Cícero Francisco Bezerra Felipe<sup>1</sup>; Irwin Rose Alencar de Menezes<sup>1</sup>; Marta Regina Kerntopf<sup>1</sup>

### Resumo

A doença de Chagas e a leishmaniose são doenças que prevalecem em países pobres. Os fármacos disponíveis para o tratamento dessas doenças são altamente tóxicos, sendo este um dos motivos que dificulta a adesão terapêutica e, assim, levando à busca por novas drogas eficazes e seguras para seus tratamentos. A pesquisa utilizando produtos naturais tem se mostrado uma alternativa na procura de novos compostos com potencial clínico-terapêutico. O gênero *Passiflora* possui as seguintes atividades farmacológicas centrais como calmantes, sedativas, ansiolíticas e indutor do sono e atividades antiparasitárias. A *Passiflora cincinnata* possui ampla distribuição pelo Brasil sendo popularmente utilizada para distúrbios de sono. Neste estudo avaliamos sua atividade antiparasitária contra *Leishmania brasiliensis*, *Leishmania infantum* e *Trypanosoma cruzi*, bem como sua citotoxicidade em fibroblastos. Foram testados extratos hidroalcoólicos obtidos das folhas, casca, sementes e caule em diferentes concentrações. Os extratos das folhas, casca e sementes não foram eficazes contra *L. brasiliensis* e *T. cruzi*, porém, o extrato do caule promoveu uma inibição de 29,12 % contra *T. cruzi* numa concentração de 500 µg/mL, entretanto o extrato da casca de *P. cincinnata* foi o que apresentou a melhor atividade contra as formas parasitárias de *L. infantum*, causando um percentual de morte >20 % nas concentrações de 250 a 1000 µg/mL. Referente à toxicidade, o extrato das folhas foi o que apresentou maior citotoxicidade, quando comparado com os demais, causando a mortalidade de 68,63 % dos fibroblastos numa concentração de 1000 µg/mL. A baixa citotoxicidade revelada abre espaço para novos estudos biológicos.

**Palavras-Chaves:** Leishmaniose; Doença de Chagas; *Leishmania*; *Passifloraceae*; *Trypanosoma cruzi*.

## EVALUATION OF THE CYTOTOXICITY AND LEISHMANICIDAL AND TRYPANOCIDAL ACTIVITY OF EXTRACTS OF *PASSIFLORA CINCINNATA* MAST L.

### Abstract

Chagas disease and leishmaniasis are diseases prevalent in poor countries. The drugs available for the treatment of these diseases are highly toxic, being this one of the reasons that hinders the therapeutic adherence and so, taking to the search for new drugs efficient and insurance for their treatments. The research using natural products has been shown to be an alternative in the search for new compounds with potential clinical-therapeutic. The genus *Passiflora* has the following central pharmacological activities as tranquilizers, sedative, anxiolytic and inducer of sleep and antiparasitárias activities. The *Passiflora cincinnata* has wide distribution by Brazil being popularly used for sleep disorders. In this study we evaluate its activity antiparasitic against *Leishmania brasiliensis*, *Leishmania infantum* and *Trypanosoma cruzi*, as well as its cytotoxicity in fibroblasts. Were tested the hydroalcoholic extracts obtained from leaves, bark, seeds and stems at different concentrations. The extracts from the leaves, bark and

<sup>1</sup> Laboratório de Farmacologia e Química Molecular, Universidade Regional do Cariri, Crato-CE.

<sup>2</sup> Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular, Universidade Regional do Cariri, Crato-CE.

<sup>3</sup> Laboratório de Pesquisa com Produtos Naturais, Universidade Regional do Cariri, Crato-CE.

<sup>4</sup> Centro para el Desarrollo de La Investigación Científica CEDIC) Fundación Moisés Bertoni – Laboratórios Diaz Gill, Assunción, Paraguai.

