

# Isolamento biomonitorado de uma substância tripanossomicida de *Arrabidaea triplinervia* (Bignoniaceae), o ácido ursólico

Leite, J.P.V.<sup>1\*</sup>; Lombardi, J.A.<sup>2</sup>; Chiari, E.<sup>3</sup>, Oliveira, A.B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Faculdade de Farmácia;

<sup>2</sup> Departamento de Botânica, ICB; <sup>3</sup> Departamento de Parasitologia, ICB; Universidade Federal de Minas Gerais.

---

**RESUMO:** Como estratégia para a busca de novos agentes tripanossomicidas, de potencial utilização no controle da transmissão transfusional da doença de Chagas, realizou-se uma triagem dos extratos etanólicos provenientes de espécies vegetais da família Bignoniaceae. Foram avaliadas diferentes metodologias de fracionamento dos extratos etanólicos, tais como, partição entre solventes imiscíveis, cromatografias em coluna de poliamida e de gel de sílica, com monitoramento por testes *in vitro* contra formas tripomastigotas do *Trypanosoma cruzi*. Os fracionamentos em coluna de gel de sílica do extrato etanólico das folhas de *Arrabidaea triplinervia* e, posteriormente, da fração eluída desta coluna com diclorometano-acetato de etila (1:1) resultaram no isolamento de uma substância tripanossomicida, o ácido ursólico (0,76%).

**Unitermos:** Bignoniaceae; *Arrabidaea triplinervia*; *Arrabidaea pulchra*; *Trypanosoma cruzi*.

---

## INTRODUÇÃO

A doença de Chagas é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, afetando cerca de 16 milhões de pessoas em vários países da América do Sul (DIAS e BRENER, 1984). No Brasil, a transmissão pelo vetor está sob controle e a transfusão sangüínea está se tornando o principal mecanismo de transmissão (SILVEIRA e REZENDE, 1994). Desde a década de 50, a solução de violeta de genciana vem sendo utilizada como agente quimioprofilático para a esterilização do sangue, mas existem restrições ao seu uso, devido à sua toxicidade para alguns componentes do sangue (NUSSENZWEIG et al., 1953). A busca de novos agentes tripanossomicidas a partir de plantas é uma estratégia válida e importante (CROFT et al., 1988). Vários produtos naturais tripanossomicidas estão descritos na literatura (CHIARI et al., 1996; OLIVEIRA et al., 1996), sendo que alguns desses podem ser considerados como promissores. Entre estes estão  $\beta$ -lapachona e 3-alil- $\beta$ -lapachona, um derivado semi-sintético da  $\beta$ -lapachona, embora a utilização destas como agente quimioprofilático seja limitada devido a sua baixa solubilidade em água (SEPULVEDA-BOZA e CASSELS, 1996).

Com o objetivo de se obter novos agentes tripanossomicidas, foi realizada uma triagem de extratos vegetais através de testes *in vitro* contra a forma tripomastigota do *T. cruzi*, visando o

isolamento de substâncias tripanossomicidas. A etapa inicial desse estudo biomonitorado consistiu na avaliação *in vitro* de extratos etanólicos contra o *T. cruzi*. Esta metodologia apresenta, no entanto, alguns inconvenientes que podem interferir nos resultados, tais como a baixa solubilidade de componentes de extratos vegetais no meio aquoso e a hemólise, que pode ser provocada por substâncias presentes nos extratos, sendo necessário, então, um tratamento preliminar dos extratos etanólicos.

Neste presente trabalho, os extratos etanólicos de duas espécies da família Bignoniaceae, *Arrabidaea triplinervia* H. BAILL e *A. pulchra* (CHAM.) SANDW, foram testados *in vitro* contra formas tripomastigotas do *T. cruzi* e submetidos a diferentes metodologias de fracionamento, com monitoramento pelos testes biológicos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Obtenção dos extratos

As partes aéreas de *A. triplinervia* e *A. pulchra* foram coletadas no Campus da Universidade Federal de Minas Gerais, em março de 1994. Folhas e caules foram separados e secos em estufa ventilada a 38°C, sendo, em seguida, pulverizados em moinho. Os pós das diferentes partes das plantas foram submetidos a extrações exaustivas com etanol 96°GL, por percolação, e as soluções obtidas foram concentradas em evaporador rotatório. As massas dos pós das plantas e as dos extratos estão indicadas na Tabela 1.

