

---

Pesquisa Acadêmica

## **Avaliação do efeito anti-helmíntico do Cloridrato de Amiodarona em *Schistosoma mansoni***

**Bianca Carlini Silva**

ESTUDANTE DE BIOMEDICINA

NÚCLEO DE PESQUISA EM DOENÇAS NEGLIGENCIADAS, UNIVERSIDADE  
GUARULHOS

[carlinibianca@gmail.com](mailto:carlinibianca@gmail.com)

**Ana Carolina AraujoMengarda**

ESTUDANTE DE MESTRADO

NÚCLEO DE PESQUISA EM DOENÇAS NEGLIGENCIADAS, UNIVERSIDADE  
GUARULHOS

[ana.npdn@gmail.com](mailto:ana.npdn@gmail.com)

**Marcos Paulo da Silva Nascimento**

MESTRE EM CIÊNCIAS

NÚCLEO DE PESQUISA EM DOENÇAS NEGLIGENCIADAS, UNIVERSIDADE  
GUARULHOS

[marcos.npdn@gmail.com](mailto:marcos.npdn@gmail.com)

**Josué de Moraes**

ORIENTADOR

NÚCLEO DE PESQUISA EM DOENÇAS NEGLIGENCIADAS, UNIVERSIDADE  
GUARULHOS

[moraesnpdn@gmail.com](mailto:moraesnpdn@gmail.com)

**UNIVERSIDADE UNIVERSUS VERITAS GUARULHOS (UNIVERITAS UNG)**

## **Avaliação do efeito anti-helmíntico do Cloridrato de Amiodarona em *Schistosoma mansoni***

### **1. RESUMO**

As helmintíases representam um grave problema de Saúde Pública, especialmente a esquistossomose por ser considerada uma doença negligenciada que afeta principalmente as camadas sociais mais pobres, sem condições adequadas de moradia e serviços sanitários. O único fármaco disponível para tratamento é o Praziquantel, e devido a relatos de resistência e tolerância a eficácia do tratamento chegou num ponto crucial. Nesse sentido, uma das alternativas pode estar no reposicionamento de fármacos, ou seja; na busca de um novo uso de fármacos já disponíveis no mercado. Foram realizados ensaios *in vitro* com vermes adultos *Schistosoma mansoni*. Para avaliar o efeito anti-helmíntico foi utilizado o fármaco anti-hipertensivo Cloridrato de Amiodarona. O fármaco causou 100% de mortalidade nos vermes a partir de 24 horas em concentrações de 50  $\mu$ M e 25  $\mu$ M e na concentração de 12,5  $\mu$ M, a mortalidade foi de 100% em 72 horas. Os resultados demonstram que o Cloridrato de Amiodarona pode ser uma alternativa promissora para o tratamento da esquistossomose.

**PALAVRAS- CHAVE:** Esquistossomose; Anti-helmíntico; Anti- hipertensivo.

### **2. INTRODUÇÃO**

A esquistossomose é uma doença parasitária que, para o homem, têm como os principais agentes etiológicos as espécies *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium*, *S. japonicum*, *S. intercalatum* e *S. mekongi* (COLLEY et al., 2014). Esta helmintose é endêmica em mais de 70 países. Estima-se a existência, em todo mundo, de mais de 200 milhões de indivíduos infectados e 800 milhões de pessoas estão expostas ao risco de contrair infecção, é responsável por 280.000 a 500.000 mortes anualmente (STEINMANN et al., 2006). No Brasil, é predominante a espécie *S. mansoni* e está presente em 19 estados. Acredita-se que há, no território nacional, entre 6 e 8 milhões de indivíduos infectados e 26 milhões correm o risco de infecção (AMARAL et al., 2006).

