

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ESQUISTOSSOMICIDA DOS NOVOS DERIVADOS 2- INDOL-N-FENIL-HIDRAZINA-TIAZOLIN-4-ONA

Paula Caroline de Carvalho Camelo¹; Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Alburquerque²

¹Estudante do Curso de Farmácia – CCS – UFPE; E-mail: paulacaroline.farm@hotmail.com,

²Docente/pesquisador do Depto de Medicina Tropical – CCS – UFPE. E-mail: jcmonica@globo.com.

Sumário: Diante do cenário atual evidenciado pela possível resistência que as cepas de *S. mansoni* vêm desenvolvendo ao praziquantel associado ao fato dos derivados tiazolidínicos possuírem diversas atividades biológicas comprovadas, este trabalho teve como objetivo a avaliação da atividade esquistossomicida de novos derivados 2- indol-n-fenil-hidrazina-tiazolin-4-ona a fim de contribuir no tratamento da esquistossomose mansônica. Neste estudo, uma série de quatro compostos indólicos-tiazolidínicos foram avaliados quanto a sua atividade esquistossomicida *in vitro* frente aos vermes adultos do *S. mansoni* e quanto a sua atividade cercaricida frente a cercarias de *S. mansoni*. Os compostos apresentaram uma promissora atividade esquistossomicida *in vitro* frente aos vermes adultos de *S. mansoni* com uma taxa de mortalidade de 100% dos parasitos observada pelo composto LqIT-51 (200 µg/mL), que se destacou frente aos demais compostos testados. Diante dos resultados obtidos, foi possível concluir que os derivados indólicos-tiazolidínicos podem ser considerados potenciais candidatos a fármacos esquistossomicidas, sendo necessários estudos complementares *in vivo* a fim de comprovar seu potencial terapêutico.

Palavras-chave: cercaricida; derivados indólicos-tiazolidínicos; esquistossomicida.

INTRODUÇÃO

Na esquistossomose, doença causada por trematódeos do gênero *Schistosoma*, parasitos responsáveis por quadros patológicos debilitantes, a intervenção quimioterápica recomendada pela Organização Mundial de Saúde está representada pelo praziquantel, droga de primeira escolha no tratamento da doença. Portanto, o praziquantel apresenta-se hoje como a principal ferramenta para controle desta parasitose. Apesar de sua eficácia, os índices de prevalência da esquistossomose vêm sendo mantidos há décadas, atingindo 207 milhões de pessoas e expondo outras 600 milhões a situação de risco (GRYSEELS, B. et al 2006). Desta forma, inevitavelmente, a esquistossomose aproxima-se cada vez mais de um estado de descontrole, deparando-se com a necessidade de medidas urgentes e efetivas conduzidas na busca de novas drogas e no monitoramento da resposta do parasito ao praziquantel (PICA-MATTOCCIA & CIOLI, 2004). Diante deste quadro, a multidisciplinaridade e experiência do grupo envolvido com esta investigação, contribuirá mais uma vez ao atender as reivindicações das autoridades em saúde pública demandadas da necessidade de se reverter o perfil de negligenciamento de doenças tropicais imposto pelas indústrias farmacêuticas, no momento em que se propõem a avaliar a atividade esquistossomicida de novos derivados 2-indol-N-fenil-hidrazina-tiazolin-4-ona.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos no Departamento de Medicina Tropical e no Laboratório de Imunologia e Esquistossomose Experimental (LIKA) após apreciação pelo

