

QUIMIOTERAPIA EXPERIMENTAL DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI
ATIVIDADE ESQUISTOSSOMICIDA DE FORMAS LATENTES DE
1,4-NAFTILENDIAMINA E NAFTOQUINONA

Andrejus KOROLKOVAS (1) e J. PELLEGRINO (2)

R E S U M O

Trinta naftilazoderivados foram planejados e sintetizados para atuarem potencialmente como pró-fármacos de 1,4-naftilendiamina e naftoquinona, as quais apresentam atividade esquistossomicida *in vitro*. Quatro destes derivados, correspondentes à sulfadiazina, sulfametazina, sulfatiazol e sulfametoxazol, foram ativos em camundongos e cricetos experimentalmente infectados pelo *Schistosoma mansoni*.

I N T R O D U Ç Ã O

Dentre os vários métodos para se obter novas drogas (ARIENS¹, CLARKE³, KOROLKOVAS^{14,15}, PURCELL, BASS & CLAYTON²¹, SCHUELER²², AMERICAN CHEMICAL SOCIETY^{24,25}) sobressai a modificação molecular.

Um dos processos especiais deste método é a latenciação (HARPER⁷, HIGUCHI & STELLA⁸, SINKULA & YALKOWSKY²³). Consiste essencialmente em transformar, através de modificação química, um composto biologicamente ativo em forma de transporte inativa que, após sofrer ataque enzimático ou não enzimático, libera a droga ativa. A forma de transporte recebeu o nome de **pró-fármaco**, pois antes de a droga manifestar efeitos farmacológicos terá de sofrer uma adequada biotransformação. Os meios de obter pró-fármacos ou formas latentes de fármacos são vários (HARPER⁷, HIGUCHI & STELLA⁸, KHO-MYAKOV & col.⁹, KOROLKOVAS^{14,15}, NOTARI¹⁶, SINKULA & YALKOWSKY²³).

Grande parte dos mais de 300.000 compostos químicos já sintetizados e ensaiados co-

mo esquistossomicidas potenciais resultou da modificação molecular de certos protótipos, utilizando-se para isso vários processos, inclusive a latenciação. Por exemplo, os antimoniais, tais como tártaro emético, estibofeno e estibocaptato, nada mais são do que formas latentes do antimônio. A atividade esquistossomicida destes antimoniais deve-se à inibição da fosfofrutoquinase. Isso resulta na inibição da capacidade glicolítica do *Schistosoma mansoni*. Visto que a glicólise é a principal — se não for a exclusiva — fonte de energia para o parasita, a inibição desse processo metabólico pode resultar na morte dos vermes. Os antimoniais também inibem a fosfofrutoquinase dos mamíferos, mas em doses 80 vezes maiores — o que possibilita o emprego desses quimioterápicos organometálicos na terapêutica desta helmintose (KOROLKOVAS¹⁰).

Além dos antimoniais, vários outros compostos químicos, mormente agentes oxidantes, inativam a fosfofrutoquinase. Por exemplo, certas naftoquinonas inibem a glicólise do *S. mansoni in vitro* (BUEDING & PETERS²).

Este estudo foi financiado, em parte, pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

- (1) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.
- (2) Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Grupo Inter-Departamental de Estudos sobre Esquistossomose (Contribuição n° 85) e Centro de Pesquisas René Rachou, FIOCRUZ, Caixa Postal 1404, 30.000 Belo Horizonte, Brasil.

Entretanto, devido à toxicidade, não podem ser utilizadas em terapêutica.

Para reduzir a toxicidade dessas naftoquinonas, ELSLAGER & col. 4,5,6,26 sintetizaram centenas de naftilazoderivados, que seriam formas latentes ou pró-fármacos dessas subs-

tâncias, pois, segundo eles, os naftilazoderivados sofreriam biotransformação gerando primeiramente a 1,4-naftilendiamina — o grupamento farmacofórico que tem atividade esquistossomicida *in vitro* — e, posteriormente, a naftoquinona (Fig. 1).