\*Autor correspondente: Marta Regina Kerntopf. Departamento de Química Biológica. Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato (CE), Brasil. Endereço: Rua Cel. Antônio Luís, 1161, Pimenta, CEP: 63105-00. Fone:+55 (88) 3102 1212; Fax: +55(88)31021291. E-mail: martareginakerntopf@outlook.com

seeds were not effective against *T. cruzi* and *L. brasiliensis*, only the extract of stem promoted an inhibition of 29.12 % against *T. cruzi* at a concentration of 500 mg/mL, however the bark extract of *P. cincinnata* showed the highest activity against parasitic forms of *L. infantum*, causing a percentage of death >20 % at concentrations 250 and 1000 mg/mL. Regarding the toxicity, the leaf extract showed the highest cytotoxicity, when compared with the others, causing mortality of 68.63 % of the fibroblasts at a concentration of 1000 mg/mL. The low cytotoxicity revealed opens space for new biological studies.

**Keywords:** Leishmaniasis; Chagas disease; *Leishmania*; *Passifloraceae*; *Trypanosoma cruzi*.

## Introdução

As doenças negligenciadas, também denominadas doenças tropicais, correspondem a um grupo de doenças infecto-parasitárias que possuem uma alta prevalência nas populações que vivem em condições de pobreza, favorecendo a manutenção da desigualdade e exclusão social (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2010). Para a saúde pública elas tornam-se um grande desafio por produzirem danos físicos, cognitivos e por causarem impacto no perfil epidemiológico (HOTEZ 2008). Podemos citar como exemplos de doenças negligenciadas, a doença de Chagas, leishmaniose, hanseníase, malária, tuberculose, entre outras (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2010).

A tripanossomíase americana, conhecida como doença de Chagas, foi descoberta em 1909 pelo médico brasileiro Carlos Chagas. É causada pelo *Trypanosoma cruzi* e pode ser transmitida aos humanos através das fezes dos insetos triatomíneos infectados, alimentos contaminados, transfusão sanguínea e transplante de órgãos a partir de doadores infectados pelo parasita e por via transplacentária (WHO 2013). Estima-se que na América Latina aproximadamente 12 milhões de pessoas estejam infectadas com o *T. cruzi* e que cerca de 75 milhões estejam suscetível à infecção (ZINGALES 2011).

Outra doença parasitária, bem preocupante, é a leishmaniose. Doença infecciosa causada por protozoários do gênero *Leishmania*, a leishmaniose é transmitida ao hospedeiro definitivo pela picada de flebotomíneos fêmeas infectadas. Estima-se que 1,3 milhões de novos casos e cerca de 20.000 a 30.000 mortes ocorrem anualmente devido essa patologia, que está associada às más condições de habitação, desnutrição, falta de recursos e sistema imunológico deprimido, e que atingi as populações mais pobres do mundo (WHO 2013). A leishmaniose pode apresentar-se sob a forma visceral, cutânea ou mucocutânea. A forma cutânea, também denominada leishmaniose tegumentar, é a forma mais frequente e a forma visceral é a mais grave (REY 2001).

O desenvolvimento de novas drogas eficazes no tratamento desses parasitas é alvo de constantes discussões no ramo científico (CUNHA *et al.* 2011). Para o tratamento da leishmaniose, nas formas cutânea e visceral, os antimoniais pentavalentes são os fármacos de primeira escolha, porém, apresentam uma alta toxicidade (PEREIRA *et al.* 2011). Já no caso da doença de Chagas, o nifurtimox e o benzonidazol são os fármacos de destaque para a terapia medicamentosa dessa doença, tanto pela sua eficácia na fase aguda quanto pela sua tolerância. Entretanto, a ação dessas drogas sofrem influências de algumas condições, como a duração do tratamento, a idade e a distribuição geográfica dos pacientes (DIAS & DESSOY 2009).

Nos dias atuais pesquisas com plantas, na sua forma bruta, fitoterápica ou com o princípio ativo isolado, revelam o potencial desses vegetais quanto às atividades leishmanicida e tripanocida, os quais possibilitam uma forma alternativa para o tratamento dessas patologias. Podemos citar como exemplo de estudos envolvendo a análise de extratos com potencial tripanocida, extratos de *Mentha arvensis* (SANTOS *et al.* 2012b), *Arrabidaea triplinervia* (LEITE *et al.* 2006) e *Dracocephalum kotschy* (SAEIDNIA *et al.* 2004).

