

## QUIMIOPROFILAXIA DA DOENÇA DE CHAGAS: BLOQUEIO DA TRANSMISSÃO TRANSFUSIONAL POR PRODUTOS NATURAIS

S.J. SARTI\*; J.S. SILVA\*\* ; D. SANTOS FILHO\*; R. RIBEIRO DOS SANTOS\*\*; M.A. ROSSI\*\*; J.K. BASTOS\*; H.F. LEITÃO FILHO\*\*\*; J.E. ABREU\*; M.E. GASPAR\*\* & LOPES, W\*.

*Em busca da solução para o sério problema da transmissão transfusional da doença de Chagas em nosso meio, realizamos a avaliação de produtos naturais com atividade tripanosomicida. Os testes "in vitro" foram realizados incubando-se a 4°C, sangue de camundongos contendo  $\pm 10^6$ /ml formas tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi* com os extratos vegetais. Após diferentes períodos de incubação, frações sangüíneas foram examinadas em microscopia de fase. Os extratos que apresentaram atividade tripanosomicida até 48 horas de incubação, foram examinados em microscopia eletrônica com intuito de verificarmos sua toxicidade contra os elementos normais do sangue. Foram testados 242 extratos obtidos de 81 vegetais e 56 demonstraram atividade.*

UNITERMOS: Doença de Chagas, *Trypanosoma cruzi*.

\* Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Campus da Universidade de São Paulo de Ribeirão Preto, CEP 14049, Ribeirão Preto, S.P., Brasil

\*\* Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Campus da Universidade de São Paulo de Ribeirão Preto, CEP 14049, Ribeirão Preto, SP, Brasil

\*\*\* Departamento de Morfologia e Sistemática Vegetal da Universidade Estadual de Campinas, CEP 13100, Campinas, SP, Brasil.

## 1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas é endêmica no continente americano e afeta milhões de habitantes. O seu agente causal, *Trypanosoma cruzi*, pode ser encontrado no sangue de mais de uma centena de espécies de mamíferos (Barreto & Ribeiro<sup>2</sup>, Hoare<sup>9</sup>) e é transmitido ao homem, nas áreas endêmicas, por aproximadamente 100 espécies de triatomídeos, a maioria deles, naturalmente infectados (Lent & Wygoszinsk<sup>10</sup>). Após o contato com o parasita, depositado junto com as fezes do vetor, o indivíduo contrai a doença que se caracteriza por uma fase aguda (de um a dois meses), que é seguida por uma infecção crônica, na qual o parasita é extremamente raro e somente detectado por métodos parasitológicos. Durante parte da fase aguda e de toda a fase crônica, os testes sorológicos são positivos e permanecem como tal durante a vida do paciente. Durante este período, o indivíduo, com saúde aparentemente boa, constitui-se num agente potencial da infecção chagásica através da transfusão de seu sangue.

A possibilidade da doença de chagas ser transmitida pela transfusão de sangue contaminado foi aventada por Mazza et al<sup>11</sup> (1936) e confirmada por Pellegrino<sup>13</sup> (1949). Rassi & Rezende<sup>14</sup> (1976) demonstraram que de 3 a 28% dos sangues em bancos são contaminados e Amato Neto<sup>1</sup> (1979) estimou que no Brasil são efetuadas, anualmente, cerca de 4.000.000 de transfusões, sendo que em 60% dos bancos de sangue não são realizadas seleções de doadores. Outros dados demonstraram que de 3 a 13,1% destes

doadores são portadores da infecção chagásica (Baruffa<sup>3</sup>, Cunha<sup>4</sup>, Dias & Dias<sup>6</sup>) e que 10.000 transfusões de sangue procedentes destas pessoas são realizadas, anualmente, na região metropolitana de São Paulo (Dias<sup>5</sup>).

Os testes para a seleção de doadores, quando são feitos, apresentam muitas falhas, esbarrando numa série de problemas que vão desde a falta de antígenos padronizados até deficiências técnicas e utilização de reações sorológicas que não possuem a apropriada sensibilidade. Somam-se a estas dificuldades os aspectos sociais da transmissão transfusional, que ligam-se basicamente ao sub-emprego, ao fluxo de migrantes ao serviço, à "profissionalização" da doação, à mercantilização dos bancos de sangue, à incompetência e à displicência de diagnósticos e na tomada de medidas preventivas (Dias & Dias<sup>6</sup>).

Um grande passo para a solução do problema seria a pesquisa de uma droga com atividade tripanosomicida, atóxica para o homem e que, adicionada ao sangue que vai ser transfundido, eliminasse os parasitas presentes.

Nussenzweig et al<sup>12</sup>, (1953) demonstraram a atividade tripanosomicida "in vitro" da violeta de genciana. Desde esta época, alguns poucos bancos de sangue têm usado deste composto na tentativa de eliminar a transmissão transfusional da doença de Chagas. Este uso é muito restrito, em virtude de problema técnico e estético, pois a violeta de genciana pode apresentar composições variáveis de acordo com os lotes ou marcas; o sangue tratado necessita ser incubado por um mínimo de 24 horas e apresenta coloração azul intenso, sendo rejeitado por alguns pacientes.

Levando-se em conta a importância da transmissão transfusional, as dificuldades na seleção de doadores e a inexistência de um produto ativo contra o tripanosoma, empreendemos um estudo visando encontrar uma droga de origem vegetal que, adicionada ao sangue a ser transfundido, fosse aceitável pelos pacientes e prevenisse a transmissão de *T. cruzi*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Obtenção do produto natural

Os vegetais foram colhidos nas regiões menos desenvolvidas dos estados de São Paulo e Minas Gerais, identificados e suas exsiccatas depositadas no herbário da Universidade Estadual de Campinas. Cada vegetal coletado, quando possível, teve suas partes (raízes, caules, folhas, flores, frutos e sementes) separadas e secadas isoladamente em estufas com ar quente (60°C) circulante até peso constante. O material seco foi triturado, até pó fino, em moinho de martelos, pesado, colocado em percoladores e extraído sucessivamente com hexano, acetato de etila, etanol, ou metanol e água (os extratos aquosos foram obtidos de material botânico recém coletado). A maioria dos extratos foi obtida a frio e apenas alguns a quente em Soxhlet semi-industrial. Os solventes foram eliminados com auxílio de evaporadores rotatórios sob pressão reduzida e a água por liofilização.

