



Atividade anti-inflamatória e leishmanicida *In Vitro* do Extrato Metanólico e Frações de Folhas de *Calophyllum brasiliense*

Keyla Furtado, Larissa Benvenuti, Louise Garcia, Guilherme Moreschi Gerhardt, Luiz Carlos Klein Junior, Valdir Cechinel Filho, José Roberto Santin, Milena Menegazzo Miranda Sapla

Farmacologia - Etnofarmacologia

A leishmaniose compreende um conjunto de condições classificadas pela OMS como “doenças tropicais negligenciadas”. É causada pelo protozoário do gênero *Leishmania*, e transmitido pela picada do mosquito-palha (flebotomíneo). Essa doença pode se manifestar de diferentes formas clínicas, desde cutânea (leishmaniose tegumentar americana) à visceral, acometendo sobretudo populações vulneráveis. Atualmente, as opções terapêuticas disponíveis são limitadas, sendo caracterizada por alta toxicidade, custo elevado e baixa adesão dos pacientes. Diante desse cenário, a busca por novos tratamentos torna-se importante e urgente. Nesse contexto, a etnofarmacologia tem revelado diversas propriedades biológicas de *Calophyllum brasiliense* (CB), bem como seu uso como analgésico, anti-inflamatório e agente leishmanicida. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito *in vitro* das frações do extrato metanólico de CB na modulação da imunidade inata e efeito leishmanicida em formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (*L.a*). O extrato metanólico (1.2), obtido de folhas de CB, e suas frações diclorometano (2.2), acetato de etila (3.2) e metanol/água (4.2) foram utilizadas nos experimentos (Niqfar-UNIVALI) (SisGen número A56F049). Foram utilizados macrófagos RAW 264.7, macrófagos (BMDM) e neutrófilos de camundongos Swiss (CEUA/UNIVALI:019/21). A avaliação da viabilidade celular em RAW 264.7 tratados com diferentes concentrações (1 - 100µg/ml) de CB foi realizado pelo método MTT. Os níveis de óxido nítrico (NO) foram dosados indiretamente no sobrenadante de cultura por meio da reação de Griess e as concentrações de citocinas TNF, IL-6 e IL-10 foram determinadas pelo método ELISA. Neutrófilos foram usados na avaliação de quimiotaxia por método de agarose-overlay e em ensaio de eferocitose no qual foram dosados os níveis de IL-10 e TNF. Avaliou-se também a ação direta do CB (50 µg/mL) contra formas promastigotas de *L.a*. (WHOM/BR/75/JOSEFA) após 48h de tratamento. Os resultados obtidos mostraram ausência de citotoxicidade tanto no extrato quanto em suas frações, nas concentrações testadas. Houve redução dos níveis de NO nas células tratadas por todas as frações destacando-se as frações 3.2 e 4.2. e redução nos níveis de IL-6 e TNF em todas as frações. No ensaio de eferocitose, as frações 3.2 e 4.2 aumentaram a taxa de eferocitose *in vitro*, com concomitante redução nos níveis de TNF e aumento de IL-10. O teste de quimiotaxia mostrou que todas as frações, principalmente 3.2 e 4.2 reduziram a quimiotaxia de neutrófilos. O ensaio antipromastigota demonstrou que todos os compostos testados reduziram a viabilidade do parasita, destacando o efeito das frações 3.2 e 4.2 que reduziram em 85,6% e 73,4%, respectivamente. Após os testes realizados, confirmou-se o efeito anti-inflamatório e leishmanicida do extrato de *C. brasiliense* e suas frações, além de não tóxico para as células. Essas propriedades sugerem um potencial significativo e muito



promissor para novos testes nestes modelos experimentais.

Palavras-chave: Imunomodulação; Etnofarmacologia; Leishmaniose

Apoio: CAPES; CNPq; FAPESC; INCT-Inovamed