

DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS NANOESTRUTURADOS PARA APLICAÇÃO EM DOENÇAS NEGLIGENCIADAS A PARTIR DA CADEIA INDUSTRIAL DO PIAUÍ.

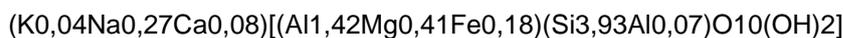
Maria Adelaide Guimarães (bolsista do PIBITI/CNPq), Leiz Maria Costa Veras Miura (colaboradora, UFPI), Josué de Moraes (colaborador, BUTANTAN-SP), Vera Regina Leopoldo Constantino (colaboradora, USP-SP), David Fernandes Lima (colaborador, VEGEFLOA), José Roberto de Souza de Almeida Leite (Orientador, BIOTEC-UFPI)

INTRODUÇÃO: A esquistossomose é uma trematodiose produzida por parasitas do gênero *Schistosoma* e mais de 207 milhões de pessoas estão infectadas em todo o mundo, sendo um dos mais graves problemas de saúde pública no Brasil. O praziquantel, droga de escolha para o tratamento da esquistossomose, é eficaz somente contra as formas adultas de esquistossomo e os esquistossômulos, formas jovens do parasita, apresentam baixa susceptibilidade ao praziquantel que, portanto, não é usado como droga profilática. Com a falta de uma terapia profilática e a ocorrência de resistência ou tolerância a esse fármaco é premente a necessidade de novas alternativas terapêuticas, especialmente com o uso de produtos naturais.

Das folhas do jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*) pode-se extrair substâncias de interesse farmacêutico como a pilocarpina (Pilo) e a epiisopiloturina (Epi), alcalóides imidazólicos. Embora a pilocarpina seja uma das principais substâncias no tratamento da xerostomia, observa-se alguns efeitos secundários como suores tremores e náuseas. Uma estratégia para suplantar essas dificuldades seria imobilizar a pilocarpina em estruturas que possam propiciar a sua liberação de forma sustentada no organismo humano. A epiisopiloturina é um alcalóide já identificado a partir do gênero *Pilocarpus* que possui estrutura química determinada, porém ainda está em fase de testes e ainda não possui aplicação farmacológica conhecida, podendo ser promissor para a medicina humana e veterinária. A similaridade entre as estruturas de Pilo e Epi, torna a Epi um alcalóide promissor quanto as suas propriedades biologicamente ativas. Como há relatos de muitas plantas com ação anti-helmíntica que apresentam compostos ativos com ação direta contra parasitas, além de existirem outros desconhecidos, avaliou-se a ação *in vitro* do alcalóide epiisopiloturina, oriundo do jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), nas formas jovens (esquistossômulos) do parasita *Shistosoma mansoni*. Além disso, foi avaliada a possibilidade de usar nanopartículas inorgânicas biocompatíveis na imobilização das substâncias bioativas pilocarpina e epiisopiloturina.

METODOLOGIA: O alcalóide epi e pilo foram extraídos do jaborandi e o isolamento e purificação do alcalóide foram realizados por meio de RP-RP-HLPC em coluna analítica C₁₈. As cepas de *Schistosoma mansoni* utilizadas foram: BH (Belo Horizonte, MG). Os parasitas foram mantidos em caramujos *Biomphalaria glabrata* (hospedeiro intermediário) e hamsters *Mesocricetus auratus* (hospedeiro definitivo). Os esquistossômulos foram distribuídos em placas para cultura de células com 96 poços, contendo, cerca de 15 parasitas por poço, em meio 169. Após diferentes idades, o sobrenadante foi recolhido e o meio 169 contendo diferentes concentrações de epiisopiloturina em DMSO 0,2% foi adicionado às culturas.