TABELA 1. Massas dos pós das plantas e dos seus respectivos extratos etanólicos.

Espécies Vegetais	Parte	Massa do pó da planta (g)	Massa do extrato (g)	Rendimento (%)
<i>Arrabidaea triplinervia</i>	Folhas	270,3	49,0	18,0
	Caules	178,0	13,7	7,7
<i>Arrabidaea pulchra</i>	Folhas	146,0	18,5	12,7
	Caules	170,0	11,5	6,7

### Testes *in vitro* contra formas tripomastigotas do *Trypanossoma cruzi*

Os testes *in vitro* contra tripomastigotas do *T. cruzi* foram realizados de acordo com a metodologia descrita por CHIARI et al., 1996. Os extratos etanólicos, as frações obtidas a partir destes e a substância pura foram dissolvidos em dimetilsulfóxido (DMSO) (0,2ml) e meio para cultura de tecido TCM199 (2,0ml). Desta solução-suspensão, foram retiradas alíquotas de 200, 100, 50 e 25µl e, a cada uma delas, adicionou-se sangue infectado (200ml), completando-se o volume para 500ml com TCM199. O sangue utilizado nos testes *in vitro* foi obtido a partir de camudongos infectados com as cepas CL e Y do *T. cruzi*. Uma densidade parasitária de  $2 \times 10^5$  tripomastigotas/0,1ml foi calculada para cada tubo-teste (4ml, 56 × 13mm); tubos-controle contendo DMSO e DMSO + TCM199, sem as amostras e com violeta de genciana foram também avaliados. Após incubação a 4°C, por 24 h, as suspensões foram microscopicamente examinadas e os resultados descritos como: (-) ausência de parasitas (ativa); (+) redução no número de

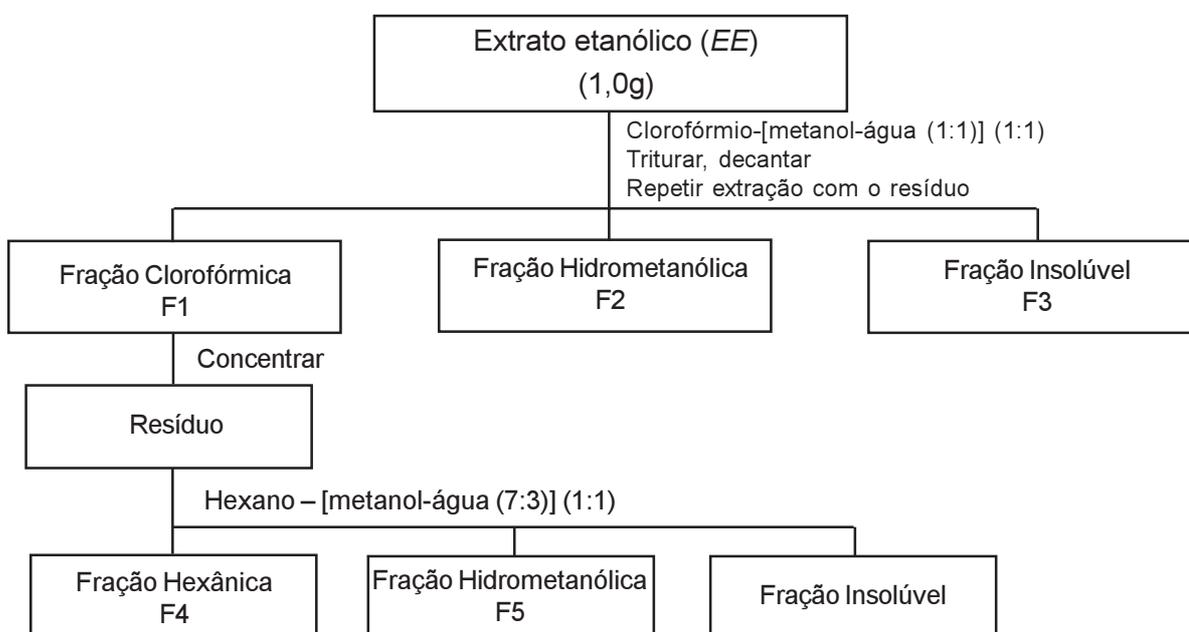
parasitas (parcialmente ativa); (++) número de *T. cruzi* igual ao controle (inativa); (L) lise de eritrócitos; (ND) não determinado.

