



INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-LEISHMANIA DO ÓLEO DA RAIZ DA PLANTA DO CERRADO BRASILEIRO *Jatropha ribifolia*.

Thayara Lais Ferro, Célia Eliane de Lara da Silva, Maria Valdrinez Campana Lonardoní (orientador), email: thayaralais@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Básicas da Saúde/
Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: 2.00.00.00-6 Ciências Biológicas;
2.13.01.00-0 Protozoologia de Parasitos.

Palavras-chave: leishmaniose, óleo essencial, *Jatropha ribifolia*.

Resumo:

As leishmanioses são um problema de saúde pública mundial. No presente estudo investigou-se a atividade leishmanicida do óleo essencial da raiz da planta *Jatropha ribifolia*. Para estudar a citotoxicidade para macrófagos murinos da linhagem J774.A1, estas células foram distribuídas em placas de cultura de 96 poços e incubadas por 24 e 48 horas com o óleo essencial. A viabilidade celular foi determinada com reagente XTT. Observou-se que o óleo de *J. ribifolia* apresentou índices de seletividade de 3,88 e 30,96 para 24 e 48 horas, respectivamente. Para estudar a atividade sobre formas amastigotas, macrófagos peritoneais de camundongos Balb/c foram distribuídos em placas 24 poços contendo lamínulas de vidro, infectados com promastigotas *Leishmania (L.) amazonensis* e em seguida diferentes concentrações do óleo foram adicionadas. Após 24 horas foi estimada a concentração de nitritos nos sobrenadantes, e as lamínulas foram coradas pelo método de Giemsa e analisadas por microscopia. Observou-se que a inibição de infecção em macrófagos foi inferior a 10% nas concentrações analisadas e os níveis de óxido nítrico, avaliados através da determinação de nitritos, foi inferior aos controles não tratados. Conclui-se que o óleo essencial de *J. ribifolia* apresenta atividade leishmanicida que não se dá pela via do óxido nítrico. Novos estudos poderão esclarecer os mecanismos de ação deste produto natural.



FUNDAÇÃO
ARAUCÁRIA

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO
Secretaria da Ciência, Tecnologia
e Ensino Superior



Introdução

As leishmanioses são doenças parasitárias graves, sendo a segunda de maior incidência no Brasil. É considerada um problema de saúde pública pela Organização Mundial da Saúde (OMS). As leishmanioses são classificadas de acordo com suas manifestações clínicas como leishmaniose tegumentar americana (LTA) e leishmaniose visceral (LV), sendo que a primeira afeta a pele e mucosas, causando úlceras. Para o tratamento destas doenças usam-se atualmente os antimoniais pentavalentes, a anfotericina B e as pentamidinas. O tratamento é difícil e demorado, além de apresentar alta toxicidade e a adesão ao tratamento é baixa (BRASIL,2003). A medicina popular brasileira é uma grande fonte para a busca de produtos naturais que possam ser utilizados como tratamento para várias doenças. A *Jatropha ribifolia* é uma planta perene do serrado brasileiro, utilizada de como medicinal pela população da região nordeste. Sabe-se que espécies do gênero *Jatropha* apresentam atividade tóxica para caprinos (PIMENTEL, 2012) e citotóxica para células cancerígenas (LARA SILVA et al, 2014), mas não é conhecida sua atividade para os agentes da LTA. Assim, neste estudo foi investigada a atividade leishmanicida do óleo essencial desta planta sobre formas amastigotas intracelulares de *Leishmania (L.) amazonensis*.

Materiais e métodos

Cultura e manutenção de *Leishmania (Leishmania) amazonensis*: os parasitos foram cultivados em meio de cultura 199 suplementados com soro bovino fetal, urina humana estéril, L-glutamina, penicilina G em pH 7,2, a 25°C, com repiques semanais.

Cultivo de macrófagos J774.A1: os macrófagos foram cultivados em meio RPMI suplementado com soro bovino fetal, estreptomicina e penicilina G. Foram mantidos em estufa a 37°C com tensão de 5% CO₂.

Animais: camundongos Balb/c foram obtidos no Biotério Central da UEM e mantidos em condições adequadas no Biotério do Laboratório de Imunologia Clínica, após aprovação pelo Comitê de Ética em pesquisa com animais.

Atividade sobre forma amastigota de *L. (L.) amazonensis*: macrófagos peritoneais foram cultivados em placas de 24 poços (5x10⁵ células/poço) contendo lamínulas de vidro e infectados com 6 parasitos por macrófagos. Após 4 horas as culturas foram lavadas e tratadas com o óleo essencial nas





concentrações de 1, 0,1 e 0,001 ng/mL do óleo essencial. Foram incluídos controles não tratados e não infectados.