## 2.2. Animais

Foram utilizados camundongos SWISS e BALB/c, machos e fêmeas com 23 dias de idade. Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno em número máximo de 8, com água e ração para camundongos *ad libitum*.

## 2.3. *Trypanosoma cruzi*

Foram utilizadas as amostras "y" (Silva & Nussensweig<sup>15</sup>) e "Colombiana" (Frederici et al<sup>8</sup>), inoculadas, semanalmente, em lotes de 20 camundongos. No pico da parasitemia (7º dia para a cepa "y" e 8º para a cepa "Colombiana") os animais foram sacrificados e o sangue, obtido por punção cardíaca e contendo a mesma cepa *T. cruzi*, juntado a outros semelhantes, homogeneizado e adicionado a uma solução de ACD (7:3). O sangue assim tratado foi diluído com plasma ou sangue total de camundongos da mesma cepa de modo a conter 10<sup>6</sup> tripomastigotas de *T. cruzi/ml*.

## 2.4. Determinação da atividade tripanosomicida

Flaconetes com sangue de camundongos infectados, contendo 1x10<sup>6</sup> tripomastigotas de *T. cruzi/ml*, foram incubados (a 4°C) com alíquotas dos extratos obtidos dos vegetais convenientemente dissolvidas em sangue de camundongo da mesma cepa ou previamente diluídas em etanol (foi determinado que 10-30µl de etanol/ml de sangue não foi capaz de reduzir significativamente o número de parasitas após 24

horas de incubação a 4°C). Após 1, 3, 5, 24 e 48 horas de incubação, amostras destes materiais foram examinadas, entre lâmina e lamínula, no microscópio óptico. Os tripomastigotas foram avaliados quanto ao número e à mobilidade. As drogas foram classificadas de acordo com a sua menor ou maior atividade, observando-se o número de *T. cruzi* móveis em sangue tratado com produtos naturais (Tabela I).

## 2.5. Avaliação "in vitro" da toxicidade dos extratos

Realizamos a avaliação *in vitro* da toxicidade de extratos selecionados por apresentarem satisfatória atividade tripanosomicida. A determinação consistiu basicamente na avaliação morfológica detalhada dos elementos figurados do sangue e dos parasitas após incubação, por 24 horas, de sangue infectado tratado, em diversas concentrações, com as drogas selecionadas. Após este período, amostras do sangue foram lavadas várias vezes com solução salina tamponada e fixadas com aldeído glutárico a 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,1 M (pH 7,3) e com tetróxido de ôsmio a 1,0% em tampão fosfato 0,1 M. A seguir foram desidratadas em soluções com concentrações ascendentes de acetona e incluídas em Araldite. Deste material foram obtidas secções semi-finas de 0,5µm que foram coradas com azul de toluidina e examinadas em microscópio óptico para seleção de áreas adequadas para obtenção de cortes ultrafinos em ultramicrotomo Sorvall MT-5000. Estes cortes foram duplamente corados com acetato de uranila e citrato de chumbo e examinados em microscópio eletrônico Zeiss em 109 a 80 kV.

### 3. RESULTADOS

Determinação da atividade tripanosomicida - Foram avaliados 242 extratos obtidos de 81 espécies botânicas. Estes extratos e o resultado da avaliação da ação tripanosomicida estão relacionados na Tabela II.

Além da atividade tripanosomicida, alguns extratos mostraram atividade hemolítica e/ou leucotóxica visível sob microscopia de luz. A distribuição entre os extratos ativos tóxicos e os atóxicos de acordo com o tempo necessário para lisar 100% dos parasitas do sangue infectado é demonstrada na Figura I.

Na Tabela III, estão relacionados os extratos brutos que demonstraram atividade tripanosomicida (++++) e ausência de toxicidade para os elementos figurados do sangue infectado quando analisado através de microscópio de fase.

Avaliação in vitro da toxicidade de extratos selecionados que apresentaram atividade tripanosomicida (++++) - Foi feita a avaliação morfológica detalhada dos elementos figurados do sangue e dos parasitas após incubação com os extratos por 24 horas. O resultado desta avaliação está expresso na Tabela IV.

### 4. DISCUSSÃO

Plantas possuem suas próprias defesas que as protegem contra outras plantas, fungos, bactérias, insetos e mamíferos. De fato, parece até que existe nelas um sistema imunológico rudimentar (Fox<sup>7</sup>). Assim sendo, pesquisamos em vegetais com esta barreira química de defesa mais desenvolvida, uma substância natural que, adicionada ao sangue a ser transfundido, pudesse prevenir a transmissão de *T. cruzi*. Os vegetais pesquisados foram colhidos nas regiões de São Paulo, Minas Gerais e Paraná. Dentre estes vegetais, alguns forneceram produtos com enorme potencial na profilaxia da doença de Chagas. Assim, as populações destas regiões, cultivando e/ou coletando estas plantas e fornecendo matéria prima para o desenvolvimento destes quimioproláticos, poderão criar uma nova fonte de trabalho e renda.

## SUMMARY

### **Chemoprophylaxis of Chagas disease: blockage of blood transfusion transmission by natural products**

Considering the serious problem of blood transfusion transmission of Chagas disease in our environment, we realized the evaluation of natural products against Chagas disease. The tests were realized "in vitro" by incubation at 4°C of mouse blood having  $\pm 10^6$  /ml of *Trypanosoma cruzi*, sample "y" and "Colombina" with the plant extracts. After different times of incubation, blood fractions were examined by phase microscopy. The drugs that showed activity until 48 hours of incubation, were examined by electron microscopy to verify the toxicity to blood elements. The tests were realized with 242 extracts from 81 plants and 56 extracts showed activity against *T. cruzi*.

