



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOTECNOLOGIA

DÉBORA VERÔNICA SARMENTO PEREIRA DA SILVA

Potencial esquistossomicida de novos compostos tiazóis: atividade *in vitro*, análise ultraestrutural e propriedades farmacocinéticas *in sílico* contra casais de vermes adultos de *Schistosoma mansoni*

Recife
2022

DÉBORA VERÔNICA SARMENTO PEREIRA DA SILVA

Potencial esquistossomicida de novos compostos tiazóis: atividade *in vitro*, análise ultraestrutural e propriedades farmacocinéticas *in sílico* contra casais de vermes adultos de *Schistosoma mansoni*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de mestre em Morfotecnologia. Área de concentração: Morfologia e Inovações Tecnológicas.

Orientador (a): Prof. Dr. André de Lima Aires

Coorientador (a): Profa. Dra. Anekécia Lauro da Silva

Coorientador (a): Dr. Hallysson Douglas Andrade de Araújo

Recife

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Silva, Débora Sarmiento Pereira da

Potencial esquistossomicida de novos compostos tiazóis: atividade *in vitro*, análise ultraestrutural e propriedades farmacocinéticas *in silico* contra casais de vermes adultos de *Schistosoma mansoni* / Débora Sarmiento Pereira da Silva– 2022.

87 f. : il., fig., tab.

Orientador: André de Lima Aires

Coorientadores: Anekécia Lauro da Silva e Hallysson Douglas Andrade

de Araújo

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia, Recife, 2022.

Inclui referências.

1. Esquistossomose 2. Tiazóis 3. Microscopia eletrônica I. Aires, André de Lima (orient.) II. Silva, Anekécia Lauro da (coorient.) III. Araújo, Hallysson Douglas Andrade de (coorient.) IV. Título

616.963

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023 -219

DÉBORA VERÔNICA SARMENTO PEREIRA DA SILVA

**POTENCIAL ESQUISTOSSOMICIDA DE NOVOS COMPOSTOS TIAZOIS:
atividade *in vitro*, análise ultraestrutural e propriedades farmacocinéticas
in sílico contra casais de vermes adultos de *Schistosoma mansoni***

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Morfotecnologia da Universidade
Federal de Pernambuco, como
requisito para obtenção do título de
mestre em Morfotecnologia. Área de
concentração: Morfologia e
Inovações Tecnológicas.

Aprovado em: 25/10/2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. André de Lima Aires
(Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dra. Maria do Carmo Alves de Lima
(Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Iranildo José da Cruz Filho
(Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Hianna Arely Milca Fagundes Silva
(Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

DEDICATÓRIA

Este trabalho foi realizado durante a pandemia do COVID-19, um período muito sensível e delicado da minha vida e do mundo, particularmente, foi um grande desafio desenvolvê-lo juntamente com a elaboração de um luto individual e coletivo. Por isso, dedico *in memoriam* a Alessandro Humberto Lira Sarmiento Junior, que esteve presente em todas as minhas conquistas e sempre me fazer rir em momentos difíceis da vida acadêmica e pessoal.

AGRADECIMENTOS

Agradeço todo apoio e estímulo das principais pessoas da minha vida: Kátia Verônica Sarmento, Vera Lúcia Maria Sarmento e Artur Oliveira Santiago. Também quero agradecer a todos os amigos e profissionais que se fizeram presentes e colaboraram com meu crescimento nesses últimos anos. Por fim, agradeço o suporte dos meus orientadores professores Dr. André de Lima Aires e Dra. Anekécia Lauro da Silva pela orientação e à CAPES.

RESUMO

A esquistossomose é uma doença infecto parasitária de países tropicais e subtropicais e tem como agente etiológico espécies do gênero *Schistosoma spp.* A infecção tem alto impacto epidemiológico, visto que é endêmica em dezenas de países, sendo causa de aproximadamente 200.000 óbitos todos os anos. A esquistossomose mansônica é uma doença crônica que tem o fígado, intestino e baço como principais órgãos de acometidos. Na falta de vacina, saneamento básico e políticas públicas eficazes para reduzir ou erradicar a doença, atualmente a estratégia amplamente utilizada contra a esquistossomose é o tratamento realizado unicamente com Praziquantel. Dessa forma, o presente trabalho avaliou o potencial esquistossomicida de novos derivados tiazóis, *in vitro*, contra vermes jovens e casais de vermes adultos de *S. mansoni*. Quanto aos estudos, foram realizados o teste de citotoxicidade promovidos pelos compostos frente a linhagens celulares de macrófagos RAW.264.7, fibroblastos V79, células Vero e hepatoma (HepG2); a avaliação da atividade hemolítica *in vitro*; avaliação da motilidade e mortalidade de vermes adultos; determinado o índice de seletividade; análise ultraestrutural e avaliação *in silico* dos parâmetros farmacocinéticos dos compostos. O presente trabalho teve como objetivo a realização de ensaios biológicos *in vitro* de compostos tiazóis contra vermes adultos de *Schistosoma mansoni*, bem como a determinação *in silico* dos parâmetros farmacocinéticos para prever a biodisponibilidade oral desses compostos. Além de apresentarem citotoxicidade moderada a baixa contra células de mamíferos, os compostos tiazóis não foram considerados hemolíticos. Todos os compostos foram inicialmente testados em concentrações que variaram de 200 a 6,25 μM contra vermes adultos de parasitas *S. mansoni*. Os resultados mostraram melhor atividade com os compostos PBT2 e PBT5 na concentração de 200 μM , que causou 100% de mortalidade após 3 h de incubação. Enquanto às 6 h de exposição, 100% de mortalidade foi observada na concentração de 100 μM . Estudos posteriores com estes mesmos compostos permitiram classificar os compostos PBT5, PBT2, PBT6 e PBT3, que foram considerados ativos e os compostos PBT1 e PBT4, que foram considerados inativos. Na análise ultraestrutural os compostos PBT2 e PBT5 (200 μM) promoveram alterações tegumentares nos parasitos com exposição da musculatura, formação de bolhas tegumentares, tegumentos com morfologia anormal e destruição de tubérculos e espículas. Portanto, os compostos PBT2 e PBT5 são antiparasitários promissores contra *S. mansoni*.

Palavras-chave: *Schistosoma mansoni*; tiazóis; microscopia eletrônica; ADMET

ABSTRACT

Schistosomiasis is an infectious parasitic disease of tropical and subtropical countries and its etiological agent is species of the genus *Schistosoma spp.* The infection has a high epidemiological impact, as it is endemic in dozens of countries and causes approximately 200,000 deaths every year. *Schistosomiasis mansoni* is a chronic disease in which the liver, intestine and spleen are the main organs affected. In the absence of a vaccine, basic sanitation and effective public policies to reduce or eradicate the disease, the current strategy widely used against schistosomiasis is treatment with Praziquantel alone. This study therefore evaluated the schistosomicidal potential of new thiazole derivatives in vitro against young worms and pairs of adult worms of *S. mansoni*. As for the studies, cytotoxicity tests were carried out on RAW.264.7 macrophage cell lines, V79 fibroblasts, Vero cells and hepatoma cells (HepG2); evaluation of hemolytic activity in vitro; evaluation of motility and mortality of adult worms; determination of the selectivity index; ultrastructural analysis and in silico evaluation of the pharmacokinetic parameters of the compounds. The aim of this study was to carry out in vitro biological tests of thiazole compounds against adult *Schistosoma mansoni* worms, as well as to determine in silico pharmacokinetic parameters to predict the oral bioavailability of these compounds. In addition to showing moderate to low cytotoxicity against mammalian cells, the thiazole compounds were not found to be hemolytic. All the compounds were initially tested at concentrations ranging from 200 to 6.25 μM against adult worms of *S. mansoni* parasites. The results showed better activity with compounds PBT2 and PBT5 at a concentration of 200 μM , which caused 100% mortality after 3 h of incubation. At 6 h of exposure, 100% mortality was observed at a concentration of 100 μM . Further studies with these same compounds made it possible to classify the compounds PBT5, PBT2, PBT6 and PBT3, which were considered active, and the compounds PBT1 and PBT4, which were considered inactive. In the ultrastructural analysis, the compounds PBT2 and PBT5 (200 μM) caused tegumental alterations in the parasites with exposure of the musculature, formation of tegumental blisters, teguments with abnormal morphology and destruction of tubercles and spicules. Therefore, compounds PBT2 and PBT5 are promising antiparasitic agents against *S. mansoni*.

Keywords: Schistosomiasis; *Schistosoma mansoni*; thiazoles.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

DISSERTAÇÃO

Figura 1 -	Distribuição global das espécies de <i>Schistosoma</i>	18
Figura 2 –	Expansão da esquistossomose mansonii no Brasil	19
Figura 3 -	Distribuição da esquistossomose mansonii no Brasil de acordo com inquéritos coproscópicos	20
Figura 4 -	Divisão do estado de Pernambuco nas macrorregiões	20
Figura 5 -	Ciclo biológico do <i>S. mansonii</i> .	24
Figura 6 –	Estrutura química do praziquantel.	29
Figura 7 –	Estrutura química do tiazol	32
Figura 8 –	Esquema de síntese dos Tiazóis	36

ARTIGO 1 - POTENCIAL ESQUISTOSSOMICIDA DE NOVOS COMPOSTOS TIAZOIS: atividade *in vitro*, análise ultraestrutural e propriedades farmacocinéticas *in silico* contra casais de vermes adultos de *Schistosoma mansonii*

Figura 1 -	Esquema de síntese dos tiazóis	45
Figura 2 -	Análise da biodisponibilidade: gráficos radar para os compostos, PBT-01 (A), PBT-02 (B), PBT-03 (C), PBT-04 (D), PBT-05 (D) e PBT-06 (E) respectivamente	56
Figura 3 -	Citotoxicidade promovida pelos compostos frente a células de macrófagos RAW.264.7 (A), fibroblastos V79 (B), células Vero (C) e células hepáticas HepG2 (D) respectivamente.	57
Figura 4 -	Resultados de atividade hemolítica em diferentes concentrações promovidas pelos compostos tiazóis. Controle 1 (apenas meio de cultura) e controle 2 (praziquantel a uma concentração de 400 µM).	59
Figura 5 -	Viabilidade celular de casais de <i>Schistosoma mansonii</i> tratados com Praziquantel (PQZ - 10 µM) e com derivados tiazóis (PBT-01, PBT-02 e PBT-03) após 120 h de incubação. C1: grupo de casais de vermes incubados em meio RPMI. C2: grupo de casais de vermes incubados em meio 1% de DMSO em RPMI.	67

- Figura 6 - Viabilidade celular de casais de *Schistosoma mansoni* tratados com praziquantel (PQZ - 10 μ M) e com derivados tiazóis (PBT-04, PBT-05 e PBT-06) após 120 h de incubação. C1: grupo de casais de vermes incubados em meio RPMI. C2: grupo de casais de vermes incubados em meio 1% de DMSO em RPMI. 68
- Figura 7 - (A-D) Imagens de vermes adultos de *S. mansoni* não tratados após 24 h de observação. (A) Ventosa oral (OS) e ventral (VS) de verme fêmea adulto. (B) Fissuras paralelas (FI) e espinhos (C) do canal ginecóforo (GC) do verme macho adulto (D) Tubérculos (TU) com espículas (S). Imagens SEM de *S. mansoni* tratado com praziquantel (10 μ M) após 24 h de observação. (E-F e G) Vermes mostrando corpo contorcido (seta). (H) Danos severos ao tegumento, com o aparecimento de bolhas de rutura (BU) com perda de espículas. 70
- Figura 8 - Imagens SEM (A-F) de vermes adultos de *S. mansoni* tratados com PBT2 e PBT5 (200 μ M) após 24 h de observação. (A-C) Vermes machos com extensa desintegração do tegumento (DI), aparecimento de erosões (ER) e bolhas (BU), em todo o corpo. (D-F) Vermes fêmeas com extensa desintegração do tegumento (DI) e erosões (ER), com aparecimento e bolhas (BU), no tecido subcutâneo (TS). 71

LISTA DE TABELAS

DISSERTAÇÃO

Tabela 1 -	Medicamentos contendo o anel tiazol	32
Tabela 2 -	Fármacos promissores contendo o tiazol	33

ARTIGO 1 - POTENCIAL ESQUISTOSSOMICIDA DE NOVOS COMPOSTOS TIAZOIS: atividade *in vitro*, análise ultraestrutural e propriedades farmacocinéticas *in sílico* contra casais de vermes adultos de *Schistosoma mansoni*

Tabela 1 -	Avaliação e predição <i>in sílico</i> dos parâmetros farmacocinéticos da ADME	52
Tabela 2 -	Citotoxicidade dos compostos, expressos em CC50 (capacidade de inibição do crescimento em 50%), obtidos pelos compostos contra células macrofágicas RAW.264.7, fibroblastos V79, células Vero e células hepáticas HepG2, em comparação com o padrão praziquantel, respetivamente	58
Tabela 3 -	Escore de motilidade de vermes adultos controle, tratados com Praziquantel (PQZ -10 µM) ou com derivados tiazóis (PBT-02, PBT-05 e PBT-06) após 3, 6, 12 e 24 h de incubação.	62
Tabela 4 -	Pontuação da motilidade de vermes adultos de controlo, tratados com Praziquantel (PQZ -10 µM) ou com compostos de tiazóis (PBT1 - PBT6 (200 - 6,25 µM)) após 24 - 120 h de incubação.	64
Tabela 5 -	Resultados de IC ₅₀ (inibição do crescimento em 50%) e índice de seletividade promovido pelos compostos tiazóis comparados ao praziquantel.	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DMSO	Dimetilsulfóxido
HepG2	Célula de hepatocarcinoma humano
MTT	(3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-brometo de difeniltetrazólio)
NaCl	Cloreto de sódio
OMS	Organização Mundial da Saúde
PZQ	Praziquantel
<i>S. mansoni</i>	<i>Schistosoma mansoni</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3 REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1 EPIDEMIOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE	17
3.2 MORFOLOGIA E BIOLOGIA DO <i>Schistosoma mansoni</i>	21
3.3 TRANSMISSÃO E CICLO BIOLÓGICO	24
3.4 ASPECTOS CLÍNICOS E FISIOPATOLÓGICOS DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI	26
3.5 TRATAMENTO	27
3.6 DERIVADOS TIAZOIS	31
4 MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1 REAGENTES E SOLVENTES	35
4.2 SÍNTESE DOS NOVOS DERIVADOS TIAZÓIS	35
4.3 AVALIAÇÃO IN SILICO DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS ABSORÇÃO, DISTRIBUIÇÃO, METABOLISMO, EXCREÇÃO, TOXICIDADE (ADMET) E PREVISÃO DA BIODISPONIBILIDADE ORAL	36
4.4 CULTIVO E MANUTENÇÃO DE LINHAS CELULARES DE MACRÓFAGOS RAW.264.7, FIBROBLASTOS V79, CÉLULAS VERO E HEPATOMA (HEPG2)	36
4.5 ENSAIOS DE CITOTOXICIDADE CELULAR DE MACRÓFAGOS RAW 264 .7, FIBROBLASTOS V79 E HEPATOMA (HEPG2)	37
4.6 ATIVIDADE HEMOLÍTICA <i>IN VITRO</i>	38
4.7 ATIVIDADE ESQUISTOSSOMICIDA <i>IN VITRO</i>	39
4.7.1 Comitê de Ética, animais e infecção	39
4.7.2 Recuperação de vermes e avaliação esquistossomicida in vitro de	39
4.7.3 Avaliação da motilidade e da mortalidade dos vermes adultos	40
4.7.4 Ensaio de viabilidade celular de vermes adultos	40
4.7.5 Determinação do índice de seletividade	41
4.8 ESTUDO DAS ALTERAÇÕES ULTRAESTRUTURAIS DO TEGUMENTO POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	41
4.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	41

5 ARTIGO.....	42
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	73
REFERÊNCIAS.....	74

1 INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma doença infecto parasitária de países tropicais e subtropicais e tem como agente etiológico espécies do gênero *Schistosoma spp* (CHUAH et al., 2019). A infecção tem alto impacto epidemiológico, visto que é endêmica em 78 países e representa ameaça iminente de infecção para 700 milhões de pessoas, além disso, a doença acomete 240 milhões de pessoas no mundo, constituindo a causa de aproximadamente 200.000 óbitos todos os anos (WHO, 2020). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), *S. intercalatum*, *S. japonicum*, *S. hematobium*, *S. mekongi* e *S. mansoni* são as cinco espécies de importância médica. A última espécie é responsável pela patologia no Brasil (esquistossomose mansônica), apresentando-se endêmica em 19 unidades federativas, fazendo com que seja um país com alta taxa de morbimortalidade (KATZ et al., 2018). Em Pernambuco, há destaque para a Zona da Mata e Regiões Litorâneas e Metropolitanas do Recife, sendo o estado que apresenta maior taxa de internação hospitalar e mortalidade no país (BARBOSA et al., 2018).

A esquistossomose mansônica é uma doença crônica que tem o fígado, intestino e baço como principais órgãos de acometidos. Dessa forma, causa diversas alterações no sistema hepatoesplênico e trato gastrointestinal, podendo causar os quadros mais comuns desta patologia: hepatoesplenomegalia, ascite e hipertensão portal (BARSOUM; ESMAT; EL-BAZ, 2013; GLASER et al. 2015;). Na falta de vacina oferecida pelo Sistema Único de Saúde, saneamento básico e políticas públicas eficazes para reduzir ou erradicar a doença, atualmente a estratégia utilizada para reduzir a prevalência da esquistossomose é o tratamento realizado unicamente com Praziquantel (PZQ) (DINIZ et al., 2014; ROSS et al., 2015). Trata-se de um medicamento com alta taxa de cura, efeito ovicida e baixos efeitos colaterais, contudo, apresenta ação apenas nos vermes adultos de *Schistosoma spp* (GARBA et al., 2013). Devido a inexistência de compostos com a mesma eficácia, PZQ vem sendo amplamente utilizado para o tratamento da esquistossomose desde a década de 70, e em países endêmicos, é utilizado como forma de profilaxia através do tratamento em massa da população, locais em que já foi relatado o desenvolvimento da resistência e/ou

tolerância das cepas de *S. mansoni* frente ao PZQ (ZWANG; OLLIARO, 2014; MENDONÇA et al., 2016; VALE et al., 2017).

Esse cenário encoraja novas pesquisas para a busca de alternativas terapêuticas, para controle e tratamento da esquistossomose. Como alternativa de estudo para desenvolvimento de novos compostos esquistossomicidas, estão os derivados tiazóis produzidos pela química médica. São uma classe de heterocíclicos aromáticos de cinco membros amplamente estudada, com o enxofre e nitrogênio em sua composição (CHHABRIA et al., 2016). Foi primeiramente descrito por Hantzsch e Weber (1887) e vem sendo considerada uma importante classe encontrada em muitos fármacos como: sulfatiazóis (antimicrobiano), ritonavir (antirretroviral), abafungin (antifúngico) e tiazofurin (antineoplásico). Além disso, já foram relatadas diversas outras atividades dessa classe de composto, tais como: antineoplásica (LUZINA; POPOV, 2009), leishmanicida (BRITTA et al., 2014) e anti-*Trypanosoma cruzi* (GOMES et al., 2016), antimicrobiana (SANTIAGO et al., 2014), e efeito esquistossomicida (BARBOSA et al., 2019; PEREIRA et al, 2019). Ademais, na avaliação *in vitro* com derivados tiazóis realizada por Oliveira et al., (2018) foi possível notar uma inibição da oviposição, além da mortalidade de vermes imaturos e adultos de *S. mansoni*, demonstrando menor efeito citotóxico comparados ao PZQ.

Dessa forma, o presente trabalho avaliou o potencial esquistossomicida de novos compostos tiazóis, através da atividade *in vitro*, análise ultra-estrutural e propriedades farmacocinéticas *in silico* contra casais de vermes adultos de *S. mansoni*.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL:

Avaliar o potencial esquistossomicida de novos compostos tiazóis, através da atividade *in vitro*, análise ultra-estrutural e propriedades farmacocinéticas *in sílico* contra casais de vermes adultos de *S. mansoni*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Avaliar a citotoxicidade dos compostos em linhagens celulares de macrófagos RAW.264.7, fibroblastos V79, células Vero e hepatoma (HepG2);
- Analisar atividade hemolítica *in vitro*;
- Avaliar a motilidade e mortalidade de vermes adultos;
- Avaliar a viabilidade celular dos parasitos;
- Determinar o índice de seletividade;
- Avaliar *in sílico* os parâmetros farmacocinéticos dos compostos.

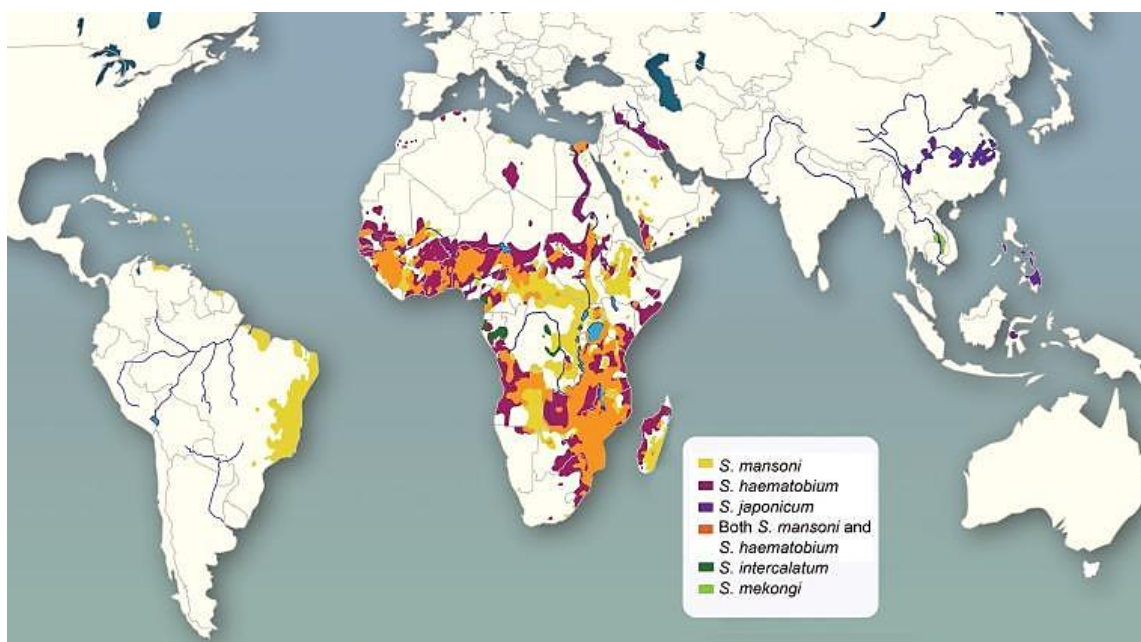
3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 EPIDEMIOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE

A esquistossomose é uma doença crônica tropical negligenciada, que tem como agente etiológico o parasita sanguíneo do gênero *Schistosoma spp.* Ocupa o segundo lugar das infecções parasitárias, perdendo apenas para a malária, é prevalente em áreas tropicais e subtropicais, acometendo principalmente indivíduos residentes de localidades sem saneamento básico (GRYSEELS et al. 2006). Afeta aproximadamente 240 milhões de pessoas no mundo, onde cerca de 700 milhões vivem em risco constante de infecção pois habitam em áreas endêmicas, além disso, é a responsável por cerca de 200.000 mil óbitos anualmente (WHO, 2020).

