



POTENCIAL TERAPÊUTICO DE *EREMANTHUS ERYTHROPAPPUS*: AVALIAÇÃO DE  
PRODUTOS NATURAIS COMO ALTERNATIVAS CONTRA A ESQUISTOSSOMOSE

Monique Cunha Amaro

Allan Igor Andrade de Siqueira

Ademar Alves da Silva Filho

Josué de Moraes

Universidade de Guarulhos

Guarulhos – SP

2025

## Resumo

A esquistossomose é uma doença negligenciada que afeta milhões de pessoas em regiões tropicais e subtropicais, sendo tratada majoritariamente com praziquantel (PZQ), cuja eficácia apresenta limitações e risco de resistência. Nesse contexto, a biodiversidade brasileira oferece oportunidades promissoras para a descoberta de novos agentes antiparasitários. Este estudo avaliou o potencial anti-helmíntico do extrato lavado (LEE) e do extrato etanólico (EEE) de *Eremanthus erythropappus*, bem como de compostos isolados, utilizando ensaios *in vitro* e *in vivo* contra *Schistosoma mansoni*. Em testes *in vitro*, o LEE induziu mortalidade total dos vermes adultos em 24 h a 200 µg/mL e em 72 h a 25 µg/mL, com EC<sub>50</sub> de 18,1 µg/mL, alta seletividade (SI > 27,6) e ausência de citotoxicidade em células de mamíferos (CC<sub>50</sub> > 500 µM). O EEE apresentou atividade apenas na concentração máxima testada. Dentre os compostos isolados, o ácido betulínico demonstrou atividade significativa (EC<sub>50</sub> = 36,8 µM; SI > 15,5) sem citotoxicidade. Em modelo murino, o LEE (400 mg/kg) reduziu a carga de vermes em 86,2%, a deposição de ovos imaturos em 86,9% e ovos maduros em 33,3%, com redução de 80,9% no número de ovos por grama de fezes. O ácido betulínico promoveu redução de 41,9% na carga de vermes, comparável à do praziquantel (92,6%). Os resultados indicam que o LEE de *E. erythropappus* possui notável potencial terapêutico contra a esquistossomose, sendo um candidato promissor para o desenvolvimento de novas estratégias de tratamento.

**Palavras-chave:** *Schistosoma mansoni*, anti-helmíntico, *Eremanthus erythropappus*.

## Abstract

Schistosomiasis is a neglected disease affecting millions of people in tropical and subtropical regions, primarily treated with praziquantel (PZQ), whose efficacy is limited and associated with the risk of resistance. In this context, Brazilian biodiversity offers promising opportunities for the discovery of new antiparasitic agents. This study evaluated the anthelmintic potential of the rinsed extract (LEE) and the ethanolic extract (EEE) of *Eremanthus erythropappus*, as well as isolated compounds, using *in vitro* and *in vivo* assays against *Schistosoma mansoni*. In *in vitro* assays, LEE induced total mortality of adult worms within 24 h at 200 µg/mL and within 72 h at 25 µg/mL, with an EC<sub>50</sub> of 18,1 µg/mL, high selectivity (SI > 27,6), and no cytotoxicity in mammalian cells (CC<sub>50</sub> > 500 µM). EEE showed activity only at the highest tested concentration. Among the isolated compounds, betulinic acid exhibited significant activity (EC<sub>50</sub> = 36,8 µM; SI > 15,5) without cytotoxicity. In a murine model, LEE (400 mg/kg) reduced worm burden by 86,2%, immature egg deposition by 86,9%, and mature eggs by 33,3%, with an 80,9% reduction in eggs per gram of feces. Betulinic acid reduced worm burden by 41,9%, comparable to PZQ (92,6%). These results indicate that LEE from *E. erythropappus* possesses remarkable therapeutic potential against schistosomiasis, representing a promising candidate for the development of novel treatment strategies.

**Keywords:** *Schistosoma mansoni*, anthelmintic, *Eremanthus erythropappus*.

## 1. Introdução

A esquistossomose é uma doença parasitária de ampla distribuição, acometendo mais de 250 milhões de pessoas em cerca de 70 países, o que a torna um importante desafio de saúde pública, especialmente nas regiões tropicais e subtropicais. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estabeleceu como meta audaciosa o combate às doenças negligenciadas até 2030, enfatizando a urgência de investigar novos agentes anti-helmínticos para controlar e, eventualmente, erradicar essas preocupações de saúde pública (Lago et al., 2018; WHO, 2021).