**Key words:** Chagas disease, natural products, Chemoprophylaxis, *Trypanosoma cruzi*.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. AMATO NETO, V., 1979 - Transmissão por transfusão de sangue. *Anais do Congresso Inter. Sobre Doenças de Chagas*, Rio de Janeiro, RJ.
02. BARRETO, M.P. & RIBEIRO, R.D., 1979. - Reservatórios silvestres do *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* Chagas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39:25-36.
03. BARUFFA, G., 1977. - Prevalência da Doença de Chagas em doadores do banco de sangue da Santa Casa de Misericórdia de Pelotas. *Anais do XIII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. Brasília, DF.
04. CUNHA, T.A., 1979. - Emprego de antígeno triplice, em fixação de complemento, para diagnóstico sorológico da moléstia de Chagas, sífilis e brucelose. *Rev. Pat. Trop.*, 41: 29-33.
05. DIAS, J.C.P., 1979. - Mecanismos de Transmissão, p. 152-174. In Brener, Z. & Andrade, Z., *Trypanosma cruzi e Doença de Chagas*. Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro.
06. DIAS, J.C.P. & DIAS, R.B., 1979. - Doença de chagas - Uma visão sócio-econômica e cultural. *Anais do Congresso Internacional Sobre Doença de Chagas*. Rio de Janeiro, RJ.

07. FOX, J.L., 1980. - Immunology: complexity yielding to research. *Chem. Eng. News*, 58(38): 18-22.
08. FREDERICI, E.E.; ABELMANN, W.B. & NEVA, F.A., 1964. - Chronic and progressive myocarditis and myositis in C3H mice infected with *Trypanosoma cruzi*. *An.J. Trop. Med. Hyg.*, 13: 272-280.
09. HOARE, C.A., 1972. *The Trypanosomas of Mammals*. Oxford, Blackwell.
10. LENT, H. & WYGODZISNKI, P., 1979. - Revision of the Triatominae (Hemiptera Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas disease. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 163: 520p.
11. MAZZA, S.; MONTANA, A.; BENITEZ, C. & JANZI, E.Z., 1936. - Transmission del *Schizotrypanum cruzi* al niño por leche de la madre com enfermedad de Chagas. *Mepra*, 28: 41-46.
12. NUSSENZWEIG, V.; SONNTAG, R.; BIANCALANA, A.; PEDREIRA DE FREITAS, J.L.; AMATO NETO, V. & KLOETZEL, J., 1953. - Ação de corantes tri-fenil-metânicos sobre *Trypanosoma cruzi*, "in vitro". Emprego da violeta de genciana na profilaxia da transmissão da moléstia de Chagas por transfusão de sangue. *O hospital*, 44: 25-42.

13. PELLEGRINO, J., 1940. - Transmissão da doença de chagas pela transfusão de sangue. Primeiras comprovações sorológicas em doadores e em candidatos a doadores de sangue. *Rev. Bras. Med.*, 6: 297-301.
14. RASSI, A. & REZENDE, J.M., 1976. - Prevention of transmission of *T. cruzi* by blood transfusion. IN: New approaches in American Trypanosomiasis research. Scientific Publication. nº 318. Pan American Health Organization. Washington, pp. 273-278.
15. SILVA, L.H.P. & NUSSENSWEIG, V., 1953. Sobre uma cepa de *Trypanosoma cruzi* altamente virulenta para o camundongo branco. *Folia Clinica et Biologica*, 20: 191-208.

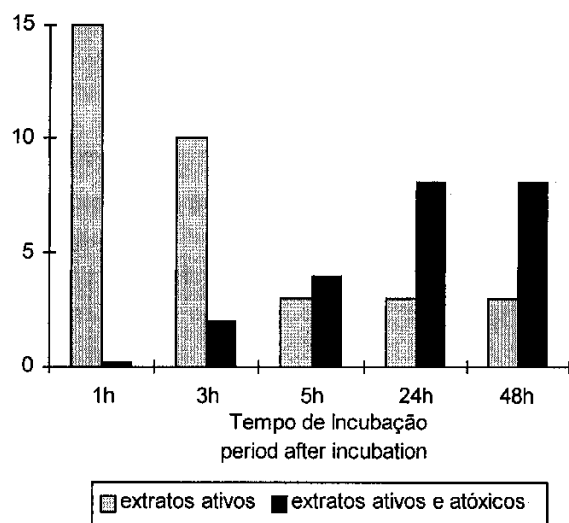


FIGURA 1. Distribuição dos extratos ativos<sup>56</sup> e ativos atóxicos<sup>22</sup> de acordo com o tempo gasto para lisar 100% dos parasitas do sangue infectado de camundongos.

TABELA I. Classificação da atividade tripanosomicida de produtos naturais em doses de  $\pm 10\text{mg/ml}$  de sangue de camundongo infectado com  $1 \times 10^6$  /ml tripomastigotas de *T.cruzi*.

CLASSIFICAÇÃO	N = parasitas móveis/mm <sup>3</sup> de sangue
-	N > 700
+	700 > N > 350
++	350 > N > 70
+++	70 > N > 1
++++	N = 0

TABELA II. Avaliação da Atividade Tripanosomicida dos extratos obtidos.

Família/Espécie	Parte Usada	Solvente Extrator	Cepa	Dose mg/ml	Atividade				Tripanosomicida
					1h	3h	5h	24h	
ANACARDIACEAE									
<i>Schinus Molle L.</i>	fo	et	Y	15	-	-	-	-	-
<i>Schinus Molle L.</i>	fo	ag	Y	15	-	-	-	-	-
ASTERACEAE									
<i>Aspilia anomala</i> Baker	co	he	Y	134	-	-	-	+	+
<i>Aspilia anomala</i> Baker	co	ac	Y	76	-	-	-	+	+
<i>Aspilia anomala</i> Baker	co	et	Y	114	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Aspilia foliacea</i> (Sprong) Baker	co	he/ac20%	Y	34	-	-	-	+	+
<i>Aspilia foliacea</i> (Sprong) Baker	co	et	Y	24	-	-	-	+	+
<i>Aspilia foliacea</i> (Sprong) Baker	co	he/ac20%	Y	34*	-	-	-	++++	++++
<i>Aspilia aquarrosa</i> Baker	co	he	Y	125	+++	+++	+++	++++	++++
<i>Aspilia aquarrosa</i> Baker	co	ac	Y	84	-	-	-	+	+
<i>Aspilia aquarrosa</i> Baker	co	et	Y	125	+	+	+	+	+
<i>Aspilia aquarrosa</i> Baker	co	he	Y	50*	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Baccharis helichrysoides</i> DC.	co	he	Y	25	-	-	-	-	+++
<i>Baccharis helichrysoides</i> DC.	co	ac	Y	34	-	-	-	-	+
<i>Baccharis helichrysoides</i> DC.	co	et	Y	50	-	-	-	-	+
<i>Baccharis helichrysoides</i> DC.	co	he	Y	62*	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Baccharis helichrysoides</i> DC.	co	ac	Y	10*	++	+++	+++	+++	+++
<i>Baccharis ligustrina</i> DC.	ae	he/ac20%	Y	135	-	-	-	+	+
<i>Baccharis ligustrina</i> DC.	ae	et	Y	12	-	-	-	+	+
<i>Baccharis myriocephala</i> DC.	co	he	Y	24	+	+++	+++	+++	++++