Entre as sete espécies causadoras da esquistossomose mostradas na figura 1, cinco possuem maior interesse médico: o *S. haematobium* é normalmente encontrado na África e Oriente Médio e é responsável pela esquistossomose urogenital devido a sua instalação no plexo nervoso pélvico; as espécies *S. intercalatum* (África Ocidental e Central), *S. mekongi* (Sudeste da África e rio de Mekong), *S. japonicum* (China, Indonésia e Filipinas) e *S. mansoni* (Américas, África, Oriente Médio e Índias Ocidentais) são responsáveis pela esquistossomose intestinal e hepática, pois são parasitos que se instalam na veias mesentéricas do indivíduo (CARVALHO et al., 2018). Vale ressaltar que é uma patologia de ciclo biológico heteroxênico, ou seja, é necessário a presença de um hospedeiro definitivo (homem) e o hospedeiro intermediário (molusco) do gênero *Biomphalaria spp* quando a espécie é *S. mansoni*. No Brasil, os responsáveis pela perpetuação do parasito como hospedeiros intermediários são as espécies *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea* (COLLEY et al., 2014; CARVALHO et al., 2018).

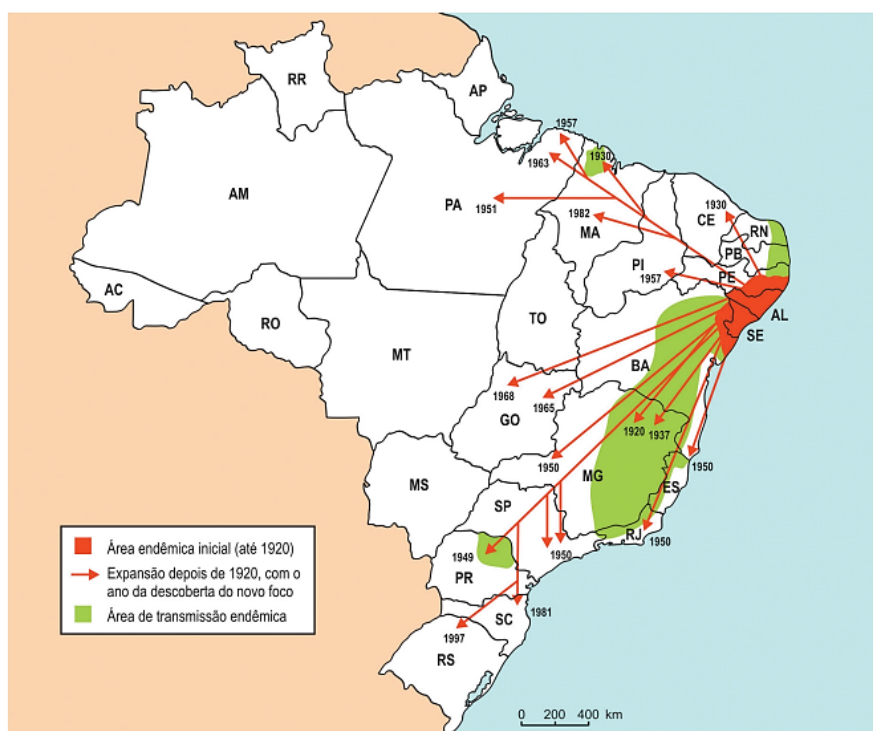
Figura 1: Distribuição global das espécies de *Schistosoma*.



Fonte: adaptado de Gryseels et al. (2006).

Nas Américas do Sul e Central, a única espécie prevalente é o *S. mansoni* pois neste território não há presença do hospedeiro intermediário suscetível à infecção das outras espécies (BRASIL, 2014). Dessa forma, é a espécie causadora da esquistossomose mansônica no Brasil. Acredita-se que a doença foi instalada no país através do tráfico de escravos da costa ocidental da África, chegando primeiramente em Recife e Salvador, e devido as condições favoráveis para seu desenvolvimento e permanência (molusco do gênero *Biomphalaria* e clima) espalhando-se pelo Nordeste e migrou para os demais estados do país como ilustrado (Figura 2) (MARTINS et al., 2019). Estima-se que no período de 1975 a 2012, a doença atingiu uma positividade de 4,5 a 23,3% no Brasil, como maior prevalência no Nordeste (BARBOSA, 2014), ademais, a taxa de internação teve variação de 2,5 a 0,8/100.000 habitantes no período de 1988 a 2013 (BRASIL, 2014).

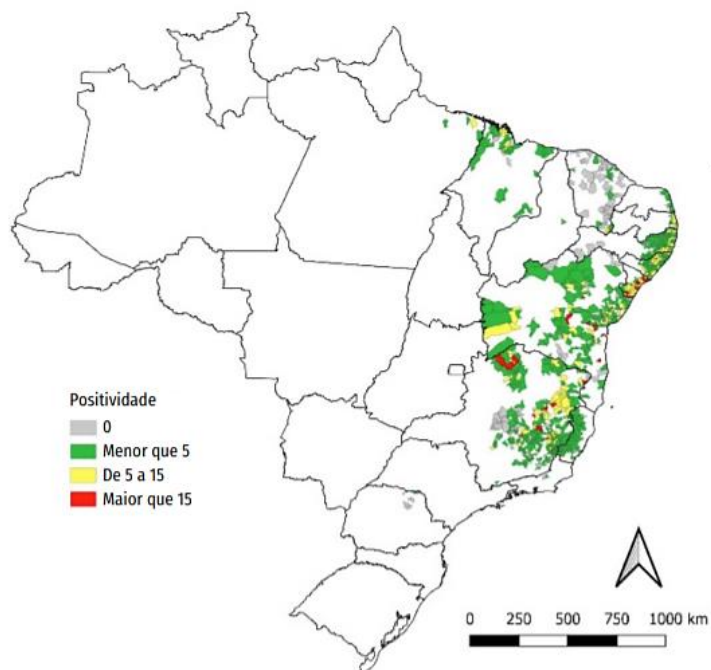
Figura 2: Expansão da esquistossomose mansoni no Brasil.



Fonte: Brasil (2014).

A esquistossomose mansoni está implantada em 19 estados brasileiros com prevalência na costa litorânea do Nordeste, contudo, devido a migração do parasito pelo país, é possível notar uma certa incidência nas demais regiões do país. É necessário ressaltar que mesmo com as formas de controle implantadas nas cidades, cerca de 17 milhões de pessoas estão vivendo em regiões com alto risco de contaminação, sendo que 80% residem na região Nordeste, tendo os estados endêmicos Alagoas, Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba, Sergipe, Espírito Santo e Minas Gerais (Figura 3) (BRASIL, 2014). Pernambuco é o estado com mais casos notificados de esquistossomose (GOMES, 2016), o estado é dividido em 12 regiões com a finalidade de organizar os serviços de saúde, regiões essas que são distribuídas em quatro macrorregiões como demonstrado (Figura 4): Metropolitana, Agreste, Sertão, e sub-região do Vale do São Francisco e Araripe, no qual a primeira compreende os municípios com alta taxa de notificação. Esse fenômeno está diretamente associado com sua localização, visto que está presente na faixa litorânea do estado onde é possível encontrar abundância de hospedeiro intermediário (BRITO; SILVA; QUININO, 2020).

Figura 3: Distribuição da esquistossomose mansoni no Brasil de acordo com inquéritos coproscópicos.



Fonte: Brasil (2014)

Figura 4: Divisão do estado de Pernambuco nas macrorregiões.



Fonte: Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco (2011).

3.2 MORFOLOGIA E BIOLOGIA DO *Schistosoma mansoni*

Schistosoma mansoni é um parasito trematódeo sanguíneo que pertence ao filo *Platyhelminthes*, Classe *Trematoda*, Ordem *Strigeiforme*, Família *Schistosomatidae* e gênero *Schistosoma*. As principais características deste parasita são o corpo achatado, dimorfismo sexual acentuado em que na fase adulta são encontrados nos vasos mesentéricos e são responsáveis pela doença crônica esquistossomose mansoni, visto que podem sobreviver por anos no corpo do indivíduo parasitado. Para descrever as características morfológicas e biológicas do *Schistosoma mansoni* é preciso considerar todos os estágios de desenvolvimento do parasito. Desde a liberação dos miracídios a partir de ovos maduros presentes em coleções hídricas de água doce, passando pelas formas evolutivas de esporocisto no hospedeiro intermediário e liberados como cercárias, até sua forma de esquistossômulos e vermes adultos no hospedeiro definitivo (NEVES, 2016).

O ovo é a forma evolutiva liberada no meio ambiente pelas fezes, apresentam um formato oval, possuindo o polo anterior mais delgado e o polo posterior mais espesso, em relação ao tamanho, quando maduros exibem aproximadamente 150 µm de comprimento e 60 µm de largura, além disso, há um espículo lateral voltado para trás localizado no polo posterior. É formado pelas glândulas vitelínicas e ovário das fêmeas e, quando liberado, são considerados imaturos pois o miracídio ainda não está formado no seu interior, após 7 dias, com a chegada do ovo na cavidade intestinal, o ovo já se encontra com o miracídio determinando assim sua fase madura. Normalmente há apenas um miracídio presente em ovos maduros, porém, já foi relatada a presença de ovos com dois miracídios em fezes humanas. Vale ressaltar que os ovos podem sobreviver nos tecidos do hospedeiro definitivo por cerca de 20 dias, caso não ocorra sua expulsão nas fezes o miracídio morrerá (DIAS; RIBEIRO, 1980; BRASIL, 2014; NEVES, 2016).

O miracídio, primeiro estágio de vida livre aquática, corresponde a fase larval do *S. mansoni*, possuindo tamanho médio de 180 µm de comprimento e 64 µm de largura, nele há células epidérmicas ciliadas e anucleadas, as quais são responsáveis pelo movimento aquático (NEVES, 2016). Observa-se na região anterior uma papila apical no formato de cone (*terebratorium*) que contém

glândulas de penetração, cílios maiores e espículos anteriores, estruturas importantes na penetração nos hospedeiros intermediários, os caramujos do gênero *Biomphalaria* (NEVES, 2016). A atração pelos moluscos está correlacionada a quimiorreceptores de fibras ligadas às células nervosas que captam substâncias, como glicoconjugados presente no muco do molusco (HAAS, 1995).

Durante a infecção do molusco, o miracídio sofre alterações estruturais logo após a penetração (BOYLE et al., 2003). A formação do esporocisto passa pela diferenciação das células germinativas, que mantém o sexo do miracídio de origem, além disso, a troca de nutrientes com o hospedeiro é realizada através do tegumento, já que não há boca nem sistema digestivo nesse estágio (YOSHINO; BOYLE; HUMPHRIES, 2001). Somente após 3 ou 4 semanas de desenvolvimento ocorre a maturidade, por fim, há liberação das cercárias através do poro de nascimento (BAYNE; GREVELDING, 2003).

Na segunda fase de vida livre aquática do parasito, a cercária apresenta corpo alongado e cilíndrico, com aproximadamente 500 µm de comprimento e uma cauda bifurcada, fundamental para seu deslocamento no ambiente aquático (NEVES, 2016). Ademais, a região anterior apresenta receptores sensoriais para sinais mecânicos, químicos e térmicos, além da ventosa oral, onde desembocam as glândulas de penetração (DORSEY et al., 2002). Outra estrutura importante é o acetábulo ou ventosa ventral, que exibe musculatura mais desenvolvida, esta é responsável pela fixação sua fixação na pele do hospedeiro definitivo, no qual ocorre a liberação de mucossubstâncias facilitadoras da adesão (DORSEY et al., 2002). Após a fixação, a cercária é estimulada por ácidos graxos a realizar a penetração cutânea no hospedeiro definitivo, acarretando alterações morfológicas, perde sua cauda no processo, se transformando em esquistossômulo (HAAS et al., 2002).

A passagem para a vida parasitária necessita de modificações bioquímicas e morfológicas, assim, o esquistossômulo passa a apresentar respiração anaeróbica, diminuição das glândulas secretoras e alterações no tegumento, além do acúmulo da proteína transportadora de glicose (SKELLY; SHOEMAKER, 2000). Além dessas características, nessa fase, o tubo digestivo passa a ser funcional, contendo vesículas que podem ser ricas em lisossomos

(SANTOS et al., 2001). Considerando a penetração do parasito nos tecidos, foi observado que os esquistossômulos orientam seu eixo ventral para os maiores gradientes químicos de *L*-arginina e *D*-glicose, que aumentam gradativamente ao adentrar as camadas da derme e no vaso sanguíneo, respectivamente (GRABE; HAAS, 2004). Após passar pela pequena circulação e chegar ao pulmão, há aumento no comprimento e estreitamento das extremidades, também é visto pigmento no ceco devido à digestão de hemoglobina, essas alterações na atividade e nas dimensões podem ser importantes para sua migração até o fígado (REY, 2001).

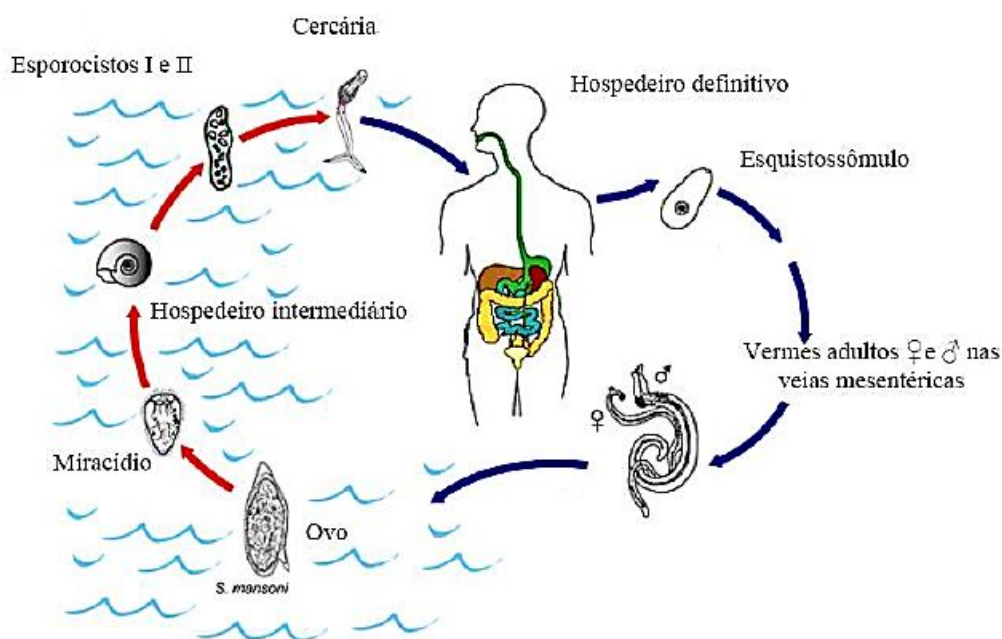
Uma vez que o parasito apresenta dimorfismo sexual, após a maturação, as fêmeas possuem cerca de 1,5 cm comprimento, sendo o ceco uma região de coloração escura, devido ao sangue semidigerido, além disso, apresenta corpo em formato cilíndrico, com extremidades afiladas e tegumento liso (NEVES, 2016). Na região anterior está a ventosa oral e o acetábulo, em seguida a vulva, o útero e ovário, já na região posterior há as glândulas vitelinas e o ceco (OLIVEIRA, 2000). Por outro lado, os machos são menores, medem aproximadamente 1 cm, possuem coloração esbranquiçada, nota-se também a presença de tubérculos no seu tegumento (NEVES, 2016). Na porção anterior está a ventosa oral e a ventral, já na posterior o canal ginecóforo, resultado das dobras laterais do corpo, essa é a estrutura que alberga as fêmeas e realiza a fecundação, através da liberação dos espermatozóides diretamente no poro genital (SILVA, 2008). Próximo à ventosa oral está presente o esôfago, que se bifurca na região do acetábulo e depois é fundido formando um único ceco (REY, 2001).

3.3 TRANSMISSÃO E CICLO BIOLÓGICO

A transmissão do *Schistosoma mansoni* para o hospedeiro definitivo ocorre após o contato da cercária com a pele ou mucosa do indivíduo. A penetração normalmente é relatada nas pernas e braços pois são os locais que frequentemente entram em contato com as coleções de água doce (rios, lagos, cachoeiras, açudes) contendo as cercárias. Além disso, essa forma evolutiva também pode penetrar a mucosa da cavidade oral através da ingestão de água contaminada (KATZ, 2003)

Para garantir sua sobrevivência, os parasitos devem sofrer inúmeras adaptações complexas, assim, é comum que seus ciclos biológicos consigam se adaptar aos diferentes meios (NEVES, 2016). Nesse contexto, o *S. mansoni* é um nítido exemplo de modificação adaptativa ao hospedeiro. O parasito possui ciclo heteroxênico (Figura 5), por isso, necessita de dois hospedeiros: os intermediários, os quais são moluscos do gênero *Biomphalaria* que vivem em coleções de água doce, nestes ocorre a fase de reprodução assexuada e o hospedeiro definitivo (homem) onde ocorre a reprodução sexuada (KATZ, 2003; NEVES, 2016).

Figura 5: Ciclo biológico do *S. mansoni*.



Fonte: Adaptado do Centro de Controle de Doenças e Prevenção (2017).

Após atravessarem o epitélio e chegarem à luz intestinal, os ovos são excretados em ambientes aquáticos doces, através das fezes do hospedeiro definitivo (MASSARA et al., 2013). A quantidade de ovos liberados está relacionada com a idade da fêmea, podendo chegar a 400 ovos por dia quando possui de um a dois anos, acredita-se que 50% deles seguem para o ambiente externo (COELHO, 1957). A liberação dos miracídios dos ovos maduros depende de condições específicas como luminosidade intensa, temperatura próxima aos 28 °C e boa oxigenação, ademais, a sobrevivência dos ovos também depende de fatores como a temperatura do meio, além da consistência das fezes (NEVES, et al., 2016; SILVA et al., 2008).

Os miracídios nadam ativamente até o encontro dos hospedeiros intermediários e ao entrar em contato com o caramujo, a larva movimenta-se ativamente, libera enzimas proteolíticas, adere e penetra nos tecidos moles do molusco, esse processo pode durar até 15 minutos (REY, 2001). No interior do hospedeiro, o miracídio sofre reorganização celular e transforma-se numa estrutura sacular primária (esporocisto primário), originando esporocistos filhos, que sofrerão intensas multiplicações até se transformarem em esporocisto secundários (COELHO, 1957). Por fim, as células germinativas dos esporocistos secundários se diferenciam e dão origem as cercárias, estima-se que um miracídio possa produzir entre 100.000 e 300.000 cercárias (SILVA, 2018).

As cercárias dependem essencialmente da luz e calor para sua liberação do hospedeiro intermediário até o meio aquático, onde nadam ativamente até a penetração em diversos animais, porém seu desenvolvimento só ocorre no vertebrado adequado (SILVA, 2018). Uma vez ocorrida a penetração, a cauda bifurcada é perdida e o corpo cercariano permanece na derme ou tecido conjuntivo por dois ou três dias e origina o esquistossômulo de pele. Ao alcançar a corrente circulatória, podendo também migrar pela circulação linfática, são bombeados pelo lado direito do coração para os pulmões, nessa fase do ciclo são denominados de esquistossômulo pulmonar (REY, 2001). Cerca de duas semanas após a infecção, acontece o retorno ao coração pelas veias pulmonares e entrada na grande circulação, o desenvolvimento em vermes adultos acontece nos vasos intra-hepáticos (PINTO; ALMEIDA, 1948). No

sistema porta hepático, os vermes adultos acasalam e realizam a migração para as veias mesentéricas inferiores, onde há postura dos ovos, parte deles serão liberados e darão continuidade ao ciclo, enquanto outros causam as reações inflamatórias características da doença (REY, 2001).

3.4 ASPECTOS CLÍNICOS E FISIOPATOLÓGICOS DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI

A evolução da esquistossomose mansonii, assim como a sintomatologia e as lesões, está diretamente relacionada a fatores como idade, estado imunológico da pessoa infectada, além da carga parasitária estimada pela quantidade de ovos nas fezes, e número de reinfecções (NEVES, 2016). A patologia compreende a fase aguda, dividida em pré-patente e pós-patente, e a fase crônica.

A fase aguda pré-postural tem sintomatologia variada, podendo ser assintomática ou causar mal-estar geral (NEVES, 2016). Ainda nessa fase, a dermatite cercariana pode estar presente devido a morte de parte das cercárias (LAMBERTUCCI, SILVA, VOIETA, 2005). O desenvolvimento dos esquistossômulos pode ocasionar tosse, febre alta, náuseas, cefaléia e diarreia, que são sintomas inespecíficos para diversas parasitoses (DOMINGUES, 1994). Esses sintomas podem regredir e o paciente permanecer assintomático até a observação das manifestações clínicas intestinais que abrangem emagrecimento, distensão abdominal, cólicas intestinais e diarreia alternada de constipação (KATZ, 2003). Após o acasalamento, ocorre a oviposição, no qual parte dos ovos ficarão retidos na mucosa intestinal, gerando hiperplasia, ulceração e formação de microabcessos (CHEN, 1991), ou chegarão ao fígado, originando a reação inflamatória granulomatosa hepática (REY, 2001). Um quadro leve de anemia e eosinofilia também podem ser observados.

A fase crônica apresenta variações clínicas, porém as manifestações são predominantemente hepatointestinais e hepatoesplênicas (NEVES, 2016). A formação dos granulomas, ocorre através da resposta imunológica aos antígenos liberados pelos ovos do *S. mansonii*, ocorrendo nessa fase a produção da interleucina 10 e imunomodulação da resposta do tipo Th2, com produção de granulomas menores que a fase aguda (BARSOU et al. 2013). No processo granulomatoso, os fibroblastos substituem gradativamente as células

inflamatórias, produzindo colágeno abundantemente, com isso, ocorre o acúmulo de proteínas na matriz extracelular formando a fibrose ao redor do ovo.

O processo inflamatório crônico pode formar diversos pontos de fibrose e consequentemente diminuir o tamanho dos vasos sanguíneos e sua elasticidade, dessa forma, gerando um quadro de hipertensão portal (DAVIS; KRESINA, 1996). Na forma hepatoesplênica, grande parte dos ramos venosos esplênicos estão congestionados, além da diferenciação plasmocitária, produção de imunoglobulinas devido aos antígenos, alterações fisiopatológicas e clínicas (HAMS; AVIELLO; FALLON, 2013). A formação do tecido fibroso também pode ocasionar o desenvolvimento de circulação colateral, varizes esofagianas, ascite ou até chegar nos pulmões através das circulações colaterais anormais (NEVES, 2016).

3.5 TRATAMENTO

Diversos medicamentos foram utilizados no início do tratamento da esquistossomose, sendo o tartarato de antimônio e potássio um dos primeiros agentes terapêuticos utilizados contra a doença (CHRISTOPHERSON, 1918), outros sais de antimônio, como o, disulfonato-bis-pirocatecol de sódio e antimônio (Stibofen) também foram introduzidos na clínica através da administração intramuscular ou venosa, no entanto, foi suspenso devido aos fortes efeitos colaterais seu uso (DIAS, 1949). O lucanthone (Miracil D), foi desenvolvido pela indústria farmacêutica Bayer no período da Segunda Guerra Mundial, e representou o primeiro medicamento utilizado na clínica pela via de administração oral. Além dos graves efeitos colaterais, o fármaco possuía eficácia apenas contra *S. mansoni* e *S. hematobium* (SIQUEIRA et al., 2017). Outro medicamento administrado via oral foi o niridazol (Ambilhar), sua aplicação clínica também não obteve sucesso por apresentar efeitos deletérios como toxicidade renal e convulsão. Semelhantemente aos medicamentos anteriores, o hycanthone, originado pela hidroxilação do lucanthone e utilizado em dose única por via oral ou intramuscular, também apresentou efeitos graves como necrose hepática, por isso, também teve uso suspenso (ARCHER; YARINSKY, 1972). Todos esses medicamentos citados anteriormente apresentaram efeitos adversos graves, entre eles também foram observadas lesões hepáticas,

convulsões, alucinações auditivas e visuais e confusão mental (NOVAIS et al., 1999).