Atualmente, o tratamento da esquistossomose depende exclusivamente do praziquantel (PZQ), medicamento eficaz, porém com preocupações sobre o desenvolvimento de resistência do parasita em algumas áreas geográficas. Além disso, taxas insatisfatórias de cura foram relatadas em várias localidades, enfatizando a necessidade premente de explorar abordagens alternativas na pesquisa de novos agentes terapêuticos (Mengarda et al., 2022; Ferreira et al., 2022).

Diante desse cenário desafiador, torna-se imperativo buscar terapias alternativas para o tratamento e controle da esquistossomose. Nesse contexto, a exploração do potencial terapêutico de extratos naturais surge como uma estratégia promissora. A bioprospecção tem se concentrado principalmente em plantas medicinais, pois oferecem uma ampla variedade de moléculas e têm se mostrado fontes confiáveis de agentes quimioterápicos, incluindo possíveis medicamentos anti-helmínticos (Mengarda et al., 2020). O uso de produtos naturais no desenvolvimento de fármacos tem se mostrado uma estratégia promissora, devido à imensidão de estruturas moleculares e combinações químicas presentes na natureza, que aumentam as chances de identificar compostos com atividades biológicas específicas (Newman e Cragg, 2020; Moraes e Ghilardi Lago, 2022).

Nesse contexto, o *Eremanthus erythropappus* DC. MacLeish (Asteraceae), popularmente conhecida como "candeia" ou "candeia-da-serra", destaca-se por suas propriedades terapêuticas reconhecidas, incluindo atividade antibacteriana, anti-inflamatória, antiflogística e cicatrizante. Extratos etanólicos e óleos essenciais da espécie têm demonstrado ampla atividade farmacológica, incluindo efeitos

antiparasitários, atividade anti-leishmania e baixa citotoxicidade para células de mamíferos. Essas características indicam que *E. erythropappus* constitui uma fonte promissora para o desenvolvimento de novos agentes antiesquistossomóticos, oferecendo alternativas terapêuticas frente às limitações do tratamento convencional (Silvério, M. et al., 2013; Almeida, L. M. S. et al., 2012).

## **2. Objetivos**

Este estudo busca avaliar o potencial antiesquistossomótico de extratos e compostos isolados de *E. erythropappus*, investigando ainda, a sua viabilidade como possível candidato para o desenvolvimento de novos fármacos destinados ao tratamento da esquistossomose. Diante disso, adotando uma abordagem multidisciplinar que engloba testes *in vitro* e estudos *in vivo* contra *S. mansoni*.

## **3. Metodologia**

As partes aéreas de *E. erythropappus* foram coletadas em agosto de 2022 na Faculdade de Farmácia da UFJF, em Juiz de Fora, MG, Brasil. Um espécime voucher foi devidamente identificado e depositado no herbário Leopoldo Krieger da UFJF sob o número CESJ 25363.

Para manter o ciclo de vida do parasita, foram criados e mantidos caramujos do gênero *Biomphalaria*, juntamente com camundongos da linhagem Swiss, em condições rigorosamente controladas no Núcleo de Pesquisa em Doenças Negligenciadas (NPDN) Universidade de Guarulhos, SP, Brasil. Isso seguiu as regulamentações estabelecidas pela legislação brasileira [Lei 11790/2008] (Mengarda et al., 2020).

Os camundongos, essenciais para este estudo, foram previamente infectados por via subcutânea com aproximadamente 80 cercárias, a forma jovem do parasita, tornando-se modelos ideais tanto para os experimentos *in vitro* e *in vivo*.

Nas análises *in vitro*, os vermes adultos foram coletados 49 dias após a infecção, por meio de perfusão dos animais infectados. Posteriormente, alocados em placas de 24 poços, dispostos em casal (um macho e uma fêmea), onde previamente continha meio RPMI 1640, tamponado com HEPES 25 mM, antibióticos (estreptomicina e penicilina) e suplementado com 10% de soro fetal bovino. Em seguida, os parasitas foram submetidos a diferentes concentrações dos extratos de *E. Erythropappus* (LEE, EEE) ou de seus compostos isolados e incubados a 37 °C com 5% de CO<sub>2</sub>. A motilidade dos parasitas foi observada diariamente após 24, 48 e 72 horas com um microscópio BEL Engineering, considerando um verme morto se permanecesse imóvel por 2 minutos após estimulação (Moraes, 2014).

