

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE FARMÁCIA**

Mayara Larissa Melo Ferreira dos Santos

**Sanguinarina: Predição *in silico* dos parâmetros farmacocinéticos (ADMET)
e avaliação esquistossomicida *in vitro* sobre diferentes estágios do
*Schistosoma mansoni***

**RECIFE
2024**

Mayara Larissa Melo Ferreira dos Santos

**Sanguinarina: Predição *in silico* dos parâmetros farmacocinéticos (ADMET)
e avaliação esquistosomicida *in vitro* sobre diferentes estágios do
*Schistosoma mansoni***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento de Ciências
Farmacêuticas – UFPE, como parte dos
requisitos para a obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. André de Lima Aires
Coorientador: Dr. Hallysson Douglas
Andrade de Araújo.

RECIFE

2024

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

Santos, Mayara Larissa Melo Ferreira dos.

Sanguinarina: Predição in sílico dos parâmetros farmacocinéticos (ADMET) e avaliação esquistossomicida in vitro sobre diferentes estágios do *Schistosoma mansoni* / Mayara Larissa Melo Ferreira dos Santos. - Recife, 2024.

65p. : il., tab.

Orientador(a): André de Lima Aires

Coorientador(a): Hallysson Douglas Andrade de Araújo

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Farmácia - Bacharelado, 2024.

Inclui referências.

1. Sanguinarina. 2. ADMET. 3. Avaliação esquistossomicida. 4. *Schistosoma mansoni*. 5. Esquistossomose. I. Aires, André de Lima. (Orientação). II. Araújo, Hallysson Douglas Andrade de. (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

Mayara Larissa Melo Ferreira dos Santos

**Sanguinarina: Predição *in silico* dos parâmetros farmacocinéticos (ADMET)
e avaliação esquistossomicida *in vitro* sobre diferentes estágios do
*Schistosoma mansoni***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento de Ciências
Farmacêuticas – UFPE, como parte dos
requisitos para a obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.

Aprovada em: 01/02/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. André de Lima Aires
(Orientador)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dra. Betânia Lucena Domingues Hatzlhofer
(Presidente da banca e examinador interno)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dra. Mary Ângela Aranda de Souza
(Examinador externo)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque
(Suplente)

Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho aos meus pais, Dalcene e Juarez, que durante toda a graduação – e durante a vida – foram minha base, minha motivação e o meu lugar seguro. À minha irmã e parceira mais fiel, Mayra — meu raio de sol, você nunca estará sozinha. Ao meu companheiro da vida, Hamilton, que é o meu apoio e cuidado há tantos anos. Dedico também aos meus familiares, que tanto torceram por mim e me encorajaram a continuar. Aos meus amigos, da universidade e fora dela, com quem eu dividi as dores e alegrias durante o caminho até chegar aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus pelo cuidado, proteção e força. Posso sentir que fui guiada e amada por Ele durante toda minha trajetória na graduação, e na vida. Seus caminhos sempre foram mais altos que os meus caminhos, e seus pensamentos mais altos que os meus pensamentos. Obrigada, meu Deus, por não ter me deixado sozinha, nem desistir em nenhum momento, mesmo que difícil.

Agradeço aos meus pais, Dilcene e Juarez, por terem sido a representação mais fiel do amor de Deus por mim. Obrigada por terem me proporcionado tudo que estivesse ao alcance de vocês para que eu pudesse estudar. Hoje, posso dizer que deu certo. Eu consegui, ou melhor, conseguimos! Vocês são a minha maior motivação.

Agradeço a melhor amiga que alguém poderia ter, a minha irmã Mayra. Obrigada por tanto amor e tanta parceria. Você é minha dádiva, meu raio de sol, minha certeza de alegria. Obrigada, por ter aliviado o peso dos dias com esse seu jeito engraçado de ser.

Agradeço ao meu amigo e namorado, Hamilton, por todos os momentos em que você se colocou disposto a me ouvir, acolher, me dar seu amor, além de sempre tentar me mostrar o lado bom das coisas. Obrigada por sempre me encorajar a continuar, meu amor, com certeza essa vitória é sua também.

Agradeço a minha vó, Antoniêta, e às minhas tias, tios e primos por sempre acreditar e torcer por mim. Lembro com carinho que meu primeiro caderno da graduação foi dado pela minha prima Alana, minuciosidades da vida que guardo com carinho e gratidão.

Agradeço aos meus sogros e cunhado, Ana Paula, Hamilton e Ailton, por sempre me encorajar a realizar meus sonhos.

Agradeço ao meu orientador, André Aires, por toda contribuição na minha formação. Com certeza, é um profissional no qual me inspiro. Durante tanto tempo de pesquisa, me diverti até nos dias mais atarefados, porque o seu humor, carisma e positividade tornavam o dia mais leve. Obrigada pelos ensinamentos em parasitologia e na responsabilidade de fazer pesquisa em doenças negligenciadas.

Agradeço a mestranda, Débora, que me acompanhou durante minha primeira iniciação científica. Tenho um grande carinho por você. Agradeço também a Stéphanhy, minha segunda mestranda no laboratório, com quem pude dividir o dia a

dia na pesquisa e as noites de experimento no laboratório. Obrigada pela amizade, pelos ensinamentos e pelos momentos felizes que passamos mesmo quando estávamos em meio ao caos.

Agradeço à professora Mônica, por todo apoio e conselhos. Obrigada pela compreensão em um dos momentos mais difíceis que passei na graduação. Agradeço ao PET Parasitologia, nele pude desenvolver habilidades para me tornar uma estudante e profissional melhor. Agradeço a dona Márcia, técnica do departamento de parasitologia, que sempre estava disposta a ajudar.

Agradeço a Joseane Seabra, farmacêutica e preceptora do meu estágio em drogaria, a quem eu guardo profundo carinho e respeito. É um exemplo de profissional competente e comprometida com a saúde das pessoas. Agradeço a Elcione e aos farmacêuticos plantonistas da Policlínica Arnaldo Marques que me receberam e não mediram esforços para me ensinar as funções da profissão.

Agradeço a Manu, pelo amor e amizade, juntas passamos por muitos momentos divertidos e memoráveis, e dividimos as dores que vieram pelo caminho.

Agradeço a Vinícius, meu amigo de sala e de “busão”, obrigada por ter sido uma companhia tão boa, por ser um amigo tão alto astral, inteligente e parceiro.

Agradeço a Karina, amiga seu jeito divertido, suas histórias e sua amizade fizeram meus dias mais felizes.

Agradeço a Maurício, meu amigo que foi para longe seguir o sonho de ser médico, fui muito feliz nos momentos em que estivemos juntos e senti muita saudade de você nos meus dias.

Agradeço a Rayane, pela companhia nos estudos e por tantos momentos legais que passamos juntas. Torço para que você realize o seu sonho.

Agradeço a Guilherme, seu humor ácido me arrancou muitas risadas, obrigada pela colaboração nos estudos e pela companhia todos esses anos.

Agradeço a Walker, meu amigo que me intitulou de “defensora pública”, mas na verdade ele que é o defensor ferrenho de suas amigadas. Admiro sua força e correria para realizar seus sonhos.

Agradeço a Léa, que foi minha parceira no estágio de manipulação, e é uma pessoa tão amável e doce. Pudemos nos apoiar uma na outra e atravessar os dias com mais leveza. A João Marcos, por ser um amigo sempre disposto a ajudar, inteligente, otimista e por dividir comigo o processo de estudos para a residência, sempre me lembrando que daria certo mesmo quando nem ele acreditava tanto assim.

A Mariana, obrigada por ser uma pessoa tão boa e por disponibilizar seu tempo para ajudar e ensinar algum assunto que eu não entendia. Agradeço a Áquila, uma amiga querida, que compartilhou comigo muitos momentos alegres e foi minha parceira no estágio em Farmácia hospitalar.

Agradeço a Kakaio e a Azael, amigos inteligentíssimos, que me ajudaram muito durante o início da graduação.

Agradeço aos profissionais e preceptores no estágio de análises clínicas, no Hospital das Clínicas UFPE. E, também agradeço aos meus colegas de estágio que dividiram a rotina e o aprendizado comigo, vocês tornaram as manhãs divertidas e o fim da graduação muito mais leve.

Agradeço a todos os meus amigos que não são da graduação, aos meus amigos de infância, de colégio e da vida, de alguma forma, vocês também são responsáveis pela minha conquista.

Agradeço aos professores do Departamento de Ciências Farmacêuticas: Betania Hatzlhofer, Rosali Silva, Danielle Macêdo, Ana Beatriz Sotero, Rodolfo Faria, Beate Saegesser, Danielle Santana, Fernando Malagueño, Jane Higino, Marina Barbosa, Monica Felts, José Lamartine, Ricardo Brandão, José Pedro Rolim, Silvana Maggi, Marcelo Rabello, Elba Lúcia e Valdênia Maria; em muitas de suas aulas pude descobrir um pouco da profissional que quero ser. Agradeço a professora Sueli Monte, através de você conheci a Atenção Farmacêutica e a Farmácia Clínica, suas aulas me incentivaram a ser uma profissional com mais empatia, a ver com amor e cuidado a demanda do paciente, sem deixar de lado o pensamento crítico e condutas baseadas em evidências científicas.

Agradeço à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) e ao Instituto Keizo Asami (LIKA).

Agradeço a Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), aos profissionais que resistem e lutam todos os dias por uma universidade pública de qualidade e inclusiva. Agradeço, sobretudo, às políticas públicas de permanência, sem as quais eu dificilmente teria continuado o curso.

Gratidão imensa por todos que cruzaram o meu caminho durante os cinco anos mais intensos da minha vida!

RESUMO

A esquistossomose mansoni é uma parasitose crônica causada pelo verme trematódeo sanguíneo *Schistosoma mansoni*, a qual representa grande preocupação na saúde pública mundial. Atualmente, Praziquantel (PZQ) é a única estratégia farmacológica utilizada no tratamento e controle da esquistossomose. No entanto, PZQ não previne a reinfecção, não atua sobre os estágios imaturos do verme e a emergência de resistência ao fármaco preocupa as comunidades médicas e de pesquisa na busca por novos compostos esquistossomicidas. Sanguinarina (SA) é uma molécula com promissora atividade antiparasitária contra protozoários e helmintos. Tradicionalmente, a pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos apresenta elevado custo de produção e tempo. Por isso, nos últimos anos pesquisas tem investido no reposicionamento de moléculas contra novos alvos terapêuticos, além de utilizar a predição *in silico* da farmacocinética como ferramenta para auxiliar os pesquisadores na tomada de decisões, economia de tempo e redução de custos. O objetivo deste trabalho foi avaliar *in silico* os parâmetros farmacocinéticos (ADMET) e *in vitro* a atividade esquistossomicida da SA sobre diferentes estágios do *S. mansoni*. Parâmetros ADMET e biodisponibilidade oral foram avaliados por meio das plataformas PkCSM e SwissADME, respectivamente. A atividade de SA *in vitro*, nas concentrações de 1.0 – 25 µM, foi analisada por meio dos parâmetros de motilidade e mortalidade, e viabilidade celular dos vermes em intervalos de 3 – 24h. Para o ensaio *in vitro*, cercarias de *S. mansoni* foram mecanicamente transformadas em esquistossômulos e camundongos foram infectados com cercarias para a recuperação, por perfusão do sistema porta hepático, de vermes jovens e casais adultos no 21^o e no 45^o dia de infecção, respectivamente. Os critérios utilizados para avaliar a atividade esquistossomicida foram a taxa de mortalidade, escore de motilidade e viabilidade celular, determinada pelo ensaio de citotoxicidade utilizando 3-(4,5-dimetiltiazolidínicos-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT). *In silico*, SA demonstrou perfil ADMET e biodisponibilidade oral adequados. *In vitro*, SA mostrou atividade esquistossomicida contra esquistossômulos, vermes jovens e casais de vermes adultos, com mortalidade total e redução da viabilidade celular em baixas concentrações e tempo de incubação. Os achados deste trabalho demonstraram o potencial terapêutico de SA e corroboram com a busca internacional por moléculas esquistossomicidas.

ABSTRACT

Schistosomiasis mansoni is a chronic parasitic disease caused by the blood trematode worm *Schistosoma mansoni*, which represents a major concern in global public health. Currently, Praziquantel (PZQ) is the only pharmacological strategy used in the treatment and control of schistosomiasis. However, PZQ does not prevent reinfection, does not act on the immature stages of the worm and the emergence of resistance to the drug worries the medical and research communities in the search for new schistosomicidal compounds. Sanguinarine (SA) is a molecule with promising antiparasitic activity against protozoa and helminths. Traditionally, the research and development of new drugs involves high production costs and time. Therefore, in recent years, research has invested in repositioning molecules against new therapeutic targets, in addition to using *in silico* prediction of pharmacokinetics as a tool to assist researchers in decision-making, saving time and reducing costs. The objective of this study was to evaluate *in silico* the pharmacokinetic parameters (ADMET) and *in vitro* the schistosomicidal activity of SA on different stages of *S. mansoni*. ADMET parameters and oral bioavailability were evaluated using the PkCSM and SwissADME platforms, respectively. SA activity *in vitro*, at concentrations of 1.0 – 25 μM , was analyzed using motility and mortality parameters, and cell viability of the worms at intervals of 3 – 24h. For the *in vitro* assay, *S. mansoni* cercariae were mechanically transformed into schistosomula, and mice were infected with cercariae to recover, by perfusion of the hepatic portal system, young worms and adult couples on the 21st and 45th day of infection, respectively. The criteria used to evaluate schistosomicidal activity were the mortality rate, motility score and cell viability, determined by the cytotoxicity assay using 3-(4,5-dimethylthiazolidinic-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium (MTT). *In silico*, SA demonstrated adequate ADMET profile and oral bioavailability. *In vitro*, SA showed schistosomicidal activity against schistosomula, young worms and adult worm couples, with total mortality and reduced cell viability at low concentrations and incubation time. The findings of this work demonstrated the therapeutic potential of SA and corroborate the international search for schistosomicidal molecules.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição geográfica das principais espécies de <i>Schistosoma</i> spp.....	16
Figura 2 - Expansão da esquistossomose no Brasil.....	18
Figura 3 - Ciclo de vida e formas evolutivas de <i>S. mansoni</i>	23
Figura 4 - Vermes adultos macho e fêmea	25
Figura 5 - Formas evolutivas de <i>S. mansoni</i>	27
Figura 6 - Estrutura química dos enantiômeros R-Praziquantel e S-Praziquantel.....	28
Figura 7 - Estrutura química de Sanguinarina	33
Figura 8 - Radar de biodisponibilidade de Sanguinarina (A) e Praziquantel (B)	42
Figura 9 – Efeitos in vitro causados por SA na viabilidade celular de vermes jovens (A) e vermes adultos (B)	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros ADMET e avaliação da biodisponibilidade oral de Sanguinarina (SA) e Praziquantel (PZQ).....	46
Tabela 2 - Escores de motilidade de esquistossômulos tratados com Praziquantel (PZQ) ou com Sanguinarina (SA) após 3, 6, 12 e 24 horas de incubação.....	49
Tabela 3 - Escores de motilidade dos vermes jovens controle, tratados com Praziquantel (PZQ – 10 µM) ou com Sanguinarina (SA - 7.5 µM a 1.0 µM) após 3, 6, 12 e 24h de incubação	50
Tabela 4 - Escores de motilidade de vermes adultos, tratados com Praziquantel (PZQ) ou com Sanguinarina (SA) após 3, 6, 12, e 24 horas de incubação.....	51

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
2.1	EPIDEMIOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE	15
2.2	BIOLOGIA DE <i>S. mansoni</i>	24
2.3	CICLO DE VIDA DE <i>S. mansoni</i> E DESENVOLVIMENTO NO HOSPEDEIRO DEFINITIVO	21
2.4	FARMACOTERAPIA DA ESQUISTOSSOMOSE	27
2.4.1	ALCALOIDES	31
2.4.2	SANGUINARINA	32
2.5	PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS <i>in sílico</i> E BIODISPONIBILIDADE ORAL 34	
3	OBJETIVOS.....	37
3.1	OBJETIVO GERAL.....	37
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	37
4	METODOLOGIA	38
4.1	DROGAS E REAGENTES.....	38
4.2	PREDIÇÃO DAS PROPRIEDADES ADMET E BIODISPONIBILIDADE ORAL <i>in sílico</i> PARA SA.....	38
4.3	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS, ANIMAIS E INFECÇÃO EXPERIMENTAL.....	38
4.4	AVALIAÇÃO ESQUISTOSSOMICIDA <i>in vitro</i>	39
4.4.1	OBTENÇÃO DE CERCARIAS DE <i>S. mansoni</i> , TRANSFORMAÇÃO MECÂNICA EM ESQUISTOSSÔMULOS E AVALIAÇÃO ESQUISTOSSOMICIDA <i>in vitro</i> DA SANGUINARINA CONTRA ESQUISTOSSÔMULOS.....	39
4.4.2	AVALIAÇÃO ESQUISTOSSOMICIDA <i>in vitro</i> DA SANGUINARINA CONTRA VERMES JOVENS E CASAIS DE VERMES ADULTOS	39
4.4.3	CRITÉRIOS ESQUISTOSSOMICIDAS <i>in vitro</i>	40
4.5	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	41
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1	SA APRESENTA PARÂMETROS ADMET PROMISSORES E BIODISPONIBILIDADE ORAL ADEQUADA.....	42
5.2	<i>In vitro</i> , SA DEMONSTROU AÇÃO ESQUISTOSSOMICIDA COM DESTAQUE CONTRA ESQUISTOSSÔMULOS, VERMES JOVENS E CASAIS DE VERMES ADULTOS DE <i>S. mansoni</i>	47
5.3	SA REDUZIU A VIABILIDADE CELULAR DE VERMES JOVENS E CASAIS DE VERMES ADULTOS DE <i>S. mansoni</i>	52
6	CONCLUSÃO	55
	REFERÊNCIAS	56

1 INTRODUÇÃO

Dentre as doenças tropicais negligenciadas, a esquistossomose representa um grave problema de saúde pública mundial. Notificada em 78 países, estima-se que 236 milhões de pessoas estão infectadas e mais de 775 milhões vivem sob o risco de infecção (WHO, 2023). É causada pelos vermes trematódeos sanguíneos do gênero *Schistosoma* spp. endêmicos, especialmente, em áreas tropicais e subtropicais com baixos índices de desenvolvimento social e econômico (Klohe *et al.*, 2021). Além dos determinantes sócio-ambientais que favorecem a disseminação da doença, são escassos os investimentos do setor industrial para a busca de novas alternativas terapêuticas (Aruleba *et al.*, 2019).