A *Passifloraceae* é uma família que possui cerca de 20 gêneros e 650 espécies, nativa de clima tropical e subtropical, ocorrendo principalmente nas Américas, Ásia e Austrália. Suas espécies são caracterizadas por lianas, herbáceas, trepadeiras, lenhosas com gavinhas, flores solitárias ou inflorescência cimosa, frutos comestíveis e possuem propriedades terapêuticas. (BRIZICKY 1961, CERVI 1997).

O gênero de maior expressividade da família *Passifloraceae* é a *Passiflora*; o mesmo possui aproximadamente 400 espécies, das quais 20 são restritas à China, Índia, Austrália, Sudeste Asiático, Ilhas da Oceania e regiões vizinhas (SANTOS *et al.* 2012a). O Brasil, com cerca de 120 espécies, possui o maior número de espécies nativas do gênero *Passiflora* (BERNACCI *et al.* 2003). Segundo ZUANAZZI & MONTANHA (2000) do

ponto de vista etnofarmacológico o gênero *Passiflora* (maracujá) possui as seguintes atividades farmacológicas: calmantes, sedativas, antiespasmódicas, ansiolíticas e indutor do sono, já testadas em experimentos com animais.

A espécie *P. cincinnata* Mast. L., popularmente conhecida como maracujá-mochila, maracujá do mato, maracujá-tubarão e maracujá bravo, é uma espécie polimorfa, com frutos de forma e tamanho variável e possui ampla distribuição pelo Brasil. Segundo OLIVEIRA & RUGGIERO (2005), essa espécie têm grande resistência a patógenos sistêmicos que afetam outras espécies de *Passiflora*.

Tendo em vista o grande potencial farmacológico do gênero *Passiflora*, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade leishmanicida e tripanocida de extratos hidroalcoólicos da espécie *P. cincinnata* Mast L. em formas promastigota dos parasitas *Leishmania braziliensis* e *Leishmania infantum* e epimastigota de *Trypanosoma cruzi*, além de avaliar a atividade citotóxica em fibroblasto.

## Metodologia

### Material botânico

O material vegetal da espécie *Passiflora Cincinnata* utilizadas em nossos experimentos foram coletadas no Sítio/Fazenda Barreiro Grande situado no município de Crato-CE. Um exemplar da espécie foi catalogado e depositado no Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima – HCDAL da Universidade Regional do Cariri – URCA registrado sob N° HCDAL 8284.

### Preparação do extrato

As partes da planta (folhas, casca, sementes e caule) foram lavadas em água corrente a fim de se retirar possíveis sujidades, expostas ao sol para secar e após, diminuídas em seu tamanho para se aumentar a superfície de contato com o solvente por meio de maceração (DI STASI 1996) e acondicionadas em frascos de vidro. O solvente para obtenção dos extratos foi preparado a partir de água destilada e etanol a 96 %, na proporção de 1:1, de maneira que cada material seco possa ficar totalmente imerso na solução aquoso extratora. Em seguida às extrações, cada material recebeu dupla filtração de algodão, sendo então levado ao rotaevaporador para liberação do solvente etanólico. Cada material remanescente desta separação foi posto em banho-maria para garantia da eliminação do excedente etanólico e colocado para congelar. Feito isso, e uma vez os extratos congelados, foram levados ao liofilizador e então, calculados seu rendimentos totalizando aproximadamente 134 g do líofilo, de cada parte da planta a ser estudada. Os extratos liofilizados, hidroalcoólicos 1:1 das folhas, casca, sementes e caule de *Passiflora cincinnata* foram denominados de EHFPC, EHCCPC, EHSPC e EHCPC, significando, respectivamente, Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *Passiflora cincinnata*, Extrato Hidroalcoólico da Casca de *Passiflora cincinnata*, Extrato Hidroalcoólico das Sementes de *Passiflora cincinnata* e Extrato Hidroalcoólico do Caule de *Passiflora cincinnata*.