Em análises *in vivo*, os camundongos previamente infectados com *S. mansoni*, receberam por meio de administração oral os seguintes tratamentos: LEE e ácido betulínico, na dose única de 400 mg/kg para fins de tratamento, o PZQ (400 mg/kg) foi utilizado como controle positivo e animais sem tratamento, utilizados como controle negativo. Todos os grupos experimentais de animais foram sacrificados no 63º dia após a infecção, e os vermes foram adquiridos por perfusão mesentérica. A eficácia terapêutica foi avaliada por métodos qualitativos e quantitativos por meio de oogramas e do método de Kato-Katz (Silva et al., 2017).

A citotoxicidade em células Vero foi analisada utilizando o ensaio MTT. Para isso, 2 × 10<sup>3</sup> células por poço foram tratadas com os extratos (LEE, EEE) ou com os compostos isolados (friedelina, ácido betulínico, acacetina) por 72 horas, em incubadora a 37 °C com 5% de CO<sub>2</sub>. O índice de seletividade (IS) foi obtido pela razão entre a concentração capaz de induzir citotoxicidade em 50% das células (CC<sub>50</sub>) e a concentração efetiva de 50% nos esquistossomos adultos (EC<sub>50</sub>) (De Brito et al., 2017).

Todos os dados foram processados no GraphPad Prism 8.0. Os valores de EC<sub>50</sub> foram obtidos a partir de curvas dose-resposta com intervalo de confiança de 95%. Para comparar os grupos, foi aplicado o teste de Kruskal–Wallis, considerando P < 0,05 como significativo (Xavier et al., 2020).

## 4. Desenvolvimento

### a. Revisão da literatura

A esquistossomose, uma das doenças tropicais negligenciadas mais prevalentes, é causada por parasitas do gênero *Schistosoma*. Essa doença parasitária afeta milhões de pessoas em regiões tropicais e subtropicais, especialmente na África Subsaariana, América do Sul e Sudeste Asiático (Colley et al., 2014). A transmissão ocorre através de caramujos de água doce infectados, onde as formas larvares do parasita são liberadas na água e podem penetrar na pele humana durante atividades como banhos e atividades agrícolas (Lago et al., 2018).

O ciclo da esquistossomose começa quando os ovos do parasita são eliminados nas fezes ou na urina do hospedeiro humano infectado. Esses ovos entram em corpos d'água doce, onde eclodem, liberando larvas conhecidas como miracídeos. Essas larvas buscam ativamente caramujos de água doce, que servem como hospedeiros intermediários. Dentro dos caramujos, o parasita passa por um processo de transformação, dando origem as cercárias. As cercárias são liberadas pelos caramujos na água e são capazes de penetrar na pele humana durante atividades como banho ou lazer. Uma vez dentro do hospedeiro humano, as cercárias migram através da corrente sanguínea até alcançar os vasos sanguíneos do fígado, onde amadurecem em vermes adultos (Gryseels et al., 2006). Os vermes adultos, que são hermafroditas, vivem nos vasos sanguíneos do fígado e do trato urinário. Eles se acasalam e produzem ovos, que são eliminados no ambiente através das fezes ou da urina do hospedeiro humano, completando o ciclo (Colley et al., 2014). A compreensão detalhada desse complexo ciclo de vida da esquistossomose é fundamental para o desenvolvimento de estratégias de controle e tratamento eficazes contra essa doença parasitária.

O tratamento padrão para a esquistossomose é o praziquantel, que é eficaz na eliminação do parasita. No entanto, existem preocupações sobre a resistência do parasita a esse medicamento em algumas áreas. Além disso, o mesmo não oferece proteção contra a reinfeção, tornando necessárias estratégias adicionais de controle, como saneamento básico e controle de caramujos (WHO, 2021).