As principais espécies para a saúde humana são *Schistosoma mansoni*, *S. japonicum*, e *S. haematobium*, sendo *S. mansoni* a espécie com maior prevalência em países das Américas, incluindo o Brasil. A manutenção da transmissão se deve a presença dos hospedeiros intermediários, moluscos das espécies *Biomphalaria glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea*, sendo *B. glabrata* a espécie nativa e mais encontrada no Brasil (Carvalho *et al.*, 2018).

É estimado que 1,5 milhões de indivíduos estão infectados em 18 estados brasileiros, com casos concentrados na região Nordeste em áreas costeiras e no trajeto de bacias hidrográficas (Barreto; Lobo, 2021; Dubeux *et al.*, 2019; Katz, 2018). Pernambuco tem uma das maiores taxas de óbito por esquistossomose no Brasil, e 102 municípios são considerados endêmicos, especialmente cidades da Zona da Mata e litoral, incluindo a região Metropolitana do Recife (De Araújo Soares *et al.*, 2019; WHO, 2022).

A patogenia da esquistossomose mansoni envolve o comprometimento hepatoesplênico e gastrointestinal associado a migração e desenvolvimento dos vermes e da postura dos ovos. As modificações hemodinâmicas e bioquímicas do fígado e intestino, inflamação granulomatosa hepática e intestinal, hipertensão portal, hepatoesplenomegalia, varizes esofágicas e fibrose são resultantes, principalmente, do acúmulo de antígenos solúveis dos ovos (SEA) nos tecidos (Gryssels, 2012; Aboueldahab; Elhussieny, 2016).

Atualmente, o Praziquantel (PZQ) é a única estratégia farmacológica para diminuir a prevalência e incidência da esquistossomose. É considerado seguro e efetivo, mas não previne contra novas infecções, contra reações granulomatosas que

envolvem a patogenia da doença e não atua sobre formas imaturas do verme. Os relatos de resistência e/ou tolerância de cepas de *Schistosoma* ao PZQ preocupam a comunidade científica quanto a urgência de buscar novas moléculas candidatas esquistossomicidas (Zhang; Coultas, 2013; Aboueldahab; Elhussieny, 2016; Metwaly *et al.*, 2020).

Produtos naturais representam possíveis alternativas farmacológicas, com perfil de atividade melhorado e maior espectro de ação contra diferentes estágios evolutivos. Dentre produtos provenientes do metabolismo vegetal estão os alcaloides, um grupo heterogêneo de compostos derivados do metabolismo secundário das plantas com diferentes estruturas e diversas funções (Gryssels, 2012; McManus *et al.*, 2018; WHO, 2022).

Sanguinarina (SA) [13-metil(1,3)benzodioxol(5,6-c)1,3-dioxolano(4,5-l)fenantridínio] é um alcaloide encontrado nas espécies de plantas da família Papaveraceae. O efeito parasitário da sanguinarina foi visto contra parasitas de importância médica e veterinária, tais como *Dactylogyrus intermedius* (Wang *et al.*, 2010), *Trichinella spiralis* (Huang *et al.*, 2020), *Ichthyophthirius multifiliis* (Yao *et al.*, 2010), *Trypanosoma brucei* e *T. congolense* (Merschjohann *et al.*, 2001), *Leishmania mexicana* (Escalona-Montaña *et al.*, 2021) e contra vermes adultos e cercárias de *S. mansoni* (Zhang; Coultas, 2013).

Na busca por novos candidatos a fármaco, ferramentas de predição farmacocinética são úteis para orientar os esforços da pesquisa, a tomada de decisões, economizar tempo e reduzir os custos (Gupta *et al.*, 2021). Além disso, podem ser utilizadas para definir a dosagem adequada durante os ensaios clínicos de segurança e eficácia em humanos, reduzindo o número de moléculas que são reprovadas nestas etapas (Pires; Blundell; Ascher, 2015; Urso; Blardi; Giorgi, 2002). O objetivo desse trabalho é avaliar, *in silico*, os parâmetros farmacocinéticos e a atividade esquistossomicida, *in vitro*, da sanguinarina sobre diferentes estágios do *S. mansoni*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 EPIDEMIOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE

Doenças Tropicais Negligenciadas (DTN) são um grupo de doenças e agravos predominantes em áreas tropicais e subtropicais do planeta, que acometem populações com baixo poder socioeconômico e político, sendo importantes causas de morbimortalidade mundial, causadoras de estigma e discriminação (Bodimeade; Marks; Mabey, 2019; Engels; Zhou, 2020).

Considerada uma DTN, a esquistossomose é uma parasitose crônica causada por vermes trematódeos sanguíneos do gênero *Schistosoma* spp. A Organização Mundial da Saúde (OMS) considera a esquistossomose como uma das DTNs de maior preocupação na saúde pública mundial e importância de erradicação. É endêmica em 78 países, com mais de 236 milhões de pessoas infectadas e mais de 775 milhões em áreas com elevado risco de infecção (WHO, 2023).

A primeira menção ao verme do gênero *Schistosoma* ocorreu no Egito em 1851, quando o médico e parasitologista alemão Theodor Maximilian Bilharz descreveu a presença de um organismo longo e branco em sangue proveniente da veia porta de um jovem, durante autópsia (Bilharz, 1853 *apud* Di Bella, 2018). Além disso, também relatou ovos com espícula terminal nas fezes de outros indivíduos (Tan, 2007). Nomeou o novo organismo como *Distomum (Schistosoma) haematobium* (Coon, 2005). Mais tarde, em 1902, o médico escocês Patrick Manson reportou a presença de ovos com espícula lateral nas fezes de um paciente que residiu na região das ilhas do Caribe (Manson, 1902). Baseado nos relatos de Manson, Louis Westenra Sambon, médico italiano que atuou na Escola de Medicina Tropical de Londres, sugeriu tratar-se de uma nova espécie e nomeou de *Schistosoma mansoni*, em homenagem a Patrick Manson (Coon, 2005; Katz, 2008).

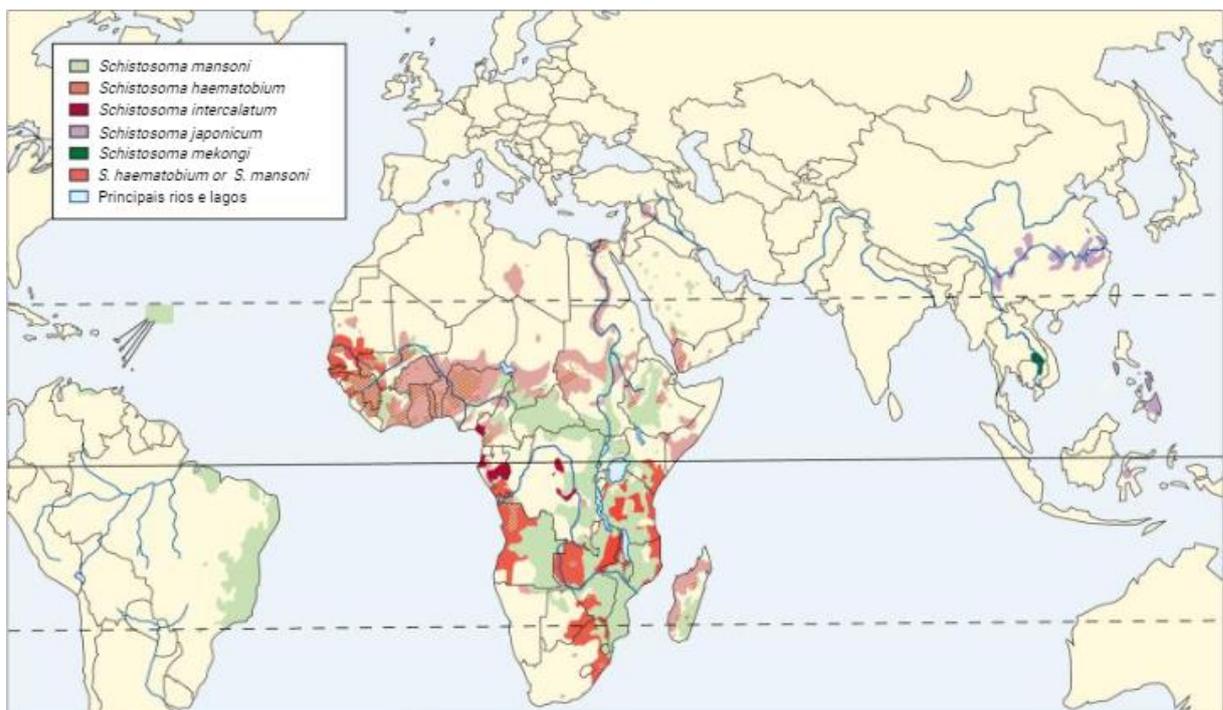
Das 16 espécies conhecidas de *Schistosoma* que infectam homens e animais, seis são capazes de causar morbidades de relevância médica e epidemiológica, sendo estas: *S. mansoni*, *S. japonicum*, *S. mekongi*, *S. guineensis*, *S. intercalatum* e *S. haematobium* (Barreto; Lobo, 2021). A distribuição geográfica das espécies é ampla em áreas de baixo desenvolvimento social e econômico, marcadas pela desigualdade, falta de saneamento básico e difícil acesso a água potável e serviços de saúde (Santos; Heller, 2023). Além disso, as características ambientais como o clima, presença de água fresca viável para a manutenção do ciclo biológico do verme,

presença do hospedeiro intermediário e proximidade da população a corpos de água contaminada contribuem para a manutenção da transmissão (McManus et al., 2018)

S. haematobium é a espécie mais comum na África Subsaariana e Oriente Médio. No Japão, no fim dos anos 1970, investimentos em ações de controle levaram a eliminação de *S. japonicum*, entretanto, ainda é uma espécie endêmica na China, Filipinas, e com focos de transmissão na Indonésia. *S. mansoni* é uma espécie endêmica na África Subsaariana, Brasil, Ilhas do Caribe, Porto Rico, Suriname e Venezuela. As outras espécies, *S. guineensis* e *S. intercalatum*, são de menor prevalência global, com maioria dos casos reportados na África Ocidental e África Central. *S. mekongi* restringe-se ao sul do Camboja e regiões ao longo do rio Mekong na República do Laos (Katz, 2018) (Figura 1).

S. guineensis, *S. intercalatum*, *S. haematobium* e *S. mansoni* infectam principalmente os seres humanos. *S. mansoni* também pode afetar roedores e primatas não-humanos, embora a relevância da transmissão zoonótica para a infecção humana não esteja bem esclarecida. Por outro lado, *S. japonicum* e *S. mekongi* são espécies altamente zoonóticas, relacionadas à transmissão entre humanos e animais (Neves, 2016).

Figura 1 - Distribuição geográfica das principais espécies de *Schistosoma spp*



Fonte: adaptado de Gryseels et al. (2012)

Esquistossomose intestinal e urogenital são as duas principais manifestações da doença, sendo *S. mansoni*, *S. japonicum*, *S. mekongi*, *S. guineensis* e *S. intercalatum* causadores da forma intestinal e *S. haematobium* o agente responsável pela esquistossomose urogenital (Gryseels *et al.*, 2015).

Nas Américas do Sul e Central, *Schistosoma mansoni* é a espécie mais prevalente e estima-se que no Brasil há mais de 1,5 milhões de infectados distribuídos em 18 estados brasileiros, com casos concentrados em áreas costeiras e bacias hidrográficas da região Nordeste (Dubeux *et al.*, 2019; Katz, 2018). Essas áreas proporcionam condições propícias ao desenvolvimento de moluscos do gênero *Biomphalaria* spp., hospedeiros intermediários do helminto. Destacam-se três espécies principais, a *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea*, sendo o *B. glabrata* a espécie nativa, e mais encontrada no Brasil (Barreto; Lobo, 2021).

A introdução da esquistossomose no Brasil se deu por meio do comércio de escravos, oriundos da costa ocidental do continente africano, para trabalhar nas lavouras de açúcar. O desembarque realizado, principalmente, nos portos de Recife e Salvador deu início a transmissão da doença entre os estados do nordeste brasileiro. Com o declínio da produção açucareira e início do ciclo do ouro e diamantes, no século XVIII, a doença foi disseminada pelo intenso fluxo migratório para outras regiões do país, com focos endêmicos em Minas gerais e Paraná (Figura 2) (Brasil, 2014).

É esperado que o percentual de positividade nacional para esquistossomose esteja abaixo de 5%. Dados do último boletim epidemiológico apontam redução de 4,7% em 2010 para 3,6% em 2021. Entretanto, é válido destacar que a população de estudo diminuiu consideravelmente nos últimos anos, especialmente em 2020. Ademais, apesar da média nacional estar dentro da meta esperada, quando investigado por localidades o percentual de positividade ainda apresenta médias ($\geq 5\%$ e $< 25\%$) e altas ($\geq 25\%$) positivities, sobretudo em localidades da região nordeste (Brasil, 2022a).

Entre 2010 e 2022, foram registradas 2.389 internações por esquistossomose, e apesar da diminuição no número de pacientes com formas hepatoesplênicas graves, a taxa de mortalidade exibe pouca variação, reduzindo de 0,26/100.000, que representa 514 óbitos para cada cem mil habitantes em 2010, para uma taxa de 0,23/100.000 (482) em 2022 (Brasil, 2022a). No período citado, foram registrados 6.130 óbitos, com uma média anual de 472. Esses dados indicam limitações nas ações de controle da doença no país (Da Paz *et al.*, 2021).

Pernambuco tem 102 municípios considerados endêmicos, especialmente cidades da Zona da Mata e litoral, incluindo a região Metropolitana do Recife (De Araújo Soares *et al.*, 2019). É detentor da maior taxa de óbito por esquistossomose no Brasil, com 809 óbitos (taxa de 8,85/100.000) no período de 2010-2014, e 495 óbitos (taxa de 5,10/100.000) em 2019-2022 (Brasil, 2022b). Historicamente, no estado, a infecção humana por *S. mansoni* esteve ligada ao contexto rural, devido às condições propícias para transmissão, como o contato com água de rios durante atividades de pesca e agricultura (Coutinho *et al.*, 1997).

A ocorrência urbana de esquistossomose relaciona-se com a migração de pessoas infectadas da zona rural para os centros urbanos em busca de trabalho e melhores condições de vida. A presença e adaptação do vetor da doença ao desenvolvimento urbano, sobretudo ao crescimento desordenado e sem condições sanitárias adequadas, favorece o estabelecimento da transmissão nos grandes centros (Barbosa *et al.*, 2015; Gomes *et al.*, 2022).

Porto de Galinhas, em Pernambuco, é considerada um dos destinos turísticos mais procurados do Brasil. A ocupação do espaço nesta localidade se deu por intensas construções do ramo hoteleiro e gastronômico privilegiando a região costeira por seus atributos paisagísticos naturais, enquanto espaços periféricos de intenso povoamento se formaram sem infraestrutura sanitária adequada favorecendo a formação de focos de caramujos vetores da esquistossomose (*B. glabrata* e *B. straminea*) (Barbosa *et al.*, 2015). A falta de esgotamento sanitário na região periférica aos centros turísticos relaciona-se com deficiência de escoamento da água proveniente da chuva e do mar, favorecendo a ocorrência de alagamentos (Gomes *et al.*, 2022). No ano 2000, 662 casos da doença foram registrados em Porto de Galinhas após enchente do rio Ipojuca, causada por fortes chuvas, que deslocou caramujos contaminados por *S. mansoni* para ruas e residências (Barbosa *et al.*, 2001). A prevalência da doença nessa região diminuiu ao longo dos anos, entretanto continua a ser uma área endêmica, na qual a estação chuvosa tem direta relação com o aumento de casos (Oliveira *et al.*, 2013).

Em 2011, o governo estadual de Pernambuco priorizou o combate e controle da esquistossomose mansônica, através de ações estratégicas do Programa SANAR (Programa de Enfrentamento às Doenças Negligenciadas do Estado de Pernambuco). Dentre as condutas, foi realizado o tratamento coletivo em regiões hiperendêmicas, bem como o treinamento de profissionais e adequação laboratorial para aumentar a

capacidade de realização de exames, a fim de estimular a vigilância ativa (Pernambuco, 2013). No entanto, as repercussões dessas ações ainda precisam ser melhor avaliadas pois, apesar dos esforços, a esquistossomose em Pernambuco continua a ser uma importante causa de mortalidade e um grave problema para a saúde pública do estado (Brasil, 2022b).

2.2 CICLO DE VIDA DE *S. mansoni* E DESENVOLVIMENTO NO HOSPEDEIRO DEFINITIVO

S. mansoni é um verme com ciclo de vida do tipo heteroxênico, ou seja, possui fase assexuada e sexuada de reprodução (figura 3) (Souza *et al.*, 2011). Os casais de vermes adultos localizam-se, principalmente, nos ramos da veia porta e vasos mesentéricos, onde ocorre a reprodução sexuada. Após a cópula, as fêmeas realizam a postura de ovos, ainda imaturos, nas vênulas da submucosa intestinal (Lenzi *et al.*, 2008). Após a maturação, os ovos alcançam o lúmen intestinal, sendo uma parte liberada no ambiente externo por meio das fezes do hospedeiro, enquanto outra parte é embolizada até o fígado e intestino, acumulando-se nesses tecidos (Islam *et al.*, 2019; Rocha, 2018;).

Dos ovos maduros que alcançam a água, eclode o miracídio. Condições ambientais como temperatura (28° C), luminosidade, nível de oxigenação e baixa osmolaridade da água são aspectos relevantes para a eclosão, pois causam a movimentação intensa da larva dentro do ovo causando a ruptura da casca (Neves, 2016; Wilson *et al.*, 2007). Após a liberação, o corpo ciliado dos miracídios permite a movimentação no ambiente aquático e, por meio de quimiotaxia, são atraídos ao hospedeiro intermediário – caramujo do gênero *Biomphalaria*. O processo de quimiotaxia se dá pela presença de moléculas oriundas do caramujo na água, causando o acúmulo de miracídios em torno do caramujo e favorecendo a penetração (Coelho *et al.*, 2008). O comportamento do hospedeiro intermediário responde a fatores que também exercem influência sobre os miracídios, como por exemplo a fototaxia. Dessa forma, o comportamento semelhante favorece a aproximação entre miracídio e caramujo, aumentando as chances de infecção (Coelho *et al.*, 2008; Williams & Coelho (1975).

