

EFEITO DE DEZ PLANTAS DO CERRADO BRASILEIRO SOBRE A VIABILIDADE DE PROMASTIGOTAS DE *Leishmania amazonensis*

EFFECT OF TEN BRAZILIAN CERRADO PLANTS ON THE VIABILITY OF *Leishmania amazonensis* promastigotes

Data de entrega dos originais à redação em: 07/05/2015
e recebido para diagramação em: 12/08/2015.

Nadjania Saraiva de Lira Silva ¹
Patrícia de Castilhos ²

O objetivo deste trabalho foi testar a ação de dez plantas nativas do bioma Cerrado sobre a viabilidade celular de promastigotas de *Leishmania amazonensis*, bem como analisar quais espécies interferem no crescimento do parasito. Os extratos aquosos foram produzidos por decoção a 50%. A viabilidade celular foi testada em placas de 96 poços, adicionados a cada poço 100µL de extrato e 1X10⁵ promastigotas de *Leishmania amazonensis*, e incubados por 4, 24 e 48 horas a 25°C com concentração final de todos os extratos de 25%. Dos dez extratos aquosos testados que mostraram melhor ação no parasito foram liofilizados para melhor análise: *Cecropia pachystachya*; *Pouteria ramiflora*, *Enterolobium contortisiliquum* e *Handroanthus heptaphylus*, testados a 1mg; 0,5mg; 125mg e 0,25mg/mL durante 24 e 48 horas a 25°C. A viabilidade dos parasitos em todos os testes foi determinada pelo corante azul de Tripán (20µL/0,5%), utilizando-se de microscópio óptico. Os dez extratos na forma aquosa a 25% (concentração final) inibiram o crescimento da *L. amazonensis* após 48 horas, mas somente quatro inibiram nas primeiras horas (4 e 24 horas), sendo liofilizados. Estes quatro mostraram inibição satisfatória de 50% e 100% nas concentrações de 1 e 0,5mg/mL em 48 horas, sendo importantes candidatas a plantas terapêuticas para o tratamento de leishmaniose tegumentar.

Palavras-chave: Viabilidade Celular. *Leishmania Amazonensis*. Inibição de Crescimento.

The objective of this study was to test the action of ten plants of the Cerrado biome on cell viability of *Leishmania amazonensis* promastigotes and analyze which species interfere with the parasite's growth. The aqueous extracts were produced by decoction 50%. The cell viability was assayed in 96 well plates added to each well and 100 µL extract 1X10⁵ promastigotes of *Leishmania amazonensis* and incubated for 4, 24 and 48 hours at 25°C with a final concentration of all extracts 25%. Of the ten aqueous extracts tested, these showed better action in the parasite for further freeze-dried analysis: *Cecropia pachystachya*; *Pouteria ramiflora*, *contortisiliquum* *Enterolobium* and *Handroanthus heptaphylus*, tested at 1mg; 0.5mg; 125mg and 0.25 mg / ml at 24 and 48 hours a 25 ° C. The viability of the parasites in all tests was determined by trypan blue dye (20µL/ 0.5 /%) by using an optical microscope. The ten statements in aqueous form at 25% (final concentration) inhibited the growth of *L. amazonensis* after 48 hours. However, only four inhibited in the early hours (4 to 24 hours), and these were freeze-dried. These four showed satisfactory inhibition of 50% and 100% at concentrations of 1 and 0.5 mg / mL within 48 hours, which make them important candidates for therapeutic plants for the treatment of cutaneous leishmaniasis.

Keywords: Cell Viability. *Leishmania Amazonensis*. Growth Inhibition.

1 INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Tegumentar é uma grave doença que transmitida através da picada do inseto, flebotomíneo, que transmite a forma promastigota do parasito *Leishmania* ao homem. (ALVAR, YACTAYO, BERN, 2006). A forma cutânea se caracteriza pelo desenvolvimento de úlceras na pele que se diferenciam de acordo com a espécie do parasito, entre essas, se destaca a *Leishmania amazonensis* (NETO et al., 2008).