### Linhagens celulares utilizadas

Para os testes *in vitro* de *T. cruzi*, foi utilizado o clone CL-B5 (BUCKNER *et al.* 1996). Os parasitos, transfectados de forma estável com o gene para a  $\beta$ -galactosidase de *Escherichia coli* (*lacZ*), foram fornecidos pelo Dr. F. Buckner através do Instituto Conmemorativo Gorgas (Panama). As formas epimastigotas foram cultivadas a 28 °C em Meio de cultura *Liver Infusion Tryptose Broth* (Difco, Detroit, MI), suplementado com Soro Fetal Bovino 10 % (SFB) (Gibco, Carlsbad, CA), penicilina (Ern, S.A., Barcelona, Spain) e estreptomicina (Reig Jofr S.A., Barcelona, Spain), conforme descrito por LE SENNE *et al.* (2002). As células foram coletadas para os testes na fase exponencial de seu crescimento.

Culturas de *Leishmania* spp. foram obtidas do Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Asunción, Paraguay - IICS e identificadas por análise isoenzimática. A manutenção das linhagens, forma de cultivo e isolamento das formas promastigotas de *Leishmania* spp. Seguiram os procedimentos descritos por ROLDOS *et al.* (2008). Os ensaios de inibição das formas promastigotas foram realizados utilizando a linhagens de *L. braziliensis* (MHOM/CO/88/UA301) e *L. infantum* (MHOM/ES/92/BCN83), cultivadas a 22 °C em meio Schneider's *Drosophila*, suplementado com SFB 20 %.

Os ensaios de citotoxicidade utilizaram a linhagem de fibroblastos NCTC929, cultivada em Minimal Essential Medium (Sigma). O meio de cultura foi suplementado com SFB inativada por calor (10 %), penicilina G (100 U/mL) e estreptomicina (100 mg/mL). As culturas foram mantidas a 37 °C em atmosfera úmida com 5 % de CO<sub>2</sub>. A viabilidade destas linhagens foi avaliada através do uso da resazurina como método colorimétrico (ROLÓN *et al.* 2006).

#### Reagentes

Resazurina sódica foi obtida da Sigma–Aldrich (St Louis, MO) e estocada a 4 °C ao abrigo da luz. A solução de resazurina foi preparada com tampão fosfato 1 %, pH 7 e esterilizada por filtração antes de ser utilizada. O Clorofenol vermelho-β-D-galactopiranosídeo (CPRG; Roche, Indianapolis, IN) foi dissolvido em uma solução de Triton X-100 0.9 % (pH 7.4). Penicilina G (Ern, S.A., Barcelona, Spain), estreptomicina (Reig Jofré S.A., Barcelona, Spain) e Dimetilsulfóxido (DMSO) também foram utilizados.

#### Teste de atividade antiepipimastigota

O teste foi realizado em microplacas com 96 cavidades, com culturas na fase exponencial, conforme descrito por VEGA *et al.* (2005). Epimastigotas foram inoculados em uma concentração de 1 x 10<sup>5</sup> mL<sup>-1</sup> em 200 µL de caldo de fígado triptose. As placas foram então incubadas com as drogas nas concentrações de 100 e 500 µg/mL a 28 °C por 72 horas. Após este tempo, foram adicionados 50 µL da solução de CPRG, de forma a atingir uma concentração final de 200 µM. As placas foram incubadas por um tempo adicional de 6 horas a 37 °C e foram submetidas à visualização sob 595 nm. Cada experimento foi realizado duas vezes e de forma independente, tendo sido cada concentração testada em triplicata em cada experimento. A eficiência de cada composto foi estimada através do cálculo do percentual de atividade antiepipimastigota (AE %).

#### Teste de atividade antipromastigota

Culturas de formas promastigotas de *L. braziliensis* e *L. infantum* foram cultivadas até uma concentração de 10<sup>6</sup> células/mL e então transferidas para o teste. Os compostos foram dissolvidos em DMSO até as concentrações a serem testadas e foram transferidos para as microplacas. Cada ensaio foi realizado em triplicata. A atividade dos compostos foi avaliada após 72 horas por contagem direta das células após diluições seriadas e comparadas com um controle não tratado.