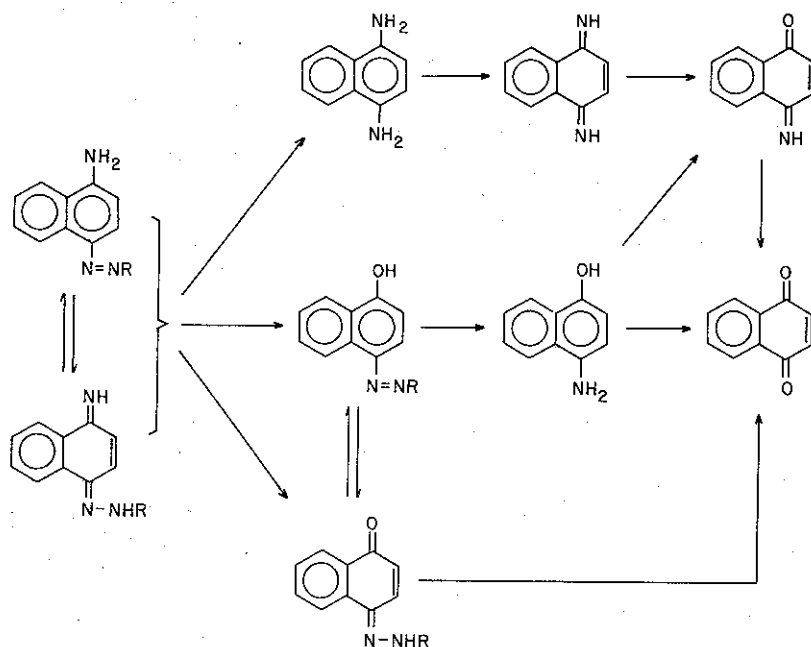


Fig. 1 — Biotransformação dos naftilazoderivados às suas formas ativas: naftilendiamina e naftoquinona.

Visando ao mesmo objetivo, qual seja, obter formas latentes a um só tempo da 1,4-naftilendiamina e da naftoquinona — porquanto a primeira é pró-fármaco da segunda — KOROLKOVAS^{11,12,13} sintetizou algumas dezenas de naftilazoderivados. No planejamento destes esquistossomicidas potenciais, foi aplicado o processo de hibridação molecular, também chamado de associação de grupamentos mistos, com o fim de se obter compostos dotados também de outras atividades quimioterápicas. Para isso, como grupos transportadores de 1,4-naftilendiamina, que é o grupamento responsável pela atividade esquistossomicida inicial, KOROLKOVAS¹² utilizou, entre outros compostos, certas sulfas — que são antibacterianos e antimaláricos — e uma sulfona, a dapsona, que é antimalárico e antileprótico.

MATERIAL E MÉTODOS

Infecção dos animais — Para a infecção de camundongos e cricetos foram utilizadas cercárias de *S. mansoni* da cepa LE (Belo Horizonte), eliminadas por exemplares de *Biomphalaria glabrata* criados e infectados no laboratório. Os camundongos foram infectados por exposição da cauda a 100 cercárias (PELLEGRINO & KATZ¹⁹). Os cricetos foram infectados pela bolsa alimentar, segundo a técnica descrita por PELLEGRINO & col.¹⁷, com 80 cercárias.

Tratamento dos animais — Tanto os camundongos como os cricetos foram tratados por via oral em diferentes doses (7 e 5 dias, respectivamente), como mostram as Tabelas I e II. Além dos grupos controle, camundongos

T A B E L A I

Atividade esquistossomocida de naftilazoderivados em camundongos experimentalmente infectados pelo *Schistosoma mansoni*