A *Leishmania amazonensis* desencadeia lesões únicas ou em número limitado, com intensa carga parasitária, não originando metástases na mucosa oronasal. Esse protozoário é responsável por desenvolver

a Leishmaniose cutânea difusa, caracterizada por formar diversos nódulos tegumentares que se espalham por todo o corpo. Essa forma clínica não possui cura, sendo a mais grave entre a Leishmaniose Tegumentar (NETO et al., 2008).

O primeiro tratamento utilizado contra a Leishmaniose Tegumentar foi o tártaro emético, um antimônio trivalente, desenvolvido por Gaspar Viana, que constituiu por muitos anos a única droga terapêutica disponível para uso pela sociedade (NEVES et al., 2011). Contudo, esse composto químico apresenta toxicidade e efeitos colaterais nos pacientes que os utilizam (RATH et al., 2003).

1 Graduada em Licenciatura em Ciências Biológicas pelo Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia - Mestranda em Biologia Celular e Estrutural na Universidade Federal de Uberlândia. Rua Iguazu, Umuarama. CEP: 38405-328. Uberlândia-MG - Telefone: (61) 3642-9474. <nadjianasaraiva@gmail.com>.

2 Mestra em Imunologia e Parasitologia - Doutoranda em Imunologia e Parasitologia - Professora do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, câmpus Formosa. Rua 54, esq. c/Rua 11, s/n, Expansão Parque Lago. CEP: 73813-816. Formosa-GO. Telefone: (61) 3642-9474. <patriciadecastilhos@yahoo.com.br>.

Atualmente, as drogas disponíveis para o tratamento da Leishmaniose são de uso limitado, uma vez que algumas cepas do protozoário *Leishmania sp* desenvolveram resistência, bem como desencadeiam diversos efeitos colaterais, e apresentam alto custo financeiro (MUSA et al., 2010). Diversos estudos estão sendo realizados para desenvolver drogas alternativas para agirem contra o crescimento desse parasito. Dentre os novos estudos realizados, destaca-se a pesquisa com plantas medicinais que apresentam nova perspectiva de descoberta de compostos que inibam o crescimento do protozoário *Leishmania* (SILVA et al., 2010).

Novos estudos sobre o poder medicinal das plantas é de extrema importância, especialmente das plantas do Cerrado, que tradicionalmente são utilizadas na medicina popular. Algumas pesquisas têm mostrado que o óleo de *Eugenia uniflora* L. (Pitanga), Malvaceae, possui mais de vinte compostos químicos que interferem no crescimento de *Leishmania amazonensis*, entre eles se destaca o sesquiterpênico sendo o mais abundante no total da composição. Tal óleo da *Eugenia uniflora* inibiu 100% as formas promastigota em 72 horas, e foi 20% mais tóxica para amastigotas que para os macrófagos (RODRIGUES et al., 2013).

Diante da gravidade da doença Leishmaniose Tegumentar e da necessidade de novas alternativas para o tratamento, o presente trabalho objetivou avaliar a atividade dos extratos de plantas do Cerrado, sobre a viabilidade das formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* em diferente com diferentes concentrações.

2 METODOLOGIA

2.1 Plantas

As folhas das árvores foram coletadas no primeiro semestre de 2013 no Parque Ecológico Mata da Bica, localizado na cidade de Formosa, Goiás, sendo identificadas no momento da coleta pelos autores da pesquisa. As amostras como prova foram depositadas no herbário do IFG (Tabela 1).

2.2 Preparação dos extratos

No laboratório, as folhas eram pesadas na balança eletrônica, em seguida lavadas com água

corrente para retirar sujeira e poeira existente no material. As mesmas eram submersas em uma solução com água e hipoclorito de sódio (NaClO) a 3%, durante meia hora. Após a lavagem em NaClO, as folhas foram novamente colocadas em água corrente para retirar qualquer vestígio do composto químico. Em seguida foram produzidos 10 extratos a partir de espécies nativas do Cerrado, a 50% por decocção. No processo de decocção foram adicionados as folhas e água destilada em um béquer para ser aquecido na chapa aquecedora, esperando 5 minutos após o início da fervura, obtendo extrato a 50%. Posteriormente, o extrato era filtrado com papel filtro, depois, filtrados novamente com microfiltro de seringa 0,20 µm para conservar a solução esterilizada, sendo armazenados na geladeira (VIECELLI; SILVA, 2009).

