

Avaliação antileishmania do *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae)

Mislaine Adriana Brenzan¹ (PG), Izabel Cristina Ferreira¹ (PQ), Celso Vataru Nakamura¹ (PQ), Tânia Ueda Nakamura¹, Benedito P. Dias Filho¹ (PQ), Diógenes A. Garcia Cortez^{1*} (PQ). dagcortez@uem.br

¹ Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Farmácia e Farmacologia Av. Colombo n° 5790, CEP 87020-900, Maringá, PR, Brasil.

Palavras Chave: *Calophyllum brasiliense*, antileishmania, cumarina.

Introdução

A leishmaniose é uma doença endêmica no Brasil, constituindo um sério problema de saúde pública¹. O tratamento a mais de 50 anos está restrito aos antimoniais pentavalentes, como o Glucantime®, que são extremamente tóxicos e tem apresentado resistência ao parasita². O extrato bruto metanólico do caule obtido do *Calophyllum kunstleri* apresentou atividade leishmanicida frente à *Leishmania major*³ assim como o extrato bruto metanol:acetona (2:1 v/v) do caule e as xantonas isoladas do *C. brasiliense* apresentaram atividade frente ao *Trypanosoma cruzi*⁴. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antileishmania *in vitro* de extratos brutos, frações e da cumarina (-) mammea A/BB obtida das *C. brasiliense*, bem como avaliar a citotoxicidade desta substância frente aos macrófagos J774G8 e analisar as alterações ultraestruturais que a (-) mammea A/BB provoca nos protozoários.

Resultados e Discussão

Frente as formas promastigotas e amastigotas axênicas, o extrato em diclorometano das folhas do *C. brasiliense* apresentou $CI_{50}=40 \mu\text{g/mL}$ e $CI_{50}=3,69 \mu\text{g/mL}$ respectivamente e a fração hexânica (F1) obtida do fracionamento deste extrato apresentou $CI_{50}=17 \mu\text{g/mL}$ e $CI_{50}=3,25 \mu\text{g/mL}$ respectivamente. Da fração F1 foi isolada a cumarina (-) mammea A/BB (Figura 1) por métodos cromatográficos em coluna de adsorção em sílica gel e por filtração em SEPHADEX LH-20 que apresentou importante atividade antileishmania com $CI_{50}=3,0 \mu\text{g/mL}$ para promastigotas e $CI_{50}=0,88 \mu\text{g/mL}$ para amastigotas. Os resultados mostraram que o fracionamento melhorou a atividade antileishmania.

A substância (-) mammea A/BB apresentou $CC_{50}=25 \mu\text{g/mL}$, sendo pouco tóxica para os macrófagos J774G8 e mais seletiva para os protozoários em relação aos macrófagos. Por microscopia eletrônica de transmissão formas promastigotas tratadas por 72h com $3,0 \mu\text{g/mL}$ da (-) mammea A/BB apresentaram como alterações ultraestruturais aparecimento de células binucleadas, múltipla vacuolização do citoplasmática, intensa atividade exocítica na região da bolsa flagelar e inchaço da

mitocôndria com presença de membranas concêntricas na matriz mitocondrial (figura 2).

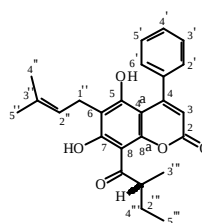


Figura 1: (-) mammea A/BB.

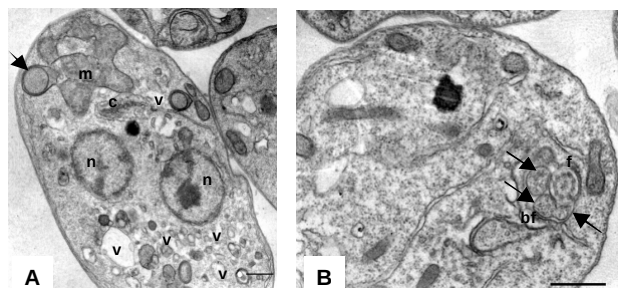


Figura 2: Microscopia eletrônica de transmissão de formas promastigotas de *L. amazonensis* tratadas com substância (-) mammea A/BB. As setas demonstram: **(A)** aumento da mitocôndria e membranas concêntricas na matriz mitocondrial, **(B)** intensa exocitose. **v:** vacúolo, **f:** flagelo, **m:** mitocôndria, **bf:** bolsa flagelar, **n:** núcleo, **c:** cinetoplasto. Barras: 1 μm

Conclusões

A substância (-) mammea A/BB isolada do extrato em diclorometano das folhas *C. brasiliense* mostrou-se uma droga promissora no tratamento da leishmaniose. No entanto, estudos complementares são necessários para o desenvolvimento de um novo medicamento em substituição aos tradicionais.

Agradecimentos

À CAPES e CNPQ pelo apoio financeiro.

¹Genaro, O. In: Neves, D. P. *Parasitologia Humana*, 9. ed, 1998, cap.7, p. 41.

²Berman, J.D.; *Clin. Derm.* 1996, 14(5). 519.

³Takahashi, M.; Fuchino, H.; Mimaki, Y.; Sashida, Y. e Ohizumi, Y. *Biol. Pharm. Bull.* 2004, 27(6), 927.

⁴ Abe, F.; Nagafuji, S.; Okabe, H.; Akahane, H.; Estrada-Muñiz, E.; Huerta-Reyes, M. e Reyes-Chilpa, R. Biol. Pharm. Bull. 2004, 27(1), 141.