

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TRIPANOCIDA, LEISHMANICIDA E CITOTÓXICA DO GERANIOL E CITRONELAL

Joara Nalyda Pereira Carneiro¹; Rosimeire Sabino Albuquerque¹; Nádghia Figueiredo Leite¹; Antonio Júdson Targino Machado¹; Dara Isabel Vieira de Brito¹; Miriam Rolón²; Celeste Vega²; Cathia Coronel²; Henrique Douglas Melo Coutinho¹; Maria Flaviana Bezerra Moraes-Braga¹

Resumo

Leishmanioses e tripanossomíases são doenças parasitárias globalmente difundidas com elevado índice de mortalidade e morbidade. O arsenal terapêutico é restrito e de efeitos colaterais indesejáveis. No entanto, a biodiversidade de plantas brasileiras representa rica fonte de novos compostos com potencial antiparasitário. O geraniol é um monoterpene encontrado em plantas como *Cymbopogon winteranus* e *Cymbopogon martinii*. Citronelal é um fitoconstituente monoterpênico de *Eucalyptus citriodora* e *Cymbopogon citratus*. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antiparasitária *in vitro* desses terpenoides isolados contra formas epimastigotas e promastigotas de *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania. brasiliensis*, bem como verificar sua citotoxicidade em células de mamíferos. As substâncias foram testadas nas concentrações de 50 e 100 µg/mL, contudo, geraniol demonstrou baixa atividade contra *T. cruzi*, nestas concentrações, não demonstrando efeito contra promastigotas de *L. brasiliensis* e revelando elevada citotoxicidade sobre células de mamíferos. O citronelal apresentou atividade moderada antipromastigota revelando altos índices de citotoxicidade.

Palavras-chave: Atividade antiparasitária; citototoxicidade; monoterpenos.

ACTIVITY ASSESSMENT TRYPANOCIDAL, LEISHMANICIDE CYTOTOXIC AND THE GERANIOL AND CITRONELAL

Abstract

Leishmaniasis and trypanosomiasis are globally widespread parasitic diseases with high mortality and morbidity. The therapeutic arsenal is restricted or undesirable side effects. However, the biodiversity of Brazilian plants is rich source of new compounds with potential antiparasitic. The monoterpene geraniol is found in plants such *Cymbopogon winteranus* and *Cymbopogon martinii*. Citronelal is a phytoconstituent monoterpene from *Eucalyptus* and *Cymbopogon citratus*. The objective of this study was to evaluate the *in vitro* antiparasitic activity of these terpenoids isolated against epimastigotes and promastigotes of *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania brasiliensis* and verify their cytotoxicity in mammalian cells. The substances were tested at concentrations of 50 and 100 µg/ml, however, geraniol showed low activity against *T. cruzi* in such concentrations that showed no effect against *L. brasiliensis* promastigotes and showing high cytotoxicity to mammalian cells. Citronelal showed moderate activity antipromastigota revealing high levels of cytotoxicity.

Keywords: antiparasitic activity; cytotoxicity; monoterpenes.

Introdução

Doenças negligenciadas são aquelas causadas por agentes infecciosos ou parasitas consideradas endêmicas em regiões de baixa-renda, como na África, América Latina e Ásia. Por conta do baixo investimento em pesquisas, produção de medicamentos e controle, enfermidades como leishmaniose, doença de Chagas, dengue, malária, esquistossomose, tripanossomíase africana, tuberculose, dentre outras, continuam sendo uma das principais causas de mortalidade em todo mundo, levando a óbito cerca de 1 milhão de pessoas anualmente (AFN, 2013).

¹ Laboratory of Microbiology and Molecular Biology, Regional University of Cariri, Crato, Brazil

² Centre for the Development of Scientific Investigation (CEDIC), Fundación Moisés Bertoni /Laboratorios Diaz Gill, Asuncion, Paraguay

*Autor correspondente: Maria Flaviana Bezerra Moraes Braga. Departamento de Ciências Biológicas. 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: flavianamoraissb@yahoo.com.br

O agente causador da Doença de Chagas é o *Trypanosoma cruzi*, protozoário da família Trypanosomatidae pertencente à ordem Kinetoplastida, no qual seu ciclo de vida envolve obrigatoriamente a passagem por um hospedeiro intermediário – *Triatoma infestans* (barbeiro) para um definitivo, passando por uma série de estágios. Apresenta flagelo (epimastigota e tripomastigota) ou aflagelado (amastigota) dependendo do hospedeiro (ALBARACI, 2006). Por conta do considerado fluxo de pessoas em países como Estados Unidos, Canadá e Europa, a doença vem ganhando espaço e tem se tornado problema sério, nesses países (RASSI-JR, L.; RASSI, L.; MARIN-NETO, 2010).