Os extratos produzidos por decocção foram denominados de extratos aquosos tendo concentração final de 25% no momento dos experimentos com os parasitos. Destes dez extratos aquosos, os que tiveram melhores resultados na viabilidade celular foram liofilizados: *Cecropia pachystachya*; *Pouteria ramiflora*, *contortisiliguum Enterolobium* e *Handroanthus heptaphylus*.

Os quatro extratos foram liofilizados pelo aparelho LioTop Modelo G-108, que consiste na retirada da molécula de água, transformado, assim, os extratos líquidos em pó. Posteriormente, os extratos liofilizados foram diluídos em 0,9% em tampão fosfato salina (PBS) a concentrações de 1 mg/ml; 0,5 mg/ml; 0,25 mg/ml; 0,125 mg/ml, e testados quanto ao seu efeito sobre a viabilidade celular às 24 e 48h.

2.3 Parasitas

As cepas de *Leishmania amazonensis* isoladas de pacientes atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) foram gentilmente cedidas pelo Dr. Claudio Vieira da Silva, professor da UFU e responsável pelo Laboratório de Tripanosomatídeos UFU.

Os parasitos foram cultivados em axénica BHI (soro fetal bovino) suplementado com 10% de soro fetal bovino e antibiótico (penicilina, gentamicina, estreptomicina) e L-glutamina até atingirem a fase estacionária. As promastigotas de *Leishmania amazonensis* foram utilizadas em todas as experiências.

Tabela 1 - Lista de espécies de árvores utilizadas para produzir os extratos

Espécie	Família	Nome comum
<i>Anacardium humile</i> Saint	Anacardiaceae	Caju do cerrado
<i>Saint Bixa orellana</i> L	Bixaceae	Colorau
<i>Cecropia pachystachy</i> Trecil	Cecropiaceae	Embaúba
<i>Dipteryx alata</i> Vogel	Fabaceae	Baru
<i>Enterolobium contortisiliguum</i> (VELL) Morong	Fabaceae	Tamboril
<i>Pouteria ramiflora</i> Mart	Sapotaceae	Grão de galo
<i>Passiflora edulis</i> Sims	Passifloraceae	Maracujá
<i>Moruss sp.</i> Poiret	Rosaceae	Amora
<i>Xylopia aromatica</i> (LAM.) Mart	Annonaceae	Pimenta de macaco
<i>Handroanthus heptaphylus</i> Vell	Bignoniaceae	Ipê-rosa

2.4 Ensaio em promastigotas de *L. amazonensis*

Em seguida, as formas promastigotas foram avaliadas quanto a sua viabilidade na presença de diferentes extratos de plantas do Cerrado. Em uma placa de 96 poços foram adicionadas 100 µL de solução de promastigotas, *Leishmania amazonensis*, (1×10^5 parasitos/poço) e incubados a 25° C por 4 (quatro), 24 (vinte e quatro) e 48 (quarenta e oito) horas com os extratos aquosos na concentração de 50% , com a concentração final de cada extrato de 25% por poço. Para obtenção do controle positivo foram testados com meio de cultura axênico e PBS.

Os ensaios com os extratos liofilizados foram realizados como descrito anteriormente. sendo avaliados em 24 (vinte e quatro) e 48 (quarenta e oito) horas. Todos os experimentos foram realizados em duplicata e repetidos pelo menos 2 vezes.

No final de 4, 24 e 48 horas de ambos extratos (aquosos e liofilizados) foram adicionados 20 µL de solução de Azul de Tripán (0,5%) e mantidas em câmara de contagem Neubauer para microscopia óptica. Além disso, a avaliação da viabilidade das células foi testada na presença de PBS para verificar a influência dos extratos de solventes do experimento.