A invasão no tecido dos moluscos se dá por meio do *terebratorium*, com a descarga do conteúdo proteolítico das glândulas de adesão e penetração e pela agitação intensa do miracídio com contato com o molusco (Coelho *et al.*, 2008). Após a penetração, os miracídios perdem os cílios, a estrutura do *terebratorium*, o tecido muscular subepitelial e, por fim, o sistema nervoso. Se diferenciam numa estrutura sacular chamada de esporocisto primário que, após um processo de poliembrião, dá origem ao esporocisto secundário, o qual migra para as glândulas digestivas do

molusco para se diferenciar em cercárias. O miracídio já carrega o sexo das cercárias que serão produzidas, e cada miracídio pode gerar mais de 100.000 cercárias (Nelwan, 2019). Em condições ideais de temperatura (aproximadamente 28°), o período de formação até a emergência das cercárias para a água é de 27 a 30 dias (Coelho *et al.*, 2008).

A liberação das cercárias no ambiente aquático é influenciada pela temperatura e presença de luz, sendo o último fator o que parece aumentar ainda mais a saída das cercárias do caramujo para a água. Em meio hídrico, com luminosidade, as cercárias tendem a realizar movimentos natatórios de propulsão retrógrada em direção à superfície. A natação dessas formas evolutivas próximas à superfície aumenta as chances de encontro com o hospedeiro definitivo. Ao atingir a pele humana, há uma fase de adesão mediada pela ventosa oral que adere ao extrato córneo da pele por meio secreção de muco pelas glândulas pós-acetabulares cercarianas. Calor e L-arginina são sinais que estimulam a fixação e o contato duradouro das cercárias na pele. Após a fixação, as cercárias passam a rastejar utilizando a ventosa ventral para movimentar-se em busca de sítios de entrada (Lenzi *et al.*, 2008).

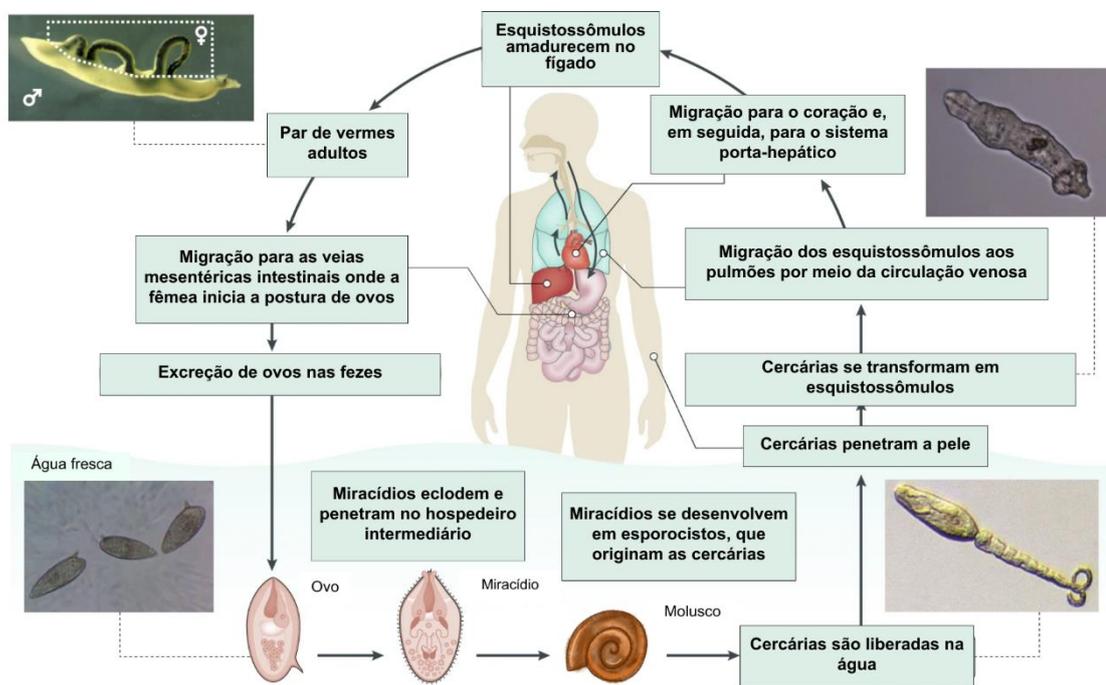
A penetração na pele se dá por meio de sulcos, pregas, folículos pilosos, dentre outras irregularidades que permitam a invasão dessas formas evolutivas na derme (Coelho *et al.*, 2008). Durante esse processo, há liberação de conteúdo histolítico pelas glândulas de penetração que auxiliam na destruição tecidual. Podem ocorrer reações celulares em indivíduos com exposição primária às cercárias, devido a possibilidade de ativação do sistema complemento e atração quimiotática de eosinófilos para o local de penetração, gerando uma irritação dérmica local (Souza *et al.*, 2011).

Ao penetrar a pele, a cercária perde a sua cauda bifurcada e passa por diversas modificações morfológicas e moleculares que culminam rapidamente em um novo estágio evolutivo chamado esquistossômulo de pele. Após novas transformações anatômicas e fisiológicas, o esquistossômulo de pele migra pela circulação venosa até alcançar os pulmões, sendo denominado esquistossômulo pulmonar (Coelho *et al.*, 2008; Neves, 2016).

Os esquistossômulos pulmonares migram pela circulação sanguínea até o sistema porta-hepático para continuar o desenvolvimento em vermes jovens, que se completa por volta do 21º dia de infecção. A alta concentração de nutrientes, a tolerância imunológica induzida e o estreitamento dos vasos portais contribuem para

o amadurecimento dos vermes nessa localização (Bowen et al., 2004; Khammo et al., 2002; Roskams et al, 2004). No 38º dia após infecção, o desenvolvimento em verme adulto macho ou fêmea já está concluído e os casais formados migram para as veias mesentéricas, onde as fêmeas iniciam a oviposição (Islam et al., 2019; Neves, 2016; Rocha, 2018). A saída dos ovos do organismo do hospedeiro para o meio ambiente através das fezes pode, novamente, dar início ao ciclo de vida do esquistossomo (McManus et al., 2018).

Figura 3 - Ciclo de vida e formas evolutivas de *S. mansoni*



Fonte: Traduzido e adaptado de Gryseels (2012)

A infecção se divide em três fases: migratória, aguda e crônica. A fase migratória ocorre com a entrada da cercária na pele, a qual pode causar um quadro de dermatite que é capaz de se estender de horas a semanas. Na fase aguda, de 1 a 4 semanas, ocorre uma reação de hipersensibilidade sistêmica mediada por IgE contra a presença do esquistossomo. Esse quadro é conhecido como febre de Katayama e os sintomas são semelhantes aos sintomas gripais, como febre, dor corporal, cefaléia, fadiga e tosse. Pode ser detectada eosinofilia leucocitária e infiltrados pulmonares. O estágio crônico da doença é causado pela presença de ovos nos tecidos, que podem causar doença hepatoesplênica e gastrointestinal. Tais quadros ocorrem por causa de uma reação imune do hospedeiro que resulta na

distribuição de fibras colágenas em torno dos ovos, originando um granuloma. A formação do granuloma explica o surgimento de distúrbios hemodinâmicos como varizes esofágicas, microulcerações e sangramentos na mucosa gastrointestinal, e de hipertensão portal hepática, esplenomegalia e ascite. A morbidade por esquistossomose tem um impacto forte na qualidade de vida dos acometidos e é potencial causadora de estigmas, gerando discriminação e isolamento (Burke, 2009; Gryseels, 2012; Huang, 2020).

2.3 BIOLOGIA DE *S. mansoni*

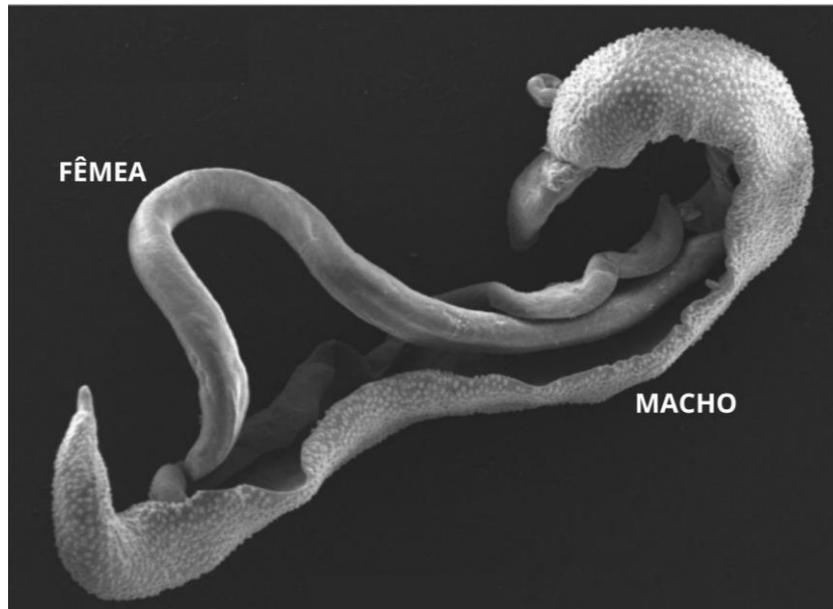
S. mansoni é um helminto da classe Trematoda, filo Platyhelminthes, família Schistomatidae, subfamília Schistosomatidae e do gênero *Schistosoma spp.* É um verme dióico e sua morfologia é modificada em função das diferentes fases do ciclo evolutivo: vermes jovens e adultos – macho ou fêmea – ovo, miracídio, esporocisto e cercária (Neves, 2016).

O verme adulto macho mede, aproximadamente, 1 cm de comprimento. Tem o corpo esbranquiçado, achatado e recoberto por projeções chamadas tubérculos. Na face posterior, encontra-se o canal ginecóforo que consiste em dobras laterais, no sentido longitudinal, que tem a função de albergar a fêmea (figura 4). Posteriormente ao acetábulo, é encontrado o órgão reprodutor masculino constituído por 7 a 9 massas testiculares formando um poro genital, por onde o conteúdo espermático é liberado diretamente no canal ginecóforo e entra em contato com o verme adulto fêmea.

A fêmea adulta (figura 4) tem cerca de 1,5 cm de comprimento, corpo filiforme, tegumento liso e transparente, por meio do qual é possível visualizar a digestão de sangue no ceco que gera produtos de degradação como a hemozoína. Por esse motivo, a nível de microscopia ótica, a coloração da fêmea é enegrecida. Os vermes adultos macho e fêmea diferem em tamanho, mas compartilham semelhanças morfológicas como a presença de ventosa oral e ventosa ventral (acetábulo) na face anterior do corpo (Neves, 2016; Gryssels, 2012; Xiao; Sun, 2017).

Preferencialmente, os vermes adultos alojam-se nas vênulas do plexo hemorroidário superior, sistema portal-hepático e veias mesentéricas superiores e inferiores, onde ocorre o acasalamento e a postura de ovos pelas fêmeas. As fêmeas podem liberar cerca de 400 ovos por dia (Araujo *et al.*, 2020; Rocha, 2018; Wilson *et al.*, 2007). Os vermes podem ser encontrados em outras regiões do corpo como pulmões, baço, pâncreas e bexiga (Neves, 2016).

Figura 4 - Vermes adultos macho e fêmea



Fonte: Adaptado de João (2011)

Preferencialmente, os vermes adultos alojam-se nas vênulas do plexo hemorroidário superior, sistema portal-hepático e veias mesentéricas superiores e inferiores, onde ocorre o acasalamento e a postura de ovos pelas fêmeas. As fêmeas podem liberar cerca de 400 ovos por dia (Araujo *et al.*, 2020; Rocha, 2018; Wilson *et al.*, 2007). Os vermes podem ser encontrados em outras regiões do corpo como pulmões, baço, pâncreas e bexiga (Neves, 2016)

A oviposição é realizada com a liberação de ovos ainda imaturos na corrente sanguínea. O desenvolvimento embrionário dos ovos ocorre no período de seis a sete dias, dos quais somente cerca cinco minutos acontece de maneira intra-uterina na fêmea e toda maturação restante ocorre nos tecidos do hospedeiro, principalmente, fígado e intestino (Lenzi *et al.*, 2008)

O ovo maduro (Figura 5A) encontrado nas fezes tem formato oval, casca transparente e mede aproximadamente 150 micrômetros de comprimento por 60 de largura. Abriga o miracídio e tem como particularidade a presença de espículo orientado para trás que permite a diferenciação entre outras espécies (Neves, 2016).

O miracídio (Figura 5B) tem morfologia cilíndrica com, aproximadamente, 180 e 64 micrômetros de comprimento e largura, respectivamente. Possui o corpo composto estruturalmente por fibras musculares e ciliado, característica que auxilia a

movimentação em meio aquático (Coelho *et al.*, 2008). Na extremidade anterior se localiza o *terebratorium*, estrutura com função de quimiotaxia, adesão e penetração no hospedeiro intermediário – caramujos do gênero *Biomphalaria* (Neves *et al.*, 2016). No *terebratorium* se localizam glândulas adesivas e de penetração, além de espículos, cílios maiores e terminações nervosas com funções táteis e sensoriais (Coelho *et al.*, 2008).

O sistema nervoso é rudimentar, tem como função controlar a contratilidade e motilidade do miracídio. É composto por uma massa celular nervosa central ramificada e conectada com células nervosas na periferia (Coelho *et al.*, 2008). O sistema excretor é constituído por quatro solenócitos, estrutura conhecida como “células em chama”, organizados em pares e conectados a pequenos canais que terminam em um poro excretor (Carvalho; Martins; Oliveira, 2008). Na parte anterior do corpo do miracídio são encontradas células germinativas, responsáveis pela continuidade do ciclo de *S. mansoni* no caramujo (Neves, 2016). Após sua eclosão, o miracídio pode sobreviver por aproximadamente 24 horas. O movimento ciliar é sensível às condições de alta osmolaridade da água e acredita-se que, neste estágio evolutivo, não seja possível a obtenção de alimento do ambiente. Dessa forma, a longevidade e capacidade de infecção do miracídio dependem de reservas de glicogênio e condições do meio aquático (Brasil, 2014; Wang *et al.*, 2019). Na penetração no hospedeiro intermediário, o miracídio perde o epitélio ciliado, o *terebratorium*, a musculatura subepitelial e sistema nervoso. Desse modo, a morfologia do *S. mansoni* muda para uma estrutura sacular contendo células germinativas chamadas de esporocisto que podem dar origem a inúmeras cercárias (Nelwan, 2019)

A cercária (Figura 5C) é a forma infectante para o hospedeiro definitivo – homem. A morfologia da cercária inclui o corpo cercariano – progenitor do esquistossômulo – e uma cauda bifurcada para locomoção no ambiente aquático, mas que também auxilia no processo de penetração na pele do hospedeiro (Nelwan, 2019). Possui uma ventosa oral e uma ventosa ventral (acetábulo), sendo a ventosa ventral constituída de musculatura mais desenvolvida para auxiliar na fixação na pele do hospedeiro durante a penetração (LoVerde, 2019). Além disso, a cercária possui células glandulares, que contém vesículas secretoras de muco e conteúdo proteolítico (Lenzi *et al.*, 2008). Fatores como luminosidade e temperatura influenciam na liberação e movimentação das cercárias no ambiente hídrico. Apesar da capacidade

de sobreviver por até 48 horas, o maior potencial de infecção se estabelece nas primeiras 8 horas de vida (Neves, 2016).

Ao penetrar na pele humana, a cercária perde a sua cauda bifurcada e passa diversas transformações bioquímicas, fisiológicas e morfológicas, as quais caracterizam um novo estágio evolutivo chamado esquistossômulo (Wilson *et al.*, 2012). Inicialmente, é chamado de esquistossômulo de pele, pois este fica retido na derme por, aproximadamente, quatro dias. Nesse período, ocorre o desenvolvimento de uma dupla camada e mudanças no tegumento para favorecer a camuflagem e evasão dos mecanismos efetores da imunidade do hospedeiro durante sua migração pelo tecido subcutâneo até a circulação venosa (Lenzi *et al.*, 2008). Ao atingirem os vasos sanguíneos, alcançam o pulmão em, aproximadamente, 14 dias, sendo chamados esquistossômulos pulmonares (Souza *et al.*, 2011). E, por fim, migram para os ramos intra-hepáticos, onde ocorre o desenvolvimento em vermes jovens e adultos. Após a maturação, os vermes adultos migram para as veias mesentéricas, especialmente para a veia mesentérica inferior, onde podem permanecer por anos (Araujo *et al.*, 2020; LoVerde, 2019; Neves, 2016).

Figura 5 - Formas evolutivas de *S. mansoni*



Legenda: A: Ovo, B: miracídio; C: cercária. Fonte: UNIFESP, s.d.

2.4 FARMACOTERAPIA DA ESQUISTOSSOMOSE

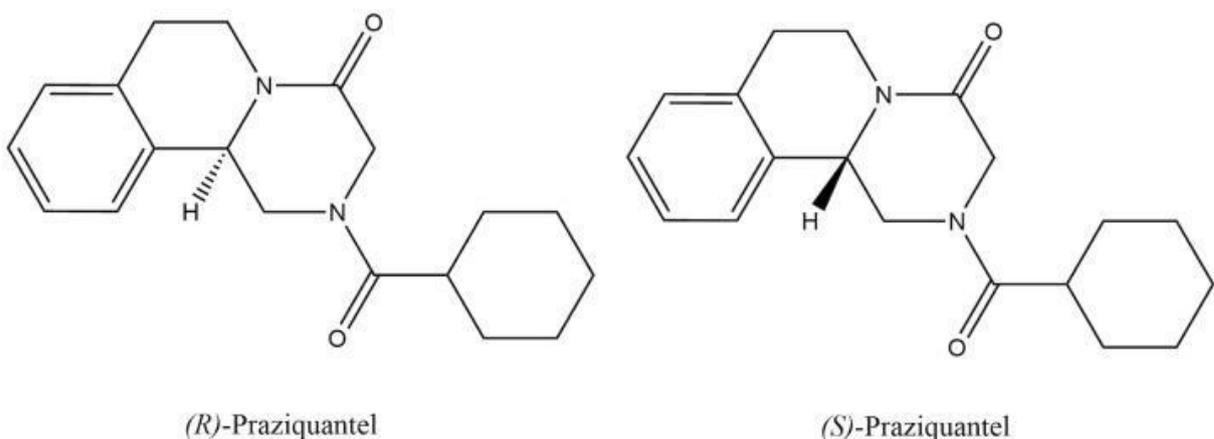
O Praziquantel (PZQ) é, atualmente, a principal estratégia farmacológica para diminuir a prevalência e incidência da esquistossomose. Foi descoberto pela indústria

farmacêutica alemã Merck em parceria com os laboratórios Bayer. É comercializado desde a década de 1970 como medicamento de uso oral para o tratamento de infecções por cestódeos e trematódeos que afetam humanos e animais, incluindo os helmintos do gênero *Schistosoma* (Vale *et al.*, 2017).