A leishmaniose é uma doença que ameaça homens, mulheres e crianças ao redor do mundo, afetando aproximadamente 12 milhões de pessoas. A doença pode apresentar diversas manifestações clínicas, afetando a pele, mucosas e órgãos internos. A cutânea é forma mais comum, enquanto a visceral é considerada fatal, se não tratada. É causada por protozoários do gênero *Leishmania*, transmitidos pela picada de mosquitos flebótomos infectados (WHO, 2010). Como na doença de Chagas, os parasitas causadores da leishmaniose apresentam-se diversas formas durante seu ciclo de vida: amastigota, promastigota e paramastigota (NEVES et al., 2005).

Atualmente, dois medicamentos são usados para o tratamento da doença de Chagas, o benzonidazol e nifurtimox, porém o último citado é contra indicado em pacientes com antecedentes psiquiátricos ou distúrbios neurológicos (WHO, 2010). Tanto para tratamento das leishmanioses cutâneas e viscerais, os antimoniais pentavalentes têm sido utilizados como drogas de primeira escolha, apesar de sua alta toxicidade. A anfotericina B lipossomal, pentamidina, paramomicina e miltefosine são drogas de importância por representarem novas alternativas terapêuticas, porém apresentam amplos problemas como efeitos colaterais, preço do produto e produção da formulação (PEREIRA, 2011). Devido à dificuldade de encontrar novas drogas eficazes nessas terapias e que não sejam tóxicas para o hospedeiro, produtos naturais tem sido testados e investigados suas atividades leishmanicida e tripanocida (MESQUITA et al., 2005).

Óleos essenciais são produtos resultantes do metabolismo secundário das plantas, podendo ser extraídos por todos os órgãos, como brotos, folhas, flores, caules, galhos, raízes e sementes e são armazenados em células secretoras, epidérmicas e tricomas. Devido a sua rica composição química, dentre os principais são terpenoides, alcaloides e cumarinas, os óleos essenciais tem ganhado cada vez mais notoriedade e despertado interesse, dentre pesquisadores do mundo todo, devido as suas inúmeras propriedades (RESCHKE; MARQUES; MAYWORM, 2007; BAKALLI, 2008).

O geraniol (Fig.1 A), conhecido como rhodinol, é um álcool monoterpenoide, presente na constituição química de óleos essenciais extraídos de plantas como citronela e palmarosa. Por conta de seu odor é abundantemente empregado na fabricação de perfumes e como aromatizante de alimentos (BARNARD; XUE, 2004). Além disso, possui diversas propriedades farmacológicas dentre elas, podemos citar ação inseticida e repelente (TRAINA et al., 2005; JEON; LEE, C. H.; LEE, H. S., 2009; KHALLAAYPOUNE et al., 2009), efeito helmíntico (KURAMAN et al., 2003; HIERRO et al., 2004), antimicrobiano (FRIEDMAN et al., 2002; INOUYE et al., 2001; SI et al., 2006), antioxidante (CHOI et al., 2000; TIWARI, M.; KAKKAR, P., 2009) e atividade

antitumoral *in vitro* e *in vivo*, contra leucemia, hepatoma e células de melanoma (SHOFF et al., 1991; CARNESECHI et al., 2001).

O citronelal (Fig.1 B), também pertencente ao grupo dos álcoois monoterpênicos e é o principal componente nas misturas de compostos químicos terpenoides, dando ao óleo de citronela o seu aroma característico de limão acentuado (JEONG-KYU et al., 2005). Sendo uma das substâncias majoritárias de óleos essenciais de plantas aromáticas (QUINTANS-JUNIOR et al., 2011), como as do Gênero *Cymbopogon* (BRITO et al., 2012; CAVALCANTI et al., 2011) e *Eucalyptus* (BRITO et al., 2012; TOMAZ et al., 2014) o citronelal revelou ter inúmeras atividades, dentre elas, podemos exemplificar ação antimicrobiana (SEIXAS et al., 2011; CAVALCANTI et al., 2011), alelopática (BRITO et al., 2012; TOMAZ et al., 2014), antioxidante (SCHERER et al., 2009; ANDRADE et al., 2012), herbicida (BRITO et al., 2012) e atividade inseticida e repelente (CHAGAS et al., 2002).