### Fracionamentos preliminares dos extratos etanólicos

Diferentes tratamentos dos extratos etanólicos foram realizados e monitorados por testes *in vitro* contra formas tripomastigotas do *Trypanossoma cruzi* para avaliação da eficiência dos procedimentos empregados.

### Partição entre solventes imiscíveis

O resíduo de cada extrato etanólico (1,0g), retomado em água, foi submetido a partições entre solventes imiscíveis, como mostrado na Figura 1. Amostras (20mg) das frações obtidas foram submetidas aos testes biológicos.



**FIGURA 1.** Fracionamento preliminar dos extratos etanólicos de *Arrabidaea triplinervia* e *Arrabidaea pulchra* por partição entre solventes imiscíveis.

As massas das frações obtidas, após partições entre solventes imiscíveis, a partir dos extratos etanólicos (1,0g) de *A. triplinervia* e *A. pulchra*, estão expressas na Tabela 2.

**TABELA 2.** Massas das frações obtidas por partições entre solventes imiscíveis, a partir dos extratos etanólicos (1,0g) de *Arrabidaea triplinervia* e *Arrabidaea pulchra*.

Espécies vegetais	Partes da planta	Massas (mg)				
		F1	F2	F3	F04	F5
<i>Arrabidaea triplinervia</i>	Folhas	20	400	90	40	250
	Caules	–	650	50	70	200
<i>Arrabidaea pulchra</i>	Folhas	14	320	120	30	380
	Caules	–	310	140	25	420

### Cromatografia em coluna de poliamida

Uma alíquota de cada extrato etanólico (500mg), previamente dissolvida em metanol, foi cromatografada em uma coluna de poliamida (15 × 3cm), eluindo-se exaustivamente com metanol. O metanol foi completamente removido por destilação, em evaporador rotatório, e uma alíquota do resíduo (20mg) foi remetida para os testes biológicos. A massa das frações metanólicas obtidas, após filtração em coluna de poliamida, estão apresentadas na Tabela 3.

**TABELA 3.** Massas das frações metanólicas obtidas após cromatografia em coluna de poliamida dos extratos etanólicos (500mg) de *Arrabidaea triplinervia* e *Arrabidaea pulchra*.

Espécies vegetais	Partes da planta	Massas (mg)
<i>Arrabidaea triplinervia</i>	Folhas	401
	Caules	370
<i>Arrabidaea pulchra</i>	Folhas	324
	Caules	424

### Cromatografia em coluna de gel de sílica

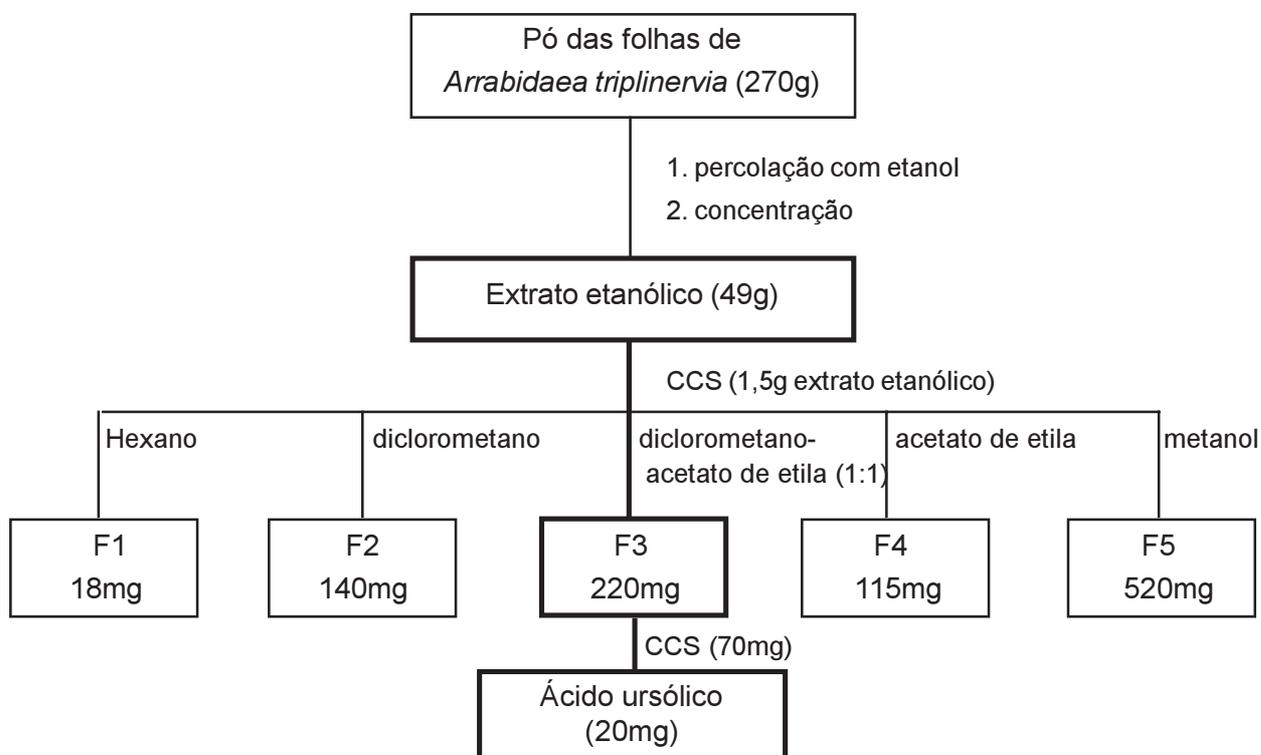
Uma alíquota do extrato etanólico (1,5g) foi submetida à cromatografia em coluna de gel de sílica (50g), utilizando-se, os seguintes eluentes na ordem indicada: hexano (F1), diclorometano (F2), diclorometano-acetato de etila (1:1) (F3), acetato de etila (F4) e metanol (F5). A solução correspondente a cada eluente foi concentrada até resíduo, em evaporador rotatório, e uma parte desta (20mg) foi remetida para os testes biológicos. As massas obtidas de cada fração estão apresentadas na Tabela 4.