Praziquantel 150 µg/ml foi utilizado como controle positivo e meio de cultura ou meio com DMSO 0,2% foram usados como controle negativo. As culturas foram monitoradas por 5 dias, com o auxílio de um microscópio invertido. O efeito da epiisopiloturina no tegumento de esquistossômulos de *S. mansoni* foi monitorado com microscópio confocal. As partículas inorgânicas escolhidas para estudo são as *argilas de grau farmacêutico*. A argila de grau farmacêutico Veegun HS (Conhecida na farmacopéia como Silicato de Alumínio e Magnésio) possui a composição:



Tal argila foi obtida da R. T. Vanderbilt Co., EUA. Os cátions orgânicos foram intercalados na argila pelo método da troca iônica, utilizando-se excesso de intercalante em relação à capacidade de troca catiônica (CTC) do mineral: Argila-Mn+(s) + n Pilo/Epi+(aq) → Argila-Pilo/Epi)n (s) + Mn+(aq)

Os materiais obtidos foram caracterizados por análise química, difratometria de raios X e espectroscopia vibracional no infravermelho.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: A presença do alcalóide epiisopiloturina nas culturas contendo esquistossômulos causou a morte dos parasitas. A mortalidade de 100% dos esquistossômulos ocorreu com epiisopiloturina 300 µg/ml. Comparativamente aos controles contendo somente meio de cultura ou praziquantel, nas concentrações letais notou-se, ainda, alterações morfológicas em todos os parasitas. Considerando o efeito antiparasitário em esquistossômulos, notam-se diferenças entre as idades dos helmintos. A epiisopiloturina causou a contração nos esquistossômulos, independentemente da idade, previamente ao efeito antiparasitário. Esse encurtamento dos helmintos foi dependente da concentração. Os danos no tegumento foram dependentes da idade dos esquistossômulos e da concentração. A argila Veegun HS possui moléculas de água extrínscas e de intercalação que são liberadas até cerca de 150 °C. A partir de 600 °C, a argila sofre desidroxilação, ocorrendo o colapso de sua estrutura lamelar. Não se observa a presença de matéria orgânica. O espaçamento basal ($d_{001} = 11,6 \text{ \AA}$) da argila farmacêutica VHS é compatível com os cátions contendo uma monocamada de moléculas de água. A intercalação da Pilo aumenta o espaçamento para 15,3 Å. O espaçamento basal ($d_{001} = 11,6 \text{ \AA}$) da argila VHS intercalada com o cátion Epi aumenta para 14,8 Å. Os espectros vibracionais no IV dos materiais intercalados mostram bandas de absorção características das espécies orgânicas.

CONCLUSÃO: A epiisopiloturina foi isolada a partir da biomassa da produção de pilocarpina retirada das folhas do jaborandi. A descoberta de atividade biológica para este novo alcalóide poderá oferecer à cadeia produtiva do jaborandi uma alternativa a produção de um novo farmoquímico, com produção sustentável e com pouco impacto ao meio ambiente, para uso em doença negligenciada como a esquistossomose. O alcalóide demonstrou atividade antiparasitária *in vitro* para esquistossômulos de *S. mansoni*, demonstrada por alterações no tegumento do parasita causando uma ação letal, sugerindo uma possível ação profilática. Os alcalóides protonados extraídos do jaborandi sofrem processo de intercalação na argila

farmacêutica VHS, conforme atestam os dados de análise química e de variação de espaçamento basal encontrado nos difratogramas de raios X.

APOIO: Programa PIBITI/CNPq, Instituto Buatntan, Vegeflora Extrações do Nordeste LTDA e Rede Nanobiomed CAPES/Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

CLERINX, J.; VAN, G.A.; **Schistosomiasis in travellers and migrants**. Travel Medicine and Infectious Disease. V. 9, Issue 1, p. 6-24, 2011.

De MORAES, J.; NASCIMENTO, C.; MIURA, L.M.C.; LEITE, J.R.S.; NAKATO, E.; KAWANO, T. **Evaluation of the in vitro Activity of Dermaseption 01, Cationic Antimicrobial Peptide, Against *Schistosoma mansoni***. Chem. Biodivers. 8 (3): 548-558, 2011.

CUNHA, V. R. R.; FERREIRA, A. M. DA C.; CONSTANTINO, V.; **Hidróxidos duplos lamelares: nanopartículas inorgânicas para armazenamento e liberação de espécies de interesse biológico e terapêutico**. Quim. Nova, Vol. 33, No. 1, 159-171, 2010.

SANTOS, A. P.; MORENO, P. R. H. ***Pilocarpus* spp.: A survey of its chemical constituents and biological activities**. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v.40, n. 2, p. 115 – 137. 2004.

PALAVRAS-CHAVE: Pilocarpina. Epiisopiloturina. Esquistossomose.