

## ATIVIDADE LEISHMANICIDA E CITOTÓXICA DO ÓLEO DE COCO EXTRAVIRGEM (*Cocos nucifera* L. Palmae)

Bruna Gomes Sydor (PIBIC/FA/Uem), Áquila Carolina F. H. R. Milaré (Mestranda/PCS), Jorge Juarez Vieira Teixeira (Orientador), Maria Valdrinez C. Lonardoni (Co-orientadora). E-mail: brunagsydor@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde –  
Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina/Maringá, PR.

**Área: 4.00.00.00-1 Ciências da Saúde; Subárea: 4.01.01.09-6 Doenças Infeciosas e Parasitárias**

**Palavras-chave:** *Cocos nucifera*; *Leishmania*; fitoterapia

### Resumo

A leishmaniose é uma doença causada por protozoários do gênero *Leishmania*. Para o tratamento são usados antimoniais pentavalentes, que tem diversidade de efeitos colaterais, elevado custo e pode induzir resistência ao parasito. Como alternativa, é proposto o uso de fitoterápicos, que são fontes importantes de fármacos. Produtos oriundos de *Cocos nucifera* L., são eficazes no combate de diversas enfermidades, com ação bactericida, antifúngica, antiviral, antiparasitária, antioxidante, hipoglicêmica e imunestimulante, por exemplo. Neste estudo avaliamos a atividade do óleo de coco extravirgem contra formas promastigotas de *Leishmania (L.) amazonensis*, um dos principais agentes da forma cutânea. O óleo foi estudado nas concentrações de 1000 µg/mL a 7,81 µg/mL e a maior porcentagem de letalidade foi observada na concentração de 62,5 µg/mL, com cerca de 30% de mortalidade. Além disso, foi investigada a toxicidade do óleo para macrófagos J774.A1 e observou-se que não apresentou citotoxicidade significativa. Adicionalmente, foi avaliada a ação do óleo de coco em eritrócitos, e observou-se que não teve atividade hemolítica. Não foi possível determinar a IC<sub>50</sub>, uma vez que o óleo extravirgem de *C. nucifera* inibiu menos de 50% dos parasitos, mas novos estudos poderão ser realizados com outros fitocomponentes de *C. nucifera* para investigar seu potencial anti-*Leishmania*.

### Introdução

A leishmaniose afeta cerca de 2 milhões de pessoas anualmente e apresenta formas clínicas variadas. É transmitida por fêmeas de insetos do gênero *Lutzomyia* infectadas com protozoários do gênero *Leishmania* [1]. No Brasil, a *Leishmania (Leishmania) amazonensis* é um dos principais agentes etiológicos da leishmaniose tegumentar e as drogas de primeira escolha para o tratamento são os antimoniais pentavalentes, que são de

administração endovenosa, tem severos efeitos colaterais, e podem gerar resistência ao parasito [2].

*Cocos nucifera* L. é uma angiosperma da família *Arecaceae* (Palmae) e seu fruto, o coco possui grandes valores nutricionais e medicinais. Produtos do fruto tem atividade bactericida, antifúngica, antiviral, antiparasitária, antioxidante, hipoglicêmica, imunoestimulante, entre outras [3]. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito leishmanicida do óleo extravirgem de *C. nucifera* em formas promastigotas de *Leishmania (L.) amazonensis* e investigar sua toxicidade para hemácias e para macrófagos J774.A1.

## Materiais e métodos

### *Atividade em formas promastigotas de L. (L.) amazonensis*

As formas promastigotas foram cultivadas em meio de cultura 199 suplementado com soro bovino fetal e antibióticos, a 25°C, mantidas por repiques semanais.

A viabilidade das promastigotas foi determinada pelo ensaio colorimétrico XTT [4]. Para isso,  $2 \times 10^7$ /mL formas promastigotas em fase logarítmica de crescimento foram distribuídas uma placa de 96 poços, com concentrações de 1000 µg/mL a 17,12 µg/mL do óleo de coco extravirgem, solubilizado em Tween 80. Após 24 horas a 25°C, foi adicionado 100 µL de XTT ativado com metossulfato de fenazina (PMS). Após 4 h a 25°C a absorbância foi medida a 450/620 nm. Os testes foram feitos em triplicata e o ensaio realizado duas vezes. Foi usada anfotericina B como droga de referência.

### *Cultivo de macrófagos e citotoxicidade do isolado*

Macrófagos J774.A1 foram cultivados em meio RPMI1640 suplementado com soro bovino fetal e antibióticos e mantidos por repiques periódicos. A citotoxicidade foi avaliada com o XTT. Para isso,  $5 \times 10^5$  células foram tratadas com o óleo de coco extravirgem (de 1000 µg/mL a 17,12 µg/mL) diluído com Tween 80. Após 24 h a 37°C em atmosfera com 5% de CO<sub>2</sub>, 100 µg/mL de XTT com PMS foram adicionados e as células mantidas 4 h a 37°C. A absorbância foi determinada a 450/620 nm.

