



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

EMILY GABRIELE MARQUES DINIZ

**NOVOS DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS CANDIDATOS A FÁRMACOS
ESQUISTOSSOMICIDAS: AVALIAÇÃO *IN VITRO* CONTRA CASAS
ADULTOS DE *SCHISTOSOMA MANSONI***

Recife
2023

EMILY GABRIELE MARQUES DINIZ

**NOVOS DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS CANDIDATOS A FÁRMACOS
ESQUISTOSSOMICIDAS: AVALIAÇÃO *IN VITRO* CONTRA CASAS
ADULTOS DE *SCHISTOSOMA MANSONI***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. André de Lima Aires
Co-orientador: Dr. Hallysson Douglas
Andrade de Araújo

Recife
2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Diniz , Emily Gabriele Marques.

Novos derivados tiazolidínicos candidatos a fármacos esquistossomicidas:
avaliação in vitro contra casais adultos de Schistosoma mansoni / Emily Gabriele
Marques Diniz . - Recife, 2023.

65 : il., tab.

Orientador(a): André de Lima Aires

Cooorientador(a): Hallysson Douglas Andrade de Araújo

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2023.

Inclui referências, anexos.

1. Atividade esquistossomicida. 2. Esquistossomose. 3. Vermes adultos. 4.
Química medicinal. I. Aires, André de Lima . (Orientação). II. Araújo,
Hallysson Douglas Andrade de . (Coorientação). III. Título.

610 CDD (22.ed.)

EMILY GABRIELE MARQUES DINIZ

**NOVOS DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS CANDIDATOS A FÁRMACOS
ESQUISTOSSOMICIDAS: AVALIAÇÃO *IN VITRO* CONTRA CASAS
ADULTOS DE *SCHISTOSOMA MANSONI***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação
em Biomedicina da Universidade
Federal de Pernambuco, como pré-
requisito à obtenção do título de
Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: 09/03/2023

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. André de Lima Aires
Universidade Federal de Pernambuco/ Departamento de Medicina Tropical

Dra. Hianna Arely Milca Fagundes Silva
Universidade Federal de Pernambuco/ Departamento de Biofísica e Radiobiologia

MSC. Wilza Wanessa Melo França
Universidade Federal de Pernambuco/ Departamento de Embriologia e Histologia

Dedico este trabalho a Deus, aos meus pais e familiares que foram o referencial em minha vida para que eu me tornasse quem eu sou.

AGRADECIMENTOS

Ao professor André de Lima Aires por toda orientação e suporte, mesmo no curto período de tempo que tínhamos para correção dos pontos importantes. Agradeço pelos ensinamentos e pelo incentivo para que eu desse meu melhor durante todo o caminho até a defesa do TCC.

Ao meu co-orientador Dr. Hallysson Douglas Andrade de Araújo por todo suporte quando precisava.

A todos os membros da equipe de pesquisa sobre *Schistosoma mansoni* do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (iLIKA) vinculada ao professor André de Lima Aires.

À Disciplina de Parasitologia do Centro de Ciências da Saúde e ao LIKA por toda infraestrutura necessária no desenvolvimento da pesquisa, assim, como a todos os funcionários de ambos os locais e dão o suporte necessário para todos os experimentos aconteçam.

À FACEPE pelo apoio financeiro durante meu período de Iniciação Científica.

Aos meus pais por toda confiança depositada na minha capacidade e todo suporte para que continuasse firme até o fim da graduação.

Aos meus familiares por me incentivarem durante todos os anos da graduação e por apoiarem com suas orações.

Aos meus colegas que compartilharam dos momentos de cansaço e desânimo, mas também, das alegrias e vitórias durante todo o percurso que trilhamos.

DINIZ, Emily Gabriele Marques. **NOVOS DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS CANDIDATOS A FÁRMACOS ESQUISTOSSOMICIDAS: AVALIAÇÃO *IN VITRO* CONTRA CASAIS ADULTOS DE *SCHISTOSOMA MANSONI***. 2023. 65 folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2023.

RESUMO

A esquistossomose é uma doença negligenciada prevalente em países tropicais e subtropicais onde há milhões de pessoas infectadas, resultando em mortes todos os anos. No Brasil, Pernambuco tem a maior taxa de mortalidade e internação hospitalar por esquistossomose, com milhões de infectados na Zona da Mata e nas Regiões Litorânea e Metropolitana do Recife. Não há vacina contra *Schistosoma* e o seu tratamento e controle ocorre unicamente pelo uso do Praziquantel (PZQ). Assim, devido ao seu extenso tempo de uso, existem relatos de resistência e/ou tolerância ao PZQ. A química medicinal desenvolve o planejamento racional de novas moléculas e permite a descoberta de novos fármacos, dentre eles os antiparasitários. Essa pesquisa teve como objetivo avaliar a atividade esquistossomicida, *in vitro*, de novos derivados tiazolidínicos (TZDs) contra casais adultos de *S. mansoni*. Camundongos foram infectados com cercárias (n=120) de *S. mansoni* e após 45^o dias os vermes foram recuperados por perfusão com salina estéril do sistema porta-hepático e vasos mesentéricos. Os vermes foram distribuídos em placas de cultura (2 casais em 2 ml de RPMI suplementado/poço) e incubados, e os TZDs (LQIT-PBT-01, LQIT-PBT-02, LQIT-PBT-03) foram adicionados nos poços para concentrações finais de 6.25 -200 μM e avaliados a cada 24 h durante cinco dias consecutivos. O composto que causou alterações na motilidade e mortalidade em 24 h foi analisado em 3, 6, 12 e 24 h após a incubação. Durante 120 h casais do controle negativo apresentaram motilidade e topografia típicas e peristaltismo dos órgãos internos. Após 48h, LQIT-PBT-01 nas concentrações de 200, 100 μM causou redução, dose-dependente, na motilidade dos vermes. Em 96 h houve mortalidade de 87,5% na concentração de 200 μM . Após 120 h, 200 e 100 μM causaram 100% de mortalidade e 100% dos vermes em escore 1. O composto LQIT-PBT-02 alcançou 100% de mortalidade em 200 e 100 μM decorridos 24h. Após 48h em 50 μM teve 100% dos vermes em escore 1 e na de 25 μM houve uma redução na movimentação dos vermes. Decorridos 120 h em 50 μM atingiu 62,5% de mortalidade enquanto na de 25 μM em 25% foi observado movimentação apenas em uma das extremidades. Ao atingir 100% de mortalidade em 24 h, houve diminuição do tempo de análise para observação das alterações na motilidade e mortalidade. Após 3 h na concentração de 200 μM causou 100% de mortalidade. Às 6 h de incubação foi observado 100% de mortalidade em 100 μM . Após 24h, em 50 μM resultou em 81.25% dos vermes em score 1. O LQIT-PBT-03 se observou em 24 h em escore 3. Após 48 h 200 e 100 μM apresentou redução nos movimentos e em 120 h foi alcançado 12.5% de mortalidade em 200 μM . A avaliação da viabilidade celular mostrou redução da viabilidade celular nas maiores concentrações 200 e 100 μM , enquanto a citotoxicidade celular demonstrou que os compostos são menos tóxicos que o PZQ, entretanto o LQIT-PBT-02 teve a maior citotoxicidade. Assim, novos derivados tiazolidínicos podem ser uma alternativa para o tratamento e controle da esquistossomose.

Palavras-chave: Atividade esquistossomicida. Esquistossomose. Vermes adultos. Química medicinal.

DINIZ, Emily Gabriele Marques. **NEW THIAZOLIDINE DERIVATIVES CANDIDATES FOR SCHISTOSOMICIDAL DRUG: *IN VITRO* EVALUATION AGAINST *SCHISTOSOMA MANSONI* ADULT COUPLES.** 2023. 65 folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2023.

ABSTRACT

Schistosomiasis is a neglected disease prevalent in tropical and subtropical countries where millions of people are infected, resulting in deaths every year. In Brazil, Pernambuco has the highest rate of mortality and hospitalization for schistosomiasis, with millions of people infected in the Zona da Mata and in the Coastal and Metropolitan Regions of Recife. There is no vaccine against *Schistosoma* and its treatment and control occurs solely through the use of Praziquantel (PZQ). Thus, due to its extensive use, there are reports of resistance and/or tolerance to PZQ. Medicinal chemistry develops the rational design of new molecules and allows the discovery of new drugs, among them antiparasitic drugs. This research aimed to evaluate the *in vitro* schistosomicidal activity of new thiazolidine derivatives (TZDs) against adult couples of *S. mansoni*. Mice were infected with cercariae (n=120) of *S. mansoni* and after 45 days the worms were recovered by perfusion with sterile saline from the hepatic portal system and mesenteric vessels. The worms were distributed in culture plates (2 couples in 2 ml of supplemented RPMI/well) and incubated, and the TZDs (LQIT-PBT-01, LQIT-PBT-02, LQIT-PBT-03) were added to the wells to final concentrations of 6.25 -200 μM and evaluated every 24 h for five consecutive days. The compound that caused changes in motility and mortality at 24 h was analyzed at 3, 6, 12 and 24 h after incubation. During 120 h negative control couples showed typical motility and topography and peristalsis of internal organs. After 48h, LQIT-PBT-01 at concentrations of 200, 100 μM caused a dose-dependent reduction in worm motility. In 96 h there was a mortality of 87.5% at the concentration of 200 μM . After 120 h, 200 and 100 μM caused 100% mortality and 100% of the worms at score 1. The compound LQIT-PBT-02 achieved 100% mortality at 200 and 100 μM after 24h. After 48h in 50 μM there was 100% of the worms in score 1 and in the 25 μM there was a reduction in the movement of the worms. After 120 h in 50 μM reached 62.5% of mortality while in 25 μM in 25% movement was observed only in one of the extremities. Upon reaching 100% mortality in 24 h, there was a decrease in the analysis time for observing changes in motility and mortality. After 3 h at a concentration of 200 μM it caused 100% mortality. At 6 h of incubation, 100% mortality was observed at 100 μM . After 24h, in 50 μM , it resulted in 81.25% of the worms in score 1. The LQIT-PBT-03 was observed in 24 h in score 3. After 48 h, 200 and 100 μM showed a reduction in movements and in 120 h, 12.5% was reached. of mortality at 200 μM . The evaluation of cell viability showed reduced cell viability at the highest concentrations 200 and 100 μM , while cell cytotoxicity showed that the compounds are less toxic than PZQ, however LQIT-PBT-02 had the highest cytotoxicity. Thus, new thiazolidine derivatives may be an alternative for the treatment and control of schistosomiasis.

Key words: Schistosomicidal activity. Schistosomiasis. Adult worms. Medicinal chemistry

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Distribuição mundial das esquistossomoses com importância na saúde pública humana	15
Figura 2 – Expansão da esquistossomose mansoni no Brasil	16
Figura 3 – Distribuição da esquistossomose segundo a média do percentual de positividade por município no Brasil, 2009-2020	17
Figura 4 – Distribuição global de espécies suscetíveis de <i>Biomphalaria</i> (nível de país).	18
Figura 5 – Distribuição dos hospedeiros intermediários no Brasil	19
Figura 6 – Taxa de mortalidade específica por esquistossomose segundo os estados, Brasil, 2019	20
Figura 7 – Ciclo biológico do <i>S. mansoni</i>	22
Figura 8 (A-E) – Formas evolutivas do <i>S. mansoni</i>	23
Figura 9 – Ovos de <i>Schistosoma sp</i>	24
Figura 10 – Granuloma ao redor dos ovos de <i>S. mansoni</i>	26
Figura 11 – Varizes esofágicas	27
Figura 12 – Estrutura química do praziquantel	29
Figura 13 – Estrutura química do tiazol	31
Figura 14 – Esquema de síntese dos tiazóis	36
Figura 15 – Viabilidade celular de casais de <i>Schistosoma mansoni</i> tratados com Praziquantel (PZQ - 10 µM) e com derivados tiazóis (PBT-01, PBT-02 e PBT-03) após 120 h de incubação. C1: casais de vermes incubados em meio RPMI. C2: casais incubados em meio 1% de DMSO em RPMI	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Escore de motilidade dos vermes adultos controle, tratados com praziquantel (PZQ -10 μ M) ou com derivados tiazóis (PBT-01-PBT- 03 (200 - 6,25 μ m) após 24-120 h de incubação. **46-47**

Tabela 2 – Escore de motilidade dos vermes adultos, tratados com praziquantel (PZQ -10 μ M) ou com derivado tiazol (PBT-02) após 3, 6, 12 e 24 h de incubação. **49**

Tabela 3 – Atividade citotóxica dos compostos tiazóis e do praziquantel (PZQ) em relação a macrófagos RAW.264.7, fibroblastos V79, células Vero e células hepáticas HepG2, respectivamente. **52**

Tabela 4 – Resultados de IC₅₀ (inibição do crescimento em 50%) e índice de seletividade promovido pelos compostos tiazóis comparados ao praziquantel. **53-54**

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Derivados tiazóis com atividade esquistossomicida **32-33**

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OMS	Organização Mundial da Saúde
PZQ	Praziquantel
SISPCE	Sistema de Informação do Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose
TZD	Derivados tiazolidínicos
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
1.1	ESQUISTOSSOMOSE	14
1.1.1	Aspectos Epidemiológicos da Esquistossomose Mansônica	14
1.1.2	Ciclo Biológico <i>S. mansoni</i>	21
1.1.3	Patogenia	23
1.1.4	Tratamento da Esquistossomose	28
1.2	DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS	30
2	OBJETIVOS	34
3	METODOLOGIA	35
3.1	SOLVENTES E REAGENTES	35
3.2	SÍNTESE DOS NOVOS DERIVADOS TIAZÓIS	35
3.3	ENSAIOS DE CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS ANIMAIS	36
3.3.1	Cultivo e Manutenção das Linhagens Celulares de Macrófagos RAW.264.7, Fibroblastos V79, Células Vero e Hepatoma (HepG2)	36
3.3.2	Ensaio de citotoxicidade em células de macrófagos RAW.264.7, fibroblastos V79, células Vero e hepatoma (HepG2)	37
3.4	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS, ANIMAIS E INFECÇÃO COM <i>S. MANSONI</i>	38
3.5	AVALIAÇÃO ESQUISTOSSOMICIDA <i>IN VITRO</i> DE DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS CONTRA CASAS ADULTOS DE <i>S. MANSONI</i>	39
3.6	CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO ESQUISTOSSOMICIDA	40
3.6.1	Motilidade e Sobrevivência	40
3.6.2	Ensaio de viabilidade celular dos vermes	41
3.7	DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE SELETIVIDADE	41
3.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	41-42
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1	ENSAIO ESQUISTOSSOMICIDA DOS DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS	43
4.2	VIABILIDADE CELULAR DE CASAS DE <i>SCHISTOSOMA MANSONI</i>	50

4.3 CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS DE MACRÓFAGOS RAW.264.7, FIBROBLASTOS V79, CÉLULAS VERO E CÉLULAS HEPÁTICAS HEPG2	51
5 CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIAS	57
ANEXOS	63
ANEXO A – Cópia do Protocolo de aprovação da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Biociências da UFPE (CEUA/UFPE)	63

1 Introdução

Os agentes etiológicos da esquistossomose são helmintos do gênero *Schistosoma*, sendo prevalente no Brasil a espécie *S. mansoni*, cuja patogenicidade é decorrente da resposta inflamatória granulomatosa frente aos antígenos dos ovos acumulados nos tecidos hepático e intestinal e consequentemente hepatoesplenomegalia, hipertensão portal, fibrose e ascite. A esquistossomose é uma infecção negligenciada, prevalente em 78 países tropicais e subtropicais onde há cerca de 700 milhões de pessoas em risco permanente de infecção e 250 milhões de infectados, dos quais 300.000 evoluem para óbito anualmente (LO *et al.*, 2022; SALAS-CORONAS *et al.*, 2022). No Brasil, a prevalência é de 2,5 milhões de infectados, tendo a região nordeste maior endemicidade. Entre os 19 estados endêmicos, Pernambuco possui as maiores prevalência e incidência, especialmente na Zona da Mata e recentemente no Litoral e Região Metropolitana do Recife, além das maiores taxas de mortalidade e internação hospitalar por esquistossomose (KATZ, 2018; ALMEIDA SANTOS, 2020).

