

Avaliação de extratos e frações obtidas da casca do fruto de *Platonia insignis* Mart. (bacuri) sobre *Leishmania amazonensis*.

Adriana Cunha Souza (bolsista do PIBIC/CNPq), Prof. Dr. Fernando Aécio de Amorim Carvalho (orientador, Depto. de Bioquímica e Farmacologia – UFPI), Dra. Sabrina Maria Portela Carneiro (colaboradora, UFPI), Prof. Dra. Mariana Helena Chaves (Departamento de Química-UFPI), Cleyton Marcos de Melo Sousa (colaborador, UFPI)

Introdução

A leishmaniose é um grupo de doenças parasitárias de distribuição global transmitida ao homem pela picada de cerca de 30 espécies de flebotomíneos infectados por protozoários do gênero *Leishmania*. Calcula-se que 2 milhões de novos casos ocorrem a cada ano em todo o mundo, dos quais 1,5 milhão são casos de leishmaniose tegumentar (OMS, 2007).

O tratamento das leishmanioses há mais de 50 anos é feito com quimioterápicos que são de uso parenteral, requerem acompanhamento médico e são tóxicos, o que dificulta a adesão ao tratamento. Outros fatores importantes são: a possibilidade do surgimento de espécies resistentes a esses fármacos e o custo e a extensão do tratamento (PECOUL, 1999).

No Brasil, o uso das plantas medicinais foi disseminado principalmente pela cultura indígena. É um país rico em diversidade e possui cinco dos principais biomas terrestres. Portanto, é uma rica fonte de possíveis produtos terapêuticos. No entanto, este potencial para a descoberta de plantas como fonte de novas drogas é pobremente explorado ou regulamentado (CALIXTO, 2000; RATES, 2001).

A variedade de espécies das quais substâncias potencialmente ativas contra leishmania pode ser extraídas é muito grande (CARVALHO, 2000). A espécie *Platônia insignis* Mart. conhecida como “bacurizeiro” é uma espécie nativa da Amazônia, de ocorrência também em parte do Nordeste do Brasil, particularmente nos Estados do Maranhão e Piauí, em seu estado nativo (MONTEIRO, 1997).

O interesse em terapias naturais, principalmente em produtos de origem vegetal é muito comum na população mais carente, o exemplo é o uso da graxa das sementes de bacuri para tratamento de problemas de pele, tais como: queimaduras, feridas e até mesmo para tratamento de dores lombares e inflamações. No estado do Piauí, os nativos extraem uma graxa que a ser aquecida se solubiliza e é usada para o tratamento de diversas doenças em humanos e animais (LIMA, 2007).

Considerando a importância de novas alternativas terapêuticas para a leishmanioses, temos como objetivo a avaliação da atividade inibitória sobre formas promastigotas de *L. amazonenses* e citotóxica de extratos e frações obtidos da casca do fruto do Bacurizeiro.

Metodologia

Avaliação dos extratos e frações sobre formas promastigotas de *Leishmania*: Amostras do Extrato Etanólico 1, 2 e Extrato Aquoso e frações Hexânica, Acetato de Etila e Precipitado de Extrato Etanólico 2 de *Platonia insignis* Mart. foram diluídas em série de 1:2 a partir de 400,00 até 3,13 µg/mL em meio de Schneider's. Distribuiu-se 10⁶ leishmanias por poço em placa de cultivo celular de 96 poços. Quantificou-se as leishmanias após 24, 48 e 72 horas de incubação. A seguir calculou-se o efeito e a concentração inibitória média através do programa estatístico SPSS 13.0.