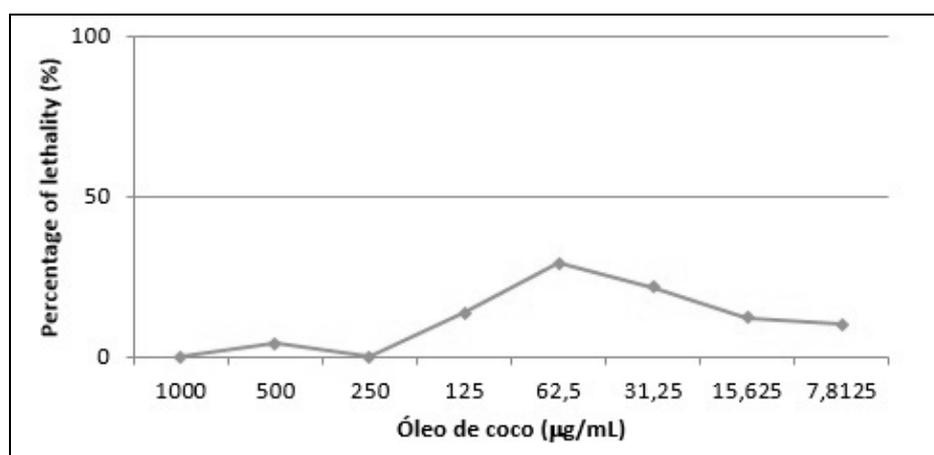
### *Citotoxicidade para hemácias*

O óleo de coco nas concentrações de 1000 µg/mL a 17,12 µg/mL em placas de cultura de 96 poços foi incubado com uma suspensão de hemácias humanas a 6% em solução salina estéril, com glicose a 1% a 37°C. Após 2 h as placas foram centrifugadas (1100 rpm/ 10 min) e 100 µL dos sobrenadantes transferidos para outra placa onde se procedeu a leitura (450/620 nm). O resultado foi expresso em porcentagem de hemólise.

## Resultados e Discussão

Os resultados dos experimentos em promastigotas de *L. (L.) amazonensis* demonstraram atividade leishmanicida do óleo de coco extravirgem a partir de 250 µg/mL, atingindo o máximo de letalidade na concentração de 62,5

µg/mL, porém com percentual de morte inferior a 30% (Figura 1). O óleo de coco extravirgem mostrou baixa solubilidade em solventes usualmente empregados como diluentes de drogas. Uma possível solução para isso, seria isolar os componentes do óleo de *C. nucifera*, como feito em Mendonça-Filho et. al. (2004) [5], que avaliaram o efeito do extrato rico em polifenóis da fibra das cascas de *C. nucifera* em promastigotas e amastigotas de *Leishmania amazonensis*, mostrando ser efetivo com 10 µg/mL. Alternativamente poderão se preparados extratos metanólicos com partes da planta, como foi realizado em um estudo feito por Calzada et. al. (2007) [6], que obteve um IC<sub>50</sub> de 5,8 µg/mL para o protozoário *Trichomonas vaginalis*. Foi também investigada a toxicidade do óleo para macrófagos J774.A1 e esse não apresentou citotoxicidade significativa para as células testadas nas concentrações de 1000 µg/ml a 17,1 µg/mL, corroborando com o que citou Mendonça-Filho em seu trabalho realizado com macrófagos murinos. Além disso, o óleo não apresentou atividade hemolítica em eritrócitos humanos.



**Figura 1** – Porcentagem de letalidade do óleo extravirgem de *Cocos nucifera* para promastigotas *Leishmania (L.) amazonensis*

## Conclusões

O óleo de coco extravirgem de *C. nucifera* apresentou atividade leishmanicida em promastigotas de *L. (L.) amazonensis*, porém em concentrações que não foram capazes de inibir 50% dos parasitos, portanto os resultados obtidos até o momento com o óleo de coco extravirgem não sugerem grandes avanços para o tratamento da leishmaniose. Apesar disso, futuros testes podem ser desenvolvidos no intuito de melhorar a solubilidade deste composto e favorecer a interação com o parasito. Também estudos para o isolamento de componentes desta espécie vegetal poderão mostrar substâncias com potencial farmacológico em *C. nucifera*.

## Agradecimentos

À Fundação Araucária pelo financiamento, ao professor Jorge Juarez V. Teixeira e à professora Maria Valdrinez pela orientação. A todos do Laboratório de Imunologia Clínica da Universidade Estadual de Maringá, em especial a Áquila Carolina F. H. R. Milaré pelo grande suporte.

## Referências

- [1] NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 11 ed. São Paulo: Atheneu, 2004.
- [2] BEZERRA, J.L.; COSTA, G. C.; LOPES, T.C.; CARVALHO, I.C.D.S.; PATRÍCIO, F.J.; SOUSA, S. M.; AMARAL, F.M.M.; REBELO, J. M. M.; GUERRA, R. N.M.; RIBEIRO, M.N.S.; NASCIMENTO, F.R.F. Avaliação da atividade leishmanicida in vitro de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Brazilian Journal of Pharmacognosy. 16(Supl.): 631-637, Dez. 2006.
- [3] DEBMANDAL, M.; MANDAL, S. Coconut (Cocos nucifera L.: Arecaceae): In health promotion and disease prevention. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine** 241-247, 2011.
- [4] WILLIAMS, C.; ESPINOSA, O. A.; MONTENEGRO, H.; CUBILLAC, L.; CAPSON, T. L.; ORTEGA-BARRÍA, E.; ROMERO, L. I. Hydrosoluble formazan XTT: its application to natural products drug discovery for *Leishmania*. **Journal of Microbiological Methods**, 813, 816-55, 2003.
- [5] MENDONÇA-FILHO, R.R.; RODRIGUES, I.A.; ALVIANO, D.S.; SANTOS, A.L.S.; SOARES, R.M.A.; ALVIANO, C.S.; LOPES, H.C.S.; ROSA, M. do S. S. Leishmanicidal activity of polyphenolic-rich extract from husk fiber of *Cocos nucifera* Linn. (Palmae). **Research in Microbiology** 155 136–143, 2004.
- [6] CALZADA, F.; YÉPEZ-MULIA, L.; TAPIA-CONTRERAS, A. Effect of Mexican medicinal plant used to treat trichomoniasis on *Trichomonas vaginalis* trophozoites. **Journal of Ethnopharmacology** 113 248–251, 2007.