**TABELA 4.** Massas das frações resultantes da cromatografia em coluna de gel de sílica dos extratos etanólicos (1,5g) de *Arrabidaea triplinervia* e *Arrabidaea pulchra*.

Espécies vegetais	Partes da planta	Massas (mg)				
		F1	F2	F3	F4	F5
<i>Arrabidaea triplinervia</i>	Folhas	18	140	220	115	520
	Caules	10	110	160	95	630
<i>Arrabidaea pulchra</i>	Folhas	16	60	120	70	740
	Caules	08	45	78	150	980

**Isolamento do ácido ursólico por cromatografia em coluna de gel de sílica a partir da fração F3, proveniente do fracionamento do extrato etanólico das folhas de *Arrabidaea triplinervia***

Uma alíquota (70mg) de F3, eluída com diclorometano - acetato de etila (1:1) da coluna em gel de sílica do extrato etanólico das folhas de *A. triplinervia* (Tabela 4), foi submetida à cromatografia em coluna de gel de sílica, sendo utilizado o mesmo sistema eluotrópico, descrito anteriormente, obtendo-se nove sub-frações. A sub-fração 2, após recristalização em metanol, forneceu 20mg do ácido ursólico (Figura 2).



— direcionamento da atividade tripanossomicida

**FIGURA 2.** Fluxograma para o isolamento do ácido ursólico do extrato etanólico das folhas de *Arrabidaea triplinervia*.

## Identificação do ácido ursólico

**Ácido 3 $\beta$ -hidróxi-urs-12-en-28-óico:** cristais brancos, ponto de fusão 248-250°C (lit. 238-240°C; Lee et al., 1988). Os dados espectrais que permitiram a identificação do ácido ursólico foram obtidos por espectrometrias no infravermelho (IV), de massas com impacto eletrônico (EMIE), ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN<sup>1</sup>H) e de carbono-13 (RMN<sup>13</sup>C).