Na ausência de vacina biossegura e medidas sanitárias efetivas, para o controle da esquistossomose é preconizado o uso do praziquantel (PZQ), única droga disponível de acordo com a OMS (WHO, 2023). No entanto, PZQ apresenta ação apenas contra vermes adultos, já é usado a mais 70 anos, existindo relatos de cepas resistentes e/ou tolerantes, não atua contra formas imaturas do verme e não previne reinfecção. Esse cenário é preocupante, uma vez que em áreas endêmicas a reinfecção é frequente e infectados albergam concomitantemente estágios imaturos e adultos, assim existe morbidade recorrente, mesmo após tratamento (LOVERDE *et al.*, 2021; TEDLA *et al.*, 2020; CRIBB *et al.*, 2019). Mecanismos de escapes enzimáticos no sistema imune e na composição e alterações em proteínas do tegumento dos estágios imaturos do *S. mansoni* são vias atribuídas para limitações do uso do PZQ contra esses estágios (SILVA *et al.*, 2012; HAMBROOK; HANINGTON, 2021). Logo, existe a necessidade de pesquisas na busca por novas alternativas terapêuticas que possam interromper o ciclo evolutivo do *S. mansoni* e evitar colapso no tratamento da esquistossomose.

Neste contexto, a química medicinal desenvolve o planejamento racional de novas moléculas e permite a descoberta de novos fármacos, e através de

modificações químicas, essas moléculas podem apresentar melhor atividade biológica ou mesmo ser redirecionada para novos alvos terapêuticos. Dentre essas moléculas, destacam-se como protótipos derivados heterocíclicos pentagonais, incluindo tiazolidinas (TZDs), que são sintetizados a partir de reações de condensação, oxidação e alquilação. Derivados TZDs já são encontrados em fármacos comercializados, como: sulfatiazolidínicos (antimicrobiano), ritonavir (antirretroviral), abafungin (antifúngico) e tiazofurin (antineoplásico) (HUSSEIN; TURAN-ZITOUNI, 2018).

Os derivados TZDs exibem atividade antiparasitária contra *Plasmodium spp* (RUIZ *et al.*,2011), *Trypanosoma cruzi* (GUERRA, 2019), *Toxoplasma gondii* (TROTSKO *et al.*,2019) e *Leishmania spp* (GOUVEIA, 2019). Com relação à atividade contra casais adultos de *S. mansoni*, séries de derivados TZDS já foram avaliadas, a exemplo de Lauro da Silva (2010), que reporta mortalidade de 86% dos vermes, e Santiago *et al.*, (2014), que relatam redução na motilidade e oviposição, desacasamelamento e 100% de mortalidade dos vermes. Em conjunto, esses estudos destacam que séries de derivados TZDs são promissoras fármacos esquistossomicidas. Com essa perspectiva, objetivamos avaliar a atividade esquistossomicida *in vitro* de novos derivados TZDs contra casais adultos de *Schistosoma mansoni*.

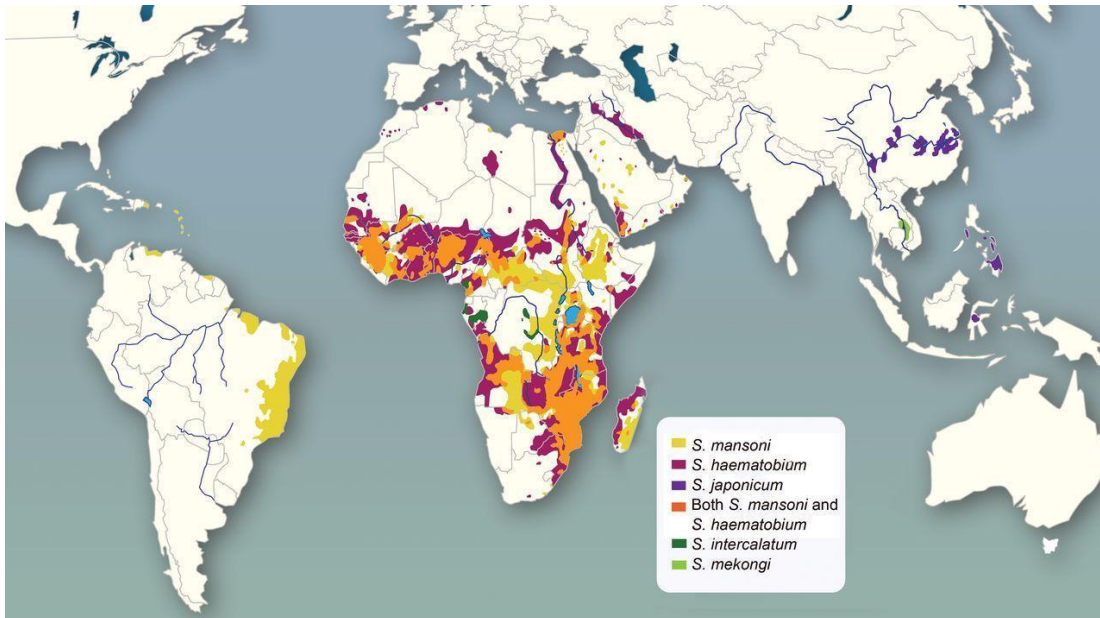
1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 ESQUISTOSSOMOSE

1.1.1 Aspectos Epidemiológicos da Esquistossomose Mansônica

Acredita-se que o *Schistosoma spp* originou-se nas bacias dos rios Nilo, na África, e do Yangtze, na Ásia. Os relatos mais antigos da presença da esquistossomose ocorreram no Egito e na China através da identificação de lesões características (Evidências de *S. haematobium* e *S. japonicum*) nas múmias e dos ovos em coprólitos, cujas origens remontam há 3.000 anos e 2.100 anos antes de Cristo, respectivamente (CARVALHO *et al.*, 2008). A esquistossomose, infecção causada por Plelmintos da classe trematoda, família Schistosomatidae, gênero *Schistosoma*, acomete aproximadamente 250 milhões de pessoas distribuídas em 78 países e territórios sendo responsável por cerca de 300.000 mil óbitos anualmente (NEVES, 2016; LO *et al.*, 2022; SALAS-CORONAS *et al.*, 2022). A Organização Mundial de Saúde (OMS) destaca cinco espécies de *Schistosoma* com maior importância médica, são elas: *S. haematobium* encontrado na África e Oriente Médio, sendo o causador da esquistossomose urogenital ao se instalar no plexo nervoso pélvico, *S. intercalatum* (África Ocidental e Central), *S. japonicum* (China, Indonésia e Filipinas), *S. mekongi* (Sudeste da África e rio de Mekong) e o *S. mansoni* (Américas, África, Oriente Médio e Índias Ocidentais) espécies que residem nas veias mesentéricas tornando-se agentes da esquistossomose intestinal e hepática (figura 1) (OMS, 2023).

Figura 1: Distribuição mundial das esquistossomoses com importância em saúde pública humana.



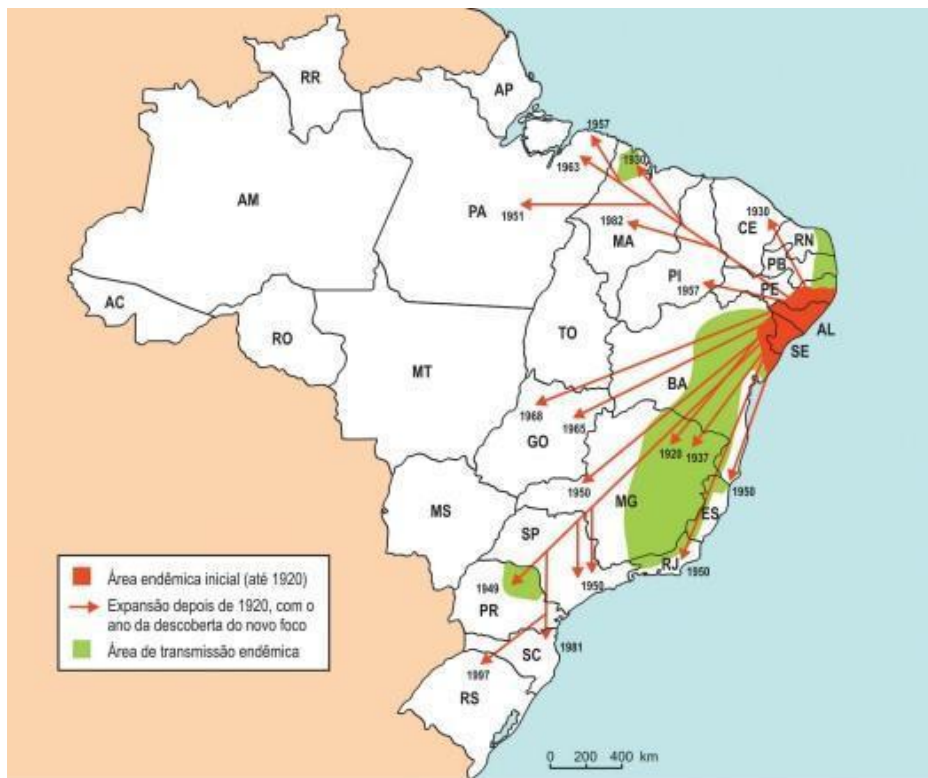
Fonte: WEERAKOON *et al.*, 2015.

A esquistossomose é considerada, dentre as parasitoses que afetam o homem uma das mais disseminadas no mundo, ocupando o segundo lugar depois da malária em termos de morbidade e mortalidade. Nos países em desenvolvimento, a esquistossomose representa um sério risco à saúde, principalmente para as populações rurais e residentes de periferias devido ao saneamento precário, o baixo desenvolvimento econômico e social, bem como ao difícil acesso ao sistema de saúde (BRASIL, 2014).

A esquistossomose mansônica, cujo agente etiológico é o *Schistosoma mansoni*, constitui grupo de doenças tropicais negligenciadas sendo registrado em 54 países, com destaque para África, Leste do Mediterrâneo e América. Nas Américas, se concentra na porção Sul, principalmente Caribe, Venezuela, Suriname e Brasil (Figuras 1, 2 e 3), sendo o Brasil o país com maior relevância epidemiológica por apresentar altos índices de infectados e mortalidade pela doença (BRASIL, 2022; BARBOSA *et al.*, 2018). No Brasil, acredita-se que o *S. mansoni* foi introduzido por meio do tráfico de escravos oriundos da Costa Ocidental da África que ingressaram no país pelos portos do Recife e Salvador para trabalharem nas lavouras de cana de açúcar. Após o parasita ser inserido no território brasileiro,

encontrou condições favoráveis para sua instalação e se expandiu pela região nordeste formando uma extensa área de transmissão entre os estados do Rio Grande do Norte e Bahia. No século XVIII, com o declínio da produção açucareira ocorreu uma extensa migração para outras regiões, principalmente Minas Gerais, se espalhando pelo território durante o percurso (figura 2) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

Figura 2: Expansão da esquistossomose mansoni no Brasil.

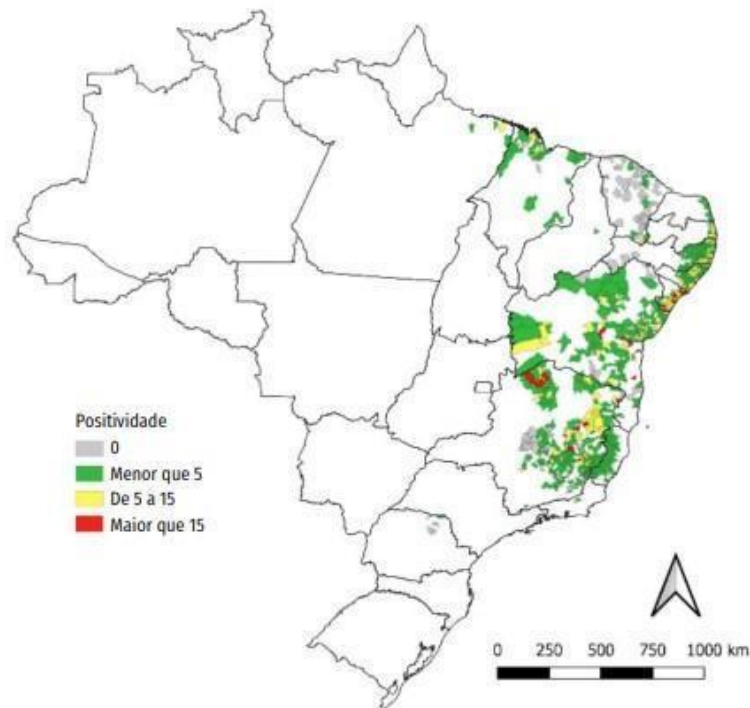


Fonte: Ministério da Saúde, Vigilância da Esquistossomose Mansoni: diretrizes técnicas, 2014.

A esquistossomose é endêmica no Brasil ocupando uma extensa parte do território nacional com destaque para as regiões Nordeste e Sudeste por apresentarem maior relevância (Figura 3). A doença é prevalente em 19 das 26 unidades federativas, sendo assim, amplamente distribuída pelo país com cerca de 1,5 milhão de pessoas vivendo em áreas sob o risco de contrair a infecção devido à existência de coleções hídricas que favorecem a transmissão do parasita pela presença dos seus hospedeiros intermediários, caramujos do gênero *Biomphalaria spp* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021; SOUZA *et al.*, 2019). Esses moluscos são

encontrados na África, América do Sul e em outras regiões subtropicais. No Brasil os potenciais hospedeiros intermediários da esquistossomose são as espécies de *B. glabrata*, *B. straminea* e *B. tenagophila* (Figura 4 e 5) (HABIB *et al.*, 2021).

Figura 3: Distribuição da esquistossomose segundo a média do percentual de positividade por município no Brasil, 2009-2020.

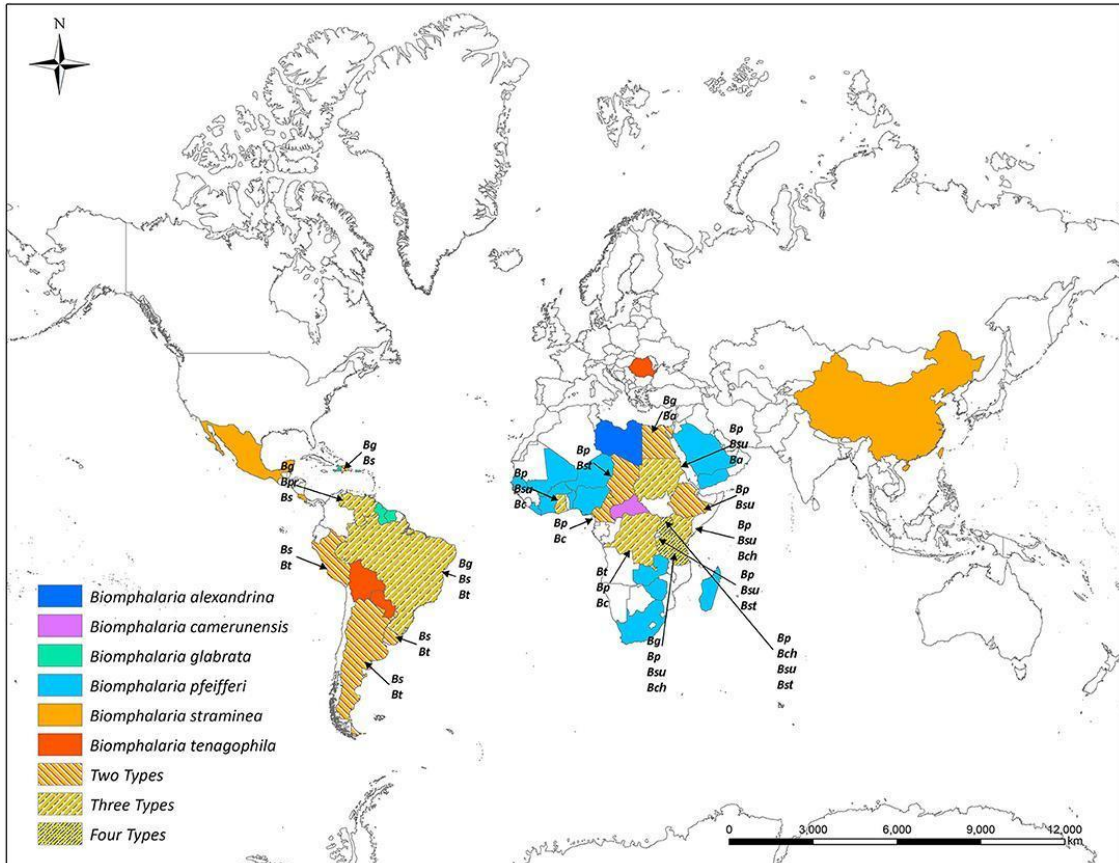


Fonte: Sistema de Informação do Programa de Controle da Esquistossomose, 2020 –SISPEC/SVS/MS.