127

continua

Continuation of TABLE II

Família/Espécie	Parte Usada	Solvente Extrator	Cepa	Dose mg/ml	Atividade				Tripanosomicida
					1h	3h	5h	24h	
<i>Baccharis myriocephala</i> DC.	co	et	Y	32	+	+	++	+++	++++
<i>Baccharis subumbelliformis</i> (Malme) Heering	co	he	Y	25	-	-	-	-	-
<i>Baccharis subumbelliformis</i> (Malme) Heering	co	ac	Y	25	-	-	-	-	-
<i>Baccharis subumbelliformis</i> (Malme) Heering	co	et	Y	30	-	-	-	-	-
<i>Baccharis trinervis</i> Pers.	co	he	Y	32	-	-	-	-	++
<i>Baccharis trinervis</i> Pers.	co	he/ac20%	Y	125	-	-	-	-	+
<i>Baccharis trinervis</i> Pers.	co	ac	Y	188	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Barnadesia rosea</i> Lindl.	ae	he	Y	50	-	-	-	-	-
<i>Barnadesia rosea</i> Lindl.	ae	ac	Y	55	-	-	-	-	-
<i>Barnadesia rosea</i> Lindl.	ae	et	Y	50	-	-	-	-	-
<i>Calea serrata</i> Less.	ae	he	Y	17	-	-	-	-	++++
<i>Calea serrata</i> Less.	ae	et	Y	25	+	++++	++++	++++	++++
<i>Chaptalia nutans</i> Polak	co	he	Y	26	-	-	-	-	+
<i>Chaptalia nutans</i> Polak	co	ac	Y	32	-	-	-	-	+
<i>Chaptalia nutans</i> Polak	co	et	Y	28	-	-	-	-	+
<i>Eremanthus goyazensis</i> Schultz-Bip	ae	he	Y	28	-	-	-	-	+
<i>Eremanthus goyazensis</i> Schultz-Bip	ca	et	Y	12	-	-	-	+++	++++
<i>Eremanthus goyazensis</i> Schultz-Bip	ae	et	Y	28	+	+	+++	++++	++++
<i>Eremanthus sphaerocephalus</i> (DC.) Baker	co	he/ac20%	Y	20	-	-	-	-	+
<i>Eremanthus sphaerocephalus</i> (DC.) Baker	co	et	Y	24	-	-	-	-	++
<i>Eupatorium gaudichaudianum</i> DC.	ae	he	Y	24	+	+	++	+++	++++
<i>Eupatorium gaudichaudianum</i> DC.	ae	ac	Y	32	+	++	++	++	++++
<i>Eupatorium gaudichaudianum</i> DC.	ae	et	Y	38	+	+	+	+	++++
<i>Eupatorium gaudichaudianum</i> DC.	co	he	Y	12	-	-	+	++++	++++
<i>Eupatorium gaudichaudianum</i> DC.	co	ac	Y	36	+	+++	++++	++++	++++

128

continua



Continuation of TABLE II

Familia/Espécie	Parte Usada		Solvente Extrator	Cepa	Dose mg/ml	Atividade			
	Usada	Extrator				1h	3h	5h	24h
<i>Eupatorium gaudichaudianum</i> DC.	co	et	Y	34	++	++++	++++	++++	++++
<i>Eupatorium gaudichaudianum</i> DC.	co	he	C	10	+	++	+++	+++	+++
<i>Eupatorium gaudichaudianum</i> DC.	co	ac	C	10	+	+	+	+++	+++
<i>Eupatorium gaudichaudianum</i> DC.	co	et	C	10	+	+	++	++	+++
<i>Eupatorium inulaefolium</i> H.B.K.	ae	he/ac20%	Y	16	++	++	++	++	+++
<i>Eupatorium inulaefolium</i> H.B.K.	ae	et	Y	88	-	-	-	-	+
<i>Eupatorium laevigatum</i> Lam.	co	he/ac20%	Y	50	-	-	-	-	-
<i>Eupatorium laevigatum</i> Lam.	co	et	Y	50	-	-	-	-	-
<i>Eupatorium vauthierianum</i> DC.	ae	he	Y	20	-	-	-	-	+
<i>Eupatorium vauthierianum</i> DC.	ae	ac	Y	20	-	-	-	-	+
<i>Eupatorium vauthierianum</i> DC.	ae	et	Y	20	-	-	-	-	+
<i>Eupatorium vauthierianum</i> DC.	co	he/ac20%	Y	20	-	-	-	-	+
<i>Gochnatia barrosii</i> Cabr.	co	et	Y	20	-	-	-	-	+
<i>Gochnatia polymorpha</i> (Less.) Cabr.	ra	he	Y	66	+	+	+++	+++	+++
<i>Gochnatia polymorpha</i> (Less.) Cabr.	ra	ac	Y	8	+	+	+	+++	+++
<i>Gochnatia polymorpha</i> (Less.) Cabr.	ra	et	Y	34	+	+	++++	++++	++++
<i>Gochnatia polymorpha</i> (Less.) Cabr.	ra	he	C	34	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Gochnatia polymorpha</i> (Less.) Cabr.	ra	et	C	10	+	+	++	+++	+++
<i>Gochnatia polymorpha</i> (Less.) Cabr.	ra	he	Y	20	-	-	-	-	+
<i>Gochnatia polymorpha</i> (Less.) Cabr.	ra	ac	Y	28	+	+	+	++	+++
<i>Gochnatia polymorpha</i> (Less.) Cabr.	ra	et	Y	11	+	+	+++	+++	+++
<i>Gochnatia polymorpha</i> (Less.) Cabr.	ra	et	Y	150	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Lucilia linearifolia</i> Baker	ae	he/ac20%	Y	30	-	-	-	-	-
<i>Lucilia linearifolia</i> Baker	ae	et	Y	36	-	-	-	-	-
<i>Mikania bififormis</i> Schultz-Bip.	ae	he	Y	20	-	-	-	-	+