Esse estudo tem como objetivo avaliar a atividade antiparasitária *in vitro* de dois terpenóides isolados, o citronelal e o geraniol, geralmente encontrados em óleos essenciais, contra as formas epimastigotas e promastigotas de *T. cruzi* e *L. brasiliensis*, respectivamente, bem como verificar sua citotoxicidade em células de mamíferos.

Figura 1. Estrutura química dos monoterpênicos avaliados.



A: Geraniol; B: Citronelal

Materiais e Métodos

Substâncias utilizadas

As substâncias avaliadas foram o geraniol e citronelal fornecidas pela Empresa Sigma Chemical Co. (St. Louis, E. U. A). Como reagentes foram utilizados a Resazurina sódica obtida da Sigma-Aldrich (St Louis, MO) armazenada a 4 °C protegida da luz cuja solução de resazurina foi preparada em solução de fosfato 1% (PBS), pH 7, filtrada e esterilizada antes do uso; e o Clorofenol vermelho-β-D-galactopiranosídeo (CPRG; Roche, Indianápolis, IN) foi dissolvido em 0.9% Triton X- 100 (pH 7.4). Os antibióticos penicilina G (Ern, S.A., Barcelona, Espanha) e estreptomicina (Reig Jofré S.A., Barcelona, Espanha) foram adicionados para garantir ausência de crescimento bacteriano.

Teste de Citotoxicidade

No ensaio de citotoxicidade foram utilizadas estirpes de fibroblastos NCTC 929 sendo cultivadas em meio Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 (SIGMA) suplementado a 10% de soro fetal bovino (FBS) inativado pelo calor (30 minutos a 56 °C), penicilina G (100 U/mL) e estreptomicina (100 mg/mL). Para os experimentos, as células na fase pré-confluência foram colhidas com tripsina. Culturas de células foram mantidas a 37 °C em uma atmosfera umidificada de 5% de CO₂. O procedimento para a medição de viabilidade celular foi avaliada a partir do método de colorimetria com a metodologia proposta por Rólon et al. (2006).

As células clones foram semeadas (3×10^4) em placas de microdiluição de fundo chato de 96 poços, com 100 µL de meio cultura RPMI 1640 por poço. As células foram cultivadas durante a noite a temperatura de 37 °C e atmosfera de 5% de CO₂. Em seguida o meio foi substituído pela substância isolada testada e adicionada em diferentes concentrações em 200 µL do meio por 24 h. Foram incluídas poços como controles de crescimento. Após a incubação foi adicionado 20µL de solução resazurina a 2 mM a cada poço. As placas foram incubadas novamente durante 3 h; a redução da resazurina foi determinada por medida de absorbância do comprimento de onda a 490 e 595 nm em um leitor de microplacas.

Cada concentração foi testada três vezes. Percentagens de citotoxicidade (% C) dos produtos naturais foram determinadas da maneira como segue:

$\% C = [(A_{570} \times 117, 216 - A_{595} \times 80, 586) \text{ de amostras de teste} / (A_{570} \times 117, 216 - A_{595} \times 80,586) \text{ de controle}] \times 100$, onde, A_{570} e A_{595} representam os valores de meios de densidade óptica a 570 e 595nm, respectivamente, registrados para poços com células contendo diferentes doses do produto natural ou valor registrado para poços com células e sem produto natural (controla o crescimento positivo). Os valores 80,586 e 117,216 representam coeficientes de extinção molar para resazurina oxidada a 570 nm e 595 nm, respectivamente.