Apesar dos esforços realizados pelo Governo brasileiro para combate e controle da esquistossomose, a doença causa danos socioeconômicos graves, possuindo endemicidade em estados como Alagoas, Bahia, Maranhão, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba, Sergipe, Espírito Santo e Minas Gerais (Figura 3). Existem também casos de transmissão localizados, não abrangendo grandes áreas, nos estados do Pará, Maranhão, Piauí, Ceará, Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina, Paraná, Rio Grande do Sul, Goiás e no Distrito Federal. Assim, estima-se que os custos financeiros diretos e indiretos da doença no ano de 2015 foram de mais de US\$ 41 milhões aos cofres públicos (OLIVEIRA SILVA, WANDERLEY, 2022; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021). No período de 2009 a 2019 segundo dados do SISPEC (Sistema de Informação do Programa de Controle da Esquistossomose), o percentual de positividade para a esquistossomose apresentou

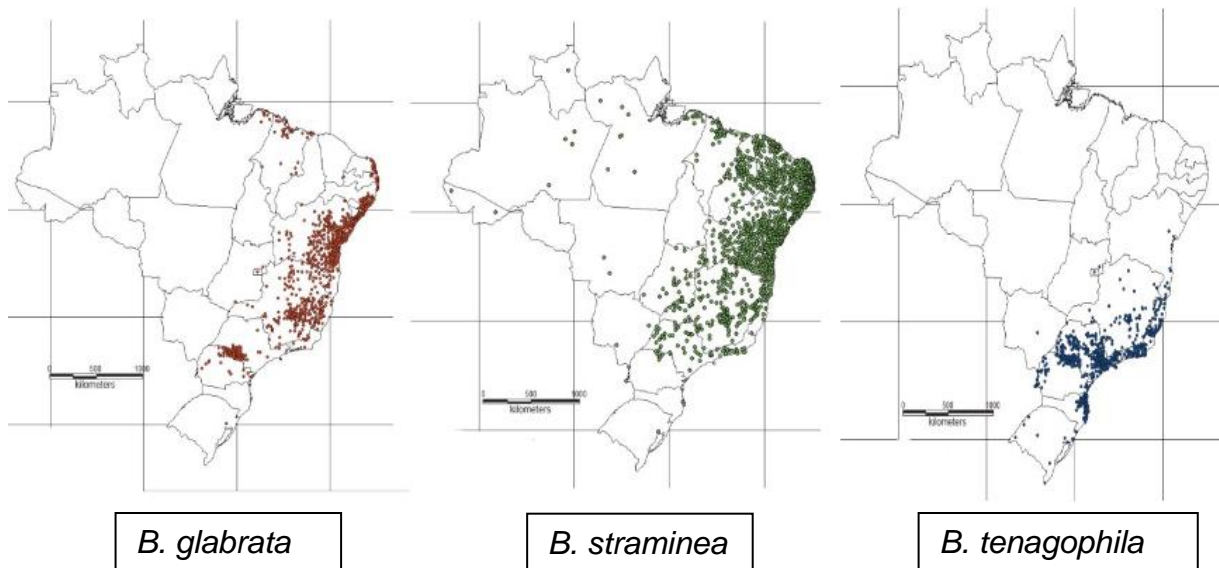
variações de 5,20% em 2009 a 2,90% em 2018 nas áreas endêmicas. Neste mesmo período foram realizados exames para detecção do *S. mansoni* sendo detectados 423.117 casos em 9.867.120 exames realizados com um percentual de positividade médio de 4,29%.

Figura 4: Distribuição global de espécies suscetíveis de *Biomphalaria* (nível de país).



Fonte: HABIB *et al.*, 2021

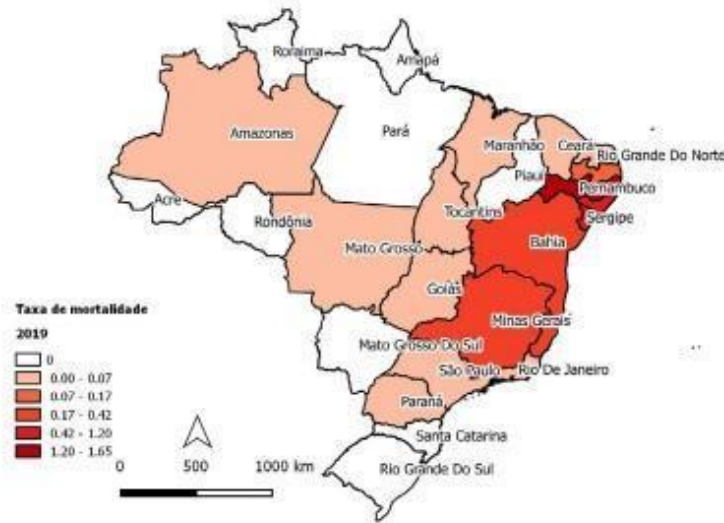
Figura 5: Distribuição dos hospedeiros intermediários no Brasil.



Fonte: Ministério da Saúde, Vigilância da Esquistossomose Mansoni: diretrizes técnicas, 2014.

De acordo com o Ministério da Saúde no período de 2015 a 2019, foram registrados um total de 2.517 óbitos por esquistossomose entre residentes no Brasil, com a região nordeste apresentando a maior taxa de mortalidade no ano de 2019: 0,53/100.000, considerada 64 vezes maior que a da região Sul (Figura 6) (BRASIL, 2022). Pernambuco é o estado, entre os 19 endêmicos, com maior prevalência e incidência, especialmente na Zona da Mata e recentemente no Litoral e Região Metropolitana do Recife, tendo a maior taxa de mortalidade e internação hospitalar por esquistossomose com casos notificados em 102 dos 185 municípios (BARBOSA *et al.*, 2018; RODRIGUES *et al.*, 2022). Acredita-se que a expansão da esquistossomose para as áreas urbanas ocorreu devido à migração de indivíduos parasitados saindo das zonas rurais endêmicas em busca de melhores condições de vida na capital e principalmente pelos hábitos de vida do homem que podem propiciar o surgimento de novos habitats para o molusco vetor (KLOHE *et al.*, 2021).

Figura 6: Taxa de mortalidade específica por esquistossomose segundo os estados, Brasil, 2019.



Fonte: Adaptado de Boletim Epidemiológico 2022. Mortalidade por esquistossomose mansoni no Brasil, de 2015 a 2019.

A disseminação da esquistossomose ocorre devido a alguns fatores que podem ser intrínsecos ao verme adulto, como sua longevidade que pode chegar a décadas, mesmo possuindo uma vida média de cinco a oito anos, e a grande capacidade que as fêmeas possuem de postura dos ovos. Também observamos fatores ligados às pessoas infectadas que mesmo estando distantes de sítios de infecção são capazes de liberar ovos nas fezes por cerca de 20 anos e pelo caráter crônico e insidioso da doença fazendo com que não se tenha a procura por tratamento. As variações climáticas sazonais também influenciam na expansão da doença através do alagamento dos criadouros naturais do vetor em decorrência das fortes chuvas, resultando no aumento do contato do homem com *Biomphalaria spp* e consequentemente transmitindo a esquistossomose, especialmente nas áreas rurais e periferias urbanas que possuem precário acesso ao saneamento básico (BRASIL, 2014; GOMES *et al.*, 2016).

1.1.2 Ciclo Biológico *S. mansoni*

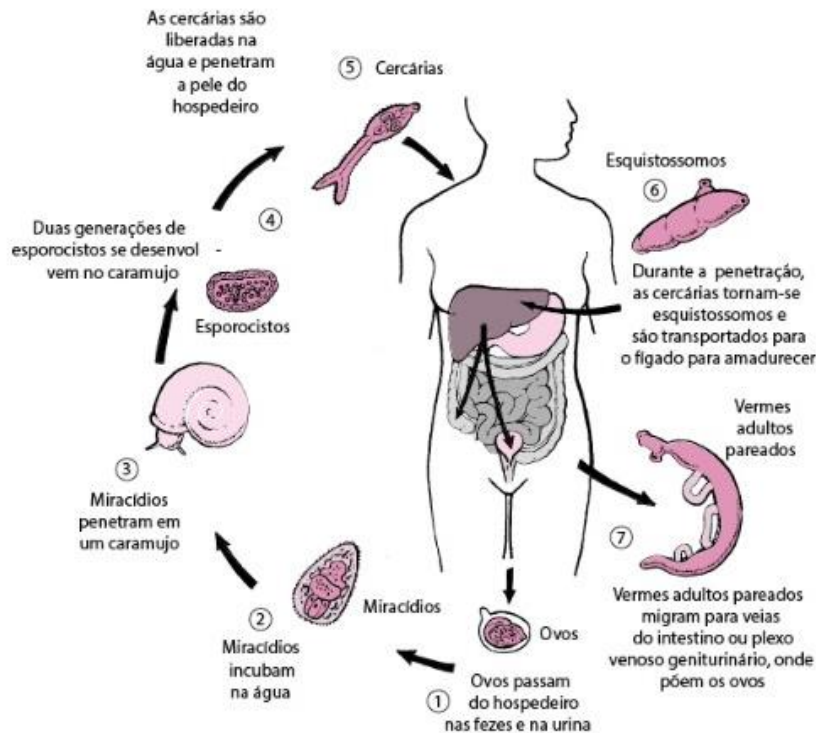
O *Schistosoma mansoni* é um parasita de ciclo heteroxênico por possuir dois hospedeiros, tendo o homem como o hospedeiro definitivo do parasita e caramujos do gênero *Biomphalaria* como os hospedeiros intermediários (Figura 7). O ciclo se inicia por meio da liberação de ovos (Figura 8A) com formato oval contendo um espículo lateral voltado para trás presente nas fezes do hospedeiro definitivo, esses ovos maduros contaminam coleções de água doce e com isso eclodem liberando o miracídio. A eclosão do miracídio, fase evolutiva infectante para o caramujo, ocorre pelo processo de osmose, entrada de água no ovo, como também, são necessários fatores como temperatura, luminosidade e oxigenação ideal para que a casca do ovo se rompa (NEVES, 2016; REY, 2008).

O miracídio (Figura 8B), primeira forma larvária do *S. mansoni* nada ativamente devido aos numerosos cílios que revestem sua cutícula delgada e seu sistema muscular em busca do hospedeiro intermediário ao serem atraídos devido à liberação de substâncias miracidinas pelo molusco (COELHO *et al.*, 2008). A penetração do miracídio ocorre com auxílio de glândulas de penetração e de substâncias histológicas (Terebratórium). Ao decorrer de 48h o miracídio perde seu revestimento epitelial ciliado dando origem ao esporocisto primário, e posteriormente suas células germinativas multiplicam-se dando origem ao esporocisto secundário. Esse esporocisto secundário passa por diferenciações dando origem a milhares de cercárias (MAIER *et al.*, 2019). Após 4 a 7 semanas da penetração dos miracídios nos tecidos do caramujo ocorre a liberação das cercárias, forma evolutiva infectante para o hospedeiro definitivo, o homem. Essa liberação depende de fatores como temperatura da água de 25° a 30° C geralmente entre 11 e 15 horas, horário em que a luminosidade e a temperatura são consideradas adequadas (REY, 2008; BRASIL, 2014).

As cercárias (Figura 8C) possuem uma cauda bifurcada, por isso também são denominadas de furcocercárias, possuem longevidade de 8 a 12 horas, entretanto essa capacidade é perdida ao longo do tempo que permanecem livres por esgotarem suas reservas energéticas. Essa forma infectante possui duas ventosas, a oral, onde estão presentes as glândulas de penetração e a ventral ou acetábulo responsável principalmente pela fixação da cercária na pele do hospedeiro definitivo.

A penetração ocorre de forma ativa por meio da liberação de enzimas líticas pelas glândulas cercarianas, seguido de movimentos vibratórios, nesse processo ocorre à perda da cauda e formação do esquistossômulo (NEVES, 2016; REY, 2008).

Figura 7: Ciclo biológico do *S. mansoni*



Fonte: Adaptado do Manual MSD:

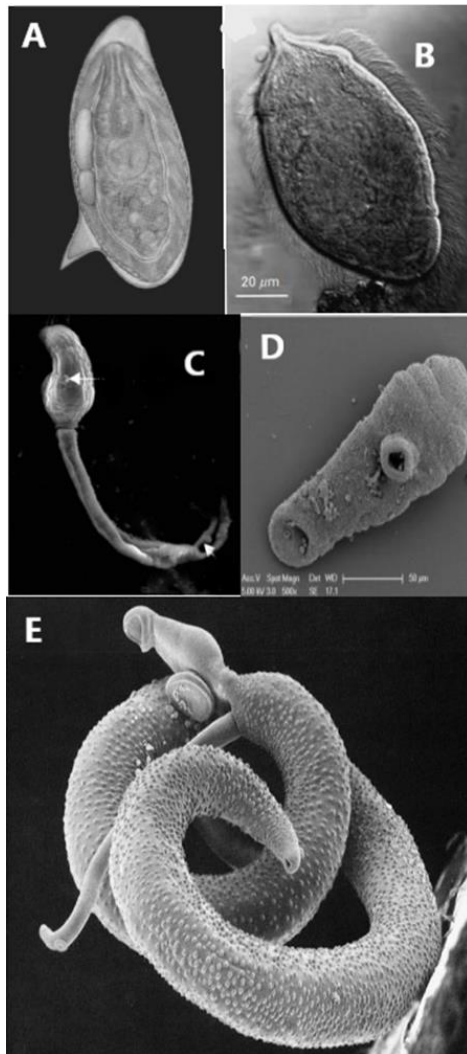
https://www.msmanuals.com/pt/profissional/multimedia/figure/inf_schistosoma_life_cycle_pt. Acesso em 16 mar. 2023.

O esquistossômulo (Figura 8D) permanece no ponto de inoculação por cerca de 72 horas, em seguida segue para circulação sanguínea e/ou linfática atingindo órgãos como coração e pulmões, onde encontram fatores essenciais para sua maturação e permanece um tempo nesses locais podendo causar alterações. Posteriormente retornam para o coração e são lançados através das artérias a outros locais do organismo, sendo o fígado o local preferencial onde essas formas jovens se diferenciam sexualmente e crescem se nutrindo de eritrócitos. Ainda em seus estágios imaturos os vermes migram para veia porta para completar a sua maturação (ARAUJO *et al.*, 2020; REY, 2008). Os vermes adultos (Figura 8E) se localizam no fígado e nos ramos terminais das veias mesentéricas, após o

acasalamento que se dá aproximadamente 40 dias após a penetração das cercárias, migram para vênulas da submucosa intestinal para iniciar a postura dos ovos por meio de contrações musculares. Nesse momento os ovos possuem em seu interior um embrião que irá amadurecer ao longo de uma semana, tempo que o ovo leva para percorrer o epitélio intestinal e chegar à luz do intestino (ROQUIS *et al.*, 2015).

Cerca de 300 ovos são produzidos pelas fêmeas do *S. mansoni* com cerca da metade sendo liberados nas fezes dos indivíduos infectados, com a outra metade ganhando a circulação e encalhando em tecidos, especialmente no hepático, sendo responsáveis pela formação de granulomas (PAIXÃO SIQUEIRA *et al.*, 2017).

Figura 8 (A-E) – Formas evolutivas do *S. mansoni*



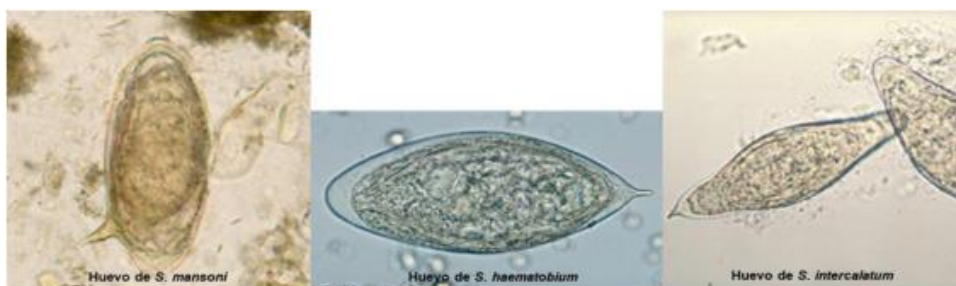
A - Ovo, **B** - miracídio, **C** - cercária, **D** - esquistossômulo, **E** – vermes adultos

Fonte: Figura 8A - AUGUSTO (2016). Figura 8B – adaptado de SOUZA (2021). Figura 8C – Adaptado de EL-BESHBISHI *et al* (2015). Figura 8D - AUGUSTO (2016). Figura 8E – AUGUSTO (2016).