129

continua

Continuation of TABLE II

Familia/Espécie	Parte Usada		Solvente Extrator	Cepa	Dose mg/ml	Atividade			
	Usada	Extrator				1h	3h	5h	24h
<i>Mikania bififormis</i> Schultz-Bip.	ae	ac	Y	20	-	-	-	-	+
<i>Mikania bififormis</i> Schultz-Bip.	ae	et	Y	20	-	-	-	-	+
<i>Mikania lindbergii</i> Baker	ae	he	Y	20	-	-	-	-	+
<i>Mikania lindbergii</i> Baker	ae	ac	Y	20	-	-	-	-	+++
<i>Mikania lindbergii</i> Baker	ae	et	Y	20	-	-	-	-	+++
<i>Mikania lindbergii</i> Baker	ae	he	Y	25*	-	-	-	-	+++
<i>Mikania oblongifolia</i> DC.	ae	he	Y	22	-	-	+	+	+
<i>Mikania oblongifolia</i> DC.	ae	ac	Y	20	-	-	+	+	+
<i>Mikania oblongifolia</i> DC.	ae	et	Y	26	-	-	+	+	+
<i>Mikania oblongifolia</i> DC.	co	he	Y	24	-	-	-	-	+
<i>Orthopappus angustifolius</i> (Sw.) Gleason	co	ac	Y	22	-	-	-	-	+
<i>Orthopappus angustifolius</i> (Sw.) Gleason	co	et	Y	36	+	+	+	++	+++
<i>Orthopappus angustifolius</i> (Sw.) Gleason	co	he	Y	25*	+++	++++	++++	++++	++++
<i>Orthopappus angustifolius</i> (Sw.) Gleason	co	et	Y	50	+	+	++	++++	++++
<i>Orthopappus angustifolius</i> (Sw.) Gleason	co	et	Y	25*	+++	++++	++++	++++	++++
<i>Piptocarpha notata</i> Baker	ae	he/ac20%	Y	20	-	-	-	-	+
<i>Polymnia siegesbeckia</i> DC.	co	he	Y	38	-	-	-	-	-
<i>Polymnia siegesbeckia</i> DC.	co	ac	Y	38	-	-	-	-	-
<i>Polymnia siegesbeckia</i> DC.	co	et	Y	38	-	-	-	-	-
<i>Senecio adamantinus</i> Bong.	co	he	Y	38	-	-	-	-	+
<i>Senecio adamantinus</i> Bong.	co	ac	Y	21	-	-	-	-	+++
<i>Senecio adamantinus</i> Bong.	co	et	Y	22	-	+++	++++	++++	++++
<i>Senecio adamantinus</i> Bong.	co	ag	Y	50	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Senecio brasiliensis</i> (Spreng.) Less.	ae	he	C	10	+	++	++	+++	+++
<i>Senecio brasiliensis</i> (Spreng.) Less.	ae	he	Y	19	+	++++	++++	++++	++++

130

continua

Continuation of TABLE II

Familia/Espécie	Parte Usada		Solvente Extrator	Cepa	Dose mg/ml	Atividade				
	1h	3h				5h	24h	48h		
<i>Senecio brasiliensis</i> (Spreng.) Less.	ae	et		Y	30	-	-	-	-	++++
<i>Senecio veronoideis</i> Schultz-Bip.	ae	me		Y	20	-	-	-	-	+
<i>Stevia veronicae</i> DC.	co	me		Y	35	-	-	-	-	-
<i>Vanillosmopsis erythropappa</i> Schultz-Bip	ae	he		Y	20	-	-	-	-	++
<i>Vanillosmopsis erythropappa</i> Schultz-Bip	ae	ac		Y	20	-	-	-	-	+
<i>Vanillosmopsis erythropappa</i> Schultz-Bip	ae	et		Y	20	-	-	-	-	-
<i>Vernonia beyrichii</i> Less.	ae	he/ac20%		Y	46	-	-	-	-	+
<i>Vernonia beyrichii</i> Less.	ae	et		Y	22	+	+	+	+	++++
<i>Vernonia crotonoides</i> (DC.) Schultz-Bip	ae	he		Y	30	-	-	-	-	-
<i>Vernonia crotonoides</i> (DC.) Schultz-Bip	ae	ac		Y	30	-	-	-	-	-
<i>Vernonia crotonoides</i> (DC.) Schultz-Bip	ae	et		Y	30	-	-	-	-	-
<i>Vernonia fruticulosa</i> Mart.	co	he		Y	145	-	-	-	-	+
<i>Vernonia fruticulosa</i> Mart.	co	ac		Y	200	+	+	+	+	++++
<i>Vernonia fruticulosa</i> Mart.	co	et		Y	180	-	-	-	-	+
<i>Vernonia fruticulosa</i> Mart.	co	he		Y	20	-	-	-	-	+
<i>Vernonia fruticulosa</i> Mart.	co	ac		Y	20	-	-	-	-	+
<i>Vernonia fruticulosa</i> Mart.	co	et		Y	20	+	+	+	+	++++
<i>Vernonia onopordioideis</i> Baker	co	he		Y	120	-	-	-	-	+
<i>Vernonia onopordioideis</i> Baker	co	ac		Y	150	-	-	-	-	+
<i>Vernonia onopordioideis</i> Baker	co	et		Y	250	++	++	-	-	++++
<i>Vernonia penunculata</i> DC.	ae	he		Y	120	-	-	-	-	-
<i>Vernonia penunculata</i> DC.	ae	ac		Y	110	-	-	-	-	-
<i>Vernonia penunculata</i> DC.	ae	et		Y	120	-	-	-	-	-
<i>Vernonia scabra</i> Pers.	ae	he		Y	20	-	-	-	-	+
<i>Vernonia scabra</i> Pers.	ae	ac		Y	50	-	-	-	-	+