#### Teste de citotoxicidade

Fibroblastos NCTC929 foram plaqueados em placas de microdiluição de 96 cavidades a uma concentração final de 3 x 10<sup>4</sup> células/cavidade. As células foram cultivadas a 37 °C em atmosfera com 5% de CO<sub>2</sub>. Após isso, o meio de cultura foi removido e os compostos foram adicionados a 200 µL, sendo realizado um novo cultivo por 24 horas. Após esta incubação, 20 µL de uma solução de Resazurina 2 mM foi adicionada em cada cavidade. As placas foram incubadas por 3 horas e a redução da resazurina foi determinada através de dupla absorbância nos comprimentos de onda de 490 e 595 nm. O valor do controle (branco) foi subtraído. Cada concentração foi testada em triplicata.

## Resultados

Todos os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados foram expressos como média das repetições. Na Tab. 1 são mostrados os resultados referentes às atividades antiparasitária e citotóxica dos extratos hidroalcoólicos da *Passiflora cincinnata*. Os extratos não foram eficazes contra as formas promastigota de *L. braziliensis* e epimastigota de *T. cruzi*, exceto o EHCPC que promoveu uma inibição de 29,12 % contra *T. cruzi* numa concentração de 500 µg/ml, porém, contra a *L. infantum*, o EHCPC foi ineficaz em todas as doses testadas. Os extratos das folhas, casca e sementes da *Passiflora cincinnata* apresentaram atividade leishmanicida, causando um percentual de morte ≥20 % contra as formas parasitárias de *L. infantum* em algumas das concentrações estudadas. O EHCCPC apresentou uma melhor atividade contra *L. infantum* nas concentrações de 250, 500 e 1000 µg/ml, causando, respectivamente, a de morte de 23,55, 25,58 e 21,40 % dos parasitas. Já os EHFPC e EHSPC apresentaram uma atividade contra *L. infantum* superior a 20 % nas concentrações de 1000 e 250 µg/ml, respectivamente.

No tocante a atividade citotóxica, o extrato que apresentou uma toxicidade mais elevada foi o EHFPC, causando a mortalidade de 68,63 % dos fibroblastos numa concentração de 1000 µg/ml. Nos demais extratos, a citotoxicidade não esteve presente em todas as doses, porém, nas concentrações em que se observou citotoxicidade a mesma apresentou-se baixa.

**Tabela 1: Atividade antipromastigota *Leishmania infantum* e *Leishmania brasiliensis*, atividade antiepimastigota *Trypanosoma cruzi* e citotoxicidade.**

Extrato	Conc. (µg/ml)	%AP ( <i>L. infantum</i> )	±DS	%AP ( <i>L. brasiliensis</i> )	±DS	%AE ( <i>T. cruzi</i> )	±DS	%AF	±DS
EHFPC	1000	22,00	0,91	0,00	1,49	0,00	1,50	68,63	0,94
	500	5,99	0,75	0,00	2,15	0,00	0,12	17,94	0,23
	250	2,48	1,12	0,00	1,29	0,00	1,34	12,20	1,15
	125	6,96	2,52	0,00	4,67	0,00	1,97	0,00	1,44
EHCCPC	1000	21,40	1,39	0,00	2,82	6,56	3,49	10,18	0,32
	500	25,58	0,04	0,00	0,77	5,97	1,72	2,52	1,05
	250	23,55	1,80	0,00	2,85	0,00	2,05	1,77	2,36
	125	0,20	1,14	0,00	3,10	0,00	2,15	0,00	1,58
EHSPC	1000	19,67	-0,52	1,96	-1,13	8,37	1,90	24,74	0,92
	500	17,48	2,04	4,22	3,67	0,00	2,26	5,13	0,12
	250	22,59	0,91	0,00	-0,89	0,00	1,75	0,89	0,49
	125	18,94	1,42	0,00	1,53	0,00	0,59	0,67	0,51
EHCPC	1000	0,00	1,99	1,65	1,55	0,00	2,12	24,21	0,23
	500	0,00	4,03	0,00	2,60	29,12	5,52	28,70	3,23
	250	0,00	0,05	5,69	2,53	0,00	1,15	15,14	1,58
	125	0,00	0,66	3,12	1,49	0,00	1,53	0,00	0,48

EHFPC - Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *Passiflora cincinnata*; EHCCPC - Extrato Hidroalcoólico da Casca de *Passiflora cincinnata*; EHSPC - Extrato Hidroalcoólico das Sementes de *Passiflora cincinnata*; EHCPC - Extrato Hidroalcoólico do Caule de *Passiflora cincinnata*; AP - Atividade Antipromastigota; DS - Desvio Padrão; AE - Atividade Antiepimastigota; AF - Atividade Antifibroblastos.

