

CONIC SEMESP

15º Congresso Nacional de Iniciação Científica

TÍTULO: AVALIAÇÃO LEISHMANICIDA, CITOTÓXICA E HEMOLÍTICA IN VITRO DE ALGUNS ANÁLOGOS DE CURCUMINA

CATEGORIA: EM ANDAMENTO

ÁREA: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SAÚDE

SUBÁREA: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUIÇÃO: UNIVERSIDADE DE FRANCA

AUTOR(ES): KARLA RAMOS DA SILVA

ORIENTADOR(ES): LIZANDRA GUIDI MAGALHÃES

COLABORADOR(ES): JULIA MEDEIROS SOUZA

Realização:



Apoio:



1. Resumo

A leishmaniose ocorre frequentemente em países das regiões tropicais e subtropicais. Existem poucos medicamentos para o tratamento e estes possuem grande toxicidade. Recentemente pesquisadores têm mostrado que análogos da curcumina tem um bom potencial para inibir alguns parasitos. O objetivo deste trabalho foi avaliar alguns análogos de curcumina contra *Leishmania amazonensis*. Resultados preliminares mostraram que os análogos avaliados apresentaram boa atividade contra formas promastigotas e alta citotoxicidade contra macrófagos peritoneais, no entanto não causaram hemólise.

2. Introdução

A leishmaniose é uma doença causada por parasitos do gênero *Leishmania*, que ocorre frequentemente em países das regiões tropicais e subtropicais. O seu tratamento consiste basicamente de poucos fármacos como antimoniais pentavalentes e anfotericina B (LOURENÇO, C. 2000). Uma vez que os medicamentos utilizados na prática clínica são altamente tóxicos, torna-se clara a necessidade de se pesquisar novos fármacos com potencial leishmanicida. Em relação à atividade de curcumina e seus análogos contra espécies de *Leishmania sp*, Koide e colaboradores (2002) mostraram que a curcumina apresentou atividade contra as formas promastigotas de *L. major*, enquanto Araújo *et al.*, (1999) apresentou resultados semelhantes com a curcumina e metilcurcumina em promastigotas de *L. amazonensis*.

3. Objetivos

O objetivo deste trabalho foi avaliar 3 análogos de curcumina contra as formas promastigotas de *L. amazonensis*, sua atividade citotóxica e hemolítica.

4. Metodologia

A avaliação contra promastigotas de *L. amazonensis* foi realizado pela contagem das formas promastigotas viáveis em câmara de Neubauer, enquanto que o ensaio de citotoxicidade foi realizado pelo colorimétrico com MTT. A hemólise foi quantificada através da concentração de hemoglobina liberada após a lise.

5. Desenvolvimento

Atividade leishmanicida

Os análogos de curcumina **1**, **2** e **3** foram adicionados nas concentrações de 6,25 a 100 μM e foram incubadas por 24 e 48 horas e a atividade leishmanicida foi determinada pela inibição do crescimento das formas promastigotas em câmara de Neubauer. Como controle negativo foi utilizado meio RPMI 1640 contendo 0,1 % de DMSO e como controle positivo foi utilizado Anfotericina B na concentração de 12,5 μM . Foram realizados três experimentos independentes em triplicata.

Atividade citotóxica

Os macrófagos peritoneais foram incubados com os análogos nas concentrações de 6,25 a 100 μM e foram incubados por 24 e 48 horas. A viabilidade das células foi determinada pelo método colorimétrico do MTT (Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio). Como controle negativo foi utilizado meio RPMI 1640 ou RPMI 1640 contendo 0,1 % de DMSO e como controle positivo foi utilizado 25% de DMSO. Os resultados foram expressos como a média da porcentagem da redução da viabilidade celular em relação ao controle negativo (0,1% DMSO).

Atividade hemolítica

Hemácias obtidas de sangue O⁺ foram incubadas com os análogos de curcumina **1**, **2** e **3** nas concentrações de 6,25 a 100 μM por 30 minutos. Após esse período o sobrenadante de cada amostra foi repassada em uma placa e a absorbância foi determinada utilizando um espectrofotômetro. Como controle positivo foi utilizado água destilada e como controle negativo foi utilizado uma solução com NaCl 0.9% +0,1% DMSO. Foram realizados três experimentos independentes em triplicata e os resultados foram expressos com média da porcentagem de hemólise.

Concentrações Inibitória, citotóxica e hemolítica

Os valores de concentração inibitória, citotóxica e hemolítica de 50% (CI_{50}) foram determinados por meio de curva de regressão não-linear utilizando o software *GraphPadPrism* versão 5.0 para Windows (GraphPad software, USA).

