

Potencial Terapêutico de Compostos de Hidantoína e Tiohidantoína Contra *Schistosoma Mansoni in Vitro*

Therapeutic Potential of Hydantoin and Thiohydantoin Compounds Against Schistosoma Mansoni in Vitro

Denilson José Nogueira C. Filho¹, Maria Emanuelle de Oliveira Queirós¹, Júlia Conceição Bezerra dos Santos¹, Fábio André Brayner dos Santos², Luiz Carlos Alves², Diego Santa Clara Marques¹, Iranildo José da Cruz Filho¹ e Maria do Carmo Alves de Lima¹

1. Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). 2. Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz.
denilson.nogueira@ufpe.br

Palavras-chave

Citotoxicidade
Doença parasitária
Esquistossomose

Keywords

Cytotoxicity
Parasitic disease
Schistosomiasis

Resumo:

A esquistossomose é uma doença parasitária causada por vermes do gênero *Schistosoma spp.*, sendo o *Schistosoma mansoni* a espécie mais comum nas Américas, principalmente no Brasil. O tratamento atual utiliza o praziquantel (PZQ), que é eficaz, mas há preocupação com a resistência do parasita ao medicamento. Dessa forma, novas pesquisas buscam alternativas, como compostos derivados da hidantoína e tio-hidantoína, que têm mostrado atividades biológicas promissoras. Neste estudo, compostos hidantoínicos e tio-hidantoínicos foram sintetizados e testados quanto à citotoxicidade em células de mamíferos e à eficácia contra vermes adultos de *S. mansoni*. A avaliação *in vitro* mostrou que os compostos de tio-hidantoína foram mais eficazes, especialmente SC04 e SC05, que apresentaram alta taxa de mortalidade dos parasitas e impediram o acasalamento e oviposição. Além disso, esses compostos foram menos tóxicos para as células do que o praziquantel, destacando seu potencial como alternativa para o tratamento da esquistossomose.

Abstract:

Schistosomiasis is a parasitic disease caused by worms of the genus *Schistosoma spp.*, with *Schistosoma mansoni* being the most common species in the Americas, especially in Brazil. Current treatment uses praziquantel (PZQ), which is effective, but there is concern about parasite resistance to the drug. Therefore, new research is seeking alternatives, such as compounds derived from hydantoin and thiohydantoin, which have shown promising biological activities. In this study, hydantoin and thiohydantoin compounds were synthesized and tested for cytotoxicity in mammalian cells and efficacy against adult *S. mansoni* worms. *In vitro* evaluation showed that thiohydantoin compounds were more effective, especially SC04 and SC05, which presented high parasite mortality rates and prevented mating and oviposition. Furthermore, these compounds were less toxic to cells than praziquantel, highlighting their potential as an alternative for the treatment of schistosomiasis.

Artigo recebido em: 08.12.2024.

Aprovado para publicação em: 31.01.2025.

INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma infecção parasitária provocada por vermes do gênero *Schistosoma*. Considerada uma doença tropical negligenciada, a espécie prevalente nas Américas é *Schistosoma mansoni* (Brasil, 2021). No Brasil, a esquistossomose é transmitida em 19 estados, tornando o país o mais afetado das Américas. Cerca de 42,9 milhões de pessoas estão em risco de contrair a doença, com aproximadamente 1,5 milhão já infectadas (Brasil, 2021).

Atualmente, o praziquantel (PZQ) é o único medicamento quimioterápico disponível para o tratamento e controle da esquistossomose, apresentando uma alta taxa de cura e um perfil de segurança confiável (Silva *et al.*, 2023). Contudo, existe uma preocupação significativa na comunidade científica e médica em relação à utilização crônica e exclusiva do praziquantel (PZQ), uma vez que há relatos de cepas de *S. mansoni* desenvolvendo resistência ou baixa sensibilidade ao fármaco (PZQ) (Doenhoff; Pica-Mattoccia, 2006; Pica-Mattoccia *et al.*, 2009). Assim, a pesquisa por novos tratamentos para a esquistossomose tem direcionado a atenção para o núcleo da hidantoína como uma possível opção para a criação de compostos bioativos.