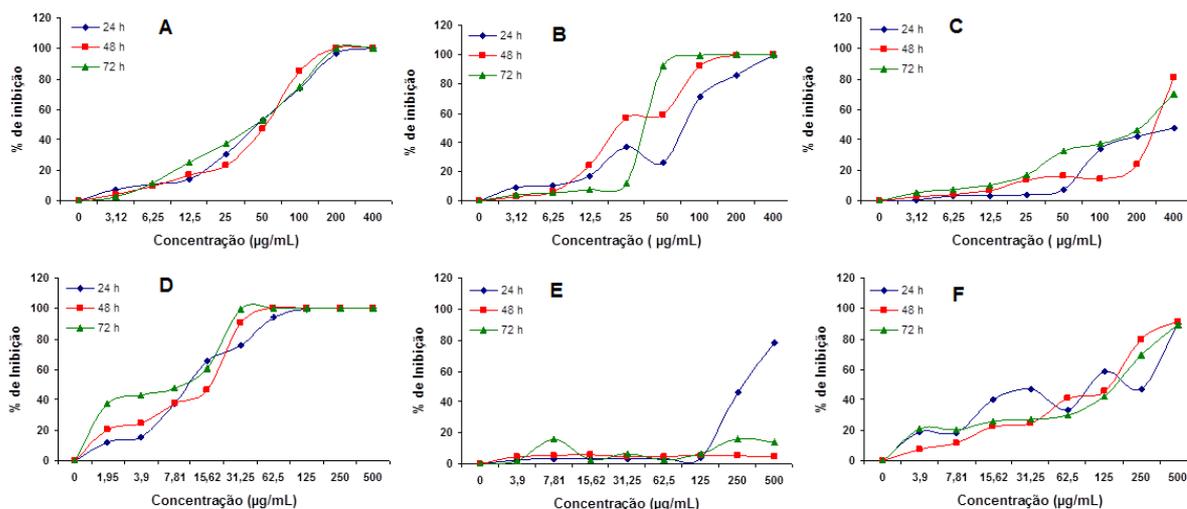
Avaliação da citotoxicidade pelo teste do MTT: Em placa de 96 poços foi adicionado 100 µL de meio RPMI 1640 completo com 2 x 10⁵ macrófagos por poço e incubada por 4 horas. Foram feitas

duas lavagens com meio RPMI completo e adicionados extratos e suas frações nas concentrações em série de 1:2 a partir de 400,00 até 3,13 µg/mL. Incubou-se por 48 horas, adicionou-se 10 µL de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazolil]-2,5-difeniltetrazólio) a 5 mg/mL diluído em PBS e incubou-se por 4 horas em estufa 37 °C com 5% de CO₂, descartou-se o sobrenadante e adicionou-se 100 µL de DMSO (dimetilsulfóxido). Fez-se, então, a leitura a 550 nm em leitora de placa.

Resultados e Discussão

Inicialmente avaliamos o efeito do Extrato Etanólico 1, Etanólico 2 e Aquoso sobre formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*. No extrato etanólico 1 o efeito é independente do tempo (Figura 01-A), no etanólico 2 o efeito é tempo-dose dependente (Figura 01-B) e no aquoso dose-dependente (Figura 01-C). Na análise do efeito inibitório produzido pelas frações do extrato etanólico 2, observa-se na fração hexânica uma potencialização da inibição do crescimento do parasita (Figura 01-D), enquanto nas frações acetato de etila e precipitado não foram observadas aumento na atividade quando comparadas ao efeito do extrato etanólico 2 (Figura 01-E e F, respectivamente).

Figura 01: Efeito dos Extrato Etanólico 1(A), 2 (B) e aquoso (C) e frações hexânica (D), acetato de etila (E) e precipitado (F) de *Platonia insignis* Mart. no crescimento in vitro de *Leishmania amazonensis*.



A seguir, procedemos com a determinação da IC₅₀, concentração Inibitória para 50% de parasitas. Para o extrato Etanólico 1 os valores foram promissores (24h, 37,29 µg/mL; 48h, 37,13 µg/mL; 72h, 33,16 µg/mL), pois houve um decréscimo das concentrações com o decorrer do tempo. O extrato Etanólico 2 apresentou os melhores resultados (24h, 44,48 µg/mL; 48h, 26,40 µg/mL; 72h, 26,18 µg/mL) por que as concentrações são as mais baixas e decrescentes. Já o extrato Aquoso não apresenta um decréscimo nas concentrações e tem valores relativamente altos de IC₅₀ (24h, 49,36 µg/mL; 48h, 83,73 µg/mL; 72h, 56,08 µg/mL).

