

## BIOATIVIDADE DE *Stryphnodendron adstringens*, *S. Polyphyllum*, *Caryocar brasiliense*, PLANTAS DO CERRADO BRASILEIRO, SOBRE *Trypanosoma cruzi* “IN VIVO”

BIOACTIVITY OF *Stryphnodendron adstringens*, *S. Polyphyllum*, *Caryocar brasiliense*, PLANTS FROM BRAZILIAN'S SAVANNAH ON THE *Trypanosoma cruzi* “IN VIVO”

Joanna D'Arc A. HERZOG-SOARES; Eliana ISAC; Ana Maria de CASTRO; José Clecildo Barreto BEZERRA<sup>1</sup>

**RESUMO:** O presente trabalho verificou a ação do extrato bruto etanólico da casca do *Stryphnodendron adstringens*, *S. polyphyllum* e *Caryocar brasiliense*, plantas do cerrado brasileiro, sobre a parasitemia de camundongos inoculados com a cepa Y de *Trypanosoma cruzi* na fase aguda da infecção, avaliando a interferência na agudização ou inibição do processo infeccioso. Os camundongos (Balb/C) foram infectados por via intraperitoneal com  $1 \times 10^4$  formas tripomastigotas e, após 24 horas, inoculados por via intragástrica com dose diária de 400µg/ml dos extratos durante 10 dias. A avaliação da parasitemia foi realizada em intervalos de dois dias até a morte dos animais. Durante o estudo, observou-se que o extrato do *S. adstringens* e *S. polyphyllum* apresentou aumento da atividade tripanocida no sexto e oitavo dias, ocorrendo maior inibição de crescimento no oitavo dia, quando comparado ao grupo controle. O extrato bruto de *C. brasiliense* apresentou atividade tripanocida com inibição de crescimento apenas no oitavo dia. Os resultados demonstraram que os extratos das plantas testadas apresentaram uma significativa interferência na curva de parasitemia do *T. cruzi*, reduzindo o número de parasitos no sangue dos camundongos.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Caryocar brasiliense*. Plantas. *Stryphnodendron adstringens*. *Stryphnodendron polyphyllu*. *Trypanosoma cruzi*.

### INTRODUÇÃO

O tratamento da tripanosomíase americana é um desafio para os pesquisadores, pois somente duas drogas, o nifurtimox e o benznidazole, possuem reações severas mas com graves efeitos colaterais. Estes medicamentos, além de requererem um período longo de administração, podem ainda ter pequena ação em pacientes imunossuprimidos (TRAUB-CSEKO et al., 2001).

A medicina popular é tradicional em todo o Brasil, tendo a fitoterapia uma ampla ação. Na última década, plantas vêm sendo empregadas principalmente para o tratamento de doenças de etiologias diferentes como asma, bronquite, erisipela, picada de serpentes, verruga, anemia, câncer, catarata, cistite, cólica, diabetes, com efeitos cicatrizantes, anestésico, calmante, diurético e depurativo (MUELLAS-SERRANO et al., 2000).

Das 107 espécies vegetais do Brasil ameaçadas de extinção, 54 são plantas medicinais (RODRIGUES;

CARVALHO, 2001). As espécies nativas do cerrado brasileiro possuem uma flora muito rica, que cobre mais de dois milhões de hectares no interior do território brasileiro. Entre elas as mais conhecidas são arnica (Asteraceae), ipê-roxo (Bignoniaceae) e barbatimão (Mimosaceae), esta última reconhecida pelas espécies *Stryphnodendron adstringens* e *S. polyphyllum*. Estas plantas são usadas como tratamento natural contra diferentes doenças por pessoas que vivem nos cerrados brasileiros (BRANDÃO, 1991; MARTINS; CASTRO; CASTELLEN, 1994; MATOS, 1994), e vêm sendo testadas como formas alternativas no controle de parasitoses e vetores (CARVALHO et al., 1991; ALVES et al., 2000). A casca do *S. polyphyllum* (barbatimão) é utilizada popularmente como anti-inflamatório, antibacteriano e antidiarréico (RODRIGUES; CARVALHO, 2001). O *S. adstringens* (barbatimão verdadeiro) e o “pequi” *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) são espécies que possuem madeira,

<sup>1</sup> Professores da Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Departamento de Parasitologia.

frutos ou sementes de importância econômica (MARTINS; CASTRO; CASTELLENI, 1994). A polpa do fruto do *C. brasiliense* é estomáquica, rica em vitaminas A e E, e utilizada contra gripes e resfriados, sendo o óleo usado na preparação de sabão. A polpa da semente (fruto ou fruta) é empregada na culinária regional e na medicina folclórica para o tratamento das vias respiratórias (RODRIGUES; CARVALHO, 2001).