Comitê de Ética em Experimentação de Animais da UFPE cujo número de processo é 23076.016064/2014-58. Foram utilizados camundongos fêmeas da linhagem *Swiss Webster*, fornecidos pelo Biotério do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami. Os caramujos da espécie *B. glabrata* foram fornecidos pelo Moluscário da Disciplina de Parasitologia, do Departamento de Medicina Tropical, da UFPE. Os derivados 1,3-benzodioxo foram cedidos pelo Laboratório de Química e Inovação Terapêutica (LqIT) do Departamento de Antibióticos da UFPE. O praziquantel foi utilizado como controle positivo. Após infecção dos caramujos com miracidios de *S. mansoni*, a avaliação da suscetibilidade das cercárias frente aos derivados 2 indol-N-fenil-hidrazina-tiazolin-4-ona foi realizada de acordo com Santos e colaboradores (2007). As cercárias recentemente liberadas foram suspensas e transferidas para beckers. Uma alíquota apropriada da solução-mãe foi adicionada à suspensão de cercária de modo a obter concentrações finais de 1, 10 e 100 µg/mL. A letalidade foi determinada após 15, 30, 60 e 120. O controle negativo foi utilizado em água decolorada em cada bioensaio. Os ensaios foram realizados em triplicata. Avaliação da suscetibilidade *in vitro* de vermes adultos está de acordo com os trabalhos desenvolvidos por BADR et al., 1999 e BARTH et al., 1996. Após infecção de camundongos com cercarias de *S. mansoni* deu-se a remoção dos vermes adultos, 50 dias após a infecção. Os vermes recuperados foram lavados em meio RPMI-1640 acrescido de HEPES 20mM pH = 7,5 e suplementado com penicilina (100UI/ml), estreptomicina (100µg/mL) e soro bovino fetal a 10%. Em seguida, os vermes foram transferidos para placas de cultura de tecidos contendo 2mL de meio. Em cada poço os vermes adultos foram incubados a 37°C, contendo 5% de CO₂. Os vermes foram mantidos em cultura por 3 dias sendo monitorados a cada 24 horas para avaliação do seu estado geral: atividade motora, alterações no tegumento, pareamento e taxa de mortalidade.

RESULTADOS

Tabela 1- Atividade cercaricida dos derivados 2 indol-N-fenil-hidrazina-tiazolin-4-ona (LqIT-LT51, LqIT-LT53, LqIT-LT56, LqIT-LT57).

Droga	Concentração da droga (µg/mL)	Análise da atividade cercaricida após			
		15 min	30 min	1 h	2 h
Água decolorada		-	-	-	-
LqIT-LT51	100	-	±	±	+
	10	-	-	-	-
	1	-	-	-	-
LqIT-LT53	100	-	-	-	-
	10	-	-	-	-
	1	-	-	-	-
LqIT-LT56	100	±	±	±	±
	10	-	±	±	±
	1	-	-	-	-
LqIT-LT57	100	-	±	±	±
	10	-	-	-	-
	1	-	-	-	-

(+ +), 100% das cercárias imóveis, (+) \approx 90% das cercárias imóveis, (+/-) \geq 50% e $<$ 90% das cercárias imóveis, (-) ausência de atividade cercaricida com $>$ 90% das cercárias normais.

Tabela 2- Score de motilidade do grupo controle, vermes tratados com praziquantel (PZQ), e dos vermes tratados com os derivados 2 indol-N-fenil-hidrazina-tiazolin-4-ona (LqIT-LT51, LqIT-LT53, LqIT-LT56, LqIT-LT57) nos intervalos de 24, 48 e 72 horas pós-incubação.

Grupos	Percentagem de vermes (%) em score de motilidade após-incubação								
	24 h			48 h			72 h		
	3	1.5	0	3	1.5	0	3	1.5	0
Controle	100			100			100		
PZQ		17	83				100		100
LqIT-LT51									
200 μ M			100				100		100
100 μ M	100						100		100
50 μ M	100			100					100
25 μ M	100			65	35		59	41	
LqIT-LT53									
200 μ M	100			100					100
100 μ M	100			93	7		57	43	
50 μ M	100			100					100
25 μ M	100			100					100
LqIT-LT56									
200 μ M	100			100			66	33	
100 μ M	100			100			71	28	
50 μ M	100			100			93,3	6,6	
25 μ M	100			100			81,25	18,75	

3, movimento completo do corpo; 1.5, o movimento do corpo parcial ou imóvel, mas vivos; e 0, morto.

DISCUSSÃO

Os compostos estudados não apresentaram boa atividade cercaricida sendo, o composto LqLT-56, o de melhor resultado. Ao observar as atividades dos derivados LqIT-LT51, LqIT-LT53, LqIT-LT56, LqIT-LT57 frente a vermes adultos de *S. mansoni* os resultados foram mais promissores, visto que, o derivado LqLT-51 em 24 horas resultou numa taxa de mortalidade de 100%.

