
**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DE
PLANTAS FITOTERÁPICAS DO CERRADO DO
GÊNERO *Stryphnodendron* SPP. SOBRE MIRACÍDIOS
E CERCÁRIAS DE *Schistosoma mansoni***

Marina Clare Vinaud,¹ Suzana C. Santos,² Pedro H Ferri,² Ruy de Souza Lino Junior¹ e José Clecildo Barreto Bezerra¹

RESUMO

A esquistossomíase é uma doença endêmica causada por parasitos do gênero *Schistosoma*, sendo somente *Schistosoma mansoni* observado no Brasil. No presente trabalho, o potencial das plantas do Cerrado brasileiro, *Stryphnodendron polyphyllum* e *Stryphnodendron adstringens*, foi testado como fonte alternativa de produtos naturais utilizados contra miracídios e cercárias, as formas infectantes de *S. mansoni*. A partir dos extratos brutos EAA (extração acetona: água) das cascas dos caules prepararam-se soluções-mãe de 400 ppm, que foram diluídas até se obterem as concentrações de 100 e 200 ppm para os bioensaios com miracídios, e de 20, 50, 100 e 200 ppm para os bioensaios com cercárias. Nos testes com miracídios, estas plantas demonstraram atividade somente 5 horas e 30 minutos após o contato inicial com os extratos, enquanto o grupo-controle sobreviveu por oito horas nas mesmas condições. A mortalidade das cercárias ocorreu apenas uma hora após o início dos experimentos em todas as concentrações testadas para as duas espécies vegetais. O grupo-controle sobreviveu, em água, por 36 horas após o início dos experimentos. Estes dados confirmam a presença, no Cerrado brasileiro, de plantas com potencial bioativo no combate às cercárias, forma infectante de *S. mansoni* para mamíferos.

DESCRITORES: *Stryphnodendron polyphyllum*. *Stryphnodendron adstringens*. Miracídios. Cercarias. *Schistosoma mansoni*.

INTRODUÇÃO

A esquistossomíase mansônica é uma doença endêmica cujo agente etiológico é o trematódeo *Schistosoma mansoni*. Esta doença é adquirida pela penetração de cercárias na pele de hospedeiros suscetíveis, como o homem e

1 Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), Universidade Federal de Goiás (UFG).

2 Instituto de Química, UFG.

Endereço para correspondência: Prof. Dr. José Clecildo Barreto Bezerra, Setor de Parasitologia do Instituto de Patologia Tropical/UFG. Rua 235, esq. c/ 1.ª Avenida, Setor Universitário, CEP: 74605-050, Goiânia, Goiás. E-mail: clecildo@iptsp.ufg.br

Recebido para publicação em 9/9/2005. Revisto em 20/10/2005. Aceito em 30/10/2005.

animais silvestres. A cercária, ao penetrar a pele dos hospedeiros, dará origem ao esquistossômulo e, posteriormente, ao helminto adulto cujos ovos são eliminados nas fezes dos hospedeiros. Estes ovos, ao entrarem em contato com a água, liberam miracídeos, que são formas de vida livre, capazes de infectar caramujos suscetíveis, como *Biomphalaria glabrata* (9).

As atividades larvicidas de plantas medicinais sobre as formas infectantes de *S. mansoni* têm sido testadas com o objetivo de identificar formas alternativas de combate a essa parasitose. Nesse sentido, a *Euphorbia milii*, família Euphorbiaceae, também conhecida como coroa-de-cristo ou colchão-de-noiva, apresentou eficiência larvicida contra miracídeos e cercárias de *S. mansoni* (4). Outro representante da mesma família, *Jathropa curcas*, popularmente conhecido como pinhão-bravo ou pinhão-paraguaio, também demonstrou atividade larvicida contra miracídeos e cercárias sob uma concentração de 25 ppm. Sua atividade está ligada à presença de phorbol-ésteres presentes nos extratos dessa planta (10).

