



## XVIII Simposio Internacional Sobre Enfermedades Desatendidas



### Actividad de una lactona sesquiterpénica aislada de *Stevia maimarensis* sobre tripomastigotes y amastigotes de *Trypanosoma cruzi*



Orlando G. Elso<sup>1</sup>, Natacha Cerny<sup>2</sup>, Augusto Bivona<sup>2</sup>, Andrés Sanchez Alberti<sup>2</sup>, Emilio Malchiodi<sup>2</sup>, Cesar A. Catalán<sup>3</sup>, Elisa Lombardo<sup>4</sup>, Silvia I. Cazorla<sup>5</sup>, Valeria P. Sülsen<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Química y Metabolismo del Fármaco (IQUIMEFA) (CONICET-UBA), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y Cátedra de Farmacognosia, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junin 956 2do piso (1113), Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup> Cátedra de Inmunología, IDEHU (CONICET-UBA), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Junin 956 4do piso (1113), Buenos Aires, Argentina. Instituto de Microbiología y Parasitología Médica, IMPaM (CONICET-UBA), Facultad de Medicina, Buenos Aires, Argentina, 1113. <sup>3</sup> CONICET – Universidad Nacional de Tucumán. Instituto de Química del Noroeste - CONICET (INQUINOA), Ayacucho 471 (T4000INI). San Miguel de Tucumán, Argentina. <sup>4</sup> Centro de Investigaciones sobre Porphirinas y Porphirias (Universidad de Buenos Aires - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas), Hospital de Clínicas José de San Martín, Universidad de Buenos Aires, Av. Córdoba 2351 (1028) Buenos Aires, Argentina. <sup>5</sup> CONICET – Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA), Batalla de Chacabuco 145, San Miguel de Tucumán, Argentina.  
\* Autor de correspondencia. E-mail (vsulsen@ffyb.uba.ar)

#### INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas es una parasitosis causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi* que afecta a 6-7 millones de personas en el mundo <sup>(1)</sup>. Eupatoriopirina es una lactona sesquiterpénica aislada de *Stevia maimarensis* (Asteraceae). Este compuesto presentó una significativa actividad tripanocida y fue selectivo frente a epimastigotes de *T. cruzi* <sup>(2)</sup>. En este sentido, el objetivo de este trabajo fue continuar con el estudio de eupatoriopirina evaluando su actividad sobre las formas infectivas e intracelulares del parásito.



#### MATERIALES Y MÉTODOS

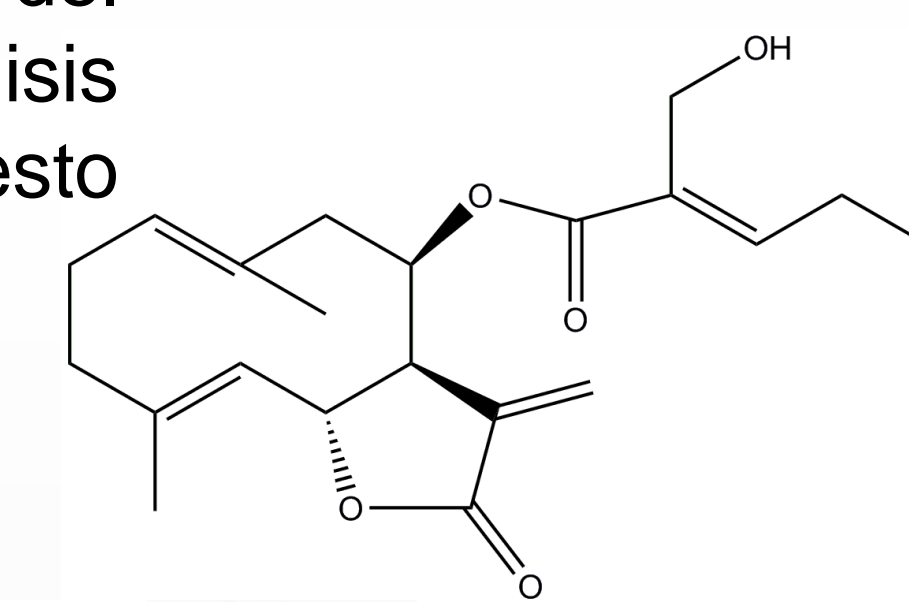
##### Aislamiento de eupatoriopirina



Se preparó un extracto diclorometánico con las partes aéreas de *S. maimarensis* (Asteraceae). El extracto se semipurificó con hexano y una mezcla hidroalcohólica mediante extracción L/L