2.5 Análise estatística

Os experimentos dos extratos foram realizados em duplicado em três experiências independentes, gerando seis resultados para análise. A diferença foi expressa estatisticamente $P < 0,05$ usando análise de variância, em GraphPad Prism 6.0.

3 RESULTADOS

O presente estudo observou que determinadas espécies arbóreas nativas do Cerrado apresentaram a capacidade de afetar o crescimento da forma promastigota de *Leishmania amazonensis*, ao longo de 48 horas. Entre as dez espécies analisadas (extrato aquoso), quatro

apresentaram resultados satisfatórios: Embaúba (*Cecropia pachystachya*); Grão de Galo (*Pouteria ramiflora*); Tamboril (*Enterolobium contortisiliquim*) e Ipê-rosa (*Handroanthus heptaphylus*) mostrando viabilidade entre 0 a 9% (Figura 1). Segundo teste Anova houve diferença estatística entre os extratos *Cecropia*, *Pouteria*, *Enterobium*, *Handroanthylus* com o controle de $P = 0,0001$ em 48 horas.

A partir destes dados, observou-se que apenas *Cecropia*, *Pouteria* inibiram o crescimento de *Leishmania* em 100% e de 50% a concentrações de 1 mg e de 0,5 mg (Figura 2), ($P \leq 0,04$ e 1 mg de controle).

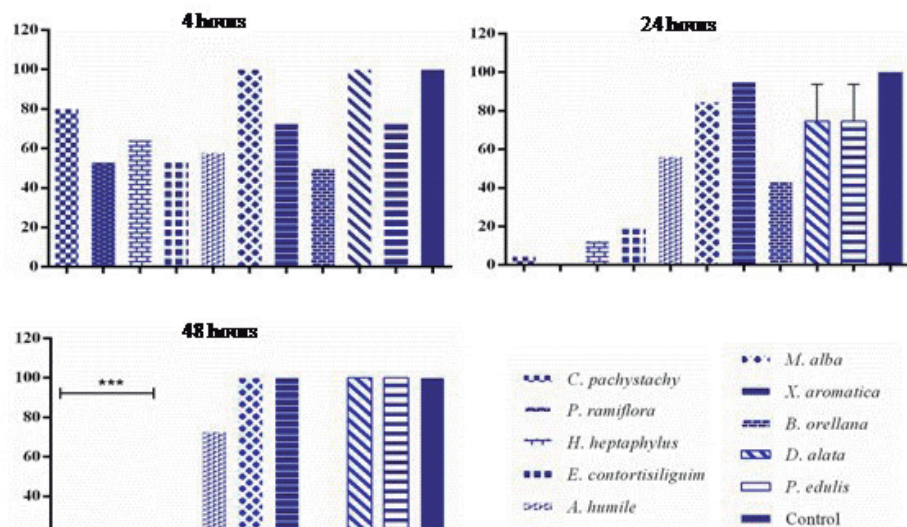


Figura 1 - Percentagem de viabilidade de 10 aquosos de tempo extracto de 4 horas, 24 horas e 48 horas.