1.1.3 Patogenia

A evolução clínica da esquistossomose é dividida em três estágios distintos: aguda, ativa estabelecida e crônica tardia. Sabe-se que as principais lesões e manifestações causadas pelo *Schistosoma* se dão devido à inflamação que acontece em resposta à presença de ovos (Figura 9) nos tecidos de indivíduos infectados. A fase aguda ocorre principalmente em viajantes que se infectam ao visitar áreas endêmicas para a doença, apresentando sintomas comuns como dor abdominal e muscular, febre, mal-estar e fadiga. Enquanto a fase ativa e crônica ocorre principalmente em pessoas infectadas há mais tempo que vivem em áreas endêmicas, sem assistência adequada. Apresentam manifestações inflamatórias e obstrutivas devido à resposta imunológica estabelecida pelo organismo ao encalhamento dos ovos no tecido do hospedeiro (ANDERSON; ENABULELE, 2021; MCMANUS *et al.*, 2020).

Figura 9: Ovos de *Schistosoma sp*



Fonte: SALAS-CORONAS *et al.*, 2022

Após a penetração da cercária, as primeiras manifestações de infecção é uma erupção maculopapular pruriginosa, denominada dermatite cercariana que surge no local da penetração da cercaria na pele. Essa dermatite cercariana ocorre devido uma resposta imune inata originando reações de hipersensibilidade a parasitas

mortos podendo se desenvolver algumas horas após a infecção (SALAS-CORONAS *et al.*, 2022).

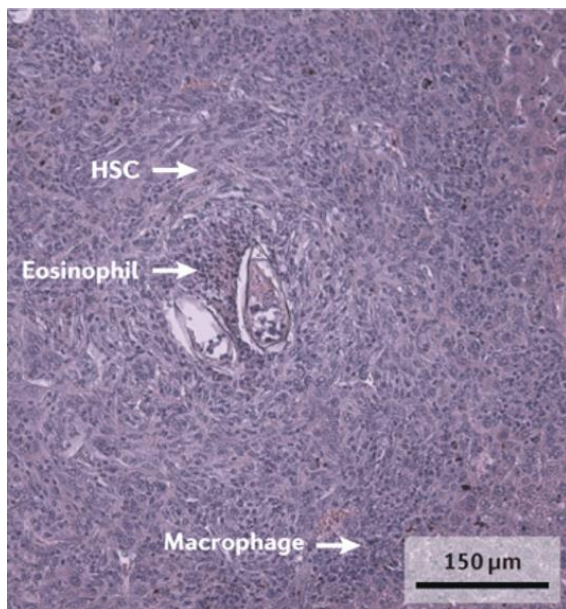
As cercárias que sobreviveram após a penetração dão origem aos esquistossômulos e podem seguir para as manifestações agudas propriamente ditas da esquistossomose. O complexo de sintomas é denominado de febre de Katayama ou Síndrome de Katayama. Comum em áreas com altas taxas de transmissão de esquistossomose, essa síndrome recebeu o nome do distrito de Katayama, no Japão, onde o primeiro caso humano de *S. japonicum* foi descrito em 1904. Os sintomas comuns incluem mialgia generalizada, dor no quadrante superior direito, diarreia sanguinolenta, dor de cabeça, febre, eosinofilia, tosse não produtiva e infiltrados pulmonares irregulares, a maioria dos pacientes se recuperam espontaneamente após 2 a 10 semanas, enquanto alguns desenvolvem uma erupção cutânea generalizada e uma doença mais grave e persistente com dispneia, dor abdominal, perda de peso, hepatomegalia e diarreia (SALAS-CORONAS *et al.*, 2022). A variação na gravidade dos sintomas pode ser explicada por meio de reações de hipersensibilidade sistêmica mediadas pelo sistema imunológico contra antígenos liberados por esquistossômulos migratórios ou contra os ovos após sua deposição nos tecidos do hospedeiro (MCMANUS *et al.*, 2020).

A infecção ativa estabelecida ocorre principalmente em indivíduos residentes em áreas endêmicas, não ocorrendo doença aguda sintomática. A doença se desenvolve diretamente em uma infecção ativa estabelecida, caracterizada pela presença de vermes adultos maduros, produção de ovos e sua excreção na urina ou nas fezes. Os vermes adultos vivos presentes nos vasos sanguíneos não ativam a resposta imune com inflamação local devido à capacidade dos vermes de adquirir antígenos do hospedeiro ou por mimetismo molecular pelo qual os antígenos do parasita são escondidos (HAMBROOK; HANINGTON, 2021). Por outro lado, os ovos do *Schistosoma* não possuem essa capacidade por isso que todas as lesões da esquistossomose resultam da presença dos ovos nos tecidos, eles secretam ativamente glicoproteínas antigênicas solúveis que desencadeiam uma resposta inflamatória mediada por linfócitos CD4 com intuito de facilitar a passagem pelos vasos sanguíneos. Entretanto essas glicoproteínas também induzem a formação de granulomas ao redor dos ovos (Figura 10), dessa forma, enquanto o sua formação visa tornar os ovos inviáveis, resulta também na destruição do tecido do hospedeiro

e formação de lesões fibróticas (SANTOS *et al.*, 2022; SALAS-CORONAS *et al.*, 2022).

Os sintomas clínicos específicos do órgão afetado se correlacionam positivamente com o número de ovos excretados e são mediados pela inflamação induzida pelo ovo seguida pela reação granulomatosa. Infecções ativas estabelecidas são mais características de crianças em áreas endêmicas, esse quadro pode ser reversível após a morte dos vermes adultos por meio de tratamento repetido com praziquantel (MCMANUS *et al.*, 2020).

Figura 10: Granuloma ao redor dos ovos de *S. mansoni*



Fonte: Adaptado de MCMANUS *et al.*, 2020

A esquistossomose crônica é a forma mais frequentemente diagnosticada, podendo ser assintomática ou oligosintomática até 40-60% dos casos em adultos e crianças, levando ao comprometimento de órgãos distintos dependendo do tropismo da espécie de *Schistosoma* (SALAS-CORONAS *et al.*, 2022). Podendo ocorrer doença intestinal, inflamação hepatoesplênica e fibrose hepática causada pelo *S. mansoni* (MCMANUS *et al.*, 2020).

Na doença gastrointestinal hepatoesplênica ocorre à retenção dos ovos na parede intestinal induzindo inflamação, polipose, ulceração, formação de microabscessos e hiperplasia. Os sintomas podem variar a depender da intensidade

da infecção sendo perda de apetite, podendo alternar com constipação, sangue nas fezes (hematoquezia) e cólica hipogástrica ou dor na fossa ilíaca esquerda. Já os sintomas intestinais crônicos incluem estenose retal ou colônica (NEVES, 2016; MCMANUS *et al.*, 2020).

Quando os ovos do *S. mansoni* são liberados para o fígado induz uma resposta inflamatória granulomatosa com inflamação pré-sinusoidal e fibrose periportal. Em estágio tardio o depósito de colágeno periportal leva a obstrução progressiva do fluxo sanguíneo e hipertensão portal fazendo com que o organismo desenvolva vias alternativas para a circulação sanguínea dando origem as varizes esofágicas (Figura 11) e fibrose portal característica da esquistossomose, denominada de fibrose de Symmers. Ao decorrer da doença outros sintomas podem surgir como a ascite abdominal e a esplenomegalia (NEVES, 2016, MCMANUS *et al.*, 2020; SALAS-CORONAS *et al.*, 2022).

Figura 11: Varizes esofágicas



Fonte: <http://www.hepcentro.com.br/varizes.htm>. Acesso em 16 mar. 2023.

Existem ainda as formas raras da esquistossomose causadas na fase crônica da infecção:

- **Neuroesquistossomose** se dá pela migração aberrante dos vermes adultos para o cérebro ou medula espinhal gerando uma resposta inflamatória frente ao depósito de ovos nesses locais, sendo o acometimento dependente da

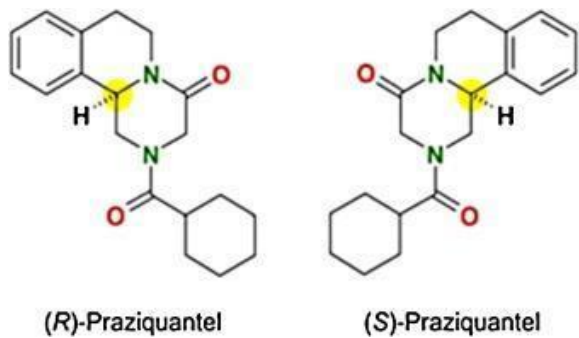
área e da espécie de *Schistosoma*. O acometimento da medula é mais frequente na África gerando mielite transversa aguda ou mielorradiculopatia subaguda com sintomas como dor lombar, dor radicular das extremidades inferiores, debilidade muscular, perda sensorial e disfunção intestinal e vesical. Enquanto o acometimento cerebral decorre da infecção pela *S. japonicum* podendo causar uma diversidade de sintomas como convulsões, deterioração motora e/ou sensorial, delírio ou uma síndrome cerebelosa.

- **Esquistossomose pulmonar** ocorre quando os ovos são levados para os capilares pulmonares onde induzem a formação de granulomas podendo levar a fibrose peripulmonar, resultando em sintomas como arterite granulomatosa com consequente hipertensão pulmonar e cor pulmonale, e falta de ar que é a manifestação clínica mais frequente.
- **Nefropatia esquistossomótica** é o comprometimento renal devido à formação de imunocomplexos podendo gerar proteinúria e síndrome nefrótica.

1.1.4 Tratamento da Esquistossomose

O Praziquantel (PZQ), derivado da pirazino-isoquinoleína do grupo tioxantônico (2-(ciclohexilcarbonil)-1,2,3,6,7, 11b-hexahidro-4H-pirazino [2, 1-a] isoquinolina-4-ona) é o único fármaco preconizado pela Organização Mundial da Saúde para o tratamento e controle de todas as formas de esquistossomose. Em sua forma comercial o PZQ é uma mistura racêmica de partes iguais do isômero R (-) levo-PZQ e do isômero S (+) dextro-PZQ, dos quais apenas o enantiômero R (-) exibe atividade esquistossomicida (Figura 12). Após sua administração e metabolização no fígado, o praziquantel segue sendo metabolizado pelas enzimas do citocromo P-450 (2B1 e 3A), formando derivados e metabólitos que possuem meia vida plasmática de 1-3 horas e eliminação pelo organismo em aproximadamente 24 horas (NOGUEIRA *et al.*, 2022; THOMAS; TIMSON, 2020).

Figura 12: Estrutura química do praziquantel



Fonte: PAIXÃO SIQUEIRA *et al.*, 2017

O uso em larga escala do praziquantel desde 1970 ocorre devido a fatores como sua eficácia, baixo custo, segurança e facilidade de administração em dose única o que resultou em progressão no controle da esquistossomose. Entretanto, sabe-se que o fármaco possui eficácia dependente dos estágios de desenvolvimento do *Schistosoma* tendo maior eficiência para os vermes adultos em comparação com os vermes jovens de 21 dias que apresentam menor sensibilidade ao uso do fármaco (NOGUEIRA *et al.*, 2022). Sendo sua eficácia também relacionada com questões ligadas ao sexo do verme e seu estado de emparelhamento possuindo ação contra ambos os sexos, porém, tendo menor eficácia contra fêmeas não pareadas e em infecções bissexuais os vermes machos e fêmeas maduros são mais sensíveis ao PZQ do que em infecções unissexuais (NOGUEIRA *et al.*, 2022; THOMAS; TIMSON, 2020) .

Apesar do uso generalizado do PZQ, seu mecanismo de ação ainda não é bem elucidado. Entretanto, alvos têm sido apontados como responsáveis pelo seu efeito farmacológico (NOGUEIRA *et al.*, 2022). Evidências sugerem que o PZQ interrompe processos mediados por cálcio nos vermes adultos ao atuar como antagonista dos canais de cálcio controlados por voltagem do parasita e/ou por moléculas que regulam esses canais, essa hipótese pode ser justificada por meio dos efeitos observados em estudos em que a droga levou a alteração da membrana nos vermes adultos de *S. mansoni* e *S. japonicum*, causando um rápido influxo de cálcio, contrações musculares sustentadas e ruptura profunda do tegumento

(TIMSON, 2020). No entanto, mesmo sendo a hipótese mais aceita a forma como o medicamento age alterando a homeostase do cálcio permanece desconhecida.

Apesar da segurança no uso do praziquantel, relatos de casos de resistência e/ou tolerância têm sido notificados na literatura devido ao seu amplo período de utilização em áreas endêmicas e sua ineficácia contra formas imaturas (esquistossômulos de pele e de pulmão) (NOGUEIRA *et al.*, 2022). Dessa forma, não impedindo a maturação dos vermes jovens e conseqüentemente o aparecimento de morbidade que pode ocorrer rapidamente após sua administração. A resistência generalizada ainda não foi relatada, entretanto, pesquisadores alertaram a existência de outros vermes parasitas que desenvolveram resistência aos anti-helmínicos largamente utilizados como referência para busca de promissores fármacos esquistossomicidas (THOMAS; TIMSON, 2020).

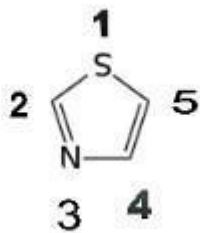
1.2 DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS

Modificações químicas são estratégias utilizadas para o desenvolvimento e planejamento racional de novos fármacos através do aprimoramento de estruturas químicas já existentes dando origem a moléculas com ação farmacológica distintas, sendo mais específicas e conseqüentemente mais eficazes frente a seu alvo biológico. Nesse contexto, os derivados tiazolidínicos representam um ponto de partida atraente para síntese de novos fármacos, uma vez que apresentam uma ampla versatilidade estrutural e terapêutica (PEREZ *et al.*, 2021; ANZALDO *et al.*, 2022).

O tiazol é um composto aromático de cinco membros, onde as posições 1 e 3 são substituídas pelo enxofre e o nitrogênio, respectivamente (Figura 13), e à temperatura ambiente é encontrado no estado líquido, com coloração amarela, ponto de ebulição a 118,24 °C e completamente solúvel em água (RANGAPPA *et al.*, 2015). Derivados tiazólicos compõem uma classe de heterocíclicos com amplo potencial biológico, podendo ser utilizados em reações de condensação, oxidação, alquilação e transformações de grupos funcionais. Os derivados heterocíclicos pentagonais tiazolidínicos se diferenciam pelos seus radicais substituintes, os quais

conferem as novas moléculas diferentes propriedades químicas responsáveis por sua maior ou menor atividade farmacológica e biológica (SOUZA *et al.*, 2005; AVER; KREUTZ; SUYENAGA, 2015). Nesse contexto, existem vários derivados tiazolidínicos encontrados em fármacos já comercializados como: sulfatiazolidínicos (antimicrobiano), ritonavir (antirretroviral), abafungin (antifúngico) e tiazofurin (antineoplásico) (HUSSEIN; TURAN-ZITOUNI, 2018).