Plantas taníferas são comumente utilizadas pela medicina popular no tratamento de diarreias, doenças ginecológicas e no estímulo à cicatrização. *Stryphnodendron polyphyllum* (Martius) Coville e *S. adstringens* M., popularmente conhecidos como barbatimão, são incluídas nessa categoria graças à presença de taninos em sua composição (11). Suas atividades moluscicidas já foram testadas com sucesso (3), sendo que a pesquisa de suas atividades larvicidas visando a uma alternativa de controle integrado da esquistossomíase deve ser encorajada.

O objetivo deste trabalho foi testar a atividade larvicida das plantas taníferas do Cerrado, *S. polyphyllum* e *S. adstringens*, sobre miracídeos e cercárias de *S. mansoni*.

MATERIAL E MÉTODOS

Identificação das plantas

A coleta das espécies de barbatimão, *S. polyphyllum* (Martius) Coville e *S. adstringens* (Mart) Coville, pertencentes à família Mimosoidae, foi realizada por Santos et al. (2002), no Departamento de Botânica (herbário 25535 e 25700) da Universidade Federal de Goiás, no mês de março de 1997 na região do entorno de Goiânia, Goiás, Brasil.

Preparação dos extratos

Os extratos brutos EAA (extração acetona:água) da casca do caule de *S. polyphyllum* e de *S. adstringens* foram obtidos de acordo com Santos et al. (11) pelo Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás (UFG). A partir do extrato bruto EAA, preparou-se uma solução-mãe a 400 ppm, que foi diluída até serem obtidas as concentrações de 100 e 200 ppm para os bioensaios com miracídeos, e 20, 50, 100 e 200 ppm para os bioensaios com cercárias.

Obtenção de miracídios e cercárias

Os caramujos *Biomphalaria glabrata*, cepa BH, isolada em Belo Horizonte, foram mantidos em aquários contendo dez litros de água desclorada, à temperatura aproximada de 28° C e alimentados com ração composta por carbonato de cálcio, leite em pó, gérmen de trigo, ágar-ágar e aveia em farelo em iguais proporções. Obtiveram-se as cercárias de caramujos com trinta dias de infecção. Os miracídios foram obtidos de ovos retirados de granulomas hepáticos de camundongos da linhagem BALB/C com sessenta dias de infecção (4) e acondicionados no Biotério do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da UFG.

Bioensaios para medir a atividade larvicida

Os miracídios recém-coletados foram submetidos à solução-teste sob as concentrações de 100 e 200 ppm dos extratos, sendo observados a intervalos de uma hora para avaliação da sua taxa de mortalidade, diante da perda de motilidade na presença dos extratos. O grupo-controle consistiu na observação do tempo médio de sobrevivência dos miracídios em água oito horas após o início dos experimentos.

Colocaram-se as cercárias em contato com os extratos brutos das cascas dos caules das plantas em estudo sob as concentrações de 20, 50, 100 e 200 ppm, cujas taxas de mortalidade observaram-se em períodos de uma hora após a exposição inicial aos extratos. O grupo-controle consistiu na observação do tempo médio de sobrevivência das cercárias em água 36 horas após o início dos experimentos. Repetiram-se os bioensaios três vezes para a confirmação dos resultados.

RESULTADOS

A Tabela 1 mostra as taxas de mortalidade dos miracídios observadas nos extratos brutos EAA das cascas dos caules de *S. polyphyllum* e *S. adstringens*. Após cinco horas e meia em contato com o extrato bruto EAA da casca do caule de *S. polyphyllum*, sob a concentração de 200 ppm, os miracídios perderam 100% de sua motilidade. Após oito horas em contato com este extrato sob 100 ppm, os miracídios não demonstraram qualquer alteração na sua motilidade, continuando a se movimentar normalmente. Sob as concentrações de 100 e 200 ppm do extrato bruto de *S. adstringens*, os miracídios perderam 100% de sua motilidade após sete horas de exposição, não mostrando alteração diante da diferença de concentração. Os miracídios do grupo-controle perderam 100% de sua motilidade oito horas após o início dos experimentos (Tabela 1).

O tempo médio de vida das cercárias do grupo-controle foi de 36 horas. Após uma hora de exposição às diferentes concentrações dos extratos de *Stryphnodendron* spp., as cercárias apresentaram taxas de mortalidade de 100% sob 100 ppm e 200 ppm (Tabela 2). Sob a concentração de 50 ppm, a taxa de mortalidade permaneceu

100% no extrato de *S. polyphyllum*, enquanto que ela foi de 75% no extrato de *S. adstringens*. Sob a concentração de 20 ppm, as taxas de mortalidade foram de 75% e 50% nos extratos de *S. polyphyllum* e *S. adstringens*, respectivamente.

Tabela 1. Taxa de mortalidade (em %) de miracídios de *Schistosoma mansoni* expostos aos extratos EAA (extrato acetona: água) de *Stryphnodendron polyphyllum* e *Stryphnodendron adstringens* sob diferentes concentrações (em ppm) diante do tempo de exposição (em horas).

Tempo de exposição (horas)	Taxa de mortalidade (%)				Grupo-controle
	<i>Stryphnodendron polyphyllum</i>		<i>Stryphnodendron adstringens</i>		
	100 ppm	200 ppm	100 ppm	200 ppm	
2	0	0	0	0	0
4	0	0	0	50	0
5,5	0	100	50	50	0
8	0	100	100	100	100

Tabela 2. Taxa de mortalidade percentual (em %) de cercárias de *Schistosoma mansoni* após uma hora de exposição aos extratos EAA (extrato acetona: água) de *Stryphnodendron polyphyllum* e *Stryphnodendron adstringens*, sob diferentes concentrações (em ppm).

Espécie testada	Concentração (ppm)	Taxa de mortalidade (%)
<i>Stryphnodendron polyphyllum</i>	20	75
	50	100
	100	100
	200	100
<i>Stryphnodendron adstringens</i>	20	50
	50	75
	100	100
	200	100
Grupo-controle*		0

*Cercárias do grupo-controle sobreviveram por 36 horas.

DISCUSSÃO

Vários testes acerca da bioatividade de plantas sobre caramujos *B. glabrata* e formas larvais de *S. mansoni* já foram realizados (4, 12, 13). Poucos enfatizam, entretanto, a atividade de plantas do Cerrado no combate ao hospedeiro intermediário e formas infectantes do parasito. Bezerra et al. (3), em análise da atividade das duas espécies de barbatimão em caramujos, mostraram maior eficácia de *S. polyphyllum*. Até o momento, suas ações larvicidas não haviam sido comprovadas em *S. mansoni*. Tal atividade pode gerar indicadores da possibilidade do controle integrado dessa parasitose, uma vez que as formas larvais de tal parasito convivem no mesmo ambiente aquático que o seu hospedeiro intermediário.

A atividade dos extratos brutos EAA de *Stryphnodendron* sobre as cercárias foi mais acentuada do que sobre os miracídios. Bioensaios realizados por Rug & Ruppel (10), mediante a utilização de extratos de *Jathropa curcas* (Euphorbiaceae), mostraram que cercárias apresentaram maior sensibilidade à presença da substância no meio do que miracídios sob concentração de 25 ppm. Vale acrescentar que a maior sensibilidade dessas formas larvais ainda não foi explicada.

Em trabalho realizado por Zidan et al. (14), testaram-se os extratos de *Azolla pinnata* (Azollaceae) sobre miracídios e cercárias, cuja atividade larvicida num período de três horas após a exposição inicial resultou em taxas de mortalidade de 100% e 19,4%, respectivamente, sob uma concentração de 6.600 ppm. Entretanto, a presença do extrato não afetou a capacidade de infecção do hospedeiro intermediário pelos miracídios (14). No presente trabalho verificou-se atividade larvicida sobre miracídios e cercárias sob concentrações mais baixas (20, 50, 100 e 200 ppm), indicando que extratos de diferentes espécies vegetais atuam de forma diversa sobre os estágios infectantes de *S. mansoni*, em concordância com as disparidades de taxa de mortalidade observadas neste experimento.

Em estudos sobre a atividade larvicida de plantas para buscar subsídios ao combate às formas infectantes de *S. mansoni*, Carvalho et al. (4) comprovaram a atividade larvicida de *Euphorbia milii* sobre miracídios e cercárias. Entretanto, verificaram que plantas da família Euphorbiaceae, como *E. millii* e *J. curcas*, apresentaram, em sua composição, substâncias irritantes e indutoras da formação de tumores identificadas como phorbol-ésteres. Assinale-se que a exposição aguda ao látex dessas plantas causa irritação das mucosas, podendo levar à necrose, de modo que já há trabalhos que tentam encontrar diluições adequadas para a sua utilização em coleções aquáticas, sem prejuízo para seres humanos e outros animais (8).

Plantas da família Acanthaceae, como *Acanthus mollis*, popularmente conhecido como pé-de-urso e *acantus*, são taníferas e utilizadas popularmente como adstringentes, anti-diarréicos, analgésicos, cicatrizantes e anti-inflamatórios (5). Em trabalho realizado por Ahmed & Rifaat (1), os extratos de folhas de *A. mollis* apresentaram atividade larvicida sobre cercárias sob as concentrações de 5, 10 e 20 ppm com atividade em tempo máximo de uma hora. Em estudo realizado por Ahmed & Ramzy (2), o extrato da planta *Solanum nigrum* (Solanaceae), conhecido popularmente por erva-moura, mostrou atividade cercaricida num período de trinta minutos sob uma concentração de 30 ppm. Tais resultados são semelhantes aos reportados no presente trabalho, em que se observou atividade cercaricida num período de uma hora.

Substâncias sintéticas vêm sendo testadas quanto à sua eficácia no combate às cercárias. Também utilizaram-se testes com repelentes de insetos como o DEET (N,N-dietil-m-toluamida) no controle de cercárias *in vitro* e no combate à infecção em camundongos, cuja eficiência larvicida foi detectada em ambas as situações (7). Moluscicidas, como a niclosamida, foram testados contra cercárias de *S. japonicum* na China, mostrando eficácia em menos de um minuto de exposição sob uma

concentração de 0,25 ppm. Entretanto, verificou-se que tais substâncias causam alto impacto ambiental, pois são tóxicas para peixes nas concentrações usadas (6).

Conclui-se que os extratos brutos das plantas do Cerrado *S. polyphyllum* e *S. adstringens* não possuem eficácia larvicida sobre miracídios, mas apresentaram-na sobre cercárias. Vale notar que, ao se explorar a atividade moluscicida e larvicida de plantas do cerrado, como encontrada em *Stryphnodendron* spp, visa-se não somente o combate ao hospedeiro intermediário e às formas infectantes de *S. mansoni*, mas também a preservação desse rico bioma como potencial fonte alternativa de produtos naturais para usos diversos.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Apoio à Pesquisa – UFG (FUNAPE), CONCITEG, CNPq, pelo apoio financeiro.

ABSTRACT

Evaluation of the larvicidal activity of phytoterapic Brazilian Savannah plants of the genus *Stryphnodendron* spp. on *Schistosoma mansoni* miracidia and cercariae

Schistosomiasis is a worldwide endemic disease caused by parasites from the *Schistosoma* genus. In Brazil, only the species *S. mansoni* occurs. In the current work the potential of the Brazilian Savannah plants *Stryphnodendron polyphyllum* and *S. adstringens* was tested as an alternative source of natural products used against the infective larval forms of *S. mansoni*: miracidium and cercariae. From the crude AWE (acetone:water extraction) extracts of the barks and leaves, stock solutions of 400 ppm concentration were prepared. The latter were diluted until the concentrations of 200 and 100 ppm for the miracidia bioassays, and 200, 100, 50 and 20 ppm concentrations for the cercariae bioassays. In the miracidia assays these extracts showed larvicidal activity only after 5 hours and 30 minutes after exposure. While the control group survived through 8 hours after the beginning of the experiments and under the same conditions. The cercariae mortality was observed in all concentrations of both extracts one hour after exposure. While the control group survived in water for 36 hours after the beginning of the experiments. These data confirm the presence of plants with bioactive potential in the combat of cercariae, an infective form of *S. mansoni* in Brazilian Savannah.

KEYWORDS: *Stryphnodendron polyphyllum*. *Stryphnodendron adstringens*.
Miracidia. Cercariae. *Schistosoma mansoni*.

REFERÊNCIAS

1. Ahmed AH, Rifaat MM. Molluscicidal and cercaricidal efficacy of *Acanthus mollis* and its binary and tertiary combinations with *Solanum nigrum* and *Iris pseudacorus* against *Biomphalaria alexandrina*. *J Egypt Soc Parasitol* 34: 1041-1050, 2004.

2. Ahmed AH, Ramzy RM Laboratory assessment of the molluscicidal and cercaricidal activities of the Egyptian weed, *Solanum nigrum* L. *Ann Trop Med Parasitol* 91: 931-937, 1997.
3. Bezerra JCB, Silva IA, Ferreira HD, Ferri PH, Santos SC. Molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* of Brazilian Cerrado medicinal plants. *Fitoterapia* 73: 428-430, 2002.
4. Carvalho RR, Maldonado Jr A, Oliveira-Filho EC, Ribeiro AC, Paumgarten FJR, Rey L. Effects of *Euphorbia milii* latex on *Schistosoma mansoni* eggs, miracidia and cercariae. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 93: 235-237, 1998.
5. Fonseca ZA. Acanto. Retirado do site www.plantamed.com.br. Site acessado em 2004/2005.
6. Lowe D, Xi J, Meng X, Wu Z, Qiu D, Spear R. Transport of *Schistosoma japonicum* cercariae and the feasibility of niclosamide for cercariae control. *Parasitol Internat* 54: 83-89, 2005.
7. Negm AY, Ibrahim IR, El-Temshahy MM, El-Azzouni MZ. Effect of topical agents on cercariae of *Schistosoma mansoni*. *J Egypt Soc Parasitol* 34: 900-913, 2004.
8. Oliveira RB, Godoy SAP, Costa FB. Família Euphorbiaceae. In: *Plantas Tóxicas (Conhecimento e Prevenção de Acidentes)*. Holos. São Paulo, 2002.
9. Rey L. *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: o parasito. In: *Parasitologia*. Guanabara-Koogan. Rio de Janeiro, 1991.
10. Rug M, Ruppel A. Toxic activities of the plant *Jatropha curcas* against intermediate snail hosts and larvae of schistosomes. *Trop Med Int Health* 5: 423-430, 2000.
11. Santos SC, Costa WF, Ribeiro JP, Guimarães DO, Ferri PH, Ferreira HD, Seraphin JC. Tannin composition of barbatimão species. *Fitoterapia* 73: 292-299, 2002.
12. Scalbert A. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* 30: 3875-3883, 1991.
13. Silva TMS, Camara CA, Barbosa TP, Soares AZ, Cunha LC, Pinto AC, Vargas MD. Molluscicidal activity of synthetic lapachol amino and hydrogenated derivatives. *Bioorg Med Chem* 13: 193-196, 2005.
14. Zidan ZH, Hafez AM, Abdel-Megeed MI, el-Emam MA, Ragab FM, el-Deeb FA. Susceptibility of *Biomphalaria alexandrina* to the plant *Azolla pinnata* and some herbicides in relation to infection with *Schistosoma mansoni* miracidia. *J Egypt Soc Parasitol* 28: 89-100, 1998.