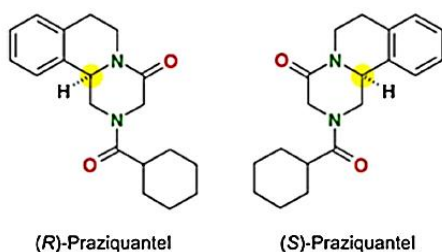
A oxamniquina, medicamento ainda liberado para comercialização e uso, foi desenvolvido na década de 1970 pela indústria farmacêutica Pfizer, no qual apresentou boa tolerância e taxa de cura considerável, principalmente em países americanos (FRÉZARD, 1997). Quanto à sua atividade esquistossomicida, foi possível notar que os vermes machos são mais suscetíveis que as fêmeas, entretanto, há redução significativa na postura de ovos da espécie *S. mansoni* (CIOLI, 1992). O fármaco apresenta boa absorção após administração oral, apesar disso, sua ação em apenas contra o *Schistosoma mansoni* não torna sua produção atrativa fora da América do Sul (RIDI; TALLIMA, 2013). Sua ação está relacionada com a capacidade de alquilar o DNA do parasito (CIOLI et al., 1993). Ainda na década de 70, notou-se um avanço no que diz respeito a medicamentos com ação parasitária com o surgimento do praziquantel, no qual foi planejado para uso veterinário contra cestódeos, contudo, também foi observada sua ação esquistossomicida e dessa forma, tornou-se o primeiro medicamento esquistossomótico a atender os requisitos da OMS (KUMAR; GRYSEELS, 1994; MALHADO et al., 2016).

Atualmente, o PZQ é o medicamento recomendado pela OMS (2020) para tratamento populacional em larga escala contra as espécies de *Schistosoma spp* em diversos países endêmicos. Quando à sua descoberta, o medicamento foi lançado pelas indústrias farmacêuticas Merck e Bayer, através do estudo de compostos tranquilizantes com atividade antiparasitária, contudo seu lançamento no Brasil foi inicialmente direcionado para o tratamento de cestódeos (SEUBERT et al., 1977). No fim da década de 1970 foram realizados testes pré-clínicos que comprovaram sua eficácia no período de 5 a 6 semanas após a infecção (DAVIS et al., 1979), logo após, ensaios clínicos demonstraram sua ação contra todas as espécies de *Schistosoma spp*, além disso, o PZQ apresentou baixa toxicidade e boa absorção pela administração oral (FROHBURG, 1984).

É um derivado pirazino-isoquinolina, que apresenta carbono quiral em sua estrutura, o composto possui baixa solubilidade em água e moderada em etanol, entretanto, é muito solúvel em dimetilsulfóxido (DMSO) e clorofórmio (OTHMAN;

SOLIMAN, 2015; RIDI; TALLIMA, 2013). Sua forma comercial é uma mistura racêmica (figura 6), ou seja, há proporções iguais dos dois enantiômeros, porém, apenas a conformação (R)-PZQ contém ação antiparasitária, enquanto a conformação (S)-PZQ não apresenta eficácia (CAMPOS, 2009). Considerando o Sistema da Classificação Biofarmacêutica, o PZQ R está incluso na classe II, apresentando alta permeabilidade a tecidos e baixa solubilidade, sendo essa de 0,4 mg/ml. Além disso, o fármaco sofre extensa metabolização hepática, em que ocorre a hidroxilação, gerando metabólitos inativos e provavelmente responsáveis por parte dos efeitos colaterais (OTHMAN; SOLIMAN, 2015). Já que metade da dose não possui atividade farmacológica e apenas baixas concentrações sanguíneas atingem o parasito, o comprimido deve conter 600 mg para oferecer dose final de 40-60 mg/kg (OLLIARO, 2014).

Figura 6: Estrutura química do praziquantel.



Fonte: Siqueira et al. (2017).

O tratamento contra a esquistossomose mansoni consiste em dose única por via oral. A eficácia do PZQ varia conforme a idade e o grau de infecção, onde o índice de cura é aproximadamente 80% para adultos e 70% em crianças, além de redução dos ovos em cerca de 80 a 98% (BRASIL, 2014). O PZQ apresenta rápida absorção e sofre influência direta da dieta, além disso, o metabolismo de primeira passagem acontece principalmente pela CYP450 3A4, sua biodisponibilidade é baixa e sua excreção ocorre principalmente pelos rins (DINORA et al., 2005; MEISTER et al., 2016). Os efeitos colaterais são de baixa intensidade, frequência e transitórios, tais como sonolência, urticária, dor abdominal e dor de cabeça (BRASIL, 2014). Esses efeitos estão relacionados com a intensidade da infecção pelo parasito e geralmente são mais fortes em áreas com alta taxa de infecção, além disso acredita-se que os efeitos colaterais

estão mais relacionados com a liberação de antígenos e metabólitos pelo parasito do que pelo próprio fármaco (MEISTER et al., 2016).

Mesmo após décadas de utilização do PZQ, seu mecanismo de ação ainda não é bem elucidado, apesar disso, diversos alvos têm sido apontados como responsáveis pelo seu efeito farmacológico (VALE et al., 2017). Entre os primeiros estudos que investigaram os efeitos do PZQ, o influxo de cálcio foi tido como o principal causador da contração muscular e modificações no tegumento do parasito (VALE et al., 2017). No entanto, a forma como o medicamento age altera a homeostase de cálcio permanece desconhecida, além disso, foi observado que apenas o acúmulo de cálcio não elucidava a atividade esquistossomocida do fármaco (NOGI, CHAN, 2009). Outras abordagens utilizando a transcriptômica demonstraram mais de 600 genes como possíveis alvos do PZQ, ademais, observou-se a correlação de genes do metabolismo aeróbico e regulação do cálcio citosólico, sugerindo uma resposta similar ao estresse oxidativo (ARAGON, 2009). Em 2015, Rinaldi e colaboradores observaram que a proteína quinase dependente de cálcio/calmodulina II parece ser importante alvo do PZQ. Além disso, um estudo utilizando espectrometria de massa identificou diferentes marcadores químicos relacionados ao sexo do parasito (FERREIRA et al., 2015), assim como foi observado que o PZQ parece prejudicar a liberação de ovos através da inibição da atividade da esfingomielinase, como também inibe a da Na^+/K^+ -ATPase em parasitos machos.

Considerando o uso prolongado de apenas um tratamento ao longo de anos, soma-se a isso a ineficácia contra esquistossômulos de pele e de pulmão, é aceitável o relato de uma possível resistência e/ou tolerância ao fármaco, além disso, o PZQ não previne a reinfecção (OTHMAN; SOLIMAN, 2015). A resistência generalizada ainda não foi relatada, entretanto, pesquisadores identificaram cepas induzidas experimentalmente e de campo que exibiram menor suscetibilidade ao fármaco, isso demonstra um risco eminente de resistência dos vermes ao medicamento (DOENHOFF et al., 2002; WANG; LIANG, 2012). A maior parte das pesquisas de campo sobre resistência focam no *S. mansoni*, conforme esses estudos, em locais de maior endemicidade como Egito e Senegal, a sensibilidade é reduzida, neste último país foi observada uma taxa

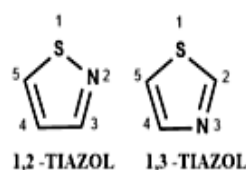
de cura de 18% (GRYSEELS, 2001). Entretanto, outros fatores além da resistência ao PZQ também foram sugeridos, como a transmissão intensa e a presença de vermes jovens. Estudos posteriores realizados na mesma região não obtiveram os mesmos resultados de resistência (BOTROS, 2005). Tanto as evidências quanto os critérios utilizados para classificar a resistência do parasito ao fármaco são controversos e necessitam de maiores esclarecimentos (WANG, 2012).

3.6 DERIVADOS TIAZOIS

Através do método empírico ou racional, a descoberta de uma nova molécula com potencial terapêutico constitui o primeiro passo para o desenvolvimento de novos fármacos (ANDRADE; ALMEIDA; GUIDO, 2018). Devido aos vários tipos de átomos que podem estar presentes no núcleo dos compostos heterocíclicos, essa classe tem características físico-químicas diversas e relacionadas a esses heteroátomos presentes. Essa variedade estrutural proporciona a classe diversas atividades terapêuticas, sendo os compostos nitrogenados os mais comuns entre eles (VITAKU; SMITH; NJARDARSON, 2014). Além disso, a vasta literatura sobre esses compostos e a comercialização de diversos medicamentos que possuem o núcleo nitrogenado como princípio ativo estimulam a busca por novos fármacos com essa estrutura química (ANDRADE; ALMEIDA; GUIDO, 2018)

Nesse contexto, os derivados tiazóis são moléculas privilegiadas, ou seja, possuem conformação estrutural capaz de oferecer alvos para vários receptores (BARBOSA et al., 2019). Esses heterocíclicos aromáticos são compostos por cinco membros: um átomo de enxofre, um de nitrogênio e três átomos de carbono. Quanto a sua conformação, pode se apresentar como o 1,2-tiazol e o 1,3-tiazol, como mostra a figura 7. Em relação à síntese, ocorreu em 1887 e foi realizada por Hantzsch e Waber, por meio da reação de halocetonas e tioamida, esse método ficou bem estabelecido como o mais utilizado para obter tiazóis, apesar de existirem outros métodos, logo no ano seguinte sua estrutura foi confirmada por Popp (YADAV; DEVPRAKASH; SENTHILKUMAR, 2011).

Figura 7: Estrutura química do tiazol.

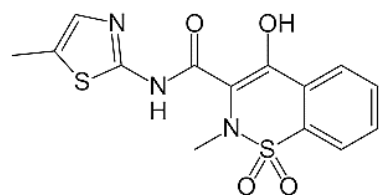


Fonte: a autora (2020).

Devido à diversidade de efeitos terapêuticos, o tiazol e seus derivados representam um grupo farmacofórico altamente relevantes para a química medicinal (RANGAPPA et al., 2015; SILVA et al., 2017). Além disso, a estrutura também está presente em compostos naturais, como a exemplo da vitamina B1, necessária para a síntese de neurotransmissores como o ácido gama-aminobutírico e a acetilcolina, participando também de processos bioquímicos (PASQUALOTTO; THIELE; GOLDANI, 2010). A classe apresenta ações (tabela 1): antineoplásica (LUZINA; POPOV, 2009), antibacteriana (KASHYAP, 2012), anti-inflamatória (MOHAREB; ZAKI; ABBA, 2015), antidiabética (DATUSALIA; KHATIK, 2018), anti-helmíntico (AMNERKAR; BHONGADE; BHUSARI, 2014), antitumoral (EJAZ et al., 2018), antituberculose (MORASKI, et al., 2016) antirretroviral (MELEDDU et al., 2016) imunomoduladora (SANTOS et al., 2016), esquistossomicida (SANTIAGO et al., 2014) anti-hipertensiva (AYATI et al., 2015), entre outras.

Tabela 1 – Medicamentos contendo o anel tiazol.

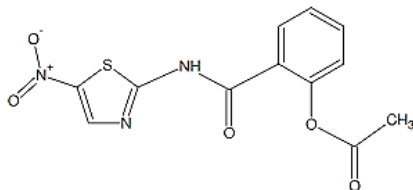
Estrutura química	Medicamento	Classe terapêutica	Mecanismo de ação
	Cefepima	Antibacteriano	Age inibindo a síntese da parede celular bacteriana (KASHYAP et al., 2012).
	Dasatinibe	Antineoplásico	Tem ação ao inibir a proteína Quinase (KANTARIJAN et al., 2010).
	Ixabepilona	Antineoplásico	Estabilizador da formação dos microtúbulos (RUGO et al., 2012).



Meloxicam

Anti-inflamatório

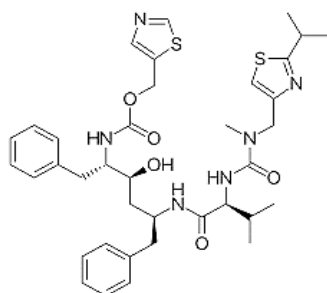
Inibe a ciclooxigenase (COX), preferencialmente COX 2 (TURCK et al., 1997).



Nitazoxanida

Antiparasitário

Inibidor da PFOR (WHITE JR., 2004).



Ritonavir

Antirretroviral

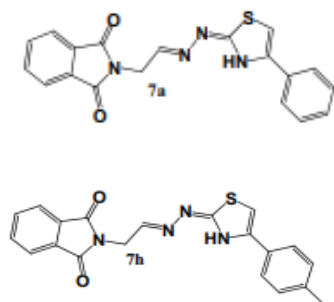
Inibidor de protease (GALLANT et al., 2013).

Fonte: A autora (2022).

Tratando-se da atividade esquistossomicida, Santiago e colaboradores (2014) identificaram atividades esquistossomicidas promissoras em derivados tiazóis, entre eles o protótipo LpQM-45 causou a destruição do tegumento de vermes machos e fêmeas. Recentemente, outros derivados tiazóis foram testados *in vitro* e demonstraram boa atividade contra o *S. mansoni* como mostra a tabela 1, considerando os resultados, esses compostos podem compor um novo arsenal de fármacos esquistossomicidas (PEREIRA, 2019; FILHO, 2020; OLIVEIRA, 2018). Diante desses estudos já descritos, acredita-se que os fármacos do presente trabalho por possuírem confirmação química semelhante, também podem compor esse arsenal com atividade esquistossomicida *in vitro* contra estágios imaturos e casais adultos de *Schistosoma mansoni*.

Tabela 2 – Fármacos promissores contendo o tiazol

Fármacos promissores	Resultados obtidos	Pesquisador/ano
$R = -O-CH^3$ em LpQM-45.	O composto LpQM-45 causou a mortalidade de 100% dentro de 144h; ausência de ovos no meio de cultura; danos extensos ao tegumento dos vermes machos e fêmeas	SANTIAGO et al., 2014.



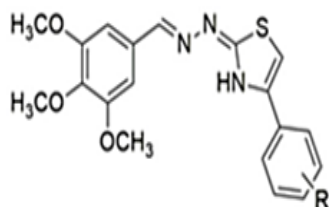
7a e 7h

7a: 86% de mortalidade em 24h em 100 µg/ml;

7h: foi observado 100% de mortalidade em 24h em 100 µg/ml;

Ambos provocaram alterações na coloração do parasito, apresentando-se mais escura e opaca, danos ao tegumento com destruição de tubérculos, redução da motilidade, as fêmeas apresentaram destruição das ventosas orais e ventrais, não ocorreu oviposição e todos os casais desacasalaram. Os dois fármacos apresentaram efeito menos tóxico que o PZQ.

OLIVEIRA et al., 2018.



$R = NO_2$ para NJ05;

$R = Br$ para NJ07.

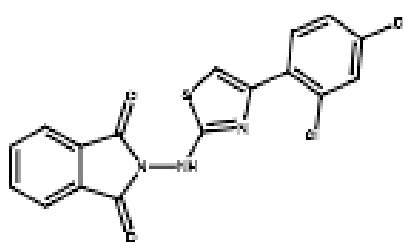
A associação de **NJ05** e **NJ07** causou forte atividade contra vermes jovens e ausência de ovos.

NJ05: causou fortes lesões no tegumento das fêmeas, além de formação de bolhas, grandes descamações e redução da oviposição. Em machos causou lesões no tegumento e perda de tubérculos.

NJ07: formação de bolhas em toda extensão do parasito e ovos pequenos e sem discos germinativos.

NJ05, NJ07 e **NJ05 + NJ07** causaram redução da viabilidade, motilidade, emparelhamento, oviposição, alterações graves no tegumento e mortalidade de vermes.

PEREIRA et al., 2019.

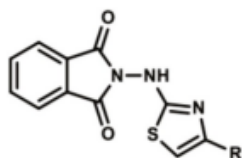


2M.

2M em testes *in vitro*: causou mortalidade após 96h, danos graves ao tegumento, diminuição da oviposição, baixa citotoxicidade em células saudáveis de mamíferos,

2M em testes *in vivo*: pouca diminuição na quantidade de ovos maduros e inviáveis no intestino, redução da carga parasitária nos animais após tratamento com 5 dias com 200 mg/kg.

BARBOSA et al., 2019.



$R = C_{12}H_{10}$ em 2I;

$R = 2-C_{10}H_8$ em 2J.

Os dois compostos causaram 100% de mortalidade. Sendo o **2I** mais eficaz, pois causou aumento de ovos inviáveis e a morte do parasito tanto *in vitro* quanto *in vivo* (por via oral e endovenosa). Ambos causaram ulcerações, desintegração do tegumento, destruição dos tubérculos e espículas e presença de bolhas.

FILHO et al., 2020.

Fonte: A autora (2022).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

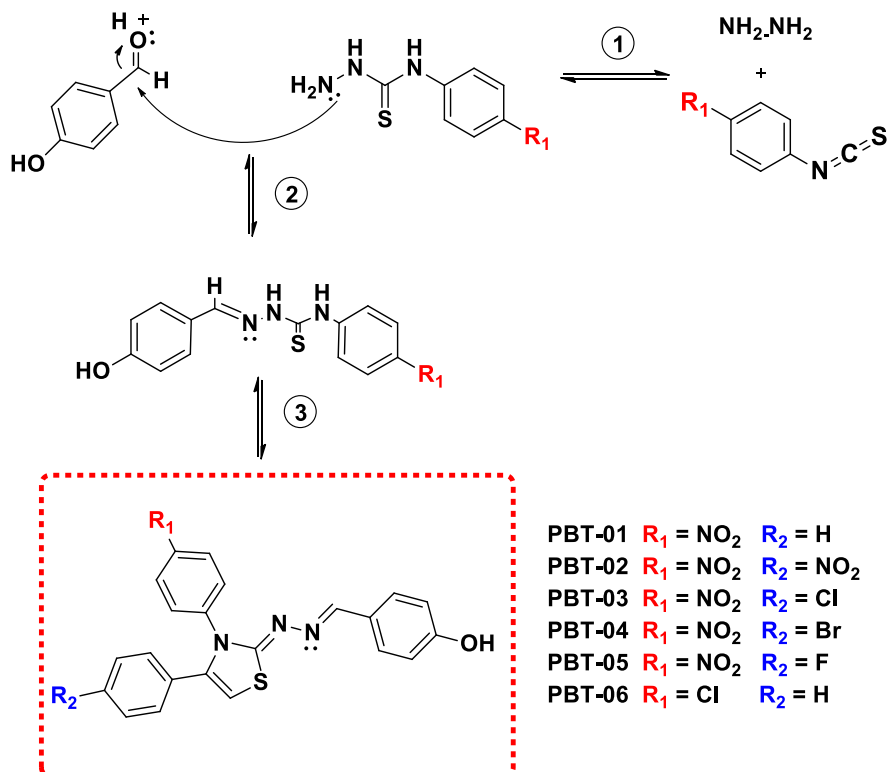
4.1 REAGENTES E SOLVENTES

Foram utilizados reagentes e solventes obtidos comercialmente, de acordo com a seguinte lista 2-bromo-acetofenona (Merck, CAS 70-11-1), 2-bromo-4-nitroacetofenona (Merck, CAS 2227-64-7), 2-bromo-4-cloroacetofenona (Merck, CAS 536-38-9), 2,4-dibromoacetofenona, 2-cloro-4-fluoracetofenona (Merck, CAS 456-04-2), isotiocianato de 4-nitro-fenilo (Merck, CAS: 2131-61-5), isotiocianato de 4-clorofenilo (Merck, CAS 2131-55-7), 4-hidroxi-benzaldeído (Merck, CAS 123-08-0), solução de hidrazina (Merck, CAS 302 -01-2), dimetilsulfóxido (Merck, CAS: 67-68-5), meio de cultura RPMI 1640 (Thermo Fisher Scientific), triton-X (Merck, CAS: 9036-19-5), MTT (Merck, CAS: 57360-69-7), cloreto de sódio (Merck, CAS:7647-14-5), cloreto de cálcio (Merck, CAS:10043-52-4), Praziquantel (Merck, CAS: 55268-74 -1).

4.2 SÍNTESE DOS NOVOS DERIVADOS TIAZÓIS

Os derivados tiazóis foram sintetizados e cedidos pelo Laboratório de Química e Inovação Terapêutica (LQIT) do Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Pernambuco, Brasil. A síntese dos compostos foi realizada em três etapas, segundo metodologia proposta por Oliveira et al. (2015), Oliveira Filho et al. (2017) e Alves et al. (2021) (Figura 8). Etapa 1: As obtenções das tiossemicarbazidas foram realizadas através de reação de adição nucleofílica entre a hidrazina com o 4-nitrofenil isotiocianato ou com o 4-clorofenil isotiocianato, utilizando como solvente o diclorometano à temperatura ambiente sobre agitação magnética por 1 h. Etapa 2: A obtenção das tiossemicarbazonas ocorreu através da reação das tiossemicarbazidas com o 4-hidroxi-benzaldeído sobre agitação magnética em etanol absoluto e na presença de ácido acético, que foi utilizado como catalizador. Etapa 3: Através da reação de ciclização da tiossemicarbazonas com diferentes acetofenonas substituídas por fenil-, 4-bromofenil-, 4-clorofenil-, 4-nitrofenil, para a obtenção dos seis compostos tiazóis (PBT1, PBT2, PBT3, PBT4, PBT5 e PBT6). A Fig. 1 apresenta o esquema de síntese dos compostos tiazóis obtidos.

Figura 8. Esquema de síntese dos Tiazóis



Fonte: a autora (2020)

4.3 AVALIAÇÃO *IN SILICO* DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS: ABSORÇÃO, DISTRIBUIÇÃO, METABOLISMO, EXCREÇÃO, TOXICIDADE (ADMET) E PREVISÃO DA BIODISPONIBILIDADE ORAL

Os perfis ADMET foram previstos com o objetivo de avaliar se os compostos sintetizados (PBT) possuem boa disponibilidade oral (Pires et al., 2015; Daina et al., 2017). Além disso, o perfil do praziquantel (PZQ) também foi avaliado. Para a análise desses perfis, foram utilizadas as plataformas disponíveis gratuitamente SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) (Daina et al., 2017) e pkCSM (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>) (Pires et al., 2015).

4.4 CULTIVO E MANUTENÇÃO DE LINHAS CELULARES DE MACRÓFAGOS RAW.264.7, FIBROBLASTOS V79, CÉLULAS VERO E HEPATOMA (HEPG2)

As linhas celulares de macrófagos RAW.264.7, fibroblastos V79, células Vero e células de hepatoma (HepG2) foram mantidas em condições de cultura

no Laboratório de Biologia Celular e Molecular do Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, Pernambuco, Brasil. O procedimento de manutenção das células foi realizado de acordo com Gouveia et al. (2022), com modificações. Inicialmente, as células foram cultivadas em garrafas de cultura celular (75 cm³, correspondendo a 250 mL), em meio de cultura RPMI 1640 contendo vermelho de fenol, suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos (penicilina 100 µg /mL e estreptomicina 100 µg/mL) e incubadas numa atmosfera húmida de 5% de CO₂ a 37°C. As células foram mantidas por passagens em série a cada 48 h, removendo a monocamada de células em RPMI sem soro fetal bovino com um raspador de células. Em seguida, elas foram removidas dos frascos de cultura e transferidas para tubos de centrifuga de 15 mL e centrifugadas a 400G por 5 min a 37°C. Após o descarte do sobrenadante, as células foram homogeneizadas em 1 mL de meio de cultura RPMI com 10% de soro fetal bovino e distribuídas em novos frascos de cultura. Após esse processo as células foram utilizadas nos ensaios de citotoxicidade.