Atividade Leishmanicida e Tripanocida

Para o ensaio de atividade leishmanicida *in vitro*, foram utilizadas formas promastigotas de *L. braziliensis* (MHOM/CO/88/UA301) a 26 °C em *Schneider's* (meio para inseto) suplementado a 10% (v/v) de SBF inativado pelo calor, 2% de urina humana normal (v/v) mais penicilina e estreptomicina. O método utilizado no ensaio foi desenvolvido por Mikus e Steverding (2000) modificado, onde as culturas promastigotas de *L. brasiliensis* (2.5×10^5 parasitas/poço) foram cultivadas em placas de microdiluição. Tanto o geraniol e citronelal foram dissolvidos em dimetilsufóxido (DMSO). Foram realizadas diferentes diluições das substâncias de até 200 mL do volume final. Após a incubação de 48 h a 26 °C, foi adicionado 20 µL de solução de resazurina e a oxidação-redução foi quantificada a 570 a 595 nm. Cada concentração foi testada em triplicata. Drogas de referência foram utilizadas como controle em cada ensaio. As porcentagens antipromastigotas (%AP) foram calculadas, sendo a eficácia das substâncias testadas.

Para a avaliação tripanocida, foram utilizadas placas de microdiluição, contendo 96 poços (Sarstedt, Sarstedt, Inc.) com culturas que não atingiram a fase estacionária, de acordo com a descrição de Vega et al. (2005).

As formas epimastigotas de *T. cruzi* foram semeadas a 1×10^5 por mililitro em 200 μL e as placas foram incubadas com as substâncias testadas a 28 °C por 72 horas, foi adicionado 50 μL de solução de CPRG a fim de dar a concentração final de 200 μM . As placas foram incubadas a temperatura de 37 °C por um período de 6h adicionais e então lidas a 595 nm em espectrofotômetro.

A droga utilizada como referência foi o nifurtimox. Cada concentração foi testada em triplicata. Sendo cada experimento realizado duas vezes separadamente. O percentual de inibição (%AE) foi calculado seguindo a fórmula: $\%AE = [(AE - AEB)/(AC - ACB)] \times 100$, onde AE = absorvância do grupo experimental; AEB = branco de compostos; AC = grupo controle de absorvância; ACB = branco de meio de cultura. As soluções dos produtos naturais a serem analisadas foram preparadas em dimetilsufóxido, com a concentração final uma mistura água/DMSO jamais excedendo 0.2% do solvente final.

Resultados e Discussão

Os resultados deste trabalho mostraram que o citronelal, em ambas as concentrações testadas, apresentaram um percentual de 52,94%, enquanto o geraniol apresentou um percentual de citotoxicidade de 27,06% e 32,94%, nas concentrações de 100 e 50 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente, com relação à atividade antiepipimastigota (Tabela 1). Verificou-se que a citotoxicidade se encontra em valores elevados de aproximadamente 40 a 85%, respectivamente (Tabela 1), supondo-se que as amostras utilizadas nas concentrações de 100 e 50 $\mu\text{g/mL}$ causam efeito biocida mais expressivo contra os fibroblastos do que frente às formas epimastigotas de *T. cruzi*.

Na avaliação da atividade antipromastigota, o citronelal apresentou um efeito intermediário tendo percentuais entre 62 e 65%, entretanto sua toxicidade é elevada. O geraniol não demonstrou efeito sobre *L. braziliensis* (Tabela 1).

Tabela 1: Citotoxicidade, atividade antiepipimastigota e antipromastigota do geraniol e citronelal.

Concentrações	Citronelal		Geraniol	
	100 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$
%AE	52,94	52,94	27,06	32,94
%AP	64,42	62,92	0	0
%C	84,07	55,31	41,50	45,63
\pm %DS	5,39	4,08	5,39	3,53

Conc.: concentração; %C: percentual de citotoxicidade; %AE: percentual de atividade antiepipimastigota; %AP: percentual de atividade antipromastigota; \pm %DS: Desvio Padrão.

A exposição de células de mamíferos a uma determinada substância, observando as mudanças causadas por ela, é a base do teste de citotoxicidade. As alterações acarretadas variam desde a lise celular, a inibição da formação de colônias celulares, deslocamento dos tecidos entre outros (ROGERO et al., 2003). Os fibroblastos por serem

células de fácil manutenção e estarem presentes em fermentos, contribuindo intensamente para regeneração do tecido conjuntivo, são escolhidos em grande escala para realização de testes de citotoxicidade (RATNER et al., 2004).