A hidantoína, também conhecida como imidazolidina-2,4-diona, é um heterociclo não aromático de cinco membros, amplamente valorizado na química medicinal devido à sua vasta gama de aplicações clínicas e industriais (Aqeel *et al.*, 2023). Quando um ou mais átomos de oxigênio no anel da hidantoína são substituídos por átomos de enxofre, o composto resultante é chamado de tio-hidantoína (Camargo *et al.*, 2022). Diversos compostos de hidantoína foram sintetizados e demonstraram uma variedade de atividades biológicas, incluindo efeitos antitumorais, propriedades anti-inflamatórias (Lin *et al.*, 2021), atividade antimicrobiana (Su *et al.*, 2017), efeitos tripanocidas contra *Trypanosoma brucei* e *Trypanosoma cruzi* (Pardali *et al.*, 2023), atividade leishmanicida contra *Leishmania amazonensis*, efeitos antimaláricos e efeitos esquistossomicidas. Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia esquistossomicida *in vitro* de compostos hidantoínicos e tio-hidantoínicos, além de determinar sua citotoxicidade em células de mamíferos.

METODOLOGIA

A síntese de compostos Hidantoínicos e Tio-Hidantoínicos seguiu três etapas. Inicialmente, hidantoína, cloreto de 4-clorobenzila e hidróxido de potássio foram dissolvidos em etanol e aquecidos a 78 °C por 2 horas. Em seguida, o produto N-alquilado reagiu com o reagente de Lawesson em 1,4-dioxano a 90 °C. Por último, os compostos N-alquilados interagiram com carboxaldeídos na presença de acetato de sódio e ácido acético a 98 °C. As reações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD).

Os ensaios de citotoxicidade celular foram realizados em macrófagos J774, fibroblastos V79, células HepG2 e células Vero, utilizando o método MTT. As células foram cultivadas em placas de 96 poços com 1×10^5 células por poço em meio RPMI 1640, incubadas a 37°C com 5% de CO₂ por 24 h. Após essa incubação, foram tratadas com compostos tiazólicos em concentrações variadas (400–0,1 µM) por 48 h. O MTT foi adicionado e incubado a 37°C por 2 h, após o que a absorbância a 540 nm foi medida com um espectrofotômetro. Os experimentos foram realizados em triplicata.

A atividade esquistossomicida *in vitro* de compostos hidantoínas (SCs) foi avaliada em vermes adultos de *S. mansoni* recuperados de camundongos. Os vermes foram perfundidos e incubados em placas com meio RPMI 1640, aclimatando-se a 37°C com 5% de CO₂. Compostos SCs foram diluídos em 1% de DMSO, testados em concentrações de 200 a 6,25 µM, com praziquantel a 10 µM como controle. A atividade esquistossomicida foi monitorada em intervalos de 3, 6, 12 e 24 h, avaliando motilidade, oviposição e mortalidade. Os resultados foram analisados em quadruplicata, com a viabilidade dos vermes classificada de 3 (ativa) a 0 (inativa).

A análise estatística dos dados foi conduzida usando o software GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, EUA), e os resultados são apresentados como média ± desvio padrão (DP). Diferenças estatísticas foram determinadas em $p < 0,05$ utilizando a análise de variância unidirecional (ANOVA) e o teste de Tukey para comparações múltiplas post-hoc.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os compostos mostraram uma resposta dose-dependente para a atividade citotóxica. Os compostos de código SC01, SC02 e SC03 apresentaram variação de CC_{50} entre $65,01 \pm 1,9$ e $74,11 \pm 5,1$ μM para macrófagos J774, $67,56 \pm 0,8$ e $85,34 \pm 2,5$ μM para células Vero, $71,21 \pm 0,3$ e $81,45 \pm 1,3$ μM para fibroblastos V79, e $88,11 \pm 1,2$ e $70,85 \pm 1,1$ μM para células HepG2. Outros compostos de 4-tioxo-hidantoína de código (SC04, SC05, SC06 e SC07) apresentaram CC_{50} variando de $49,50 \pm 1,3$ a $74,11 \pm 5,1$ μM para macrófagos J774, $71,13 \pm 2,0$ a $85,34 \pm 2,5$ μM para células Vero, $65,43 \pm 0,9$ a $81,45 \pm 1,3$ μM para fibroblastos V79, e $74,56 \pm 0,9$ a $88,11 \pm 1,2$ μM para células HepG2. O controle positivo, praziquantel (PZQ), apresentou um CC_{50} de $89,65 \pm 0,11$ μM para macrófagos J774, $118,43 \pm 0,55$ μM para células Vero, $140,18 \pm 0,23$ μM para fibroblastos e $156,32 \pm 0,23$ μM para células HepG2.