IV  $n_{\text{máx}}$ : 3400, 2900, 1690, 1650, 1460, 990  $\text{cm}^{-1}$ ; EMIE  $m/z$  (intensidade relativa) 456 [M]<sup>+</sup> (3), 248 (100), 207 (23), 203 (35), 133 (26); RMN<sup>1</sup>H (D<sub>6</sub>-DMSO, 400MHz, d) 5,13 (t,  $J$  3,3Hz, 1H, H-12), 4,28 (d,  $J$  5,0Hz, 1H, 3-OH), 2,99 (dt,  $J$  10,1, 5,0 e 5,0Hz, 1H, H-3), 2,12 (d,  $J$  11,3Hz, 1H, H-18), 1,04 (s, 3H), 0,90 (d,  $J$  7,7Hz, 3H), 0,89 (s, 3H), 0,87 (s, 3H), 0,81 (d,  $J$  6,4Hz, 3H), 0,75 (s, 3H), 0,67 (s, 3H); RMN<sup>13</sup>C (D<sub>6</sub>-DMSO, 100MHz, d) 38,3 (C-1), 27,0 (C-2), 76,8 (C-3), 36,3 (C-4), 54,8 (C-5), 18,0 (C-6), 32,7 (C-7), 39,4 (C-8), 47,0 (C-9), 38,2 (C-10), 22,8 (C-11), 124,6 (C-12), 138,2 (C-13), 41,6 (C-14), 27,5 (C-15), 23,8 (C-16), 46,8 (C-17), 52,4 (C-18), 38,5 (C-19), 38,4 (C-20), 30,2 (C-21), 36,5 (C-22), 28,2 (C-23), 15,2 (C-24), 16,1 (C-25), 16,9 (C-26), 23,3 (C-27), 178,2 (C-28), 17,0 (C-29), 21,0 (C-30).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Triagem dos extratos etanólicos de *Arrabidaea triplinervia* e *Arrabidaea pulchra*

Os resultados dos testes *in vitro* contra formas tripomastigotas do *T. cruzi* das amostras dos extratos etanólicos de folhas e caule de *A. triplinervia* e *A. pulchra* estão indicados na Tabela 5. O extrato etanólico de folhas de *A. triplinervia*, na concentração de 5,0mg/ml, eliminou completamente os parasitas do sangue, e foi parcialmente ativo na concentração de 2,5mg/ml. Em ambas as concentrações, observou-se lise parcial de eritrócitos. O extrato etanólico do caule desta espécie e aqueles de folhas e caules de *A. pulchra* foram inativos e não provocaram hemólise.

**TABELA 5.** Resultados dos testes *in vitro* dos extratos etanólicos de *Arrabidaea triplinervia* e *Arrabidaea pulchra* contra formas tripomastigotas do *Trypanossoma cruzi*.

Espécies Vegetais	Partes da planta	Concentrações(mg/ml)	
		5,0	2,5
<i>Arrabidaea triplinervia</i>	Folhas	- L	+ L
	Caules	++	++
<i>Arrabidaea pulchra</i>	Folhas	++	++
	Caules	++	++

(-) ausência de parasitas (ativa); (+) redução no número de parasitas (parcialmente ativa); (++) número de *T. cruzi* igual ao controle (inativa); (L) lise de eritrócitos; (ND) não determinado.

### Testes *in vitro* contra o *Trypanossoma cruzi* das frações resultantes das partições entre solventes imiscíveis dos extratos etanólicos

As frações resultantes das partições entre solventes imiscíveis foram ensaiadas nas concentrações de 10,0 e 5,0mg/ml e os resultados são mostrados na Tabela 6. Para *Arrabidaea triplinervia*, apenas F3-folha foi ativa, com lise parcial de eritrócitos, nas duas concentrações ensaiadas. Para *Arrabidaea pulchra*, três frações foram ativas, F3 e F5, ambas de folha, e F5-caule. Todas as frações ativas, exceto F3-folha, de *Arrabidaea pulchra* causaram lise parcial de eritrócitos. Porém, esta fração foi ativa apenas na concentração de 10 mg/ml. Estes resultados mostram que um teste negativo com um extrato bruto não exclui a possibilidade de resultado positivo com frações resultantes de diferentes fracionamentos deste, uma vez que algumas frações estarão enriquecidas em substância(s) ativa(s).

**TABELA 6.** Resultados dos testes *in vitro* contra o *Trypanosoma cruzi* das frações resultantes das partições entre solventes imiscíveis dos extratos etanólicos de *Arrabidaea triplinervia* e *Arrabidaea pulchra*.

Espécies vegetais	Partes da planta	Concentrações (mg/ml)	Frações				
			F1	F2	F3	F4	F5
<i>Arrabidaea triplinervia</i>	Folhas	10,0	+L	++	-L	++	++
		5,0	+L	++	-L	++	++
	Caules	10,0	ND	++	++	+L	++
		5,0	ND	++	++	++L	++
<i>Arrabidaea pulchra</i>	Folhas	10,0	ND	++	-	++	-L
		5,0	ND	++	+	++	-L
	Caules	10,0	ND	++	ND	++	-L
		5,0	ND	++	ND	++	++

(-) ausência de parasitas (ativa); (+) redução no número de parasitas (parcialmente ativa); (++) número de *T. cruzi* igual ao controle (inativa); (L) lise de eritrócitos; (ND) não determinado.