É classificado como derivado quinolino-pirazona, descrito quimicamente como 2-ciclohexilcarbonil-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino-(2,1)-isoquinolin-4-ona (Zdesenko; Mutapi, 2020). O mercado farmacêutico disponibiliza o PZQ em mistura racêmica de enantiômeros com proporções equivalentes de levógiro-PZQ (R-PZQ) e dextrógiro-PZQ (S-PZQ), considerados biologicamente ativo e inativo, respectivamente (figura 6) (Harder, 2020; Yao *et al.*, 2010).

Em consequência à formulação constituída por racemato, metade da dose de PZQ é considerada, até o presente momento, como farmacologicamente inativa (Zdesenko; Mutapi, 2020). Park *et. al* (2019), em estudo experimental com a concentração de 100nM de R-PZQ e 100nM de S-PZQ demonstrou que apenas o primeiro foi capaz de causar a paralisia nos vermes (Park *et al.*, 2019). Além disso, a porção S-PZQ é responsável pelo sabor amargo, dificultando a administração pediátrica (Siqueira *et al.*, 2017).

Figura 6 - Estrutura química dos enantiômeros R-Praziquantel e S-Praziquantel



Fonte: Zdesenko; Mutapi (2020)

O medicamento é comercializado em comprimidos de 600mg. A dose recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para áreas endêmicas é de 40mg/kg (WHO, 2023). No entanto, o Ministério da Saúde preconiza uma dose única de 50mg/kg de peso para adultos e 60mg/kg de peso para crianças e adolescentes até 15 anos (Brasil, 2014).

Sobre a segurança do fármaco em mulheres grávidas, a Food and Drugs Administration (FDA), agência responsável pelo controle de medicamentos nos Estados Unidos, classifica o PZQ em categoria B, ou seja, as evidências de eficácia e segurança estão baseadas em modelos de estudo animais. Desse modo, em gestantes é indicado apenas em casos de expressiva necessidade (FDA, 2010).

PZQ é fotossensível, e apesar da baixa solubilidade tem boa capacidade de permeação tecidual. É categorizado como fármaco de classe II no Sistema de Classificação Biofarmacêutica, sistema que busca prever a extensão da absorção oral de um fármaco de acordo com sua solubilidade aquosa e permeabilidade intestinal (Cruz, 2016; Bonamici, 2009).

O mecanismo de ação pelo qual o PZQ provoca a morte de *S. mansoni* ainda não é completamente elucidado, mesmo assim é considerado eficaz no tratamento de infecções causadas pelo verme (Thomas; Timson, 2018). Os efeitos esquistossomicidas podem ser causados pelo desequilíbrio no funcionamento da bomba Na^+/K^+ -ATPase, influxo de Ca^{2+} citosólico, contração muscular, vacuolizações e fissuras tegumentares no helminto (Park *et al.*, 2019).

Acredita-se que PZQ causa desequilíbrio no gradiente de cátions inorgânicos ao interagir com a proteína transmembranar Na^+/K^+ -ATPase, que é responsável pela manutenção de um gradiente eletroquímico através da membrana plasmática. Sua inibição favorece o acúmulo de Na^+ intracelular e a entrada de cátions divalentes e monovalentes, como o Ca^{2+} . Este é um dos fenômenos que podem influenciar o influxo de Ca^{2+} nas células de *S. mansoni*, através de canais de cálcio dependente de voltagem, provocando aumento da atividade muscular e, em seguida, contração e paralisia espástica (Cruz, 2016; Park *et al.*, 2019; Thomas; Timson, 2018; Harder, 2020). Com isso, os vermes não conseguem se fixar no tecido hospedeiro, sendo deslocados das veias mesentéricas para o fígado. Por outro lado, o dano tegumentar causado por PZQ provoca a liberação de conteúdo celular do verme no organismo hospedeiro, ativando mecanismos de defesa que resultam em sua destruição e eliminação (Cruz, 2016; Zdesenko; Mutapi, 2020).

Após administração, a absorção de PZQ é rápida, alcançando o pico de concentração plasmática de 1 até 3 horas. PZQ sofre intenso efeito de primeira passagem, sua meia vida no plasma varia de 1 até 4 horas, considerando o fármaco inalterado e seus metabólitos. A eliminação ocorre por via renal e intestinal, sendo

80% eliminado já nas primeiras 24h após administrado (Cruz, 2016; Domling; Khoury, 2010).

O metabolismo de PZQ é mediado por enzimas do citocromo P450 (CYP), especificamente CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4 e CYP3A5 (Wang et al., 2014). Por essa via podem ocorrer interações medicamentosas importantes, ocasionadas pelo aumento ou inibição da atividade enzimática. De modo geral, a indução da atividade enzimática se traduz no aumento do metabolismo e redução da biodisponibilidade global do fármaco ativo (Zani, 2013). Enquanto a inibição da enzima responsável pela metabolização do fármaco pode causar o aumento dos níveis circulantes do fármaco ativo. Dessa forma, quando um fármaco administrado em concomitância impede a ligação de PZQ ao sítio ativo da enzima, os níveis plasmáticos de PZQ tendem a aumentar. A coadministração a fármacos, como carbamazepina, fenitoína ou dexametasona pode causar diminuição da biodisponibilidade de PZQ (Zani, 2013). No entanto, alguns fármacos, como cimetidina, albendazol e cetoconazol, podem aumentar a disponibilidade plasmática de PZQ, por meio da inibição de enzimas CYP (Zdesenko; Mutapi, 2020).

A OMS recomenda a distribuição de PZQ em áreas endêmicas, tanto para o tratamento da infecção quanto para quimioterapia preventiva (WHO). A ênfase em campanhas de prevenção utilizando o PZQ tem potencial de atenuar o aparecimento de novas infecções e a demanda por novos tratamentos futuros (Schulz *et al.*, 2018.). Apesar disso, há uma necessidade crescente de novas alternativas farmacológicas para o manejo da esquistossomose, cujo controle nos últimos 40 anos depende exclusivamente de PZQ (Bergquist; Utzinger; Keiser, 2017).

PZQ é efetivo, seguro e de baixo custo (WHO). Não há como negar a importância do posicionamento deste fármaco como estratégia global de combate a esquistossomose (WHO, 2023). No entanto, a utilização em massa de uma única droga pode levar ao aparecimento de cepas de *S. mansoni* com susceptibilidade reduzida (Botros et al., 2005; Ismail et al., 1996; Vale *et al.*, 2017). Além da emergência de resistência, PZQ não atua contra os estágios imaturos do verme (Zhang; Coultas, 2013). Portanto, uma administração isolada não previne a reinfecção, visto que as formas imaturas continuam a se desenvolver no hospedeiro e podem ocasionar novos quadros clínicos de esquistossomose. Todas essas desvantagens preocupam a comunidade científica quanto a urgência de buscar novas alternativas terapêuticas (Zhang; Coultas, 2013; Aboueldahab; Elhussieny, 2016; Metwaly *et al.*, 2020).

2.4.1 ALCALOIDES

Os compostos naturais incluem uma gama de moléculas bioativas que representam alternativas para o desenvolvimento de novas drogas antiparasitárias (Bhambhani; Kondhare; Giri, 2021). Há uma crescente busca por esquistossomicidas e os compostos de origem vegetal são possíveis alternativas farmacológicas, com perfil de atividade melhorado e maior espectro de ação contra diferentes estágios evolutivos (Gryseels, 2012; Mcmanus, 2018). Dentre os produtos derivados vegetais, se destacam os alcaloides com significativas atividades biológicas que podem beneficiar a saúde humana (Balestrini *et al.*, 2017).

Os alcaloides são um grupo de metabólitos secundários de plantas, estruturalmente diversos, com amplo perfil de distribuição e bioatividade. Podem ser compostos heterocíclicos e não heterocíclicos, tendo o nitrogênio como elemento característico compartilhado entre as diferentes entidades químicas (Bhambhani; Kondhare; Giri, 2021). A diversidade das estruturas químicas deriva de diferentes rotas de biossíntese e envolve modificações estruturais, catalisadas enzimaticamente, que podem ser mediadas por reações de glicosilação, oxirredução, metilação e acilação. A variedade no arranjo e combinação de radicais funcionais a partir da estrutura principal justifica os múltiplos efeitos atribuídos a esses produtos (Laines-Hidalgo *et al.*, 2022). São encontrados nos diferentes tecidos das plantas com a função de proteção contra estímulos nocivos e agressões ambientais, como pragas, fungos, bactérias e larvas de insetos, além de também impedir o crescimento de outras plantas que estão nas proximidades (Bhambhani; Kondhare; Giri, 2021).

A caracterização química dos alcaloides proporcionou ao campo das ciências da saúde conhecimento sobre seus efeitos biológicos e a aplicação no tratamento de uma gama diversificada de doenças (Laines-Hidalgo *et al.*, 2022). Vincristina e vimblastina, extraídos de *Vinca rosea*, são exemplos de alcaloides com atividade antineoplásica largamente utilizados contra diferentes tipos de tumores, como leucemia aguda, linfoma de Hodgkin e câncer de mama (Isah, 2016; Li *et al.*, 2007). Outros alcaloides demonstram potente estimulação do sistema nervoso central e são utilizados no tratamento para diferentes graus de dor, tais quais os alcaloides morfina, codeína, papaverina e escopolamina, oriundos do ópio extraído de *Papaver somniferum* (Carlin; Dean; Ames, 2020). Outros alcaloides exibem efeitos

estimulantes, anti-hipertensivos e anti-inflamatório (Bhambhani; Kondhare; Giri, 2021), broncodilatador (Liu *et al.*, 2015) antimicrobiano (Thawabteh *et al.*, 2019), anti-malárico (Kingston *et al.*, 2022), pesticida e inseticida (Hong *et al.*, 2022).

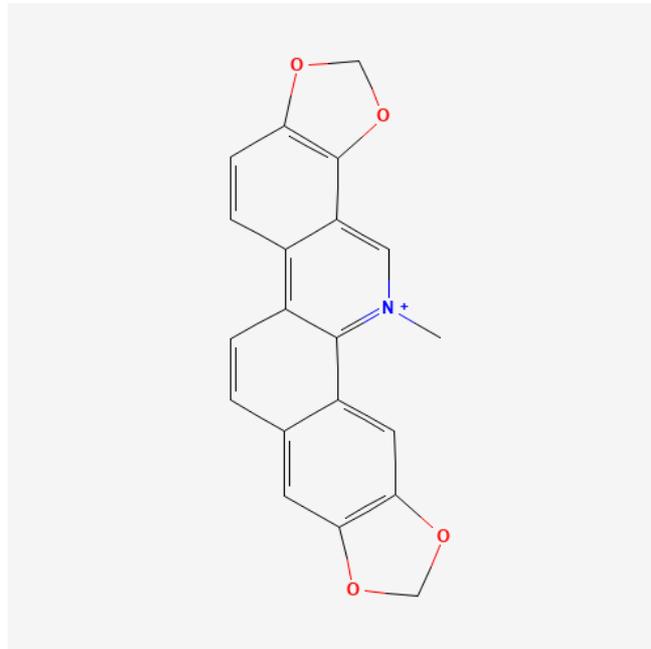
2.4.2 SANGUINARINA

Em 1827, James Freeman Dana, pesquisador e professor de química na Universidade Estadual de Nova York, isolou pela primeira vez um extrato vermelho-cobre a partir de *Sanguinaria canadensis*, e o nomeou de sanguinarina (Dana, 1828). No entanto, o extrato obtido não era constituído por apenas uma única substância, tratava-se de um conjunto de alcalóides, sendo a molécula de sanguinarina (SA) (figura 7) isolada somente em 1893 (Konig, 1893 *apud* Croaker *et al.*, 2016).

SA [13-metil-(1,3)benzodioxol(5,6-c)-1,3-dioxolano(4,5-l) fenantridínio], é um alcalóide extraído de *Sanguinaria canadensis*, *Poppy fumaria*, *Bocconia frutescens*, *Chelidonium majus* e *Macleya cordata* (Mackraj *et al.*, 2008). É considerada uma molécula promissora por apresentar efeito anti-hipertensivo, antiplaquetário (Mackraj *et al.*, 2008), anti-carcinogênico (Sun *et al.*, 2012), anti-inflamatório (Lei *et al.*, 2014), antimicrobiano (Johnson; Johnson; Poe, 1952), anti-helmíntico (Huang *et al.*, 2020) e imunorregulatório (Lei *et al.*, 2014). Em relação a atividade antiparasitária, foi reportado que a SA exerce ação contra vermes nematoides do gênero *Trichinella*, *Dactylogyrus intermedius* e *Ichthyophthirius multifiliis*, *in vivo* e *in vitro* (Yao *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2019) e contra vermes adultos e cercárias de *S. mansoni* (Zhang; Coultas, 2013).

A atividade de SA sobre cercárias de *S. mansoni*, reportada por Zhang e Coultas (2013), é um indício que esta molécula pode atuar sobre estágios imaturos do verme. No estudo, SA foi capaz de causar 100% de mortalidade parasitária em 48h e produziu alterações tegumentares evidentes, sendo considerada um composto “hit” pela OMS.

Figura 7 - Estrutura química de Sanguinarina



Fonte: PubChem (2024)

As modificações causadas por SA no tegumento de vermes adultos e cercárias de *S. mansoni* representam bons indícios da atividade de SA contra diferentes estágios de desenvolvimento do verme e interfere na sobrevivência, absorção de nutrientes e capacidade de evasão do sistema imune do hospedeiro (Zhang; Coultas, 2013). Além disso, com o dano ao tegumento é possível a exposição de antígenos normalmente não expostos, aumentando a vulnerabilidade do *S. mansoni* aos mecanismos efetores do sistema imune do hospedeiro (Harder, 2020).

O mecanismo pelo qual SA exerce seus efeitos não está bem estabelecido, diversos alvos moleculares podem estar envolvidos devido às vastas aplicações biológicas da molécula (Mackraj *et al.*, 2008). Seus múltiplos efeitos, apesar de promissores, representam um desafio ao planejamento racional de fármacos (Croaker *et al.*, 2016). A falta de seletividade farmacológica pode aumentar o risco de efeitos colaterais não desejados, entretanto, compostos altamente seletivos, apesar de mais seguros do ponto de vista toxicológico, podem ter a eficácia reduzida (Hopkins, 2008). Dessa forma, é primordial a determinação de doses terapêuticas satisfatórias, com grau de toxicidade aceitável (Croaker *et al.*, 2016).

2.5 PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS *in sílico* E BIODISPONIBILIDADE ORAL

A administração oral de um fármaco é, geralmente, recomendada para pacientes que não possuem limitações na deglutição. Fatores como autonomia, praticidade, economia e segurança tornam essa forma de administração mais conveniente. A solubilidade da molécula no fluido gastrintestinal, a permeabilidade através das membranas celulares e absorção são considerados três dos principais fatores que podem influenciar a biodisponibilidade de um fármaco administrado por via oral (Norinder & Bergstron, 2006).

Apesar de fortemente relacionados, absorção e biodisponibilidade são conceitos diferentes. A absorção refere-se a passagem do fármaco através das barreiras do seu local de administração para a circulação sanguínea (Rang *et al.*, 2016a), enquanto a biodisponibilidade relaciona-se com a concentração do fármaco, também na corrente sanguínea. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) define a que biodisponibilidade indica a velocidade e a extensão de absorção de um princípio ativo em uma forma de dosagem, a partir de sua curva concentração/tempo na circulação sistêmica ou sua excreção na urina (ANVISA, 1999). Essa definição leva em consideração que a biodisponibilidade é afetada, dentre outros fatores, pelo clearance intestinal e hepático (Almeida, 2009).

A eficácia de um fármaco é dependente de propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas. A farmacodinâmica está relacionada com a interação fármaco-receptor e os efeitos gerados (Bezerra Junior, 2020). Conforme Wagner (1981), a expressão farmacocinética foi empregada pela primeira vez pelo pesquisador alemão F.H. Dost, em 1953. Os estudos iniciais tiveram como base a equação de Michaelis-Menten, utilizada para descrever a cinética enzimática (Wagner, 1981). De fato, farmacocinética representa a cinética do fármaco, ou seja, a movimentação da droga dentro do organismo. Pode ser definida como *a medida e a interpretação formal de alterações temporais nas concentrações de um fármaco em uma ou mais regiões do organismo em relação à dose administrada* (Rang *et al.*, 2016b). E envolve os processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (Rang *et al.*, 2016a).

Compreender a farmacocinética de uma molécula candidata a fármaco é primordial para gerar dados farmacológicos e toxicológicos que serão utilizados para definir a dosagem adequada durante os ensaios clínicos de segurança e eficácia em humanos (Urso; Blardi, Giorgi, 2002). Além disso, é necessário aprofundar o

conhecimento em descritores moleculares úteis na predição de propriedades farmacocinéticas de interesse, a fim de fornecer informações pertinentes para modificação racional da estrutura molecular (Norinder; Bergstron, 2006).

A pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos envolve uma série de etapas até chegar em estruturas com bons efeitos farmacológicos, e com adequada biodisponibilidade e segurança. Tradicionalmente, é um processo com elevados custos de produção e consumo de tempo (Ferreira; Andricopulo, 2019).

De acordo com Buckle *et al.* (2013), uma substância ativa é aquela cuja identidade estrutural foi estabelecida e que desempenha atividade reproduzível acima de um limite predefinido em algum ensaio biológico. Normalmente, essas substâncias são oriundas de ensaios de alto rendimento ou ensaios primários extensos nos quais demonstra efeito terapêutico adequado, interação com o alvo desejado e relação estrutura-atividade passível de modificações (Noël, 2019). A identificação estrutural dessas substâncias deve buscar o fragmento da molécula denominado farmacóforo, que interage por meio de ligações químicas com o alvo e causa determinado efeito com potência terapêutica satisfatória (Norinder; Bergstron, 2006). A substância ativa torna-se um protótipo quando atende a critérios mínimos predefinidos, apta a futuros processos de otimização de estrutura e atividade (Noël, 2019). O protótipo, apesar de possuir efeitos biológicos promissores, não necessariamente será adequado para ensaios clínicos (Buckle *et al.*, 2013).