6. Resultados Preliminares

Os resultados demonstram que os análogos de curcumina **1**, **2** e **3** apresentam atividade com porcentagens de lise maiores 75% na concentração de 100 μM após

24 horas de incubação (**Figura 1A**) e valores maiores que 30% de a partir da concentração de 12,5 μM em todas as amostras avaliadas após 48 horas de incubação (**Figura 1B**). Os análogos **1**, **2** e **3** apresentam uma concentração inibitória de 50% das formas promastigota (CI_{50}) de 33,30, 17,25 e 78,89 μM após 24 horas e 7,99, 2,26 e 29,43 μM após 48 horas de cultivo, respectivamente. Em relação a atividade citotóxica, as amostras **1**, **2** e **3** apresentaram lise celular de mais de 40% das células somente após 24 horas de incubação (**Figura 2A**), enquanto que após 48 horas de incubação houve porcentagem de lise celular de mais de 40% já na concentração de 25 μM (**Figura 2B**). A concentração citotóxica de 50% das células (CC_{50}) dos análogos **1**, **2** e **3** foi de 57,25, 47,52 e 123,50 μM após 24 horas e 45,41, 36,91 e 117,60 μM após 48 horas, respectivamente. Nenhuma das amostras apresentou atividade hemolítica em nenhuma das concentrações avaliadas e apresentaram concentração hemolítica de 50% das células (CH_{50}) $>100 \mu\text{M}$.

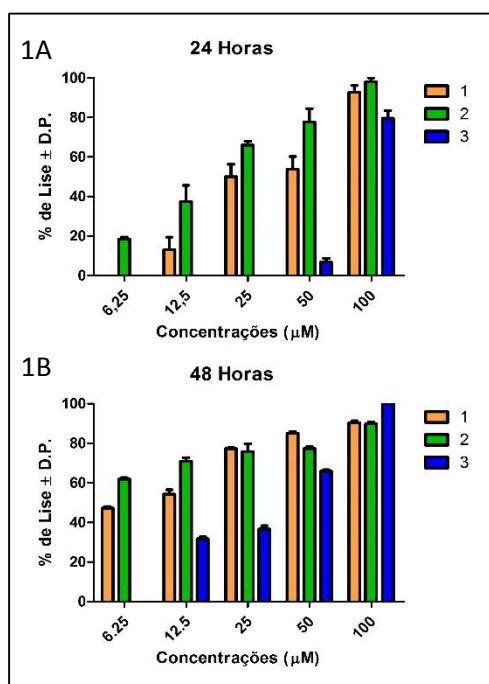


Figura 1. Atividade leishmanicida dos análogos de curcumina **1**, **2** e **3** contra formas promastigotas de *L. amazonensis* após 24 (A) e 48 (B) horas.

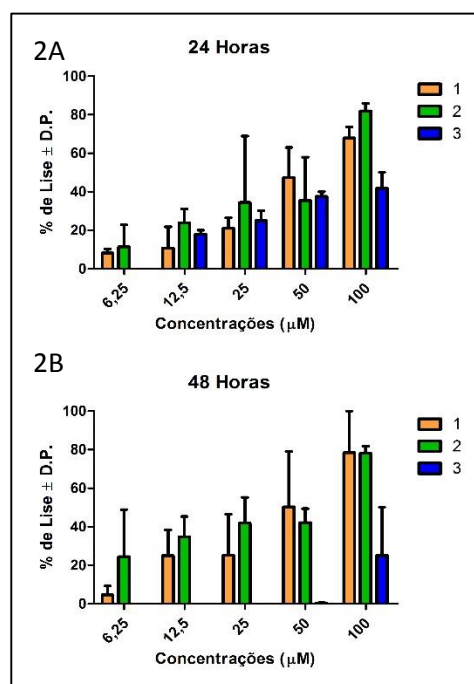


Figura 2. Atividade citotóxica dos análogos de curcumina **1**, **2** e **3** contra macrófagos peritoneais após 24 (A) e 48 (B) horas.

7. Fontes Consultadas

ARAUJO CA, *et al.* Studies on the effectiveness of diarylheptanoids derivatives against *Leishmania amazonensis*. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.94; p.791–794; 1999.
 KOIDE T, *et al.* Leishmanicidal effect of curcumin in vitro. Biol Pharm Bull, v.25; p.131–133; 2002.
 LOURENÇO. C.O. Avaliação da atividade de diferentes venenos de serpentes, nativos ou irradiados, com radiação gama, quanto ao poder inibitório de *Leishmania amazonensis*. 2000. 84f. Dissertação - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Autarquia associada à Universidade de São Paulo, São Paulo. 2000.