Figura 13: Estrutura química do tiazol



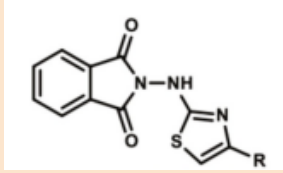
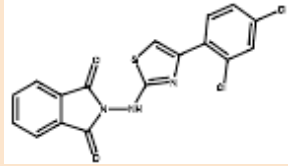
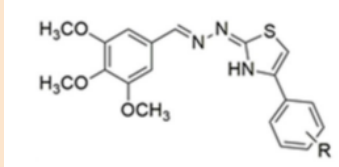
Fonte: Autor (2023)

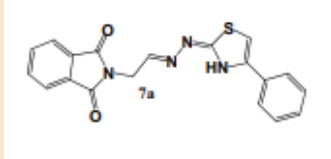
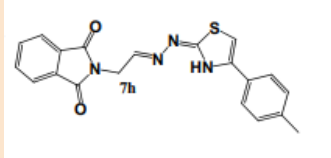
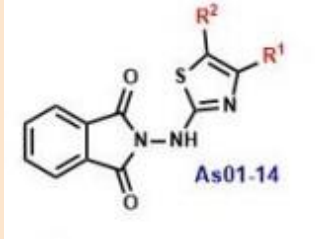
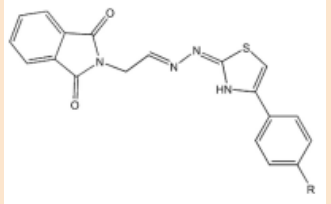
Os derivados TZDs destacam-se por atividades antinociceptiva (PAVIN *et al.*, 2011), antimicrobiana (SAKHUJA *et al.*, 2011; TOMASIC *et al.*, 2011), antitumoral (WANG *et al.*, 2011; GOUDA; ABU-HASHEM, 2011), inibidores da tirosinase, neuraminidase e acetilcolinesterase (HA *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2011; TURAN-ZITOUNI *et al.*, 2013), antioxidante e antidiabética (GOUDA; ABU-HASHEM, 2011; BERCZYNSKI *et al.*, 2012; HUSSEIN; TURAN-ZITOUNI, 2018), antiviral (RAWAL *et al.*, 2007) e contra o mal de alzheimer (CHANDRA *et al.*, 2008). Além de demonstrarem atividade antiparasitária contra *Plasmodium spp* (RUIZ *et al.*, 2011), *Trypanosoma cruzi* (CARDOSO *et al.*, 2014), *Toxoplasma gondii* (TROTSKO *et al.*, 2019) e *Leishmania spp* (GOUVEIA, 2019).

Atividades esquistossomicidas foram relatadas por Santiago e colaboradores (2014) ao identificar promissora ação de derivados tiazóis, dentre eles o protótipo LpQM-45 que causou destruição no tegumento de vermes machos e fêmeas. Recentemente, outros derivados tiazóis foram testados e demonstraram ação contra o *S. mansoni* sendo relatados danos no tegumento do verme, alteração na sua

coloração, redução de motilidade, oviposição e emparelhamento resultando na morte tanto dos vermes machos quanto fêmeas ao serem incubados com os derivados tiazóis (Quadro 1) (OLIVEIRA *et al.*, 2018; BARBOSA, 2018; OLIVEIRA BARBOSA *et al.*, 2019; MIRANDA FILHO *et al.*, 2020).

Quadro 1 – Derivados tiazóis com atividade esquistossomicida

Derivados tiazóis	Resultados obtidos	Autor/ano
 <p>R= difenil em 2I</p> <p>R = 2-naftaleno em 2J</p>	<p>Os compostos causaram 100% de mortalidade. Sendo o 2I mais eficaz levando a um aumento de ovos inviáveis e a morte do parasito. Ambos causaram ulcerações, desintegração do tegumento, destruição dos tubérculos e espículas.</p>	<p>MIRANDA FILHO <i>et al.</i>, 2020</p>
 <p>Composto 2M</p>	<p>O composto resultou em mortalidade após 96 h, danos graves ao tegumento, diminuição da oviposição e baixa citotoxicidade em células de mamíferos.</p>	<p>OLIVEIRA BARBOSA <i>et al.</i>, 2019</p>
 <p>R = NO² para NJ05</p> <p>R = Br para NJ07</p>	<p>Os compostos causaram fortes lesões no tegumento do verme, formação de bolhas, descamações, redução da oviposição e perda de tubérculos.</p> <p>NJ5 + NJ7 causou redução na viabilidade, motilidade, emparelhamento, oviposição, alterações graves no tegumento e mortalidade dos vermes.</p>	<p>PEREIRA <i>et al.</i>, 2019</p>

 <p style="text-align: center;">7a</p>	<p>Provocaram alterações na coloração do parasito (mais escura e opaca), danos ao tegumento com destruição de tubérculos e redução da motilidade. As fêmeas apresentaram destruição das ventosas, sem oviposição e todos os casais desacasalaram. Ambos os fármacos apresentaram efeito menos tóxico que o PZQ.</p> <p>Tanto o composto 7A quanto o 7H causaram mortalidade de 86 e 100% em 24 h, respectivamente.</p>	<p>OLIVEIRA <i>et al.</i>, 2018</p>
 <p style="text-align: center;">7h</p>		
 <p style="text-align: center;">As01-14</p>	<p>Ao entrar em contato com o composto As-13 os vermes apresentaram bolhas, descamação do tegumento e exposição da musculatura subtegumentar.</p>	<p>BARBOSA, 2018</p>
 <p style="text-align: center;">R= -O-CH³ em LpQM-45</p>	<p>O composto causou a mortalidade de 100% dentro de 144 h com ausência de ovos e danos extensos ao tegumento dos vermes.</p>	<p>SANTIAGO <i>et al.</i>, 2014</p>

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade esquistosomicida, *in vitro*, de novos derivados tiazolidínicos contra casais adultos de *Schistosoma mansoni*.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar os escores de motilidade;
- ✓ Avaliar taxa de mortalidade;
- ✓ Analisar a viabilidade celular de vermes;
- ✓ Analisar a citotoxicidade em células macrofágicas J774A.1, Fibroblastos V79, Células Vero e Hepatoma (HepG2).

3 METODOLOGIA

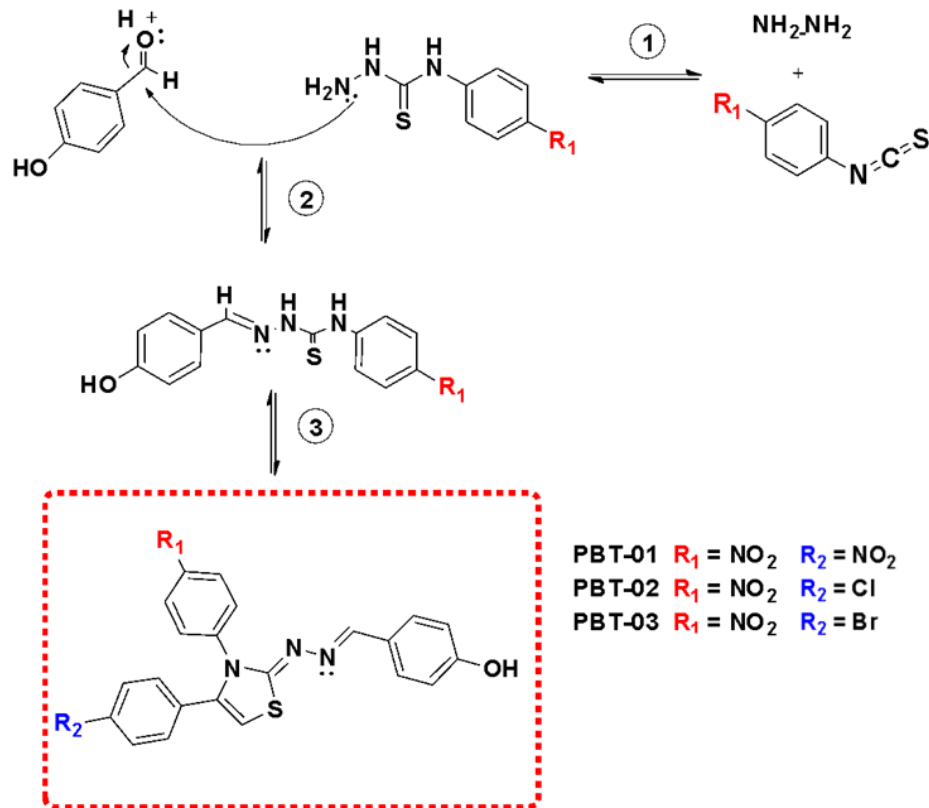
3.1 SOLVENTES E REAGENTES

Foram utilizados reagentes e solventes obtidos comercialmente da Sigma-Aldrich®, Fluxa, Vetec e Merck como listados a seguir: 2-bromo-acetofenona (70-11-1), 2-bromo-4-nitroacetofenona (2227-64-7), 2-bromo-4-cloro-acetofenona (536-38-9), 2,4-dibromo acetofenona, 2-cloro-4-fluor-acetofenona (CAS 456-04-2), 4-nitrofenil isotiocianato (CAS: 2131-61-5), 4-cloro-fenil isotiocianato (CAS 2131-55-7), 4-hidroxi-benzaldeído (CAS: 123-08-0), Solução de Hidrazina (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), (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) (Merck, CAS:57360-69-7), cloreto de sódio (Merck, CAS:7647-14-5), cloreto de cálcio (Merck, CAS:10043-52-4), e praziquantel (Merck, CAS: 55268-74-1).

3. 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 14). **Etapa 1:** a obtenção das tiossemicarbazidas foi realizada através de reação de adição nucleofílica da hidrazina com o 4-nitrofenil isotiocianato ou com o 4-clorofenil isotiocianato, sendo utilizado como solvente o diclorometano, à temperatura ambiente sob 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 catalisador. **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 tiazóis.

Figura 14: Esquema de síntese dos tiazóis



Fonte: Autor (2023)

3. 3 ENSAIOS DE CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS ANIMAIS

3.3.1 Cultivo e Manutenção das Linhagens Celulares de Macrófagos RAW.264.7, Fibroblastos V79, Células Vero e Hepatoma (HepG2)

As linhagens celulares de macrófagos RAW.264.7, fibroblastos V79, células Vero e hepatoma (HepG2) foram mantidas em condições de cultura no Laboratório de Biologia Celular e Molecular do Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, PE, Brazil. O procedimento de manutenção celular foi realizado segundo Gouveia *et al.* (2022) com modificações. Inicialmente, as células foram cultivadas em garrafas de cultura de células (75 cm³, correspondentes a 250 mL), contendo meio de cultura RPMI 1640 com vermelho de fenol suplementado com soro bovino fetal a 10% e 1% de antibióticos (penicilina 100 U/mL e estreptomicina, 100 µg/mL) e incubadas em atmosfera úmida de 5% de CO₂ a 37 °C.

As células foram mantidas por passagens seriadas a cada 48 h por remoção da monocamada celular em RPMI sem soro fetal bovino com cell scraper. Em seguida, foram retiradas dos frascos de cultura, transferidas para tubos de centrifuga de 15 mL e centrifugadas a 400 G por 5 minutos à 37 °C. Após descarte do sobrenadante, as células foram homogeneizadas em 1 mL de meio RPMI a 10% de soro bovino fetal e distribuídas em frascos novos de cultura. Após este processo as células foram utilizadas nos ensaios de citotoxicidade.

3.3.2 Ensaios de citotoxicidade em células de macrófagos RAW.264.7, fibroblastos V79, células Vero e hepatoma (HepG2)

Os ensaios de citotoxicidade foram realizados pelo método colorimétrico de MTT segundo Gomha *et al.* (2017), Ribeiro *et al.* (2018), Rodrigues *et al.* (2018) e Gouveia *et al.* (2022). As células foram plaqueadas em placas de cultura de 96 poços (1x10⁵ células/poço) com volume final de 100 µL de RPMI suplementado e incubadas por 24 h (37 °C e 5% de CO₂). Em seguida, foram tratadas com os compostos tiazóis (PBT-01, PBT-02, PBT-03) em diferentes concentrações (6.25 a 200 µM) por 48 h. Após este período, o meio de cultura foi desprezado e 100 µL de MTT (5 mg/mL em tampão fosfato-salino (PBS)) foram adicionados em cada poço. As placas foram novamente incubadas a 37 °C por 3 h na ausência de luz. Logo após, a solução de MTT foi substituída por 100 µL/poço de dimetilsulfóxido (DMSO) para solubilizar os cristais de formazan. A placa foi mantida sob agitação durante 1 h à temperatura ambiente e a densidade óptica medida a 540 nm em espectrofotômetro Thermo Scientific Multiskan FC. A citotoxicidade do PZQ foi avaliada nas mesmas condições e concentrações que os derivados tiazóis. As células incubadas apenas em meio RPMI suplementado ou RPMI suplementado acrescido de 1% de DMSO foram os controles negativos. Os experimentos foram realizados em triplicata em no mínimo dois experimentos independentes.

A viabilidade celular foi calculada utilizando a equação 1.

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

Onde: VC é a quantidade de células em diferentes concentrações, TC é concentração de células no controle a qual representa viabilidade de 100%.

A concentração efetiva que promove redução de 50% da viabilidade celular (CC₅₀) foi determinada por análise de regressão não linear dos dados obtidos pelo software GraphPad Prism versão 5.0 (teste).

3.4 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS, ANIMAIS E INFECÇÃO COM *S. MANSONI*

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Biociências da UFPE (CEUA/UFPE) (Processo n° 0060/2019). Quinze camundongos (*Swiss Webster*) foram fornecidos e mantidos no biotério do LIKA/UFPE em condições padronizadas (20±2°C, 12h de ciclo claro) e acesso livre a água e ração (Labina/Purina®). Todos os camundongos utilizados para a experimentação foram fêmeas com 30 dias de idade, pesando entre 28 e 30 gramas.

A cepa de *S. mansonii* (BH, Belo Horizonte, MG) é mantida na disciplina de parasitologia e iLIKA/UFPE através de passagens sucessivas em camundongos e *Biomphalaria glabrata*.

A infecção dos caramujos *Biomphalaria glabrata* ocorreu a partir do processamento e isolamento dos ovos de *S. mansonii* das fezes de camundongos previamente infectados, as fezes foram processadas pelo método de sedimentação espontânea (HOFFMAN; PONS; JANER, 1934). O material fecal passou por diversas lavagens em água desclorada e filtrada, ao final o sobrenadante foi descartado e o sedimento distribuído em placas de Petri. As placas, contendo o sedimento, foram expostas a luz artificial (Lâmpadas incandescentes de 40w), a temperatura de 28°C durante 50 minutos, tempo necessário para que ocorresse a liberação dos miracídeos. Após liberados, esses miracídeos foram visualizados com auxílio de lupas sendo realizada a transferência para placa de cultura (16 poços) de

uma suspensão contendo oito miracídios. Em seguida, os caramujos foram distribuídos individualmente em cada poço para que ficasse em contato com essa suspensão. Posteriormente, as placas de cultura foram expostas à luz artificial e à temperatura de 28°C, por aproximadamente duas horas. Ao final da exposição os caramujos foram retirados e colocados em aquários contendo água desclorada e filtrada e mantidos abrigados da incidência luminosa. Passados 30 dias de infecção, tempo necessário para que se complete o ciclo do *S. mansoni* no hospedeiro intermediário e sua migração. Os caramujos foram expostos novamente à luz artificial e à temperatura de 28°C por 50 minutos, em recipientes transparentes contendo água desclorada e filtrada para liberação das cercárias. Após a liberação, as cercárias foram utilizadas para infecção percutânea dos camundongos, previamente anestesiados por via intramuscular por meio de suspensões contendo aproximadamente 120 cercárias. Os camundongos ficaram expostos por cerca de 20 minutos a suspensão cercariana, ao final da infecção foram acomodados em gaiolas devidamente identificadas e mantidos no biotério.

3.5 AVALIAÇÃO ESQUISTOSSOMICIDA *IN VITRO* DE DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS CONTRA CASAS ADULTOS DE *S. MANSONI*

Os camundongos foram eutanasiados por deslocamento cervical no 45º dia após a infecção com *S. mansoni* e os casais de vermes adultos foram recuperados por meio de perfusão do sistema porta hepático e vasos mesentéricos com solução salina estéril (0,9% NaCl p/v) (SMITHERS E TERRY, 1965). Em ambiente estéril, os vermes foram imediatamente transferidos para placa de Petri contendo meio de cultura Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI) suplementado com 20 mM HEPES, 100 µg/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina e 10% de soro bovino fetal e lavados três vezes com este meio. Em seguida, os vermes foram distribuídos em placas de cultura de 24 poços com 2 mL deste meio, dois casais de vermes por poço, e incubados a 37 °C em atmosfera úmida contendo 5% de CO₂. Ao decorrer de 2 h, tempo necessário para que os vermes se adaptassem às condições do meio de cultura, os derivados tiazolidínicos PBT-01, PBT-02 e PBT-03 previamente pesados e solubilizados em DMSO 1% em meio RPMI 1640 suplementado, foram adicionados para concentrações finais de 6.25, 12.5, 25,

50,100 e 200 μM . As concentrações avaliadas seguiram a dos estudos de Silva *et al.* (2018) e Santiago *et al.* (2014).

