

ATIVIDADE ANTIPROTOZOÁRIA IN VITRO DO EXTRATO BRUTO E PARTIÇÕES DE FOLHAS DE *Diplopterys pubipetala* (MALPIGHIACEAE)

IN VITRO ANTIprotozoal ACTIVITY OF CRUDE EXTRACT AND LEAF PARTITIONS OF *Diplopterys pubipetala* (MALPIGHIACEAE)

Veronica de Melo Sacramento¹, Daniela de Melo Resende², Isabela Penna Cerávolo³,
Silvane Maria Fonseca Murta⁴, Tânia Maria de Almeida Alves⁵ e Vanessa de Andrade Royo⁶

RESUMO

Avaliou-se a atividade antiprotozoária in vitro do extrato hidroetanólico e das partições (hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol) de folhas de *Diplopterys pubipetala* (Malpighiaceae) frente aos protozoários *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania amazonensis* e *Plasmodium falciparum*. As amostras foram obtidas a partir da coleta de folhas jovens e saudáveis e submetidas à preparação do extrato hidroetanólico e subsequente partição, seguindo metodologias previamente estabelecidas. Nos ensaios biológicos, todas as amostras apresentaram inibição da atividade dos protozoários inferior a 30%, não atingindo os critérios mínimos para a caracterização de atividade biológica relevante. Esses resultados estão alinhados com a literatura, que também relata baixa atividade antiprotozoária em espécies de Malpighiaceae, embora algumas tenham demonstrado potenciais fitoterapêuticos relacionados às atividades antioxidantes e anti-inflamatórias em pesquisas recentes. Conclui-se que estudos adicionais são necessários para a investigação de compostos naturais como alternativas promissoras no desenvolvimento de tratamentos para doenças negligenciadas causadas por protozoários.

Palavras-chave: Ensaios biológicos; *Diplopterys pubipetala*; Protozoários.

ABSTRACT

The *in vitro* antiprotozoal activity of the hydroethanolic extract and its partitions (hexane, dichloromethane, ethyl acetate, and methanol) from *Diplopterys pubipetala* (Malpighiaceae) leaves was evaluated against the protozoa *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania amazonensis*, and *Plasmodium falciparum*. The samples were obtained from the collection of young, healthy leaves and subjected to the preparation of the hydroethanolic extract and subsequent partitioning, following previously established methodologies. In the biological assays, all samples showed less than 30% inhibition of protozoan activity, failing to meet the minimum criteria for the characterization of relevant biological activity. These results are consistent with the literature, which also reports low antiprotozoal activity in Malpighiaceae species, although some have demonstrated

1 Ph.D. in Biotechnology, State University of Montes Claros, Montes Claros, Minas Gerais, Brazil. E-mail: veronica.sacramento.2014@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5956-1457>

2 Ph.D. in Biochemistry and Immunology, René Rachou Institute - Fiocruz, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. E-mail: daniela.resende@fiocruz.br. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5139-3022>

3 Ph.D. in Health Sciences, René Rachou Institute - Fiocruz, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. E-mail: isabela.ceravolo@fiocruz.br. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1374-2703>

4 Ph.D. in Biochemistry, René Rachou Institute - Fiocruz, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. E-mail: silvane.murta@fiocruz.br. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8523-215>

5 Ph.D. in Chemistry, René Rachou Institute - Fiocruz, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. E-mail: tania.alves@fiocruz.br. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0582-3968>

6 Ph.D. in Natural and Synthetic Products, State University of Montes Claros, Biotechnology, Montes Claros, Minas Gerais, Brazil. E-mail: vanroyo31@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4842-3569>

phytotherapeutic potentials related to antioxidant and anti-inflammatory activities in recent studies. It is concluded that further studies are required to investigate natural compounds as promising alternatives in the development of treatments for neglected diseases caused by protozoa.

Keywords: Biological assays; *Diplopterys pubipetala*; Protozoa.