De acordo com Heft (2008), uma molécula candidata a fármaco apta para ser utilizada em ensaios clínicos deve ter sido submetida a avaliação de parâmetros farmacocinéticos, sobretudo a avaliação de toxicidade em animais, e deve interagir de maneira seletiva com o sítio receptor no alvo terapêutico para causar o efeito biológico esperado, com biodisponibilidade e distribuição adequadas para promover resposta funcional adequada.

A cada ano, o número de novos medicamentos disponíveis para comercialização não corresponde ao elevado crescimento, em número, de novas estruturas identificadas e disponibilizadas em bancos de dados (Norinder & Bergstron, 2006). T. Kennedy atribui essa realidade, entre outros motivos, às inadequadas propriedades farmacocinéticas dos candidatos à fármaco (Kennedy, 1997). E por essa razão ferramentas para triagem em função de parâmetros de absorção, distribuição, metabolismo, eliminação/excreção e toxicidade (ADMET) são necessárias (Norinder & Bergstron, 2006). Conhecer previamente a nova molécula, do ponto de vista

farmacocinético, orienta os esforços da pesquisa, a tomada de decisões, economiza tempo e reduz os custos (Gupta *et al.*, 2021).

Além das propriedades ADMET de uma nova droga, a concentração e as ligações químicas intramolecular e com o alvo terapêutico são cruciais para produzir o efeito farmacológico. A baixa ou nenhuma toxicidade é essencial para a introdução de um novo medicamento no mercado. Dessa forma, a predição ADMET no estágio inicial de desenvolvimento de medicamentos é relevante na redução significativa no número de compostos que são reprovados em ensaios clínicos (Pires; Blundell; Ascher, 2015).

O planejamento racional de novos fármacos é uma estratégia da química medicinal que permite, a partir de critérios pré-estabelecidos, selecionar substâncias que apresentam melhor perfil de bioatividade e segurança. A predição *in silico* das propriedades farmacocinéticas ADMET integra as estratégias de planejamento racional e é pertinente na otimização da pesquisa e desenvolvimento de novas drogas (Norinder & Bergstron, 2006).

O pkCSM é uma ferramenta computacional para abordagem experimental *in silico* de moléculas candidatas à fármaco, na qual os parâmetros ADMET podem ser consultados com resultados emitidos rapidamente em modelagem gráfica para representação da entidade química e topologia molecular (Pires; Blundell; Ascher, 2015). Dentre as ferramentas disponíveis para a avaliação ADME *in silico*, a SwissADME viabiliza a predição de dez parâmetros físico-químicos e dispõe de nove modelos farmacocinéticos: absorção gastrointestinal, permeabilidade na barreira hematoencefálica, P-gp, ligação, permeação da pele (logKp) e inibição para cinco isoformas do CYP450. Além disso, dispõe de filtros como, Lipinski, Ghose, Veber, Egan e Muegge, que possibilitam a previsão da biodisponibilidade oral das moléculas de acordo com uma série de regras e critérios (Daina; Michielin; Zoete, 2017; Ferreira; Andricopulo, 2019).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a predição, *in silico*, dos parâmetros farmacocinéticos, biodisponibilidade oral e a atividade esquistossomicida, *in vitro*, de sanguinarina sobre diferentes estágios do *S. mansoni*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os parâmetros farmacocinéticos absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade, *in silico*.
- Avaliar a atividade esquistossomicida, *in vitro*, da sanguinarina sobre esquistossômulos, vermes jovens e casais de vermes adultos de *S. mansoni*.

4 METODOLOGIA

4.1 DROGAS E REAGENTES

Praziquantel (PZQ) [2-(Cyclohexylcarbonyl)-1,2,3,6,7-11b-hexahydro-4H-pyrazino[2,1-a]isoquinolin-4-one] (C₁₉H₂₄N₂O₂, peso molecular 312.41 e pureza ≥ 98%), Sanguinarina (SA) [13-metil(1,3)benzodioxole(5,6-c)-1,3-dioxole(4,5)fenantridíneo] (C₂₀H₁₄ClNO₄, peso molecular 367.78, pureza ≥ 98%) e todos os reagentes de grau analítico e de cultura celular foram obtidos da Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA.

4.2 PREDIÇÃO DAS PROPRIEDADES ADMET E BIODISPONIBILIDADE ORAL *in silico* PARA SA

A predição dos parâmetros de absorção, distribuição, metabolismo, eliminação e toxicidade (ADMET) e biodisponibilidade oral, foram avaliados através das plataformas gratuitas PkCSM (<http://structure.bioc.cam.ac.uk/pkcsm>) e SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>), respectivamente, conforme Pires; Blundell; Ascher (2015) e Daina *et al.* (2017).

4.3 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS, ANIMAIS E INFECÇÃO EXPERIMENTAL

Todo protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE (protocolado nº 0084/2020). Camundongos, fêmeas Swiss Webster, ~28±2g, 30 dias de idade, foram fornecidos e mantidos no biotério do iLIKA em ambiente controlado (20 ± 2 ° C, ciclo claro de 12 h), com livre acesso a alimentos (Labina® /Purina, São Paulo, SP) e água. Para o estudo *in vitro* camundongos foram infectados com 3000 (infecção por via caudal) ou 120 cercárias (infecção por via cutânea) de *S. mansoni* para a obtenção de vermes jovens e casais de vermes adultos, respectivamente. A cepa de *S. mansoni* (cepa BH, Belo Horizonte – Brasil) é mantida no moluscário da disciplina de Parasitologia da UFPE - Área Acadêmica de Medicina Tropical e no Setor de Imunorregulação das Doenças Infecto-parasitárias e dos Fármacos Antiparasitários do iLIKA-UFPE através da passagem sucessiva em caramujos *Biomphalaria glabrata* e camundongos Swiss Webster.

4.4 AVALIAÇÃO ESQUISTOSSOMICIDA *in vitro*

4.4.1 OBTENÇÃO DE CERCARIAS DE *S. mansoni*, TRANSFORMAÇÃO MECÂNICA EM ESQUISTOSSÔMULOS E AVALIAÇÃO ESQUISTOSSOMICIDA *in vitro* DA SANGUINARINA CONTRA ESQUISTOSSÔMULOS

Cercárias de *S. mansoni*, obtidas do *B. glabrata* infectado após exposição à luz artificial (40°C, por 2h), foram mecanicamente transformadas em esquistossômulos como descrito por Ramalho Pinto *et al.* (1974). Imediatamente, os esquistossômulos foram lavados quatro vezes em meio RPMI 1640 suplementado com 20 mM HEPES, 100 µg/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina e 10% de soro bovino fetal, distribuídos em placas de cultura de 24 poços com 2 mL deste meio por poço. Cada poço recebeu 70 vermes que foram incubados por 5 horas a 37°C em atmosfera úmida contendo 5% de CO₂. Após esse período de adaptação, os esquistossômulos foram expostos a SA em concentrações finais de 1 - 5 µM. Os vermes controles foram incubados em apenas meio RPMI 1640 ou RPMI 1640 suplementado + 1.0% de DMSO como grupos de controle negativo e em PZQ (10 µM) como um grupo de controle positivo. Dois experimentos independentes (280 esquistossômulos/concentração) foram realizados em quadruplicata.

4.4.2 AVALIAÇÃO ESQUISTOSSOMICIDA *in vitro* DA SANGUINARINA CONTRA VERMES JOVENS E CASAIS DE VERMES ADULTOS

Os vermes jovens e casais de vermes adultos foram recuperados através da perfusão, com salina estéril (NaCl a 0,9% w/v), do sistema porta-hepático e vasos mesentéricos dos camundongos no 21º e 45º dia de infecção, respectivamente. Após perfusão, os vermes foram imediatamente transferidos para placa de Petri contendo meio RPMI 1640 suplementado e lavados por três vezes com este meio. Os vermes jovens e casais de vermes adultos foram distribuídos em placas de cultura com 24 poços (2 ml de RPMI 1640 suplementado/poço) e incubados a 37°C em atmosfera úmida contendo 5% de CO₂. Para vermes jovens, cada poço da placa de cultura recebeu 30 vermes jovens, que foram incubados 2 horas de adaptação ao meio de cultura. Logo, SA foi adicionada ao meio de cultura para concentrações finais de 1 – 7.5 µM. Para casais de vermes adultos, cada poço da placa de cultura recebeu 16

vermes (8 casais), que foram incubados 2 horas de adaptação ao meio de cultura. Em seguida, SA foi adicionada ao meio de cultura para concentrações finais de 1.25 – 25 μ M. Em ambos os ensaios vermes controles foram incubados apenas em meio RPMI 1640 ou em RPMI 1640 suplementado + 1.0% de DMSO como grupos de controle negativo. Vermes foram incubados em PZQ (10 μ M) como um grupo de controle positivo. Quatro experimentos independentes foram realizados. Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

4.4.3 CRITÉRIOS ESQUISTOSSOMICIDAS *in vitro*

Atividade motora e mortalidade: Os vermes foram incubados e monitorados após 3, 6, 12 e 24 h de incubação e a análise foi realizada com auxílio de microscópio invertido. A motilidade e mortalidade foi classificada empregando os escores de acordo com o estudo de Araújo *et al.* (2020). Os vermes foram considerados mortos quando nenhum movimento foi observado dentro do intervalo mínimo de 2 min.

Ensaio de viabilidade celular dos vermes: Viabilidade celular dos vermes (jovens e casais adultos) após incubação em sanguinarina foi determinada pelo ensaio de citotoxicidade baseado no 3-(4,5-dimetiltiazolidínicos-2-il) -2,5-difeniltetrazólio (MTT), de acordo com Aires *et al.* (2014). O MTT é um sal de tetrazólio amarelo que, em células com metabolismo ativo, é reduzido a cristais de formazan com coloração roxa/azul escuro, por enzimas oxidorreduzases mitocondriais dependentes de NADH ou NADPH. Um solvente é utilizado para solubilizar o cristal formado, resultando em uma solução colorida que permite a leitura de densidade óptica através da medida da absorbância da solução (Mosmann, 1983; Aires *et al.*, 2014; Nepomuceno *et al.*, 2021). Resumidamente, quatro vermes jovens ou dois casais de vermes adultos foram transferidos para uma placa de cultura de 96 poços contendo 100 μ L de MTT/poço (5 mg/mL em tampão fosfato-salino, PBS) e incubados a 37 °C por 30 min em ausência de luz. Em seguida, a solução de MTT foi substituída por 200 μ L de DMSO para solubilizar os cristais de formazan, e a densidade óptica foi mensurada em 550 nm em um leitor de microplaca (M680, Bio-Rad Laboratories, Inc.). Sob as mesmas condições experimentais, vermes jovens e casais de vermes adultos foram incubados em RPMI 1640 suplementado ou RPMI 1640 suplementado com 1% de DMSO (controles negativos) ou incubados em PZQ 10 μ M (controles positivos), e tiveram a viabilidade

celular estimada. O ensaio foi realizado em sextuplicata em dois experimentos independentes e o resultado foi expresso como média \pm desvio padrão da porcentagem de viabilidade celular dos vermes. A diferença significativa será estabelecida como $p < 0,05$.

4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A análise dos dados foi realizada por meio do 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 $p < 0,05$.

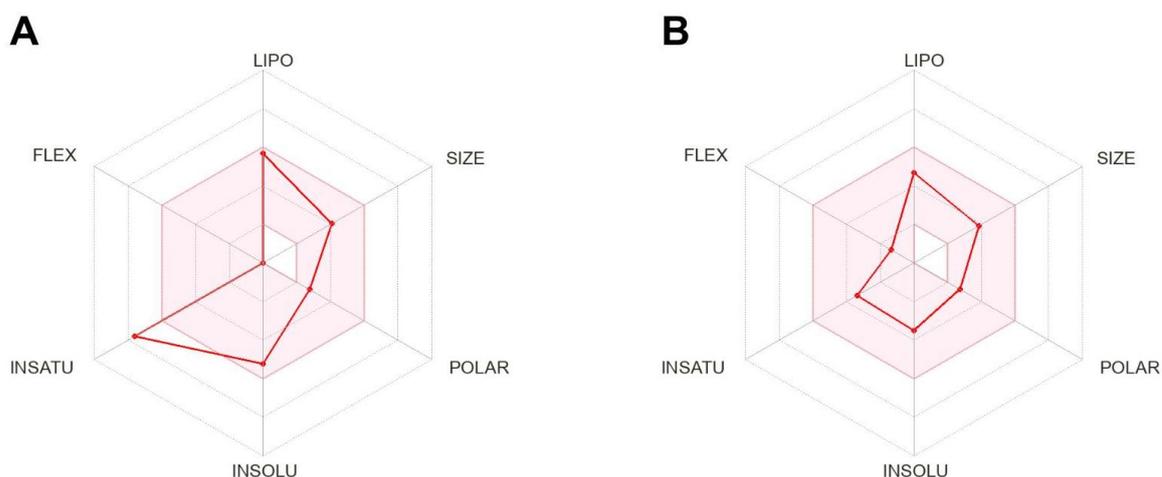
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 SA APRESENTA PARÂMETROS ADMET PROMISSORES E BIODISPONIBILIDADE ORAL ADEQUADA

A otimização *in silico* das propriedades farmacocinéticas ADMET, juntamente com a avaliação da biodisponibilidade oral, representa uma etapa experimental crucial na triagem e avaliação do potencial biológico, bem como na biossegurança de compostos durante a descoberta de novos medicamentos (Norinder & Bergstron, 2006). Isso se aplica não apenas a alcalóides e seus derivados, mas também a substâncias com atividade contra as espécies de *S. mansoni* (Rocha *et al.*, 2018).

O radar de biodisponibilidade (SwissADME) (figura 8) reporta o grau das propriedades físico-químicas: lipofilicidade, tamanho da molécula, polaridade, insolubilidade, insaturação e flexibilidade. A representação esquemática visual permite avaliar previamente o perfil da molécula em relação aos parâmetros citados. SA apresenta alto número de insaturações que refletem na baixa flexibilidade da molécula e, também, maior lipofilicidade que PZQ.

Figura 8 - Radar de biodisponibilidade de Sanguinarina (A) e Praziquantel (B)



Nota: A zona colorida é o espaço físico-químico adequado para a biodisponibilidade oral.

Fonte: SwissADME (2024).

A previsão para SA e PZQ, na plataforma SwissADME, aponta ambos os compostos como moderadamente solúvel e solúvel, respectivamente, de acordo com

a escala insolúvel (< -10), ligeiramente solúveis (< -6), moderadamente solúveis (< -4), solúveis (< -2) ou muito solúveis (< 0) (Pires; Blundell; Ascher, 2015).

A predição de absorção de medicamentos via oral utiliza o modelo de permeabilidade em células Caco-2 (células de adenocarcinoma colorretal humano). Quando cultivadas em condições apropriadas, as células Caco-2 formam uma monocamada com características semelhantes às células intestinais, além de expressar transportadores e perfil enzimático semelhante às células do intestino delgado humano (Pires; Blundell; Ascher, 2015). Em comparação ao modelo descrito, SA e PZQ foram classificadas de permeabilidade moderada de acordo com a seguinte escala: permeabilidade baixa ($< 1 \cdot 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$), permeabilidade moderada (entre 1 e $10 \cdot 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$) e permeabilidade alta (com valores $> 10 \cdot 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$) (Pires; Blundell; Ascher, 2015).

A absorção intestinal é um dos principais parâmetros para novos candidatos a medicamentos via oral com ação sistêmica, incluindo os anti-helmínticos. Os resultados de absorção de PZQ e SA foram considerados altos, uma vez que estudos mostraram que valores superiores a 30% indicam boa absorção intestinal. Para a permeabilidade cutânea, ambos os compostos apresentaram alta permeabilidade ($\log K_p < -2,5$).

Resultados divergentes foram encontrados no desempenho como substratos e inibidores das glicoproteínas P, onde SA e PZQ atuam como substratos, mas somente SA atua como inibidora das glicoproteínas I e II, proteínas responsáveis pela absorção, distribuição, metabolismo e excreção de diversos medicamentos diferentes.

Com relação ao perfil de distribuição, compostos que exibem valores de $\log V_{Dss} < -0,15$ são facilmente distribuídos no plasma, enquanto, aqueles que exibem valores de $\log V_{Dss} > 0,45$ são melhor distribuídos nos tecidos. Dessa maneira, SA e PZQ tinham maior probabilidade de distribuição nos tecidos do que distribuição no plasma, uma vez que os valores de $\log V_{Dss}$ foram positivos. Além disso, eles estavam fortemente ligados a proteínas séricas, uma vez que apresentavam resultados baixos para frações não ligadas.

A habilidade de passagem pela barreira hematoencefálica é um importante parâmetro para prever efeitos adversos e toxicidade. Valores de $\log BB > 0,3$ indicam alta capacidade de atravessar a barreira, enquanto valores de $\log BB < -1$ indicam baixa passagem. SA apresentou menor capacidade de atravessar a barreira com valor de $\log BB 0.105$, enquanto PZQ apresentaram maior capacidade em atravessar essa

barreira, com valor de com valores de logBB 0.468. Compostos com capacidade de penetrar no sistema nervoso central (SNC) têm log PS > - 2 e aqueles que não conseguem penetrar no SNC têm log PS < -3. Ambos os compostos foram classificados como penetrantes no SNC.

Quanto ao perfil de interação com isoformas de proteínas do citocromo P450 (CYP), SA é substrato da CYP3A4 e inibiu as enzimas CYP1A2, CYP2C19, CYP2D6, incluindo CYP3A4. Outros alcalóides exibem comportamento semelhante. Rocha *et al.* (2018) relataram que alcalóides de imidazol isolados de *Pilocarpus microphyllus*, a saber: epiisopiloturina, epiisopilosina, isopilosina, pilosina e macaubina, também atuaram na inibição de CYP 2C19, CYP2C9 e CYP3A4. Essa inibição reduz a capacidade das proteínas de metabolizar outros medicamentos, o que sugere o possível acúmulo desses metabólitos, potencializando o efeito farmacológico e inibindo o efeito medicamentoso em caso de pró-fármacos (Rocha *et al.*, 2018).

A nível de excreção renal, quando comparada com PZQ, SA demonstrou valores mais baixos de depuração renal e não atua como substrato para o Transportador de Cátions Orgânico 2 (OCT2). SA foi considerada mutagênica no teste de AMES, corroborando com os achados do estudo realizado por Rocha *et al.* (2018), no qual todos os alcalóides analisados foram identificados como mutagênicos. A dose limiar tóxica para seres humanos é estimada por meio da Dose Máxima Tolerada Recomendada (do inglês *maximum recommended tolerated dose - MRTD*). A MRTD de um composto é considerada baixa se for menor ou igual a 0,477 log(mg/kg/dia) e alta se exceder 0,477 log(mg/kg/dia). A dose tolerada para SA e PZQ é considerada baixa.