La fracción diclorometánica se sometió a una cromatografía en columna con diclorometano y cantidades crecientes de acetato de etilo. A partir de la fracción eluida con acetato de etilo-diclorometano 1,5:1 se obtuvo un precipitado cristalino de color amarillo pálido. La pureza del compuesto aislado se evaluó por métodos cromatográficos. El análisis de los datos espectroscópicos permitió identificar a este compuesto como la lactona sesquiterpénica eupatoriopirina.



##### Actividad tripanocida

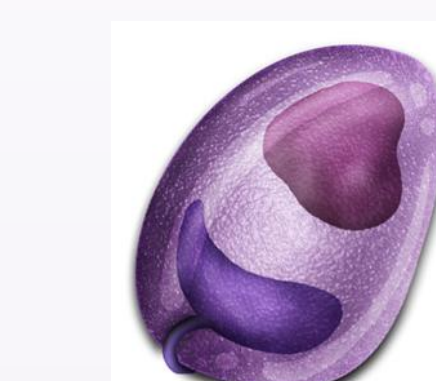
###### Tripomastigotes



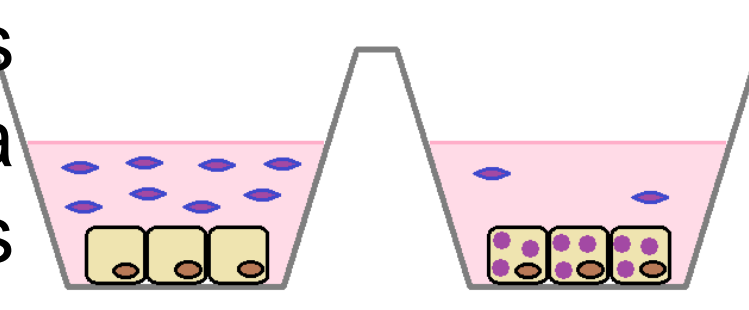
Se preparó un inóculo de tripomastigotes a partir de sangre de ratones infectados diluida con medio RPMI. Se trató el inóculo con diferentes concentraciones de eupatoriopirina y se incubó 24 hs a 4°C. Los parásitos sobrevivientes se contaron en cámara de Neubauer



###### Amastigotes



Se infectaron células Vero con tripomastigotes transgénicos que expresan β-galactosidasa. Luego de la diferenciación a amastigotes se trataron las células con diferentes concentraciones de eupatoriopirina y se incubó 5 días a 37°C



Se lisaron las células para liberar a la β-galactosidasa y se agregó rojo de clorofenol βD-galacto-piranosido. La reacción se leyó en espectrofotómetro a 580 nm

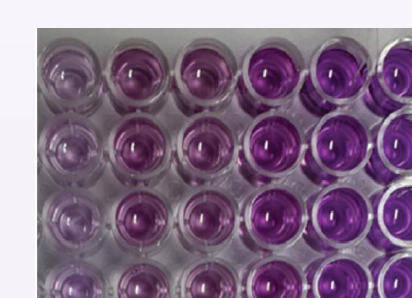


##### Actividad citotóxica

Se trataron células Vero con diferentes concentraciones de eupatoriopirina y se incubó 24 hs a 37°C



Se agregó MTT y se incubó 2 hs a 37°C hasta que desarrollo de la reacción



Se disolvieron los cristales de formazan con etanol y se leyó la reacción en espectrofotómetro a 570 nm