Estudos mostraram que o geraniol demonstrou atividade antiparasitária contra *Leishmania infantum* (MORALES et al., 2009). A inexistência da atividade leishmanicida nos testes com geraniol contra *L. braziliensis*, diferenciando-se dos resultados obtidos por Morales et al. (2009), pode ser atribuída às alterações nas sequências genéticas, responsáveis por promoverem a variabilidade entre as espécies e consequentemente determinarem fenotipicamente a resistência destes organismos, que acaba repercutindo na ineficácia da bioatividade de alguns compostos. Estes são testes preliminares podendo revelar um potencial antiparasitário, direcionando de forma segura pesquisas *in vivo*.

As análises dos fatores bioquímicos mostraram que tanto *Leishmania* e *Trypanosoma* demonstraram vias metabólicas semelhantes a células hospedeiras, por isso o tratamento para as doenças causadas por esses protozoários é muito difícil. (SOARES-BEZERRA et al., 2004). Assim, a pesquisa por novos medicamentos com atividade antiparasitária e baixa toxicidade é muito importante, para serem usados como fontes terapêuticas no combate a tais enfermidades.

Conclusões

O geraniol apresentou uma baixa atividade contra *T. cruzi*, em ambas as concentrações e não demonstrou efeito contra as formas promastigotas de *L. braziliensis*. O citronelal demonstrou uma atividade antipromastigota moderada e baixo potencial antiparasitário contra *T. cruzi*. Em relação à citotoxicidade em células de mamíferos, ambos os monoterpenos revelaram significativo potencial citotóxico quando comparado ao efeito verificado contra as formas parasitárias.

Referências

AGÊNCIA FIO CRUZ DE NOTÍCIAS – AFN. 2013. Cidade: Manguinhos. Disponível em: <http://www.agencia.fiocruz.br/doen%C3%A7as-negligenciadas>. Acesso: em 14 de Novembro de 2014.

ALBARACI, T. R. **Estudo fitoquímico de Rauiasp. *Econchocarpus macrophyllus* (Rutaceae) e avaliação da atividade antiparasitária de extratos e substâncias isoladas.** 2006. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, 2006.

ANDRADE, M.A. et al. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 2, p. 399-408, 2012.

BAKALLI, F. et al. Biological effects of Essentials oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 36, n.2, p. 446-475, 2008.

- BARNARD, D. R.; XUE, R. Laboratory evaluation of mosquito repellents against *Aedes albopictus*, *Culex nigripalpus* and *Ochlerotatus triseriatus* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 41, n. 4, p. 726-730, 2004.
- BRITO, D.V. et al. Effect of citronella oil, eucalipto and citronellal compound of mycoflora and development of maize plants. **Journal of Biotechnonology and Biodiversity**, v.3, p. 184-192, 2012.
- CARNESECHI, S. et al. Geraniol, a component of plant essential oils, inhibits a growth and polyamine biosynthesis in human colon cancer cells. **The Journal of Pharmacology and experimental therapeutics**, v. 298, n.1, p. 197-200, 2001.
- CAVALCANTI, Y. M.; ALMEIDA, L.F.D.; PADILHA, W.W.N. Screening of essential oils antifungal activity on *Candida* strains. **Odontologia Clínica-Científica**, Recife, p. 243-246, 2011.
- CHAGAS, A. C. S. et al. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 39, p. 247-253, 2002.
- CHOI, H. S. Radical-scavenging activities of citrus essential oils and their components: detection using 1, 1 - diphenyl-2-picrylhydrazyl. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, p. 4156-4161, 2000.
- FRIEDMAN, M.; HENIKA, P. R; MANDRELL, R. E. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*. **Journal of Food Protection**, v. 10, p. 1545-1560, 2002.
- HIERRO, I. Action of different monoterpenic compounds against *Anisakis simplex* s. I. L3 larvae. **Phytotherapy**, v. 11, p.77-82, 2004.
- INOUE, S.; TAKIZAWA, T.; YAMAGUCHI, H. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 47, p. 565-573, 2001.
- JEON, J. H.; LEE, C. H.; LEE, H. S. Food protective effect of geraniol and its congeners against stored food mites. **Journal of Food Protection**, v. 72, p.1468-1471, 2009.
- JEONG-KYU, K. et al. Evaluation of Repellency Effect of Two Natural Aroma Mosquito Repellent Compounds Citronella and Citronellal, **Entomological Reserach**, v. 35, n.2, 117-120, 2005.
- KHALLAAYOUNE, K. et al. Efficacy of 1% geraniol (Fultec) as a tick repellent. **Parasite**, v.16, p.223-226, 2009.
- KURAMAN, A. M. et al. Geraniol, the putative anthelmintic principle of *Cymbopogon martinii*. **Phototherapy Research**, v. 17, p. 957, 2003.
- MESQUITA, M. L. et al. Antileishmanial and trypanocidal activity of Brazilian Cerrado plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 7, p. 783-787, 2005.
- MIKUS J.; STEVERDING, D. A simple colorimetric method to screen drug cytotoxicity against *Leishmania* using the dye Alamar Blue. **Parasitol International**, v.48, p. 265-269, 2000.
- MORALES, M. et al. Activity of different monoterpenic derivatives of natural origin against *Leishmania infantum* promastigotas. **Revista Ibero-latino americana de Parasitologia**, v.1: p. 65-72, 2009.
- NEVES, D. P. et al. **Parasitologia Humana**. 11 ed. São Paulo, p.47-64, 2005.
- PEREIRA, IO.; SACRAMENTO L.V.S.; MARQUES, M.J.; Leishmanioses: o estado da arte. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**. v.9, n.1, p.220-38, 2011.