A pesquisa em esquistossomose continua a ser um campo ativo, com estudos explorando novas abordagens terapêuticas, estratégias de controle e métodos de diagnóstico. Avanços recentes incluem o desenvolvimento de vacinas experimentais e a busca por alvos terapêuticos alternativos (Lago et al., 2018).

#### **b. Extração e caracterização dos compostos**

A extração dos extratos de *E. erythropappus* (LEE, EEE) ou de seus compostos isolados, é um processo crucial na busca por novos agentes terapêuticos, especialmente contra doenças parasitárias, como a esquistossomose. Tem demonstrado potencial na pesquisa de compostos com propriedades anti-helmínticas. O processo de extração envolve diversas etapas, com a escolha das técnicas específicas dependendo do composto de interesse e dos objetivos da pesquisa. É importante ressaltar que a extração requer cuidados quanto à escolha dos solventes e das técnicas adequadas para garantir a eficiência na obtenção dos compostos desejados. Além disso, os compostos extraídos podem ser sujeitos a análises rigorosas para garantir sua identificação e pureza.

#### **c. Análises *in vitro***

A coleta de dados *in vitro*, por meio da exposição dos vermes adultos de *S. mansoni* foram coletados de camundongos previamente infectados, subsequentemente foram expostos a diferentes concentrações de extratos de *E. erythropappus* (LEE, EEE) ou de seus compostos isolados e PZQ em meio RPMI 1640 suplementado com soro fetal bovino, e os antibióticos penicilina e estreptomicina. Alocados e dispostos em casais, em placas de 24 poços, os compostos foram solubilizados em 0,5% de DMSO. Cada concentração foi testada em triplicata e os experimentos foram repetidos três vezes.

A observação ao longo de 24, 48 e 72 horas proporcionou informações valiosas sobre a rapidez e a eficácia da ação do composto. A microscopia utilizada para monitorar os vermes permitiu a avaliação de possíveis danos morfológicos e

comportamentais, considerando um verme morto se permanecesse imóvel por 2 minutos após estimulação (Moraes, 2014).

#### **d. Análises *in vivo***

Os experimentos *in vivo*, utilizando camundongos como modelos, desempenham um papel crucial na simulação das condições reais de infecção por *S. mansoni*. A administração oral única dos tratamentos permite uma avaliação da eficácia terapêutica dessas substâncias em um ambiente biológico complexo. A análise qualitativa e quantitativa por meio de oogramas e do método de Kato-Katz é de suma importância para determinar a redução na carga parasitária e fornecer dados sólidos sobre o potencial dos compostos no tratamento da esquistossomose.

#### **e. Ensaio de citotoxicidade**

A avaliação da citotoxicidade é essencial para determinar a segurança e a seletividade de novos candidatos terapêuticos. Esse ensaio permite verificar possíveis efeitos tóxicos dos extratos ou compostos isolados em células Vero, fornecendo parâmetros para o cálculo do índice de seletividade e auxiliando na distinção entre a atividade antiparasitária e efeitos inespecíficos. Dessa forma, os testes de citotoxicidade constituem etapa indispensável para a validação do potencial farmacológico das substâncias em estudo.

#### **f. Análises estatísticas**

A aplicação de análises estatísticas adequadas é fundamental para garantir a confiabilidade e a robustez dos dados obtidos. Por meio dessas ferramentas, é possível calcular parâmetros como valores de  $EC_{50}$  e  $CC_{50}$ , bem como comparar grupos experimentais de forma consistente. Assim, as análises estatísticas asseguram que as conclusões acerca da atividade biológica e da segurança dos compostos sejam sustentadas por evidências sólidas.

