

Avaliação antileishmania da *Piper ovatum* Vahl (Piperaceae) e estudo das alterações ultraestruturais por microscopia eletrônica de transmissão

Daniel Rodrigues Silva¹ (PG), Celso Vataru Nakamura¹ (PQ), Tânia Ueda Nakamura¹(PQ), ²Lucia Elaine Ranieri Cortez (PQ), 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.

² Cesumar, Departamento de Farmácia, CEP 87050-390, Maringá, PR, Brasil.

Palavras Chave: *Piper ovatum*, antileishmania, amidas.

Introdução

A leishmaniose é uma doença endêmica no Brasil, constituindo um sério problema de saúde pública¹. O tratamento está restrito aos antimoniais pentavalentes, como o Glucantime®, que são extremamente tóxicos e tem apresentado resistência ao parasita². Na família Piperaceae não apresenta relatos na literatura de atividade antileishmania de amidas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antileishmania *in vitro* de extratos brutos, frações e de amidas obtidas das folhas da *P. ovatum*, bem como avaliar a citotoxicidade frente aos macrófagos J774G8 e analisar as alterações ultraestruturais das amidas.

Resultados e Discussão

Frente as formas promastigotas, o extrato bruto hidroalcoólico das folhas da *P. ovatum* apresentou $Cl_{50}=60 \mu\text{g/mL}$. As frações obtidas deste extrato hexano (F1), diclorometano-acetato de etila (F2), acetato de etila (F3) e metanol (F4), apresentaram $Cl_{50}=4.7\mu\text{g/mL}$, $Cl_{50}=2,1\mu\text{g/mL}$, $Cl_{50}=101\mu\text{g/mL}$, $Cl_{50}=>1000\mu\text{g/m}$ respectivamente. Da fração F2 foi isolada uma mistura de amidas piperovatina e piperlonguminina (Figura1) por métodos cromatográficos em coluna de adsorção em sílica gel e por filtração em SEPHADEX LH-20 que apresentou importante atividade antileishmania.

Para a piperovatina obteve-se $Cl_{50}=9,5\mu\text{g/mL}$ para promastigotas e $Cl_{50}=10\mu\text{g/mL}$ para amastigotas, para a mistura das amidas (piperovatina e piperlonguminina) obteve-se $Cl_{50}=0,9\mu\text{g/mL}$ para promastigotas e $Cl_{50}=24\mu\text{g/mL}$ para amastigotas. Os resultados mostraram que o fracionamento melhorou a atividade antileishmania.

A piperovatina e a mistura de amidas apresentou $CC_{50}=>1000 \mu\text{g/mL}$ e $CC_{50}=>679,5 \mu\text{g/mL}$ respectivamente sendo pouco citotóxica aos macrófagos J774G8 e mais seletiva aos protozoários. Por microscopia eletrônica de transmissão, as formas promastigotas tratadas por 72h com Cl_{50} da mistura foi possível observar alterações ultraestruturais tais

como: múltipla vacuolização do citoplasmática, aberrações nucleares, intensa atividade exocítica na região da bolsa flagelar e inchaço da mitocôndria com presença de membranas concêntricas na matriz mitocondrial (Figura 2)

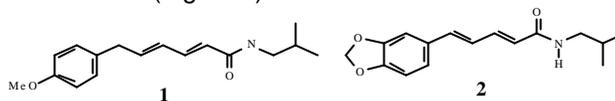


Figura 1. piperovatina (1) e piperlonguminina (2).

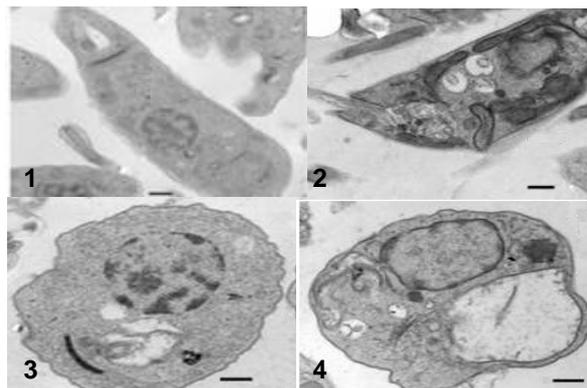


Figura 2. 1- controle promastigota, 2 promastigota tratado com Cl_{50} , 3- controle amastigota axênica, 4 amastigota tratado com Cl_{50} .

Conclusão

Os extratos, frações e substâncias isoladas da *P. ovatum* Vahl. apresentaram atividade antileishmania *in vitro*. A piperovatina apresentou maior atividade contra amastigota axênica em relação a mistura e para promastigota observou o inverso, verificou também uma baixa citotoxicidade. A mistura promoveu diversas alterações ultraestruturais ao parasita.

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.