continua

Continuation of TABLE II

Familia/Espécie	Parte Usada		Solvente Extrator	Cepa	Dose mg/ml	Atividade				
	1h	3h				5h	24h	48h		
<i>Vernonia scabra</i> Pers.	ae	et		Y	170	-	-	-	-	+
<i>Vernonia scabra</i> Pers.	ae	et		Y	10*	-	-	-	-	++++
<i>Viguiera robusta</i> Gardn.	co	he		Y	40	-	-	-	-	+
<i>Viguiera robusta</i> Gardn.	co	ac		Y	16	-	-	-	-	+
<i>Viguiera robusta</i> Gardn.	co	et		Y	108	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Viguiera robusta</i> Gardn.	ae	et		Y	20	-	-	-	-	++++
<i>Viguiera robusta</i> Gardn.	ae	et		Y	20*	-	-	-	-	++++
<i>Wulffia baccata</i> (Loef.) Kuntze	ae	he		Y	110	-	-	-	-	+
<i>Wulffia baccata</i> (Loef.) Kuntze	ae	ac		Y	50	-	-	-	-	+
<i>Wulffia baccata</i> (Loef.) Kuntze	ae	et		Y	125	-	-	-	-	+
<i>Wulffia baccata</i> (Loef.) Kuntze	ae	et		Y	10*	-	-	-	-	++++
<i>Wunderlichia mirabilis</i> Riedel	fo	he/ac20%		Y	28	++	++++	++++	++++	++++
<i>Wunderlichia mirabilis</i> Riedel	fo	he/ac20%		C	10	+	+	+	+	++++
BIXACEAE										
<i>Bixa orellana</i> L.	se	et		Y	20	+	+	+	+	++++
BURSERACEAE										
<i>Protium heptaphyllum</i> (Aubl.) March	ae	he		Y	34	-	-	-	-	-
CHENOPODIACEAE										
<i>Chenopodium anthelminticum</i> L.	co	ag		Y	100	-	-	+	+	+
COMBRETACEAE										
<i>Terminalia Catappa</i> L.	se	ag		Y	100	-	-	-	-	-

continua

## Continuation of TABLE II

Familial/Espécie	Parte Usada		Solvente Extrator	Cepa	Dose mg/ml	Atividade				
	1h	3h				5h	24h	48h		
CONVOLVULACEAE										
<i>Cuscuta incurvata</i> Prog.	co	ag	Y	25	++++	++++	++++	++++	++++	++++
DICTYOTACEAE										
<i>Dictyopteris delicatula</i>	co	he/ac20%	Y	26	++++	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Dictyopteris delicatula</i>	co	he/ac20%	C	10	+	+	++++	++++	++++	++++
<i>Dictyopteris delicatula</i>	co	ag	Y	10	-	-	-	-	-	-
<i>Padina vickersiae</i>	co	he/ac20%	Y	30	+	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Padina vickersiae</i>	co	he/ac20%	C	10	++++	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Padina vickersiae</i>	co	ag	Y	130	++++	++++	++++	++++	++++	++++
FLACOURTIACEAE										
<i>Casearia sylvestris</i> Sw.	ra	he	Y	24	+++	+++	++++	++++	++++	++++
GELIDIACEAE										
<i>Pterocladia capillacea</i>	co	he/ac20%	Y	24	-	-	-	-	-	+++
<i>Pterocladia capillacea</i>	co	ag	Y	20	-	+	+	+	+	+
GRACILARIACEAE										
<i>Gracilaria verrucosa</i>	co	ag	Y	12	-	-	-	+	+	+
GRAMINEAE										
<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf	fo	ag 100°C	Y	30	-	-	-	-	-	continua

133

## Continuation of TABLE II

Familial/Espécie	Parte Usada		Solvente Extrator	Cepa	Dose mg/ml	Atividade				
	1h	3h				5h	24h	48h		
GRATELOUPIACEAE										
<i>Cryptonemia benggri</i>	co	ag	Y	10	-	-	-	-	-	+
<i>Galaxaura frutescens</i>	co	he/ac20%	Y	32	+	+	+	++++	++++	++++
<i>Galaxaura frutescens</i>	co	ag	Y	20	++++	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Galaxaura frutescens</i>	co	ag	Y	66	++++	++++	++++	++++	++++	++++
LABIATAE										
<i>Eriope macrostachya</i> Mart.	co	he	Y	20	-	-	-	-	-	+++
<i>Eriope macrostachya</i> Mart.	co	ac	Y	20	-	-	-	-	-	+++
<i>Eriope macrostachya</i> Mart.	co	et	Y	20	-	-	-	-	-	+
<i>Eriope macrostachya</i> Mart.	co	he	Y	10*	-	-	-	-	-	++++
<i>Eriope macrostachya</i> Mart.	co	ac	Y	50*	+++	+++	++++	++++	++++	++++
<i>Hyptis arborea</i> Benth	ra	he	Y	38	-	-	-	-	-	-
<i>Hyptis arborea</i> Benth	ra	ac	Y	45	-	-	-	-	-	-
<i>Hyptis arborea</i> Benth	ra	et	Y	30	-	-	-	-	-	-
<i>Ocimum Sellowii</i> Benth.	ae	ac	Y	28	-	-	-	-	-	-
<i>Ocimum Sellowii</i> Benth.	ae	et	Y	30	-	-	-	-	-	-
LAURACEAE										
<i>Nectandra lanceolata</i> Nees. et Mart.	ca	et	Y	20	-	-	-	-	-	-
<i>Nectandra lanceolata</i> Nees. et Mart.	ra	et	Y	20	-	-	-	-	-	-
<i>Nectandra megapotamia</i> (Spreng.) Chodat	ca	et	Y	20	-	-	-	-	-	-
<i>Persea gratissima</i> Gaertn.	ra	ag	Y	4	-	-	-	-	-	+
<i>Persea gratissima</i> Gaertn.	fr	ag	Y	25	-	-	-	++++	++++	++++