Dosagem de óxido nítrico

A dosagem de óxido nítrico foi realizada indiretamente pela determinação da produção de nitrito no sobrenadante das culturas. As amostras foram incubadas com o reagente de Griess e a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 530 nm.

Citotoxicidade em macrófagos J774.A1

Os macrófagos foram distribuídos em placas de 96 poços, na proporção de 1×10^5 células/poço e incubados por 48 horas a 37°C e 5% CO₂. Em seguida o sobrenadante foi removido e os macrófagos tratados com o óleo em concentrações a partir de 0,2 µg/mL. Após 24 horas o sobrenadante foi removido para a avaliação da viabilidade por meio do ensaio com o XTT. A leitura da absorbância foi realizada em 450 e 620 nm.

Resultados e Discussão

Nos ensaios de avaliação da citotoxicidade para macrófagos J774.A1, o óleo de *J. ribifolia* apresentou uma concentração citotóxica de 50 % para os macrófagos (CC50) de 0,138 µM após 24 horas, e 0,935 µM após 48 horas. O índice de seletividade (IS) foi de 3,88 e 30,96 para 24 e 48 horas, respectivamente. Considerando que o $IS > 10$ indica que o composto não é tóxico, podemos concluir que o óleo não apresentou citotoxicidade para macrófagos após 48 horas de incubação.

Para os ensaios da atividade para formas amastigotas, observou-se que a maior concentração estudada (1 ng/mL) foi tóxica para os macrófagos de camundongos. Nas demais concentrações o índice de inibição da infecção foi inferior a 10%, quando comparados ao controle.

Observou-se que após 24 horas de incubação, a produção de nitrito nos controles variou de 0,024 a 0,24 µM e para os macrófagos infectados e tratados, a produção de nitrito variou de 0 a 0,15 µM.

Com base nesses resultados podemos concluir que o óleo essencial de *J. ribifolia* apresenta ação leishmanicida, no entanto este composto não utiliza a via do óxido nítrico para eliminar a infecção por *L. (L.) amazonensis*. Estes resultados são interessantes, pois mostram que o óleo não estimula a resposta inflamatória. Assim, o óleo essencial de *J. ribifolia* não estimula os





macrófagos a utilizar uma das mais importantes vias de eliminação de patógenos, que é a produção de óxido nítrico por macrófagos. Sua ação deve se manifestar por ação direta sobre os parasitos (COIMBRA, et al., 2013).

Conclusões

O óleo essencial da raiz da planta *Jatropha ribifolia* apresentou baixa ação leishmanicida sobre a forma amastigota de *L. (L.) amazonensis* e não é tóxico para macrófagos da linhagem J774.A1. São necessários novos estudos a cerca deste composto a fim de elucidar quais mecanismos este pode ativar para eliminar patógenos intracelulares. Ainda não é possível determinar que este composto não seja útil para o tratamento de leishmanioses visto que estes são estudos inéditos com este composto.

Agradecimentos

Agradeço ao CNPq pelo auxílio financeiro para esta pesquisa, a prof^a Maria Valdrinez e a todos do laboratório de Imunologia Clínica que me apoiaram durante o desenvolvimento do projeto.

Referências Chemical

- BRASIL, Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Secretaria de Vigilância em Saúde, **Ministério da Saúde**, 120, Brasília, 2013.
- COIMBRA, E. S., ANTINARELLI, L. M. R, SILVA, A. D., BISPO, M. L. F, KAISE, C. R, SOUZA, M. V. N. 7-chloro-4-quinolinylhydrazones: a promising and potent class of antileishmanial compounds. **Chemical Biology & Drug Design**, vol. 81, n. 5, 658-65, 2013.
- LARA SILVA, C. E., MINGUZZI, S., SILVA, R. C. L., MATOS, M. F. C., TOFOLI, D., CARVALHO, J. E., RUIZ, A. L. T. G., COSTA, W. F., SIMIONATTO, E. Chemical Composition and Cytotoxic Activity of the Root Essential Oil from *Jatropha ribifolia* (Pohl) Baill (Euphorbiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, p. 1-6, 2014.





PIMENTEL, L. A., RIET-CORREA, B., DANTAS, A. F., MEDEIROS, R. M. T., RIET-CORREA, F., Poisoning by *Jatropha ribifolia* in goats, **Toxicon**, vol. 59, p. 587–591, 2012.



FUNDAÇÃO
ARAUCÁRIA



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO
Secretaria da Ciência, Tecnologia
e Ensino Superior