INTRODUÇÃO

A natureza exibe enorme variedade química, onde são encontradas estruturas complexas passíveis de reprodução em laboratório. Muitos dos medicamentos vendidos são produtos de modificações sintéticas ou sínteses totais de substâncias obtidas naturalmente. A indústria farmacêutica, nos últimos dois séculos, tem usado substâncias químicas originadas da natureza, em especial, isoladas das plantas que servem como modelos base para o desenvolvimento de novas moléculas e também como princípios ativos em si, com grande representatividade no mercado de medicamentos (Noor *et al.*, 2022; Bora *et al.*, 2023).

No Bioma Cerrado, por exemplo, insere-se a família Malpighiaceae, que possui muitas espécies com grande potencial terapêutico já investigados, como atividades antimicrobianas, alelopáticas, antioxidante e antifúngica (Frias *et al.*, 2012; Santos *et al.*, 2020; Abbas *et al.*, 2022; Sacramento *et al.*, 2025). A espécie *Diplopterys pubipetala*, conhecida popularmente como “marvaquero”, “cipó preto” (Gates, 1982) ou “tucunacá” (Nagamine-Pinheiro *et al.*, 2021) ainda foi pouco explorada em relação as atividades biológicas.

O grave contexto das doenças tropicais negligenciadas (DTNs), fomenta a busca de novas substâncias bioativas, os medicamentos disponíveis para as DTNs ainda têm uso restrito devido à falta de eficácia, alto custo, dificuldade de uso ou pela toxicidade que estabelecem, dificuldades para o acesso e continuidade de tratamentos (Neto *et al.*, 2022). É necessário conduzir investigações acerca dos constituintes fitoquímicos e de seus potenciais terapêuticos, bem como elucidar os mecanismos de ação envolvidos e identificar os princípios ativos responsáveis pelas atividades biológicas (Vitale *et al.*, 2022; Roy *et al.*, 2022).

Grande parte da ação terapêutica das plantas relaciona-se aos compostos secundários biologicamente ativos que elas produzem como os polifenóis, flavonoides e ácidos fenólicos, terpenoides, saponinas e outros capazes de produzir efeitos benéficos ao meio ambiente e ao homem (Li *et al.*, 2020; Twaij e Hasan, 2022). Neste estudo o objetivo foi avaliar a atividade antiprotozoária *in vitro* (*Trypanosoma cruzi*, *Leishmania amazonensis*, *Plasmodium falciparum*) do extrato hidroetanólico e partições (hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol) de folhas de *D. pubipetala*.

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL VEGETAL

Foram coletadas folhas jovens e não danificadas de *Diplopterys pubipetala* (Malpighiaceae), no distrito de Nova Esperança, município de Montes Claros (MG), em dezembro de 2021 ($16^{\circ}36'07.0''S$ $43^{\circ}55'12.7''W$; <https://maps.app.goo.gl/4NibPT6woJB29KK56>), a planta foi depositada no Herbário Montes Claros (MCMG) sendo o *voucher* 4033 e o estudo foi registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético (SisGen) sob o número A822A14. Preparou-se o extrato hidroetanólico (Alvarenga *et al.*, 2015). A extração líquido-líquido ocorreu a partir da ressuspensão do extrato em solvente hidroetanólico (7:3) e as partições ocorreram na sequência hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, sendo os volumes iguais (1000 mL; 2×500 mL), posteriormente foram secas em estufa a $38^{\circ}C$ e circulação de ar (Andreo e Jorge, 2006).

Os ensaios biológicos ocorreram *in vitro* com o extrato bruto e todas as partições mencionadas.