Nos ensaios de atividade esquistossomicida *in vitro* os compostos de hidantoína SC01, SC02 e SC03, que não contêm enxofre em sua estrutura, mostraram taxas de mortalidade de 87,5% ($14 \pm 2,82$), 62,5% ($10 \pm 2,82$) e 75% ($12 \pm 2,82$), respectivamente, contra vermes adultos de *S. mansoni* em 24 h na dosagem de 200 μM . Esses compostos não afetaram a capacidade de acasalamento dos vermes, e ovos foram encontrados nos experimentos. Os compostos tio-hidantoínas apresentaram maior taxa de mortalidade em comparação com as hidantoínas.

SC06 e SC07 tiveram uma taxa de mortalidade de 81,25% ($13 \pm 2,28$) após 12 horas de exposição, enquanto SC05 atingiu 100% de mortalidade em 12 h. Em 6 h de incubação, SC06 teve uma taxa de mortalidade de 75% ($12 \pm 0,0$), SC07 de 62,5% ($10 \pm 4,24$) e SC05 de 87,5% ($14 \pm 2,28$). SC04, na dose de 50 μM , resultou em 100% de mortalidade ($16 \pm 0,0$) em 24 h. Na concentração de 100 μM , houve uma redução significativa de 81,25% nos movimentos parasitários (escore 0) em 6 horas ($13 \pm 2,28$), atingindo 100% de redução em 12 h ($16 \pm 0,0$). A 50 μM , houve uma redução de 81,25% em 12 h ($13 \pm 2,28$). Além da motilidade, foram avaliados a capacidade de pareamento, adesão à placa de cultura e oviposição. Vermes incubados com compostos de tio-hidantoína a 200 μM não conseguiram acasalar, não aderiram à placa e não apresentaram ovos. Os parasitas em contato com o Praziquantel (PZQ) (controle positivo) não exibiram movimento (escore 0) durante as primeiras 24 h de observação.

CONCLUSÕES

Em termos de citotoxicidade, os compostos mostraram efeitos dose-dependentes com toxicidade moderada, sendo menos tóxicos que o Praziquantel (PZQ). Na avaliação anti-esquistossomótica, os compostos de tio-hidantoína foram mais eficazes contra vermes adultos de *Schistosoma mansoni*, com SC05 atingindo 100% de mortalidade em 12 horas e SC04 reduzindo significativamente a motilidade dos parasitas. Além disso, esses compostos impediram o acasalamento e a oviposição dos parasitas. De modo geral, os compostos de tio-hidantoína, especialmente SC04 e SC05, têm grande potencial como medicamentos anti-esquistossomóticos.

FINANCIAMENTO: Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ).

AGRADECIMENTOS: Ao laboratório de Química e Inovação Terapêutica (LQIT), a FACEPE e a Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

REFERÊNCIAS

- BRASIL. **Esquistossomose**. Ministério da Saúde, 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/e/esquistossomose>>. Acesso em: 17 out. 2021.
- AQEEL, A. W. et al. Novel hydantoin derivatives: Synthesis and biological activity evaluation. **Results in Chemistry**, 6, p. 101118, 2023/12/01/ 2023.
- CAMARGO, P. G. et al. Thiohydantoin and hydantoin derived from amino acids as potent urease inhibitors: Inhibitory activity and ligand-target interactions. **Chemico-Biological Interactions**, 365, p. 110045, 2022/09/25/ 2022.
- DOENHOFF, M.; PICA-MATTOCCIA, L. Praziquantel for the treatment of schistosomiasis: Its use for control in areas with endemic disease and prospects for drug resistance. **Expert review of anti-infective therapy**, 4, p. 199-210, 05/01 2006.
- LIN, X. et al. The indole-hydantoin derivative exhibits anti-inflammatory activity by preventing the transactivation of NF- κ B through the inhibition of NF- κ B p65 phosphorylation at Ser276. **International Immunopharmacology**, 100, p. 108092, 2021/11/01/ 2021.
- PARDALI, V. et al. Novel Lipophilic Hydroxamates Based on Spirocarbocyclic Hydantoin Scaffolds with Potent Anti-viral and Trypanocidal Activity. **Pharmaceuticals** (Basel, Switzerland), v.16, n. 7, p. 1046, DOI: 10.3390/ph16071046. Disponível em:
- PICA-MATTOCCIA, L. et al. Genetic analysis of decreased praziquantel sensitivity in a laboratory strain of *Schistosoma mansoni*. **Acta Tropica**, 111, n. 1, p. 82-85, 2009/07/01/ 2009.
- SILVA, A. D. A. et al. Pharmaceutical Development of Micro and Nanocrystals of a Poorly Water-Soluble Drug: Dissolution Rate Enhancement of Praziquantel. **SSRN Electronic Journal**, 2023.
- SU, M. et al. Membrane-Active Hydantoin Derivatives as Antibiotic Agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, 60, 10/06 2017.