Somando-se aos esforços que vêm sendo realizados, no sentido de explorar os efeitos farmacológicos de plantas medicinais e comprovar cientificamente seus possíveis efeitos, o presente trabalho avaliou a ação do extrato bruto etanólico da casca do *S. polyphyllum*, *S. adstringens* e do *C. brasiliense* sobre a parasitemia de camundongos inoculados com a cepa Y do *T. cruzi* na fase aguda da infecção, verificando sua interferência sobre a agudização ou inibição do processo infeccioso.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção dos extratos

As plantas *S. adstringens* e *S. polyphyllum* (Mimosaceae) e *C. brasiliense* (Caryocaraceae) foram coletadas e identificadas na região do cerrado goiano, e a extração foi feita a partir das cascas do caule, conforme descrição abaixo:

**Secagem e moagem:** O material botânico, previamente identificado e separado, foi submetido à secagem em estufa a 40°C com ventilação forçada e a moagem efetuada em moinho elétrico de faca até atingirem baixa granulometria (30 mesh).

**Extração com solventes:** O material botânico, seco e pulverizado, foi submetido à extração exaustiva por percolação a frio em etanol, ao abrigo da luz e sob agitação. A filtração e evaporação do etanol à pressão reduzida conduziram ao extrato bruto.

### Manutenção dos parasitos

As amostras de *T. cruzi* foram mantidas em laboratório por meio de inoculação de formas tripomastigotas da cepa Y por via intraperitoneal em camundongos fêmeas da linhagem isogênica BALB/C com média de peso de 20 gramas, fornecidos pelo biotério do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás, de acordo com a metodologia clássica descrita previamente, com repiques semanais (BRENER, 1961).

### Dissolução dos extratos

Os extratos etanólicos brutos obtidos de *S. adstringens*, *S. polyphyllum* e de *C. brasiliense* foram diluídos na proporção de 400mg/1000ml de água, obtendo-se uma solução mãe de 400µg/ml (400 ppm).

### Infecção *in vivo* e tratamento dos animais

Quarenta camundongos foram infectados por via intraperitoneal com  $1 \times 10^4$  formas tripomastigotas. Após infecção, os camundongos foram divididos em quatro grupos, sendo três desses tratados com os extratos das cascas de *S. adstringens*, *S. polyphyllum* e *C. brasiliense* na concentração de 400µg/ml, ministrando-se, por via intragástrica, dose única diária de 0,1ml do 2º até o 10º dia. O grupo controle foi tratado com solução salina. A avaliação da parasitemia foi efetuada em intervalos de dois dias após inoculação dos parasitos.

### Determinação da parasitemia

A parasitemia foi determinada pela metodologia descrita por Brener (1961), adaptada para microscópio binocular (SILVA; FERREIRA, 1990), sendo as caudas dos camundongos seccionadas. 5 µl de sangue foram retirados com o auxílio de uma pipeta automática e o número de parasitos quantificados em intervalos de dois dias até a morte dos camundongos.

### Expressão da atividade tripanocida *in vivo*

A taxa de crescimento (TC) foi determinada na relação entre o número de parasitos viáveis e o grupo controle positivo nos intervalos observados. A porcentagem de taxa de inibição de crescimento (%IC) foi calculada segundo Muelas-Serrano et al. (2000) e Carvalho et al. (1991), baseado no teste supressivo de Peters (1965), como segue:

$$\%IC = [1 - TC(\text{extrato})/TC(\text{controle})] \times 100.$$

O resultado será a expressão da atividade antiprotozoário.

A análise estatística foi realizada segundo o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney (U teste), não paramétrico, a nível de 5% de significância, com o objetivo de comparar as amostras independentes.