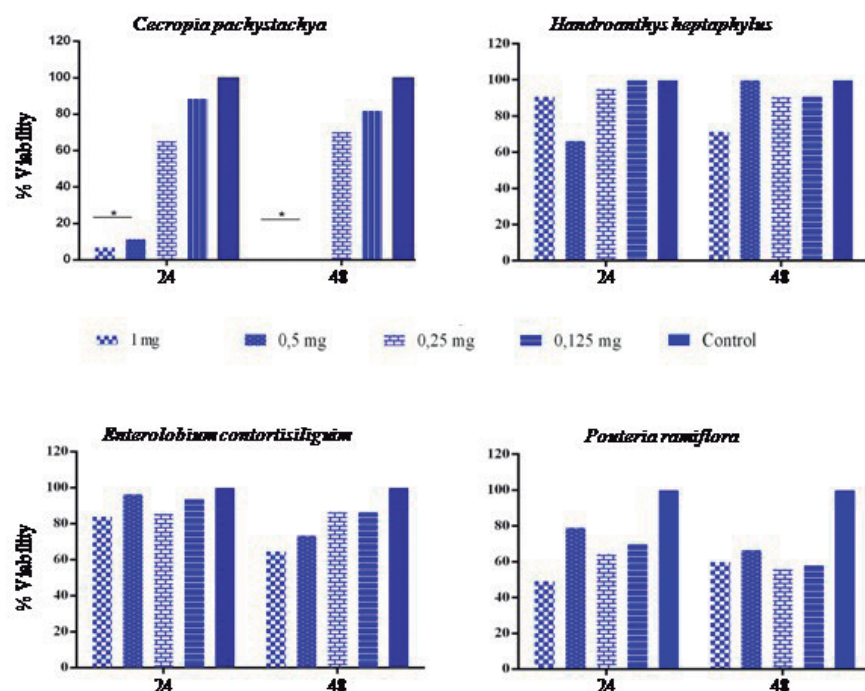


Figura 2 - Percentagem da viabilidade do extrato liofilizado de *Cecropia*, *Pouteria*, *Enterolobium* e *Handroanthus* o crescimento da *Leishmania amazonensis* durante 24 horas e 48 horas.

4 DISCUSSÃO

A avaliação dos 10 extratos de plantas do Cerrado testados permitiu a análise da influência que cada extrato que tinha sobre a viabilidade de promastigotas de *Leishmania amazonensis*. O extrato *Cecropia pachystachya* (*C. pachystachya*) inibiu o crescimento de *L. amazonensis* 100% a 25%, bem como na concentração de 1 mg/ml e 0,5 mg/ml. Este efeito inibitório pode estar relacionado a propriedades químicas existentes na folha. Cruz et al. (2010), descobriram que o glicosido flavonóide presente em desarruma estrutura K-folha de ADN e inibe a ação da enzima arginase, que atua sobre a inibição da produção de óxido nítrico (NO). Arginase é uma das enzimas que são responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento do protozoário *Leishmania* sp.

Além disso, outros estudos constataram que essa planta possui ação anti-inflamatória, quando injetada em 1mg/mL e 0,5 mg/mL nos edemas induzidos em ratos, diminuindo-os entre 72% a 65% (PACHECO et al., 2014). O gênero *Cecropia*, também, oferece outros benefícios para saúde dos seres vivos. Lima-Landman et al. (2007) testaram a ação da espécie *Cecropia glaziovii*, preparada com extrato aquoso a 2%, na atividade anti-hipertensiva, observando que tal efeito se manteve ao longo dos 60 dias de tratamento em ratos hipertensivo. Esses trabalhos mostram que *Cecropia* apresenta efeito benéfico para saúde, em diferentes formas de obtenção de extrato, ou seja, aquoso ou em álcool.

O extrato de *Pouteria ramiflora* (*P. ramiflora*) testado nas formas promastigotas, também, demonstrou alteração na viabilidade em 50% a 58% com 1mg e 0,5 mg no tempo de 24 e 48h. Esses dados mostram que esta espécie apresenta melhores resultados em concentração maior de extrato.

Em relação às propriedades químicas da *Pouteria ramiflora*, Júnior (2004) testou a ação do extrato etanólico, obtido da raiz de *Pouteria*, na diminuição da dor em ratos. Com 50mg/Kg desse extrato, observou diminuição significativa do número de contorções, já com 100mg/Kg, as contorções foram bloqueadas totalmente. SOUZA et al. (2012), demonstraram que o extrato aquoso do gênero *Pouteria* inibiu a ação da enzima tirosina quinase entre 79% a 100% sendo uma nova fonte terapêutica para tratar doença de hiperpigmentação, já que esta enzima é responsável pela produção da melanina.