ATIVIDADE ANTI-*Trypanosoma cruzi*

Preparou-se a solução estoque (20 mg.mL^{-1}) em dimetilsulfóxido (DMSO). Transferência de $1\text{ }\mu\text{L}$ de cada amostra ($20\text{ }\mu\text{g}$) para os poços de placas de microtitulação; o solvente foi removido em uma centrífuga a vácuo e mantido a $-20^{\circ}C$. O ensaio foi baseado em células da linhagem L929 com a cepa Tulahuen de *Trypanosoma cruzi* transfetada com β -galactosidase (Buckner *et al.*, 1996 e modificado por Romanha *et al.*, 2010).

Os resultados foram expressos como a porcentagem de inibição do crescimento. Os compostos ativos foram testados em concentrações decrescentes para determinar o IC₅₀ sobre as formas do parasita amastigota e tripomastigota. Quadruplicados foram executados na mesma placa e os experimentos foram repetidos ao menos uma vez. O controle positivo foi Benznidazol (Roche) em seu IC₅₀ ($1,0\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1} = 3,8\text{ }\mu\text{M}$).

A viabilidade celular foi expressa como a porcentagem de diferença na redução entre células tratadas e não tratadas. Os valores de IC₅₀ e CC₅₀ foram determinados, em duplicata, por interpolação linear, com a utilização de planilha no software Excel e o índice de seletividade (IS) foi calculado pela razão de CC₅₀ sobre células L929/IC₅₀ sobre *T. cruzi*. Sendo indicador de boa seletividade o valor IS > 10.

ATIVIDADE ANTI-*Leishmania amazonensis*

Formas amastigotas e promastigotas de *L. amazonensis* (cepa IFLA/BR/196/PH-8) foram obtidas de lesão de hamsters infectados experimentalmente e cultivados em meio Schneider's, sendo transformadas em formas amastigotas axênicas para a realização dos ensaios (Calhahan *et al.*, 1997).

O ensaio ocorreu em duplicata. Utilizou-se placas de microcultivo de 96 poços. Em cada poço-teste foram adicionados 90 µL de cultura na concentração de 1×10^8 parasitas.mL⁻¹ e 10 µL das diferentes amostras; todos os controles foram devidamente realizados, a Anfotericina B (0,2 µg.mL⁻¹) foi a substância referência.

Realizou-se a incubação com o uso do corante brometo de 3-4,5-dimetil-tiazol-2-il-2,5-diféniltetrazólio (MTT) (Sereno e Lemesre, 1997). Os resultados foram expressos como porcentagem de morte após 72 h de incubação, foram calculados a partir das medidas de absorbância óptica foi lida a λ 570 nm

ATIVIDADE ANTI-*Plasmodium falciparum*

Os parasitos da linhagem W2 (resistente à cloroquina) foram cultivados em hemácias humanas usando o método de Trager e Jensen (1976) (Andrade-Neto *et al.*, 2007), a sincronização ocorreu pelo método de sorbitol (Lambros e Vanderberg, 1979).

Os testes foram realizados em triplicata, as concentrações dos extratos variaram entre 3,125 µg.mL⁻¹ e 200 µg.mL⁻¹. Os esquizontes foram incubados com SYBR Green. Culturas de *P. falciparum*, com 0,5% de parasitemia e 2% de hematócrito, foram distribuídas em microplacas de 96 poços. Cada poço recebeu o composto-teste em diferentes concentrações, e a cloroquina foi usada como controle positivo.

Os protocolos de incubação, centrifugação e descarte de resíduos, e o monitoramento foi feito com solução salina e tampão (Smilkestein *et al.*, 2004; Siqueira *et al.*, 2012). A viabilidade dos parasitas foi avaliada por curvas de inibição que relacionam a concentração dos compostos com a inibição da replicação do parasita. O IC₅₀ foi calculado usando o software Origin (versão 5.0), com regressão não-linear.

Para investigar a toxicidade dos compostos, foram utilizadas células de rim de macaco (linhagem BGM). Após 24 horas de incubação, a viabilidade celular foi verificada usando o ensaio de vermelho neutro (Borenfreund *et al.*, 1988; Aguiar *et al.*, 2012).

