

Búsqueda de compuestos con actividad frente a *Trypanosoma* spp. en especies de la familia Asteraceae

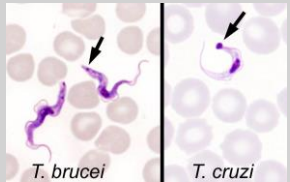
Farm. Mariana G Selener

Farmacognosia



Introducción / Antecedentes

- La enfermedad de Chagas y la enfermedad del sueño son dos enfermedades tropicales desatendidas u olvidadas. Dentro del género *Trypanosoma* se encuentran especies representativas de importancia médica como son *T. cruzi* y *T. brucei*. *T. cruzi* es un parásito intracelular de vertebrados que en el ser humano produce la enfermedad de Chagas, mientras que las subespecies *T. brucei gambiense* o *T. brucei rhodesiense* viven y se replican en el torrente sanguíneo de sus huéspedes, ocasionando la enfermedad del sueño.
- Para el tratamiento de estas enfermedades se utilizan drogas que se caracterizan por su baja eficacia y/o selectividad.
- Compuestos naturales pertenecientes al grupo de los terpenos como lactonas sesquiterpénicas y diterpenos, característicos de la familia Asteraceae, han mostrado actividad tripanocida significativa en distintos modelos experimentales.

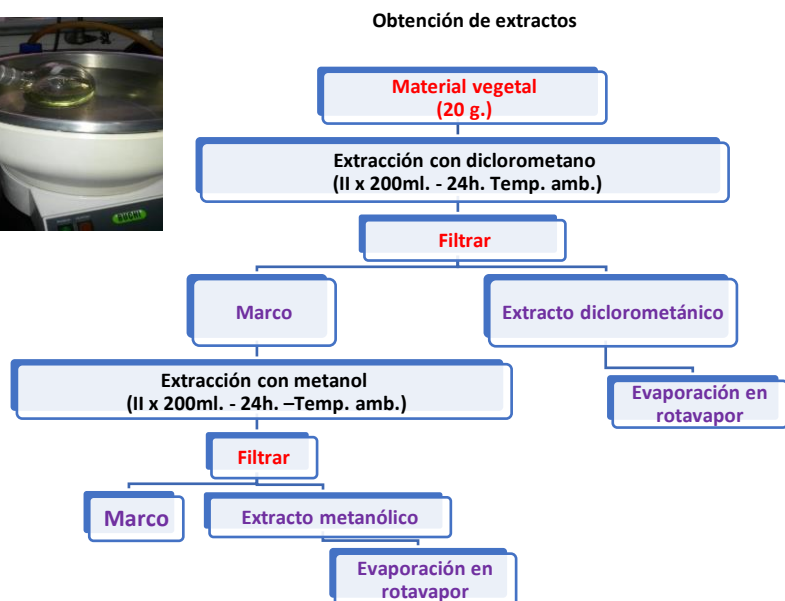


Objetivos

- Realizar un *screening* de actividad tripanocida de especies de la familia Asteraceae.
- Aislar e identificar los compuestos a partir de los extractos más activos.
- Determinar la actividad tripanocida *in vitro* de los compuestos aislados.
- Determinar la citotoxicidad de los compuestos bioactivos y la selectividad de acción.
- Ensayar *in vivo* en animales infectados por *T. cruzi* la capacidad terapéutica del/los compuesto/s más activo/s y selectivo/s.

Metodología

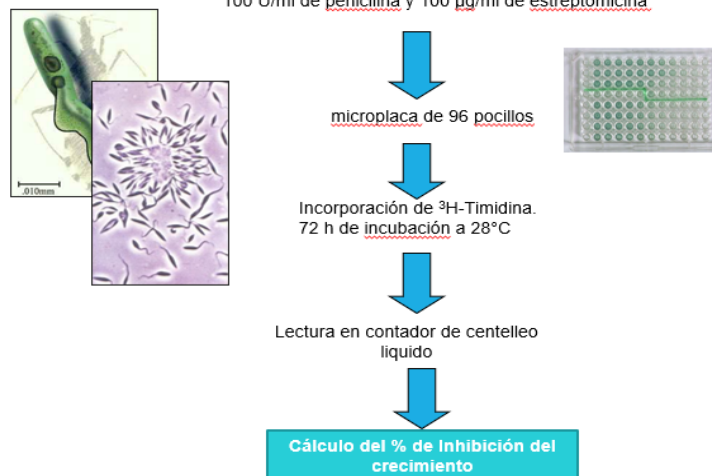
Obtención de extractos



Ensayo sobre epimastigotes de *T. cruzi*

Epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* (RA)

2x10⁸ epimastigotes/ml medio LIT, 10% de suero fetal bovino, 100 U/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomicina



Análisis espectroscópico de los compuestos aislados

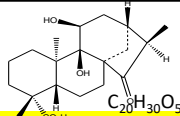
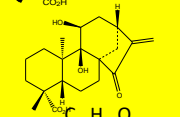
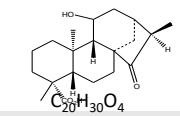
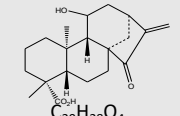
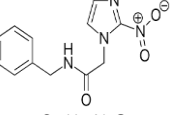
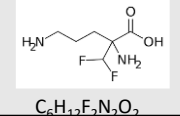


Resultados de actividad sobre *Trypanosoma cruzi* de extractos crudos de especies de Asteraceae