#### RESULTADOS

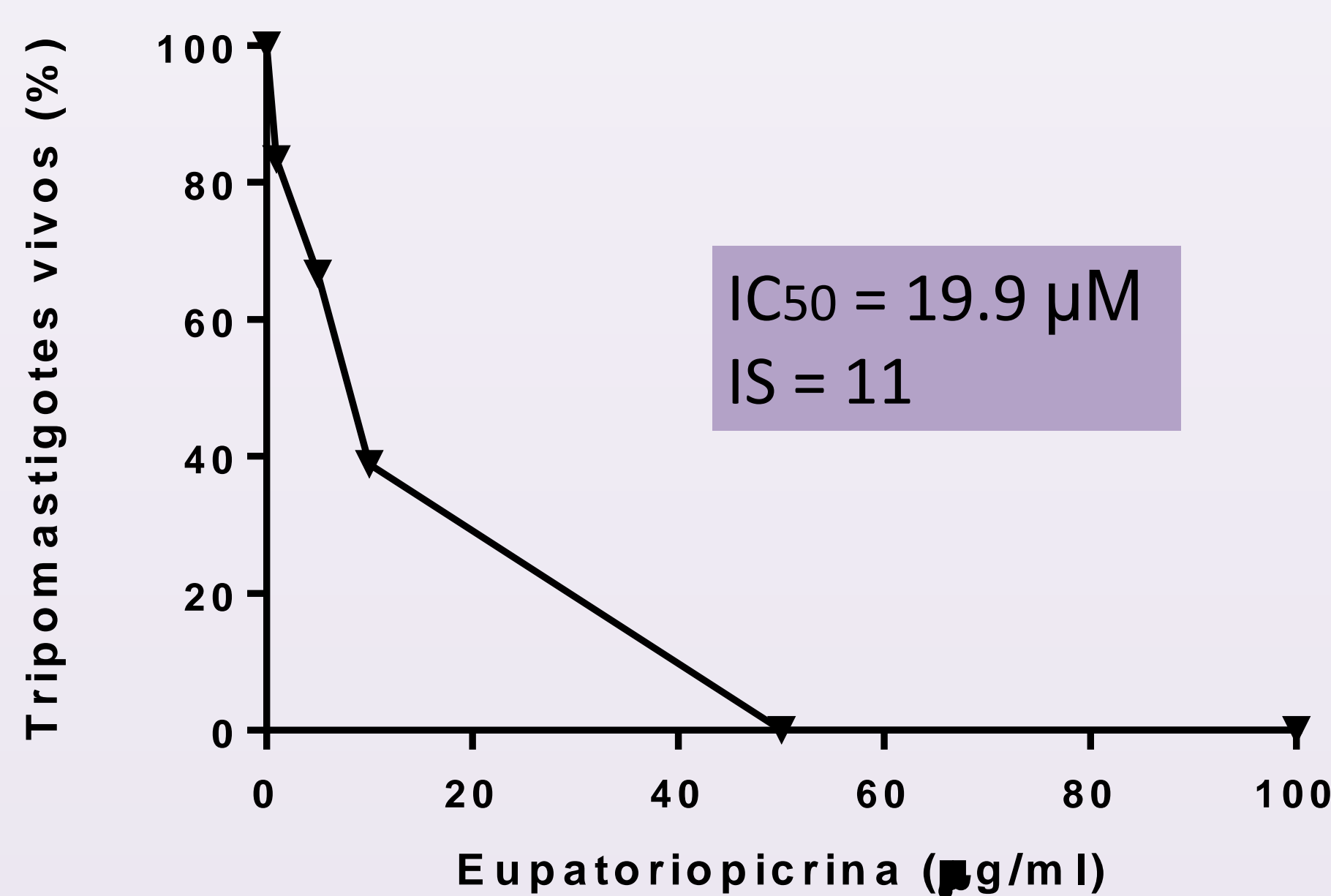


Fig 1: Porcentaje de tripomastigotes vivos en función de la concentración de eupatoriopirina (µg/ml)