A CC₅₀ foi determinada para cada composto, e o Índice de Seletividade (IS) foi calculado pela relação entre o CC₅₀ e o IC₅₀ (Bézivin *et al.*, 2003).

RESULTADOS

Os valores negativos indicam ausência de atividade e possível aumento na viabilidade dos parasitas em relação ao grupo controle, no ensaio anti-*Trypanosoma*, com extrato bruto hidroetanólico de folhas de *D. pubipetala* e as partições.

Os resultados estão expressos na tabela 1 a seguir:

Tabela 1 - Resultado do ensaio biológico anti-*Trypanosoma*.

Amostra	Replicata 1	Replicata 2	Média	DP	CV(%)	Resultado 1 (%)	Resultado 2 (%)
Extrato Bruto	0,9	0,9	0,9	0,0	1,7	18,8	-27,6
Partição Hexano	0,6	0,9	0,8	0,2	24,1	-38,5	-17,1
Partição Diclorometano	0,9	1,0	0,9	0,0	5,3	-37,6	-30,0
Partição Acetato de etila	0,9	0,9	0,9	0,0	1,9	-50	-20,2
Partição Metanol	0,9	0,9	0,9	0,0	2,7	-50	-19,3

Fonte: Autores.

Benznidazol -Bz (1 µg. mL⁻¹) controle positivo

Solubilizante DMSO (1%)

DP= desvio padrão

CV= coeficiente de variação 8%

No ensaio para verificar a viabilidade de formas amastigotas de *Leishmania amazonensis*, no extrato bruto hidroetanólico de folhas de *D. pubipetala* e as partições, os resultados obtidos para a porcentagem de inibição foram inferiores à 30%, conforme tabela 2, assim, esta triagem não atingiu valores necessários para considerar tais extratos como passíveis de maiores investigações.

Tabela 2- Resultados dos ensaios biológicos anti-*Leishmania*.

Amostra	Replicata 1	Replicata 2	Média	CV(%)	AMB	DMSO	CP	Resultado (%)
Extrato Bruto	0,783	0,783	0,783	1	0,114	1,071	1,075	27
Partição Hexano	0,99	0,99	0,99	0	0,114	1,071	1,075	8
Partição Diclorometano	0,974	0,974	0,974	0	0,114	1,071	1,075	9
Partição Acetato de etila	0,962	0,96	0,961	0	0,114	1,071	1,075	11
Partição Metanol	1,053	1,053	1,053	0	0,114	1,071	1,075	2

Fonte: Autores

AMB: anfotericina B (controle positivo, 89% de inibição)

DMSO: controle negativo

CV (%)= coeficiente de variação

CP= controle parasita (média de absorbância do grupo controle)

No ensaio anti-*Plasmodium falciparum*, o extrato bruto hidroetanólico de folhas de *D. pubipetala* e as partições, ocorreu atividade significativa (IS > 10) apenas para a partição diclorometano, no primeiro ensaio, mas essa atividade não foi reproduzível em nova avaliação, critério adotado na metodologia (Bézivin *et al.* 2003) e expresso no Tabela 3.

Tabela 3- Resultados dos ensaios biológicos anti-*Plasmodium*.

Amostra	CC ₅₀ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	IC ₅₀ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Atividade (Ensaio SYBR)	IS
Extrato Bruto	≥ 200	$40,2 \pm 3,6$	Não	NA
Partição Hexano	≥ 200	≥ 50	Não	NA
Partição Diclorometano	$99,2 \pm 8,4$	$9,3 \pm 1,14$	Sim	11
Partição Acetato de etila	≥ 200	≥ 50	Não	NA
Partição Metanol	≥ 200	≥ 50	Não	NA

Fonte: Autores

Citotoxicidade avaliada pelo ensaio de incorporação de vermelho neutro em células renais de macaco da linhagem BGM

IS= Índice de Seletividade = MDL50/IC50; valores > 10 são considerados não tóxicos