Especies vegetales	% de Inhibición del crecimiento sobre epimastigotes de <i>T. cruzi</i>			
	Extracto DCM		Extracto MeOH	
	100 µg/ml	10 µg/ml	100 µg/ml	10 µg/ml
<i>Acmella bellidioides</i>	97.8±0.4	54.6±4.0	13.9±5.6	22.4±7.4
<i>Aspilia silphioides</i>	97.7±0.2	93.4±0.9	58.1±6.0	28.2±9.5
<i>Calyptocarpus biaristatus</i>	93.4±4.3	39.2±6.1	48.2±2.9	21.7±4.3
<i>Hyalis argentea</i>	98.3±0.1	33.3±12.4	32.9±4.5	9.8±9.5
<i>Helenium radiatum</i>	97.9±0.4	3.7±2.1	97.9±0.4	70.1±0.1
<i>Gaillardia megapotamica</i>	98.3±0.2	98.1±0.4	98.1±0.1	77.7±0.9
<i>Gymnocoronis spilanthoides</i>	90.0±2.9	72.0±5.7	89.6±0.2	6.3±2.6
<i>Viguiera anchusaefolia</i>	82.0±4.6	1.9±0.5	51.8±4.5	9.3±8.0
<i>Viguiera tuberosa</i>	93.0±3.0	74.5±1.9	33.6±6.2	30.4±5.4
<i>Verbesina subcordata</i>	84.7±3.1	72.1±4.3	81.3±2.8	26.7±0.7
<i>Vernonia plantaginoides</i>	92.2±1.3	16.4±9.2	9.6±8.2	1.5±0.2
<i>Thelesperma megapotamica</i>	97.9±0.2	95.6±1.1	65.5±3.3	16.5±9.9
<i>Zexmenia buphtalmiflora</i>	96.8±1.7	81.7±2.3	64.4±1.0	21.6±5.9
<i>Mikania cordifolia</i>	85.1±0.9	80.5±2.1	n.d.	n.d.



Compuestos aislados a partir del extracto DCM de *Gymnocoronis spilanthoides* y su actividad tripanocida

Compuestos	Epimastigotes de <i>T. cruzi</i>		Amastigotes de <i>T. cruzi</i>		Tripomastigotes de <i>T. brucei brucei</i>		Elucidación	
	IC ₅₀ μg/ml (μM)	Índice de selectividad	IC ₅₀ μg/ml (μM)	Índice de selectividad	IC ₅₀ μg/ml (μM)	Índice de selectividad	Estructura	Nombre
A	35.2 (100.6)	3.1	Inactivo	-	35.2 (100.6)	3.1		Ácido 9,11-dihidroxi-15-ceto-ent-16-kauran-19-oico
B	3.7 (10.6)	30.3	2.1 (6.1)	51.4	2.1 (6.1)	53.3		Ácido 9,11-dihidroxi-15-ceto-ent-kaur-16-en-19-oico
C	5.3 (15.9)	1.5	6.5 (19.5)	1.2	8.8 (26.3)	0.9		Ácido 11-hidroxi-15-ceto-ent-kauran-19-oico
D	1.6 (4.8)	3.1	20.1 (60.6)	0.2	5.1 (15.4)	1.0		Ácido 11-hidroxi-15-ceto-ent-kaur-16-en-19-oico
Benznidazol	14.1 (5.4)	1.5	0.5 (1.8)	44.8	-	-		-
Eflornitina	-	-	-	-	3.9 (21.6)	38,6		-

Conclusiones

- ✓ Se aislaron cuatro diterpenos (compuestos A-D) a partir del extracto diclorometánico de *G. spilanthoides*.
- ✓ Se evaluó la actividad *in vitro* de los compuestos aislados sobre los tres estadios de *T. cruzi* y sobre tripomastigotes de *T. brucei brucei*. El ácido 9,11-dihidroxi15-ceto-ent-Kaur-16-en-19-oico (compuesto B) fue el que presentó mayor actividad y selectividad de acción frente a ambos parásitos.
- ✓ A futuro se continuará con la evaluación *in vivo* del compuesto B y se encararán ensayos para evaluar su posible mecanismo de acción.

Bibliografía

- Mariana G. Selener, Orlando Elso, Carla Grosso, Jimena Borgo, María Clavin, Emilio L. Malchiodi, Silvia I. Cazorla, Flavia Redko, and Valeria P. Sülsen. (2019). Anti-Trypanosoma cruzi Activity of Extracts from Argentinean Asteraceae Species, Iranian Journal of Pharmaceutical Research (2019), 18 (4): 1854-1861. DOI: 10.22037/ijpr.2019.14491.12430.



Agradecimientos

Directora: Dra. Valeria P. Sülsen, IQUIMEFA (UBA-CONICET)

Co-director: Dr. Andrés Sanchez Alberti – IMPAM (UBA-CONICET)

Director Adjunto: Dra. Flavia Redko, IQUIMEFA (UBA-CONICET)

Cátedra de Farmacognosia y Cátedra de Química Medicinal, Instituto de Química y Metabolismo del Fármaco (IQUIMEFA), Buenos Aires, Argentina

- Dr Orlando Elso, Dr. Lucas Fabian,

Universidad Nacional de Tucumán. INQUINOA (CONICET)

- Dr. César Catalán

Instituto de Investigación en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM) (CONICET-UBA). Cátedra de Inmunología-Instituto de estudios de Inmunidad humoral (IDEHU) (CONICET-UBA)

- Dr. Emilio Malchiodi
- DDr. Augusto Bivona
- Dr. Natacha Cerny