4.5. ENSAIOS DE CITOTOXICIDADE CELULAR DE MACRÓFAGOS RAW.264 .7, FIBROBLASTOS V79 E HEPATOMA (HEPG2)

Os ensaios de citotoxicidade foram realizados utilizando o método colorimétrico do MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2il)-2,5-difenil tetrazolina] de acordo com a metodologia proposta por Gomha et al. (2017), Ribeiro et al. (2018), Rodrigues et al. (2018) e Gouveia et al. (2022), com modificações. Inicialmente, as células foram plaqueadas em placas de cultura de 96 poços (1 × 10⁵ células/poço) contendo meio RPMI suplementado e incubadas por 24 h (37°C e 5% CO₂). Em seguida, foram tratadas com compostos tiazóis em diferentes concentrações (400 a 0,1 µM) por 48 h. Após esse período, foram adicionados 25 µL de MTT (5 mg/mL em tampão fosfato-salino) e, em seguida, as placas foram incubadas novamente a 37°C, por 2 h na ausência de luz. O meio de cultura juntamente com resíduo do MTT foram removidos e substituídos por 100µL/poço de DMSO (dimetilsulfóxido) para solubilização dos cristais de formazan. Após a solubilização, a absorbância a 540 nm foi determinada utilizando um espectrofotômetro (Thermo Scientific Multiskan FC). As experiências foram efetuadas em triplicado e a viabilidade celular foi calculada utilizando a Equação 1.

$$Viabilidade\ Celular\ (\%) = \left(\frac{VC}{TC} \right) \cdot 100 \quad (1)$$

Onde: VC é o número de células nas diferentes concentrações, TC é a concentração de células no controle que representa 100% de viabilidade. A concentração de citotoxicidade que promove 50% de viabilidade celular (CC_{50}) foi determinada por análise de regressão não linear dos dados efetuada com o software GraphPad Prism versão 5.0. O controle experimental consistiu apenas em meio de cultura e células. O PZQ foi diluído nas mesmas condições experimentais que os compostos.

4.6 ATIVIDADE HEMOLÍTICA *IN VITRO*

As experiências de atividade hemolítica foram realizadas de acordo com Nerys et al. (2022), com modificações. As amostras de sangue foram coletadas de hamsters, *Mesocriceteus auratus*, com peso corporal médio de 30 g e idade de 7 a 8 semanas. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Animal da UFPE (nº 0060/2019 CEUA/UFPE). Os ensaios foram realizados em microplacas de 96 poços, onde cada poço recebeu 100 µL de uma solução de NaCl 0,85% contendo $CaCl_2$ 10 mM. Os compostos foram diluídos (DMSO 1%) em concentrações que variaram de 400 a 12,5 µM. Em seguida, foram adicionados 100 µL de uma suspensão de 2% (v/v) de eritrócitos de hamster em solução salina contendo 10 mM de $CaCl_2$. O controle negativo consistiu em 100 µL de solução salina mais 100 µL de suspensão de eritrócitos (0% de hemólise) e o controle positivo foi uma solução de Triton X-100 a 1% (v/v) (100% de hemólise). As placas foram incubadas a 30°C durante 1 h. Em seguida, os ensaios foram transferidos para tubos e centrifugados a 3000 rpm durante 5 min. Finalmente, o sobrenadante com a hemoglobina libertada foi analisado num leitor de placas a uma absorbância de 540 nm. A percentagem de hemólise foi determinada pela Equação 2.

$$Hemólise\ (\%) = \left[\frac{(ABS_{amostra} - ABS_{branco})}{(ABS_{TritonX} - ABS_{branco})} \right] \cdot 100 \quad (2)$$

Em que: $ABS_{amostra}$ consiste na absorbância da amostra; ABS_{branco} se configura na absorbância do controle negativo; $ABS_{TritonX}$ é absorbância do controle positivo. Os experimentos foram realizados em triplicata. Este estudo foi

aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto Aggeu Magalhães/Fundação Oswaldo Cruz, protocolo número 164/2020.

4.7 ATIVIDADE ESQUISTOSSOMICIDA *IN VITRO*

4.7.1 Comitê de ética, animais e infecção

Após aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal do Centro de Biociências da UFPE (nº 0060/2019 CEUA/UFPE), 19 camundongos *Swiss Webster* fêmeas, pesando 28 ± 2 g, foram infectados percutaneamente (Olivier e Stirewalt, 1952), com cerca de 120 cercárias de *S. mansoni* (cepa BH), mantidas no Instituto Keizo Asami (iLIKA/UFPE). Os camundongos foram obtidos e mantidos em um biotério do iLIKA, em ambiente controlado ($20 \pm 2^\circ\text{C}$, ciclo de 12 h de luz do dia) com livre acesso a alimentos (Labitum/Purina, São Paulo-SP) e água.

4.7.2. Recuperação de vermes e avaliação esquistossomicida in vitro de derivados de tiazóis contra vermes adultos de *S. mansoni*

Após 45 dias da infecção, os camundongos foram submetidos a eutanásia por deslocamento cervical e os vermes foram recuperados assepticamente por perfusão do sistema portal e das veias mesentéricas com solução salina estéril (0,9% de NaCl p/v) (Smithers e Terry, 1965). Apenas os casais de vermes intactos foram imediatamente transferidos para um meio RPMI 1640 suplementado com 20 mM HEPES, 100 µg/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina e 10% de soro fetal bovino, sendo lavados quatro vezes com este meio. Em seguida, os vermes foram distribuídos em placas de cultura de 24 poços com 2 mL desse meio (dois casais de vermes por poço), e incubados a 37°C em atmosfera úmida contendo 5% de CO_2 . Após duas horas de exposição para permitir a adaptação dos vermes, os seis compostos tiazóis (PBT1, PBT2, PBT3, PBT4, PBT5 e PBT6), diluídos em DMSO 1%, foram adicionados ao meio de cultura para obter concentrações finais de 200, 100, 50, 25, 12,5 e 6,25 µM. As concentrações avaliadas foram determinadas através do trabalho de Araújo et al. (2019). Os vermes de controle foram testados em meio RPMI 1640 suplementado (controle 1) ou meio RPMI 1640 suplementado com 1% de DMSO (controle 2) como um grupo de controle negativo e em 10 µM PZQ como um

grupo de controle positivo. Foram realizadas duas experiências independentes (16 pares de vermes por concentração), em quadruplicado.

4.7.3 Avaliação da motilidade e da mortalidade dos vermes adultos

Um microscópio invertido (Leica Microsystems, DM IL Wetzlar, Alemanha) foi utilizado para avaliar a motilidade e a sobrevivência de pares de vermes, inicialmente monitoradas às 3, 6, 12 e 24 h e, posteriormente, as observações foram realizadas a cada 24 h durante cinco dias consecutivos (intervalos de 24, 48, 72, 96 e 120 h). A motilidade e a sobrevivência dos parasitos foram avaliadas de acordo com os critérios e pontuadas em uma escala de viabilidade de 3 - 0 conforme proposto por Araújo et al. (2020a), sendo: escore 3, minhocas que apresentam movimentos típicos, exibindo peristaltismo dos órgãos internos, ventosas em movimento, aderidas ao fundo ou às laterais da placa de cultura; descrições típicas de minhocas do controle negativo; escore 2, movimentos reduzidos em todo o corpo, peristaltismo dos órgãos internos e ventosas; escore 1, movimentos apenas nas extremidades ou em apenas uma das extremidades (regiões anterior e/ou posterior), com ausência de peristalse dos órgãos internos e ventosas não aderidas; escore 0, ausência completa de movimentos e tegumento com ou sem alterações na coloração. O tratamento foi considerado letal quando não foi possível observar movimentos do parasita por até 2 min.

4.7.4 Ensaio de viabilidade celular de vermes adultos

A viabilidade celular dos vermes adultos de *S. mansoni*, após o tratamento, foi determinada pelo ensaio de citotoxicidade baseado no 3-(4,5-dimetiltiazolic2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT), de acordo com as condições previamente relatadas por Aires et al. (2014). Resumidamente, dois casais de vermes adultos foram transferidos para uma placa de cultura de 96 poços contendo 100 µL de MTT (5 mg/mL diluído em tampão fosfato, PBS) e incubados por 30 min no escuro a 37°C. Posteriormente, a solução de MTT foi removida e 200 µL de DMSO foram adicionados a cada poço da placa, a fim de dissolver os cristais de formazan. A placa foi mantida sob agitação durante 1 h à temperatura ambiente e a densidade ótica foi medida a 550 nm num leitor de microplacas (M680, Bio Rad Laboratories, Inc.). Os vermes dos grupos do controle positivo e negativo foram submetidos ao mesmo teste. Todas as experiências foram

efetuadas em quadruplicado e repetidas pelo menos duas vezes. A diferença significativa foi estabelecida como $p < 0,05$. IC50, e foi calculado utilizando Prism (Graphpad) a partir da curva de inibição dose-resposta.

4.7.5. Determinação do índice de seletividade

O índice de seletividade (SI) dos compostos foi determinado como uma relação entre a citotoxicidade do composto para células de mamíferos e sua atividade parasitária (Padalino et al., 2021). Este parâmetro é a relação entre a citotoxicidade para as células (CC50) e a atividade contra o parasita (IC50).

4.8 ESTUDO DAS ALTERAÇÕES ULTRAESTRUTURAIS DO TEGUMENTO POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

As análises ultraestruturais foram realizadas de acordo com a metodologia proposta por Araújo et al. (2020b), com modificações. Os vermes adultos expostos aos compostos tiazóis e dos grupos controle negativo e positivo foram fixados em glutaraldeído 2,5%, paraformaldeído 4% em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7,2, por 12 h em temperatura ambiente. Em seguida, foram lavados no mesmo tampão e pós-fixados em OsO_4 a 1% em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7,2, durante 1 h à temperatura ambiente. Após a pós-fixação, o material foi lavado no mesmo tampão, desidratado em séries crescentes de etanol e subsequentemente seco em CO_2 líquido num secador de ponto crítico (modelo Hitachi HCP-2, Hitachi, Japão). Após a montagem e metalização, os vermes foram observados e fotografados com o auxílio de um microscópio eletrônico de varredura (JEOL-25SII, Tóquio, Japão).

4.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises de dados foram efetuadas com o software Graphpad Prism 5 (GraphPad Software, Inc., La Jolla - CA, EUA) e expressas como média $\pm$ desvio padrão. Utilizando a análise de variância (ANOVA), além do teste de Tukey para comparações múltiplas post-hoc, com nível de significância determinado em $p < 0,05$.

5 ARTIGO

Potencial esquistossomicida de novos compostos tiazóis: atividade *in vitro*, análise ultraestrutural e propriedades farmacocinéticas *in silico* contra casais de vermes adultos de *Schistosoma mansoni*

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo a realização de ensaios biológicos *in vitro* de compostos tiazóis contra vermes adultos de *Schistosoma mansoni*, bem como determinação *in silico* dos parâmetros farmacocinéticos para prever biodisponibilidade oral desses compostos. Além de apresentarem citotoxicidade moderada a baixa contra células de mamíferos, os compostos tiazóis não foram considerados hemolíticos. Todos os compostos foram inicialmente testados em concentrações que variaram de 200 a 6,25 μM contra vermes adultos de parasitas *S. mansoni*. Os resultados demonstraram melhor atividade com os compostos PBT2 e PBT5 na concentração de 200 μM , que causou 100% de mortalidade após 3h de incubação. Enquanto às 6h de exposição, 100% de mortalidade foi observada na concentração de 100 μM . Estudos posteriores com esses mesmos compostos permitiram classificar PBT5, PBT2, PBT6 e PBT3, considerados ativos; e PBT1 e PBT4, considerados inativos. Na análise ultraestrutural, os compostos PBT2 e PBT5 (200 μM) promoveram alterações tegumentares nos parasitos com exposição da musculatura, formação de bolhas tegumentares, tegumentos com morfologia anormal e destruição de tubérculos e espículas. Portanto, PBT2 e PBT5 são antiparasitários promissores contra *S. mansoni*.

Palavras-chave: *Schistosoma mansoni*; tiazóis; microscopia eletrônica; ADMET

1 Introdução

A esquistossomose é uma doença crônica e debilitante causada por um verme do gênero *Schistosoma spp.* e é uma das doenças mais prevalentes e negligenciadas das regiões tropicais e subtropicais (Chuah et al., 2019). De acordo com a Organização Mundial da Saúde, as estimativas mostraram que pelo menos 251,4 milhões de pessoas precisavam de tratamento preventivo para a esquistossomose em 2021. O tratamento preventivo, que deve ser repetido ao longo de vários anos, reduzirá e evitará a morbidade e a transmissão da esquistossomose em 78 países e territórios endêmicos em todo o mundo (Organização Mundial de Saúde, 2023).

No entanto, atualmente dependemos apenas do praziquantel (PZQ) para a quimioterapia e o controle da esquistossomose, especialmente em regiões onde as pessoas e as comunidades são alvo de tratamento em grande escala, o que é o caso em 51 países com transmissão moderada a elevada (Organização Mundial de Saúde, 2023; Xue et al., 2023). Apesar de o PZQ ter uma elevada taxa de cura parasitológica (Aires et al., 2023) e ser seguro (Olds, 2003), a sua utilização exclusiva e em larga escala ao longo de mais de 50 anos tem gerado grande preocupação nas comunidades científica e médica, uma vez que há relatos de estirpes de *S. mansoni* com resistência ou baixa sensibilidade ao PZQ (Doenhoff e Pica-Mattoccia, 2006; Pica-Mattoccia et al., 2009). Esse cenário contribui para a manutenção da alta prevalência e um potencial colapso no tratamento da esquistossomose. Esse fato configura uma situação que dificulta o cumprimento integral do Roteiro de Doenças Tropicais Negligenciadas 2021-2030, apresentado na Assembleia Mundial da Saúde (Organização Mundial da Saúde, 2021).

Perante a necessidade de procurar novas formas terapêuticas para o tratamento da doença, o núcleo tiazólico surge como uma escolha para a síntese de moléculas bioativas (Niu et al., 2023). O tiazol é uma molécula não cancerígena que pode ser facilmente metabolizada por reações bioquímicas de rotina e exibe uma variedade de atividades biológicas, como se manifesta pela sua presença em muitos compostos biologicamente ativos (El-Achkar et al., 2015). Os tiazóis são uma classe de compostos altamente versáteis e que podem promover diferentes atividades biológicas (Gupta e Kant, 2013; Gümüş,

et al., 2019; Niu et al., 2023). Esta versatilidade está diretamente relacionada com a sua estrutura química (Gupta e Kant, 2013). Este núcleo possui diversas atividades biológicas descritas na literatura, tais como antiparasitária (Queiroz et al., 2020), antimicrobiana (Sengel e Sahiner, 2017), anti-inflamatória (Nalawade et al., 2019), antioxidante e antimitótica (Pund et al., 2022) e anticancerígena (Oliveira et al., 2021). Em relação ao efeito esquistossomicida, estudos recentes destacam a atividade promissora de compostos tiazóis contra *S. mansoni* (Santiago et al., 2014; Oliveira et al. 2018; Barbosa et al., 2019; Pereira et al. 2019; Miranda-Filho et al., 2020; Rocha et al., 2022).

Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar as atividades citotóxicas em células de mamíferos e a atividade esquistossomicida *in vitro* promovida por compostos tiazóis (PBTs) derivados de tiossemicarbazonas. Estes testes foram realizados com o intuito de contribuir com o arsenal terapêutico no combate a vermes adultos de *S. mansoni* e alterações de tegumento por microscopia eletrônica de varredura.

2 Metodologia

2.1 Reagentes e Solventes

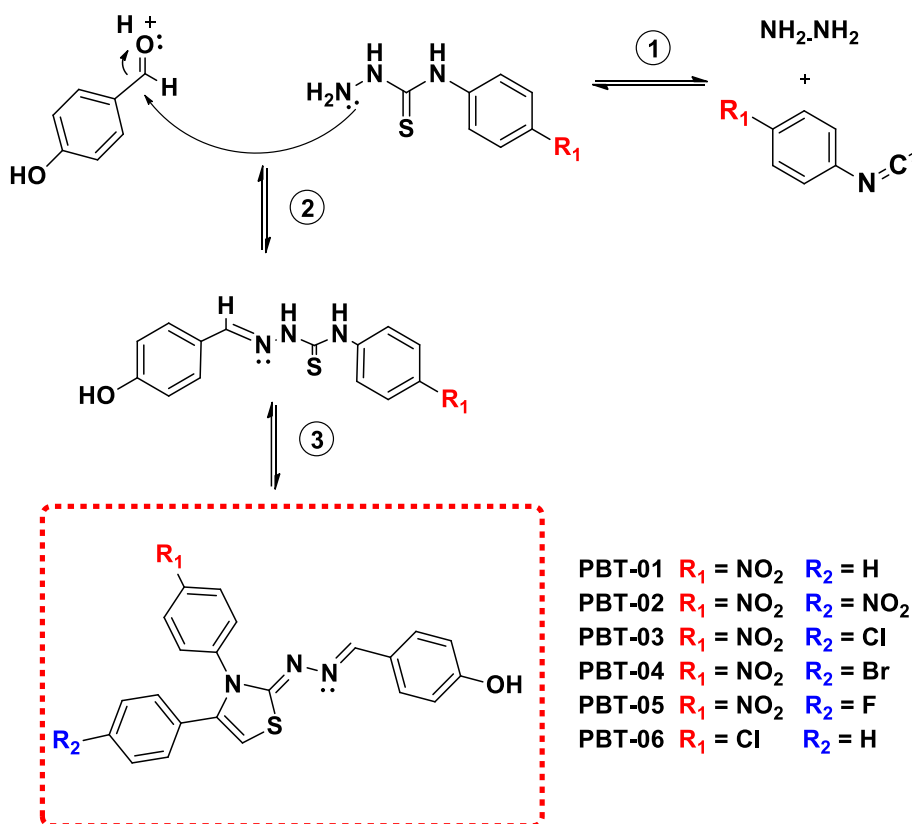
Foram utilizados reagentes e solventes obtidos comercialmente, de acordo com a seguinte lista 2-bromo-acetofenona (Merck, CAS 70-11-1), 2-bromo-4-nitroacetofenona (Merck, CAS 2227-64-7), 2-bromo-4-cloroacetofenona (Merck, CAS 536-38-9), 2,4-dibromoacetofenona, 2-cloro-4-fluoracetofenona (Merck, CAS 456-04-2), isotiocianato de 4-nitro-fenilo (Merck, CAS: 2131-61-5), isotiocianato de 4-clorofenilo (Merck, CAS 2131-55-7), 4-hidroxibenzaldeído (Merck, CAS 123-08-0), solução de hidrazina (Merck, CAS 302 -01-2), dimetilsulfóxido (Merck, CAS: 67-68-5), meio de cultura RPMI 1640 (Thermo Fisher Scientific), triton-X (Merck, CAS: 9036-19-5), MTT (Merck, CAS: 57360-69-7), cloreto de sódio (Merck, CAS:7647-14-5), cloreto de cálcio (Merck, CAS:10043-52-4), Praziquantel (Merck, CAS: 55268-74 -1).

2.2 Síntese dos novos derivados tiazóis

Os derivados tiazóis foram sintetizados e cedidos pelo Laboratório de Química e Inovação Terapêutica (LQIT) do Departamento de Antibióticos,

Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Pernambuco, Brasil. A síntese dos compostos foi realizada em três etapas, segundo metodologia proposta por Oliveira et al. (2015), Oliveira Filho et al. (2017) e Alves et al. (2021) (Figura 1). Etapa 1: As obtenções das tiossemicarbazidas foram realizadas através de reação de adição nucleofílica entre a hidrazina com o 4-nitrofenil isotiocianato ou com o 4-clorofenil isotiocianato, utilizando como solvente o diclorometano à temperatura ambiente sobre agitação magnética por 1 h. Etapa 2: A obtenção das tiossemicarbazonas ocorreu através da reação das tiossemicarbazidas com o 4-hidroxi-benzaldeído sobre agitação magnética em etanol absoluto e na presença de ácido acético, que foi utilizado como catalizador. Etapa 3: Através da reação de ciclização da tiossemicarbazonas com diferentes acetofenonas substituídas por fenil-, 4-bromofenil-, 4-clorofenil-, 4-nitrofenil, para a obtenção dos seis compostos tiazóis (PBT1, PBT2, PBT3, PBT4, PBT5 e PBT6). A Fig. 1 apresenta o esquema de síntese dos compostos tiazóis obtidos.

Figura 1. Esquema de síntese dos Tiazóis



Fonte: a autora (2020)

2.3 Avaliação *in silico* dos parâmetros farmacocinéticos: absorção, distribuição, metabolismo, excreção, toxicidade (ADMET) e previsão da biodisponibilidade oral

Os perfis ADMET foram previstos com o objetivo de avaliar se os compostos sintetizados (PBT) possuem boa disponibilidade oral (Pires et al., 2015; Daina et al., 2017). Além disso, o perfil do praziquantel (PZQ) também foi avaliado. Para a análise desses perfis, foram utilizadas as plataformas disponíveis gratuitamente SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) (Daina et al., 2017) e pkCSM (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>) (Pires et al., 2015).

2.4 Ensaios de citotoxicidade em células animais

2.4.1. Cultivo e manutenção de linhas celulares de macrófagos RAW.264.7, fibroblastos V79, células Vero e hepatoma (HepG2)

As linhas celulares de macrófagos RAW.264.7, fibroblastos V79, células Vero e células de hepatoma (HepG2) foram mantidas em condições de cultura no Laboratório de Biologia Celular e Molecular do Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, Pernambuco, Brasil. O procedimento de manutenção das células foi realizado de acordo com Gouveia et al. (2022), com modificações. Inicialmente, as células foram cultivadas em garrafas de cultura celular (75 cm³, correspondendo a 250 mL), em meio de cultura RPMI 1640 contendo vermelho de fenol, suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos (penicilina 100 µg /mL e estreptomicina 100 µg/mL) e incubadas numa atmosfera húmida de 5% de CO₂ a 37°C. As células foram mantidas por passagens em série a cada 48 h, removendo a monocamada de células em RPMI sem soro fetal bovino com um raspador de células. Em seguida, elas foram removidas dos frascos de cultura e transferidas para tubos de centrifuga de 15 mL e centrifugadas a 400G por 5 min a 37°C. Após o descarte do sobrenadante, as células foram homogeneizadas em 1 mL de meio de cultura RPMI com 10% de soro fetal bovino e distribuídas em novos frascos de cultura. Após esse processo as células foram utilizadas nos ensaios de citotoxicidade.

2.4.2. Ensaios de citotoxicidade celular de macrófagos RAW.264 .7, fibroblastos V79 e hepatoma (HepG2)

Os ensaios de citotoxicidade foram realizados utilizando o método colorimétrico do MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2il)-2,5-difenil tetrazolina] de acordo com a metodologia proposta por Gomha et al. (2017), Ribeiro et al. (2018), Rodrigues et al. (2018) e Gouveia et al. (2022), com modificações. Inicialmente, as células foram plaqueadas em placas de cultura de 96 poços (1×10^5 células/poço) contendo meio RPMI suplementado e incubadas por 24 h (37°C e 5% CO_2). Em seguida, foram tratadas com compostos tiazóis em diferentes concentrações (400 a $0,1 \mu\text{M}$) por 48 h. Após esse período, foram adicionados 25 μL de MTT (5 mg/mL em tampão fosfato-salino) e, em seguida, as placas foram incubadas novamente a 37°C , por 2 h na ausência de luz. O meio de cultura juntamente com o MTT foram removidos e substituídos por 100 μL /poço de DMSO (dimetilsulfóxido) para solubilização dos cristais de formazan. Após a solubilização, a absorbância a 540 nm foi determinada utilizando um espectrofotômetro (Thermo Scientific Multiskan FC). As experiências foram efetuadas em triplicado e a viabilidade celular foi calculada utilizando a Equação 1.

$$\text{Viabilidade Celular (\%)} = \left(\frac{VC}{TC} \right) \cdot 100 \quad (1)$$

Onde: VC é o número de células nas diferentes concentrações, TC é a concentração de células no controle que representa 100% de viabilidade. A concentração de citotoxicidade que promove 50% de viabilidade celular (CC_{50}) foi determinada por análise de regressão não linear dos dados efetuada com o software GraphPad Prism versão 5.0. O controle experimental consistiu apenas em meio de cultura e células. O PZQ foi diluído nas mesmas condições experimentais que os compostos.