NA= não se aplica

DISCUSSÃO

Um dos maiores problemas mundiais de saúde, que afetam principalmente países mais pobres da África, Ásia e América Latina, são as infecções causadas por espécies de protozoários como *Trypanosoma*, *Plasmodium* e *Leishmania* que de forma significante causam morbidade e mortalidade (Khater *et al.*, 2017). As drogas disponíveis para tratamento das DNTs, tem uso restrito a determinadas etapas da doença, a toxicidade muitas vezes ocasiona dificuldade e continuidade de uso, e soma-se a isso a questão do alto custo (Jackson *et al.*, 2020; Neto *et al.*, 2022).

A seleção de métodos para verificação de atividades biológicas *in vitro* permitem que se faça observações precursoras necessárias com o intuito de selecionar, entre os produtos vegetais brutos, aqueles com propriedades potencialmente úteis para outras aplicações químicas e estudos farmacológicos (Luize *et al.*, 2005; Kabera *et al.*, 2014).

Os resultados relativos a inatividade do extrato bruto e as partições de folhas de *D. pubipetala* em relação as atividades anti-*T. cruzi*, anti-*L. amazonensis* e anti-*P. falciparum* condizem com outros diversos resultados obtidos na literatura para Malpighiaceae.

O extrato etanólico e partições de folhas de *Malpighia glabra*, foram avaliados para o conhecimento do perfil de atividade anti- *T. cruzi* sendo todos considerados inativos visto que as porcentagens de redução de infecção foram inferiores à 90%, mais especificamente inferiores a 11% (Peres *et al.* 2021).

Em um trabalho de revisão sobre uso tradicional, fitoquímico e potencial terapêutico em extratos vegetais de vinte diferentes gêneros de Malpighiaceae, totalizando mais de trinta espécies, apenas *Byrsonima coccobifolia* apresentou atividade inibitória significativa para *L. amazonensis* atribuída possivelmente a presença de flavonoides (de Sousa *et al.*, 2014; Abbas *et al.*, 2022).

Em outro estudo que envolveu óleos essenciais extraídos das raízes de *Banisteriopsis campesstris* foram obtidos dados que sugerem seletividade da amostra frente a *L. amazonensis*, e o efeito citotóxico em si (Rocha *et al.*, 2018).

Os alcaloides harmina e harmalina, presentes no chá de Ayahuasca produzido a partir da planta *Banisteriopsis caapi*, foram relatados por apresentarem atividade inibitória significativa contra espécies do gênero *Plasmodium* (Frias *et al.*, 2012).

Outras espécies de Malpighiaceae foram testadas em laboratório: *Byrsonima crassifolia*, *Byrsonima verbascifolia*, *Byrsonima crassa* com demonstração de atividade antimalária ou usados como febrífugos na América Central (Milliken, 1997).

A atividade antiplasmódica (antimalária) foi relatada apenas para duas espécies de Malpighiaceae, com destaque para *Tristellateia madagascariensis*. O uso tradicional dessa espécie envolve a decocção das folhas, que é administrada por via oral para aliviar os sintomas da malária, enquanto a inalação de seus vapores tem sido utilizada para reduzir a febre (Randrianarivojosia *et al.*, 2003).

Dentre estudos mais recentes, tem-se a pesquisa *in vivo*, com a espécie *Stigmaphyllon ovatum*, que produziu atividade quimiossupressora da malária, verificou-se que o mesmo constituído por diversos metabólitos como terpenoides, esteroides, fenólicos e alcaloides, estima-se que quando o agente antimalárico for isolado poderá tornar-se precursor ou medicamento para tal doença (Iyekowa *et al.*, 2021).