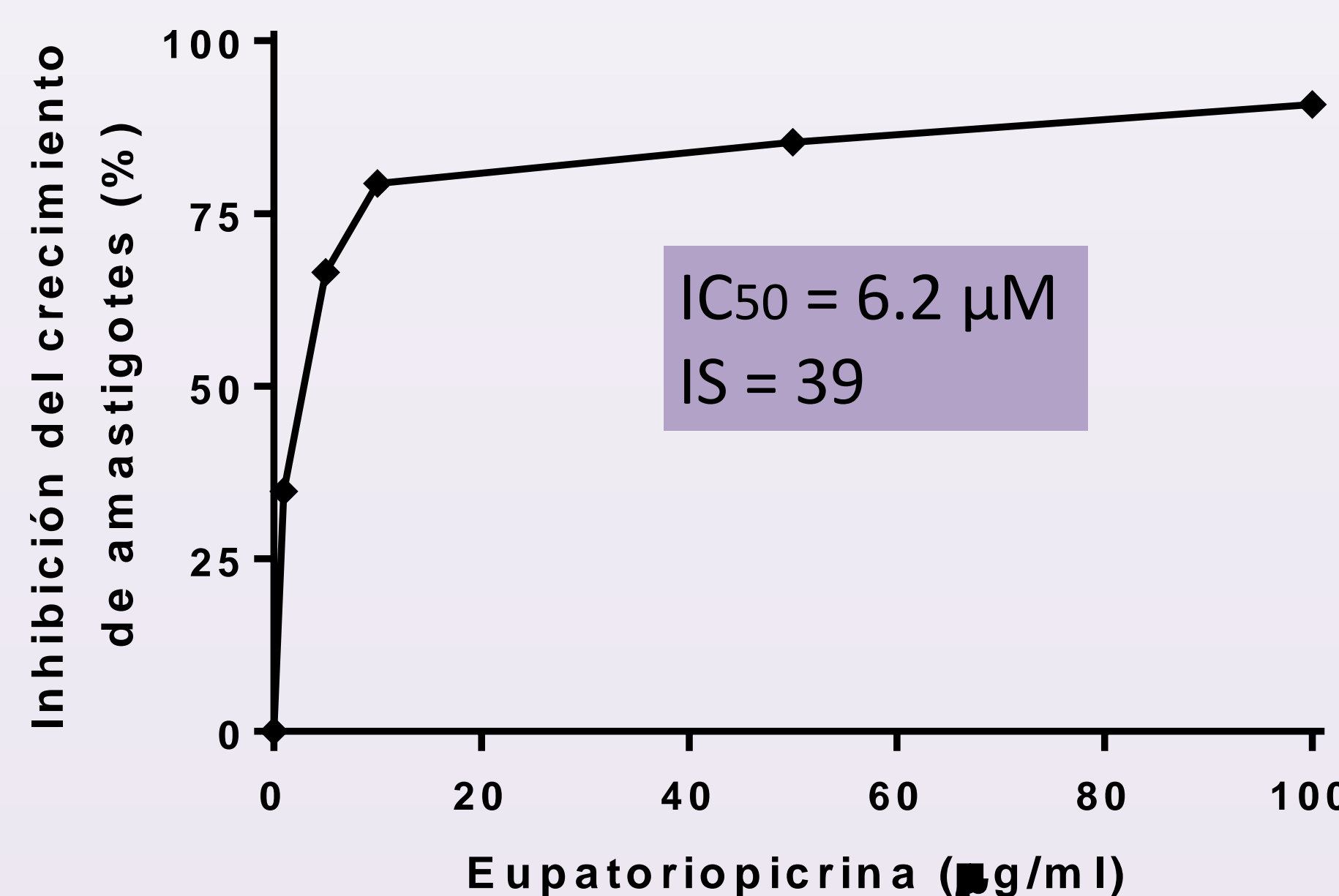


Fig 2: Porcentaje de inhibición del crecimiento de amastigotes en células Vero en función de la concentración de eupatoriopirina (µg/ml)