Naftilazoderivados	Dose mg/kg/dia x 7, p.o.	Nº de animais	Animais mortos	Média de vermes p/animal	Distribuição dos esquistossomos (%)			Vermes retidos no fígado (%)	Animais com alterações do oograma (%)
					Fígado	Porta	Vasos mesentéricos		
Sulfadiazina	1000	10	6	15,8	100,0	0,0	0,0	100,0	83,3
Sulfametazina	600	12	9	8,0	76,0	16,6	8,4	41,6	100,0
	500	12	5	22,6	89,9	5,0	5,1	21,5	100,0
	400	12	2	27,7	82,3	5,4	12,3	34,6	100,0
Sulfatiazol	200	10	2	30,3	10,3	23,9	65,8	0,0	0,0
	1000	15	5	12,1	53,7	14,8	31,5	5,7	50,0
	800	15	3	9,9	30,7	11,4	57,9	4,4	40,0
Sulfametoxazol	600	15	3	8,3	34,9	10,8	54,3	6,0	60,0
	500	12	4	12,7	74,6	8,8	16,6	6,9	66,7
	250	12	5	10,7	29,3	24,0	46,7	0,0	28,5
Controle	125	12	8	19,4	6,3	28,0	65,7	0,0	0,0
	—	15	1	20,5	17,4	12,4	70,2	0,0	0,0

T A B E L A I I

Atividade esquistossomocida de naftilazoderivados em cricetos experimentalmente infectados pelo *Schistosoma mansoni*

Naftilazoderivados	Dose mg/kg/dia x 5, p.o.	Nº de animais	Animais mortos	Média de vermes p/animal	Distribuição dos esquistossomos (%)			Vermes retidos no fígado (%)	Animais com alterações do oograma (%)
					Fígado	Porta	Vasos mesentéricos		
Sulfadiazina	250	4	0	30,5	88,5	7,4	4,1	77,9	25,0
	125	4	0	44,5	60,7	1,7	37,6	17,4	0,0
	62,5	4	1	48,3	15,9	7,6	76,5	6,9	0,0
Sulfametazina	400	5	2	42,3	100,0	0,0	0,0	83,5	100,0
	200	5	3	42,0	81,0	0,0	19,0	77,4	100,0
	50	5	3	38,0	36,8	23,7	39,5	17,1	0,0
Sulfatiazol	600	5	4	62,0	100,0	0,0	0,0	100,0	100,0
Sulfametoxazol	400	5	2	37,7	84,1	0,0	15,9	64,6	33,3
	200	5	3	24,0	58,3	0,0	41,7	8,3	0,0
Controle	—	5	0	37,4	20,1	14,6	65,8	0,0	0,0

(grupos de 10 animais) receberam, por via oral, por 7 dias consecutivos, as respectivas sulfas (sulfadiazina, sulfametazina, sulfatiazol e sulfametoxazol) na dose de 600 mg/kg.

Determinação da atividade biológica — Os animais foram sacrificados por fratura cervical, 3 dias após o término do tratamento. Os esquistossomos localizados no fígado e vasos mesentéricos foram colhidos, separadamente, por perfusão (PELLEGRINO & SIQUEIRA²⁰). Após a perfusão, o fígado foi esmagado entre 2 placas de vidro para contagem dos vermes ai retidos. O oograma (PELLEGRINO & FARIA¹⁸) foi feito em fragmentos do intestino delgado.

RESULTADOS

Quatro dos 30 naftilazoderivados manifestaram atividade esquistossomicida em camundongos e cricetos. São os derivados de sulfadiazina, sulfametazina, sulfatiazol e sulfametoxazol, respectivamente. Correspondem às estruturas indicadas na Fig. 2, a saber: 2-[p-(1-amino-4-naftilazo)fenilsulfonamido]pirimidina (a), 2-[p-(1-amino-4-naftilazo)fenilsulfonamido]-4,6-dimetilpirimidina (b), 2-[p-(1-amino-4-naftilazo)fenilsulfonamido]tiazol (c) e 3-[p-(1-amino-4-naftilazo)fenilsulfonamido]-5-metilisoxazol (d).

A atividade terapêutica dos referidos compostos está exposta nas Tabelas I e II. As sulfas de partida não manifestaram atividade esquistossomicida.