A ausência de atividade antiprototozoária observada para o extrato vegetal e as partições de *D. pubipetala*, frente aos protozoários *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania amazonensis* e *Plasmodium falciparum*, nas condições propostas neste estudo, pode ser atribuída a diferentes fatores como a concentração insuficiente de compostos ativos presentes na amostra, bem como a ausência ou pouco sinergismo entre os constituintes para que houvesse a resposta biológica no ensaio (Radulovc *et al.*, 2013). Além disso, é possível que o extrato não contenha metabólitos com atividade antiprototozoária específica para as espécies investigadas (Bessa *et al.*, 2013; Vásquez-Ocmína *et al.*, 2018). Mais especificamente, em relação a diferença entre os ensaios antiplasmódicos outro fator como a alteração na estabilidade dos metabólitos pode ser a causa da atividade não detectada

CONCLUSÕES

Diante dos desafios relacionados ao tratamento de doenças ocasionadas por *Trypanosoma*, *Leishmania* e *Plasmodium* que causam morbidade e mortalidade em grande parte do mundo, faz-se necessário a continuidade por buscas de substâncias que tenham atividade biológica relevante em relação a esses microrganismos.

Para os testes *in vitro* realizados com o extrato bruto e partições de *D. pubipetala*, não foi observada atividade biológica nos modelos testados, dentro das concentrações utilizadas. No entanto, considerando as limitações dos tratamentos atualmente disponíveis para essas parasitoses, marcados frequentemente por toxicidade elevada, eficácia limitada e restrições de uso prolongado, estudos futuros relacionados ao potencial terapêutico de plantas medicinais devem ser incentivados, bem como a investigação fitoquímica detalhada da partição diclorometano e testes *in vivo* com frações purificadas.

Estudos de bioatividade orientados por fracionamento, podem revelar propriedades farmacológicas ainda não identificadas. O desenvolvimento de novos fármacos a partir de fontes naturais permanece uma alternativa promissora para superar os desafios impostos pelas terapias convencionais, promovendo tratamentos mais seguros e eficazes para as doenças negligenciadas.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, H. *et al.* A Review on Traditional uses, Phytochemistry and Pharmacological Potential of Family Malpighiaceae. **Egyptian Journal of Chemistry**. [S. l.]: Egypys Presidential Specialized Council for Education and Scientific Research, 10 mar. 2022. DOI 10.21608/ejchem.2022.119510.5372
- AGUIAR, A. C. C. *et al.* Antimalarial Activity and Mechanisms of Action of Two Novel 4-Amino-quinolines against Chloroquine-Resistant Parasites. (A. C. Gruner, org.). **PLoS ONE**. [S. l.]: Public Library of Science (PLoS), 23 maio 2012. DOI 10.1371/journal.pone.0037259
- ALVARENDIA, F. Q. *et al.* Atividade Antinociceptiva e Antimicrobiana da Casca do Caule de Psidium Cattleyanum Sabine. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. [S. l.]: FapUNIFESP (SciELO), 2015. DOI 10.1590/1983-084x/14_146
- ANDRADE-NETO, V. F. de *et al.* In vitro inhibition of Plasmodium falciparum by substances isolated from Amazonian antimalarial plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. [S. l.]: FapUNIFESP (SciELO), jun. 2007. DOI 10.1590/s0074-02762007000300016
- ANDREO, D.; JORGE, N. ANTIOXIDANTES NATURAIS: TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos. [S. l.]: Universidade Federal do Parana, 31 dez. 2006. DOI 10.5380/cep.v24i2.7489
- BESSA, N.G.F. *et al.* Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento Vale Verde - Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. [S.l.], v.15, n.4, supl.I, p.692-707, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000500010>
- BÉZIVIN, C. *et al.* J. Cytotoxic activity of some lichen extracts on murine and human cancer cell lines. **Phytomedicine**. [S. l.]: Elsevier BV, jan. 2003. DOI 10.1078/094471103322331458
- BORA, G. The Prospective Use Of Phytochemicals Against Covid-19: A Review. **Journal of Pharmaceutical Negative Results** [S. L.], p. 2600-2606, 2023. DOI: 10.47750/pnr.2023.14.S02.305.