continua

134

## Continuation of TABLE II

Familial/Espécie	Parte Usada		Solvente Extrator		Cepa	Dose mg/ml	Atividade			
	Usada	Extrator	Extrator				1h	3h	5h	24h
LEGUMINOSAE-CAESALPINIODES										
<i>Caesalpinia brasiliensis</i> L.	se	ag	Y	20	-	-	-	-	-	-
<i>Caesalpinia brasiliensis</i> L.	se	ag	Y	30	-	-	-	-	++++	++++
<i>Swartzia corrugata</i> Benth.	se	ag	Y	20	-	-	-	-	-	-
LEGUMINOSAE-MIMOSOIDEAE										
<i>Enterolobium timbouva</i> Mart.	fr	ag	Y	18	-	-	-	-	++	++
<i>Stryphnodendron polyphyllum</i> Mart.	se	ag	Y	18	-	-	-	-	++++	++++
LEGUMINOSAE-PAPILIONACEAE										
<i>Andira humilis</i> Mart.	fr	he	Y	30	-	-	-	-	-	-
<i>Andira humilis</i> Mart.	fr	et	Y	30	-	-	-	-	-	-
<i>Erythrina crista-galli</i> L.	ca	et	Y	25	-	-	-	-	-	-
<i>Erythrina crista-galli</i> L.	fr	ag	Y	25	-	-	-	-	-	-
<i>Pterodon pubescens</i> Benth.	se	he	Y	64	-	++++	++++	++++	++++	++++
Pterodon pubescens Benth.										
<i>Pterodon pubescens</i> Benth.	se	he	Y	28	++++	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Pterodon pubescens</i> Benth.	se	he	C	34	++++	++++	++++	++++	++++	++++
MORACEAE										
<i>Cecropia catarinensis</i>	fo	et	Y	40	-	-	-	-	-	continua

135

## Continuation of TABLE II

Familial/Espécie	Parte Usada		Solvente Extrator		Cepa	Dose mg/ml	Atividade			
	Usada	Extrator	Extrator				1h	3h	5h	24h
MYRTACEAE										
<i>Campomanesia aurea</i> Berg.	fr	ag	Y	30	-	-	-	-	-	-
POLYGALACEAE										
<i>Moutabea dibotrya</i> Mart.	ae	et	Y	20	+	+	+	+	++	++++
<i>Polygala glabra</i> A.W.Benn.	co	he	Y	26	-	-	-	-	+	+
<i>Polygala glabra</i> A.W.Benn.	co	et	Y	13	-	-	-	-	++++	++++
<i>Polygala glabra</i> A.W.Benn.	ra	et	Y	20	-	-	-	-	-	-
<i>Polygala glabra</i> A.W.Benn.	ae	et	Y	16	-	-	-	-	-	-
RUTACEAE										
<i>Zanthoxylum minutiflorum</i> Tull.	fr	he	Y	21	++++	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Zanthoxylum minutiflorum</i> Tull.	fr	ac	Y	25	++++	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Zanthoxylum minutiflorum</i> Tull.	fr	et	Y	26	++++	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Zanthoxylum minutiflorum</i> Tull.	fo	he	Y	44	-	-	-	-	-	++
<i>Zanthoxylum minutiflorum</i> Tull.	fo	ac	Y	34	++++	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Zanthoxylum minutiflorum</i> Tull.	fo	et	Y	32	++++	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Zanthoxylum minutiflorum</i> Tull.	fr	he	C	24	++++	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Zanthoxylum minutiflorum</i> Tull.	fr	ac	C	36	++++	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Zanthoxylum minutiflorum</i> Tull.	fr	et	C	28	++++	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Zanthoxylum minutiflorum</i> Tull.	fo	ac	C	10	+	+	+	+	++	++++
<i>Zanthoxylum minutiflorum</i> Tull.	fo	et	C	10	+	+	+	+	++	++++
<i>Zanthoxylum minutiflorum</i> Tull.	fr	he	C	10	+	+	+	+	++	++++
<i>Zanthoxylum naranjillo</i> Griseb.	fr	ac	C	10	+	+	+	+	++	++++
<i>Zanthoxylum naranjillo</i> Griseb.	fr	ac	C	10	+	+	+	+	++	++++

continua

136

Continuation of TABLE II

Familia/Espécie	Parte Usada	Solvente Extrator	Cepa	Dose mg/ml	Atividade				Tripanosomicida	
					1h	3h	5h	24h	48h	
<i>Zanthoxylum naranjillo</i> Griseb.	fr	et	C	10	+	++	++++	++++	++++	
<i>Zanthoxylum naranjillo</i> Griseb.	fo	he	C	10	++	++++	++++	++++	++++	
<i>Zanthoxylum naranjillo</i> Griseb.	fo	ac	C	10	+	+	+	++	+++	
<i>Zanthoxylum naranjillo</i> Griseb.	fo	et	C	34	+	+	+++	++++	++++	
<i>Zanthoxylum naranjillo</i> Griseb.	fo	he	Y	38	+	+++	++++	++++	++++	
<i>Zanthoxylum naranjillo</i> Griseb.	fo	ac	Y	36	+	+++	++++	++++	++++	
<i>Zanthoxylum naranjillo</i> Griseb.	fr	ac	Y	34	+	++	++++	++++	++++	
<i>Zanthoxylum naranjillo</i> Griseb.	fr	et	Y	52	+++	++++	++++	++++	++++	
<i>Zanthoxylum regnellianum</i> Engler	ra	he	C	10	++	++++	++++	++++	++++	
<i>Zanthoxylum regnellianum</i> Engler	ra	ac	C	10	++	++++	++++	++++	++++	
<i>Zanthoxylum regnellianum</i> Engler	ra	et	C	32	+	++	++	+++	++++	
<i>Zanthoxylum regnellianum</i> Engler	ca	he	C	10	++++	++++	++++	++++	++++	
<i>Zanthoxylum regnellianum</i> Engler	ca	ac	C	10	+	+	++	++++	++++	
<i>Zanthoxylum regnellianum</i> Engler	ca	et	C	30	+	++	++	++++	++++	
<i>Zanthoxylum regnellianum</i> Engler	fo	he	Y	32	+	+++	++++	++++	++++	
<i>Zanthoxylum regnellianum</i> Engler	fo	ac	Y	26	++++	++++	++++	++++	++++	
<i>Zanthoxylum regnellianum</i> Engler	fo	et	Y	30	+	+	++	++++	++++	
<i>Zanthoxylum regnellianum</i> Engler	ra	he	Y	20	++++	++++	++++	++++	++++	
<i>Zanthoxylum regnellianum</i> Engler	ra	ac	Y	26	++++	++++	++++	++++	++++	
<i>Zanthoxylum regnellianum</i> Engler	ca	me	Y	32	++	+++	++++	++++	++++	
<i>Zanthoxylum regnellianum</i> Engler	ca	he	Y	28	++++	++++	++++	++++	++++	
<i>Zanthoxylum regnellianum</i> Engler	ca	ac	Y	28	++	++++	++++	++++	++++	