Em relação aos canais de iônicos codificados pelo hERG (gene humano ether-a-go-go), hERG I e II, SA inibiu apenas hERG II, enquanto PZQ foi considerado não inibidor. A avaliação do potencial de um composto para bloquear os canais hERG é uma análise crítica no desenvolvimento de novos medicamentos para garantir a segurança cardíaca, pois o bloqueio do canal hERG pode levar ao prolongamento do intervalo QT no eletrocardiograma (ECG), aumentando o risco de arritmias cardíacas potencialmente fatais (Pires; Blundell; Ascher, 2015).

A toxicidade aguda oral em ratos (LD50) variou de 2269 a 2.588 mol/kg, para PZQ e SA, respectivamente, indicando toxicidade moderada. A toxicidade oral crônica apresentou valores variando de 1,729 a 1.117 log mg/kg bw/dia. Quanto a toxicidade hepática, SA e PZQ são considerados não hepatotóxicos, um parâmetro de elevada

relevância quando se refere a medicamentos esquistossomicidas, dado o acometimento da infecção no fígado. Além disso, eles não são capazes de promover irritabilidade aumentada na pele. Ambos os compostos avaliados foram capazes de apresentar toxicidade contra *Tetrahymena pyriformis* ($\log \mu\text{g/L} > -0,5$) e não são tóxicos em Minnow.

SA e PZQ foram adequados para a classificação de medicamentos de acordo com Lipinski *et al.* (1997) (regra dos cinco) e Veber *et al.* (2002) como tendo uma probabilidade de biodisponibilidade oral. As regras de Lipinski são importantes na triagem do composto, pois consistem de faixas físico-químicas que predizem se a substância possui alta probabilidade de ser um medicamento oral. Os compostos promissores por via oral, não devem possuir mais que 5 doadores de H, 10 aceptores de ligação H, o peso molecular maior que 500 daltons e o Log P calculado é maior que 5. A violação de tais parâmetros não inviabiliza um composto, de fato, há medicamentos aprovados que violam uma ou mais dessas regras. No entanto, as regras de Lipinski servem de orientação geral e são uma ferramenta útil na triagem de candidatos a fármaco (Lipinski *et al.*, 1997). As regras de Veber, complementares às regras de Lipinski, determinam que nas moléculas o número de átomos de heteroátomos e o número de rotações em torno de ligações simples deve ser inferior a 10. Esses parâmetros também são relevantes na solubilidade e capacidade de absorção pelo trato gastrointestinal (Veber *et al.*, 2002).

Os achados desta pesquisa (Tabela 1) resultam dos esforços da química computacional para o avanço de novas ferramentas capazes de prever propriedades moleculares associadas ao potencial farmacológico. Isso inclui a identificação de novos candidatos a esquistossomicidas derivados de alcaloides.

Tabela 1 - Parâmetros ADMET e avaliação da biodisponibilidade oral de Sanguinarina (SA) e Praziquantel (PZQ)

Parâmetros	SA	PZQ	Unidade
Absorção			
Solubilidade em água	-5.56	-4.002	Numérica (log mol/L)
Permeabilidade Caco2	2.107	1.759	Numérica (log Papp in 10 ⁻⁶ cm/s)
Absorção intestinal	100	93.424	Numérica (% absorvido)
Permeabilidade da pele	-2.707	-3.144	Numérica (log Kp)
Substrato da glicoproteína-P	Sim	Sim	Categórica (Sim/Não)
Inibidor da glicoproteína-P I	Sim	Não	Categórica (Sim/Não)
Inibidor da glicoproteína-P II	Sim	Não	Categórica (Sim/Não)
Distribuição			
VDss	0.298	0.529	Numérica (log L/kg)
Fração não ligada	0.265	0.155	Numérica (Fu)
Permeabilidade na BHE	-0.105	0.468	Numérica (log BB)
Permeabilidade no SNC	-1.419	-1.78	Numérica (log PS)
Metabolismo			
Substrato de CYP2D6	Não	Não	Categórica (Sim/Não)
Substrato de CYP3A4	Sim	Sim	Categórica (Sim/Não)
Inibidor de CYP1A2	Sim	Não	Categórica (Sim/Não)
Inibidor de CYP2C19	Sim	Sim	Categórica (Sim/Não)
Inibidor de CYP2C9	Não	Não	Categórica (Sim/Não)
Inibidor de CYP2D6	Sim	Não	Categórica (Sim/Não)
Inibidor de CYP3A4	Sim	Não	Categórica (Sim/Não)
Excreção			
Clearance Total	1.051	1.058	Numérica (log mL/min/kg)
Substrato OCT2 Renal	Não	Sim	Categórica (Sim/Não)
Toxicidade			
Toxicidade AMES	Sim	Não	Categórica (Sim/Não)
Dose Máxima Tolerada	0.172	-0.237	Numérica (log mg/kg/day)
Inibidor de hERG I	Não	Não	Categórica (Sim/Não)
Inibidor de hERG II	Sim	Não	Categórica (Sim/Não)
Toxicidade aguda oral em ratos	2.588	2.269	Numérica (mol/kg)
Toxicidade crônica oral em ratos	1.729	1.117	Numérica (log mg/kg_bw/day)
Hepatotoxicidade	Não	Não	Categórica (Sim/Não)
Sensibilização da pele	Não	Não	Categórica (Sim/Não)
Toxicidade em <i>T. Pyriformis</i>	0.308	1.315	Numérica (log µg/L)
Toxicidade em Minnow	-	1.566	Numérica (log mM)
	0.7189		
Biodisponibilidade oral			
Regras de Lipinski	0	0	Violação (Numérica)
Regras de Veber	0	0	Violação (Numérica)

BHE: Barreira Hemato-encefálica; SNC: Sistema Nervoso Central; CYP: Citocromo P450; hERG: Gene humano ether-a-go-go; OCT2: Transportador de Cátions Orgânico 2; *T. pyriformis*: *Tetrahymena pyriformis*.

Fonte: PKCSM (2023)

5.2 *In vitro*, SA DEMONSTROU AÇÃO ESQUISTOSSOMICIDA COM DESTAQUE CONTRA ESQUISTOSSÔMULOS, VERMES JOVENS E CASAIS DE VERMES ADULTOS DE *S. mansoni*.

Usualmente, a triagem de novos compostos esquistossomicidas explora a ação de moléculas naturais ou sintéticas contra vermes adultos (Zhang; Coultas, 2013), com poucos estudos que exploram a mesma molécula em diferentes estágios de desenvolvimento de *S. mansoni*. Este é o primeiro estudo que explora a atividade esquistossomicida *in vitro* de SA contra diferentes fases evolutivas de *S. mansoni*.

A Tabela 2 e 3 mostram o efeito esquistossomicida de SA empregando scores de motilidade e mortalidade de esquistossômulos e vermes jovens de *S. mansoni*, respectivamente. Durante 24 h de incubação, em todos os intervalos de observação (3, 6, 12, 24h), esquistossômulos e vermes jovens, incubados apenas em RPMI suplementado (controle negativo 1) ou RPMI suplementado + 1% de DMSO (controle negativo 2) exibiram motilidade e topografia corporal típicas, peristaltismo dos órgãos internos e ventosas aderidas à placa de cultura (score 3).

Contra esquistossômulos (Tabela 2), após 3h de incubação nas concentrações de 5, 4 e 3 μM , os vermes foram classificados como mortos, score 0 (ausência completa de movimentos e tegumento com ou sem alteração de coloração), em 100%, 25.71% e 2.85%, respectivamente. Nas concentrações de 2 e 1 μM , 7.14% e 4.28% dos vermes, respectivamente, estavam em score 1.5, apresentando redução da motilidade corporal ou redução da movimentação das extremidades (anterior e/ou posterior), além de falta de aderência das ventosas na placa de cultura. Em 24 h de incubação, SA causou 100% de mortalidade para todas as concentrações. Por outro lado, em 24h de experimento, 10 μM de PZQ não causou mortalidade em nenhum dos intervalos de observação, os vermes mantiveram-se no score 1.5, apenas com alteração na motilidade.

Vermes jovens incubados com PZQ durante todos os intervalos de observação exibiram score 1, movimento apenas nas extremidades (posterior e/ou anterior). Este resultado corrobora com a literatura que destaca que PZQ possui atividade contra os casais adultos de *S. mansoni* (Vale *et al.*, 2017). Em 6 h, nas concentrações de 7.5, 5.0 e 4.0 μM foi alcançada a letalidade de 100%, 63.33% e 56.66%, respectivamente. Com 12 h de exposição a SA, as concentrações de 5.0 e 4.0 apresentaram mortalidade de 63.33 e 79.99%, respectivamente, atingindo 90% de mortalidade no

último intervalo de observação. É notável também que, com 3 h, as concentrações de 2.0 e 1.0 μM já provocaram alterações na motilidade do *S. mansoni*, onde 50 e 56.66%, respectivamente, dos vermes estavam em escore 2.

A Tabela 4 mostra o efeito esquistossomicida de SA em casais de vermes adultos. Em 12h de incubação, em concentrações 25 e 20 μM , SA causou 100% de mortalidade. Em 24h, foi alcançada 100% e 62,5% de mortalidade em 15 e 10 μM de SA, respectivamente.

A atividade de candidatos esquistossomicidas frente a vermes jovens e formas imaturas de *S. mansoni* é pouco explorada na comunidade científica. Huang *et al.* (2020) reporta o aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) mediada por SA. A morte dos vermes jovens e esquistossômulos pode estar associada ao processo de morte oxidativa, uma vez que os estágios imaturos são mais vulneráveis aos danos tegumentares causados pelas EROs (El-Lakkany; Seif El-Din, 2013).

Em conformidade com Araújo *et al.* (2020), PZQ não causou mortalidade em esquistossômulos e vermes jovens de *S. mansoni*. A predileção de PZQ por vermes adultos não previne a reinfeção, visto que as formas imaturas podem continuar o desenvolvimento no hospedeiro. Por esse motivo, os resultados da atividade de SA contra esquistossômulos e vermes jovens de *S. mansoni* são promissores.

O uso de alcaloides em estudos na busca por um novo agente esquistossomicida é descrito na comunidade científica (Rocha *et al.* 2018; Santos *et al.*, 2014); entretanto, a atividade apenas para vermes adultos não resolve a problemática de possível reinfeção. Além de SA, outros alcalóides podem exibir atividade contra estágios imaturos do verme. A epispiloturina, extraída de *Pilocarpus microphyllus*, mostrou atividade *in vitro* contra esquistossômulos; após 120 h de incubação na concentração de 300 $\mu\text{g/mL}$ causou 100% de mortalidade (Veras *et al.* 2012). Por outro lado, em nosso estudo, SA mostrou mortalidade total em baixas concentrações e curto intervalo de incubação.

Tabela 2 - Escores de motilidade de esquistossômulos tratados com Praziquantel (PZQ) ou com Sanguinarina (SA) após 3, 6, 12 e 24 horas de incubação

Média ± desvio padrão (SD) e porcentagem (%) de esquistossômulos nos scores de motilidade após a incubação.												
Grupos	3h			6h			12h			24h		
	0	1.5	3	0	1.5	3	0	1.5	3	0	1.5	3
Controle 1			70 ± 0.0 (100%)			70 ± 0.0 (100%)			70 ± 0.0 (100%)			70 ± 0.0 (100%)
Controle 2			70 ± 0.0 (100%)			70 ± 0.0 (100%)			70 ± 0.0 (100%)			70 ± 0.0 (100%)
PZQ		70 ± 0.0 (100%)			70 ± 0.0 (100%)			70 ± 0.0 (100%)			70 ± 0.0 (100%)	
10 µM		70 ± 0.0 (100%)			70 ± 0.0 (100%)			70 ± 0.0 (100%)			70 ± 0.0 (100%)	
SA												
5 µM	70 ± 0.0 (100%)			70 ± 0.0 (100%)			70 ± 0.0 (100%)			70 ± 0.0 (100%)		
4 µM	18 ± 0.0 (25,71%)	24 ± 0.0 (34,20%)	28 ± 0.0 (40%)	43 ± 0.0 (61,42%)	26 ± 0.0 (37,14%)		68 ± 0.0 (97,14%)	2 ± 0.0 (2,85%)		70 ± 0.0 (100%)		
3 µM	2 ± 0.0 (2,85%)	14 ± 0.0 (20%)	54 ± 0.0 (77,14%)	24 ± 0.0 (34,28%)	38 ± 0.0 (54,28%)	3 ± 0.0 (4,28%)	35 ± 0.0 (50%)	35 ± 0.0 (50%)		70 ± 0.0 (100%)		
2 µM		5 ± 0.0 (7,14%)	65 ± 0.0 (92,85%)	8 ± 0.0 (11,42%)	34 ± 0.0 (48,57%)	38 ± 0.0 (40%)	12 ± 0.0 (17,14%)	50 ± 0.0 (71,42%)	8 ± 0.0 (11,4%)	70 ± 0.0 (100%)		
1 µM		3 ± 0.0 (4,28%)	67 ± 0.0 (71,42%)	5 ± 0.0 (7,14%)	38 ± 0.0 (54,28%)	27 ± 0.0 (38,57%)	11 ± 0.0 (15,71%)	44 ± 0.0 (62,85%)	15 ± 0.0 (21,42%)	70 ± 0.0 (100%)		

Nota: 70 esquistossômulos por concentração. O experimento foi realizado em duplicata, totalizando 140 esquistossômulos por concentração.

Controle 1: esquistossômulos incubados apenas em RPMI suplementado

Controle 2: esquistossômulos incubados em RPMI suplementado + 1.0% de DMSO

Score 3: movimentos típicos ao longo do corpo, peristaltismo dos órgãos internos e ventosas aderidas nas laterais e fundo da placa de cultura..

Score 1.5: movimento apenas nas extremidades (posterior e/ou anterior)

Score 0: ausência completa de movimentos e tegumento com ou sem alteração de coloração.

Fonte: Autora (2023)

Tabela 3 - Escores de motilidade dos vermes jovens controle, tratados com Praziquantel (PZQ – 10 µM) ou com Sanguinarina (SA - 7.5 µM a 1.0 µM) após 3, 6, 12 e 24h de incubação

Média ± desvio padrão (SD) e porcentagem (%) de vermes jovens nos scores de motilidade após a incubação.																
Grupos	3h				6h				12h				24h			
	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
Controle 1				30 ± 0.0 (100%)				30 ± 0.0 (100%)				30 ± 0.0 (100%)				30 ± 0.0 (100%)
Controle 2				30 ± 0.0 (100%)				30 ± 0.0 (100%)				30 ± 0.0 (100%)				30 ± 0.0 (100%)
Praziquantel 10 µM		30 ± 0.0 (100%)				30 ± 0.0 (100%)				30 ± 0.0 (100%)				30 ± 0.0 (100%)		
Sanguinarina																
7.5 µM	7.0 ± 0.0 (23.33%)	23 ± 0.0 (76.66%)			30 ± 0.0 (100%)				30 ± 0.0 (100%)				30 ± 0.0 (100%)			
5.0 µM	9 ± 0.0 (30%)	15 ± 0.0 (50%)	3 ± 0.0 (9.99)	3 ± 0.0 (9.99)	19 ± 0.0 (63.33%)	4 ± 0.0 (13.33%)	4 ± 0.0 (13.33%)	3 ± 0.0 (9.99%)	19 ± 0.0 (63.33%)	5 ± 0.0 (16.66%)	3 ± 0.0 (9.99%)	3 ± 0.0 (9.99%)	26 ± 0.0 (86.66%)	2 ± 0.0 (6.66%)	4 ± 0.0 (13.33%)	1 ± 0.0 (3.33%)
4.0 µM	15 ± 0.0 (50%)	13 ± 0.0 (43.33%)		2 ± 0.0 (6.66%)	17 ± 0.0 (56.66%)	5 ± 0.0 (16.66%)	6 ± 0.0 (20%)	2 ± 0.0 (6.66%)	24 ± 0.0 (79.99%)	4 ± 0.0 (13.33%)	2 ± 0.0 (6.66%)		27 ± 0.0 (89.99%)	1 ± 0.0 (3.33%)	2 ± 0.0 (6.66%)	
3.0 µM	6 ± 0.0 (20%)	1 ± 0.0 (3.33%)	7 ± 0.0 (23.33%)	16 ± 0.0 (53.33%)	6 ± 0.0 (20%)	6 ± 0.0 (20%)	8 ± 0.0 (26.66%)	10 ± 0.0 (33.33%)	8 ± 0.0 (26.66%)	5 ± 0.0 (16.66%)	12 ± 0.0 (40%)	5 ± 0.0 (16.66%)	14 ± 0.0 (46.66%)	3 ± 0.0 (9.99%)	3 ± 0.0 (9.99%)	10 ± 0.0 (33.33%)
2.0 µM		5 ± 0.0 (16.66%)	15 ± 0.0 (50%)	10 ± 0.0 (33.33%)	4 ± 0.0 (13.33%)	17 ± 0.0 (56.66%)	3 ± 0.0 (9.99%)	6 ± 0.0 (20%)	8 ± 0.0 (16.66%)	3 ± 0.0 (9.99%)	10 ± 0.0 (33.33%)	9 ± 0.0 (30%)	10 ± 0.0 (33.33%)	2 ± 0.0 (6.66%)	4 ± 0.0 (13.33%)	14 ± 0.0 (46.66%)
1.0 µM			17 ± 0.0 (56.66%)	13 ± 0.0 (43.33%)			17 ± 0.0 (56.66%)	13 ± 0.0 (43.33%)			17 ± 0.0 (56.66%)	13 ± 0.0 (43.33%)			17 ± 0.0 (56.66%)	13 ± 0.0 (43.33%)

Nota: Valor médio de 30 vermes jovens por concentração. O experimento foi realizado em quadruplicata, totalizando 120 vermes por concentração.

Controle 1: vermes jovens incubados apenas em RPMI suplementado.

Controle 2: vermes jovens incubados em RPMI suplementado com 1.0% de DMSO.

Escore 3: movimentos típicos ao longo do corpo, peristaltismo dos órgãos internos e ventosas aderidas nas laterais e fundo da placa de cultura.

Escore 2: movimentos reduzidos ao longo do corpo e redução do peristaltismo.

Escore 1: movimento apenas nas extremidades (posterior e/ou anterior).

Escore 0: ausência completa de movimentos e tegumento com ou sem alteração de coloração.

Fonte: Autora (2023)

Tabela 4 - Escores de motilidade de vermes adultos, tratados com Praziquantel (PZQ) ou com Sanguinarina (SA) após 3, 6, 12, e 24 horas de incubação.