BORENFREUND, E. *et al.* Comparisons of two in vitro cytotoxicity assays-The neutral red (NR) and tetrazolium MTT tests. **Toxicology in Vitro**. [S. l.]: Elsevier BV, jan. 1988. DOI 10.1016/0887-2333(88)90030-6

CALLAHAN, H. L. *et al.* An axenic amastigote system for drug screening. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. [S. l.]: American Society for Microbiology, abr. 1997. DOI 10.1128/aac.41.4.818.

DE SOUSA, L. R. F. *et al.* Isolation of Arginase Inhibitors from the Bioactivity-Guided Fractionation of *Byrsonima coccocalobifolia* Leaves and Stems. **Journal of Natural Products**. [S. l.]: American Chemical Society (ACS), 13 fev. 2014. DOI 10.1021/np400717m.

FRIAS, U. A. *et al.* Banisteriopsis Species: A Source of Bioactive of Potential Medical Application. **International Journal of Biotechnology for Wellness Industries**. [S. l.]: Lifescience Global, 2012. DOI 10.6000/1927-3037/2012.01.03.02.

GATES, B. 1982. Banisteriopsis and Diplopterys (Malpighiaceae). **Flora Neotropica Monograph** 30: 1-237.

IYEKOWA, O. *et al.* Antimalarial Potential of Methanol Extract of *Stigmaphyllonovatum* in *Plasmodium falciparum* infected mice. **FUW Trends in Science & Technology Journal**, v. 6, n. 1, p. 239 - 242. 2021. DOI: 10.2147/JEP.S285117.

JACKSON, Y. *et al.* Tolerance to nifurtimox and benznidazole in adult patients with chronic Chagas' disease. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. [S. l.]: Oxford University Press (OUP), 21 nov. 2020. DOI 10.1093/jac/dkz473

KABERA, J. N. *et al.* Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. V. 2, p. 377-392. 2014.

KHATER, H. *et al.* Natural Remedies in the Fight Against Parasites. [S. l.]: InTech, 2017. DOI 10.5772/63275

LAMBROS, C.; VANDERBERG, J. P. Synchronization of *Plasmodium falciparum* Erythrocytic Stages in Culture. **The Journal of Parasitology**. [S. l.]: JSTOR, jun. 1979. DOI 10.2307/3280287

LI, Y. *et al.* The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. **Plant Physiology and Biochemistry**. [S. l.]: Elsevier BV, mar. 2020. DOI 10.1016/j.plaphy.2020.01.006.

LUIZE, P. S. *et al.* Effects of medicinal plant extracts on growth of Leishmania (L.) amazonensis and Trypanosoma cruzi. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. [S. l.]: FapUNIFESP (SciELO), mar. 2005. DOI 10.1590/s1516-93322005000100010.

MILLIKEN, W. Traditional anti-malarial medicine in Roraima, Brazil. **Economic Botany**. [S. l.]: Research p.212-237, jul. 1997. DOI 10.1007/bf02862091

NAGAMINE-PINHEIRO, N. *et al.* Vegetative anatomy, morphology and histochemistry of three species of Malpighiaceae used in analogues of the Amazonian psychoactive beverage Ayahuasca. **Flora**. [S. l.]: Elsevier BV, fev. 2021. DOI 10.1016/j.flora.2020.151760

NETO, P. T. P. F. *et al.* Desenvolvimento de novos medicamentos para doenças negligenciadas: uma análise bibliométrica. **Revista Eletrônica de Comunicação, Informação e Inovação em Saúde**. [S. l.]: Instituto de Comunicacao e Informacao Cientifica e Tecnologica em Saude, 30 jun. 2022. DOI 10.29397/reciis.v16i2.2380.