Enterolobium contortisiliquime e *Handroanthys heptaphylus* (nomeado antigamente como *Tabebuia heptaphylus*) foram as duas espécies que não apresentaram resultados relevantes na viabilidade das formas promastigotas de *L. amazonensis*, visto que praticamente não inibiram o crescimento do protozoário ao longo do tempo.

Enterolobium possui em sua composição química a proteína tirosina inibitória que dificulta a adesão celular, migração e invasão de células cancerígenas gástricas, contribuindo em novas alternativas para o tratamento do câncer (PAULA et al., 2012). Outro estudo mostrou que o óleo produzido a partir da semente dessa espécie mata totalmente as bactérias *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* e *Micrococcus luteus*, devido à presença de dois compostos químicos, carvone e estragole (SHAHAT et al., 2008).

O gênero *Handroanthys* tem apresentado atividade na inibição do crescimento de diversos patógenos. Byeoung-Soo et al. (2006) demonstraram que a espécie *Handroanthys impetiosa* (ipê-roxo) atua contra o crescimento da bactéria *Helicobacter pylori* devido a presença de naftoquinona na casca da raiz. Esse composto, também, apresentou atividade inibitória no crescimento de outras bactérias intestinais como *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis* e *Lactobacillus acidophilus*.

Teixeira et al. (2014), testou a eficácia do extrato de *Handroanthys impetiosa* com 1mg; 0,5 mg; 0,25 e 0,06 mg/mL contra o crescimento da forma promastigota *Leishmania amazonensis*, e observou que em nenhuma dessas concentrações apresentaram efeitos significativo contra esse parasito.

Entretanto, o extrato da casca dessa espécie, *Handroanthys impetiosa*, possui efeito genotóxico nas células sanguíneas. Esses dados foram observados por Odilon et al. (2012), que testaram a atividade desse extrato em células sanguíneas de ratos, constatando que as células tiveram danos no DNA, e a taxa de sobrevivência caiu após 24h.

Estudos com outras plantas do Cerrado existente na literatura mostram que esse bioma contém uma rica flora com poder medicinal, principalmente, ação contra microorganismos patogênicos, incluindo o protozoário *Leishmania* sp. Lopes et al. (2012) demonstraram que a semente de espécie *B. orellana* apresenta atividade antileishmanicida contra as espécies *L. amazonensis* e *L. chagasi*, devido à presença de geraniolgeraniol. Esse composto químico modifica a morfologia da *Leishmania*, arredondando e inchando o parasito, assim como, rompe a membrana plasmática, provoca a lise celular e altera a membrana flagelar da forma promastigota Além disso, os mesmos autores observaram que geraniolgeraniol, constituindo 50% na semente da *B. orellana*, despolariza a membrana mitocondrial do parasito.

Igualmente, *B. orellana* atua em outros tipos de enfermidades como anti-inflamatório, problema do fígado, tuberculose, antibacteriano, antidisentérico, antioxidante e cicatrizante (PAZ, 2006). Nosso estudo foi sobre a folha da planta e talvez por isso a atividade antes observada, não demonstrou resultados satisfatórios nas primeiras horas de cultivo celular do nosso estudo.

Do mesmo modo, *Passiflora edulis* apresenta, também, atividade anti-inflamatória, analgésico e diminui edemas. Além de aumentar o número de fibroblasto e formação de colágeno, atuando como importante cicatrizante (FILHO et al., 2010). Raimava e colaboradores (2014) observaram que tanto folha quanto a haste de diferentes espécies do gênero *Passiflora*, possuem altas quantidades de compostos fenólicos. Além disso, registraram alta potencial antioxidante a partir do extrato metanólico produzido da haste de *Passiflora quadrangularis* e *Passiflora edulis*.

5 CONCLUSÃO

Constatou que entre os dez extratos testados, todos inibiram o crescimento da *Leishmania amazonensis* após 48 horas. Entretanto, apenas quatro extratos manifestaram uma inibição satisfatória desde o primeiro

momento de cultivo celular (*Cecropia pachystachya*; *Pouteria ramiflora*; *Enterolobium contortisiliquum* *Handroanthys heptaphylus*), com viabilidade entre 0 e 6% das formas promastigotas de *Leishmania* em concentração de 25%.