Grupos	Média ± desvio padrão (DP) e porcentagem de vermes adultos (%) nos scores de motilidade após a incubação.																
	3 h				6 h				12 h				24 h				
	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	
Controle 1				16 ± 0.0 (100%)				16 ± 0.0 (100%)					16 ± 0.0 (100%)				16 ± 0.0 (100%)
Controle 2				16 ± 0.0 (100%)				16 ± 0.0 (100%)					16 ± 0.0 (100%)				16 ± 0.0 (100%)
PZQ		13 ± 1.4 (81.2%)	3 ± 1.41 (18.7%)		1 ± 0.7 (6.2%)	15 ± 1.4 (93.7%)			10 ± 2.8 (62.5%)	6 ± 2.8 (37.5%)			15 ± 0.0 (93.7%)	1 ± 0.7 (6.25%)			
SA																	
25 µM	2 ± 0.0 (12.5%)	14 ± 0.0 (87.5%)			16 ± 0.0 (100%)			16 ± 0.0 (100%)					16 ± 0.0 (100%)				
20 µM	1 ± 0.0 (6.2%)	11 ± 0.0 (68.7%)	4 ± 0.0 (25%)		3 ± 0.0 (18.7%)	13 ± 0.0 (81.2%)		16 ± 0.0 (100%)					16 ± 0.0 (100%)				
15 µM		1 ± 0.0 (6.2%)	2 ± 0.0 (12.5%)	13 ± 0.0 (81.25%)		7 ± 0.0 (43.7%)	9 ± 0.0 (56.2%)	7 ± 0.0 (43.7%)	9 ± 0.0 (56.2%)				16 ± 0.0 (100%)				
10 µM			5 ± 0.0 (31.3%)	11 ± 0.0 (68.7%)			16 ± 0.0 (100%)	6 ± 0.0 (37.5%)	8 ± 0.0 (50%)	2 ± 0.0 (12.5%)			10 ± 0.0 (62.5%)	4 ± 0.0 (25%)	2 ± 0.0 (12.5%)		
7.5 µM				16 ± 0.0 (100%)		8 ± 0.0 (50%)	8 ± 0.0 (50%)	1 ± 0.0 (6.2%)	1 ± 0.0 (6.2%)	14 ± 0.0 (87.5%)			5 ± 0.0 (31.2%)		11 ± 0.0 (68.7%)		
5 µM				16 ± 0.0 (100%)			16 ± 0.0 (100%)						16 ± 0.0 (100%)		4 ± 0.0 (25%)	12 ± 0.0 (75%)	
2.5 µM				16 ± 0.0 (100%)			16 ± 0.0 (100%)						16 ± 0.0 (100%)		2 ± 0.0 (12.5%)	14.0 ± 0.0 (87.5%)	
1.25 µM				16 ± 0.0 (100%)			16 ± 0.0 (100%)						16 ± 0.0 (100%)				16 ± 0.0 (100%)

Nota: 16 vermes adultos (8 casais) por concentração. O experimento foi realizado em duplicata, totalizando 32 vermes por concentração.

Controle 1: casais de vermes adultos incubados apenas em RPMI suplementado.

Controle 2: casais de vermes adultos incubados em RPMI suplementado + 1.0% de DMSO.

Escore 3: movimentos típicos ao longo do corpo, peristaltismo dos órgãos internos e ventosas aderidas nas laterais e fundo da placa de cultura.

Escore 2: movimentos reduzidos ao longo do corpo e redução do peristaltismo.

Escore 1: movimento apenas nas extremidades (posterior e/ou anterior).

Escore 0: ausência completa de movimentos e tegumento com ou sem alteração de coloração.

Fonte: Autora (2023)

5.3 SA REDUZIU A VIABILIDADE CELULAR DE VERMES JOVENS E CASAIS DE VERMES ADULTOS DE *S. mansoni*

Em vermes jovens (Figura 9A), PZQ não teve impacto significativo na redução dos cristais de formazan, enquanto SA nas concentrações de 7.5, 5, 4, 3 e 2 μM foi capaz de reduzir a viabilidade mitocondrial em 92.78%, 84.63%, 81.45%, 56.88% e 23.34% ($p < 0.001$), respectivamente, e para a concentração de 1 μM a redução foi 15.43% ($p < 0.01$) (Figura 9). Dessa forma, SA exibiu ação dose-dependente e, em comparação ao PZQ, teve maior atividade nos vermes jovens mesmo em concentrações menores.

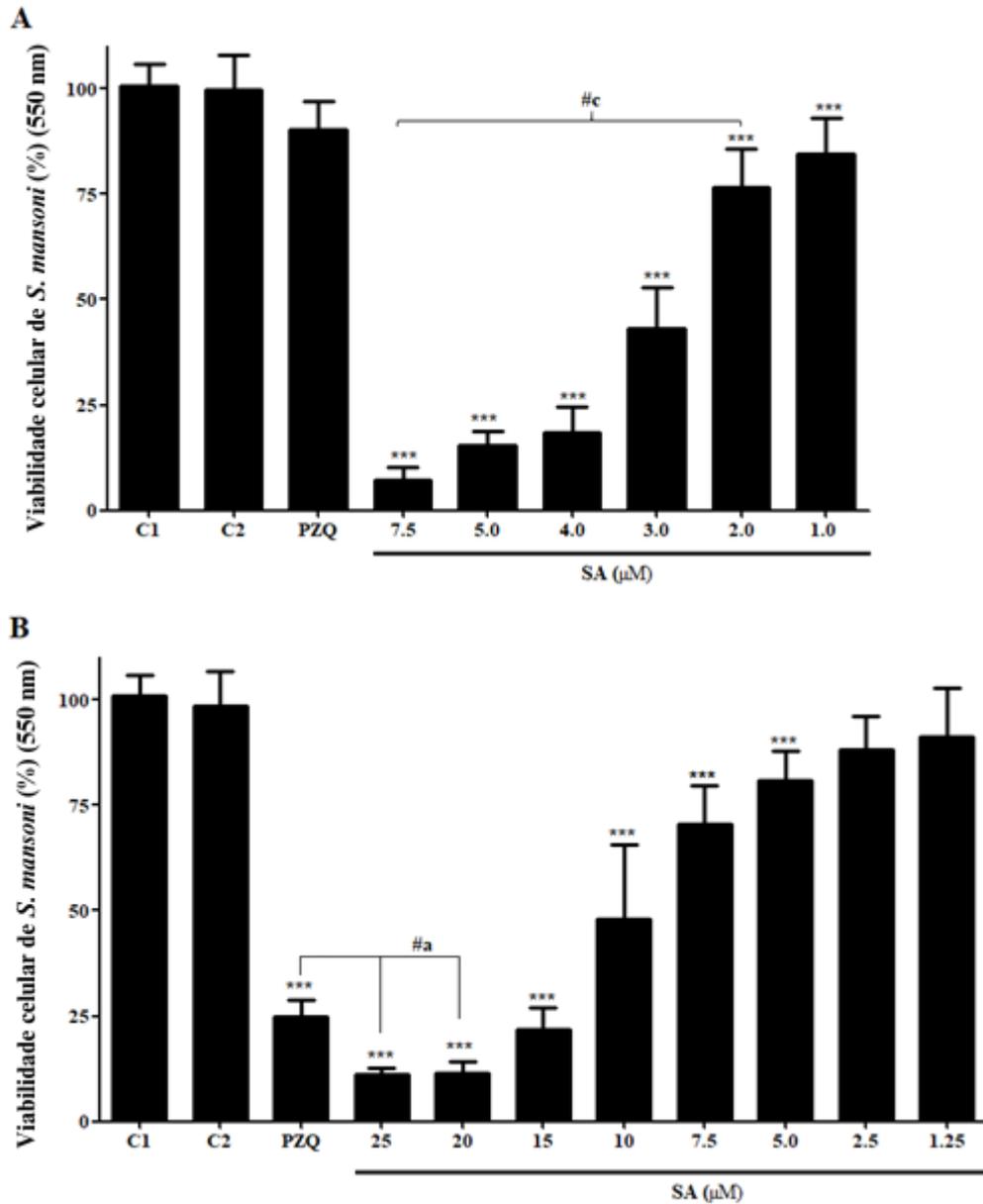
Para vermes adultos (Figura 9B), nas concentrações 25 e 20 μM de SA houve uma redução de 88% na formação de cristais de formazan; enquanto para as concentrações 15, 10, 7.5 e 5 μM , a redução foi de 78.12%, 52.0%, 29.45%, e 19.23%, respectivamente. Contra vermes adultos 25 e 20 μM de SA foi mais efetivo que PZQ, com redução maior que 50% ($p < 0.01$), quando comparados. Em relação ao PZQ, a redução de cristais de formazan foi de 9.5% e 75.12% para vermes jovens e casais adultos, respectivamente, quando comparados ao grupo controle 2.

Os resultados da redução da viabilidade celular contra vermes, especialmente contra jovens, podem em parte, ser atribuído a atividade antiproliferativa de SA, como reportado também com outros alcaloides (Balestrini *et al.* (2017).

Zhang e Coultas (2013) descrevem que SA causa danos extensos e irreversíveis no tegumento e *S. mansoni*. A citotoxicidade de SA no tegumento pode ocorrer via enzimas mitocondriais, potenciais alvos biológicos da SA, e resulta em diversos efeitos biológicos como a geração de EROs, apoptose e diminuição das diversas antioxidantes do verme (Talaam *et al.*, 2021). Dessa maneira, o papel de SA na integridade tegumentar pode aumentar a susceptibilidade do parasito ao sistema imunológico do hospedeiro (Zhang; Coultas, 2013).

Estudo realizados por Balestrini e colaboradores (2017) reportou que SA, sobre platelminto de vida livre (planária), causou aumento da atividade da caspase-3, protease mitocondrial envolvida no processo de apoptose celular, e causou danos teciduais em planárias submetidas ao tratamento com SA. Resultados que corroboram com nossos estudos sobre a redução da viabilidade celular de *S. mansoni*.

Figura 9 – Efeitos *in vitro* causados por SA na viabilidade celular de vermes jovens (A) e vermes adultos (B)



Nota: Controles positivo foram tratados com PZQ 10 μM.

C1 (controle 1): vermes jovens incubados apenas em RPMI suplementado.

C2 (controle 2): vermes jovens incubados em RPMI suplementado + 1.0% de DMSO.

A viabilidade foi expressa como média ± Desvio Padrão (DP) dos valores de absorbância de seis experimentos. *** p < 0.001 comparado C2. #^C P < 0.001 comparado ao controle positivo (PZQ).

Fonte: autora (2023)

Os efeitos observados, tanto em planárias quanto em células cancerosas são atribuídos a hipótese de que a SA pode afetar o funcionamento da Na⁺/K⁺-ATPase. Estudos *in vitro* demonstram que SA causa inibição da Na⁺/K⁺-ATPase. O efeito supressor sobre a enzima provoca desequilíbrio na entrada e saída de íons e

nutrientes, além de alteração do pH intracelular e formação de EROs (Balestrini *et al.*, 2017).

Além da bomba de sódio e potássio, diversos alvos e mecanismos de ação podem estar envolvidos na atividade antiproliferativa e apoptótica da SA (Talaan *et al.*, 2021). Incluindo ação no sistema nervoso central, como reportado por Zhang e Coultas (2013), ao comparar os danos tegumentares causados por SA com os danos causados por plumbagina. À plumbagina, molécula da classe dos alcaloides, são atribuídas propriedades antiesquistossomóticas, incluindo a desintegração de estruturas tegumentares e fissuras na superfície corporal de *S. mansoni* (Zhang; Coultas, 2013).

Outros alcaloides como cassina e espectralina, são reportados como agentes lesivos ao tegumento, sendo este um importante alvo para o estudo da atividade de moléculas esquistossomicidas (Castro, 2015). Ao tecido tegumentar são atribuídas diversas funções como a proteção do parasito contra o sistema imune do hospedeiro, modulação e absorção de nutrientes, mecanismos de sobrevivência, osmorregulação e excreção. Além disso, possui diversas enzimas envolvidas na geração de ATP e manutenção do potencial de membrana (Harder, 2020).

6 CONCLUSÃO

SA apresentou parâmetros farmacocinéticos ADMET e biodisponibilidade oral adequados, além de elevada atividade esquistossomicida *in vitro* contra *S. mansoni*, especialmente contra as fases imaturas de esquistossômulos e vermes jovens. SA causou mortalidade em baixas concentrações e curto período de incubação, além de ter reduzido a viabilidade celular de vermes jovens e casais adultos. Sendo, portanto, uma molécula com perfil farmacológico promissor no tratamento e controle da infecção pelo *S. mansoni*.

REFERÊNCIAS

- ABOUELDAHAB, Marwa M.; ELHUSSIENY, E. A. Antiparasitic and physiological evaluation of Curcuma longa extract and/or PZQ on *Schistosoma mansoni* infected mice. *Int J Adv Res*, v. 4, n. 6, p. 1020-1039, 2016.
- AIRES, André de Lima et al. Ultrastructural analysis of β -lapachone-induced surface membrane damage in male adult *Schistosoma mansoni* BH strain worms. *Experimental Parasitology*, v. 142, p. 83-90, 2014.
- ALMEIDA, Hugo Miguel Ferreira. Métodos para o Incremento da Solubilidade de Substâncias Activas Pouco Solúveis (BCS–Classe II). 2009. Tese de Doutorado.
- ANVISA. Agência de Vigilância Sanitária. LEI Nº 9.787, DE 10 DE FEVEREIRO DE 1999. Altera a Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976, que dispõe sobre a vigilância sanitária, estabelece o medicamento genérico, dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá outras providências. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l9787.htm. Acesso em: 02 nov. 2023.
- ARAUJO, Hallysson DA 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.
- ARULEBA, Raphael T. et al. PZQ therapy: how close are we in the development of effective alternative anti-schistosomal drugs?. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, v. 19, n. 4, p. 337-349, 2019.
- BALESTRINI, Linda et al. The natural compound sanguinarine perturbs the regenerative capabilities of planarians. *International Journal of Developmental Biology*, v. 61, n. 1-2, p. 43-52, 2017.
- BARBOSA, Constança Simões et al. Epidemia de esquistossomose aguda na praia de Porto de Galinhas, Pernambuco, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 17, p. 725-728, 2001.
- BARBOSA, Constança Simões et al. Turismo de risco para esquistossomose mansônica em Porto de Galinhas, Estado de Pernambuco, Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, v. 6, n. 3, p. 8-8, 2015.
- BARRETO, Bianca Leão; LOBO, Claudia Gonçalves. Aspectos epidemiológicos e distribuição de casos de esquistossomose no Nordeste brasileiro no período de 2010 a 2017. *Revista Enfermagem Contemporânea*, v. 10, n. 1, p. 111-118, 2021.
- BERGQUIST, Robert; UTZINGER, Jürg; KEISER, Jennifer. Controlling schistosomiasis with praziquantel: How much longer without a viable alternative?. *Infectious diseases of poverty*, v. 6, p. 1-10, 2017.

BEZERRA JÚNIOR, Natanael da Silva et al. Obtenção, caracterização estrutural e estudo in silico e avaliação da atividade antimalárica de novos derivados tiossemicarbazônicos e tiazólicos. 2020.

BHAMBHANI, Sweta; KONDHARE, Kirtikumar R.; GIRI, Ashok P. Diversity in chemical structures and biological properties of plant alkaloids. *Molecules*, v. 26, n. 11, p. 3374, 2021.

BILHARZ, Th. Fernere mittheilungen über Distomun haematobium. *Z. Wiss. Zool*, v. 4, p. 454-456, 1853.

BODIMEADE, Christopher; MARKS, Michael; MABEY, David. Neglected tropical diseases: elimination and eradication. *Clinical Medicine*, v. 19, n. 2, p. 157, 2019.
BONAMICI, Denise. Sistema de classificação biofarmacêutica e bioisenoções. São Paulo, 2009.

BOTROS, Sanaa et al. Current status of sensitivity to praziquantel in a focus of potential drug resistance in Egypt. *International Journal for Parasitology*, v. 35, n. 7, p. 787-791, 2005.

BOWEN, David G. et al. The site of primary T cell activation is a determinant of the balance between intrahepatic tolerance and immunity. *The Journal of clinical investigation*, v. 114, n. 5, p. 701-712, 2004.

BURKE, M. L. et al. Immunopathogenesis of human schistosomiasis. *Parasite immunology*, v. 31, n. 4, p. 163-176, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico: Situação epidemiológica da esquistossomose mansoni no Brasil, 2010 a 2022. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde, v. 43, n. 53, p. 16-35, 2022a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde. Esquistossomose mansoni. In: Medeiros AC (Ed.), Guia de Vigilância em Saúde: volume único [recurso eletrônico]. 5ª Ed. revisada e atualizada, Brasília: Ministério da Saúde. cap. 9, p. 875–887. 2022b. Disponível em: [guia_vigilancia_saude_5ed_rev_atual.pdf](#). Acesso em: 20 jul. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Vigilância da Esquistossomose Mansoni: diretrizes técnicas. 4. ed. Brasília, 2014. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia_esquistossome_mansoni_diretrizes_tecnicas.pdf. Acesso em: 30 out. 2023.

BUCKLE, Derek R. et al. Glossary of terms used in medicinal chemistry. Part II (IUPAC Recommendations 2013). *Pure and Applied Chemistry*, v. 85, n. 8, p. 1725-1758, 2013.

CARLIN, Michelle G.; DEAN, John R.; AMES, Jennifer M. Opium alkaloids in harvested and thermally processed poppy seeds. *Frontiers in Chemistry*, v. 8, p. 737, 2020.

CARVALHO, A. T.; MARTINS FILHO, A. O.; OLIVEIRA, R. C. A resposta imune na forma crônica da esquistossomose mansoni. *Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar*. 20ª ed. Rio de Janeiro: Fiocruz, p. 670-716, 2008. Disponível em: <https://books.scielo.org/id/37vww/pdf/carvalho-9788575413708-24.pdf>. Acesso em: 31 out. 2023.

CARVALHO, Omar dos Santos et al. Distribuição geográfica dos hospedeiros intermediários do *Schistosoma mansoni* nos estados do Paraná, Minas Gerais, Bahia, Pernambuco e Rio Grande do Norte, 2012-2014. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 27, p. e2017343, 2018.

CASTRO, Andreísa Teixeira de et al. Avaliação do efeito do extrato, frações e alcaloides piperidínicos obtidos das flores de *Senna spectabilis* (DC.) sobre *Schistosoma mansoni*. 2015.