Na análise da IC₅₀ obtida para as frações do extrato Etanólico 2, destacamos os resultados obtidos na fração Hexânica, que são muito baixos e seguem uma ordem decrescente com o tempo (24h, 10,05 µg/mL; 48h, 9,0 µg/mL; 72h, 5,38 µg/mL). A fração acetato apresenta valores muito altos e as concentrações são crescentes (24h, 4311,98 µg/mL; 48h, 97993,0 µg/mL; 72h, 41728,92 µg/mL).

Já a fração Precipitado, não apresenta valores muito altos, mas os índices são crescentes, o que não é favorável (24h, 65,8 µg/mL; 48h, 88,65 µg/mL; 72h, 83,63 µg/mL).

Nos dados sobre a toxicidade induzida pelos extratos e frações sobre macrófagos. Os extratos etanólicos 1 e 2 e a fração hexânica de *Platonia insignis* Mart. apresentaram valores de concentração citotóxica média para macrófagos (CC₅₀) de 146,66, 108,76 e 32,17 µg/mL, respectivamente. Comparado tais valores com os resultados obtidos com a IC₅₀ para esses mesmos extratos pode-se sugerir que a toxicidade dos mesmos é seletiva e específica. O mesmo não ocorre com o extrato aquoso e precipitado (CC₅₀ 49,36 e 88,65 µg/mL, respectivamente) que apresentam valores CC₅₀ inferiores aos da IC₅₀, indicando que não há seletividade nem especificidade.

Conclusão

Os extratos etanólicos 1 e 2 e o extrato aquoso e as frações hexânica, acetato de etila e precipitado apresentam atividade antileishmania *in vitro*. O fracionamento do extrato etanólico 2, resultou na frações Hexânica que potencializou o efeito inibitório do crescimento desse parasito. Os extratos etanólicos 1 e 2, assim como a fração hexânica apresentaram atividade seletiva e específica sobre *Leishmania amazonensis*, enquanto o extrato aquoso e a fração precipitado mostraram-se muito citotóxicas.

Apoio: CNPQ

Referências Bibliográficas

- CALIXTO J. B. **Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents)**. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, v. 33, p. 179-189, 2000.
- CARVALHO, P.B.; GRAÇA ARRIBAS, M.A.; FERREIRA, E.I. Leishmaniasis. **What do we know about its chemotherapy?** Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 36(1):69-96, 2000.
- LIMA, M. M. O.; VIEIRA, L. F.; JUNIOR, J. S. C. **Avaliação da atividade antioxidante de *Platonia insignis* Mart.(Clusiaceae)**. II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica, João Pessoa – PB, 2007.
- MONTEIRO, A. R.; MEIRELES, M. A. A.; MARQUES, M. O. M.; PETENATE, A. J. **Extraction of the soluble material from the shells of the bacuri fruit (*Platonia insignis* Mart.) with pressurized CO₂ and other solvents**. Journal of Supercritical Fluids., v.11, p.91-102, 1997.
- PECOUL, B.; CHIRAC, P.; TROUILLIER, P.; PINEL, J. **Access to essential drugs in poor countries. A last battle?** Journal of the American Medical Association 281:361-367, 1999.
- RATES S. M. K. **Plants as source of drugs**. Toxicon, v. 39, p. 603- 613, 2001.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Control of the Leishmaniasis**. Geneva, WHO, (Techn. Rep. Ser. 703), 158 p., 2007

Palavras-chave: *Platonia insignis* Mart.. *Leishmania amazonenses*. Citotoxicidade.