A avaliação esquistossomicida foi realizada seguindo duas etapas experimentais: (I) a primeira avaliou o efeito dos derivados a cada 24 h durante cinco dias consecutivos (120 h), enquanto a (II) segunda objetivou avaliar o efeito esquistossomicida do derivado que causou alterações na motilidade e mortalidade em 24 h seguindo uma cinética destas alterações e mortalidade nos intervalos de 3, 6, 12 e 24 h após a incubação. Os casais adultos foram incubados apenas em meio RPMI suplementado para formação do controle negativo 1, para o controle negativo 2 os casais foram mantidos em 1% de DMSO em RPMI 1640 e para o controle positivo foram incubados com 10 μM de PZQ. Os resultados foram expressos em média \pm DP de 16 vermes adultos (8 casais). Os experimentos foram realizados em quadruplicata, totalizando 32 casais de vermes adultos por concentração.

3.6 CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO ESQUISTOSSOMICIDA

3.6.1 Motilidade e Sobrevivência

Com auxílio de microscópio invertido (Leica Microsystems, DM IL Wetzlar, Alemanha), os casais de vermes adultos tiveram a motilidade e sobrevivência monitorados nos intervalos de observação. A motilidade e a sobrevivência dos vermes foram avaliadas de acordo com Silva *et al.* (2018) e Araújo *et al.* (2020) seguindo os critérios e pontuadas em uma escala de 3-0, sendo: escore 3, vermes com movimentos típicos, apresentando peristaltismo dos órgãos internos, ventosas em movimento, aderindo ao fundo ou laterais da placa de cultura, descrições típicas de vermes de controle negativo; escore 2, movimentos reduzidos por todo o corpo, peristaltismo de órgãos internos e ventosas; escore 1, movimentos apenas nas extremidades ou em apenas uma das extremidades (região anterior e/ou posterior), com ausência de peristaltismo de órgãos internos e ventosas não aderidas; escore 0, ausência completa de movimentos e tegumento com ou sem alteração de cor. O tratamento foi considerado letal quando não foi possível observar movimentos do parasita por até 2 minutos.

3.6.2 Ensaios de viabilidade celular dos vermes

Após incubação com os derivados TZDs, a viabilidade celular dos casais de vermes adultos foi determinada pelo ensaio de citotoxicidade com MTT, como previamente descrito por Araújo *et al.* (2020). Resumidamente, após 120 h de incubação com os derivados, os vermes foram transferidos para poço de placa de cultura de 96 poços contendo 100 μ L de MTT (5 mg/mL diluído em tampão fosfato, PBS) e incubados a 37 °C durante 30 min em ambiente protegido da luz. Posteriormente, a solução de MTT foi removida e 200 μ L de DMSO foram adicionados em cada poço da placa, com a finalidade de dissolver os cristais de formazan. A placa foi mantida sob agitação durante 1 h à temperatura ambiente e a densidade óptica medida a 550 nm em leitor de microplaca (M680, Bio Rad Laboratories, Inc.). Os casais adultos dos grupos de controle positivo e negativo foram submetidos ao mesmo teste. O experimento foi realizado em quadruplicata e repetido ao menos duas vezes.

A concentração inibitória para inviabilizar metade das células dos vermes adultos (IC_{50}) foi calculada a partir de uma curva de inibição de dose-resposta ajustada utilizando o nível de formazan para cada concentração. O valor de IC_{50} foi calculado usando software GraphPad PRISM® 4.03.

3.7 Determinação do índice de seletividade

O índice de seletividade (SI) dos compostos foi determinado através da relação entre citotoxicidade do composto para células de mamíferos e sua atividade parasitária (PADALINO *et al.* 2021). Este parâmetro é a razão entre a citotoxicidade para células (CC_{50}) e a atividade frente ao parasito (IC_{50}).

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises dos dados foram realizadas pelo software Graphpad Prism 5 (GraphPad Software, Inc., La Jolla - CA, EUA) e expressos como média \pm desvio padrão (DP). Por meio da análise de variância unidirecional (ANOVA), em adição

com teste de Tukey para comparações múltiplas post-hoc, as diferenças estatísticas foram determinadas com $p < 0,05$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ENSAIO ESQUISTOSSOMICIDA DOS DERIVADOS TIAZOLIDÍNICOS

A esquistossomose mansônica é uma parasitose com distribuição ampla afetando milhares de pessoas ao redor do mundo, tendo endemicidade nas regiões tropicais e subtropicais. O emprego exclusivo do PZQ em seu tratamento e controle, especialmente em áreas endêmicas, tem causado preocupação da comunidade científica devido aos relatos do surgimento de cepas resistentes e/ou tolerantes do *S. mansoni* frente a essa droga (CRIBB *et al.*, 2019, TEDLA *et al.*, 2020). Assim, esse cenário evidencia a importância da pesquisa e síntese de novos fármacos com potencial esquistossomicida, nesse sentido, destaca-se a análise de fármacos existentes visando o aumento do seu potencial terapêutico através de modificações químicas na sua estrutura, dentre eles temos os derivados tiazolidínicos, compostos heterocíclicos pentagonais que demonstraram atividades frente ao *S. mansoni* (NETO *et al.*, 2021). Neste sentido, vários derivados heterocíclicos pentagonais tiazolidínicos já foram sintetizados e avaliados frente a diversas possibilidades de atividades biológicas, como o 3-(2,6-difluor-benzil)-5-(indol-3ilmetileno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-238), molécula que se destacou por promissora atividade esquistossomicida em estudos *in vitro* (OLIVEIRA, 2013). Assim como, os estudos de Lauro da Silva (2010) sobre a atividade esquistossomicida dos derivados tiazolidínicos LPSF/SF-03, LPSF/SF-05, LPSF/SF-20 e LPSF/SF-22 e LPSF/SF-25 demonstraram mortalidade de até 86% *in vitro*, redução de 28% do número de vermes adultos do *S. mansoni* e alterações nos estádios evolutivos dos ovos dos parasitos em estudos *in vivo*.

Assim, o presente estudo foi formulado baseado na síntese de derivados tiazolidínicos com promissora atividade esquistossomicida, uma vez que os três novos derivados tiazolidínicos (LQIT/PBT01, LQIT/PBT02 e LQIT/PBT02) avaliados *in vitro* apresentaram potencial esquistossomicida com efeito dose e tempo dependente (tabela 1), mas todos com mortalidade de 100%.

A tabela 1 mostra o efeito esquistossomicida, empregando scores de motilidade e mortalidade, dos derivados tiazolidínicos frente aos casais adultos de *S. mansoni*. Após 120 h de incubação nos grupos controle negativo 1 e 2, os casais de

vermes apresentaram motilidade, topografia e peristaltismo dos órgãos internos de forma típica (escore 3). Após 24 h, os casais de vermes expostos ao PBT-01 se encontravam em escore 3 em todas as concentrações (6,25 - 200 μM) analisadas. Após 48 h, a concentração de 200 μM resultou em 100% dos vermes com movimentos em uma das extremidades (escore 1), enquanto que na de 100 μM apresentou redução de 37.5% na movimentação dos vermes (escore 2). Seguindo com as análises do composto PBT-01, em 72 h foi observado que 31.25% dos vermes movimentavam apenas uma das extremidades (escore 1) na concentração de 100 μM e nas de 50 e 25 μM apresentou 56.25% e 37.5%, respectivamente com os vermes em escore 2. Foi observado mortalidade de 87.5% dos vermes incubados na concentração de 200 μM e na de 100 μM apresentou 100% dos vermes com movimentos em uma das extremidades (escore 1), em 96 h. Ao decorrer de 120 h de incubação foi relatado mortalidade de 100% nas concentrações de 200 μM e 81.25% dos vermes em escore 1 na de 50 μM , com demais concentrações apresentando uma redução na movimentação dos vermes.

O composto PBT-02 na concentração de 200 e 100 μM causou 100% de mortalidade e na concentração de 50 μM foi observado 81.25% dos vermes com movimentação restrita apenas a uma das extremidades (escore 1). Ademais, na concentração de 25 μM houve redução de 100% na movimentação dos vermes, isso em 24 h. Após 48 h a concentração de 50 μM alcançou 100% dos vermes em escore 1. Após 120 h de incubação foram observados 62.5% de mortalidade para a concentração de 50 μM e redução da movimentação em 25% dos vermes da concentração 25 μM , com os casais de vermes adultos das demais concentrações permanecendo em escore 3.

O PBT-03, em 24 h, os vermes se encontravam com motilidade e topografia típicas e peristaltismo dos órgãos internos conservados (escore 3) em todas as concentrações. Após 48 h, nas concentrações de 200 e 100 μM houve redução de 100% nos movimentos dos vermes (escore 2). Foram observados que 100% dos vermes movimentavam apenas uma das extremidades (escore 1) nas concentrações de 200 e 100 μM , após 72 h. Seguidas as 120 h de análise foi alcançado 12.5% de mortalidade dos casais de vermes na concentração de 200 μM .

Os diferentes resultados na motilidade e mortalidade causados pelos derivados podem ser justificados através dos radicais adicionados. Podendo ser explicado pela utilização da química medicinal, uma vez que os derivados tiazolidínicos representam o ponto inicial para o desenvolvimento de novos compostos com atividade esquistossomicida. Dessa maneira, a adição dos radicais para obtenção dos derivados tiazolidínicos estudados (PBT-01, PBT-02 e PBT-03) podem justificar as diferenças na eficiência dos compostos sabendo que existe uma relação entre a atividade biológica desempenhada pela droga e a sua estrutura química (OLIVEIRA *et al.*, 2018; HUSSEIN; TURAN-ZITOUNI, 2018; AVER *et al.*, 2015; SALEHI *et al.*, 2013).

Tabela 1. Escore de motilidade dos vermes adultos de controle, tratados com praziquantel (PZQ-10 μM) ou com derivados tiazóis (PBT-01, PBT-02, PBT-03 (6,25 - 200 μM)) após 24 - 120 h de incubação.

Grupos	Porcentagem de vermes (%) nos escores de motilidade após incubação																			
	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
<i>Controle 1</i>	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)
<i>Controle 2</i>	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)	-	-	-	16 ± 0.0 (100%)
<i>PZQ</i> 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%)	-	-	-
<i>PBT-01</i>																				
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%)	-
<i>PBT-02</i>																				
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 μ M	-	-) 16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	(100%) 16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	4 \pm 1.41 (25%)	12 \pm 2.82 (75%)	-		
12.5 μ M	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	16 \pm 0.0 (100%)		
6.25 μ M	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	16 \pm 0.0 (100%)		
PBT-03																					
200 μ M	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	2 \pm 0.0 (12.5%)	14 \pm 2.82 (87.5%)	-	-	
100 μ M	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	
50 μ M	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	9 \pm 2.12 (56.25%)	7 \pm 2.82 (43.75%)	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-
25 μ M	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	--	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	9 \pm 4.24 (56.25%)	7 \pm 2.82 (43.75%)	
12.5 μ M	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	
6.25 μ M	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	

Observação:

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

Pontuação 3 = Apresenta movimentos típicos, exibindo peristaltismo dos órgãos internos, ventosas em movimento, aderindo ao fundo ou lados da placa de cultura.

Pontuação 2 = Apresenta movimentos reduzidos em todo o corpo, peristaltismo de órgãos e otários internos.

Pontuação 1 = movimentos presentes apenas nas extremidades ou apenas em uma das extremidades (regiões anteriores e/ou posteriores), com ausência de peristaltismo dos órgãos internos e não ventosas aderidos.

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

O composto PBT-02 demonstrou atividade em 24 h de incubação com 100% de mortalidade nas concentrações de 200 e 100 μM , resultados semelhantes foram alcançados pelo composto 7A estudado por Oliveira e seus colaboradores (2018). Dessa maneira, diminuimos o tempo de análise desse derivado para observação das alterações na motilidade e mortalidade dos casais adultos de *S. mansoni* nos intervalos de 3, 6, 12 e 24 h de incubação. A tabela 2 mostra os escores de motilidade e mortalidade de casais de vermes adultos de *S. mansoni* incubados em PBT-02 após 3, 6, 12 e 24 h. Após 3 h o composto PBT-02 na concentração de 200 μM causou 100% de mortalidade. Às 6 h de incubação ao PBT-02 foi observada 100% de mortalidade na concentração de 100 μM . Após 24h, na concentração de 50 μM o composto PBT-02 resultou em 81.25% dos vermes em score 1. Neste mesmo intervalo de incubação, na concentração de 25 μM houve redução nos movimentos (score 2) em 100% dos vermes. Até 24 h de experimento, as concentrações de 12.5 e 6.25 μM apresentaram comportamento semelhante ao controle (tabela 2).

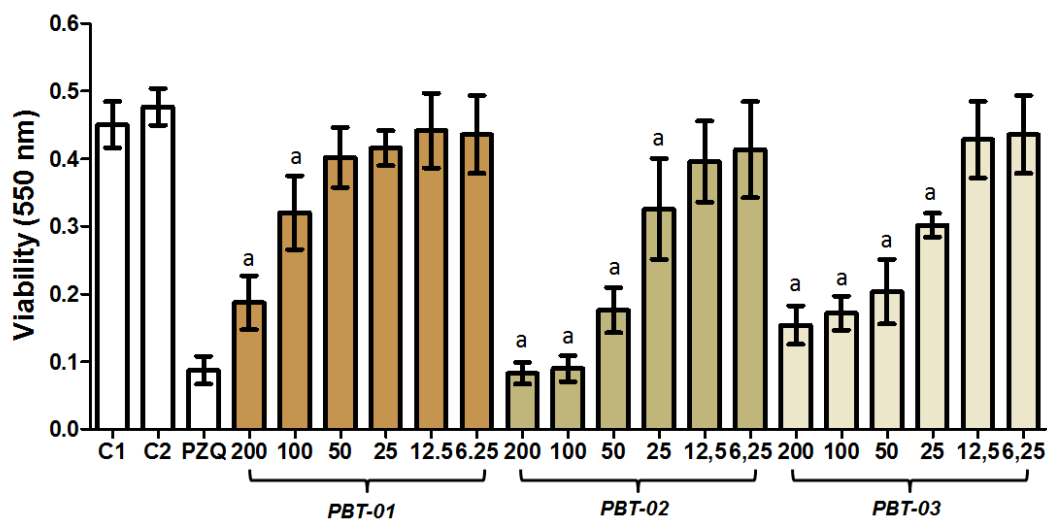
Tabela 2. Escore de motilidade dos vermes adultos, tratados com praziquantel (PZQ -10 μ M) ou com derivado tiazol (PBT-02) após 3, 6, 12 e 24 h de incubação.

Grupos	Média \pm desvio padrão (SD) e porcentagem de vermes (%) nos escores de motilidade após incubação																	
	3h			6h			12h			24h								
	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3		
Controle 1	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)		
Controle 2	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)		
PZQ	-	13 \pm 1.41 (81.25%)	3 \pm 1.41 (18.75%)	-	1 \pm 0.7 (6.25%)	15 \pm 1.41 (93.75%)	-	-	10 \pm 2.82 (62.5%)	6 \pm 2.82 (37.5%)	-	-	15 \pm 0.0 (93.75%)	1 \pm 0.7 (6.25%)	-	-		
10 μ M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
PBT-02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
200 μ M	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-		
100 μ M	14 \pm 2.82 (87.5%)	2 \pm 2.82 (12.5%)	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-		
50 μ M	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	4 \pm 1.41 (25%)	12 \pm 4.24 (75%)	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	13 \pm 1.41 (81.25%)	3 \pm 1.41 (18.75%)	-		
25 μ M	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-		
12.5 μ M	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)		
6.25 μ M	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)	-	-	-	16 \pm 0.0 (100%)		

4.2 VIABILIDADE CELULAR DE CASAIS DE *SCHISTOSOMA MANSONI*

A figura 15 mostra a viabilidade celular de casais de vermes de *S. mansoni* incubados em derivados tiazolidínicos. De acordo com a figura 15, não houve alteração da viabilidade celular de casais adultos de *S. mansoni* em C2. Por outro lado, observamos uma diferença significativa ($p < 0.001$) na redução da viabilidade celular nas concentrações de 200, 100, 50 e 25 μM para os derivados LQIT-PBT-02 e LQIT-PBT-03 quando comparadas ao grupo controle (C2) e para o derivado LQIT-PBT-01 diferença significativa ($p < 0.001$) é alcançada nas concentrações de 200 e 100 μM . Ademais, PZQ foi capaz de reduzir em 81.72% a viabilidade celular dos vermes quando comparado ao grupo controle (C2). Resultados semelhantes são alcançados para LQIT-PBT-02 nas concentrações de 200 e 100 μM e para LQIT-PBT-03 na concentração 200 μM que reduziram em 82.56 e 81.09% e 67.64%, respectivamente, a viabilidade celular dos vermes quando comparados ao controle. Essa redução destaca que LQIT-PBT-02 nas concentrações de 200 e 100 μM e para LQIT-PBT-03 na concentração 200 μM apresentam comportamento semelhante ao PZQ (figura 15).