COELHO, Paulo Marcos Zech et al. Evolução do *Schistosoma mansoni* no hospedeiro intermediário. *Schistosoma mansoni & Esquistossomose: Uma visão multidisciplinar*. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, p. 147-160, 2008. Disponível em: <https://books.scielo.org/id/37vww/pdf/carvalho-9788575413708-05.pdf>. Acesso em: 31 out. 2023.

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

COON, David R. Schistosomiasis: overview of the history, biology, clinicopathology, and laboratory diagnosis. *Clinical Microbiology Newsletter*, v. 27, n. 21, p. 163-168, 2005.

COUTINHO, Eridan M. et al. Factors involved in *Schistosoma mansoni* infection, in rural areas of Northeast Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 92, p. 707-715, 1997.

CROAKER, Andrew et al. *Sanguinaria canadensis*: traditional medicine, phytochemical composition, biological activities and current uses. *International journal of molecular sciences*, v. 17, n. 9, p. 1414, 2016.

CRUZ, F. O. Praziquantel. *Farmanguinhos*. p. 1–8, 2016.

DA PAZ, Wandklebson Silva et al. Population-based, spatiotemporal modeling of social risk factors and mortality from schistosomiasis in Brazil between 1999 and 2018. *Acta Tropica*, v. 218, p. 105897, 2021.

DAINA, Antoine; MICHELIN, Olivier; ZOETE, Vincent. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*, v. 7, n. 1, p. 42717, 2017.

DANA, James Freeman. An account of some experiments on the root of the *Sanguinaria canadensis*. *Annals of The Lyceum of Natural History of New York*, v. 2, n. 1, p. 245-252, 1828.

DE ARAÚJO SOARES, Danielly et al. Avaliação epidemiológica da esquistossomose no estado de Pernambuco através de um modelo de regressão beta. *Archives of Health Sciences*, v. 26, n. 2, p. 116-120, 2019.

DI BELLA, Stefano et al. History of schistosomiasis (bilharziasis) in humans: from Egyptian medical papyri to molecular biology on mummies. *Pathogens and global health*, v. 112, n. 5, p. 268-273, 2018.

DOMLING, A.; KHOURY, K. Praziquantel and Schistosomiasis. *ChemMedChem*, n. 5, p. 1420–1434, 2010.

DUBEUX, Luciana Santos et al. Avaliação do programa de enfrentamento às doenças negligenciadas para o controle da esquistossomose mansônica em três municípios hiperendêmicos, Pernambuco, Brasil, 2014. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 28, p. e2018085, 2019.

EL-LAKKANY, Naglaa Mohamed; SEIF EL-DIN, Sayed Hassan. Haemin enhances the in vivo efficacy of artemether against juvenile and adult *Schistosoma mansoni* in mice. *Parasitology research*, v. 112, p. 2005-2015, 2013.

ENGELS, Dirk; ZHOU, Xiao-Nong. Neglected tropical diseases: an effective global response to local poverty-related disease priorities. *Infectious diseases of poverty*, v. 9, n. 01, p. 9-17, 2020.

ESCALONA-MONTAÑO, Alma Reyna et al. Protein serine/threonine phosphatase type 2C of *Leishmania mexicana*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, v. 11, p. 641356, 2021.

FDA. Food and Drug Administration. BILTRICIDE® TABLETS (praziquantel). 2010. Disponível em: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/018714s012lbl.pdf. Acesso em: 02 nov 2023.

FERREIRA, Leonardo LG; ANDRICOPULO, Adriano D. ADMET modeling approaches in drug discovery. *Drug discovery today*, v. 24, n. 5, p. 1157-1165, 2019.

FRANÇOIS, Noël. Hit, lead, drug candidate / Substância ativa, protótipo, candidato a fármaco. Sociedade Brasileira de Farmacologia e Terapêutica Experimental, 2019. Disponível em: https://sbfte.org.br/wp-content/uploads/2019/12/13.-Hit_Lead.pdf. Acesso em: 02 nov. 2023.

GOMES, Elaine C. de Souza et al. Urban schistosomiasis: an ecological study describing a new challenge to the control of this neglected tropical disease. *The Lancet Regional Health–Americas*, v. 8, 2022.

GRYSEELS, B. Schistosomiasis. *Infectious Disease Clinics of North America*, v. 26, n 2, p. 383–397, 2012.

GUPTA, Rohan et al. Artificial intelligence to deep learning: machine intelligence approach for drug discovery. *Molecular diversity*, v. 25, p. 1315-1360, 2021.

HARDER, Achim. Activation of transient receptor potential channel Sm. (*Schistosoma mansoni*) TRPM PZQ by PZQ, enhanced Ca⁺⁺ influx, spastic paralysis, and tegumental disruption—the deadly cascade in parasitic schistosomes, other trematodes, and cestodes. *Parasitology Research*, v. 119, p. 2371-2382, 2020.

HEFTI, Franz F. Requirements for a lead compound to become a clinical candidate. *BMC neuroscience*, v. 9, n. 3, p. 1-7, 2008.

HONG, Benke et al. Biosynthesis of strychnine. *Nature*, v. 607, n. 7919, p. 617-622, 2022.

HOPKINS, Andrew L. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery. *Nature chemical biology*, v. 4, n. 11, p. 682-690, 2008.

HUANG, H. et al. Sanguinarine has anthelmintic activity against the enteral and parenteral phases of trichinella infection in experimentally infected mice. *Acta tropica*, v. 201, p. 105226, 2020.

ISAH, Tasiu. Anticancer alkaloids from trees: Development into drugs. *Pharmacognosy reviews*, v. 10, n. 20, p. 90, 2016.

ISLAM, Muhammad Torequl et al. Anti-Schistosoma mansoni effects of essential oils and their components. *Phytotherapy Research*, v. 34, n. 8, p. 1761-1769, 2020.

JOÃO, Roberto Carlos Ferreira et al. *Schistosoma mansoni* (Trematoda: Digenea) Sambom, 1907: diagnóstico ultraestrutural e laboratorial. 2011. Tese de Doutorado.

JOHNSON, Cecil C.; JOHNSON, Gladys; POE, Charles F. Toxicity of alkaloids to certain bacteria. II. Berberine, physostigmine, and sanguinarine. *Acta Pharmacologica et Toxicologica*, v. 8, n. 1, p. 71-78, 1952.

KATZ, Naftale. A DESCOBERTA DA ESQUISTOSSOMOSE NO BRASIL. *Gazeta Médica da Bahia*, [s. l.], v. 78, n. 2, p. 123-125, 2008. Disponível em:

<http://gmbahia.ufba.br/index.php/gmbahia/article/viewFile/975/953>. Acesso em: 17 jul. 2023.

KATZ, Naftale. Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geohelmintoses. Belo Horizonte: FIOCRUZ; Instituto René Rachou, 2018. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/25662>. Acesso em: 20 jul. 2023.

KENNEDY, Tony. Managing the drug discovery/development interface. *Drug discovery today*, v. 2, n. 10, p. 436-444, 1997.

KHAMMO, N. et al. The attachment of *Schistosoma mansoni* cercariae to human skin cells. *Parasitology*, v. 124, n. 1, p. 25-30, 2002.

KINGSTON, David GI; CASSERA, Maria Belen. Antimalarial natural products. Springer International Publishing, 2022.

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.

KONIG, G. Über Papaveraceen-Alkaloïde. *Arch. Pharm*, v. 231, p. 177, 1893.

LAINES-HIDALGO, José Ignacio et al. An update of the sanguinarine and benzophenanthridine alkaloids' biosynthesis and their applications. *Molecules*, v. 27, n. 4, p. 1378, 2022.

LEI, Qi-fang et al. Chemical constituents of plants from tribe Chelidoniaceae and their bioactivities. *Chinese Herbal Medicines*, v. 6, n. 1, p. 1-21, 2014.

LENZI, Henrique Leonel et al. Migração e desenvolvimento de *Schistosoma mansoni* no hospedeiro definitivo. *Schistosoma mansoni* & esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p. 85-145, 2008. Disponível em: <https://books.scielo.org/id/37vww/pdf/carvalho-9788575413708-05.pdf>. Acesso em: 31 out. 2023.

LI, Weihong et al. BM6, a new semi-synthetic vinca alkaloid, exhibits its potent in vivo anti-tumor activities via its high binding affinity for tubulin and improved pharmacokinetic profiles. *Cancer biology & therapy*, v. 6, n. 5, p. 787-794, 2007.

LIPINSKI, Christopher A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews*, v. 23, n. 1-3, p. 3-25, 1997.

LIU, Wei et al. Antitussive, expectorant, and bronchodilating effects of quinazoline alkaloids (\pm)-vasicine, deoxyvasicine, and (\pm)-vasicinone from aerial parts of *Peganum harmala* L. *Phytomedicine*, v. 22, n. 12, p. 1088-1095, 2015.

LOVERDE, Philip T. Schistosomiasis. *Adv Exp Med Biol*, v. 1154, p. 45-70, 2019.

- MACKRAJ, I.; GOVENDER, Thirumala; GATHIRAM, Prem. Sanguinarine. *Cardiovascular Drug Reviews*, v. 26, n. 1, p. 75-83, 2008.
- MANSON, P. Report of a case of bilharzia from the West Indies. *British medical journal*, v. 2, n. 2190, p. 1894, 1902.
- MCMANUS, D. P. et al. Schistosomiasis. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 4, n. 1, p. 13, 2018.
- MERSCHJOHANN, Karin et al. In vitro effect of alkaloids on bloodstream forms of *Trypanosoma brucei* and *T. congolense*. *Planta Medica*, v. 67, n. 07, p. 623-627, 2001.
- METWALY, EMAN EA et al. Evaluation of plumbagin as a potential therapeutic agent for murine schistosomiasis mansoni. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, v. 50, n. 1, p. 1-9, 2020.
- MOSMANN, Tim. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.
- NELWAN, Martin L. Schistosomiasis: life cycle, diagnosis, and control. *Current Therapeutic Research*, v. 91, p. 5-9, 2019.
- NEPOMUCENO, Leandro Lopes et al. Padronização metodológica in vitro do ensaio colorimétrico MTT para avaliação da atividade de formazan e dosagem do fármaco: padronização do teste colorimétrico MTT. *Farmacologia Aplicada à Enfermagem: Aspectos Teóricos e Práticos*, p. 149-161, 2021.
- NEVES, D. P. *Parasitologia Humana*. 13. ed. Rio de Janeiro, Atheneu, 2016.
- NORINDER, Ulf; BERGSTRÖM, Christel AS. Prediction of ADMET properties. *ChemMedChem: Chemistry Enabling Drug Discovery*, v. 1, n. 9, p. 920-937, 2006.
- OLIVEIRA, Daniel Santos et al. Schistosomiasis mansoni in urban Northeast Brazil: influence of rainfall regime on the population dynamics of *Biomphalaria* sp. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 46, p. 654-657, 2013.
- PARK, Sang-Kyu et al. The anthelmintic drug praziquantel activates a schistosome transient receptor potential channel. *Journal of Biological Chemistry*, v. 294, n. 49, p. 18873-18880, 2019.
- PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde. Programa de Enfrentamento das Doenças Negligenciadas no Estado de Pernambuco SANAR – 2011- 2014. Recife, 2013. Disponível em: https://portal.saude.pe.gov.br/sites/portal.saude.pe.gov.br/files/plano_sanar_2011-2014.pdf. Acesso em: 30 out. 2023.

PIRES, Douglas EV; BLUNDELL, Tom L.; ASCHER, David B. pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *Journal of medicinal chemistry*, v. 58, n. 9, p. 4066-4072, 2015.

RAMALHO-PINTO, F. J. et al. *Schistosoma mansoni*: defined system for stepwise transformation of cercaria to schistosomule in vitro. *Experimental parasitology*, v. 36, n. 3, p. 360-372, 1974.

RANG, R. et al. Absorção e distribuição de fármacos. In: RANG, R. et al. Rang & Dale farmacologia. RANG, R. et al. 8. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2016^a. cap. 8, p. 278.

RANG, R. et al. Farmacocinética. In: RANG, R. et al. Rang & Dale farmacologia. RANG, R. et al. 8. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2016^a. cap. 10, p. 319.

ROCHA, Jefferson A. et al. Computational quantum chemistry, molecular docking, and ADMET predictions of imidazole alkaloids of *Pilocarpus microphyllus* with schistosomicidal properties. *PloS one*, v. 13, n. 6, p. e0198476, 2018.

ROCHA, Rubens Emanuel Tavares da. Avaliação da atividade esquistossomicida de tiossemicarbonas e tiazolidinas frente ao *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 2018.

ROSKAMS, Tania et al. Neuroregulation of the neuroendocrine compartment of the liver. *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology: An Official Publication of the American Association of Anatomists*, v. 280, n. 1, p. 910-923, 2004.

SANTOS, Aldenir Feitosa et al. A penta-substituted pyridine alkaloid from the rhizome of *Jatropha elliptica* (Pohl) Muell. Arg. is active against *Schistosoma mansoni* and *Biomphalaria glabrata*. *Parasitology Research*, v. 113, p. 1077-1084, 2014.

SANTOS, Mariana Cristina Silva; HELLER, Léo. Esquistossomose, geo-helmintíases e condições sanitárias na América Latina e Caribe: uma revisão sistemática. *Revista Panamericana de Salud Pública*, v. 47, p. e111, 2023.

SCHULZ, J. D. et al. Preventive Chemotherapy in the Fight against Soil-Transmitted Helminthiasis : Achievements and Limitations. *Trends in Parasitology*, v. 34, n. 7, p. 1– 13, 2018.

SIQUEIRA, Lidiany et al. Schistosomiasis: Drugs used and treatment strategies. *Acta tropica*, v. 176, p. 179-187, 2017.

SOUZA, Felipe Pereira Carlos de et al. Esquistossomose mansônica: aspectos gerais, imunologia, patogênese e história natural. *Rev Bras Clin Med*, v. 9, n. 4, p. 300-7, 2011.

SUN, Meng et al. Inhibition of Stat3 activation by sanguinarine suppresses prostate cancer cell growth and invasion. *The Prostate*, v. 72, n. 1, p. 82-89, 2012.

SwissADME, 2024. Disponível em: <http://www.swissadme.ch/>. Acesso em: 03 de janeiro de 2024.

TALAAM, Keith Kiplangat et al. Mitochondria as a potential target for the development of prophylactic and therapeutic drugs against *Schistosoma mansoni* infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 65, n. 10, p. 10.1128/aac.00418-21, 2021.

TAN, S. Y.; AHANA, A. Theodor Bilharz (1825-1862): discoverer of schistosomiasis. *Singapore medical journal*, v. 48, n. 3, p. 184-185, 2007.

THAWABTEH, Amin et al. The biological activity of natural alkaloids against herbivores, cancerous cells and pathogens. *Toxins*, v. 11, n. 11, p. 656, 2019.

THOMAS, Charlotte M.; TIMSON, David J. The mechanism of action of praziquantel: six hypotheses. *Current topics in medicinal chemistry*, v. 18, n. 18, p. 1575-1584, 2018.

UNIFESP. Atlas Virtual de Parasitologia, s. d. Disponível em: <https://atlasvirtualparasitologia.unifesp.br/galeria-de-fotos>. Acesso em: 03 de fevereiro de 2024

URSO, Renato; BLARDI, Patricia; GIORGI, Gianluca. A short introduction to pharmacokinetics. *European review for medical and pharmacological sciences*, v. 6, p. 33-44, 2002.

URSO, Renato; BLARDI, Patricia; GIORGI, Gianluca. A short introduction to pharmacokinetics. *European review for medical and pharmacological sciences*, v. 6, p. 33-44, 2002.

VALE, Nuno et al. Praziquantel for schistosomiasis: single-drug metabolism revisited, mode of action, and resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, v. 61, n. 5, p. 10.1128/aac.02582-16, 2017.

VEBER, Daniel F. et al. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of medicinal chemistry*, v. 45, n. 12, p. 2615-2623, 2002.

VERAS, L. et al. Activity of epiisopiloturine against *Schistosoma mansoni*. *Current Medicinal Chemistry*, v. 19, n. 13, p. 2051-2058, 2012.

WAGNER, John G. History of pharmacokinetics. *Pharmacology & therapeutics*, v. 12, n. 3, p. 537-562, 1981.

WANG, Gao-Xue et al. In vivo anthelmintic activity of five alkaloids from *Macleaya microcarpa* (Maxim) Fedde against *Dactylogyrus intermedius* in *Carassius auratus*. *Veterinary Parasitology*, v. 171, n. 3-4, p. 305-313, 2010.

WANG, Haina et al. Metabolic profiling of praziquantel enantiomers. *Biochemical pharmacology*, v. 90, n. 2, p. 166-178, 2014.

WANG, Tianfang et al. A *Biomphalaria glabrata* peptide that stimulates significant behaviour modifications in aquatic free-living *Schistosoma mansoni* miracidia. *PLoS neglected tropical diseases*, v. 13, n. 1, p. e0006948, 2019.

WHO. World Health Organization. Guideline on control and elimination of human schistosomiasis. Geneva: WHO, 2022.

WHO. World Health Organization. Schistosomiasis. Fact sheet detail. Disponível em: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis>. Acesso em: 26 out. 2023.

WILSON, Mark S. et al. Immunopathology of schistosomiasis. *Immunology and cell biology*, v. 85, n. 2, p. 148-154, 2007.

XIAO, Shu-hua; SUN, Jun. *Schistosoma* hemozoin and its possible roles. *International journal for parasitology*, v. 47, n. 4, p. 171-183, 2017.

YAO, Jia-Yun et al. Effect of sanguinarine from the leaves of *Macleaya cordata* against *Ichthyophthirius multifiliis* in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Parasitology Research*, v. 107, p. 1035-1042, 2010.

ZANI, Luciana Carvalho. Avaliação das dosagens de 40mg/kg e 60 mg/kg do praziquantel quanto à segurança e aspectos da morbidade da infecção por *S. mansoni* em adolescentes residentes em São Lourenço da Mata, área endêmica da esquistossomose em Pernambuco. 2013. Tese de Doutorado.

ZDESENKO, Grace; MUTAPI, Francisca. Drug metabolism and pharmacokinetics of praziquantel: A review of variable drug exposure during schistosomiasis treatment in human hosts and experimental models. *PLoS neglected tropical diseases*, v. 14, n. 9, p. e0008649, 2020.

ZHANG, Si-Ming; COULTAS, Kristen A. Identification of plumbagin and sanguinarine as effective chemotherapeutic agents for treatment of schistosomiasis. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, v. 3, p. 28-34, 2013.