O *S. mansoni* passa por diversas fases e vive em ambientes e hospedeiros diversificados, com uma vasta capacidade de adaptação, multiplicação e resistência. As fases do ciclo biológico do *S. mansoni* possuem dois períodos de vida parasitária: um no hospedeiro

intermediário e outro no hospedeiro definitivo. Entre as fases parasitárias há dois períodos de vida livre em meio aquático: as fases de miracídio que penetram nos tecidos do caramujo e cercaria que são liberadas pelo caramujo na água (GRYSEELS et al., 2006; COLLEY et al., 2014). Resumidamente, o parasita realiza o ciclo assexuado nos moluscos do gênero *Biomphalaria*, enquanto que os espécimes adultos são encontrados nos vasos mesentéricos e no sistema porta de mamíferos.

Os vários aspectos patogênicos observados na esquistossomose mansônica dependem da interação parasito-hospedeiro nas três fases evolutivas e migratórias do verme no hospedeiro definitivo: esquistossômulo, verme adulto e ovo. Não há dúvida que, os ovos e a reação granulomatosa que os envolvem são os principais fatores que causam morbidade (WYNN et al., 2004; WILSON et al., 2007).

Atualmente a quimioterapia é a forma mais eficaz no controle da esquistossomose. Existe apenas um fármaco utilizado no controle da esquistossomose: O praziquantel. Porém, além de não atuar nas formas jovens do parasita, existem preocupações quanto à resistência ao fármaco podendo causar tolerância ao mesmo. (FENWICK E WEBSTER, 2006; CIOLI et al., 2014). Além disso, o desenvolvimento de novos fármacos é custoso e pode demorar muitos anos para atingir o mercado. Por ser considerada uma doença negligenciada ou seja “doença da pobreza”, afeta as camadas sociais mais pobres e acaba sofrendo com o descaso da indústria farmacêutica no desenvolvimento de novos fármacos; por se tratar de uma população de baixa renda acaba tendo insuficientes opções terapêuticas (MORAES, 2017).

Considerando os problemas citados justificam a pesquisa de novas moléculas para tratamento e profilaxia da esquistossomose, e uma das alternativas pode estar no reposicionamento ou redefinição de fármacos, que consiste na busca de um novo uso de fármacos já disponíveis no mercado. Estudos recentes do nosso grupo indicaram o efeito anti-helmíntico do anti-inflamatório não esteroidal diclofenaco de sódio (CARVALHO et al., 2014). Partindo de estruturas cristalográficas e usando técnicas de bioinformática notamos que existe similaridade estrutural de aproximadamente 70% entre os fármacos praziquantel e diclofenaco, apesar de pertencerem a classes químicas diferentes. A similaridade entre essas moléculas também foi calculada levando em conta o potencial eletrostático e o raio de Van der Waals. Com base nisso, nosso grupo iniciou estudos *in silico* de triagem virtual baseada em ligantes; um dos fármacos selecionados foi a doxazosina, um alfa bloqueador usado para

tratar hipertensão arterial. Assim, o presente trabalho avaliou o efeito antiparasitário do anti-hipertensivo Cloridrato de Amiodarona em *S. mansoni*.

### 3. OBJETIVO

Avaliar o efeito *in vitro* do fármaco anti-hipertensivo Cloridrato de Amiodarona em vermes adultos de *Schistosoma mansoni*

### 4. METODOLOGIA

Os ensaios *in vitro* com adultos de *S. mansoni* foram realizados com machos e fêmeas acasalados, cedidos pelo Instituto Adolfo Lutz. Pares de vermes foram lavados 2 vezes com meio RPMI 1640 contendo penicilina 200 U/ml, estreptomicina 200 µg/ml. Posteriormente, os parasitas acasalados foram transferidos em placas para cultura de células com 24 poços contendo, por poço, 1 casal de vermes em 2 ml do meio RPMI 1640 conforme citado acima, porém complementado com 10% de soro fetal bovino e tamponado com HEPES 25 mM. Inicialmente, na etapa de triagem, os vermes foram incubados com o composto na concentração de 50 µM. Posteriormente, as amostras ativas serão avaliadas usando diferentes concentrações (25 µM, 12,5 µM, 6,25 µM, 3,125 µM e 1,562 µM) e a concentração letal 50% (CL<sub>50</sub>) será calculada de acordo com os estudos prévios do nosso grupo (CARVALHO et al., 2014; de Moraes et al., 2015). Em todos os casos, praziquantel 3 µM foi utilizado como controle positivo e poços contendo somente meio de cultura que foram usados como controle negativo (MORAES, 2012).