### Testes *in vitro* contra o *Trypanossoma cruzi* das frações resultantes da cromatografia em coluna de poliamida dos extratos etanólicos

Na cromatografia dos extratos etanólicos em coluna de poliamida o único eluente empregado foi o metanol, tendo sido recolhida, em cada caso, uma única fração cujo resíduo, após remoção do metanol, foi submetido aos bioensaios. Os resultados destes constam da Tabela 7. Somente para folhas de *Arrabidaea triplinervia* observou-se ausência de parasitas, na concentração de 5,0mg/ml, e redução no número destes, na concentração de 2,5 mg/ml. É interessante chamar a atenção para a ausência de hemólise, em todos os testes realizados, após a filtração em poliamida. Considerando que o único eluente empregado foi o metanol, conclui-se que o(s) agente(s) hemolítico(s) é(são) mais polar(es), não tendo sido eluído(s) da coluna de poliamida, por este solvente.

**TABELA 7.** Resultados dos testes *in vitro* contra o *Trypanossoma cruzi* das frações resultantes da cromatografia em coluna de poliamida partir dos extratos etanólicos de *Arrabidaea triplinervia* e *Arrabidaea pulchra*.

Espécies vegetais	Partes da planta	Concentrações (mg/ml)	
		5,0	2,5
<i>Arrabidaea triplinervia</i>	Folhas	-	+
	Caules	++	++
<i>Arrabidaea pulchra</i>	Folhas	++	++
	Caules	++	++

(-) ausência de parasitas (ativa); (+) redução no número de parasitas (parcialmente ativa); (++) número de *T. cruzi* igual ao controle (inativa); (L) lise de eritrócitos; (ND) não determinado.

### Testes *in vitro* contra o *Trypanossoma cruzi* das frações resultantes da cromatografia em coluna de gel de sílica dos extratos etanólicos

Outro método utilizado foi o fracionamento do extrato etanólico, em coluna de gel de sílica, o qual foi realizado como descrito anteriormente. Os resultados dos testes realizados com as frações obtidas da coluna de gel de sílica de *Arrabidaea triplinervia* e *A. pulchra* estão apresentados, respectivamente, nas Tabelas 8 e 9.

**TABELA 8.** Resultados dos testes *in vitro* das frações obtidas da cromatografia em gel de sílica do extrato etanólico de *Arrabidaea triplinervia* contra formas tripomastigotas do *Trypanossoma cruzi*.

Partes da Planta	Fração/Eluente	Concentrações (mg/ml)	
		10,0	5,0
Folhas	F2 / diclorometano	++	++
	F3/ diclorometano-acetato etila (1:1)	-	-
	F4 / acetato de etila	++	++
	F5 / metanol	++	++
Caules	F2 / diclorometano	++	++
	F3 / diclorometano-acetato etila (1:1)	-L	-L
	F4 / acetato de etila	++	++
	F5 metanol	++	++

(-) ausência de parasitas (ativa); (+) redução no número de parasitas (parcialmente ativa); (++) número de *T. cruzi* igual ao controle (inativa); (L) lise de eritrócitos; (ND) não determinado.

**TABELA 9.** Resultados dos testes *in vitro* das frações obtidas da cromatografia em gel de sílica do extrato etanólico de *Arrabidaea pulchra* contra formas tripomastigotas do *Trypanossoma cruzi*.

Parte da Planta	Fração/Eluente	Concentrações (mg/ml)	
		10,0	5,0
Folhas	F2 / diclorometano	++	++
	F3/ diclorometano-acetato etila (1:1)	-L	-L
	F4 / acetato de etila	ND	ND
	F5 / metanol	++	++
Caules	F2 / diclorometano	++	++
	F3/ diclorometano-acetato etila (1:1)	-L	+L
	F4 / acetato de etila	+L	+L
	F5 / etanol	++	++

(-) ausência de parasitas (ativa); (+) redução no número de parasitas (parcialmente ativa); (++) número de *T. cruzi* igual ao controle (inativa); (L) lise de eritrócitos; (ND) não determinado.