DISCUSSÃO

Sabe-se que os compostos azóicos, *in vivo*, por ação da azo-redutase, têm rompida a ligação $-N=N-$, libertando aminas primárias (KOROLKOVAS¹⁰). No caso dos naftilazoderivados (Fig. 2), essa bioativação resultaria na formação da 1,4-naftilendiamina. Essa diamina, por sua vez, seria posteriormente oxidada para naftoquinona (Fig. 1). Consequentemente, os quatro compostos descritos neste trabalho constituem outros tantos exemplos de latenciação eficaz da 1,4-naftilendiamina e, *ipso facto*, da naftoquinona. É importante salientar que a atividade terapêutica não correu por conta das sulfas de partida, cujas percentagens nos naftilazoderivados foram as seguintes: sulfadiazina, 61%; sulfametazina, 64%; sulfatiazol, 62% e sulfametoxazol, 61%.

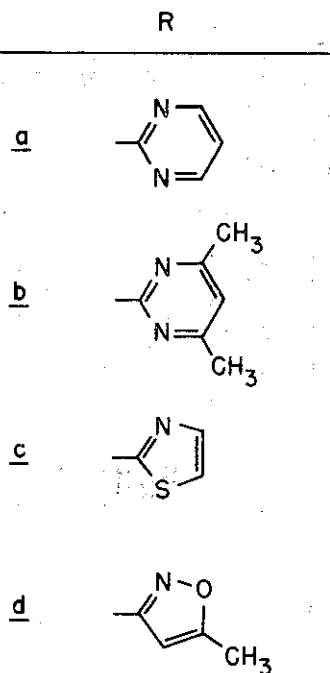
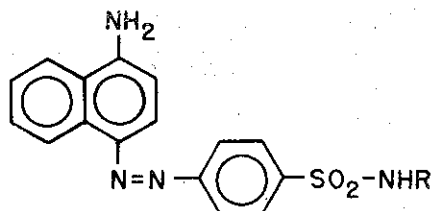


Fig. 2 — Estrutura química dos quatro naftilazoderivados que se mostraram ativos na esquistossomose mansoni experimental

Um exame das Tabelas I e II mostra que todos os 4 naftilazoderivados foram ativos, tanto em camundongos como em cricetos, embora a toxicidade tenha sido relativamente elevada (número de animais mortos em relação aos animais utilizados).

SUMMARY

Experimental chemotherapy of Schistosomiasis mansoni. Activity of latent forms of 1,4-naphthylendiamine and naphthoquinone

Thirty naphthylazoderivatives were synthesized as pro-drugs for 1,4-naphthylendia-

