

Atividade leishmanicida de lactonas sesquiterpênicas de *Tithonia diversifolia* (Asteraceae)

Sérgio R. Ambrosio¹ (PG), Juliano S. Toledo² (PG), Tatiane C. I. Toledo² (PG), Daniel G. Cerri² (PG), Walter Lopes³ (TC), Angela K. Cruz² (PQ) and Fernando B. Da Costa³ (PQ)*

¹Universidade de São Paulo (USP), Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Departamento de Química; ²USP, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Departamento de Biologia Celular, Molecular e Bioagentes Patogênicos; ³USP, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Laboratório de Farmacognosia; *febcosta@fcrp.usp.br

Palavras Chave: Asteraceae, *Tithonia diversifolia*, lactonas sesquiterpênicas, atividade leishmanicida, *Leishmania*

Introdução

Leishmania são protozoários responsáveis por causar a leishmaniose, uma parasitose endêmica no Brasil que afeta milhões de pessoas¹. Devido à ausência de vacinas ou tratamentos eficazes para se prevenir ou tratar esta infecção, há a necessidade de se avaliar substâncias que possam ser utilizadas como protótipos para novas drogas. Substâncias naturais como saponinas, alcalóides, chalconas e tetralonas apresentam atividade leishmanicida.

Tithonia diversifolia (Hemsl.) A. Gray (Asteraceae) é uma planta ornamental originária das América e seus extratos e alguns metabólitos apresentam diversas propriedades farmacológicas, tais como antiinflamatória, antiespasmódica, citotóxica e anti-malárica. Neste trabalho, é descrito o potente efeito leishmanicida do extrato de lavagem glandular das folhas e de seus constituintes principais, as lactonas sesquiterpênicas (LSTs).

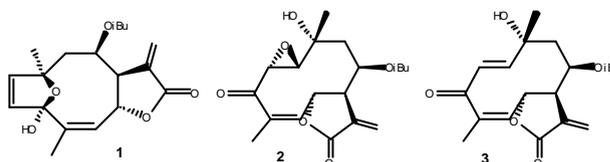
Resultados e Discussão

Folhas secas e íntegras de *T. diversifolia* foram lavadas com CH₂Cl₂ à temperatura ambiente, durante 3 min, fornecendo o extrato da lavagem foliar, que apresentou potente ação leishmanicida. Após a ressuspensão do extrato em MeOH e partições com *n*-hexano, seguida de CH₂Cl₂, foram obtidas duas frações. A fração em CH₂Cl₂ era composta basicamente por uma mistura de LSTs e foi fracionada em sílica gel, através de métodos cromatográficos diversos, tendo como eluentes *n*-hexano e AcOEt. As substâncias foram purificadas através de CCD preparativa e CLAE. Através de análise espectrométrica (IV, RMN-¹H, ¹³C e EM), foram identificadas as estruturas de oito LSTs, além do flavonóide hispidulina e do diterpeno ácido *ent*-caurenóico.

O extrato e as LSTs purificadas foram dissolvidos em DMSO e os ensaios, em triplicata, foram realizados com as formas promastigotas (4 x 10⁵) de *Leishmania major*. Os parasitas são oriundos de

cepas virulentas LV39 (MRHO/SU/59/P) clonadas e cresceram em placa com 24 poços em meio M199. O efeito antiproliferativo foi determinado através da contagem das células vivas em hemocítmetro e microscópio óptico. Após 48 h foram calculadas as IC₅₀, tendo como controle positivo a higromicina B (IC₅₀ = 8,0 µg/mL) e como controle negativo a mistura de sangue infectado e DMSO. Foi ainda realizada microscopia eletrônica de varredura (MEV) para avaliar o efeito do extrato nos parasitas.

Além extrato da lavagem foliar (IC₅₀ = 1,5 µg/mL) três LSTs apresentaram IC₅₀ menor que o controle: tagitinina F (1), epoxitagitinina C (2) e tagitinina C (3), com IC₅₀ 3,0, 4,7 e 5,8 µg/mL respectivamente. Uma LST tem potência moderada (IC₅₀ = 15,0 µg/mL) e as demais são pouco potentes (IC₅₀ > 40,0 µg/mL). É interessante observar que o extrato foi mais potente que as substâncias dele isoladas.



Após tratamento das formas promastigotas de *L. major* por 6 h com o extrato, a análise por MEV revelou drástica redução média do corpo dos parasitas, alteração da forma fusiforme típica e perda de parte dos flagelos.

Conclusões

Três LSTs, principais componentes do extrato de lavagem foliar de *T. diversifolia*, apresentaram potente ação leishmanicida *in vitro* contra formas promastigotas de *L. major*. O extrato da lavagem foliar em CH₂Cl₂, além de ser mais ativo que as substâncias puras, foi capaz de alterar drasticamente a morfologia do parasita. Estes resultados são promissores e estimulam a continuidade dos estudos com LSTs.

Agradecimentos

CNPq, CAPES, FAPESP.

Sociedade Brasileira de Química (SBQ)

¹Tiuman, T.S., Ueda-Nakamura, T., Garcia Cortez, D.A., Dias Filho B.P., Morgado-Diaz J.A., de Souza W., Nakamura, C.V. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, *49*, 176-182.