Os resultados das Tabelas 8 e 9 indicam a atividade das frações eluídas com diclorometano - acetato de etila (1:1) (F3) do extrato etanólico das folhas e caules de ambas as espécies sendo que, para as folhas de *Arrabidaea triplinervia* não foi verificada hemólise, que ocorreu com as demais frações eluídas com esta mesma mistura de eluentes.

As análises por cromatografia em camada delgada das frações ativas, obtidas por diferentes fracionamentos, a partir dos extratos etanólicos de folhas e caules de *Arrabidaea triplinervia* e *Arrabidaea pulchra* mostraram a presença de ácido ursólico em todas elas. Conclui-se que o teor desta substância em *Arrabidaea pulchra* é menor do que em *Arrabidaea triplinervia*, já que, os extratos brutos da primeira espécie foram inativos nas mesmas condições nas quais aqueles de *Arrabidaea triplinervia* foram ativos. Por outro lado, após fracionamento, observou-se atividade tripanossomicida para *A. pulchra*, em frações resultantes de partição entre solventes imiscíveis (Tabela 6) e das cromatografias em coluna de poliamida (Tabela 7) e de gel de sílica (Tabela 8). O efeito hemolítico causado pelo extrato etanólico das folhas de *A. triplinervia* (Tabela 5) persistiu na fração ativa F3 (Tabela 6) e apareceu na fração F5 de *Arrabidaea pulchra* (Tabela 6), enquanto que nos fracionamentos por cromatografia em coluna de gel de sílica este não foi observado para F3-folha de *Arrabidaea triplinervia*.

### Identificação do ácido ursólico e avaliação da sua atividade tripanossomicida

Uma alíquota (70mg) da fração eluída com diclorometano:acetato de etila (1:1) (F3), proveniente do extrato etanólico das folhas de *Arrabidaea triplinervia*, que provocou eliminação total das formas tripomastigotas do *Trypanossoma cruzi*, sem provocar lise de eritrócitos (Tabela 8), após cromatografia em coluna de gel de sílica, forneceu 20mg de uma substância correspondente a 0,76% de folhas secas de *Arrabidaea triplinervia*. Análise espectrométrica (IV, EM, RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C) e comparação com dados da literatura (LEE et al., 1988) permitiram sua identificação como sendo o ácido ursólico (Figura 3).

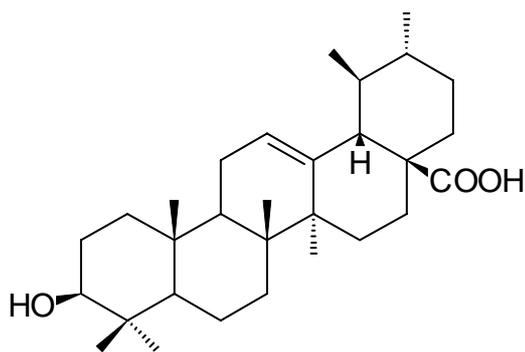


FIGURA 3. Estrutura química do ácido ursólico.

O ácido ursólico foi submetido aos testes biológicos, em diferentes concentrações (Tabela 10). Os resultados mostraram a eliminação total do *Trypanossoma cruzi* (cepa Y), nas concentrações de 1,6; 0,8 e 0,4mg/ml, e, na concentração de 0,2mg/ml, este composto foi parcialmente ativo. Para a cepa CL, o ácido ursólico foi ativo apenas nas concentrações de 1,6 e 0,8mg/ml.

Várias atividades têm sido relatadas para o ácido ursólico: antiinflamatória, hepatoprotetora, antitumoral, antimicrobiana e outras (LIU, 1995). No entanto, pela primeira vez, no nosso conhecimento, é relatada a atividade de um triterpeno contra formas tripomastigotas do *Trypanossoma cruzi*. A tingenona, um triterpeno quinonóide, mostrou-se ativa contra formas epimastigotas do *Trypanossoma cruzi* (SEPULVEDA-BOZA e CASSELS, 1996), sendo que a atividade desta substância deve estar relacionada com o núcleo quinonamético da substância, enquanto que o ácido ursólico deve atuar por outro mecanismo de ação.

TABELA 10. Resultados dos testes *in vitro* do ácido ursólico contra formas tripomastigotas do *Trypanossoma cruzi*.