137

continua

Continuation of TABLE II

Familia/Espécie	Parte Usada	Solvente Extrator	Cepa	Dose mg/ml	Atividade				Tripanosomicida	
					1h	3h	5h	24h	48h	
SAPOTACEAE										
<i>Achras sapota</i> L.	fr	ag	Y	25	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Achras sapota</i> L.	se	ag	Y	20	-	-	-	-	-	-
<i>Chrysophyllum marginatum</i>	ca	ag	Y	20	-	-	-	-	-	-
<i>Chrysophyllum marginatum</i>	fo	et	Y	20	-	-	-	-	-	-
SOLANACEAE										
<i>Datura stramonium</i> L.	ae	he/ac20%	Y	20	-	-	-	-	-	-
<i>Datura stramonium</i> L.	ae	et	Y	30	-	-	-	-	-	-
STYRACACEAE										
<i>Styrax leprosus</i> H.K. et Am.	fr	et	Y	25	-	-	-	-	-	-
<i>Styrax leprosus</i> H.K. et Am.	ca	et	Y	30	-	-	-	-	-	-
<i>Styrax leprosus</i> H.K. et Am.	fr	ag	Y	30	-	-	-	-	-	-
TILIACEAE										
<i>Luchea divaricata</i> Mart	ca	et	Y	30	-	-	-	-	-	-
<i>Luchea divaricata</i> Mart	fo	et	Y	30	-	-	-	-	-	-
VOCHYSIACEAE										
<i>Salvertia convalarodora</i> St. Hill	ae	he	C	32	-	-	-	-	-	-
<i>Salvertia convalarodora</i> St. Hill	ae	ac	C	10	+	+	+++	++++	++++	++++
<i>Salvertia convalarodora</i> St. Hill	ae	et	C	10	+	+	+	++++	++++	++++
<i>Salvertia convalarodora</i> St. Hill	fo	he	Y	20	-	-	-	-	-	+

138

continua

Continuation of TABLE II

Família/Espécie	Parte Usada	Solvente Extrator	Cepa	Dose mg/ml	Atividade				
					1h	3h	5h	24h	48h
<i>Salvertia convalariodora</i> St. Hill	fo	ac	Y	20	-	-	-	-	++
<i>Salvertia convalariodora</i> St. Hill	fo	et	Y	24	+	++	+++	++++	++++
<i>Salvertia convalariodora</i> St. Hill	ae	ac	Y	24	++++	++++	++++	++++	++++
<i>Salvertia convalariodora</i> St. Hill	ae	et	Y	32	++++	++++	++++	++++	++++
ZINGIBERACEAE									
<i>Alpinia magnifica</i> Roscoe	fl	ag	Y	34	-	-	-	-	-

**Parte usada:** ae partes aéreas, ca caule, co vegetal completo, fl flor, fr fruto, fo folha, ra raiz e se semente.  
**Solvente extrator:** ac acetato de etila, ag água, et etanol, he hexano e me metanol.  
**Cepa:** C "Colombiana"

**Atividade Tripanosomicida:** após incubação por 1, 3, 5, 24 e 48 horas.

TABELA III. Extratos tripanosomicidas (++++) e considerados atóxicos para os elementos figurados do sangue de camundongos infectados.

VEGETAL	EXTRATO	PARTE
<i>Baccharis myriocephala</i>	hexânico	co
<i>Bixa orellana</i>	etanólico	se
<i>Calea serrata</i>	etanólico	ae
<i>Dictyopteris delicatula</i>	hexânico/acetofílico	co
<i>Eremanthus goyazensis</i>	etanólico	ae
<i>Eupatorium gaudichaudianum</i>	etanólico	co
<i>Galaxaura frutescens</i>	aquoso	co
<i>Gochnatia polymorpha</i>	hexânico	ra
<i>Orthopappus angustifolius</i>	etanólico	co
<i>Padina vickersiae</i>	aquoso	co
<i>Pterodon pubescens</i>	hexânico	se
<i>Salvertia convalariodora</i>	acetofílico	ae
<i>Senecio adamantinus</i>	aquoso	co
<i>Senecio adamantinus</i>	etanólico	co
<i>Senecio brasiliensis</i>	hexânico	ae
<i>Vernonia fruticulosa</i>	acetofílico	co
<i>Viguiera robusta</i>	etanólico	co
<i>Wunderlichia mirabilis</i>	hexânico/acetofílico	fo
<i>Zanthoxylum minutiflorum</i>	hexânico	fr
<i>Zanthoxylum minutiflorum</i>	acetofílico	fo
<i>Zanthoxylum naranjillo</i>	etanólico	fr
<i>Zanthoxylum regnellianum</i>	acetofílico	fo

ae - parte aérea  
 co - vegetal completo  
 fo - folha  
 fr - fruto  
 ra - raiz  
 se - semente

TABELA IV. Avaliação "in vitro" da toxicidade de extratos selecionados que apresentaram atividade tripanosomicida (++++).

EXTRATO	TOXICIDADE
<i>Dictyopteris delicatula</i>	
<i>Eupatorium gaudichaudianum</i>	lise e balonização de hemácias (7%)
<i>Galaxaura frutescens</i>	
<i>Gochnatia polymorpha</i>	lise de hemácias
<i>Ortopappus angustifolius</i>	
<i>Padina vickersiae</i>	
<i>Pterodon pubescens</i>	lise de hemácias (10%)
<i>Senecio adamantinus</i>	lise de hemácias (5%)
<i>Zanthoxylum naranjillo</i>	