A taxa de mortalidade observada pelos compostos avaliados neste estudo pode ser justificada pela presença dos anéis indólico e tiazolidínico em suas estruturas. Moléculas com o núcleo indol têm sido amplamente estudadas, visto o seu vasto espectro de atividades associadas a este heterociclo tais como o inibidor da monoamino oxidase A e B

(LA REGINA et al., 2008), antifúngica (TIWARE et al., 2006), antituberculose (GUZEL, KARALI & SALMAN, 2008), anti-inflamatória (SANTIN et al., 2013). O indol se apresenta como bioisómero de anel da quinolina, estrutura presente nas trioxaquinas e mefloquina (BARREIRO & FRAGA, 2008).

Estudos revelaram que os derivados trioxaquinas se mostraram efetivos contra as fases larvares e de vermes adultos do *S. mansoni*, nas doses de 5 µg/mL e 50 µg/mL, respectivamente (BOISSIER et al., 2009). Estudos posteriores a fim de avaliar o modo de ação das trioxaquinas foram realizados. De fato foi percebido que havia a formação de uma ligação covalente entre o heme livre e o PA1259, reforçando que a heme-alquilação é o provável mecanismo de ação desses derivados (PORTELA et al., 2012).

Do mesmo modo ocorre na mefloquina, que também possui comprovada atividade frente a parasitos *S. mansoni* (KEISER et al., 2009). A atividade *in vitro* da mefloquina mostrou que na concentração de 100 µg/mL, após 1h de exposição dos parasitos a droga, resultou numa taxa de mortalidade de 100%. Essa taxa de mortalidade também foi observada na concentração de 10 µg/mL após 24h de exposição. Além disso, a mefloquina é capaz de causar extensas lesões tegumentares na dose de 100 µg/mL, observadas através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (MANNECK, HAGGENMULLER & KEISER, 2010).

Adicionalmente, as tiazolidinas também são bioisómeras das imidazolidinas que possuem comprovada atividade esquistossomicida (OLIVEIRA et al., 2004; ALBUQUERQUE et al., 2005; PITTA et al., 2006; SILVA et al., 2012). Nos trabalhos de Pitta e colaboradores (2006) o composto imidazolidínico PT-05 (1-benzil-4-[(4-clorofenil)-hidrazono]-5-tioxi-imidazolidin-2-ona) foi capaz de causar 100% de mortalidade na maior dose testada após um período de 24h, assim como evidenciado nos nossos resultados (LqLT-51).

CONCLUSÕES

Os compostos testados não apresentaram significativa atividade cercaricida. Dentre os derivados indólicos-tiazolidínicos testados, o composto LqIT-LT51, apresentou melhor resultado podendo ser apontado como promissor nos estudos para o tratamento da esquistossomose mansônica.

AGRADECIMENTOS

A autora agradece a PROPESQ, CNPq, LIKA – UFPE e a Professora Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Alburqueque pelo apoio e orientação para realização das pesquisas.

REFERÊNCIAS

- Badr, S.G.E., Pica-Mattoccia, L., Moroni, R., Angelico, M., Cioli, D. Effect of bile salts on oviposition *in vitro* by *Schistosoma mansoni*. Parasitology Research. 85: 421-423. 1999
- Barth, L.R., Fernandes, A.P.M., Ribeiro-Paes, J.T., Rodrigues, V. Effects of Goyazensolide during *in vitro* cultivation of *Schistosoma mansoni*. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. 92: 427-429. 1996
- Boissier, J.; Cosledan, F.; Robert, A.; Meunier, B. In Vitro Activities of Trioxaquines against *Schistosoma mansoni*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 53, n. 11, p. 4903–4906, 2009.



GuzeL, O.; Karali, N.; Salman, A. Synthesis and antituberculosis activity of 5-methyl/trifluoromethoxy-1H-indole-2,3-dione 3-thiosemicarbazone derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 16, p. 8976-8987, 2008.

Pitta, M.G.R. ET AL. New imidazolidinic bioisosters: potential candidates for antischistosomal drugs. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 101, p. 313-316, 2006