Substância	<i>T. cruzi</i> Cepas	Concentrações (mg/ml)			
		1,6	0,8	0,4	0,2
Ácido ursólico	Y	-	-	-	+
	CL	-	-	++	++

(-) ausência de parasitas (ativa); (+) redução no número de parasitas (parcialmente ativa); (++) número de *T. cruzi* igual ao controle (inativa); (L) lise de eritrócitos; (ND) não determinado.

## CONCLUSÃO

Os testes *in vitro* dos extratos etanólicos de folhas e caules de *A. triplinervia* e *A. pulchra* contra formas tripomastigotas do *Trypanossoma cruzi* foram positivos apenas para o extrato bruto das folhas de *A. triplinervia*.

Metodologias de fracionamentos de extratos foram aplicadas aos extratos etanólicos de *A. triplinervia* e *A. pulchra*, tais como, partição entre solventes imiscíveis, cromatografias em colunas de poliamida e de gel de sílica. Estas duas últimas forneceram frações mais ativas em relação ao extrato etanólico de *A. triplinervia*, enquanto que as partições entre solventes imiscíveis e a

cromatografia em coluna de gel de sílica permitiram a obtenção de frações ativas a partir do extrato bruto de *Arrabidaea pulchra*, o qual foi inativo na triagem inicial.

Assim, um fracionamento inicial de extratos inativos é também desejável, de forma que se possa avaliar, separadamente, frações contendo compostos com propriedades físico-químicas diferentes e, também, biomonitorar um estudo fitoquímico, com o objetivo de isolar substâncias ativas.

A cromatografia da fração ativa, obtida por fracionamento em coluna de gel de sílica do extrato etanólico das folhas de *A. triplinervia*, conduziu a uma substância tripanossomicida, o ácido ursólico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHIARI, E.; RASLAN, D.S.; SAÚDE, D.A.; PERRY, K.S.P.; BOAVENTURA, M.A.D.; GRANDI, T.S.M.; STEHMANN, J.R.; ANJOS, A.M.G.; OLIVEIRA, A.B. *In vitro* screening of Asteraceae plant species against *Trypanosoma cruzi*. *Phytotherapy Research*, n.10, p. 636–638, 1996.

CROFT, S.L.; WALKER, J.J.; GUTTERIDGE, W.E. Screening of drugs for rapid activity against *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes *in vitro*. *Trop. Med. Parasitol.*, n.39, p. 145, 1988.

DIAS, J.C.P.; BRENER, S. Chagas disease and blood transfusion. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, n. 79, p. 139-147, 1984.

LEE, K.L.; LIN, Y.M.; WU, T.S.; ZHANG, D.C.; YAMAGISHI, T.; HALL, I.H.; WU, R.Y. The cytotoxic principles of *Prunella vulgaris*, *Psychotria serpens* and *Hyptis capitata*: ursolic acid and related derivatives. *Planta Medica*, n. 54, p. 308-311, 1988.

LIU, J. Pharmacology of oleanolic and ursolic acids. *Journal of Ethnopharmacology*, n. 49, p. 57-68, 1995.

NUSSENZWEIG, V.; SONNTAG, R.; FREITAS, J.P.L.P.; AMATO NETO, V.; BIANCALANA, A. KLOETZEL, J. Ação da violeta de genciana sobre o *Trypanosoma cruzi in vitro*: sua importância na esterilização do sangue destinado a transfusão. *Revista Paulista de Medicina*, n. 42, p. 85-86, 1953.

OLIVEIRA, A.B.; CHIARI, E.; SAÚDE, D.A.; PERRY, K.S.P.; DÂMARI, S.D.; RASLAN, D.S.; BOAVENTURA, M.A.D. Trypanocidal sesquiterpenes from *Lychnophora* species. *Phytotherapy Research*, n. 10, p. 292-295, 1996.

SEPULVEDA-BOZA, S.; CASSELS, B.K. Plant metabolites active against *Trypanosoma cruzi*. *Planta Medica*, n. 62, p. 98-105, 1996.

SILVEIRA, A.C.; REZENDE, D.F. Epidemiologia e controle da transmissão vetorial da doença de Chagas no Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Tropical*, n. 27, p. 11-22, 1994.

### \*Autor para correspondência:

Prof. João Paulo Viana Leite  
Laboratório de Fitoquímica  
Departamento de Produtos Farmacêuticos  
Faculdade de Farmácia  
Universidade Federal de Minas Gerais  
Av. Olegário Maciel, 2360  
30180-112 - Belo Horizonte - MG