

Pesquisa Acadêmica

Avaliação do efeito antiparasitário do Fumarato de Rupatadina em vermes adultos de *Schistosoma mansoni*

CRISTIANE SILVA MORAIS

GRADUANDA EM BIOMEDICINA

UNIVERSIDADE GUARULHOS – UNG

Cris.morais_@hotmail.com

DANIEL BRENNEISEN ROQUINI

ESTUDANTE DE MESTRADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM

UNIVERSIDADE GUARULHOS – UNG

Daniel.roquini@outlook.com

MARCOS PAULO NASCIMENTO DA SILVA

MESTRE EM CIÊNCIAS

UNIVERSIDADE GUARULHOS

marcos.npdn@gmail.com

JOSUÉ DE MORAES

ORIENTADOR

UNIVERSIDADE GUARULHOS

moraesnpdn@gmail.com

NÚCLEO DE PESQUISAS EM DOENÇAS NEGLIGENCIADAS -NPDN

UNIVERSIDADE GUARULHOS

Avaliação do efeito antiparasitário do Fumarato de Rupatadina em vermes adultos de *Schistosoma mansoni*

1. RESUMO

As doenças causadas por helmintos representam um importante problema para a saúde pública em diversos países. Dentre essas doenças destaca-se a esquistossomose, onde a falta de saneamento básico adequado contribui para a manutenção do ciclo do parasita. O tratamento da doença é baseado apenas em um fármaco, o praziquantel, e considerando a realidade de resistência do parasita ao medicamento a alternativa considerada mais eficaz para solucionar o problema é a reposição de fármacos. O presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito anti-helmíntico *in vitro* do anti-histamínico Fumarato de Rupatadina em *Schistosoma mansoni*.

PALAVRAS-CHAVE: Antiparasitário; Anti-histamínico; *Schistosoma mansoni*.

2. Introdução

As helmintíases também conhecidas como as "Doenças da Pobreza" são uma das principais doenças ocorridas em áreas onde há falta de saneamento básico, afetando cerca de 1 bilhão de pessoas no mundo e que continuam sendo um dos principais problemas mundiais de saúde pública. Particularmente, considerada uma Doença Negligenciada, a esquistossomose tem afetado mais de 200 milhões de pessoas e causando mais de 200 mil óbitos anualmente. No Brasil, estima-se que cerca de 10 milhões de pessoas estão com a doença e 30 milhões vivem em área de risco. (Amaral, 2006).

Esta doença é causada pelo parasita do gênero *Schistosoma*, sendo que este parasita da espécie *S. mansoni* possui uma biologia muito interessante, pois passa por

diversas fases e vive em hospedeiros e ambientes diversificados, com uma grande capacidade de adaptação, multiplicação e resistência. As fases do ciclo biológico do *S. mansoni* compreendem 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 e cercária (Gryseels et al., 2006; Colley et al., 2014).

Durante as duas últimas décadas o fármaco anti-helmíntico praziquantel que é utilizado no tratamento de esquistossomose (*Schistosoma mansoni*, *S. japonicum*, *S. mekongi*, *S. haematobium*, *S. guineenses*), e a cisticercose, *Taenia solium*, *Hymenolepis nanis*, fasciolíase, mas o grande foco é o controle da esquistossomose, porém em decorrência de um possível desenvolvimento de tolerância ou resistência ao fármaco, busca-se a pesquisa e produção de novas drogas para prevenção e cura da esquistossomose e outras verminoses.

A Rupatadina é um anti-histamínico (antialérgico) que age promovendo o alívio dos sintomas associados à rinite alérgica (inflamação da mucosa nasal de natureza alérgica) e tratamento da urticária crônica idiopática (de causa desconhecida) (García-Rafanell J, 1996)...

Por se tratar de uma enfermidade que ocorre em sua maioria na população pobre, há um desinteresse por parte da indústria farmacêutica em produzir antiparasitários que possam ser eficazes nos tratamentos dessas doenças.

Nesse sentido, uma das alternativas pode estar no “reposicionamento de fármacos” ou “redefinição de fármacos”. Esta abordagem consiste, basicamente, na busca por um novo uso de fármacos já aprovados e disponíveis no mercado. Os nossos estudos buscam mostrar a eficácia do fármaco através de experimentos *in vitro* envolvendo a fase adulta do verme.

3. Objetivo

- Avaliar o efeito antiparasitário *in vitro* do anti-histamínico Fumarato de Rupatadina em *Schistosoma mansoni*.
- Avaliar DL 50 do Fumarato de Rupatadina.

4. Metodologia

Adultos de *S. mansoni* (linhagem BH) foram obtidos a partir de hamsters (*Mesocricetus auratus*) experimentalmente infectados. Após 49 dias de infecção, os parasitas retirados por perfusão portal foram colocados em meio de cultura RPMI1640 suplementado com 10% de soro fetal de bovino, contendo 200 UI/mL de penicilina e 200 µg/ml de estreptomicina mantidos a 37 °C, 5% de CO₂, até utilização (de Moraes et al., 2014).