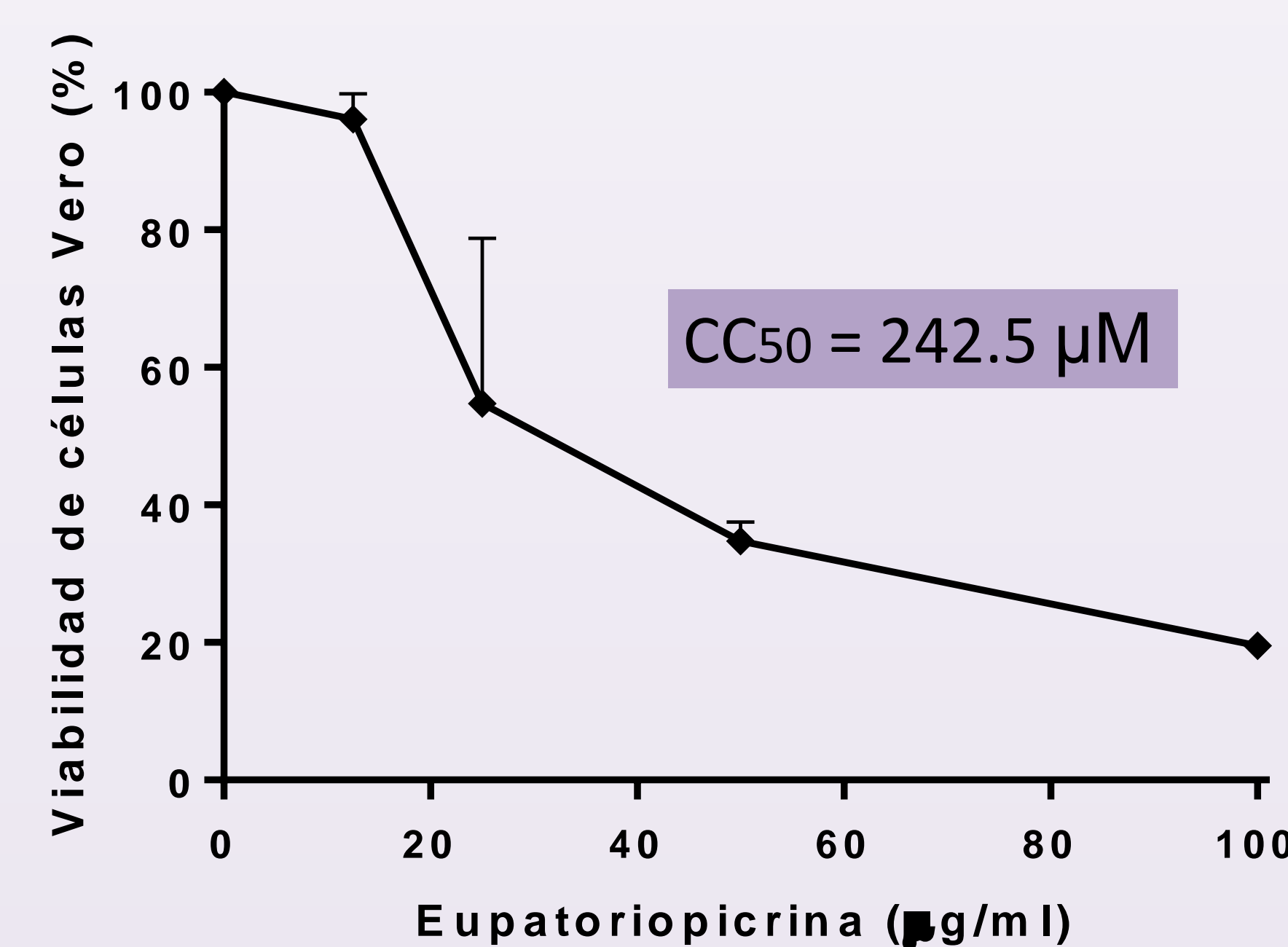


Fig 3: Porcentaje de células Vero viables en función de la concentración de eupatoriopirina (µg/ml)

#### CONCLUSIONES

La lactona sesquiterpénica eupatoriopirina resultó activa sobre tripomastigotes y amastigotes con valores de IC<sub>50</sub> de 19.9 y 6.2 µM respectivamente e índices de selectividad de 11 y 39. Dados los resultados obtenidos, eupatoriopirina se perfila como una potencial molécula líder para el desarrollo de nuevos fármacos con actividad anti-*Trypanosoma cruzi*

#### Referencias bibliográficas

1-<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/>. 2-Fabian L. et al. *Mini Rev Med Chem* 13, 1407–1414 (2013). 3-Beer M. F. et al. *Pharmaceutical Biology*, 2016;54(10):2188–2195.

**Agradecimientos.** Esta investigación fue subsidiada por los proyectos UBACYT 20020130200270 y PIP 158 (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas) y PICT 2015-3531 (Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica).