



POTENCIAL ANTI-HELMÍNTICO DA PIPLARTINA ISOLADA DE *PIPER TUBERCULATUM* CONTRA LARVAS DE *Angiostrongylus cantonensis*

Camila Da Silva Amorim; Lucas Fukui-Silva; Sophia C. Spoladore; Bruna L. Lemes; Marina M. Gonçalves; João Henrique G. Lago

Josué de Moraes

Universidade Guarulhos; Universidade Brasil; Universidade Federal do ABC

Guarulhos

– SP 2025

POTENCIAL ANTI-HELMÍNTICO DA PIPLARTINA ISOLADA DE *PIPER TUBERCULATUM* CONTRA LARVAS DE *Angiostrongylus cantonensis*

1. RESUMO

As doenças tropicais negligenciadas afetam mais de um bilhão de pessoas em todo o mundo, dentre elas estão as helmintíases, atingindo principalmente populações em situação de vulnerabilidade social, marcadas por deficiência em saneamento básico, educação e acesso a saúde. Por conseguinte, essas infecções comprometem o desenvolvimento físico e mental, além de intensificarem desigualdades sociais e econômicas. O tratamento atual depende de poucos fármacos, que vêm se tornando menos eficazes devido ao uso contínuo e ao surgimento da resistência parasitária. Em vista disso, a biodiversidade brasileira, uma das mais ricas do planeta, constitui um vasto reservatório de compostos bioativos com potencial para o desenvolvimento de novos fármacos, especialmente no combate a doenças negligenciadas como as helmintíases. Entre os helmintos de relevância para a saúde pública, destaca-se o nematoide *Angiostrongylus cantonensis*, causador da angiostrongilíase, uma zoonose emergente associada à ocorrência de meningite eosinofílica, que é um modelo experimental para a triagem de novos fármacos. Em resposta à necessidade de novas terapias, a investigação de produtos naturais tem se destacado, explorando a ampla diversidade química presente na natureza. No Brasil, programas como BIOTA, apoiado pela FAPESP, fortalece a conservação e uso sustentável da biodiversidade, criando bancos de compostos naturais para doenças negligenciadas. A planta *Piper tuberculatum*, conhecida como "pimenta-d'arda", é usada tradicionalmente como analgésico e antiofídico. Seus extratos alcaloides, principalmente a pipartina, apresentam atividade antiparasitária comprovada. Este projeto visa avaliar a atividade helmíntica da pipartina contra larvas de *A. cantonensis* em ensaios *in vitro*, e valorizar a biodiversidade brasileira para a saúde pública.

Palavras-chave

Angiostrongylus cantonensis; Pipartina; *Piper tuberculatum*.

ABSTRACT

Neglected tropical diseases affect more than one billion people worldwide, among which helminthiases stand out, primarily impacting populations in situations of social vulnerability, characterized by limited sanitation, education, and access to healthcare. Consequently, these infections impair physical and mental development and exacerbate social and economic inequalities. Current treatment relies on a few drugs, which have been losing efficacy due to continuous use and the emergence of parasite resistance. In this context, Brazilian biodiversity, one of the richest in the world, represents a vast

reservoir of bioactive compounds with potential for the development of new drugs, particularly for combating neglected diseases such as helminthiasis. Among helminths of public health importance, the nematode *Angiostrongylus cantonensis* stands out as the causative agent of angiostrongyliasis, an emerging zoonosis associated with eosinophilic meningitis, and considered an experimental model for drug screening. In response to the need for new therapies, the investigation of natural products has gained prominence, leveraging the wide chemical diversity found in nature. In Brazil, programs such as BIOTA, supported by FAPESP, promote biodiversity conservation and sustainable use, creating compound libraries for neglected diseases. The plant *Piper tuberculatum*, commonly known as “pimenta-d’arda,” has been traditionally used as an analgesic and antivenom. Its alkaloid extracts, particularly pipartine, have shown proven antiparasitic activity. This project aims to evaluate the anthelmintic activity of pipartine against *A. cantonensis* larvae in in vitro assays, while highlighting the value of Brazilian biodiversity for public health.

Keywords

Angiostrongylus cantonensis; Pipartine; *Piper tuberculatum*.

2. INTRODUÇÃO

As helmintíases representam um desafio persistente e de ampla magnitude para a saúde pública global, afetando mais de um bilhão de pessoas, sobretudo em regiões tropicais e subtropicais marcadas por graves deficiências em infraestrutura sanitária, acesso à educação e serviços de saúde (BANDA; DERIBE; DAVEY, 2021). Essas infecções parasitárias, altamente prevalentes em crianças e comunidades em situação de vulnerabilidade social, impactam negativamente o desenvolvimento físico e neurocognitivo dos indivíduos, ao mesmo tempo em que perpetuam ciclos de pobreza e acentuam desigualdades sociais e econômicas (GBD et al., 2019). Embora sua carga global seja significativa, o controle dessas doenças ainda depende de um número restrito de fármacos, cuja eficácia tem sido progressivamente comprometida pelo uso intenso e pelo crescente fenômeno da resistência parasitária (WHO 2023). Além disso, a ausência de novas drogas no mercado evidencia um obstáculo na pesquisa e desenvolvimento, dificultando o controle efetivo das helmintíases e aumentando a vulnerabilidade das populações afetadas (KEISER et al., 2011). Essa lacuna reforça a urgência de investigar novas moléculas, sobretudo aquelas derivadas de fontes naturais, para ampliar o arsenal terapêutico disponível e combater a resistência medicamentosa (ALVARENGA et al., 2021).

Nesse contexto, a biodiversidade brasileira se destaca como um recurso estratégico valioso. Reconhecido mundialmente por sua vasta diversidade biológica, o Brasil abriga inúmeras espécies vegetais com potencial para a descoberta de moléculas bioativas com propriedades antiparasitárias (DA SILVA et al., 2019). Programas nacionais como BIOTA e CEPID, financiados pela FAPESP, incentivam a pesquisa integrada voltada à conservação ambiental e ao desenvolvimento sustentável, promovendo a exploração racional da biodiversidade para fins terapêuticos (FAPESP, 2022). Entre as espécies vegetais de interesse destaca-se *Piper tuberculatum* (pimenta-d'arda), amplamente utilizada na medicina tradicional como analgésico e antiofídico (FERREIRA et al., 2025). Estudos fitoquímicos e farmacológicos têm demonstrado que seus extratos e alcaloides – em especial a piplartina, uma amida alquílica, apresentam expressiva atividade biológica, incluindo efeitos antinociceptivos, antiproliferativos e antiparasitários, com registros de eficácia contra helmintos como *Schistosoma mansoni* (COSTA et al., 2023).

Dessa forma, este projeto propõe avaliar a atividade anti-helmíntica da piplartina frente a larvas L1 de *A.cantonensis* por meio de ensaios *in vitro* (DE CARVALHO et al., 2021; MORAIS et al., 2021 ROQUINI et al., 2022). A escolha desse modelo experimental justifica-se pela relevância biomédica do parasita, sua viabilidade laboratorial e sua aplicabilidade como plataforma para a triagem de candidatos terapêuticos. Espera-se que os resultados obtidos contribuam significativamente para o avanço no desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas contra helmintíases, além de reforçar o valor estratégico da biodiversidade brasileira como fonte de inovação em saúde pública e medicina translacional.

3. OBJETIVOS

3.1 Gerais

Avaliar a atividade anti-helmíntica da piplartina, isolada de *Piper tuberculatum*, contra larvas L1 de *A.cantonensis* em ensaios *in vitro*, visando investigar seu potencial como alternativa farmacêutica no tratamento de helmintíases.

3.2 Específicos

- 1) Isolar e caracterizar a piplartina a partir de *Piper tuberculatum* por métodos cromatográficos e espectroscópicos.
- 2) Avaliar a atividade anti-helmíntica da piplartina contra larvas L1 de *Angiostrongylus cantonensis* em diferentes concentrações.
- 3) Determinar a concentração letal média (CL50) da piplartina em ensaios *in vitro*.
- 4) Investigar possíveis alterações morfológicas nas larvas tratadas por meio de microscopia óptica.

4. METODOLOGIA

Os estudos *in vitro* serão realizados com larvas de primeiro estágio (L1). Os experimentos serão realizados nas mesmas condições da proposta para *S.mansoni*, respeitando-se as diferentes fases evolutivas dos nematoides. Larvas L1 serão incubados em placas de cultura de células (100 larvas/poço) contendo meio RPMI 1640 e antibióticos (penicilina 100UI/mL e estreptomicina 100 µg/mL). Inicialmente, a amostra será avaliada na concentração de 200 µM para uma triagem prévia. Posteriormente, a amostra ativa será testada usando diferentes concentrações (100, 50, 25, 12,5 6,25 3,125 1,562 µM) após 24h de exposição, a mobilidade das larvas dentro dos poços será examinada em microscópio invertido acoplado com câmera de captura de imagem.

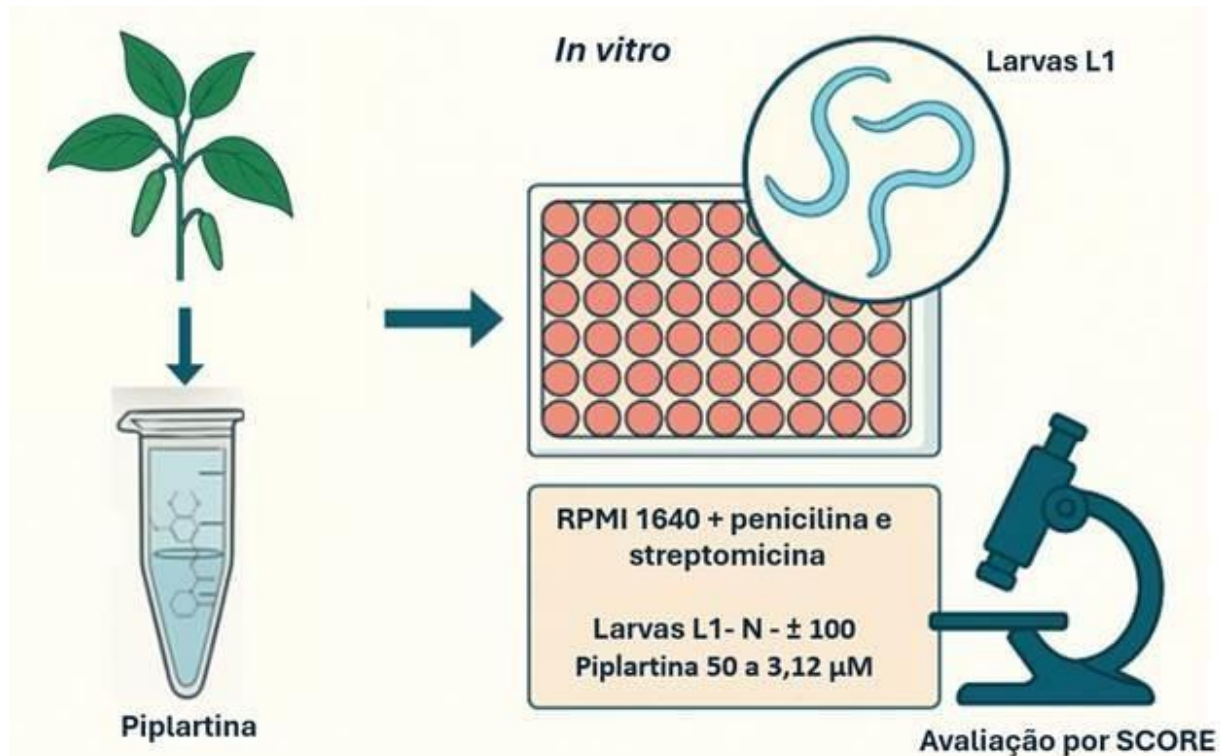


Figura 1. Representação dos testes *in vitro* em larvas L1 de *A. cantonensis*

O score correspondente para um movimento específico foi atribuído para cada larva, com base nas características fenotípicas descritas na figura

2. A substância foi considerada “ativa” quando houve alteração da motilidade em pelo menos 60% das larvas (score 1 a 4). Todos os experimentos foram realizados em triplicata e repetidos pelo menos três vezes.

Tabela 1: Critérios de avaliação do efeito dos fármacos em L1 de *Angiostrongylus cantonensis*.

Estado da larva	Score
Normalmente ativa	4
Atividade reduzida	3
Uma parte do corpo com mobilidade	2
Imóvel	1

4.1 Análises Microscópicas

Durante estudos *in vitro*, as larvas L1 foram monitoradas microscopicamente usando um microscópio invertido acoplado com câmera full hd 5.0 megapixels (bel engineering inv 100, Monza, mb, italia).

4.2 Análises Estatísticas

Todos os dados gráficos e análises estatísticas serão realizados com o software *graphpad prism* versão 8.0. os valores correspondem a pelo menos três experimentos independentes realizados em triplicata.

4.3 Comitê de Ética CEUA

Procedimentos aprovados pelo CEUA da Universidade Brasil (protocolo nº 064/24), conforme Resolução Normativa nº 37/2018 do CONCEA.

5. DESENVOLVIMENTO

As helmintíases são classificadas como doenças tropicais negligenciadas (DTNs) devido à sua alta incidência e à escassez de investimentos em pesquisa, prevenção e tratamento. Essas infecções persistem como importantes causas de morbidade em regiões de baixa renda, especialmente entre populações que enfrentam condições precárias de saneamento, habitação e acesso à saúde. Dentre os principais desafios enfrentados no controle dessas parasitoses destaca-se a limitação terapêutica: o arsenal farmacológico disponível é restrito, frequentemente baseado em benzimidazóis e derivados, cuja eficácia tem sido comprometida pela resistência crescente dos parasitas e pela baixa taxa de inovação no desenvolvimento de novos antiparasitários.

Nesse cenário, *Angiostrongylus cantonensis* emerge como um modelo experimental de grande relevância. Este nematoide, agente etiológico da angiostrongilíase, possui ciclo biológico bem caracterizado em condições laboratoriais, permitindo sua manutenção experimental por meio da infecção de hospedeiros intermediários (moluscos) e definitivos (roedores). Em humanos, a infecção acidental pode resultar em quadros clínicos graves, como meningite eosinofílica, sendo, portanto, um parasita de importância crescente em saúde pública. Além disso, a facilidade de obtenção das formas larvais, especialmente a fase L1, e a reprodutibilidade dos ensaios *in vitro* reforçam sua aplicabilidade como plataforma para triagem de compostos bioativos com potencial anti-helmíntico.

Frente à demanda por novas estratégias terapêuticas, os produtos naturais ganham destaque como fontes promissoras de novas moléculas com atividade antiparasitária. Compostos isolados de plantas medicinais apresentam características desejáveis, como diversidade estrutural, multifuncionalidade biológica e, frequentemente, menor toxicidade em relação a compostos sintéticos. O Brasil, detentor de uma biodiversidade singular, possui um vasto acervo de espécies vegetais com uso tradicional na medicina popular, cuja investigação científica pode gerar alternativas inovadoras e sustentáveis para o tratamento de doenças negligenciadas.

Entre essas espécies, *Piper tuberculatum* (pimenta-d'arda), pertencente à família Piperaceae, tem sido objeto de estudos devido à presença de alcaloides e amidas alquílicas com reconhecida atividade biológica. A piplartina, principal composto isolado dessa planta, já demonstrou efeitos antiparasitários relevantes, incluindo atividade contra *Schistosoma mansoni* e outros patógenos. Sua estrutura química, associada a mecanismos como indução de estresse oxidativo e alteração da permeabilidade de membranas, justifica sua avaliação frente a diferentes alvos parasitários.

Neste estudo, propõe-se a avaliação da atividade anti-helmíntica da piplartina frente a larvas L1 de *A. cantonensis*, por meio de ensaios *in vitro* padronizados. Ao explorar a biodiversidade brasileira com foco em inovação farmacêutica, este trabalho reforça a importância da ciência translacional e da integração entre saúde humana, animal e ambiental no enfrentamento das doenças negligenciadas, em consonância com os princípios da abordagem One Health.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A piplartina, um composto isolado da espécie *Piper tuberculatum*, demonstrou significativa atividade antiparasitária contra larvas do helminto *Angiostrongylus cantonensis*, superando o fármaco de referência albendazol. Os ensaios *in vitro* revelaram que o composto promoveu uma redução dose-dependente da viabilidade das larvas, com imobilização quase total observada a partir da concentração de 10 μM .

Especificamente, para larvas de primeiro estágio (L1), a piplartina apresentou um valor de EC_{50} de $8,3 \pm 0,9 \mu\text{M}$, significativamente mais eficaz que o albendazol ($\text{EC}_{50} = 14,2 \pm 1,1 \mu\text{M}$; $p < 0,01$). Já para larvas de terceiro estágio (L3), a atividade também foi superior, com EC_{50} de $10,4 \pm 0,7 \mu\text{M}$, comparada ao valor obtido para o albendazol ($\text{EC}_{50} = 15,6 \pm 1,2 \mu\text{M}$; $p < 0,01$).

Durante os experimentos, foi possível observar alterações fenotípicas nas larvas tratadas, como encolhimento corporal e danos evidentes na região caudal. Essas alterações permitiram a classificação dos efeitos larvicidas por meio de um sistema de score, distinguindo entre imobilidade parcial e total.

Além da eficácia, a piplartina demonstrou perfil seletivo e reprodutível, indicando seu potencial como protótipo para o desenvolvimento de novos fármacos anti-helmínticos. A análise aprofundada da sua atividade poderá fornecer subsídios para a elucidação de mecanismos de ação distintos dos medicamentos atualmente disponíveis, o que representa uma vantagem frente à crescente resistência parasitária.

Por fim, os achados reforçam o potencial da biodiversidade brasileira como fonte estratégica para a descoberta de novas alternativas terapêuticas no combate às doenças negligenciadas, contribuindo para a ampliação do arsenal farmacológico e para a mitigação dos impactos na saúde pública.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, D. O. et al. Natural products and biotechnological approaches for neglected tropical diseases: a review. *Frontiers in Pharmacology*, v. 12, p. 700748, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.700748>.

BANDA, Gift Treighcy; DERIBE, Kebede; DAVEY, Gail. How can we better integrate neglected tropical disease prevention, treatment, control and elimination programs with other health interventions? A systematic review. *BMJ Global Health*, v. 6, n. 10, p. e006968, Oct. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmjgh-2021-006968>.

CARVALHO, L. S. A. de et al. Cardamonin presents in vivo activity against *Schistosoma mansoni* and inhibits potato apyrase. *Chemistry & Biodiversity*, v. 18, n. 11, p. e2100604, Nov. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100604>.

COSTA, D. S. et al. Antiparasitic properties of 4-nerolidylcatechol from *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. (Piperaceae) in vitro and in mice models with either prepatent or patent *Schistosoma mansoni* infections. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 313, p. 116607, 15 Sept. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116607>.

DA SILVA, L. M. et al. Bioactive compounds from Brazilian biodiversity: potential sources of antiparasitic agents. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 244, p. 112141, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112141>.