## Discussão

Os produtos naturais oferecem novas fontes e perspectivas para a descoberta de novos fármacos com propriedades terapêuticas. Pesquisas com fitoterápicos tem revelado o grande potencial na busca de novas substâncias para combater doenças negligenciadas (RONDON *et al.* 2012) dentre elas, a leishmaniose e a doença de Chagas (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2010).

Para que novos fármacos quimioterápicos sejam disponíveis para o tratamento em humanos é necessário que se faça uma avaliação prévia desses compostos *in vitro* e *in vivo* (SOARES-BEZERRA *et al.* 2004), afim de avaliar a sua eficácia e toxicidade, já que procuramos por fármacos alternativos que não apresentem toxicidade ou que sejam moderadamente tóxicos. GOSMANN *et al.* (2011) avaliaram a toxicidade aguda do extrato aquoso liofilizado de *Passiflora alata*, a qual apresentou uma toxicidade considerada baixa, entretanto, os mesmos afirmam que estudos de toxicidade de espécies desse gênero são raros. Os resultados demonstram que todos os extratos apresentam uma baixa citotoxicidade, exceto o extrato hidroalcoólico das folhas de *P. cincinnata*. O EHFPC na concentração de 1000 µg/ml apresentou uma toxicidade moderada, ocasionando a morte de 68,63 % dos fibroblastos. Para a avaliação citotóxica, podem ser utilizados diferentes modelos de células humanas, tais como:

linfócitos humanos (REYES-CHILPA *et al.* 2008), células MRC-5 (CABRAL *et al.* 2010) e macrófagos peritoneais (HOUGHTON *et al.* 2007).

Referente à atividade antiparasitária, o EHCPC foi o único que apresentou atividade tripanocida, causando 29,12 % de inibição na dose de 500 µg/ml. Já a atividade leishmanicida só foi detectada contra as formas promastigotas de *L. infantum*, sendo que o EHCCP revelou os melhores resultados, apresentando uma maior inibição dos parasitas na dose de 500 µg/ml, a qual inibiu 25,58 %. Porém os resultados não apresentam relevância, vistos que numa concentração de 500 µg/ml, somente, um percentual de inibição próximo ou maior de 50 % é considerado clinicamente relevante (ROSAS *et al.* 2007).

Este é o primeiro relato de um estudo que avaliou a atividade antileishmania e antitripanossoma de extratos obtidos a partir da *P. cincinnata*. Porém extratos de *Passiflora eudulis*, uma espécie do gênero *Passiflora*, apresenta atividade antiparasitária (BEZERRA *et al.* 2006).

## Conclusão

O presente estudo revelou que os extratos hidroalcoólicos da espécie *P. cincinnata* não apresentam atividades leishmanicida e tripanocida clinicamente relevante. Entretanto, devido à baixa citotoxicidade revelada, a *P. cincinnata* abre espaço para novos estudos biológicos.

## Referências

BERNACCI, L. C.; VITTA, F. A.; BAKKER, Y. V. *Passiflora* L. In: WANDERLEY, M. G. L.; SHEPHERD, G. J.; GIULIETTI, A. M.; MELHEM, T. S. *Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo*. São Paulo: RiMa/FAPESP, 2003, p. 248-274.

BEZERRA, J. L.; COSTA, G. C.; LOPES, T. C.; CARVALHO, I. C. D. S.; PATRÍCIO, F. J.; SOUSA, S. M.; AMARAL, F. M. M.; REBELO, J. M. M.; GUERRA, R. N. M.; RIBEIRO, M. N. S.; NASCIMENTO, F. R. F. Avaliação da atividade leishmanicida *in vitro* de plantas medicinais. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, p. 631-637, 2006.