mine and naphthoquinone which present antischistosomal activity *in vitro*. Four of these derivatives, corresponding to sulfadiazine, sulfamethazine, sulfathiazole and sulfamethoxazole were found active in mice and hamsters experimentally infected with *Schistosoma mansoni*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARBENS, E. J., Ed. — *Drug Design*. 6 vols. New York, Academic Press, 1971-1975.
2. BUEDING, E. & PETERS, L. — Effect of naphthoquinones on *Schistosoma mansoni* *in vitro* and *in vivo*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 101: 210-229, 1951.
3. CLARKE, F. H., Ed. — *How Modern Medicines Are Discovered*. Mount Kisco, N.Y., Futura Publishing Company, 1973.
4. ELSLAGER, E. F.; CAPPS, D. B. & WERBEL, L. M. — Synthetic schistosomicides. VI. 4-Substituted 1-(dialkylaminoalkylamino)naphthalenes. *J. Med. Chem.* 7: 658-662, 1964.
5. ELSLAGER, E. F.; CAPPS, D. B.; WERBEL, L. M.; WORTH, D. F.; MEISENHOLDER, J. E. & THOMPSON, P. E. — Synthetic schistosomicides. V. N-(Mono- and dialkylaminoalkyl)-1,4-naphthalenediamines and related naphthylamines. *J. Med. Chem.* 7: 487-493, 1964.
6. ELSLAGER, E. F. & WORTH, D. F. — Synthetic schistosomicides. III. 5-(4-amino-1-naphthylazo)uracil and related heterocyclic azo compounds. *J. Med. Chem.* 6: 444-447, 1963.
7. HARPER, N. J. — Drug latentiation. *Progr. Drug. Res.* 4: 221-294, 1962.
8. HIGUCHI, T. & STELLA, V., Eds. — *Pro-drugs as Novel Drug Delivery Systems*. Washington, D. C., American Chemical Society, 1975.
9. KHOMYAKOV, K. P.; VIRNIK, A. D. & ROGOVIN, A. Z. — The prolongation of the action of pharmaceutical preparations by mixing or combining them with polymers. *Russ. Chem. Rev.* 33: 462-467, 1964.
10. KOROLKOVAS, A. — Bioquímica e quimioterapia da esquistossomose. *Rev. Fac. Farm. Bioquím. São Paulo* 5: 5-48, 1967.
11. KOROLKOVAS, A. — Novos naftilazoderivados com atividade quimioterápica. *Rev. Fac. Farm. Bioquím. São Paulo* 6: 115-145, 1968.
12. KOROLKOVAS, A. — Síntese de novos naftilazoderivados de sulfas com núcleo pirimidínico. *Rev. Fac. Farm. Bioquím. São Paulo* 6: 147-152, 1968.
13. KOROLKOVAS, A. — Síntese de novos naftilazoderivados com atividade quimioterápica. *Rev. Fac. Farm. Bioquím. São Paulo* 6: 153-160, 1968.
14. KOROLKOVAS, A. — Como nascem os medicamentos. *Rev. Paul. Med.* 81: 105-126, 1973.
15. KOROLKOVAS, A. — *Fundamentos de Farmacologia Molecular: Base para o Planejamento de Fármacos*. São Paulo, EDART — São Paulo Livraria e Editora da Universidade de São Paulo, 1974.
16. NOTARI, R. E. — Pharmacokinetics and molecular modification: implications in drug design and evaluation. *J. Pharm. Sci.* 62: 865-881, 1973.
17. PELLEGRINO, J.; DE MARIA, M. & FARIA, J. — Infection of the golden hamster with *Schistosoma mansoni* cercariae through the cheek pouch. *J. Parasit.* 51: 1015, 1965.
18. PELLEGRINO, J. & FARIA, J. — The oogram method for the screening of drugs in schistosomiasis mansoni. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 14: 363-369, 1965.
19. PELLEGRINO, J. & KATZ, N. — Experimental chemotherapy of schistosomiasis mansoni. In *«Advances in Parasitology»*, vol. 6, pp. 233-291. Ed. Ben Dawes. New York, Academic Press, Inc., 1968.
20. PELLEGRINO, J. & SIQUEIRA, A. F. — Técnica para perfusão para colheita de *Schistosoma mansoni* em cobaias experimentalmente infectadas. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop.* 3: 589-597, 1956.
21. PURCELL, W. P.; BASS, G. E. & CLAYTON, J. M. — *Strategy of Drug Design: A Molecular Guide to Biological Activity*. New York, Wiley-Interscience, 1973.
22. SCHUELER, F. W. — *Chemobiodynamics and Drug Design*. New York, McGraw-Hill, 1960.
23. SINKULA, A. A. & YALKOWSKY, S. H. — Rationale for design of biologically reversible drug derivatives: produgs. *J. Pharm. Sci.* 64: 181-210, 1975.
24. SOCIETY AMERICAN CHEMICAL — Molecular Modification in Drug Design. *Adv. Chem. Ser.* 45: 1-222, 1964.
25. SOCIETY AMERICAN CHEMICAL — Drug Discovery: Science and Development in a Changing Society. *Adv. Chem. Ser.* 108: 1-285, 1971.
26. WERBEL, L. M.; BATTAGLIA, J.; ELSLAGER, E. F. & YOUNGSTROM, C. — Synthetic schistosomicides. XVIII. N-(4-[2-diethylamino]ethyl)amino-1-naphthyl)amides, N-5,6,7,8-tetrahydro-4-[(3-piperidinopropyl)amino]-1-naphthyl amides, and related amide and urea derivatives. *J. Med. Chem.* 13: 592-598, 1970.

Recebido para publicação em 12/7/1976.