## RESULTADOS

Durante o estudo verificou-se que os camundongos submetidos à ingestão dos extratos de *S.*

*adstringens* e *S. polyphyllum* apresentaram uma redução significativa do número de parasitos circulantes no sangue no 4º dia, quando foram encontrados  $2,9 \times 10^5$  formas tripomastigotas nos camundongos tratados com *S. adstringens* e  $2,5 \times 10^5$  nos animais tratados com *S. polyphyllum*, com um percentual de taxa de inibição de crescimento de 70% e 73% respectivamente, quando

comparado com o grupo controle (Tabela 1). Os valores encontrados confirmam a interferência destes extratos sobre a curva parasitêmica (Figura 1), com redução do número de parasitos no 6º e 8º dias, apresentando um percentual de inibição de crescimento de 51,2% e 57,1% para *S. adstringens* e 41,2% e 60,2% para *S. polyphyllum*, respectivamente.

**Tabela 1.** Parasitemia média de camundongos infectados com *T. cruzi* após tratamento com 400µg/ml de extratos etanólicos de *Stryphnodendron adstringens*, *S. polyphyllum* e *Caryocar brasiliense*.

Dias	Parasitemia ( $10^5$ /ml)				
	2	4	6	8	10
Controle (n =10)	0	9,5	18,4	71,0	18,2
<i>S. adstringens</i> (n =10)	0	2,9*	9,0*	30,4*	18,8
%IC	0	70,0	51,2	57,1	0 <sup>b+</sup>
<i>S. polyphyllum</i> (n =10)	0	2,5*	10,8*	28,3*	17,0
%IC	0	73,0	41,6	60,2	6,9
<i>C. brasiliense</i> (n =10)	0	13,8	13,5	33,4*	25,3
%IC	0	0 <sup>a+</sup>	26,8	52,9	0 <sup>c+</sup>

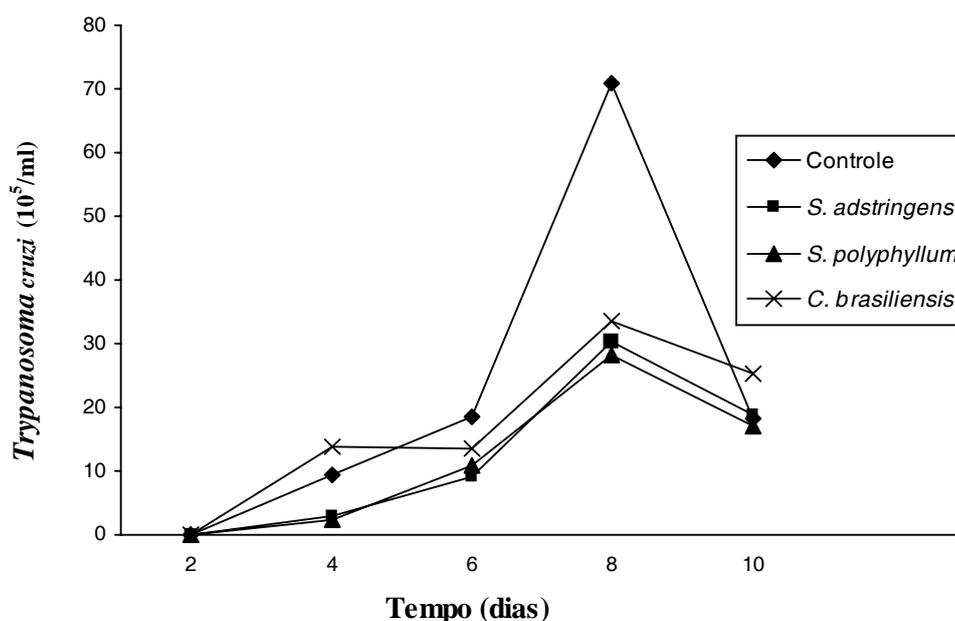
\*Determina a diferença significativa do grupo com o seu controle pelo U-teste  $\alpha = 0,05\%$ .

Parasitemia maior que o grupo controle: a+ 145%; b+ 105%; c+ 139%.

%IC - porcentagem de taxa de inibição de crescimento.