Figura 15: Viabilidade celular de casais de *Schistosoma mansoni* tratados com Praziquantel (PZQ - 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.



a: comparação com o grupo controle C2

O tegumento do *S. mansoni* é relatado como um alvo importante para ação de compostos antiparasitários, visto que, é formado por uma bicamada lipídica que atua aumentando a área de absorção de nutrientes sendo constituída por diversas proteínas, como também foi descoberto que essas proteínas são específicas para as espécies de esquistossomos se tornando únicas envolvidas na sobrevivência do parasita (MIRANDA FILHO *et al.*, 2020; RETRA *et al.*, 2015). Dessa maneira, a membrana do *Schistosoma* também atua ajudando o parasita a se evadir do sistema imunológico do hospedeiro ao ser capaz de renovar seu tegumento, assim, se tornando um alvo promissor para a ação de novos fármacos com potencial esquistossomicida (HAMBROOK; HANINGTON, 2021).

4.3 CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS DE MACRÓFAGOS RAW.264.7, FIBROBLASTOS V79, CÉLULAS VERO E CÉLULAS HEPÁTICAS HEPG2

A análise de citotoxicidade de novos compostos é um critério primordial para garantir a segurança de candidatos a fármacos que objetivam o uso em animais, incluindo o homem (GOUVEIA *et al.*, 2022; RISS, MORAVEC; 2004). Na tabela 3, os ensaios realizados em macrófagos RAW.264.7, fibroblastos V79, células Vero e células hepáticas HepG2, respectivamente, revelaram que os três derivados analisados foram menos tóxicos que o PZQ. O derivado PBT-02, destacou-se por apresentar CC_{50} frente aos macrófagos RAW.264.7, fibroblastos V79, células Vero e células hepáticas HepG2 com os valores de $107.05 \pm 0,1$; $140.01 \pm 0,2$; $161.88 \pm 0,2$ e $>433,67$, respectivamente, tendo a maior toxicidade se comparado com os outros derivados. Entretanto, se revelou menos tóxico quando comparado com o PZQ ($89,65 \pm 0,4$), único fármaco de escolha para o tratamento e controle da esquistossomose. Adicionalmente, os outros compostos (PBT-01, PBT-03) demonstraram menor citotoxicidade alcançando $CC_{50} > 400$ para todas as linhagens celulares analisadas.

Tabela 3. Atividade citotóxica dos compostos tiazóis e do praziquantel (PZQ) em relação a macrófagos RAW.264.7, fibroblastos V79, células Vero e células hepáticas HepG2, respectivamente.

Compostos	Macrófagos RAW.264.7	Fibroblastos (V79)	Células Vero	HepG2
PBT-01	> 480	> 480	> 480	> 480
PBT-02	107.05 ± 0,1	140.01 ± 0,2	161.88 ± 0,2	>433,76
PBT-03	> 444,3	> 444,3	> 444,3	> 444,3
PZQ	89,65 ± 0,4	118,43 ± 0,3	144,04 ± 0,4	640,18 ± 0,8

As células foram incubadas por 48 h e os valores expressos em média ± desvio padrão em μM

Os tiazóis representam uma alta versatilidade sendo diretamente relacionada à sua estrutura, assim, podendo promover diferentes atividades biológicas (GUPTA; KANT, 2013; GÜMÜŞ *et al.* 2019). Na literatura são encontrados diferentes valores de CC_{50} promovido pelos tiazóis frente a diferentes células, assim como, foi demonstrado por Santos e colaboradores (2016), quando diferentes compostos tiossemicarbazonas e 1,3-tiazóis obtiveram valores de CC_{50} que variaram de 6,50 a 182,57 μM , além disso, alguns compostos não foram citotóxicos frente a células de macrófagos J774.A1. Sobre células de fibroblastos NIH-3T3, Salehi *et al.* (2017), obtiveram CC_{50} variando de 22,1 a 100 μM . Borkova *et al.* (2017) obtiveram IC_{50} de 15,7 μM a valores maiores que 50 μM para duas linhagens de fibroblastos MRC-5 e BJ. Como também, foi observado citotoxicidade de derivados ftalimido-tiazol frente a células Vero apresentando valores de CC_{50} variando de 48.8 a 883.8 μM (ALIANÇA *et al.* 2017). Ainda seguindo nesse contexto pesquisas realizadas por Alqahtani e

Bayazeed *et al.* (2021) e Gali *et al.* (2014) avaliaram derivados tiazóis sobre HepG2 e reportam valores de CC_{50} variando de 6.78 a 40.33 μM e 13.92 a 117.78 μM , respectivamente. Nesse contexto, a diferença entre a atividade citotóxica dos compostos estudados podem ser justificadas pela adição de diferente radicais a molécula de tiazol, assim como foi reportado por Salehi e colaboradores (2013) ao avaliar atividade citotóxica de derivados tiazóis.

Os resultados apresentados na Tabela 4 mostram que os compostos apresentaram valores de IC_{50} que variaram de 39,21 até 166.7 μM . A seletividade dos compostos e PZQ ao organismo alvo, *S. mansoni*, e as células de mamíferos pode ser classificados através de uma escala proposta por Debbert *et al.* (2021) e Padalino *et al.* (2021) da seguinte forma: compostos classificados como ativos são aqueles que apresentaram valores de $IC_{50} < 50 \mu\text{M}$, moderadamente ativos com valores que variaram de 51 a 100 μM e inativos os compostos que apresentaram valores maiores que 100 μM . Sendo assim, os compostos PBT-02 e PBT-03 foram considerados ativos e o composto PBT-01 considerado inativo. Todos os compostos apresentaram índice de seletividade menores que o PZQ (tabela 4), com destaque para os PBT-02 e PBT-03 que foram considerados compostos ativos e que podem ser explorados em modelos experimentais *in vivo* para avaliar sua ação esquistossomicida.

Tabela 4. Resultados de IC_{50} (inibição do crescimento em 50%) e índice de seletividade promovido pelos compostos tiazóis comparados ao praziquantel.

Composto	<i>S. mansoni</i> IC_{50}	SI ^a	SI ^b	SI ^c	SI ^d
	μM				
	IC_{50} em μM	IC_{50} μM			
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

PZQ	0.1 ± 0.01	896.5	1184.3	1440,4	6491,8
-----	------------	-------	--------	--------	--------

Índice de seletividade (SI) em relação das células de mamíferos: ^a Macrófagos RAW.264.7; ^b Fibroblastos (V79); ^c Células Vero; ^d HepG2

Os resultados do derivado PBT-01 podem ser devido à adição de nitrocomposto à cadeia e essa condição predispõe a molécula a se tornar ativa, segundo a literatura, devido a uma biorredução que torna o composto ativo, através da liberação de radicais livres que são responsáveis por aumentar o estresse oxidativo do parasito, levando à morte (PAULAI; SERRANO; TAVARES, 2009). Dessa forma, quanto maior a capacidade de liberar elétrons, mais facilidade para gerar modificações químicas e exercer seu efeito (PATRÍCIA, 2003). Após a liberação dos radicais livres e desestabilização da membrana celular, a molécula consegue penetrar através de difusão passiva, produzindo cada vez mais radicais livres e gerando mais danos ao verme (PAULAI; SERRANO; TAVARES, 2009). Por esse motivo, como observado nos trabalhos, o grupo nitro torna-se uma molécula parasitofórica, ampliando os efeitos das moléculas sobre o *Schistosoma* (OLIVEIRA *et al.*, 2004). Além disso, o radical nitro é considerado parasitofórico devido a seu auxílio na atividade antiparasitária de um grande número de derivados que contêm nitrogênio (furanos, tiofenos, tiazóis e imidazóis) (OLIVEIRA *et al.*, 2004; PAULAI *et al.*, 2009).

No composto PBT-02, houve a adição de um halogênio (cloro), esse fator de acordo com alguns trabalhos, pode ter gerado uma ampliação da atividade devido ao aumento do padrão lipofílico, garantindo uma maior facilidade para que a molécula penetre pela membrana celular dos vermes e atinja o alvo biológico, como sugerido em atividade contra *Leishmania spp.* Como também reportado contra *S. mansoni*, o aumento da permeabilidade celular da membrana do parasita resultando na ação do fármaco sobre o alvo (SILVA *et al.*, 2017; PEREIRA *et al.*, 2019). Além disso, a introdução do halogênio aumenta o potencial eletrostático que a molécula possui, o que auxilia na entrada da molécula na célula alvo (HERNANDES *et al.*, 2010). Nesse sentido, o derivado PBT-02 pela adição de um cloro, segundo a literatura, pode tornar a molécula melhor acomodada aos sítios ativos dos alvos,

devido à modulação do volume e forma, justificando a resposta nos resultados alcançados.

Quanto ao PBT-03, ele possui o halogênio Bromo em sua estrutura. Sabe-se que a lipofilidade oferecida pelos halogênios é fator crucial no processo de absorção e distribuição de um fármaco, uma vez que é necessário atravessar as membranas biológicas que formam os tecidos dos seres vivos para alcançar seu respectivo sítio de ação. Além disso, os halogênios contribuem com os efeitos eletrônicos da molécula e favorecem o aumento do grupamento onde está inserido (efeito estérico), devido ao raio atômico do Bromo (TAVARES, 2004). A presença de halogênios ajuda os grupos fenólicos a obter uma melhor atividade antimicrobiana (ZHAO *et al.*, 2016; ŁĄCZKOWSKI *et al.*, 2018). Corroborando com os resultados alcançados pelo derivado LQIT/PBT03, Almeida Júnior (2017) ao avaliar atividade esquistosomicida de derivados indol-tiossemicarbazonas concluiu que o derivado com um substituinte bromo ligado ao anel benzeno (LqIT/LT-58) foi capaz de causar mortalidade total dos vermes logo após 48 h. Adicionalmente, Oliveira e colaboradores (2015) explorando a ação contra o *S. mansoni* de derivados tiazolidinas e imidazolidinas reportam que os compostos tiazolidínicos contendo bromo causaram a morte de 100% dos vermes.

5 CONCLUSÃO

Novos derivados tiazolidínicos apresentaram ação contra o *S. mansoni*, com destaque para o derivado PBT-02 que causou alterações na motilidade e mortalidade dos vermes adultos em menor tempo de incubação. Entretanto, sua análise citotóxica não foi tão promissora quanto os demais derivados. Mostrando-se moderadamente citotóxico quando comparado ao PBT-01 e PBT-03, mas com menor citotoxicidade que o PZQ. Assim, PBT-02 pode, futuramente, ser explorado com o uso de tecnologias da química medicinal e de formulações farmacêuticas para ampliar e elucidar a ação esquistossomicida deste composto em modelo experimental *in vivo*.

REFERÊNCIAS

1. ALIANÇA, Amanda Silva *et al.* In vitro evaluation of cytotoxicity and leishmanicidal activity of phthalimido-thiazole derivatives. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, p. 1-10, 2017.
2. ALMEIDA JÚNIOR, Antônio Sérgio Alves de *et al.* Avaliação da atividade esquistossomicida e análise ultraestrutural de derivados indol-tiossemicarbazonas. 2017.
3. ALMEIDA SANTOS, Luciano Sá Teles; CARDOSO, Augusto César Costa. Internações por esquistossomose mansônica no estado da Bahia entre 2012 e 2016. **Revista Enfermagem Contemporânea**, v. 9, n. 2, p. 231-237, 2020.
4. ALVES, Josival Emanuel Ferreira *et al.* Novel indole-thiazole and indole-thiazolidinone derivatives as DNA groove binders. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 170, p. 622-635, 2021.
5. ALQAHTANI, Alaa M.; BAYAZEED, Abrar A. Synthesis and antiproliferative activity studies of new functionalized pyridine linked thiazole derivatives. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 14, n. 1, p. 102914, 2021.
6. ANDERSON, Timothy JC; ENABULELE, Egie E. Schistosoma mansoni. **Trends in parasitology**, v. 37, n. 2, p. 176-177, 2021.
7. ANZALDO, Bertin *et al.* 2-Amino-4-ferrocenylthiazole. **Acta Crystallographica Section E: Crystallographic Communications**, v. 78, n. 8, 2022.
8. ARAUJO, Hallysson *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. 105159, 2020.
9. AUGUSTO, Ronaldo de Carvalho *et al.* **Efeito da exposição de cercárias de Schistosoma mansoni ao látex de Euphorbia milii var. hislopilii no desenvolvimento das formas adultas no hospedeiro definitivo.** 2016. Tese de Doutorado.
10. AVER, Gabriela Maciel; KREUTZ, Olyr Celestino; SUYENAGA, Edna Sayuri. Métodos de obtenção de fármacos sob a óptica da química medicinal. **Revista Conhecimento Online**, v. 2, p. 63-73, 2015.
11. BARBOSA, Constança Simões *et al.* Insalubrious touristic environments and schistosomiasis transmission in Pernambuco, Brazil. **Revista Ambiente & Água**, v. 13, 2018.
12. BARBOSA, Miria de Oliveira. **Avaliação da atividade anti-Schistosoma mansoni de novos ftalimido-tiazóis.** 2018. Trabalho de Conclusão de Curso. Brasil Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal de Pernambuco.
13. BERCZYŃSKI, Paweł *et al.* Free radical scavenging activity of novel thiazolidine-2, 4-dione derivatives. **Luminescence**, v. 28, n. 6, p. 900-904, 2013.
14. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Mortalidade por esquistossomose mansoni no Brasil, de 2015 a 2019. **Boletim Epidemiológico 2022**; v. 53, n. 20, p. 30-37, 2022.
15. BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO. Secretaria de Vigilância em Saúde | **Ministério da Saúde**. Número Especial | Mar. 2021.
16. BORKOVA, Lucie e cols. Síntese e atividade citotóxica de tiazóis triterpenóides derivados de alobetulina, betulonato de metila, oleanonato de metila e ácido oleanônico. **ChemMedChem**, v. 12, n. 5, pág. 390-398, 2017.

17. CHANDRA, JN Narendra Sharath *et al.* Effect of novel arecoline thiazolidinones as muscarinic receptor 1 agonist in Alzheimer's dementia models. **Neurochemistry international**, v. 52, n. 3, p. 376-383, 2008.
18. COELHO, PMZ *et al.* Evolução de *Schistosoma mansoni* no Hospedeiro Intermediário. In: CARVALHO OS, COELHO PMZ, LENZI HL. *Schistosoma mansoni* & Esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: **Editora Fiocruz**. 2008 p. 149-160.
19. CRIBB, Danielle M. *et al.* Differential impact of mass and targeted praziquante delivery on schistosomiasis control in school-aged children: A systematic review and meta-analysis. **PLoS Negl Trop Diseases**, v. 13, n. 10, p. e0007808, 2019.
20. DEBBERT, Stefan L. *et al.* Activities of Quinoxaline, Nitroquinoxaline, and [1, 2, 4] Triazolo [4, 3-a] quinoxaline Analogs of MMV007204 against *Schistosoma mansoni*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 65, n. 3, p. e01370-20, 2021.
21. EDUCAÇÃO EM SAÚDE PARA O CONTROLE DA ESQUISTOSSOMOSE / MINISTÉRIO DA SAÚDE, SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: **Ministério da Saúde**, 2018.
22. EL-BESHBIHI, Samar N. *et al.* Destaque para o efeito in vitro do fosfato de artemisinina-naftoquina sobre *Schistosoma mansoni* e seu caramujo hospedeiro *Biomphalaria alexandrina*. **Acta tropical**, v. 141, p. 37-45, 2015.
23. GALI, Rajitha *et al.* Synthesis and in vitro cytotoxic activity of novel coumarinylimidazo [2, 1-b] thiazole derivatives. **RSC advances**, v. 4, n. 96, p. 53812-53819, 2014.
24. GOUDA, Moustafa A.; ABU-HASHEM, Ameen A. Synthesis, characterization, antioxidant and antitumor evaluation of some new thiazolidine and thiazolidinone derivatives. **Archiv der Pharmazie**, v. 344, n. 3, p. 170-177, 2011.
25. GOMES, Elaine Christine de Souza *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.
26. GOMHA, Sobhi M. *et al.* A facile synthesis and anticancer activity of some novel thiazoles carrying 1, 3, 4-thiadiazole moiety. **Chemistry Central Journal**, v. 11, p. 1-9, 2017.
27. GOUVEIA, Allana Lemos Andrade *et al.* **Atividade leishmanicida in vitro de novos derivados heterocíclicos tiazolidínicos e tiossemicarbazonas**. 2019. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco.
28. GOUVEIA, Allana LA *et al.* Thiazolidine derivatives: In vitro toxicity assessment against promastigote and amastigote forms of *Leishmania infantum* and ultrastructural study. **Experimental Parasitology**, v. 236, p. 108253, 2022.
29. GUERRA, Thamila Menezes. **Estudos de docking molecular de derivados da tiazolidina como potenciais inibidores da enzima cruzaina de trypanosoma cruz**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso. Brasil Trabalho de Conclusão de Curso – Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Universidade Federal Rural de Pernambuco.
30. GÜMÜŞ, Mehmet; YAKAN, Mehmet; KOCA, İrfan. Recent advances of thiazole hybrids in biological applications. **Future Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 16, p. 1979-1998, 2019.
31. GUPTA, Vijayta; KANT, Vinay. A review on biological activity of imidazole and thiazole moieties and their derivatives. **Sci. Int**, v. 1, n. 7, p. 253-260, 2013.