As culturas de vermes adultos foram monitoradas por microscopia ou lupa. Para avaliar a toxicidade dos compostos sobre o *S. mansoni* foram analisados os seguintes parâmetros: atividade motora (motilidade), alterações morfológicas no tegumento e a capacidade reprodutiva (MORAES, 2012). A mortalidade dos vermes foi avaliada pela ausência de movimentos durante 2 minutos ou quando tocados com uma pinça (MORAES, 2012). Após o término do período de incubação (3 dias) ou ocorrência de morte.

## 5. RESULTADOS PARCIAIS

O fármaco, Cloridrato de Amiodarona, nos ensaios *in vitro* foi submetido a uma concentração de 50  $\mu\text{M}$  por um período de 4 dias. Causou 100% de mortalidade nos vermes a partir de 24 horas em concentrações de 50  $\mu\text{M}$  e 25  $\mu\text{M}$ . Na concentração de 12,5  $\mu\text{M}$ , a mortalidade foi de 100% em 72 horas, como descrito na **Tabela 1**.

**Tabela 1.** Efeito *in vitro* do fármaco em vermes adultos de *S. mansoni*.

| Grupo               | Período de incubação (h) | Mortalidade dos vermes (%) <sup>a</sup> |     | Redução da atividade motora (%) <sup>a</sup> |     |              |     |
|---------------------|--------------------------|-----------------------------------------|-----|----------------------------------------------|-----|--------------|-----|
|                     |                          |                                         |     | Leve                                         |     | Significante |     |
|                     |                          | M                                       | F   | M                                            | F   | M            | F   |
| <b>Controle</b>     | Imediato                 | 0                                       | 0   | 0                                            | 0   | 0            | 0   |
|                     | 24                       | 0                                       | 0   | 0                                            | 0   | 0            | 0   |
|                     | 48                       | 0                                       | 0   | 0                                            | 0   | 0            | 0   |
|                     | 72                       | 0                                       | 0   | 0                                            | 0   | 0            | 0   |
| <b>0.5% DMSO</b>    | Imediato                 | 0                                       | 0   | 0                                            | 0   | 0            | 0   |
|                     | 24                       | 0                                       | 0   | 0                                            | 0   | 0            | 0   |
|                     | 48                       | 0                                       | 0   | 0                                            | 0   | 0            | 0   |
|                     | 72                       | 0                                       | 0   | 0                                            | 0   | 0            | 0   |
| <b>Praziquantel</b> | Imediato                 | 100                                     | 100 | 0                                            | 0   | 100          | 100 |
|                     | 24                       | 100                                     | 100 | 0                                            | 0   | 100          | 100 |
|                     | 48                       | 100                                     | 100 | 0                                            | 0   | 100          | 100 |
|                     | 72                       | 100                                     | 100 | 0                                            | 0   | 100          | 100 |
| <b>Amiodarona</b>   | Imediato                 | 0                                       | 0   | 0                                            | 0   | 0            | 0   |
|                     | 24                       | 100                                     | 100 | 0                                            | 100 | 0            | 0   |
|                     | 48                       | 100                                     | 100 | 0                                            | 100 | 0            | 0   |
|                     | 72                       | 100                                     | 100 | 0                                            | 100 | 100          | 100 |
| <b>Amiodarona</b>   | Imediato                 | 0                                       | 0   | 0                                            | 0   | 0            | 0   |
|                     | 24                       | 100                                     | 100 | 0                                            | 100 | 0            | 0   |

|                   |          |     |     |   |     |     |     |
|-------------------|----------|-----|-----|---|-----|-----|-----|
| <b>25 µM</b>      | 48       | 100 | 100 | 0 | 100 | 60  | 0   |
|                   | 72       | 100 | 100 | 0 | 100 | 100 | 0   |
| <b>Amiodarona</b> | Imediato | 0   | 0   | 0 | 0   | 0   | 0   |
|                   | 24       | 30  | 30  | 0 | 100 | 30  | 30  |
| <b>12,5 µM</b>    | 48       | 60  | 30  | 0 | 100 | 60  | 100 |
|                   | 72       | 100 | 100 | 0 | 100 | 100 | 100 |