QUITANS-JUNIOR, L. et al. Antinociceptive action and redox properties of citronelal, an essential oil present in lemon grass. **Journal of Medicinal Food**, v.14, n.6, p.630–639, 2011.

RASSI-JR, A.; RASSI, A.; MARIN-NETO, J.A. Chagas disease. **PubMed**, v. 375, n. 9723, p.1388-402, 2010.

RATNER, B. et al. Biomaterials science: an introduction to materials in medicine. Second Edition, **Elsevier Academic Press**, 2004.

RESCHKE, A.; MARQUES, L.M.; MAYFORM, M.A.S. Atividade antibacteriana de *Ficus benjamina* L. (Moraceae) **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais: brazilian jornal of medicinal plants**, Botucatu, v. 9, n. 2, p. 67-70, 2007.

ROGERO, S. O. et al. Teste *in vitro* de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. **Materials Research**. São Carlos, v. 6, n. 3, p. 317-320, 2003.

ROLÓN, M. et al. Selective activity of polyene macrolides produced by genetically modified *Streptomyces* on *Trypanosoma cruzi*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 28, n. 2, p. 104 -109, 2006.

SCHERER, R. et al. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-india, citronela e palmarosa. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.11, n.4, p.442-449, 2009.

SEIXAS, T.L.; CASTRO, H.C.; SANTOS, G.R.; CARDOSO, D.P.; Controle fitopatológico do *Fusarium subglutinans* pelo óleo essencial do capim-citronela (*Cymbopogon nardus* L.) e do composto citronelal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, Especial, pp. 523-526, 2011.

SHOFF, S. M. et al. Concentration- dependent increase of murine P388 and B16 population doubling time by the acyclic monoterpene geraniol. **Cancer Research**, v.51,p. 37- 42, 1991.

SI, W. et al. Antimicrobial activity of essential oils and structurally related synthetic food additives selected pathogenic and beneficial gut bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v.100, p. 296-305, 2006.

SOARES-BEZERRA, R.J.; LEON, L.; GENESTRA, M.M. Recentes avanços da quimioterapia das leishmanioses: moléculas intracelulares como alvo de fármacos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Science**,v.40, p. 139–149, 2004.

TIWARI, M.; KAKKAR, P. Plant derived antioxidants-geraniol and camphene protect rat alveolar macrophages against t-BHP induced oxidate stress. **Toxicology in Vitro**, v.23, p. 295-301, 2009.

TOMAZ, M.A. et al. Chemical Composition and Allelopathic Activity of the *Eucalyptus* Essential Oil. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, p. 475-483, 2014.

TRAINA, O. et al. In vitro acaricidal activity of four monoterpenes and solvents against *Otodectes cynotis* (Acari: Psoroptidae). **Experimental and Applied Acarology**, v.37,p. 141-146, 2005.

VEGA, C. et al. A new pharmacological screening assay with *Trypanosoma cruzi* epimastigotas expressing beta-galactosidase. **Parasitol Research**, v. 95, p. 296–298, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2010. Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases: First WHO report on neglected tropical diseases. – WHO. Disponível em:http://www.who.int/neglected_diseases/2010report/NTD_2010report_embargoed.pdf Acesso: em 14 de Novembro de 2014.

Recebido: 13/02/2015

Aceito: 22/02/2015