32. HABIB, Mohamed R. et al. Invasion and dispersal of *Biomphalaria* species: increased vigilance needed to prevent the introduction and spread of schistosomiasis. **Frontiers in medicine**, v. 8, p. 614797, 2021.
33. HAMBROOK, Jacob R.; HANINGTON, Patrick C. Immune evasion strategies of schistosomes. **Frontiers in immunology**, v. 11, p. 624178, 2021.
34. HERNANDES, Marcelo Z. et al. Halogen atoms in the modern medicinal chemistry: hints for the drug design. **Current drug targets**, v. 11, n. 3, p. 303-314, 2010.
35. HOFFMAN, William A.; PONS, Juan A.; JANER, José L. The sedimentation-concentration method in *schistosomiasis mansoni*. 1934.
36. HUSSEIN, Weiam; TURAN, G. Synthesis of new thiazole and thiazolyl derivatives of medicinal significant-a short review. **MOJ Biorg OrgChem**, v. 2, n. 2, p. 52-55, 2018.
37. KATZ, Naftale. Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geo-helmintos/Naftale Katz. – Belo Horizonte: CPqRR, 2018.
38. KLOHE, Katharina et al. A systematic literature review of schistosomiasis in urban and peri-urban settings. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 2, p. e0008995, 2021.
39. LAURO DA SILVA, Anekécia. **Potencial terapêutico de novos fármacos na avaliação da atividade esquistossomicida**. 2010. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.
40. ŁĄCZKOWSKI, Krzysztof Z. et al. Tiazóis com fragmento de ciclopropila como agentes antifúngicos, anticonvulsivantes e anti-Toxoplasma gondii: síntese, avaliação de toxicidade e estudo de docking molecular. **Medicinal Chemistry Research**, v. 27, n. 9, p. 2125-2140, 2018.
41. LIU, Yu et al. Design, synthesis and biological activity of thiazolidine-4-carboxylic acid derivatives as novel influenza neuraminidase inhibitors. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 19, n. 7, p. 2342-2348, 2011.
42. LO, Nathan C. et al. Review of 2022 WHO guidelines on the control and elimination of schistosomiasis. **The Lancet Infectious Diseases**, 2022.
43. LOVERDE, Philip T. et al. Rational approach to drug discovery for human schistosomiasis. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 16, p. 140-147, 2021.
44. MAIER, Theresa et al. Gene drives para o controle da transmissão da esquistossomose. **PLoS doenças tropicais negligenciadas**, v. 13, n. 12, pág. e0007833, 2019.
45. MCMANUS, Donald P. et al. Schistosomiasis—from immunopathology to vaccines. In: **Seminars in immunopathology**. Springer Berlin Heidelberg, 2020. p. 355-371.
46. MIRANDA FILHO, Carlos André Laranjeira et al. Atividades in vitro e in vivo de ftalimido-tiazóis multi-alvo na esquistossomose mansônica. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 146, p. 105236, 2020.
47. NEVES, D. P. Parasitologia Humana. 13 ed. São Paulo: **Editora Atheneu**, 2016.
48. NETO, Pedro da Silva Gerônimo et al. Praziquantel Associado a Alcaloide no Tratamento da Esquistossomose: prospecção tecnológica em uma perspectiva inovadora. **Cadernos De Prospecção**, v. 14, n. 2, p. 489-489, 2021.
49. NOGUEIRA, Ranielly Araujo et al. Praziquantel: an update on the mechanism of its action against schistosomiasis and new therapeutic perspectives. **Molecular and Biochemical Parasitology**, p. 111531, 2022.

50. OLIVEIRA BARBOSA, Miria *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.
51. OLIVEIRA FILHO, Gevanio Bezerra *et al.* Structural design, synthesis and pharmacological evaluation of thiazoles against *Trypanosoma cruzi*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 141, p. 346-361, 2017.
52. OLIVEIRA, Jamerson Ferreira *et al.* Synthesis of thiophene-thiosemicarbazone derivatives and evaluation of their in vitro and in vivo antitumor activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 104, p. 148-156, 2015.
53. OLIVEIRA, Silvânia M. *et al.* A resposta do *Schistosoma mansoni* mantido in vitro frente a derivados imidazolidinônicos. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 23, p. 343-348, 2004.
54. OLIVEIRA, Sheilla Andrade *et al.* Phthalimido-thiazole as privileged scaffold: activity against immature and adult worms of *Schistosoma mansoni*. **Parasitology Research**, v. 117, n. 7, p. 2105-2115, 2018.
55. OLIVEIRA SILVA, Lucas Emanuel; WANDERLEY, Flaviana Santos. Análise do Programa de Controle da Esquistossomose na redução dos indicadores epidemiológicos da doença no Brasil, de 1995 a 2017. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 13, p. 9-9, 2022.
56. PADALINO, Gilda *et al.* Anti-schistosomal activities of quinoxaline-containing compounds: From hit identification to lead optimisation. **European journal of medicinal chemistry**, v. 226, p. 113823, 2021.
57. PAULAI, Fávero Reisdorfer; SERRANO, Silvia Helena Pires; TAVARES, Leoberto Costa. Aspects of bioactivity and toxicity of nitrocompounds. **Química Nova**, v. 32, p. 1013-1020, 2009.
58. PAIXÃO SIQUEIRA, Lidiany *et al.* Esquistossomose: Drogas utilizadas e estratégias de tratamento. **Acta tropical**, v. 176, p. 179-187, 2017.
59. PAVIN, Natasha Frasson *et al.* Antinociceptive and anti-hypernociceptive effects of Se-phenyl thiazolidine-4-carboselenoate in mice. **European journal of pharmacology**, v. 668, n. 1-2, p. 169-176, 2011.
60. PATRÍCIA ALBUQUERQUE DE FARIAS, Maria. **Novos derivados da nitrofurazona: síntese, avaliação da toxicidade aguda e estudos das atividades antimicrobiana e antichagástica**. 2003. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.
61. PEREIRA, Adriana SA *et al.* *In vitro* activity of aryl-thiazole derivatives against *Schistosoma mansoni* schistosomula and adult worms. **PloS one**, v. 14, n. 11, p. e0225425, 2019.
62. PEREZ, Carla Cristina *et al.* A versatilidade de derivados de silício na descoberta de novos fármacos. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 4, p. 981-992, 2021.
63. RANGAPPA, S. K. *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.
64. RAWAL, Ravindra K. *et al.* Synthesis and evaluation of 2-(2, 6-dihalophenyl)-3-pyrimidinyl-1, 3-thiazolidin-4-one analogues as anti-HIV-1 agents. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 15, n. 9, p. 3134-3142, 2007.
65. REY, L. **Parasitologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 4o Ed. 2008
66. RETRA, Kim *et al.* The tegumental surface membranes of *Schistosoma mansoni* are enriched in parasite-specific phospholipid species. **International journal for parasitology**, v. 45, n. 9-10, p. 629-636, 2015.

67. RIBEIRO, Nádia *et al.* Photophysical properties and biological evaluation of a Zinc (II)-5-methyl-1H-pyrazole Schiff base complex. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 204, p. 317-327, 2018.
68. RISS, Terry L.; MORAVEC, Richard A. Use of multiple assay endpoints to investigate the effects of incubation time, dose of toxin, and plating density in cell-based cytotoxicity assays. **Assay and drug development technologies**, v. 2, n. 1, p. 51-62, 2004.
69. RODRIGUES, Milena Lima *et al.* Assessment of periportal fibrosis in Schistosomiasis mansoni patients by proton nuclear magnetic resonance-based metabonomics models. **World Journal of Hepatology**, v. 14, n. 4, p. 719, 2022.
70. RODRIGUES, Lucas Matheus de Souza. **Estudos de Docking molecular de derivados tiazóis com a BSA e como potenciais intercaladores de DNA e inibidores da topoisomerase II**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso. Brasil.
71. RODRIGUES, Carina Agostinho *et al.* 4-Phenyl-1, 3-thiazole-2-amines as scaffolds for new antileishmanial agents. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 24, 2018.
72. ROQUIS, David *et al.* The epigenome of Schistosoma mansoni provides insight about how cercariae poise transcription until infection. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 8, p. e0003853, 2015.
73. RUIZ, Fernando A. Rojas *et al.* Synthesis and antimalarial activity of new heterocyclic hybrids based on chloroquine and thiazolidinone scaffolds. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 19, n. 15, p. 4562-4573, 2011.
74. SALEHI, Marjan *et al.* Synthesis, cytotoxic evaluation and molecular docking study of 2-alkylthio-4-(2, 3, 4-trimethoxyphenyl)-5-aryl-thiazoles as tubulin polymerization inhibitors. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 21, n. 24, p. 7648-7654, 2013.
75. SALAS-CORONAS, Joaquín *et al.* Consensus document for the management of schistosomiasis in Primary Care. **Atencion Primaria**, v. 54, n. 8, p. 102408-102408, 2022.
76. SANTIAGO, Edna de Farias *et al.* Evaluation of the anti-Schistosoma mansoni activity of thiosemicarbazones and thiazoles. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 58, n. 1, p. 352-363, 2014.
77. SANTOS, Joelma Carvalho *et al.* Noninvasive diagnosis of periportal fibrosis in schistosomiasis mansoni: A comprehensive review. **World Journal of Hepatology**, v. 14, n. 4, p. 696, 2022.
78. SANTOS, Thiago André R. *et al.* Antitumor and immunomodulatory activities of thiosemicarbazones and 1, 3-Thiazoles in Jurkat and HT-29 cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 82, p. 555-560, 2016.
79. SAKHUJA, Rajeev *et al.* Design and synthesis of spiro [indole-thiazolidine] spiro [indole-pyrans] as antimicrobial agents. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 21, n. 18, p. 5465-5469, 2011.
80. SILVA, Keyla Emanuelle Ramos *et al.* Alternativas terapêuticas no combate à esquistossomose mansônica. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 1, 2012.
81. SILVA, Aline Caroline *et al.* Aryl thiosemicarbazones: In vitro and immunomodulatory activities against L. amazonensis. **Experimental Parasitology**, v. 177, p. 57-65, 2017.
82. SILVA, Luana Maria Mariz Gomes *et al.* New 1, 3-benzodioxole derivatives: synthesis, evaluation of in vitro schistosomicidal activity and ultrastructural analysis. **Chemico-Biological Interactions**, v. 283, p. 20-29, 2018.

83. SMITHERS, S. R.; TERRY, R. J. The infection of laboratory hosts with cercariae of *Schistosoma mansoni* and the recovery of the adult worms. **Parasitology**, v. 55, n. 4, p. 695-700, 1965.
84. SOUSA, Sergei Rodrigo Magalhães et al. Concordance of the point-of-care circulating cathodic antigen test for the diagnosis of intestinal schistosomiasis in a low endemicity area. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 8, p. 1-9, 2019.
85. SOUZA, Marcus Vinícius Nora de et al. Métodos de obtenção e aplicações sintéticas de tiazóis, uma importante classe de compostos heterocíclicos. **Química Nova**, v. 28, p. 78-83, 2005.
86. SOUZA, Renata Perotto de. **Estudo da dinâmica de interação e transmissão da esquistossomose mansônica: a importância do miracídio de schistosoma mansoni**. 2021. Dissertação de Mestrado. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
87. TAVARES, Leoberto Costa. QSAR: a abordagem de Hansch. **Química Nova**, v. 27, p. 631-639, 2004.
88. TEDLA, Bemnet A. et al. Vaccination with *Schistosoma mansoni* Cholinesterases reduces the parasite burden and egg viability in a mouse model of Schistosomiasis. **Vaccines**, v. 8, n.2, p. 162, 2020.
89. THOMAS, Charlotte M.; TIMSON, David J. The mechanism of action of praziquantel: can new drugs exploit similar mechanisms?. **Current Medicinal Chemistry**, v. 27, n. 5, p. 676-696, 2020.
90. TOMAŠIĆ, Tihomir et al. Novel 2-thioxothiazolidin-4-one inhibitors of bacterial MurD ligase targeting D-Glu-and diphosphate-binding sites. **European journal of medicinal chemistry**, v. 46, n. 9, p. 3964-3975, 2011.
91. TROTSKO, Nazar et al. Synthesis and in vitro anti-Toxoplasma gondii activity of novel thiazolidin-4-one derivatives. **Molecules**, v. 24, n. 17, p. 3029, 2019.
92. TURAN-ZITOUNI, Gülhan et al. Synthesis and biological evaluation of some thiazole derivatives as new cholinesterase inhibitors. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 509-514, 2013.
93. VIGILÂNCIA DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI: DIRETRIZES TÉCNICAS / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – 4. ed. – Brasília : **Ministério da Saúde**, 2014.
94. WANG, Shuobing et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel 4-thiazolidinones containing indolin-2-one moiety as potential antitumor agent. **European journal of medicinal chemistry**, v. 46, n. 8, p. 3509-3518, 2011.
95. WEERAKOON, Kosala GAD et al. Avanços no diagnóstico da esquistossomose humana. **Revisões de microbiologia clínica**, v. 28, n. 4, pág. 939-967, 2015.
96. WHO. World Health Organization. Schistosomiasis. 2023. Fact sheet number 115. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs115/en/>> Acesso em: 20 jan. 2023.
97. ZHAO, Ting et al. Defect passivation of organic–inorganic hybrid perovskites by diammonium iodide toward high-performance photovoltaic devices. **ACS Energy Letters**, v. 1, n. 4, p. 757-763, 2016.

ANEXOS

ANEXO A

Cópia do Protocolo de aprovação da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Biociências da UFPE (CEUA/UFPE)



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Av. Prof. Moraes Chaves, s/n
50670-430 / Recife - PE - Brasil
Fones: 2126 8862
ceua@ufpe.br

Recife, 30 de agosto de 2022

Ofício nº 64/22

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: Prof. **Andre de Lima Aires**
Departamento de e Medicina Tropical/ Parasitologia/CCS
Processo nº **0060/2019**

Certificamos que a proposta intitulada "**Avaliação Terapêutica de Novos Derivados Tiazólicos e Tiossemicarbazônicos Candidatos a Compostos Esquistossomicidas**", Registrado com o nº**0060/2021** sob a responsabilidade de Prof. **Andre de Lima Aires** o que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 30/08/2022

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Setembro/2019 a outubro/2024
Espécie/linhagem/raça	Camundongo heterogênico
Nº de animais	19 animais
Peso/idade	28 ± 2/ g 30 dias
Sexo	Fêmea (19)
Origem: Biotério de Criação	Biotério Keizo Asami (LIKA/UFPE)
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério Keizo Asami (LIKA/UFPE)

Atenciosamente
Isvânia M. Serafim S. Lopes
Vice-presidente CEUA

 Dra. Isvânia M. Serafim S. Lopes
Professora Adjunta
Departamento de Biofísica e Radiobiologia
Universidade Federal de Pernambuco
SIAPE: 1903075