\*M- Macho

\*F- Fêmea

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conforme mencionado, a esquistossomose é um grave problema de saúde pública, onde o tratamento se baseia em um único fármaco o Praziquantel. O objetivo do presente projeto foi avaliar a atividade anti-helmíntica do anti-hipertensivo Cloridrato de Amiodarona. Foi obtido um resultado positivo com alta taxa de mortalidade nas concentrações avaliadas. Ademais, serão necessários estudos posteriores como ensaios *in vivo* e análise morfológica do parasita.

## 7. AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com o apoio financeiro da Fundação de Amparo à pesquisa Estado de São Paulo (FAPESP), Bianca Carlini Silva recebeu bolsa de Iniciação Científica (PIBIC- UNG). Ana C. Mengarda é bolsista de Mestrado da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Marcos P. Nascimento foi bolsista de Mestrado da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Josué de Moraes é bolsista Produtividade em Pesquisa do Conselho Nacional de Desenvolvimento e Tecnológico (CNPq). Josué de Moraes é bolsista Produtividade em Pesquisa do Conselho Nacional de Desenvolvimento e Tecnológico (CNPq)

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL,R.S.; TAUIL, P. L.; LIMA, D. D.; ENGELS, D. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 101, p. 79-85, 2006.

CARVALHO, A. L. A.;MAFUD, A. C.;PINTO, P. L. S.;YVONNE P. MASCARENHAS, Y. P.; MORAES, J.**Schistosomicidal effect of the anti-inflammatory drug diclofenac and its structural correlation with praziquantel**. Int. J. Antimicrob. Agents, In Press, 2014.

CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA. L.; BASSO, A.; GUIDI, A.**Schistosomiasis control: praziquantel forever?**Mol. Biochem. Parasitol.,v. 195, p. 23-29, 2014.

COLLEY, D. G.; BUSTINDUY, A. L.; SECOR, W. E.; KING, C. H. **Human schistosomiasis**. Lancet, v. 383, p. 2253-2264, 2014

DE MORAES, J. **Natural products with antischistosomal activity**. Future Med Chem., v. 7, p. 801-820, 2015.

FENWICH, A.; WEBSTER, J. P. **Schistosomiasis:challenges for control, treatment, and drug resistance**. Curr. Opin. Infect. Dis., v. 19, p. 577-582, 2006.

GRYSEELS,B.; POLMAN, K.; CLERINX, J.; KESTENS, L.**Human schistosomiasis**.Lancet, v. 368, p. 1106-1118, 2006.

MORAES, J. **Doenças Negligenciadas: um problema socioeconômico**.Rev Saude. v. 10, p.5-6, 2017.

MORAES, J. **Antischistosomal natural compounds: present challenges for new drug screens**. In: Rodriguez-Morales, A J. ed. Current Topics in Tropical Medicine. InTech. Rijeka: p. 333-358, 2012.

STEINMANN, P.; KEISER, J.; BOS, R.; TANNER, M.; UTZINGER, J.**Schistosomiasis and water resources development: systematic review meta-analisis, and estimates of people at risk**. Lancet Infect. Dis., v. 6, n. 7, p. 411-425, 2006.

---

WILSON, M. S.; MENTINK-KANE, M. M.; PESCE, J. T.; RAMALINGAM, T. R.; THOMPSON, R.; WYNN, T. A. **Immunopathology of schistosomiasis. Immunol. Cell Biol.**, v. 85, p. 148-154, 2007.

WYNN, T.A.; THOMPSON, R.W.; CHEEVER, A. W.; MENTINK-KANE, M. M. **Immunopathogenesis of schistosomiasis. Immunol. Rev.**, v. 201, p. 156-167, 2004.