2.4.3. Atividade hemolítica *in vitro*

As experiências de atividade hemolítica foram realizadas de acordo com Nerys et al. (2022), com modificações. As amostras de sangue foram coletadas de hamsters, *Mesocricetus auratus*, com peso corporal médio de 30 g e idade de 7 a 8 semanas. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Animal da

UFPE (nº 0060/2019 CEUA/UFPE). Os ensaios foram realizados em microplacas de 96 poços, onde cada poço recebeu 100 µL de uma solução de NaCl 0,85% contendo CaCl_2 10 mM. Os compostos foram diluídos (DMSO 1%) em concentrações que variaram de 400 a 12,5 µM. Em seguida, foram adicionados 100 µL de uma suspensão de 2% (v/v) de eritrócitos de hamster em solução salina contendo 10 mM de CaCl_2 . O controle negativo consistiu em 100 µL de solução salina mais 100 µL de suspensão de eritrócitos (0% de hemólise) e o controle positivo foi uma solução de Triton X-100 a 1% (v/v) (100% de hemólise). As placas foram incubadas a 30°C durante 1 h. Em seguida, os ensaios foram transferidos para tubos e centrifugados a 3000 rpm durante 5 min. Finalmente, o sobrenadante com a hemoglobina libertada foi analisado num leitor de placas a uma absorbância de 540 nm. A percentagem de hemólise foi determinada pela Equação 2.

$$\text{Hemólise (\%)} = \left[\frac{(ABS_{amostra} - ABS_{branco})}{(ABS_{TritonX} - ABS_{branco})} \right] \cdot 100 \quad (2)$$

Em que: $ABS_{amostra}$ consiste na absorbância da amostra; ABS_{branco} se configura na absorbância do controle negativo; $ABS_{TritonX}$ é absorbância do controle positivo. Os experimentos foram realizados em triplicata. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto Aggeu Magalhães/Fundação Oswaldo Cruz, protocolo número 164/2020.

2.5. Atividade esquistossomicida *in vitro*

2.5.1. Comitê de Ética, animais e infecção

Após aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal do Centro de Biociências da UFPE (nº 0060/2019 CEUA/UFPE), 19 camundongos *Swiss Webster* fêmeas, pesando 28 ± 2 g, foram infectados percutaneamente (Olivier e Stirewalt, 1952), com cerca de 120 cercárias de *S. mansoni* (cepa BH), mantidas no Instituto Keizo Asami (iLIKA/UFPE). Os camundongos foram obtidos e mantidos em um biotério do iLIKA, em ambiente controlado ($20 \pm 2^\circ\text{C}$, ciclo de 12 h de luz do dia) com livre acesso a alimentos (Labitum/Purina, São Paulo-SP) e água.

2.5.2. Recuperação de vermes e avaliação esquistossomicida *in vitro* de derivados de tiazóis contra vermes adultos de *S. mansoni*

Após 45 dias da infecção, os camundongos foram submetidos a eutanásia por deslocamento cervical e os vermes foram recuperados assepticamente por perfusão do sistema portal e das veias mesentéricas com solução salina estéril (0,9% de NaCl p/v) (Smithers e Terry, 1965). Apenas os casais de vermes intactos foram imediatamente transferidos para um meio RPMI 1640 suplementado com 20 mM HEPES, 100 µg/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina e 10% de soro fetal bovino, sendo lavados quatro vezes com este meio. Em seguida, os vermes foram distribuídos em placas de cultura de 24 poços com 2 mL desse meio (dois casais de vermes por poço), e incubados a 37°C em atmosfera úmida contendo 5% de CO². Após duas horas de exposição para permitir a adaptação dos vermes, os seis compostos tiazóis (PBT1, PBT2, PBT3, PBT4, PBT5 e PBT6), diluídos em DMSO 1%, foram adicionados ao meio de cultura para obter concentrações finais de 200, 100, 50, 25, 12,5 e 6,25 µM. As concentrações avaliadas foram determinadas através do trabalho de Araújo et al. (2019). Os vermes de controle foram testados em meio RPMI 1640 suplementado (controle 1) ou meio RPMI 1640 suplementado com 1% de DMSO (controle 2) como um grupo de controle negativo e em 10 µM PZQ como um grupo de controle positivo. Foram realizadas duas experiências independentes (16 pares de vermes por concentração), em quadruplicado.

2.5.3. Avaliação da motilidade e da mortalidade dos vermes adultos

Um microscópio invertido (Leica Microsystems, DM IL Wetzlar, Alemanha) foi utilizado para avaliar a motilidade e a sobrevivência de pares de vermes, inicialmente monitoradas às 3, 6, 12 e 24 h e, posteriormente, as observações foram realizadas a cada 24 h durante cinco dias consecutivos (intervalos de 24, 48, 72, 96 e 120 h). A motilidade e a sobrevivência dos parasitos foram avaliadas de acordo com os critérios e pontuadas em uma escala de viabilidade de 3 - 0 conforme proposto por Araújo et al. (2020a), sendo: escore 3, minhocas que apresentam movimentos típicos, exibindo peristaltismo dos órgãos internos, ventosas em movimento, aderidas ao fundo ou às laterais da placa de cultura; descrições típicas de minhocas do controle negativo; escore 2, movimentos reduzidos em todo o corpo, peristaltismo dos órgãos internos e ventosas; escore

1, movimentos apenas nas extremidades ou em apenas uma das extremidades (regiões anterior e/ou posterior), com ausência de peristalse dos órgãos internos e ventosas não aderidas; escore 0, ausência completa de movimentos e tegumento com ou sem alterações na coloração. O tratamento foi considerado letal quando não foi possível observar movimentos do parasita por até 2 min.

2.5.4. Ensaio de viabilidade celular de vermes adultos

A viabilidade celular dos vermes adultos de *S. mansoni*, após o tratamento, foi determinada pelo ensaio de citotoxicidade baseado no 3-(4,5-dimetiltiazolic2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT), de acordo com as condições previamente relatadas por Aires et al. (2014). Resumidamente, dois casais de vermes adultos foram transferidos para uma placa de cultura de 96 poços contendo 100 µL de MTT (5 mg/mL diluído em tampão fosfato, PBS) e incubados por 30 min no escuro a 37°C. Posteriormente, a solução de MTT foi removida e 200 µL de DMSO foram adicionados a cada poço da placa, a fim de dissolver os cristais de formazan. A placa foi mantida sob agitação durante 1 h à temperatura ambiente e a densidade ótica foi medida a 550 nm num leitor de microplacas (M680, Bio Rad Laboratories, Inc.). Os vermes dos grupos do controle positivo e negativo foram submetidos ao mesmo teste. Todas as experiências foram efetuadas em quadruplicado e repetidas pelo menos duas vezes. O nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$. IC₅₀, e foi calculado utilizando Prism (Graphpad) a partir da curva de inibição dose-resposta.

2.5.5. Determinação do índice de seletividade

O índice de seletividade (SI) dos compostos foi determinado como uma relação entre a citotoxicidade do composto para células de mamíferos e sua atividade parasitária (Padalino et al., 2021). Este parâmetro é a relação entre a citotoxicidade para as células (CC₅₀) e a atividade contra o parasita (IC₅₀).

2.5.6. Estudo das alterações ultraestruturais do tegumento por microscopia eletrônica de varredura

As análises ultraestruturais foram realizadas de acordo com a metodologia proposta por Araújo et al. (2020b), com modificações. Os vermes adultos expostos aos compostos tiazóis e dos grupos controle negativo e positivo

foram fixados em glutaraldeído 2,5%, paraformaldeído 4% em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7,2, por 12 h em temperatura ambiente. Em seguida, foram lavados no mesmo tampão e pós-fixados em OsO_4 a 1% em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7,2, durante 1 h à temperatura ambiente. Após a pós-fixação, o material foi lavado no mesmo tampão, desidratado em séries crescentes de etanol e subsequentemente seco em CO_2 líquido num secador de ponto crítico (modelo Hitachi HCP-2, Hitachi, Japão). Após a montagem e metalização, os vermes foram observados e fotografados com o auxílio de um microscópio eletrônico de varredura (JEOL-25SII, Tóquio, Japão).

2.7. Análises estatísticas

As análises de dados foram efetuadas com o software Graphpad Prism 5 (GraphPad Software, Inc., La Jolla - CA, EUA) e expressas como média $\pm$ desvio padrão. Utilizando a análise de variância (ANOVA), além do teste de Tukey para comparações múltiplas post-hoc, as com diferenças estatísticas determinadas em $p < 0,05$.

3. Resultados e discussão

3.1 Avaliação *in silico* dos parâmetros farmacocinéticos: absorção, distribuição, metabolismo, excreção, toxicidade (ADMET) e previsão da biodisponibilidade oral

A avaliação *in silico* e a previsão de parâmetros farmacocinéticos relacionados com a absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET) são de grande importância para a indústria farmacêutica (Daoud et al., 2021; Kumar et al., 2021). Isso porque essa avaliação acelera o processo de descoberta e desenvolvimento de novos compostos candidatos a fármacos (Pires et al., 2015). A Tabela 1 apresenta os resultados ADMET para todos os compostos tiazóis avaliados neste estudo, além do medicamento padrão praziquantel. Os resultados da Tabela 1 mostram o perfil *in silico* de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade para os compostos tiazóis testados e para o praziquantel (PZQ).

Tabela 1. Avaliação e predição in silico dos parâmetros farmacocinéticos da ADME

	PBT-01	PBT-02	PBT-03	PBT-04	PBT-05	PBT-06	PZQ	Unidade de medida
Absorção								
Solubilidade em água	-6,52	-5,72	-6,40	-6,41	-6,36	-6,74	-4,22	Numérico (log mol/L)
Permeabilidade CACO ²	0,56	0,43	0,48	0,48	0,55	0,96	1,75	Numérico (log Papp in 10 ⁻⁶ cm/s)
Absorção intestinal	100	97,15	100	100	100	89,81	93,42	Numérico (%)
Permeabilidade cutânea	-2,73	-2,73	-2,73	-2,73	-2,73	-2,72	-2,98	Numérico (log Kp)
Substrato da glicoproteína P	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Categórico (Sim/Não)
Inibidor da glicoproteína P I	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Categórico (Sim/Não)
Inibidor da glicoproteína P II	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Categórico (Sim/Não)
Distribuição								
VDss	-0,3	-0,54	-0,23	-0,22	-0,40	0,02	0,41	Numérico
Fração não ligada	0,22	0,22	0,22	0,22	0,24	0,24	0,14	Numérico (Fu)
Permeabilidade da BHE	-0,89	-1,40	-1,08	-1,09	-1,11	0,38	0,22	Numérico (log BB)
Permeabilidade SNC	-1,73	-1,94	-1,61	-1,59	-1,78	-1,39	-1,42	Numérico (log PS)
Metabolismo								
Substrato do CYP2D6	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Categórico (Sim/Não)
Substrato do CYP3A4	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Categórico (Sim/Não)
Inibidor do CYP1A2	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Categórico (Sim/Não)
Inibidor do CYP2C19	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Categórico (Sim/Não)
Inibidor do CYP2C9	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Categórico (Sim/Não)
Inibidor do CYP2D6	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Categórico (Sim/Não)
Inibidor do CYP3A4	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Categórico (Sim/Não)
Excreção								
Depuração total	0,03	-0,05	-0,09	-0,11	-0,22	-0,11	1,18	Numérico (log mL/min/kg)
Substrato renal de OCT2	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Categórico (Sim/Não)
Toxicidade								
Teste de AMES	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Categórico (Sim/Não)
Dose máxima tolerada	0,58	0,47	0,53	0,52	0,57	0,68	-0,95	Numérico (log mg/kg/day)
Inibidor de hERG I	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Categórico (Sim/Não)
Inibidor de hERG II	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Categórico (Sim/Não)
Toxicidade oral aguda em camundongos	2,53	2,69	2,67	2,68	2,56	1,66	2,54	Numérico (mol/kg)
Toxicidade oral crônica em camundongos	1,11	1,17	0,94	0,92	1,64	0,74	1,39	Numérico (log mg/kg_bw/day)
Hepatotoxicidade	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Categórico (Sim/Não)
Sensibilização cutânea	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Categórico (Sim/Não)
Toxicidade em <i>T. Pyriformis</i>	0,29	0,28	0,29	0,29	0,28	0,30	1,45	Numérico (log µg/L)
Toxicidade aguda	-0,99	-1,78	-1,63	-1,78	-1,4	-1,18	1,858	Numérico (log mM)

Fonte: a autora (2022).

Os resultados da Tabela 1 mostram o perfil *in silico* de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade para os compostos tiazóis testados e para o praziquantel (PZQ). Considerando a absorção, o primeiro parâmetro avaliado foi a solubilidade em água (LogS). A baixa solubilidade de diferentes compostos em sistemas aquosos é um problema para o desenvolvimento de formulações e para a sua absorção pelo organismo (Daoud et al., 2021; Kumar et al., 2021). Para que um fármaco seja absorvido, é necessário que parte dele seja solúvel em soluções aquosas (Pires et al., 2015).

Assim, os valores de solubilidade (LogS) podem ser classificados de acordo com a seguinte escala: insolúvel < -10 < pouco solúvel < -6 < moderado < -4 < solúvel < -2 < muito solúvel < 0 (Daoud et al., 2021; Kumar et al., 2021; Pires et al., 2015). Os resultados mostraram que os compostos PBT1, PBT3, PBT4, PBT5 e PBT6 foram classificados como pouco solúveis. Enquanto o PBT2 e o PZQ foram classificados como moderadamente solúveis.

As células extraídas do adenocarcinoma do cólon humano (Caco-2) têm sido utilizadas em ensaios biológicos para avaliar a permeação e absorção de fármacos na mucosa intestinal humana (Daoud et al., 2021; Kumar et al., 2021; Pires et al., 2015). Portanto, diferentes compostos podem ser classificados como mal absorvidos ($< 1,10^{-6} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$), moderadamente absorvidos ($1 \text{ e } 10 \cdot 10^{-6} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$) e bem absorvidos ($> 10 \cdot 10^{-6} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$) (Pires et al., 2015). Os resultados mostram que todos os compostos podem ser considerados como pouco absorvidos. O PZQ foi considerado moderadamente absorvido.

Os compostos PBT1, PBT2, PBT3, PBT4, PBT5 e PZQ apresentaram uma porcentagem de absorção intestinal superior a 90%, com exceção do composto PBT6 que apresentou uma porcentagem de 89,81%. Em relação à permeabilidade cutânea, todos os compostos e o praziquantel apresentaram alta permeabilidade ($\log K_p < -2,5$) (Pires et al., 2015).

Por fim, os compostos e o PZQ foram avaliados como potenciais substratos ou inibidores da *glicoproteína p*. Essas proteínas funcionam como uma bomba de efluxo contra xenobióticos, protegendo o organismo da ação de diferentes drogas (Daina et al., 2017; Daoud et al., 2021; Kumar et al., 2021; Pires et al., 2015). Todos os compostos e o PZQ foram classificados como potenciais substratos para as glicoproteínas *p*. No entanto, em relação às *p-glicoproteínas I e II*, os compostos foram classificados como inibidores, enquanto o PZQ não foi considerado inibidor das *p-glicoproteínas I e II*.

Em relação à distribuição, o primeiro parâmetro avaliado foi o volume de distribuição. Os compostos apresentaram diferentes valores de volume de distribuição (VDss). Os compostos PBT1, PBT2, PBT3, PBT4 e PBT5 apresentaram VDss ($\log \text{VDss}$) 0,45, tendo uma maior tendência a serem distribuídos nos tecidos. Além disso, foi observado que todos os compostos

testados e o PZQ apresentaram uma baixa fração não ligada às proteínas. Essa fração livre mostra maior interação com o alvo biológico (Daina et al., 2017; Daoud et al., 2021; Kumar et al., 2021).

Em relação à permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE), os compostos PBT2, PBT3, PBT4 e PBT5 tendem a ser mal distribuídos para o cérebro ($\log BB < -1$), por outro lado, os compostos PBT1, PBT6 e PZQ podem ter uma distribuição moderada. Além disso, todos os compostos e o PZQ têm a capacidade de penetrar no sistema nervoso central ($\log PS > -2$).

O metabolismo foi avaliado pelo citocromo P450, uma superfamília ampla e diversificada de proteínas responsáveis pelo metabolismo de muitos fármacos (Daina et al., 2017; Pires et al., 2015). Todos os compostos e o PZQ foram classificados como não-substratos do CYP2D6 e foram considerados substratos do CYP3A4. Além disso, os compostos podem ou não inibir diferentes isoformas do citocromo P450. Para as isoformas CYP1A2 e CYP2C19, apenas o composto PBT2 não atua como inibidor. Contudo, para as isoformas CYP2C9 e CYP3A4, todos os compostos foram inibidores, apenas o praziquantel não foi inibidor de ambas isoformas. Por fim, em relação a isoforma CYP2D6, todos os compostos e o PZQ não apresentaram atividade inibitória dessa isoforma.

Ao nível da excreção, os compostos apresentaram valores baixos de depuração total e não foram substratos do transportador de cátions orgânicos tipo 2, um transportador de captação renal. Este desempenha um papel importante na disposição e depuração renal de fármacos e compostos endógenos (Daoud et al., 2021; Kumar et al., 2021; Pires et al., 2015). No entanto, o PZQ apresentou valores elevados de depuração total e foi um substrato para o transportador de cátions orgânicos tipo 2.

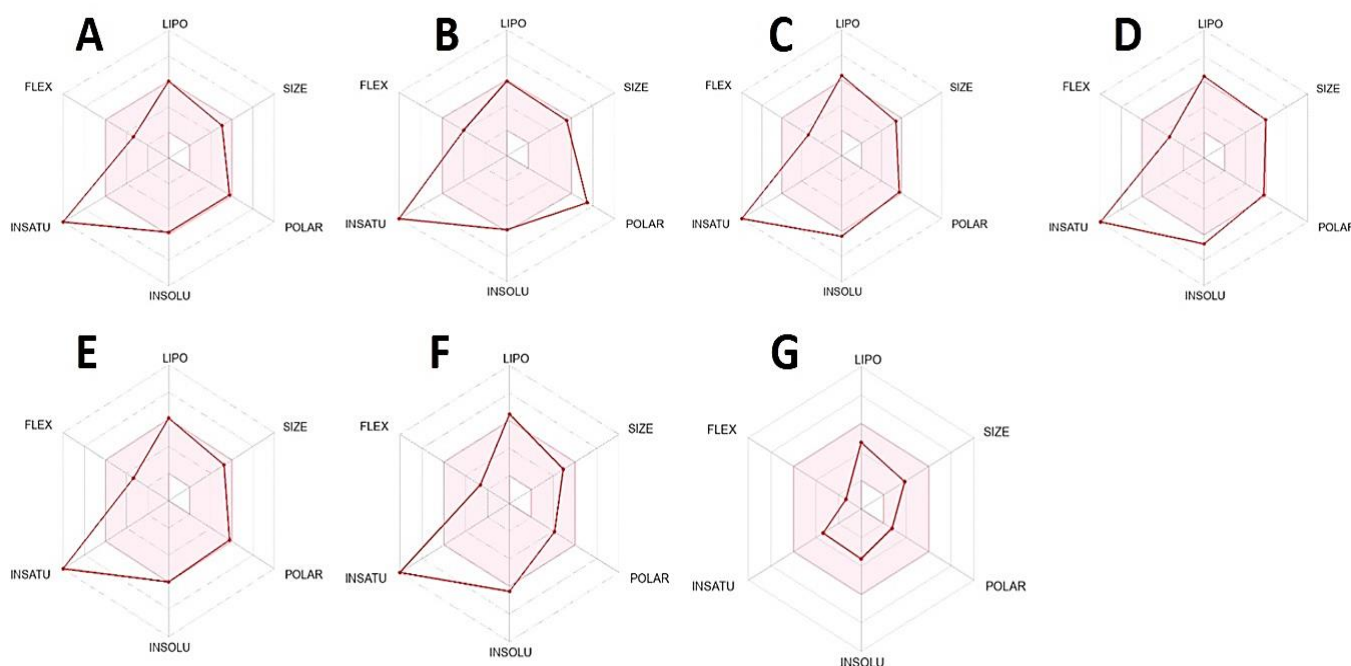
Também foi avaliada a possível toxicidade dos compostos em diferentes modelos experimentais. Todos os compostos foram positivos pelo teste AMES, indicando que podem ter potencial mutagênico (Pires et al., 2015). Por outro lado, o PZQ apresentou resultado negativo para o teste. A dose terapêutica máxima recomendada (DTMR) fornece uma estimativa da dose tóxica limiar de produtos químicos em seres humanos. Apenas o composto PBT2 e o PZQ

apresentaram baixa DTMR com valores inferiores ou iguais a 0,477 log(mg/kg/dia).

Os compostos e o PZQ foram classificados como não inibidores da hERG I, já para o hERG II, todos os compostos foram classificados como inibidores, ao contrário do PZQ (não inibidor). Além disso, os compostos e o PZQ foram classificados como não hepatotóxicos e não promoveram o aumento da irritabilidade cutânea. A toxicidade oral aguda em ratos (DL50) variou de 1,66 a 2,69 mol/kg. A toxicidade oral crônica apresentou variedade de valores de 0,74 a 1,64 log mg/ kg bw/dia para os compostos e o PZQ. Além disso, os compostos testados e o PZQ foram capazes de mostrar toxicidade contra *T. pyriformis* (log $\mu\text{g/L}$ > -0,5). Contudo, no ecotoxicológico, todos os compostos tiazóis apresentaram uma toxicidade elevada (Log CL₅₀ < -0,3). O PZQ, por outro lado, apresentou baixa toxicidade (Log CL₅₀ > -0,3).

Os compostos tiazóis também foram analisados de acordo com o gráfico Radar de biodisponibilidade (Fig. 2) gerado pela plataforma SwissADME, que correlaciona tamanho da molécula, flexibilidade, solubilidade, lipofilicidade, saturação e polaridade. A área rosa delimita as condições ideais de biodisponibilidade para a administração de um fármaco por via oral (Daina et al., 2017). Como pode ser observado nos gráficos da Fig. 2, a maioria dos compostos parece ser excelente para a biodisponibilidade oral, uma vez que todos os parâmetros avaliados estão dentro da área rosa, que corresponde aos padrões ideais de biodisponibilidade (1 violação). O composto PBT2 apresentou valores de insolubilidade e polaridade superestimados (2 violações), ou seja, fora da área de um perfil desejável, indicando que o composto não possui um bom perfil de biodisponibilidade, no entanto, o PZQ apresentou um bom perfil de disponibilidade oral. Estes resultados mostram que os compostos avaliados têm potencial para serem utilizados por via oral.

Figura 2. Análise da biodisponibilidade: gráficos radar para os compostos, PBT-01 (A), PBT-02 (B), PBT-03 (C), PBT-04 (D), PBT-05 (D) e PBT-06 (E) respectivamente.



Legenda: LIPO (lipofilicidade)= XLOGP3; SIZE (tamanho da molécula); POLAR (polaridade)= TPSA; INSOLU (insolubilidade); fração de carbonos em sp³; FLEX (flexibilidade).