Nos experimentos, os pares de vermes acasalados foram transferidos em placas para cultura de células com 24 poços contendo, por poço, 1 casal de vermes em 1 mL do meio RPMI1640. A concentração de 50 µM foi usada para avaliar o efeito do fármaco Fumarato de Rupatadina. Praziquantel 2 µM foi utilizado como controle positivo e poços contendo somente meio de cultura foram usados como controle negativo. A cultura de vermes adultos foi monitorada por microscopia considerando a motilidade, alterações tegumentares e a mortalidade dos vermes (Silva et al., 2014; de Moraes et al., 2014).

4.1. Comitê de Ética

Procedimentos envolvendo animais foram realizados de acordo com a legislação brasileira. O protocolo de manutenção do ciclo de vida de *S. mansoni* foi aprovado pelo comitê de ética local em testes em animais.

4.2. Dados do fármaco

Fumarato de Rupatadina

Classe	Anti-histaminico
Biodisponibilidade	25%
DL 50	300 mg/kg; oral
Meia vida	5,9 horas
Massa (g/mol)	415.965g/mol
Log p	5.37

Geração**Segunda**

4.3. Análise microscópica do tegumento

Estudos de microscopia eletrônica de varredura (MEV) também foram realizados. O objetivo deste estudo foi observar se o Fumarato de Rupatadina pode causar alterações morfológicas em esquistossomos adultos. Após o período de monitoramento ou mortalidade dos vermes foram fixados para a análise do tegumento e foram lavados duas vezes em solução salina tamponada com fosfato e fixados em 1 mL de solução de álcool FAA ou FAA - formalina - ácido acético. Os espécimes foram secos ao ar, montados em fita e banhados a ouro utilizando um dispositivo de revestimento por pulverização de mesa II (Denton Vacuum LLC, Moorestown, NJ). As amostras foram então visualizadas usando uma microscopia eletrônica de varredura JSM-6460LV de alta resolução JEOL (JEOL Ltd., Tokyo, Japan) 20 kV.

5. Resultados Parciais

O fármaco, Fumarato de Rupatadina, nos ensaios *in vitro* foram submetidos a uma concentração de 50 μ M por um período de 4 dias. Causou 100% demortalidade nos vermes em um período imediato em concentrações de 50 μ M. Na concentração de 25 μ M, a mortalidade foi de 60% em período imediato, e 100% a partir de 48 horas, e na concentração de 12,5 μ M houve 100% da mortalidade dos vermes 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)	Morte dos vermes (%) ^a		Atividade motora reduzida (%) ^a			
				Leve		Significante	
		M	F	M	F	M	F
Controle	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
0.5% DMSO	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
Praziquantel 2 µM	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
Rupatadina 50 µM	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
Rupatadina 25 µM	Imediato	60	60	0	0	60	60
	24	60	100	0	0	60	100
	48	100	100	0	0	100	100
	72	100	100	0	0	100	100
Rupatadina 12,5 µM	Imediato	0	0	0	0	0	0
	24	30	0	0	0	30	0
	48	30	30	0	0	30	30
	72	100	100	0	0	100	100

6. Considerações finais

O ensaio *in vitro* demonstrou que os vermes incubados com o fármaco Fumarato de Rupatadina apresentou alterações em sua mobilidade e houve aumento na mortalidade de maneira dependente da concentração.

Imagens de microscopia eletrônica de varredura indicaram que a estrutura tegumentar estava alterada tanto em machos quanto em fêmeas de *S. mansoni* e intensificou-se progressivamente quando a concentração de cinarizina aumentou.

Esses resultados indicam que a Rupatadina poderia ser um tratamento potencial para a doença, isoladamente ou em combinação com o praziquantel, e torná-lo promissor para o

reposicionamento de farmacos juntamnte com outros fármacos de mesm classe que ja estão em fase de análise.

7. Agradecimentos

Este trabalho foi realizado com o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Marcos Paulo Nascimento da Silva foi bolsista de Mestrado da coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nivel Superior (CAPES), Daniel Brenneisen Roquini é bolsista de Mestrado da coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nivel Superior (CAPES) e Josué de Moraes é bolsista Produtividade em Pesquisa do CNPq.

8. Fontes consultadas

GARCÍA-RAFANELL J. **Rupatadinefumarate: antiallergic, histamineandPAFantagonista**. 1996. *Drug of the Future*. **21**: 1033-1036.

DE MORAES J; DE OLIVEIRA RN; COSTAJP; JUNIORAL; DE SOUSADP; FREITASRM; ALLEGRETTI SM; PINTO PL. 2014. **Phytol, a diterpene alcohol from chlorophyll, as a drug against neglected tropical disease schistosomiasis mansoni**. *PLoS Negl Trop Dis* **8**: e2617.

SILVA MP; OLIVEIRA GL; DE CARVALHO RB; DE SOUSA DP; FREITAS RM; PINTO PL; DE MORAES J.

2014. **Antischistosomal activity of the terpenenerolidol**. *Molecules* **19**: 3793-803.

SILVA AP; SILVA MP; OLIVEIRA CG; MONTEIRO DC; PINTO PL; MENDONÇA RZ; COSTA JÚNIOR JS; FREITAS RM; DE MORAES J. 2015. **Garcinielliptone FC:**

antiparasitic activity without cytotoxicity to mammalian cells. *ToxicolIn Vitro*29:
681-687