FAPESP. Programa BIOTA-FAPESP: biodiversidade, conservação e sustentabilidade. 2022. Disponível em: <https://fapesp.br/biota>. Acesso em: 29 set. 2025.

FERREIRA, E. A. et al. In vivo efficacy of uvangoletin from *Piper aduncum* (Piperaceae) against *Schistosoma mansoni* and in silico studies targeting SmNTPDases. *Experimental Parasitology*, v. 269, p. 108897, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2024.108897>.

GBD 2019 DISEASES AND INJURIES COLLABORATORS. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet*, v. 396, n. 10258, p. 1204– 1222, 17 Oct. 2020. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30925-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30925-9).

KEISER, J.; UTZINGER, J. The drugs we have and the drugs we need against major helminth infections. *Advances in Parasitology*, v. 73, p. 197–230, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385897-9.00002-9>.

MORAIS, C. S. et al. Pyrazoline derivatives as promising novel antischistosomal agents.

Scientific Reports, v. 11, p. 23437, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02947-6>.

ROQUINI, D. B. et al. Suscetibilidade de *Angiostrongylus cantonensis* larvas a medicamentos anti-helmínticos. *Frontiers in Pharmacology*, v. 13, p. 901459, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.901459>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Neglected tropical diseases. Geneva: WHO, 2023. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/neglected-tropical-diseases#tab=tab_1. Acesso em: 29 set. 2025.

Declaro, para os devidos fins, que este trabalho é original e que todas as fontes utilizadas foram devidamente referenciadas.

ANEXO A

Declaração de Uso de Inteligência Artificial (IA)

Eu, Camila da Silva Amorim, responsável pelo projeto científico intitulado “Potencial anti-helmíntico piplartina isolada de *Piper tuberculatum* contra larvas de *Angiostrongylus cantunensis*”, declaro para os devidos fins que:

(X) Houve utilização de ferramentas de Inteligência Artificial durante o desenvolvimento deste projeto, conforme descrito no quadro abaixo:

Etapa do Projeto ¹	Ferramenta de IA utilizada ²	Descrição ³ do uso	Nº da página
Resumo	ChatGPT	Ferramenta destinada somente a formatação textual, sem influência na elaboração de dados, análises ou resultados científicos.	2
Abstract	ChatGPT	Ferramenta destinada somente a formatação textual, sem influência na elaboração de dados, análises ou resultados científicos.	2 e 3
Introdução	ChatGPT	Ferramenta destinada somente a formatação textual, sem influência na elaboração de dados, análises ou resultados científicos.	3 e 4
Desenvolvimento	ChatGPT	Ferramenta destinada somente a formatação textual, sem influência na elaboração de dados, análises ou resultados científicos.	7 e 8
Considerações Finais	ChatGPT	Ferramenta destinada somente a formatação textual, sem influência na elaboração de dados, análises ou resultados científicos.	8 e 9

¹ Parte do projeto, por **exemplo**: Introdução, Desenvolvimento, etc.

² Nome da IA, por **exemplo**: Perplexity a.i, ChatGPT, etc.

³ Conforme citado na Declaração de uso da IA descrever o uso de acordo com a finalidade, **exemplo**: Uso da Sonix ai para fazer a transcrição com alta precisão das entrevistas, etc.

Ressalto que todas as informações geradas por IA foram devidamente revisadas e validadas por mim, garantindo a integridade e a veracidade dos resultados apresentados.

() Não houve utilização de ferramentas de Inteligência Artificial em nenhuma etapa do desenvolvimento deste projeto. Todo o conteúdo, análise e produção apresentados são de minha autoria e responsabilidade.

Declaro estar ciente da importância da transparência e da ética na condução de pesquisas científicas, comprometendo-me com a veracidade das informações aqui prestadas.

Guarulhos, 15 de outubro de 2025

Camila da Silva Amorim

Assinatura:



A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'Amorim', is positioned below the 'Assinatura:' label. The signature is stylized, with a large initial 'A' and a cursive 'amorim'.