NOOR, F. *et al.* A Network Pharmacology Approach for Medicinal Plants: Review and Assessment. **Pharmaceuticals**. [S. l.]: MDPI AG, 4 maio 2022. DOI 10.3390/ph15050572.

PERES, R. B. *et al.* In vitro phenotypic activity and in silico analysis of natural products from Brazilian biodiversity on Trypanosoma cruzi. **Molecules**, v. 26, n. 18, p. 5676, 2021.

RADULOVIC, N. S.; BLAGOJEVIC, P. D.; PALIĆ, R. M. Antimicrobial plant metabolites: Structural diversity and mechanism of action. **Current Medicinal Chemistry**. [S. l.]: Bentham Science Publishers, 2013. v. 20, n. 7, p. 947-962. DOI: 10.2174/092986713805219136.

RANDRIANARIVELOJOSIA, M. *et al.* Malaria Journal. [S. l.]: Springer Science and Business Media LLC, 2003. DOI 10.1186/1475-2875-2-25.

ROCHA, E. O. *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of flowers from Banisteriopsis campestris (A. Juss.) Little. **Revista Virtual de Química**. [S. l.]: Sociedade Brasileira de Quimica (SBQ), 2018. DOI 10.21577/1984-6835.20180106.

ROMANHA, A. J. *et al.* In vitro and in vivo experimental models for drug screening and development for Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. [S. l.]: FapUNIFESP (SciELO), mar. 2010. DOI 10.1590/s0074-02762010000200022.

ROY, A. *et al.* Flavonoids a Bioactive Compound from Medicinal Plants and Its Therapeutic Applications. (R. Ullah, org.). **BioMed Research International**. [S. l.]: Hindawi Limited, 6 jun. 2022. DOI 10.1155/2022/5445291.

SACRAMENTO, V. M. *et al.* *Diplopterys pubipetala* (Malpighiaceae): Insights into antioxidant, anti-bacterial, and antifungal activities with chemical composition analysis via UHPLC-MS/MS and GC/MS. **Molecules**, 30(946). <https://doi.org/10.3390/molecules30040946>

SANTOS, K. T. *et al.* In vitro Antitumor Effect on Melanoma Cell Line and Chemical Composition of *Diplopterys pubipetala* (A. Juss) W.R. Anderson and C. Davis. **Pharmacognosy Reviews**. [S. l.]: EManuscript Technologies, 15 dez. 2020. DOI 10.5530/phrev.2020.14.18.

SERENO, D.; LEMESRE, J. L. Axenically cultured amastigote forms as an in vitro model for investigation of antileishmanial agents. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. [S. l.]: American Society for Microbiology, maio 1997. DOI 10.1128/aac.41.5.972.

SIQUEIRA-BATISTA, R. *et al.* Malária por *Plasmodium falciparum*: estudos proteômicos. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**. [S. l.]: GN1 Genesis Network, dez. 2012. DOI 10.1590/s0103-507x2012000400017.

SMILKSTEIN, M. *et al.* Simple and Inexpensive Fluorescence-Based Technique for High-Throughput Antimalarial Drug Screening. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. [S. l.]: American Society for Microbiology, maio 2004. DOI 10.1128/aac.48.5.1803-1806.2004

TWAIJ, B. M.; HASAN, Md. N. Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. **International Journal of Plant Biology**. [S. l.]: MDPI AG, 21 fev. 2022. DOI 10.3390/ijpb13010003.

VÁSQUEZ-OCMÍNA, Pedro *et al.* Antiprotozoal activity of medicinal plants used by Iquitos-Nauta road communities in Loreto (Peru). **Journal of Ethnopharmacology**. [S. l.]: Elsevier, 05 jan. 2018. DOI: 10.1016/j.jep.2017.08.039

VITALE, S. *et al.* Phytochemistry and Biological Activity of Medicinal Plants in Wound Healing: An Overview of Current Research. **Molecules**. [S. l.]: MDPI AG, 1 jun. 2022. DOI 10.3390/molecules27113566