## 5. Considerações Finais

Este estudo evidencia o significativo potencial terapêutico do LEE de *E. erythropappus* no combate ao *S. mansoni*. *In vitro*, o LEE promoveu mortalidade total dos vermes adultos em 24 h a 200 µg/mL e em 72 h a 25 µg/mL, com EC<sub>50</sub> de 18,1 µg/mL, alta seletividade (SI > 27,6) e ausência de citotoxicidade em células de mamíferos (CC<sub>50</sub> > 500 µM). Por outro lado, o EEE promoveu letalidade apenas em 200 µg/ml. Dentre os compostos isolados, o ácido betulínico apresentou atividade significativa (EC<sub>50</sub> = 36,8 µM; SI > 15,5), sem apresentar citotoxicidade em células de mamíferos (CC<sub>50</sub> > 500 µM). Em experimentos *in vivo*, LEE (400 mg/kg) reduziu a carga de vermes em 86,2% e a deposição de ovos imaturos em até 86,9% e diminuição de 33,3% de ovos maduros, o OPG apresentou redução de 80,9% no número de ovos por grama de fezes em relação ao grupo controle. Enquanto o ácido betulínico alcançou redução de 41,9% da carga de vermes, comparável ao PZQ, que reduziu 92,6%. Embora seja necessário aprofundar estudos sobre mecanismos de ação e potenciais interações sinérgicas dos compostos, os resultados obtidos destacam o LEE como um candidato promissor para o desenvolvimento de novas terapias contra a esquistossomose, sem a presença de citotoxicidade relevante em células de mamíferos.

## Referências Bibliográficas

ALMEIDA, L. M. S. et al. *In vitro* evaluation of the schistosomicidal potential of *Eremanthus erythropappus* (DC) McLeisch (Asteraceae) extracts. *Natural product research*, England, v. 26, n. 22, p. 2137-2143, 4 nov. 2012.

COLLEY, D. G. et al. Human schistosomiasis. *Lancet*, London, v. 383, n. 9936, p. 2253-2264, 1 abr 2014.

DE BRITO, M. R. M et al. Cyclohexene-fused 1,3-oxazines with selective antibacterial and antiparasitic action and low cytotoxic effects. *Toxicology in vitro*, Oxford, v. 44, p. 273-279, 26 jul 2017.

FERREIRA, L. L. G. et al. Approaches to advance drug discovery for neglected tropical diseases. *Drug discovery today*, Oxford, v. 27, n. 8, p. 2278-2287, 7 abr 2022.

GRYSEELS, B. et al. Human schistosomiasis. *Lancet*, London, v. 368, n. 9541, p. 1106-1118, 23 set 2006.

LAGO, E. M. et al. Antischistosomal Agents: State of art and perspectives. *Future medicinal chemistry*, London, v. 10, n. 1, p. 89-120, 13 dez 2018.

MENGARDA, A.C. et al. Antiparasitic activity of pipartine (piperlongumine) in a mouse model of schistosomiasis. *Acta tropica*, Amsterdam, v. 205, p. 105350, 18 jan 2020.

MENGARDA, A.C. et al. Recent trends in praziquantel nanoformulations for helminthiasis treatment. *Expert opinion on drug delivery*, London, v. 19, n. 4, p. 383-393, 14 mar 2022.

MORAES, J. et al. Phytol, a diterpene alcohol from chlorophyll, as a drug against neglected tropical disease *Schistosoma mansoni*. *PLoS neglected tropical diseases*, San Francisco, v. 8, n. 1, p. e2617, 2 jan 2014.

MORAES, J.; LAGO, J. H. G. Natural products as lead compounds for treatment of neglected tropical diseases: dream or reality?. *Future medicinal chemistry*, London, v. 14, n. 22, p. 1607-1609, 1 nov 2022.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of natural products*, United States, v. 83, n. 3, p. 770-803, 12 mar 2020.

SILVA, M.P. et al. Antiparasitic activity of nerolidol in a mouse model of schistosomiasis. *International journal of antimicrobial agents*, Amsterdam, v. 50, n. 3, p. 467-472, 27 jun 2017.

SILVÉRIO, M. et al. Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils of *Eremanthus erythropappus* (DC) McLeisch (Asteraceae). *Molecules*, Basel, v. 16, n. 8, p. 9785-9796, 16 aug 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. A road map for neglected tropical diseases 2021–2030. WHO 2021. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240010352>.

XAVIER, R.P. et al. H1-antihistamines as antischistosomal drugs: *in vitro* and *in vivo* studies. *Parasites & vectors*, London, v. 13, n. 1, p. 278, 1 jun 2020.

## **Declaração de Originalidade**

Eu, Monique Cunha Amaro, declaro que o trabalho intitulado “Potencial terapêutico de *Eremanthus erythropappus*: avaliação de produtos naturais como alternativas contra a esquistossomose” é original. Confirmando que todos os dados, resultados e conclusões apresentados refletem fielmente os estudos realizados, e que todas as fontes utilizadas foram devidamente citadas e referenciadas.