BRIZICKY, G. K. The genera of Turneraceae and Passifloraceae in the southeastern united states. *Journal of the Arnold Arboretum*, v. 42, p. 204-218, 1961.

BUCKNER, F. S.; VERLINDE, C. L.; LA FLAMME, A. C.; VAN VOORHIS, W. C. Efficient technique for screening drugs for activity against *Trypanosoma cruzi* using parasites expressing beta-galactosidase. *Antimicrob Agents Chemother*, v. 40, p. 2592-2597, 1996.

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. Neoglicans from plants in northeastern Brazil (*Lauraceae*) with activity against *Trypanosoma cruzi*. *Exp Parasitol*, v. 124, p. 319-324, 2010.

CERVI, A. C. *Passifloraceae* do Brasil. Estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. *Fontqueria*, v. 45, p. 1-92, 1997.

CUNHA, L. C.; ALVES, L. D. S.; SANTANA, L. C. L. R.; NUNES G. B. L.; NETO, P. J. R. A Própolis No Combate A Tripanossomatídeos de Importância Médica: Uma Perspectiva Terapêutica para Doença de Chagas e Leishmaniose. *Revista De Patologia Tropical*, v.40, n. 2, p. 105-124, 2011.

DI STASI, L.C. *Plantas Mediciniais: arte e ciência*. São Paulo – SP, 1996.

DIAS, L. C.; DESSOY, M. A. 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.

GOSMANN, G.; PROVENSÍ, G.; COMUNELLO, L. N.; RATES, S. M. Composição química e aspectos farmacológicos de espécies de *Passiflora* L. (*Passifloraceae*). *Revista Brasileira de Biociências*, v. 9, p. 88-99, 2011.

HOTEZ, P. J. Neglected infections of poverty in the United States of America. *PLoS Negl Trop Dis*, 2008.

HOUGHTON P. J.; HOWES M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON G. Uses and abuses of *in vitro* tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. *J Ethnopharmacol*, v. 110, p. 391-400, 2007.

LE SENNE, A.; MUELAS SERRANO, S., FERNANDEZ PORTILLO, C.; ESCARIO, J. Á.; GÓMEZ BARRIO, A. Biological characterization of a beta-galactosidase expressing clone of *Trypanosoma cruzi* CL strain. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 97, p. 1101-1105, 2002.

LEITE, J. P. V.; OLIVEIRA, A. B.; LOMBARDI, J. A.; FILHO, J. D. S.; CHIARI, E. Trypanocidal activity of Triterpenes from *Arrabidaea triplinervia* and Derivates. *Biol Pharma Bull*, v. 29, p. 2307-2309, 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Departamento de Ciência e Tecnologia, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde. *Revista de Saúde Pública*, v.44, n. 1, 2010.

OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C. Espécies de maracujá com potencial agrônômico. In: FALEIRO, F.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 143-158, 2005.

PEREIRA, I. O.; SACRAMENTO, L. V. S.; MARQUES, M. J. Leishmanioses: o estado da arte. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde*, v. 9, n. 1, p. 220-238, 2011.

REY, L. *Leishmania* e leishmanioses: os parasitos. In: REY, L. *Parasitologia*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 214-239, 2001.

REYES CHILPA, R.; ESTRADA MUÑIZ, E.; VEJA AVILA, E.; ABE, F.; KINJO, J.; HERNÁNDEZ ORTEGA, S. Trypanocidal constituents in plants. 7. Mammea-type coumarins. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 103, p. 431-436, 2008.

RODON, F. C. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; ACCIOLY, M. P.; MORAIS, S. M.; ANDRADE JÚNIOR, H. F.; CARVALHO, C. A.; LIMA, J. C.; MAGALHÃES, H. C. R. *In vitro* efficacy of *Coriandrum sativum*, *Lippia sidoides* and *Copaifera reticulata* against *Leishmania chagasi*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 21, n. 3, p. 185-191.