Nos animais tratados com extrato de *C. brasiliense* verificou redução significativa de parasitemia apenas no 8º dia após a infecção, período no qual foram

encontrados  $33,4 \times 10^5$  formas tripomastigotas, com um percentual de inibição de crescimento de 52,9% quando comparado com o grupo controle (Tabela 1).



**Figura 1.** Curva parasitêmica de camundongos infectados com *T. cruzi* tratados com 400µg/ml dos extratos etanólicos da casca de *S. adstringens*, *S. polyphyllum* e *C. brasiliense* em diferentes intervalos de tempo.

A mortalidade dos animais ocorreu a partir do 10º dia. Nos grupos tratados com *S. adstringens* e *S. polyphyllum* morreu um animal e no grupo controle e no tratado com *C. brasiliense* morreram dois animais. No 12º houve mortalidade de todos os animais, parecendo não haver eventual toxicidade dos extratos, sendo necessário maiores estudos para confirmação destes dados.

Os resultados encontrados demonstraram que os extratos de *S. adstringens* e *S. polyphyllum* apresentaram uma interferência significativa sobre a proliferação dos parasitos, quando comparados com o extrato de *C. brasiliense*, podendo representar uma fonte de substâncias ativas contra o *T. cruzi*.

## DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com os extratos das cascas de *S. adstringens*, *S. polyphyllum* e *C. brasiliense* demonstraram bioatividade na inibição do crescimento *in vivo* de *T. cruzi*. Os extratos de *S. adstringens* e *S. polyphyllum* evidenciaram uma interferência na taxa de crescimento dos parasitos, quando comparado com o extrato de *C. brasiliense*. Estas diferenças podem estar relacionadas aos altos teores de taninos, presentes em algumas plantas do cerrado brasileiro. Representantes desta classe de compostos contribuem para a defesa química de plantas contra herbivoria, além de limitar o crescimento de patógenos, acreditando ser estes compostos taníferos os responsáveis pelas características farmacológicas destas espécies. Essas ações resultam da capacidade dos taninos de complexação com proteína, alcalóides e polissacarídeos e ainda do seu poder de seqüestrar íons metálicos como manganês, vanádio, cobre, alumínio, cálcio e principalmente ferro, essenciais à multiplicação e ao desenvolvimento de microorganismos. Adicionalmente, os taninos possuem elevada atividade antioxidante decorrente da inativação de radicais livres (SCALBERT, 1991; HASLAM, 1996; ALCANFOR et al., 2001).

Estudos similares realizados por Rojas de Arias et al. (1995) e Gonzalez et al. (1990) mostraram que plantas da família Asteraceae apresentaram alta percentagem lítica sobre as formas sanguíneas do *T. cruzi*. Dos extratos etanólicos de 52 espécies de Asteraceae avaliadas por Zani, Canves e Queiroz (1995), 10% reduziram o número de *T. cruzi* no sangue em 70% com

250 µg/ml. Carvalho et al. (1991) demonstraram atividade antiparasitária dos extratos de *Vernonia brasiliiana* contra *Plasmodium berghei*. No entanto, baixos níveis de atividade desta planta foram encontrados para o *T. cruzi* (ROJAS DE ARIAS et al., 1995). Extratos etanólicos de 47 espécies de Asteraceae foram testados sobre forma tripomastigota de *T. cruzi*, cepa Y (CHIARI; DUARTE; RASLAN, 1996), dos quais 11 extratos apresentaram 100% de atividade na concentração de 12 mg/ml e cinco deles apresentaram uma pequena atividade em uma menor concentração (6mg/ml). Berger et al. (1998) demonstraram que o extrato fracionado de *Neurolaena lobata* (Asteraceae) apresentou alta atividade tripanocida. As concentrações de 100mg/kg e 10mg/kg apresentaram uma inibição de 65% e 44% *in vivo*, respectivamente. Experimentos demonstraram que os extratos das plantas *N. lobata* e *Solanum americanum* foram ativas para as formas epimastigotas e tripomastigotas *in vitro* e *in vivo*, enquanto que extrato da planta *Petiveria alliacea* foi eficaz somente para as formas epimastigotas e tripomastigotas *in vitro* (CÁCERES et al., 1998).