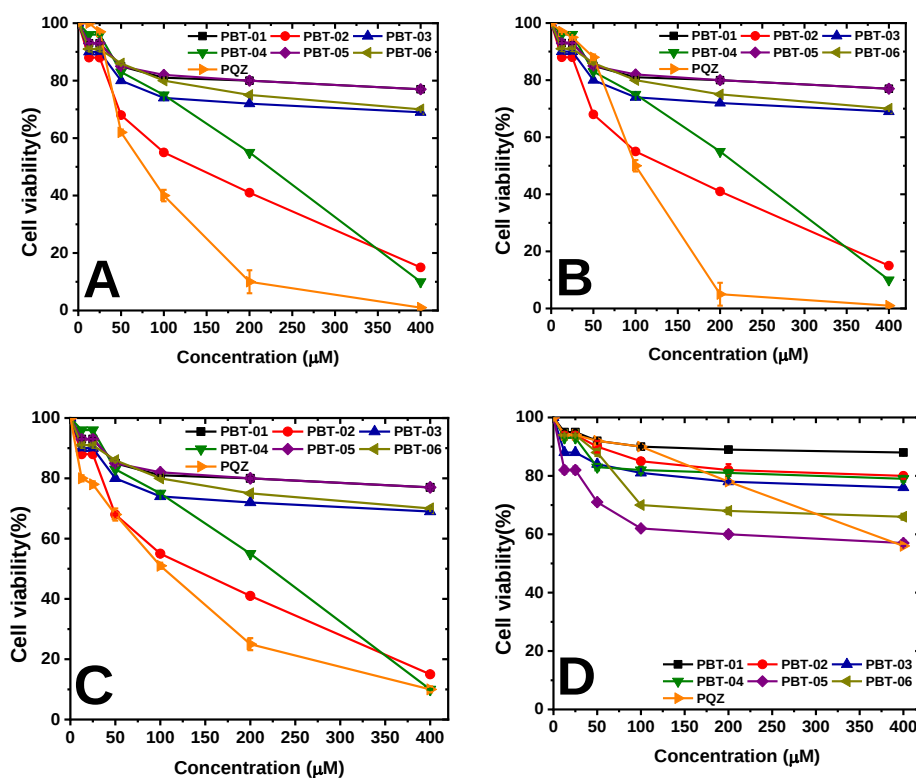
3.2. Resultados da atividade citotóxica em células de mamíferos promovida por compostos tiazóis

A avaliação da citotoxicidade em células de mamíferos é um passo importante para a descoberta de novos candidatos a fármacos com ação antiparasitária (Danso-Appiah et al., 2013; Langenberg et al., 2020). É esperado que estes compostos apresentem menor citotoxicidade contra células de mamíferos e maior citotoxicidade contra células de diferentes parasitas (Villiers e Egan, 2009; Caffrey e Secor, 2011; LoVerde et al., 2021).

A Fig. 3 mostra os resultados da atividade citotóxica promovida pelos compostos tiazóis avaliados contra macrófagos RAW.264.7, fibroblastos V79, células Vero e células hepáticas HepG2, respetivamente, em diferentes concentrações. As curvas foram traçadas por concentração de composto versus viabilidade celular. Os resultados obtidos por todas as curvas da Fig. 3 mostram

que o aumento da concentração dos compostos foi capaz de promover uma diminuição da viabilidade celular.

Figura 3. Citotoxicidade promovida pelos compostos frente a células de macrófagos RAW.264.7 (A), fibroblastos V79 (B), células Vero (C) e células hepáticas HepG2 (D) respectivamente.



Fonte: A autora (2022)

Perfil semelhante foi obtido por Santos et al. (2016), Sa' et al. (2017) e Queiroz et al. (2020), avaliando o efeito citotóxico de compostos tiazóis frente a diferentes células de mamíferos. A partir das curvas foi possível determinar os valores de IC₅₀ para cada um dos compostos contra os diferentes tipos de células.

Tabela 2. Citotoxicidade dos compostos, expressos em CC50 (capacidade de inibição do crescimento em 50%), obtidos pelos compostos contra células macrofágicas RAW.264.7, fibroblastos V79, células Vero e células hepáticas HepG2, em comparação com o padrão praziquantel, respetivamente.

Compostos	Macrófagos RAW.264.7 CC50 (µM)	Fibroblastos (V79) CC50 (µM)	Células Vero CC50 (µM)	HepG2 CC50 (µM)
PBT-01	> 400	> 400	> 400	> 400
PBT-02	107.05 ±	140.01 ±	161.88 ±	> 400
PBT-03	> 400	> 400	> 400	> 400
PBT-04	207.34 ±	248.91 ±	232.79 ±	> 400
PBT-05	218.78 ±	> 400	> 400	> 400
PBT-06	> 400	> 400	> 400	> 400
PQZ	74.30 ±	102.17 ±	116.45 ±	>400

Fonte: A autora (2022)

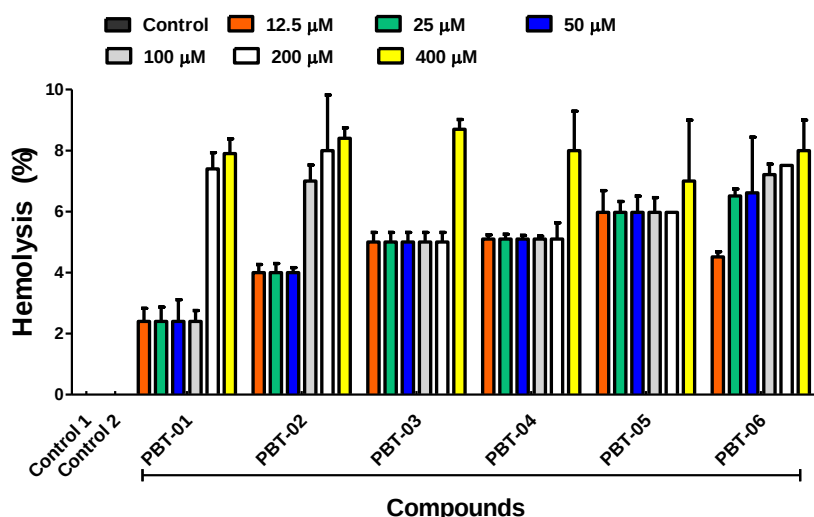
A tabela 2 apresenta os resultados de IC50 (concentração de inibição de crescimento de 50%) para cada um dos compostos. Os resultados mostram que os compostos apresentaram diferentes resultados de IC50. Para as células macrofágicas RAW.264.7, apresentaram valores entre 107,05 e valores superiores a 400 µM. Para os fibroblastos, valores entre 140,01 e valores maiores que 400 µM, células Vero de 161,88 a valores maiores que 400 µM e para as células HepG2, apesar de ser um hepatoma, possuem propriedades fisiológicas semelhantes aos hepatócitos, não foram citotóxicas nas concentrações avaliadas (CC50 > 400 µM) (Padalino et al., 2021). Todos os compostos PBT foram menos tóxicos do que o PZQ (valores CC50 mais elevados). Os tiazóis são uma classe de compostos altamente versáteis e que podem promover diferentes atividades biológicas (Gupta e Kant, 2013; Gümüş, et al. 2019). Essa versatilidade está diretamente relacionada à sua estrutura química (Gupta e Kant, 2013).

Diferentes valores de CC50 promovidos pelos tiazóis contra diferentes células são encontrados na literatura. Santos et al. (2016), avaliando diferentes compostos tiossemicarbazona e 1,3-tiazol, obtiveram valores de CC50 variando de 6,50 a 182,57 µM. Além disso, os autores verificaram que os compostos 7h e 10j não foram citotóxicos contra células macrofágicas J774.A1. Aliança et al. (2017), avaliando derivados ftalimidotiazóis, obtiveram valores de CC50 variando de 112,9 a 1582,9 µM contra células macrofágicas. Salehi et al. (2013) relatados para células de fibroblastos NIH-3T3 com valores de CC50 variando de 22,1 a

valores superiores a 100 μM . Borkova et al. (2017) obtiveram valores de CC50 variando de 15,7 a valores superiores a 50 para duas linhas celulares de fibroblastos, MRC-5 e BJ. Aliança et al. (2017) obtiveram CC50 variando de 48,8 a 883,8 μM avaliando derivados de ftalimidotiazol contra células Vero. S' a et al. (2015) verificaram que os derivados tiazóis avaliados não foram capazes de promover citotoxicidade nas concentrações avaliadas contra células macrofágicas e células Vero (CC50 > 100 μM). Alqahtani e Bayazeed (2021) obtiveram valores de CC50 variando de 6,78 a 40,33 μM contra células HepG2 e Gali et al. (2014) obtiveram valores de CC50 variando de 13,92 a 117,78 μM também para células HepG2.

Para além dos ensaios de citotoxicidade em diferentes linhas celulares, foi também realizada a atividade hemolítica in vitro. Os ensaios de hemólise têm como objetivo avaliar se os compostos avaliados podem promover danos na membrana dos eritrócitos. A Fig. 4 apresenta os resultados em porcentagem de hemólise promovida pelos compostos em diferentes concentrações. O Triton-X apresentou 100% de hemólise.

Figura 4. Resultados de atividade hemolítica em diferentes concentrações promovidas pelos compostos tiazóis. Controle 1 (apenas meio de cultura) e controle 2 (praziquantel a uma concentração de 400 μM).



Os resultados mostram que as porcentagens de hemólise promovidas pelos compostos e pelo PZQ foram inferiores a 10%, indicando que esses compostos não são hemolíticos. Resultados semelhantes foram obtidos por Li et al. (2016), Queiroz et al. (2020) e Yang et al. (2022) que, avaliando o efeito

hemolítico de compostos tiazóis, observaram valores de hemólise inferiores a 10%. Malheiros et al. (2000) e Brito et al. (2001) obtiveram resultados de hemólise inferiores a 6% para o PZQ em concentrações que variaram de 1500 a 4500 μM , respetivamente.

3.3. Atividade esquistossomicida *in vitro*

3.3.1. Alterações na motilidade e mortalidade de casais de vermes adultos de *S. mansoni*

A Tabela 3 mostra os escores de motilidade de casais de vermes adultos de *S. mansoni* incubados em PBT2, PBT5 e PBT6 após 3, 6, 12 e 24 h. Por outro lado, os compostos PBT1, PBT3 e PBT4 não apresentaram alterações na mobilidade nas primeiras 24 h de observação. Os resultados da Tabela 3 mostram que, para o controlo positivo PZQ 10 μM , após 3 h de incubação, 100% dos vermes apresentavam uma motilidade de 0. Os grupos de controlo negativo, incubados em meio RPMI 1640 suplementado (controlo 1) e em meio RPMI 1640 suplementado com 1% de DMSO (controlo 2), não apresentaram diferenças na motilidade. Estes vermes continuaram a apresentar movimentos típicos na pontuação 3, como o movimento das ventosas e a sua adesão ao lado ou ao fundo da placa de Petri, para além de apresentarem peristaltismo dos órgãos internos.

Assim, os vermes incubados no controlo, 2 foram escolhidos para o controlo negativo da motilidade. Após 3 h de incubação, 100% das minhocas incubadas em PBT2 e PBT5 a 200 μM apresentaram uma pontuação de 0, mostrando uma ausência total de movimento. Às 6 h de exposição aos compostos tiazóis, observou-se 100% de mortalidade na concentração de 100 μM nos compostos PBT2 e PBT5, enquanto no PBT6 25% das minhocas foram avaliadas no score 0 e 75% no score 1. Em 12 h de exposição, 100% das minhocas incubadas a 50 μM de PBT2 e PBT5 estavam no escore 1, apresentando movimento apenas nas extremidades, enquanto 100% da mortalidade foi alcançada na concentração de 200 μM de PBT6, além da redução da motilidade para o escore 1 de 100% das minhocas na concentração de 100 μM . Durante 24 h de exposição, 81,25% dos vermes na concentração de 100 μM apresentaram mortalidade.

A tabela 4 mostra as alterações da motilidade entre 24 h e 120 h para as seis concentrações testadas. Após 48 h de exposição, verificou-se uma redução da motilidade para o score 1 de 100% dos vermes na concentração de 200 μ M de PBT1 e PBT4 e a 50 μ M de PBT2, enquanto o número de mortalidade em 100 μ M de PBT6 aumentou para 87,5%.

Em 96 h de exposição, 87,5% dos vermes incubados em 200 μ M de PBT1 apresentaram escore 0. Ao final do experimento, em 120 h de exposição, ocorreu 100% de mortalidade nos casais de vermes adultos em PBT1 incubados em 200 μ M, além disso, observou-se 62,5% de mortalidade na concentração de 50 μ M de PBT2 e 12,5% na concentração de 200 μ M de PBT3. O medicamento PBT4 não causou mortalidade em nenhuma das concentrações testadas durante o período de 120 horas.

Tabela 3. Escore de motilidade de vermes adultos controle, tratados com Praziquantel (PQZ -10 µM) ou com derivados tiazóis (PBT-02, PBT-05 e PBT-06) após 3, 6, 12 e 24 h de incubação.

Média ± desvio-padrão (DP) e percentagem de vermes (%) dos escores de motilidade após a incubação																	
Grupos	3h				6h				12h				24h				
	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	
Controle 1	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	
Controle 2	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	
PZQ 10 µM	-	13 ± 1.41 (81.25%)	3 ± 1.41 (18.75%)	-	1 ± 0.7 (6.25%)	15 ± 1.41 (93.75%)	-	-	10 ± 2.82 (62.5%)	6 ± 2.82 (37.5%)	-	-	15 ± 0.0 (93.75%)	1 ± 0.7 (6.25%)	-	-	
PBT-02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
200 µM	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	
100 µM	14 ± 2.82 (87.5%)	2 ± 2.82 (12.5%)	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	
50 µM	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	4 ± 1.41 (25%)	12 ± 4.24 (75%)	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	13 ± 1.41 (81.25%)	3 ± 1.41 (18.75%)	-	
25 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	
12.5 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	
6.25µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	
PBT-05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
200 µM	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	
100 µM	13 ± 2.28 (81.25%)	3 ± 2.82 (18.75%)	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	
50 µM	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	4 ± 0.0 (25%)	12 ± 0.0 (75%)	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	
25 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	
12.5 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	
6.25µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	

PBT-06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
200 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	4 ± 0.0 (25%)	12 ± 0.0 (75%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-
100 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	13 ± 1.41 (81.25%)	3 ± 1.41 (18.75%)	-
50 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	4 ± 1.41 (31.25%)	12 ± 2.82 (68.75%)	-	-	2 ± 1.41 (12.5%)	14 ± 1.41 (87.5%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-
25 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	10 ± 4.24 (62.5%)	6 ± 4.24 (37.5%)
12.5 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	4 ± 1.41 (25%)
6.25µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-

Nota: Valor médio de 16 vermes (8 casais). Experimento em quadruplicata, totalizando 32 casais de vermes adultos por concentração.

Escore 3 = apresentam movimentos típicos, exibindo peristaltismo dos órgãos internos, ventosas em movimento, aderindo ao fundo ou laterais da placa de cultura.

Pontuação 2 = apresentam movimentos reduzidos em todo o corpo e peristaltismo dos órgãos internos e ventosas.

Escore 1 = apresentam movimentos apenas nas extremidades ou em uma das extremidades (regiões anterior e/ou posterior), com ausência de peristaltismo dos órgãos internos e ventosas não aderidas.

Pontuação 0 = ausência completa de movimentos e tegumento com ou sem alterações de coloração.

Fonte: A autora (2021).

Tabela 4. Pontuação da motilidade de vermes adultos de controle, tratados com Praziquantel (PQZ -10 µM) ou com compostos de tiazóis (PBT1 - PBT6 (200 - 6,25 µM)) após 24 - 120 h de incubação.

Porcentagem (%) de vermes nos scores de motilidade após incubação																				
Grupos	24h				48h				72h				96h				120h			
	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
Controle 1	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)
Controle 2	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)
PZQ 10 µM	15 ± 0.0 (93.75%)	1 ± 0.7 (6.25%)	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-
PBT-01																				
200 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	14 ± 2.82 (87.5%)	2 ± 0.0 (12.5%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-
100 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	6 ± 1.41 (37.5%)	-	-	4 ± 1.41 (31.25%)	10 ± 2.82 (62.5%)	2 ± 0.0 (12.5%)	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-
50 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	9 ± 4.24 (56.25%)	7 ± 2.82 (43.75%)	-	9 ± 4.24 (56.25%)	7 ± 2.82 (43.75%)	-	-	-	13 ± 5.65 (81.25%)	3 ± 1.41 (18.75%)
25 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	6 ± 1.41 (37.5%)	10 ± 1.41 (62.5%)	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	--	-	16 ± 0.0 (100%)
12.5 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)
6.25 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)
PBT-02																				
200 µM	16 ± 0.0 (100%)	-	--	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-
100 µM	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-
50 µM	-	13 ± 1.41 (81.25%)	3 ± 1.41 (18.75%)	--	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	10 ± 2.82 (62.5%)	6 ± 1.41 (37.5%)	-
25 µM	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	4 ± 1.41 (25%)	12 ± 2.82 (75%)
12.5 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)
6.25 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)
PBT-03																				
200 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	2 ± 0.0 (12.5%)	14 ± 2.82 (87.5%)	-
100 µM	-	-	-	16 ± 0.0	-	-	16 ± 0.0	-	-	16 ± 0.0	-	-	-	16 ± 0.0	-	-	-	-	16 ± 0.0	-

50 µM	-	-	-	(100%) 16 ± 0.0	-	-	(100%) 9 ± 2.12	7 ± 2.82 (43.75%)	-	(100%) -	16 ± 0.0 (100%)	-	-	(100%) -	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	(100%) 16 ± 0.0	-	-
25 µM	-	-	-	(100%) 16 ± 0.0	-	-	--	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	9 ± 4.24 (56.25%)	7 ± 2.82 (43.75%)
12.5 µM	-	-	-	(100%) 16 ± 0.0	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)
6.25 µM	-	-	-	(100%) 16 ± 0.0	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)
PBT-04																					
200 µM	-	-	-	(100%) 16 ± 0.0	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-
100 µM	-	-	-	(100%) 16 ± 0.0	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	10 ± 4.24 (62.5%)	6 ± 2.82 (37.5%)	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	--	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-
50 µM	-	-	-	(100%) 16 ± 0.0	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	9 ± 2.12 (56.25%)	7 ± 2.82 (43.75%)	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	12 ± 2.12 (75%)	4 ± 1.41 (25%)	-
25 µM	-	-	-	(100%) 16 ± 0.0	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	5 ± 1.41 (31.25%)	11 ± 0.0 (68.75%)	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-
12.5 µM	-	-	-	(100%) 16 ± 0.0	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	--	16 ± 0.0 (100%)
6.25 µM	-	-	-	(100%) 16 ± 0.0	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)
PBT-05																					
200 µM	16 ± 0.0 (100%)	-	--	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-
100 µM	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-
50 µM	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	3 ± 1.41 (18.75%)	13 ± 2.82 (87.25%)	-	-	-	6 ± 2.82 (37.5%)	10 ± 4.24 (62.5%)	-	-	-	10 ± 2.82 (62.5%)	6 ± 2.82 (37.5%)	-
25 µM	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	8 ± 1.41 (50%)	8 ± 1.41 (50%)
12.5 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)
6.25 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)
PBT-06																					
200 µM	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-
100 µM	13 ± 1.41 (81.25%)	3 ± 1.41 (18.75%)	-	-	14 ± 2.82 (87.5%)	2 ± 1.41 (12.5%)	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-
50 µM	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	1 ± 1.41 (6.25%)	15 ± 1.41 (93.75%)	-	-	6 ± 1.41 (37.5%)	10 ± 1.41 (62.5%)	-	-	-	7 ± 2.82 (43.75%)	9 4 ± 243 (56.25%)	-	-	-	10 ± 1.41 (62.5%)	6 ± 1.41 (37.5%)	-
25 µM	-	10 ± 4.24 (62.5%)	6 ± 4.24 (37.5%)	-	-	12 ± 2.82 (75%)	4 ± 1.41 (25%)	-	-	-	13 ± 1.41 (81.25%)	3 ± 1.41 (18.75%)	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-

12.5 µM	-	-	4 ± 1.41 (25%)	12 ± 4.24 (75%)	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	6 ± 1.41 (37.5%)	10 ± 1.41 (62.5%)	-
6.25 µM	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-

Nota: Valor médio de 16 vermes (8 casais). Experimento em quadruplicata, totalizando 32 casais de vermes adultos por concentração.

Escore 3 = apresentam movimentos típicos, exibindo peristaltismo dos órgãos internos, ventosas em movimento, aderindo ao fundo ou laterais da placa de cultura.

Pontuação 2 = apresentam movimentos reduzidos em todo o corpo e peristaltismo dos órgãos internos e ventosas.

Escore 1 = apresentam movimentos apenas nas extremidades ou em uma das extremidades (regiões anterior e/ou posterior), com ausência de peristaltismo dos órgãos internos e ventosas não aderidas.

Pontuação 0 = ausência completa de movimentos e tegumento com ou sem alterações de coloração.

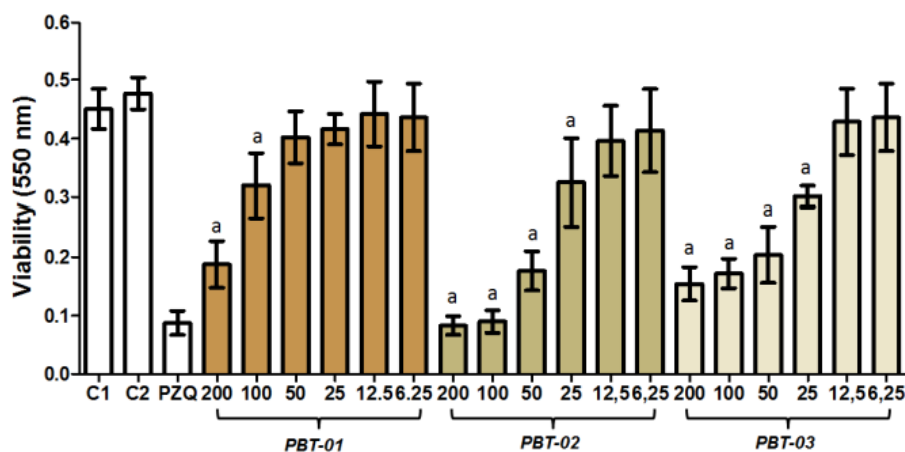
Fonte: A autora (2021).

3.3.2. Resultados dos testes de citotoxicidade dos compostos contra casais de vermes adultos de *S. mansoni*

A viabilidade celular dos casais de vermes adultos de *S. mansoni* foi avaliada após 120 h de exposição aos seis compostos tiazóis. Observou-se que houve reduções estatisticamente significativas, $P < 0,0001$, quando comparadas com o grupo C2, especialmente para os compostos PBT2, PBT5 e PBT6. As Figs. 5 e 6 mostram os resultados de viabilidade em função da concentração para os compostos avaliados.

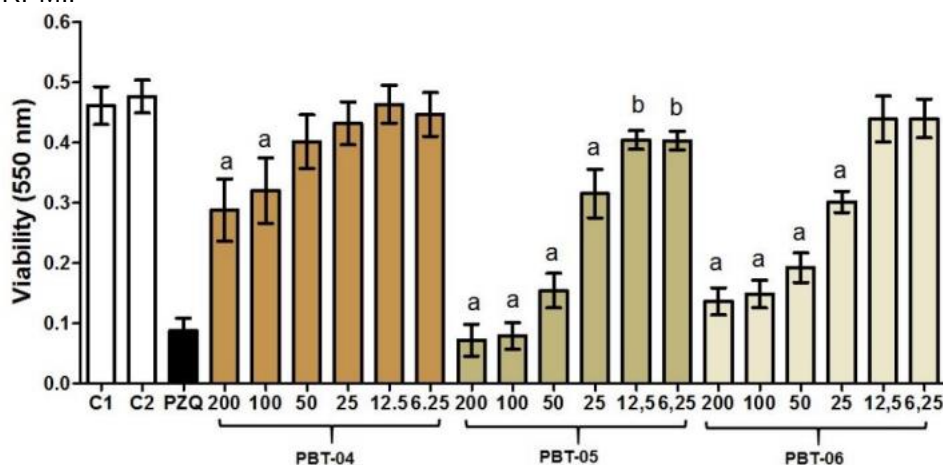
Os resultados apresentados nas Figs. 5 e 6 mostram que a viabilidade celular dos casais de *S. mansoni* diminui com o aumento da concentração. Um perfil semelhante foi obtido por Oliveira et al. (2018), Pereira et al. (2019) e Barbosa et al. (2019), que examinaram a viabilidade de vermes de *S. mansoni* tratados com diferentes compostos tiazóis.