ROLDOS, V.; NAKAYAMA, H.; ROLÓN, M.; MONTERO TORRES, A.; TRUCCO, F.; TORRES, S.; VEJA, C.; MARRERO PONCE, Y.; HAGUEBURU, V.; YALUFF, G.; GÓMEZ BARRIO, A.; SANABRIA, L.; FERREIRA, M. E.; ROJAS DE ARIAS, A.; PANDOLFI, E. Activity of a hydrohybinenzyl bryophyte constituent against *Leishmania spp* and *Trypanosoma cruzi*: *In silico*, *in vitro* and *in vivo* activity studies. *Eur J Med Chem*, v. 43, p. 1797-1807, 2008.

ROLÓN, M.; SECO, E.; VEJA, C.; NOGAL, J. J.; ESCARIO, J. A.; GÓMEZ BARRIO, A.; MALPARTIDA, F. Selective activity of polyene macrolides produced by genetically modified *Streptomyces* on *Trypanosoma cruzi*. *Int J Antimicrob Agents*, v. 28, p. 104-109, 2006.

ROSAS, L. V.; CORDEIRO, M. S. C.; CAMPOS, F. R.; NASCIMENTO, S. K. R.; JANUÁRIO, A. H.; FRANÇA, S. C.; NOMIZO, A.; TOLDO, M. P.; ALBUQUERQUE, S.; PEREIRA, P. S. *In vitro* evaluation of the cytotoxic and trypanocidal activities of *Ampelozizyphus amazonicus* (*Rhamnaceae*). *Braz J Med Biol Res*, v. 40, p. 663-670, 2007.

SAEIDNIA, S.; GOHARI, A. R.; UCHIYAMA, N.; ITO, M.; HONDA, G.; KIUCHI, F. Two new monoterpene glycosides and trypanocidal terpenoids from *Dracocephalum kotschyi*. *Biol Pharm Bull*, v. 52, p. 1249-1250, 2004.

SANTOS, J. L.; MATSUMOTO, S. N.; D'ARÊDE, L. O.; LUZ, I. S.; VIANA, A. E. S. Propagação vegetativa de estacas de *Passiflora cincinnata* mast. em diferentes recipientes e substratos comerciais. *Rev. Bras. Frutic*, v. 34, n. 2, p. 581-588, 2012a.

SANTOS, K. A.; MATIAS, E. F. F.; SOBRAL SOUZA, C. E.; TINTINO, S. R.; MORAIS BRAGA, M. F. B.; GUEDES, G. M. M.; ROLON, M.; VEGA, C.; ARIAS, A. R.; COSTA, J. G. M.; MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H. D. M. Avaliação da atividade anti-Trypanosoma e anti-Leishmania de *Mentha arvensis* e *Turnera ulmifolia*. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, v. 11, n. 2, p.147-153, 2012b.

SOARES BEZERRA, R. J.; LEON, L.; GENESTRA, M. Recentes avanços da quimioterapia das leishmanioses: moléculas intracelulares como alvo de fármacos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 40, n. 2, 2004.

VEGA, C.; ROLÓN, M.; MARTÍNEZ FERNÁNDEZ, A. R.; ESCARIO, J. Á.; GÓMEZ BARRIO, A. A new pharmacological screening assay with *Trypanosoma cruzi* epimastigotas expressing beta-galactosidase. *Parasitol Res*, v. 95, p. 296-298, 2005.

WHO (World Health Organization). 2013. Chagas disease (American trypanosomiasis). Organ fact sheet N° 340. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>>. Acesso em: 12 jan. 2014.

WHO (World Health Organization). 2013. Leishmaniasis. Organ fact sheet N° 375. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>>. Acesso em: 12 jan. 2014.

ZINGALES, B. *Trypanosoma cruzi*: um parasita, dois parasitas ou vários parasitas da doença?. *Revista de Biologia*, 2011.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, E. P.; SCHENKEL, G.; GOSMANN, J. C. P.; MELLO, L. A.; MENTZ, E. P. R.; PETROVICK. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Florianópolis/Porto Alegre. Editora UFSC/Editora UFRGS. p. 489-516, 2003.

Recebido: 20/07/2014

Aceito: 24/07/2014