Quando essas quatro espécies de plantas após liofilizadas foram testadas novamente, o efeito diminuiu, onde apenas *Cecropia* e *Pouteria* apresentaram efeito entre 0 a 50% na viabilidade do crescimento da promastigota *L. amazonensis*. Isso mostra que os extratos diluídos em água proporcionam melhores efeitos dos compostos químicos presentes nas plantas não alteraram a ação dos mesmos.

Portanto, o presente trabalho constatou que plantas do Cerrado possuem compostos químicos que atuam na viabilidade celular de *Leishmania amazonensis*, podendo ser mais bem avaliadas nesse sentido.

REFERÊNCIAS

ALVAR J, YACTAYO S, BERN C. *Leishmaniasis and poverty*. **Trends in Parasitology**, vol. 22, p. 552-557, 2006.

AVELAR-FREITAS BA., ALMEIDA VG, PINTO MCX et al. Trypan blue exclusion assay by flow cytometry. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 47, p. 307-315, 2014.

BYEOUNG-SOO P, LEE H, LEE S, PIÃO X, TAKEOKA GR, WONG RY, AHN Y, KIM J. Antibacterial activity of *Tabebuia impetiginosa* Martius ex DC (Taheebo) against *Helicobacter pylori*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, p. 255-262, 2006.

CRUZ EM, SILVA ER, MAQUIAVELI CC, ALVES ESS, LUCON JF, REIS MBG, TOLEDOE CEM. et al. Leishmanicidal activity of *Cecropia pachystachya* flavonoids: Arginase inhibition and altered mitochondrial DNA arrangement. **Journal homepage**, v. 89, p. 71-77, 2013.

FILHO NNA, ROEL AR, PORTO KRA, SOUZA RO, COELHO RM, PORTELA A. Toxicidade do extrato aquoso das folhas de *Anacardium humile*, *Bemisia tuberculata*. *Ciência Rural*, v.40, p. 1689-1694, 2010.

JUNIOR, É. A. F. **Investigação das possíveis atividades antinociceptiva e antiinflamatória do extrato etanólico de raiz de *Pouteria ramiflora* radlt.** 2004. 74f. Dissertação de mestrado (Neurociência e Biologia Celular). Belém: Universidade Federal do Pará, 2004.

LIMA-LANDMAN MT, BORGES AC, CYSNEIROS RM, DE LIMA TC, SOUCCAR C, LAPA A.J. Antihypertensive effect of a standardized aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneath in rats: an in vivo approach to the hypotensive mechanism. *Phytomedicine*. v. 14, p. 314-20, 2007.

LOPES MV, DESOTI VC, CALEARE AO, UEDA-NAKAMURA T, SILVA SO, NAKAMURA CV. Mitochondria Superoxide Anion Production Contributes to Geranylgeraniol-Induced Death in *Leishmania amazonensis*. **Research Article**, v. 10, p. 1-9. 2012.

MICHALICK, M. S. M. Gênero *Leishmania*. In: NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 11 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

MULEME H, REGUEIRA RM, BERARD A, AZINWI R, JIA P, OKWORI IB, BEVERLEY S, EUZONNA J. Infection with arginase deficient *Leishmania major* reveals a parasite number-dependent and cytokine – independent regulation of host cellular arginase activity and disease pathogenesis. **Journal Immunologia**, p. 1- 18. 2009.

MUSA AM, NOAZINS, KHALIL EAG, MODABBER F. Immunological stimulation for the treatment of leishmaniasis: a modality worthy of serious consideration. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v.104, p. 1–2, 2010.

NETO VA, GRYSCHKE RCB, AMATO VSA, TUON FF. **Parasitologia: Uma abordagem clínica**. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2008.