Figura 5. Viabilidade celular de casais de *Schistosoma mansoni* tratados com Praziquantel (PQZ - 10 μ M) e com derivados tiazóis (PBT-01, PBT-02 e PBT-03) após 120 h de incubação. C1: grupo de casais de vermes incubados em meio RPMI. C2: grupo de casais de vermes incubados em meio 1% de DMSO em RPMI.



Fonte: A autora (2022).

Figura 6. Viabilidade celular de casais de *Schistosoma mansoni* tratados com praziquantel (PQZ - 10 μ M) e com derivados tiazóis (PBT-04, PBT-05 e PBT-06) após 120 h de incubação. C1: grupo de casais de vermes incubados em meio RPMI. C2: grupo de casais de vermes incubados em meio 1% de DMSO em RPMI.



Fonte: A autora (2022).

A partir dos resultados obtidos, foi possível determinar o IC₅₀ (concentração capaz de inibir o crescimento do parasita em 50%). A tabela 5 apresenta os resultados de IC₅₀ e índice de seletividade promovidos pelos compostos tiazóis. Os resultados apresentados na tabela 5 demonstram que os compostos apresentaram valores de IC₅₀ que variaram de 36,7 a valores superiores a 200 μ M. Esses valores foram classificados utilizando uma escala adaptada proposta por Debbert et al. (2021) e Padalino et al. (2021), respectivamente. Os compostos foram classificados como ativos aqueles com valores de IC₅₀ < 50 μ M, moderadamente ativos com valores variando de 50 a 100 μ M e inativos aqueles compostos com valores maiores que 100 μ M. Assim, os compostos PBT5, PBT2, PBT6 e PBT3 foram considerados ativos e os compostos PBT1 e PBT4 foram considerados inativos.

Tabela 5. Resultados de IC₅₀ (inibição do crescimento em 50%) e índice de seletividade promovido pelos compostos tiazóis comparados ao praziquantel.

Composto	Casais adultos IC ₅₀ em μ M	SI ^a	SI ^b	SI ^c	SI ^d
PBT-01	166.7 $\pm$ 5.0	>2.87	>2.87	>2.87	>2,87
PBT-02	39.21 $\pm$ 1.0	2.71	3.57	4.12	>11,06
PBT-03	45.92 $\pm$ 0.5	>9.67	>9.67	>9,67	>9,67
PBT-04	>200	<1.0	<1.2	<1,16	>2,0
PBT-05	36.7 $\pm$ 0.4	5.96	>12.55	>12,55	>12,55
PBT-06	42.85 $\pm$ 0.2	9.35	>11.52	>11,52	>11,52
PQZ	0.1 $\pm$ 0.01	896.5	1184.3	1440,4	6491,8

Índice de seletividade (SI) em relação das células de mamíferos:

^aMacrófagos RAW.264.7; ^bFibroblastos (V79); ^cCélulas Vero; ^dHepG2.

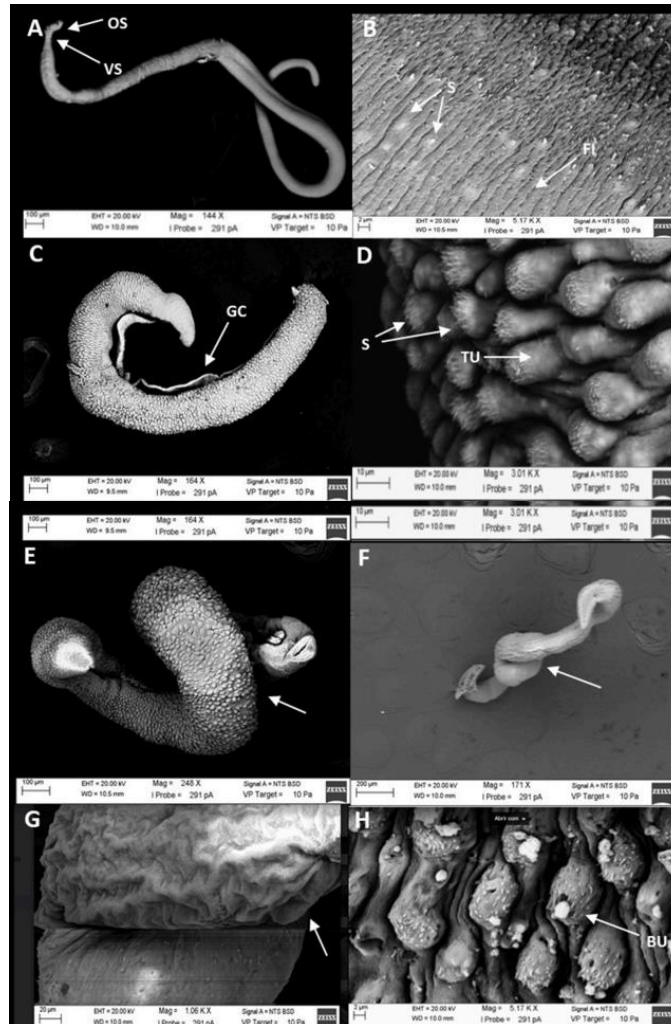
Fonte: A autora (2022).

Entre os compostos ativos, todos apresentaram um índice de seletividade inferior ao do fármaco PZQ, mas apresentaram valores de IC50 promissores para serem selecionados como novos candidatos a fármacos. O aumento da atividade biológica promovida pelos tiazóis está diretamente relacionado com a estrutura química, sendo descritos na literatura como potenciais compostos que apresentam atividade esquistossomocida. Oliveira et al. (2018), avaliando o efeito de compostos ftalimidotiazóis contra vermes adultos de *S. mansoni*, obtiveram valores de IC50 variando de 138,09 a 302,97µM. Miranda-Filho et al. (2020) também avaliaram os efeitos de compostos ftalimidotiazóis contra vermes adultos de *S. mansoni* e obtiveram valores de IC50 variando de 49,36 a 114,18µM. Santiago et al. (2014), avaliando compostos de tiossemicarbazona e tiazol, obtiveram valores de IC50 variando de 19,97 a 84,13 µM contra vermes adultos de *S. mansoni*.

3.3.3. Resultados da análise ultraestrutural dos compostos contra casais de vermes adultos de *S. mansoni*.

As alterações degenerativas nos tegumentos dos vermes adultos dos parasitas *S. mansoni* são úteis para elucidar o mecanismo de ação dos compostos testados, pois representam um importante alvo biológico na busca de novas alternativas para o tratamento da doença (Rocha et al. 2022). O tegumento cobre a superfície dos parasitas, portanto a fisiologia da membrana superficial e a integridade do tegumento são fundamentais para o desenvolvimento desses parasitas. Estas estruturas desempenham funções essenciais de imunidade e absorção de nutrientes (Bertao et al., 2012; Pereira et al., 2015; Araújo et al., 2019; 2020a; 2020b). Com o objetivo de verificar as alterações superficiais e ultraestruturais dos vermes adultos tratados com PBT2 e PBT5, os parasitas foram preparados e analisados por microscopia.

Figura 7. (A-D) Imagens SEM de vermes adultos de *S. mansoni* não tratados após 24 h de observação. (A) Ventosa oral (OS) e ventral (VS) de verme fêmea adulto. (B) Fissuras paralelas (FI) e espinhos (C) do canal ginecóforo (GC) do verme macho adulto (D) Tubérculos (TU) com espículas (S). Imagens SEM de *S. mansoni* tratado com praziquantel (10 μ M) após 24 h de observação. (E-F e G) Vermes mostrando corpo contorcido (seta). (H) Danos severos ao tegumento, com o aparecimento de bolhas de rutura (BU) com perda de espículas.



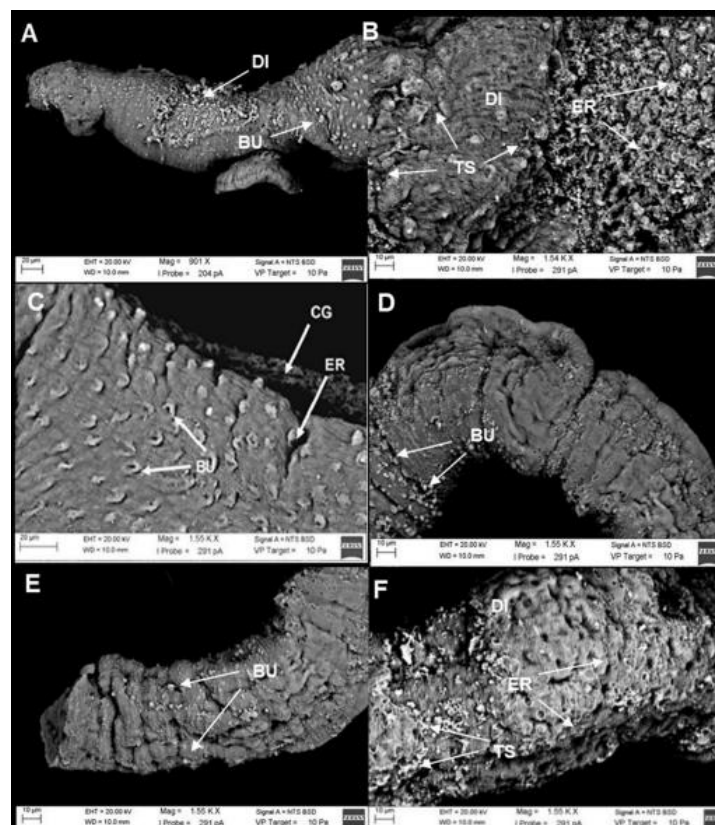
Fonte: A autora (2022).

O tratamento de vermes adultos de *S. mansoni* com os compostos PBT2 e PBT5 levou a alterações degenerativas no tegumento. Fig. 7 (A - D) mostra a superfície topográfica de parasitas adultos fêmeas e machos do controle negativo após 24 h, quando todos os parasitas estavam vivos.

A observação do corpo da fêmea mostra que a ventosa oral e as ventosas ventrais têm tubérculos, espinhos ou papilas sensoriais (Fig. 7A) e fissuras dispostas paralelamente aos espinhos (Fig. 7B). Os parasitas machos apresentam uma disposição paralela normal das suas pregas, um corpo longo com um canal ginecóforo

normal (Fig. 7C), apresentando tubérculos com algumas projecções e espículas (Fig. 7D). Após o tratamento com PZQ (10 μ M), todos os parasitas estavam mortos após 24 horas. Observou-se que as superfícies topográficas desses parasitas apresentavam alguns danos, pois o corpo estava contorcido ou em forma de espiral em machos e fêmeas (Fig. 7E, F e G), com ulcerações causadas pelo rompimento de bolhas e perda de tubérculos e espículas (Fig. 7H).

Figura 8. Imagens SEM (A-F) de vermes adultos de *S. mansoni* tratados com PBT2 e PBT5 (200 μ M) após 24 h de observação. (A-C) Vermes machos com extensa desintegração do tegumento (DI), aparecimento de erosões (ER) e bolhas (BU), em todo o corpo. (D-F) Vermes fêmeas com extensa desintegração do tegumento (DI) e erosões (ER), com aparecimento e bolhas (BU), no tecido subcutâneo (TS).



Fonte: A autora (2022).

Vários danos ultraestruturais foram observados quando vermes adultos de parasitas *S. mansoni* foram expostos ao PBT2 e PBT5 na dose de 200 μ M, caracterizados por extensa destruição do tegumento. Os danos causados aos parasitas machos foram maiores, pois observa-se uma destruição extensa em todo o tegumento (Fig. 8A - C), com erosões ou rupturas do tegumento próximo ao canal ginecóforo e muitas bolhas (Fig. 8C); devido à destruição agressiva do tegumento. Foi

também possível observar a exposição da camada muscular e do tecido subcutâneo destes parasitas machos (Fig. 8B).

Nas fêmeas, a desintegração de parte do tegumento e as extensas erosões por todo o corpo (Fig. 8D-F), bem como a descamação em algumas zonas (Fig. 8F), não permitiram a visualização das fissuras paralelas características das fêmeas, devido ao inchaço provocado pela ação dos compostos. A literatura relata que os tiazóis são compostos com potencial atividade esquistossomicida, e enfatiza a destruição do integumento que esses compostos podem causar.

Almeida-Júnior et al. (2019) relatam os diversos danos ultraestruturais em vermes adultos do parasita *S. mansoni* foram causados pela exposição aos compostos indol-tiossemicarbazona e 4-tiazolidinona (200 μ M), que foi caracterizada pela extensa destruição do tegumento. Santiago et al. (2014) também observaram destruição do tegumento pela ação do composto LpQM-45 em parasitos adultos de *S. mansoni* na concentração de 80 μ M em 24 h. Os autores observaram destruição completa de alguns tubérculos, com grande exposição da camada de tecido muscular em parasitos machos. As fêmeas apresentaram danos graves, como desintegração extensa do tegumento, com exposição e danos à camada de tecido muscular. Silva et al. (2018) mostraram que o composto benzodioxole-4-tiazolidinonas 12 (100 μ M) apresentou desintegração do tegumento com formação de bolhas e erosões. Alterações semelhantes ocorreram com os compostos JF31 e JF43, com alterações tegumentares com exposição da musculatura, formação de bolhas tegumentares, em tegumentos com morfologia anormal e destruição de tubérculos e espículas (Rocha et al., 2022).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo apresentou uma triagem para verificar o efeito biológico do potencial esquistossomicida de seis compostos tiazóis. O estudo mostrou que estes compostos apresentaram bons perfis farmacocinéticos, e promoveram citotoxicidade moderada a baixa contra células de mamíferos, além de não serem hemolíticos. Os ensaios antiparasitários in vitro contra *Schistosoma mansoni* mostraram resultados promissores, com destaque para os compostos tiazóis PBT2 e PBT5, que promoveram severa destruição tegumentar e formação de bolhas, como mostram as imagens de MEV. Portanto, este estudo mostrou que os compostos avaliados podem ser bons candidatos a fármacos esquistossomicidas.

REFERÊNCIAS

AIRES, A.L. et al. Ultrastructural analysis of b-lapachone-induced surface membrane damage in male adult *Schistosoma mansoni* BH strain worms. **Experimental Parasitology**. v.142, p. 83-90, 2014.

Aires, A.L. et al. Schistosomicidal, hepatoprotective and antioxidant activities of the N-acetyl-L-cysteine and/or praziquantel in experimental acute mansonic schistosomiasis. **3 Biotech** v. 13, p. 1–12, 2023.

ALIANÇA, A. S. D. S. et al. *In vitro* evaluation of cytotoxicity and leishmanicidal activity of phthalimido-thiazole derivatives. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, p. 01-10, 2017.

ALMEIDA JÚNIOR, A.S.A. et al. *In vitro* activity, ultrastructural studies and in silico pharmacokinetic properties of indol-3-yl-thiosemicarbazones derivatives and analogues against juvenile and adult worms of *S. mansoni*. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 138, p. 1–13, 2019.

ALQAHTANI, A.M., BAYAZEED, A.A. Synthesis and antiproliferative activity studies of new functionalized pyridine linked thiazole derivatives. **Arabian Journal of Chemistry**. v.14, p. 1–14, 2021.

ALVES, J.E.F. et al. Novel indole-thiazole and indole-thiazolidinone derivatives as DNA groove binders. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 170, p. 622–635, 2021.

AMNERKAR, N. D.; BHONGADE, B. A.; BHUSARI, K. P. Synthesis and biological evaluation of some 3-thiazole-2-amines and their Schiff bases. **Arabian Journal of Chemistry**. v. 8. p. 4–11, 2014.

ANDRADE, C. H.; KÜMMERLE, A. E.; GUIDO, R. V. C. Perspectivas da química medicinal para o século XXI: desafios e oportunidades. **Química Nova**, v. 41, p.476-483, 2018.

ARAGON A D. et al. Towards an understanding of the mechanism of action of praziquantel. **Molecular and Biochemical Parasitology**. v. 164: p. 57–65. 2009.

ARAÚJO, H. D. A. et al. Usnic acid potassium salt from *Cladonia substellata* (Lichen): Synthesis, cytotoxicity and in vitro anthelmintic activity and ultrastructural analysis against adult worms of *Schistosoma mansoni*. **Acta Tropica**. v. 192, p. 1–10, 2018.

ARAÚJO, H. D. A. et al. *In vitro* activity of usnic acid potassium salt against different developmental stages of *Schistosoma mansoni*: An ultrastructural study. **Acta Tropica**. v. 201, p. 1–11, 2020.

ARAÚJO, H. D. A. et al. Potassium usnate, a water-soluble usnic acid salt, shows enhanced activity against *Schistosoma mansoni* in vitro. *Exp. Parasito*, v. 208, p. 1–5, 2020.

AYATI, A. et al. Recent applications of 1,3-thiazole core structure in the identification of new lead compounds and drug Discovery. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, p. 699-718, 2015.

BARBOSA, C. S. et al. Insalubrious touristic environments and schistosomiasis transmission in Pernambuco, Brazil. **Revista Ambiente e Agua**. v. 13, n. 3, p. 1, 2018.

BARBOSA, C. S. et al. Os Sistemas de Informação Geográfica em estudo sobre a esquistossomose em Pernambuco. **Revista Saude Publica**, v. 51, n. 107, 2017.

BARBOSA, C. S. et al. Study of the snail intermediate hosts for *Schistosoma mansoni* on Itamaracá Island in northeast Brazil: spatial displacement of *Biomphalaria glabrata* by *Biomphalaria straminea*. **Geospatial Health**. v. 8, p. 345-351, 2014.

BARBOSA, M. O. Schistosomicidal and prophylactic activities of phthalimido-thiazoles derivatives on schistosomula and adult worms. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 133, p. 15-27, 2019.

BARKER, S. C.; BLAIR, D. Molecular phylogeny of *Schistosoma* species supports traditional groupings within the genus. **The Journal of Parasitology**, v. 82, n. 2, p. 292-298, 1996.

BARNETT, R. Schistosomiasis. **The Lancet**. 8 dez. 2018.

BARSOUM, R. S.; ESMAT, G.; EL-BAZ, T. Human schistosomiasis: clinical perspective. **Journal of advanced research**, v. 4, n. 5, p. 433-444, 2013.

BASCH, P. F. Why do Schistosomes have separate sexes? **Parasitology Today**, v. 6, n. 5, p. 160-163, 1990.

BAYNE, C. J.; GREVELDING, C. G. Cloning of *Schistosoma mansoni* sporocysts in vitro and detection of genetic heterogeneity among individuals within clones. **The Journal of Parasitology**, v 89, n. 2, p. 1056-1060, 2003.

BERTÃO, H. G. et al. Ultrastructural analysis of miltefosine-induced surface membrane damage in adult *Schistosoma mansoni* BH strain worms. **Parasitology Research**. 110, p. 2465–2473, 2012.

BORKOVA, L., et al. Synthesis and cytotoxic activity of triterpenoid thiazoles derived from allobetulin, methyl betulonate, methyl oleanonate, and oleanonic acid. **Chem Med** v.12, 390–398, 2017.

BOTROS, S. et al. Current status of sensitivity to praziquantel in a focus of potential drug resistance in Egypt. **Int J Parasitol**, v. 35, p.787-91, 2005.

BOYLE, J. P. et al. Using RNA interference to manipulate endogenous gene expression in *Schistosoma mansoni* sporocysts. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 128, n. 2, p. 205-215, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Vigilância da Esquistossomose Mansoní: diretrizes técnicas**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, v. 4. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico: Doenças Tropicais Negligenciadas**. Número Especial. Brasília: Ministério da Saúde. 2021.

BRITO, M. A, et al. Effect of bilirubin on toxicity induced by trifluoperazine, dibucaine and praziquantel to erythrocytes. **Life Science**, v. 69, p. 863–877, 2001.

BRITO, M. I. B. S.; SILVA, M. B. A.; QUININO, L. R. M. Situação epidemiológica e controle da esquistossomose em Pernambuco: estudo descritivo, 2010-2016. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v. 29, n. 2, 2020.

CAFFREY, C. R.; SECOR, W. E. Schistosomiasis: from drug deployment to drug development. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 24, p. 410–417, 2011.

BRITTA, E. A. et al. Cell death and ultrastructural alterations in *Leishmania amazonensis* caused by new compound 4-Nitrobenzaldehyde thiosemicarbazone derived from S-limonene. **BMC Microbiology**, v. 14, p. 236, 2014.

CAFFREY, C. R; SECOR, W.E. Schistosomiasis and its treatment. **Future Medicinal Chemistry**, v. 7, n. 6, p. 675–676, 2015.

CAMPOS, F. S. **Desenvolvimento de Hidrogéis de Dextrano contendo Praziquantel**. Dissertação - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2009.

CARVALHO, O. S. Distribuição geográfica dos hospedeiros intermediários do *Schistosoma mansoni* nos estados do Paraná, Minas Gerais, Bahia, Pernambuco e Rio Grande do Norte, 2012-2014. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 27, n. 3, 2018.

CARVALHO, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. **Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008.

CHHABRIA, M. T. et al. Thiazole: A Review on Chemistry, Synthesis and Therapeutic Importance of its **Derivatives**. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 26, p. 2841-2862, 2016.

CHRISTOPHERSON, J. B. The successful use of antimony in bilharziosis. Administered as intravenous injections of antimonium tartaratum (tartar emetic). **The Lancet**, p. 325-327, 1918.

CHUAH, C. et al. Schistosomiasis in Malaysia: A review. **Acta Tropica**, v. 190, p. 137-143, 2019.

CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L.; MORONI, R. *Schistosoma mansoni*: hycanthone/oxamniquine resistance is controlled by a single autosomal recessive gene. **Experimental Parasitology**, v. 75, n. 4, p. 425-432, 1992.

CIOLI, D.; PICA, M. L.; ARCHER, S. Drug resistance in schistosomes. **Parasitology Today**, v. 9, n. 5, p. 162-166, 1993.

COELHO, M. V. Aspectos do desenvolvimento das formas larvais de *Schistosoma mansoni* em *Australorbis nigricans*. **Revista Brasileira Biologia**, v. 17, p. 325-337, 1957.

COELHO, R.S. et al. A comprehensive review in current developments of benzothiazole-based molecules in medicinal chemistry. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 89, p. 207-251, 2015.

COLLEY, D. G. et al. Human schistosomiasis. **Lancet**, v. 383, n. 9936, p. 2253-2264, 2014.

COMBES, C. Where do human schistosomes come from? An evolutionary approach. **TREE**, v. 5, n. 10, p. 334-337, 1990.

CURWEN, R. S.; WILSON, R. A. Invasion of skin by schistosome cercariae: some neglected facts. **Trends in Parasitology**, v. 19, n. 2, p. 66-68, 2003.

DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1-13, 2017.

DANSO-APPIAH, A. et al. Drugs for treating *Schistosoma mansoni* infection. **Cochrane Database of Systematic Reviews**. p.1–149, 2013.

DAOUD, N.E et al. ADMET profiling in drug discovery and development: perspectives of in silico, in vitro and integrated approaches. *Curr. Drug Metab.* 22, 503–522, 2021.

DATUSALIA, A.K.; KHATIK, G.L. Thiazole heterocycle: a privileged scaffold for drug design and discovery. **Current Drug Discovery Technologies**, v. 13, n. 3, 2018.

DAVIS, A.; BILES, J. E.; ULRICH, A. M. Initial experiences with praziquantel in the treatment of human infections due to *Schistosoma haematobium*. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 57, n. 5, p. 773-779, 1979.