Recentemente, estudos vêm sendo descritos na literatura envolvendo extratos brutos de espécies de Rutaceae (BASTOS; ALBUQUERQUE; SILVA, 1999; MAFEZOLI et al., 2000). Bastos, Albuquerque e Silva (1999) relataram pequena atividade *in vivo* e *in vitro* do composto methylpluviatolide, isolado do *Zanthoxylum naranjillo* (Rutaceae) contra formas tripomastigotas do *T. cruzi*. Dos 32 extratos brutos das nove espécies de Rutaceae avaliadas por Mafezoli et al. (2000), oito apresentaram significativa atividade (>80%), sendo o extrato mais ativo obtido dos talos de *Pilocarpus spicatus* (97,3%).

Os resultados apresentados podem ser considerados promissores, visto que estes extratos podem representar uma fonte de substâncias ativas contra as formas tripomastigotas do *T. cruzi*.

No contexto de esforços para melhorar a terapia de doenças, produtos naturais podem ser uma fonte de novas drogas com alta atividade e baixa toxicidade. Um limitado número de extratos testados vem demonstrando importante atividade sobre o *T. cruzi*. Produtos naturais isolados de extratos de plantas mostram alta atividade tripanocida e podem proporcionar alternativas na substituição de drogas sintéticas no tratamento desta parasitose, sem os indesejáveis efeitos colaterais.

---

**ABSTRACT:** The present work verified the action of the crude extract of the *Stryphnodendron adstringens*, *S. polyphyllum* and of the *Caryocar brasiliense* barks, on the parasitemia of mice inoculated with cepa Y of *Trypanosoma cruzi* in the acute phase of the infection, evaluating its interference on the agudization or inhibition of

---

the infectious process. Mice (Balb/C) had been infected by intraperitoneal route with  $1 \times 10^4$  tripomastigotes forms, after 24 hours inoculated by intragastric route with daily doses of 400 $\mu$ g/ml extracts for ten days. The evaluation of the parasitemia was achieved in intervals of 2 days until the death of the animals. During the study, it was observed that the extracts of *S. adstringens* and *S. polyphyllum* had presented a higher trypanomicidal activity after the 6<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> days, occurring a higher growth inhibition in the 8<sup>th</sup> day, when it was compared to the control group. The crude extract of *C. brasiliense* presented a trypanocidal activity with growth inhibition only in the 8<sup>th</sup> day. The results demonstrated that the extracts of the tested plants presented a significant interference on the parasitemia growth of *T. cruzi*, reducing the number of parasites in the mice blood.

**KEYWORDS:** *Caryocar brasiliense*. Plants. *Stryphnodendron adstringens*. *Stryphnodendron polyphyllum*. *Trypanosoma cruzi*.

---

## REFERÊNCIAS

ALVES, T. M. A.; SILVA, A. F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T. S. M.; SMÂNIA, E. F. A.; SMÂNIA, A.; ZANI, C. L. Biological screening of Brazilian medical plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 95, n. 3, p. 367-373, May./Jun. 2000.

ALCANFOR, J. D. X.; FERRI, P. H.; SANTOS, S. C.; BEZERRA, J. P. C. Plantas moluscocidas no controle dos caramujos transmissores da esquistossomíase, com ênfase na ação de taninos. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 30, n. 1, p. 167-175, jan./jun. 2001.

BASTOS, J. K.; ALBUQUERQUE, S.; SILVA, M. L. A. Evaluation of the trypanosomicidal activity of lignans isolated from the leaves of *Zanthoxylum naranjillo*. **Planta Medica**, São Paulo, v. 65, n. 1, p. 541-544, Oct./Dez. 1999.

BERGER, I.; BARRIENTOS, A. C.; CACERES, A.; HERNANDEZ, M.; RASTRELLI, L.; PASSREITER, C. M.; KUBELKA, W. Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infection II. Activity of extracts and fractions of five Guatemalan plants against *Trypanosoma cruzi*. **Journal of Ethnopharmacology**, Vienna, v. 62, n. 2, p. 107-115, Sept. 1998.

BRANDÃO, M. Plantas medicamentosas do cerrado mineiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, n. 15, p. 15-20, jan./mar. 1991.

BRENER, Z. **Contribuição ao estudo da terapêutica experimental da doença de Chagas**. 1961. 53 f. Tese (Livre Docência) – Curso de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia e Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1961.