NEVES, D. P; MELO, A. L.; LINARDI, P. M.; VITOR, R. W. A. **Parasitologia Humana**. 12ªed. São Paulo: Atheneu. 2011.

ODILON A, LEMOS JCM, SANCHES C, ANDRÉA OC. Genotoxic effects of *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex DC.) Standl. (Lamiales, Bignoniaceae) extract in Wistar rats. *Genetics and Molecular Biology*, v. 35, p. 498-502. 2012.

ORSI, P. R; BONAMIN, F.; SEVERI, J. A.; SANTO, R.; VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, A.; ESTASI L.. *Hymenaea stigonocarpa* Mart. e Hayne: A Brazilian medicinal plant with gastric and duodenal anti ulcerand antidiarrheal effects in experimental rodent models. **Journal Ethnopharmacology**. v. 143, p. 81-90. 2012.

PACHECO NR, PINTO NCC, SCIO E. *Cecropia pachystachya*: a species with expressive *in vivo* topical anti-inflammatory and *in vitro* antioxidant effects. **Biomedicine Research International**, p. 1-36, 2014.

PAULA CAA, COULSON-THOMAS VJ, OLIVA ML. *Enterolobium contortisiliquum* trypsin inhibitor (EctI), a plant proteinase inhibitor, decreases *in vitro* cell adhesion and invasion by inhibition of src protein-focal adhesion kinase (FAK) signaling pathways. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 2. p. 170-187. 2012.

PAZ, J.; BALDOCHI, M. R.; PRADO, F. O.; MARTINS, C. H.G.; LOPES, R. A.; RIBEIRO, A. F.; SALA, M. A.. Estudo hematológico em ratos sob ação de plantas medicinais. XXXVIII. Ação da bixina, um corante alimentar natural extraído de *Bixa orellana* L.. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 8, p. 157-161. 2006.

RATH S, TRIVELINI LA, IMBRUNITO TR, TOMAZELO DM, JESÚS MN, PERCY CM. **Química Nova**, v. 26, p. 550-555. 2003.

RODRIGUES KAF, AMORIM LV, OLIVEIRA JMG, DIAS CN, MORAES DFC, ANDRADE EHA. et al. *Eugenia uniflora* L. Essential Oil as a Potential Anti-*Leishmania* Agent: Effects on *Leishmania amazonensis* and Possible Mechanisms of Action. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 10-15, 2013.

ROGERS, M.E.; CHANCE M.L.; BATES, P.A.: The role of promastigote secretory gel in the origin and transmission of the infective stage of *Leishmania mexicana* by the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. **Parasitology**, v. 124, p. 495-507, 2002.

SHAHAT AA, EL-BAROUTY G, HASSAN RA, HAMMOUDA FM, ABDEL-RAHMAN FH, SALEH MA. Chemical composition and

antimicrobial activities of the essential oil from the seeds of *Enterolobium contortisiliquium* (leguminosa). **The Scientific World Journal**. 2008. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/tswj/2014/167309/>>. Acesso em: 16 de Nov. 2014.

SILVA, R. R. P. **Estudo in vitro dos efeitos do extrato proveniente da planta *Physalis angulata* sobre *L.(L.) amazonensis* e a célula hospedeira**. Relatório final. 2010. Disponível em: <http://memoria.cnpq.br/premios/2010/pic/agraciados/cv/3_lugar_raquel_raick_pereira_silva.pdf>. Acesso em: 13 de out. de 2013.

SOUZA, P. M.; ELIAS, S. T., SIMEANI, et al.. Plants from Brazilian Cerrado with potent tyrosinase inhibitory activity. **Plos one**, v. 7, p. 1-6, 2012.

TEIXEIRA TL, TEIXEIRA SC, SILVA CV, SOUZA MA. Potential therapeutic use of herbal extracts in *trypanosomiasis*. **Pathogens and Global Health**. v. 108, p. 30 -36. 2014.

VIECELLI CA, CRUZ-SILVA CT. A. *Efeito da variação sazonal no potencial alelopático de *Sálvia**. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, p. 39-46, jan./mar. 2009.