DAVIS, B.H.; KRESINA, T.F. Hepatic fibrogenesis. **Clinics in Laboratory Medicine**. v. 16, n. 2, pp. 361-375, 1996.

DEBBERT, S.L., et al. Activities of Quinoxaline, Nitroquinoxaline, and [1,2,4] Triazolo [4,3-a] quinoxaline Analogs of MMV007204 against *Schistosoma mansoni*. **Antimicrob Agents Chemother.** 65, 1–17, 2021.

DEELDER, A. M. et al. Detection of schistosome antigen in Mummies. **Lancet**, v. 335, n. 8691, p. 724-725, 1990.

DESPRÈS, L. et al. Molecular evidence linking hominid evolution to recent radiation of schistosomes (Platyhelminthes: Trematoda). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 1, n. 4, p. 295-304, 1992.

DIAS, C.B. **Quimioterapia antimonial na esquistossomose mansônica 1949: subsídio a seu estudo**. PhD Thesis, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1949.

DIAS, L. C. S.; RIBEIRO, O. B. *Schistosoma mansoni*: eggs with two miracidia. Transactions of the **Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 74, n. 826, 1980.

DINIZ, P. P. et al. Two SmDLC antigens as potential vaccines against schistosomiasis. **Acta Tropica**, v. 140, p. 193–201, 2014.

DINORA, G. et al. In vitro characterization of some biopharmaceutical properties of praziquantel. **Int. J. Pharm**, v. 295, n. 1, p. 93–99, 2005.

DOENHOFF, M. J. et al. Resistance of *Schistosoma mansoni* to praziquantel: is there a problem? **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 96, n. 5, p. 465–469, 2002.

DOENHOFF, M.J., PICA-MATTOCCIA, L. Praziquantel for the treatment of schistosomiasis: its use for control in areas with endemic disease and prospects for drug resistance. *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.* 4, 199–210, 2006.

DOMINGUES A.L.C., DOMINGUES L.A.W. Forma intestinal, hepatointestinal e hepatoesplênica. In: MALTA J. **Esquistossomose Mansônica**. Recife: Universitária. v.5, p. 81-89, 1994.

DORSEY, C. H. et al. Ultrastructure of the *Schistosoma mansoni* cercaria. **Micron**, v. 33, n. 3, p. 279-323, 2002.

EJAZ, S.A. et al. Distinctive inhibition of alkaline phosphatase isozymes by thiazol-2-ylidene-benzamide derivatives: functional insights into their anticancer role. **Journal of Cellular Biochemistry**, v.119, n.8, p.6501-6513, 2018.

EL-ACHKAR, G.A. et al. Thiazole derivatives as inhibitors of cyclooxygenases in vitro and in vivo. **Eur. J. Pharmacol.** v. 750, p. 66–73, 2015.

EL-DIB, N. A. Theodor Bilharz and a life trip to Egypt. **Parasitologists United Journal**. v. 12, n. 1, p. 3-7, 2019.

FALLON, P. G. Schistosome resistance to praziquantel. **Drug Resist Updat**, v. 1, n. 4, p. 236–241, 1998.

FERREIRA, M.S. Revealing praziquantel molecular targets using mass spectrometry imaging: an expeditious approach applied to *Schistosoma mansoni*. **Int J Parasitol.** v.45. p385–391, 2015.

FRÉZARD, F.; MELO, A. Evaluation of the schistomicidal efficacy of liposome – Entrapped Oxamniquine. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 39, n. 2, 1997.

FROHBERG, H. Results of toxicological studies on praziquantel. **Arzneimittelforschung**, v. 34, n. 9B, p. 1137-1144, 1984.

GALI, R., et al. Synthesis and in vitro cytotoxic activity of novel coumarinylimidazo [2,1-b] thiazole derivatives. **Royal Society of Chemistry Journals**, v. 4, 53812–53819, 2014.

GALLANT, J.E. et al. Cobicistat versus Ritonavir as a Pharmacoenhancer of Atazanavir plus Emtricitabine/Tenofovir Disoproxil Fumarate in Treatment-Naive HIV Type 1-Infected Patients: Week 48 Results. **The Journal of Infectious Diseases**, v.208, n.1, p. 32-39, 2013.

GARBA, A. et al. Efficacy and safety of two closely spaced doses of praziquantel against *Schistosoma haematobium* and *S. mansoni* and re-infection patterns in school-aged children in Niger. **Acta Tropica**, v. 128, n. 2, p. 334–344, nov. 2013.

GLASER, J. Anti-Schistosomal Activity of Cinnamic Acid Esters: Eugenyl and Thymyl Cinnamate Induce Cytoplasmic Vacuoles and Death in Schistosomula of *Schistosoma mansoni*. **Molecules**, v.20, p. 10873–10883, 2015.

GOMES, E. C. S. et al. Transmissão Urbana da Esquistossomose: novo cenário epidemiológico na Zona da Mata de Pernambuco. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.19, p. 822-834, 2016.

GOMES, P. A. T. M. et al. New 1,3-thiazole derivatives and their biological and ultrastructural effects on *Trypanosoma cruzi*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 121, p. 387–398, 2016.

GOMHA, S.M. et al. A facile synthesis and anticancer activity of some novel thiazoles carrying 1,3,4-thiadiazole moiety. *Chem. Cent. J.*, v. 11, p. 1–9, 2017.

GOUVEIA, A.L.A. Thiazolidine derivatives: In vitro toxicity assessment against promastigote and amastigote forms of *Leishmania infantum* and ultrastructural study. **Exp. Parasitol.**, v. 236, p. 1–16, 2022.

GRABE, K.; HAAS, W. Navigation within host tissues: *Schistosoma mansoni* and *Trichobilharzia ocellata* schistosomula respond to chemical gradients. **International Journal for Parasitology**, v. 34, n. 8, p. 927-934, 2004.

GRYSEELS, B. et al. Human schistosomiasis. **Lancet**, v. 368, n. 9541, p. 1106–1118, 2006.

GRYSEELS, B. et al. Are poor responses to praziquantel for the treatment of *Schistosoma mansoni* infections in Senegal due to resistance? An overview of the evidence. **Trop Med Int Health**, v. 6, n. 11, p. 864-873, 2001.

GÜMÜS, M., YAKAN, M., KOCA, I. Recent advances of thiazole hybrids in biological applications. **Future Med. Chem.**, v. 11, p. 1979–1998.

GUPTA, V., KANT, V. A review on biological activity of imidazole and thiazole moieties and their derivatives. **Sci. Int.**, v. 1, p. 253–260, 2013.

HAAS, W. et al. Finding and recognition of the snail intermediate hosts by 3 species of echinostome cercariae. **Parasitology**, v. 110, n. 2, p. 133-142, 1995.

HAAS, W. et al. Recognition and invasion of human skin by *Schistosoma mansoni* cercariae: the key-role of L-arginine. **Parasitology**, v. 124, n. 2, p. 153-167, 2002.

HAMS, E.; AVIELLO, G.; FALLON, P.G. The Schistosoma Granuloma: friend or foe? **Front. Immunol.**, v. 4, p. 89, 2013.

HANTZSCH, A. AND WEBER, J.H. UEBER Verbindungen des Thiazols (Pyridins der Thiophenreihe). **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, v. 20, p. 3118-3132, 1887.

JORDAN, P. From Katayama to the Dakhla Oasis: the beginning of epidemiology and control of bilharzia. **Acta Trop.**, v. 77, n. 1, p. 9-40, 2000.

KANTARIJAN H. et al. Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. **The New England Journal of Medicine**, v. 362, n. 24, p. 2260-2270, 2010.

KASHYAP, S.J. et al. Thiazoles: having diverse biological activities. **Medicinal Chemistry Research**, v. 21, n. 8, p. 2123-2132, 2012.

KATZ, N. A descoberta da esquistossomose no Brasil. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 78, n. 2, p. 123-125, 2008.

KATZ, N. **Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geo-helmintoses**. Belo Horizonte: CPqRR, 2018.

KATZ, N.; ALMEIDA, K. Esquistossomose, xistosa, barriga d'água. **Cienc. Cult.**, v. 55, n. 1, p. 38-43, 2003.

KUMAR, A., KINI, S.G., RATHI, E. A recent appraisal of artificial intelligence and in silico ADMET prediction in the early stages of drug discovery. **Mini Rev. Med. Chem.**, v. 21, p. 2788–2800, 2021.

KUMAR, V.; GRYSEELS, B. Use of praziquantel against schistosomiasis: a review of current status. **Int. J. Antimicrob. Agents**, v. 4, n. 1, p. 313–320, 1994.

LAMBERTUCCI, J.R, SILVA L.C.S, VOIETA, I. **Esquistossomose mansônica**. In: **Coura JR. Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 931-44. 2005

LANGENBERG, M.C.C. et al. A controlled human *Schistosoma mansoni* infection model to advance novel drugs, vaccines and diagnostics. **Nat. Med.**, v. 26, p. 326–332, 2020.

LUZINA, E. L.; POPOV, A. V. Synthesis and anticancer activity of N-bis(trifluoromethyl)alkyl-N'-thiazolyl and N-bis(trifluoromethyl)alkyl-N'-benzothiazolyl ureas. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 12, p. 4944–4953, dez. 2009.

MALHADO, M. el at. Preclinical pharmacokinetic evaluation of praziquantel loaded in poly (methylmethacrylate) nanoparticle using a HPLC–MS/MS. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 117, p. 405-412, 2016.

MALHEIROS, S.V. et al. Membrane effects of trifluoperazine, dibucaine and praziquantel on human erythrocytes. **Chem. Biol. Interact**, v. 26, p. 79–95, 2000.

MARTINS, F. L. et al. Fatores de risco e possíveis causas de esquistossomose. **Rev saúde em Foco**, v. 11, p. 396-04, 2019.

MASSARA, C. L.; CARVALHO, O. S.; MURTA, F. L. Quality of information about biological cycles of *Schistosoma mansoni* broadcasted on the world wide web – internet. **Rev Patol Trop.**, v. 42, p. 72-80, 2013.

MCMANUS, D. P. et al. Schistosomiasis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 1, p. 13, 2018.

MEISTER, I. Development and validation of an enantioselective LC-MS/MS method for the analysis of the anthelmintic drug praziquantel and its main metabolite in human plasma, blood and dried blood spots. **J. Pharm. Biomed. Anal.** v. 118, p. 81–88, 2016.

MENDONÇA, A. M. B. et al. The susceptibility of recent isolates of *Schistosoma mansoni* to praziquantel. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 58, p. 1–6, 2016.

MICHEL, A.; KNOBLOCH, J.; KUNZ, W. P19: a female and tissue specifically expressed gene in *Schistosoma mansoni*, regulated by pairing with the male. **Parasitology**, v. 127, n. 6, p. 519-524, 2003.

MIRANDA FILHO, C. A. L. et al. In vitro and in vivo activities of multi-target phtalimido-thiazoles on *Schistosomiasis mansoni*. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.15, n.146. 2020.

- MOHAREB, R. M.; ZAKI, M. Y.; ABBAS, N. S. Synthesis, anti-inflammatory and anti-ulcer evaluations of thiazole, thiophene, pyridine and pyran derivatives derived from androstenedione. **Steroids**, v. 98, p. 80-91, 2015.
- MORASKI, G.C. et al. Arrival of imidazo[2,1-b]thiazole-5-carboxamides: Potent antituberculosis agents that target QcrB. **ACS Infectious Diseases**, v. 2, p. 393-398, 2016.
- MORGAN, J. A. et al. Schistosoma mansoni and Biomphalaria: past history and future trends. **Parasitology**, v. 123, p. S211-S228, 2001.
- NALAWADE, J. et al. Synthesis of new thiazolylpyrazolyl-1,2,3-triazole derivatives as potential antimicrobial agents. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 179, p. 649–659, 2019.
- NERYS, L.L.A. et al. Photoprotective, biological activities and chemical composition of the non-toxic hydroalcoholic extract of Clarisia racemosa with cosmetic and pharmaceutical applications. **Ind. Crops. Prod.**, v. 180, p. 1–21, 2022.
- NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 11^a ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2011.
- NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 13 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2016.
- NIU, Z.X. et al. Application and synthesis of thiazole ring in clinically approved drugs. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 250, p. 1–26, 2023.
- NOGI T. et al. A Novel Biological Activity of Praziquantel Requiring Voltage-Operated Ca²⁺ Channel β subunits: Subversion of Flatworm Regenerative Polarity. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 3, e464, 2009.
- NOVAES, Maria Rita Carvalho Garbi; SOUZA, João Pedro de; ARAÚJO, Hugo Clemente de. Síntese do anti-helmíntico praziquantel, a partir da glicina. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 05-10, 1999.
- OLDS, G.R. Administration of praziquantel to pregnant and lactating women. **Acta Trop.**, v. 86, p. 185–195, 2003.
- OLIVEIRA FILHO, G.B. et al. Acidic vesicles of Schistosoma mansoni. **Parasitology Research**, v. 87, p. 1001-1006, 2001.
- OLIVEIRA FILHO, G.B. et al. Structural design, synthesis and pharmacological evaluation of thiazoles against Trypanosoma cruzi. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 141, p. 346–361, 2017.
- OLIVEIRA, A.R. et al. Synthesis, anticancer activity and mechanism of action of new phthalimido-1,3-thiazole derivatives. **Chem. Biol. Interact.**, v. 347, p. 1–15, 2021.
- OLIVEIRA, B. M. et al. Schistosomicidal and prophylactic activities of phthalimido-thiazoles derivatives on schistosomula and adult worms. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 133, p. 15-27, 2019.

OLIVEIRA, J.F. et al. Synthesis of thiophene-thiosemicarbazone derivatives and evaluation of their in vitro and in vivo antitumor activities. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 104, p. 148–156, 2015.

OLIVEIRA, M. F. et al. Haemozoin in *Schistosoma mansoni*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 111, p. 217–221, 2000.

OLIVEIRA, S. A. et al. Phthalimido-thiazole as privileged scaffold: activity against immature and adult worms of *Schistosoma mansoni*. **Parasitology Research**, v. 117, n. 7, 2018.

OLIVIER, L.; Stirewalt, M.A. An efficient method for exposure of mice to cercariae of *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.**, v. 38, p. 19–23, 1952.

OLLIARO, P.; DELGADO-ROMERO, P.; Keiser, J. The little we know about the pharmacokinetics and pharmacodynamics of praziquantel (racemate and R-enantiomer). **J Antimicrob Chemother**, v. 69, n. 4, p. 863–870, 2014.

OLVEDA, D. U. et al. The chronic enteropathogenic disease schistosomiasis. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 28, p. 193–203, 2014.

OTHMAN, A. A.; SOLIMAN, R. H. Schistosomiasis in Egypt: a never-ending story? **Acta Tropica**, v. 148, n. 1, p. 179–190, 2015.

PADALINO, G. Anti-schistosomal activities of quinoxaline-containing compounds: From hit identification to lead optimization. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 226, p. 1–19, 2021.

PASQUALOTTO, A.C.; THIELE, K.O.; GOLDANI, L.Z. Novel triazole antifungal drugs: focus on isavuconazole, ravuconazole, and albaconazole. **Curr. Opin. Invest. Drugs**, v. 11, n. 2, p. 165–174, 2010.

PEREIRA, A. S. A. et al. In vitro activity of aryl-thiazole derivatives against *Schistosoma mansoni* schistosomula and adult worms. **PLoS One**, v. 14, n. 11, 2019.

PEREIRA, A.C. et al. In vitro and in vivo anthelmintic activity of (-)-6,6'-dinitrohinokinin against schistosomula and juvenile and adult worms of *Schistosoma mansoni*. **Acta Tropica**, v. 149, p. 195–201, 2015.

PICA-MATTOCCIA, L. et al. Genetic analysis of decreased praziquantel sensitivity in a laboratory strain of *Schistosoma mansoni*. **Acta Tropica**, v. 111, p. 82–85, 2009.

PERNAMBUCO. Secretaria Estadual de Saúde. Secretaria Executiva de Vigilância em Saúde. **Esquistossomose e geo-helmintíases: relatório das condições de saneamento das áreas/localidades hiperendêmicas em Pernambuco**. Recife: Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco, 2013.

PINTO, C. E ALMEIDA, A. F. Schistosomiasis mansoni no Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 5, n. 287, 1948.

PIRES, D.E., BLUNDELL, T.L., ASCHER, D.B. pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. **J. Med. Chem.**, v. 58, p. 4066–4072, 2015.

PUND, A.A. et al. Pyridine 1,3,4-Thiadiazole-Schiff base derivatives, as antioxidant and antimitotic agent: Synthesis and in Silico ADME studies. **Polycycl. Aromat. Comp.**, v.43, p. 1–16, 2022.

QUEIROZ, C.M. Thiosemicarbazone and thiazole: In vitro evaluation of leishmanicidal and ultrastructural activity on *Leishmania infantum*. **Med. Chem. Res.**, v. 29, p. 2050–2065, 2020.

REY, L. **Schistosoma mansoni e Esquistossomíase: O Parasito**. Parasitologia. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 413-425, 2001.

RIBEIRO, N. et al. Photophysical properties and biological evaluation of a Zinc (II)-5-methyl-1H-pyrazole Schiff base complex. Spectrochim. **Acta A Mol. Biomol. Spectrosc**, v. 204, p. 317–327, 2018.

RIDI, R. A. F.; TALLIMA, H. A. M. Novel therapeutic and prevention approaches for schistosomiasis: review. **J. Adv. Res.**, v. 4, p. 467–478, 2013.

RINALDI, L. et al. Helminth control in kennels: is the combination of milbemycin oxime and praziquantel a right choice? **Parasites Vectors**, v. 8, p. 30, 2015.

ROCHA, R.E.T. et al. Synthesis, in vitro schistosomicidal activity and ultrastructural alterations caused by thiosemicarbazones and thiazolidinones against juvenile and adult *Schistosoma mansoni* worms (Sambon, 1907). **Mol. Biochem. Parasitol**, v. 252, p.1520, 2022.

RODRIGUES, C.A. et al. 4-Phenyl-1,3-thiazole-2-amines as scaffolds for new antileishmanial agents. **J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis**, v. 24, 2018.

ROSS, A. G. P.; OLVEDA, R. M.; LI, Y. An audacious goal: the elimination of schistosomiasis in our lifetime through mass drug administration. **Lancet**, v. 385, n. 9983, p. 2220–2221, 2015.

SA, N.P. et al. Heterocycle thiazole compounds exhibit antifungal activity through an increase in the production of reactive oxygen species in the *Cryptococcus neoformans*-*Cryptococcus gattii* species complex. **Antimicrob. Agents Chemother**, v.61, p. 1–8, 2017.

SA, N.P. et al. Thiazole compounds with activity against *Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans* in vitro. **Eur. J. Med. Chem**, v. 102, p. 233–242, 2015.

SALEHI, M., et al. Synthesis, cytotoxic evaluation, and molecular docking study of 2-alkylthio-4-(2,3,4-trimethoxyphenyl)-5-aryl-thiazoles as tubulin polymerization inhibitors. **Bioorg. Med. Chem**, v. 21, p. 7648–7654, 2013.

SANTIAGO, E. F. et al. Evaluation of the anti-Schistosoma mansoni activity of thiosemicarbazones and thiazoles. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 1, p. 352–363, jan. 2014.

SANTOS, T.A.R., et al. Antitumor and immunomodulatory activities of thiosemicarbazones and 1,3-Thiazoles in Jurkat and HT-29 cells. **Biomed. Pharmacother**, v. 82, p. 555–560, 2016.

SENGEL, S.B., SAHINER, N., 2017. Poly ((Thiazol-2-yl) acrylamide), p (ATA) microgel: Synthesis, characterization, and versatile applications. **Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp**, v. 522, p. 272–278.

SEUBERT, J.; POHLKE, R.; LOEBICH, F. Synthesis and properties of praziquantel, a novel broad-spectrum anthelmintic with excellent activity against Schistosomes and Cestodes. **Experientia**, v. 33, n. 8, p. 1036-1037, 1977.

SILVA, J.R.M., NEVES, R.H., & GOMES, D.C. **Filogenia, co-evolução, aspectos morfológicos e biológicos das diferentes fases de desenvolvimento do Schistosoma mansoni**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2008.

SILVA, L.M.M.G, et al. New 1,3-benzodioxole derivatives: Synthesis, evaluation of in vitro schistosomicidal activity, and ultrastructural analysis. **Chem. Biol. Interact**, v. 283, p. 20–29, 2018.

SILVA, V. B. R. et al. Medicinal chemistry of antischistosomal drugs: Praziquantel and oxamniquine. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 13, p. 3259–3277, 2017.

SIQUEIRA, L. P. et al. Schistosomiasis: Drugs used and treatment strategies. **Acta Tropica**, v. 176, p. 179–187, 2017.

SKELLY, P. J.; SHOEMAKER, C. B. Induction cues for tegument formation during the transformation of Schistosoma mansoni cercariae. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 5, p. 625–631, 2000.

SOARES, M.B.P., LEITE, A.C.L., 2017. Structural design, synthesis and pharmacological evaluation of thiazoles against Trypanosoma cruzi. **Eur. J. Med. Chem**, v.141, 346–361.

TURCK, D. BUSCH, U. HEINZEL, G. NARJES, H. Clinical pharmacokinetics of Meloxicam. **Arzneimittelforschung**, v.47, p.253-258, 1997.

VALE, N. et al. Praziquantel for Schistosomiasis: Single-Drug Metabolism Revisited, Mode of Action, and Resistance. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, n. 5, 2017.

VILLIERS, K.A., EGAN, T.J., 2009. Recent advances in the discovery of haem-targeting drugs for malaria and schistosomiasis. **Molecules**, v. 14, 2868–2887.

VITAKU, E.; SMITH, D.T.; NJARDARSON, J.T. Analysis of the structural diversity, substitution patterns, and frequency of nitrogen heterocycles among U.S. FDA approved pharmaceuticals. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.57, n.24, p. 10257-10274, 2014.

WANG, W.; WANG L.; LIANG, Y. Susceptibility or resistance of praziquantel in human schistosomiasis: a review. **Parasitol Res**, v. 111, n. 5, p. 1871–1877, 2012.

WHITE, C.A. Nitazoxanide: a new broad spectrum antiparasitic agente. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v.2, n.1, p. 43-49, 2004

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Schistosomiasis elimination: refocusing on snail control to sustain progress, 2020**. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/25-03-2020-schistosomiasis-elimination-refocusing-on-snail-control-to-sustain-progress>. Acesso em: 18 jun. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2023. **Schistosomiasis**. Disponível em: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis>.(accessed on May 08, 2023).

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021. **Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals: A road map for neglected tropical diseases 2021–2030**. Disponível em: <http://www.who.int/publications/i/item/9789240010352>. Acesso em 2023).

WYK J. A. Refugia overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance. **Onderstepoort J Vet Res**, v. 68, n. 1, p. 55–57, 2001

XUE, Q. et al. A retrospective analysis of schistosomiasis related literature from 2011-2020: Focusing on the next decade. **Acta Tropica**, v. 238, p. 1–9, 2023.

YADAV, P. S.; DEVPRAKASH, F.; SENTHILKUMAR, G. P. Benzothiazole: Different method of synthesis & diverse Biological activities. **Int. J. Pharm. Sci. Drug Res.**, v. 3, n. 1, p. 1-7, 2011.

YANG, X.C. et al 2022. Coumarin thiazoles as unique structural skeleton of potential antimicrobial agents. **Bioorg. Chem.** 124, 1–14.

YOSHINO, T. P.; BOYLE, J. P.; HUMPHRIES, J. E. Receptor-ligand interactions and cellular signaling at the host-parasite interface. **Parasitology**, v. 123, p. 143-157, 2001.

ZWANG, J.; OLLIARO, P. L. Clinical efficacy and tolerability of praziquantel for intestinal and urinary schistosomiasis—a meta-analysis of comparative and non-comparative clinical trials. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 8, e3286, 2014.