CÁCERES, A.; LOPES, B.; GONZALEZ, S.; BERGER, I.; TADA, I.; MAKI, J. Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infections. I. Screening to bacteria, fungi and American trypanosomes of 13 native plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Vienna, v. 62, n. 3, p. 195-202, Oct. 1998.

CARVALHO, L. H.; BRANDÃO, M. G. L.; SANTOS-FILHO, D.; LOPES, J. L. C AND KRETTLI, A. V. Antimalarial activity of crude extracts from Brazilian plants studied *in vivo* in *Plasmodium berghei* infected mice *in vitro* against *Plasmodium falciparum* in culture. **Brazilian Journal of Medical Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 24, n. 11, p. 1113-1123, nov. 1991.

CHIARI, E.; DUARTE, D. S.; RASLAN, D. S. In vitro screening of *Asteraceae* plants species against *Trypanosoma cruzi*. **Phytotherapy Research**, London, v. 10, n. 7, p. 636-638, Nov. 1996.

GONZALEZ, J. H.; SAGUA, J.; ARAYA, A.; LOYOLA, G.; MORALES, J.; PEREIRA, J.; ESTRADA, M. *In vitro* activity of natural products against the trypomastigotes forms of *Trypanosoma cruzi*. **Phytotherapy Research**, London, v. 4, n. 1, p. 1-4, Jan. 1990.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs and medicines: possible modes of actions. **Natural Products Reports**, Canada, v. 59, n. 2, p. 205-220, May./Jun. 1996.

MAFEZOLI, J.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; SILVA, M. G.; ALBUQUERQUE, S. *In vitro* activity of Rutaceae species against the trypomastigota form of *Trypanosoma cruzi*. **Journal of Ethnopharmacology**, London, v. 73, n. 1, p. 335-340, Nov. 2000.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLEN, D. C. **Plantas Mediciniais**. Viçosa: UFLA, 1994. 148 p.

MATOS, F. J. A. **Farmácias vivas**. Fortaleza: EUFC, 1994. 193 p.

MUELAS-SERRANO, S.; NOGAL, J. J.; MARTINEZ-DIAS, J. A.; ESCARIO, A.; MARTINEZ-FERNANDEZ, A. D.; GOMEZ-BARRIO, A. *In vitro* screening of American plant extracts on *Trypanosoma cruzi* and *Trichomonas vaginalis*. **Journal of Ethnopharmacology**, London, v. 71, n. 1-2, p. 101-107, Jul. 2000.

PETERS, W. Drug resistance in *Plasmodium berghei*. Vinke and Lips 1948. I. Chloroquine resistance. **Experimental Parasitology**, USA, v. 17, n. 1, p. 80-89, Aug. 1965.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. Plantas medicinais no domicílio do cerrado. **Lavras, UFLA, 2001. 236p.**

ROJAS DE ARIAS, A.; FERRO, E.; INCHAUST, A.; ASCURRA, M.; ACOSTA, N.; RODRIGUEZ, E.; FOURNET, A. Mutagenicity, inseticidal and trypanocidal activity of some Paraguayan Asteraceae. **Journal of Ethnopharmacology**, London, v. 45, n.1, p. 35-41, Jan. 1995.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, Great Britain, v. 30, n. 12, p. 3875-3883, Dez. 1991.

SILVA, I. G.; FERREIRA, I. R. Influência da fonte sanguínea na multiplicação da cepa "Y" de *Trypanosoma cruzi* (Klug, 1834) em *Triatoma infestans* e *Rodnius neglectus*. **Revista Goiana de Medicina**, Goiânia, v. 36, n. 1, p. 41-48, jan. 1990.

TRAUB-CSEKO, Y. M.; RAMALHO-ORTIGÃO, J. M.; DANTAS, A. P.; CASTRO, S. L.; BARBOSA, H. S.; DOWNING, K. H. In vitro herbicides against protozoan parasites: the case of *Trypanosoma cruzi*. **Trends in Parasitology**, Spain, v. 17, n. 3, p. 136-141, Mar. 2001.

ZANI, C. L., CANVES P. P. G.; QUEIROZ, R. Brine shrimp lethality assay as a prescreening system for anti-*Trypanosoma cruzi* activity. **Phytomedicine**, London, v. 2, n. 1, p. 47-50, Jan. 1995.