

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas



JAMERSON FERREIRA DE OLIVEIRA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ESQUISTOSSOMICIDA DE
NOVOS DERIVADOS INDÓLICOS-TIAZOLIDÍNICOS-3,5-
DISSUBSTITUÍDOS**

Recife – 2013

JAMERSON FERREIRA DE OLIVEIRA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ESQUISTOSSOMICIDA DE NOVOS
DERIVADOS INDÓLICOS-TIAZOLIDÍNICOS-3,5-DISSUBSTITUÍDOS**

**Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas da Universidade Federal de
Pernambuco, para a obtenção do Título de
Mestre em Ciências Farmacêuticas.**

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Maria do Carmo Alves de Lima

Co-orientadora:

Prof^a. Dr^a. Sheilla Andrade de Oliveira

Recife – 2013

Catálogo na fonte
Bibliotecária: Gláucia Cândida da Silva, CRB4-1662

O48s Oliveira, Jamerson Ferreira de.
Síntese e avaliação da atividade esquistossomicida de novos derivados indólicos-tiazolidínicos-3, 5-dissubstituídos / Jamerson Ferreira de Oliveira.
– Recife: O autor, 2013.
104 folhas: il. ; 30 cm.

Orientadora: Maria do Carmo Alves de Lima.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2013.
Inclui bibliografia.

1. Esquistossomose. 2. Tiazolidinas. 3. Indolum. I. Lima, Maria do Carmo Alves de (Orientadora). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2013-140)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS



Recife, 06 de agosto de 2013.

Defesa de Dissertação de Mestrado de **Jamerson Ferreira de Oliveira** defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 06 de agosto de 2013 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE E PRIMEIRA EXAMINADORA INTERNA: Prof.^a Dr.^a Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque
(Depto. de Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: _____

PRIMEIRO EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Ricardo Olimpio de Moura
(Depto. de Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba - UEPB).

Assinatura: _____

SEGUNDO EXAMINADOR EXTERNO: Prof.^a Dr.^a Janaina Albuquerque Couto
(Depto. de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE).

Assinatura: _____

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Silvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Sousa Ramos

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. José Tadeu Pinheiros

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Márcio Antônio de Andrade Coelho Gueiros

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dalci José Brondani

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Antônio Rodolfo de Faria

COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof^a. Almir Gonçalves Wanderley

VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof^a. Ana Cristina Lima Leite

A toda minha família e amigos e em especial
minha mãe, Leny Oliveira (*in memoriam*), por ser meu maior exemplo de vida.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me manter sempre sereno e confiante, mesmo depois das intempéries ocorridas em minha vida,

Aos meus pais, Leny Oliveira (*in memorian*) e Ronaldo Oliveira, por todo exemplo de solidez familiar,

Ao meu irmão Deyvson, minha tia Iranir, meus avós Antonio e Olindina, primos por sempre acreditarem em mim,

À minha orientadora, Prof^a Maria do Carmo Alves de Lima, por todos os créditos em mim depositados e pela confiança recíproca que sentimos,

À minha co-orientadora, Prof^a Sheilla Andrade de Oliveira, por poder me proporcionar novas experiências profissionais e pessoais,

Aos professores, Prof^o Ivan da Rocha Pitta e Prof^a Suely Lins Galdino (*in memorian*) pela oportunidade e espaço de trabalho,

À professora Dra^a Milena Botelho e a Vinícius Pinto do CPqGM pelos testes de viabilidade celular realizados,

Aos amigos do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos, César; Íris; Josy; Amélia; Leidiane; Paula; Willams; Vinícius; Luana; Elizabeth, por fazerem parte no meu dia-a-dia de trabalho e em especial à Marcella, Gustavo e Tiago Bento, por participarem diretamente na realização deste trabalho,

Aos amigos do Laboratório de Imunopatologia e Biologia Molecular, Carol; Camila; Leyllane; Renata; Andreia; Veruska; Roni e em especial a “turma da droga”, Anekécia; Edna e Sérgio, pela amizade e por tudo o que foi vivido e aprendido durante esse tempo,

Aos amigos que a vida nos coloca no caminho, Talitha, Nayara, Gustavo, pelos momentos de descontração que me proporcionaram extrema felicidade e também pelos momentos difíceis nos quais vocês se fizeram presentes,

Aos funcionários da Central Analítica do DQF-UFPE, em especial a Eliete Barros e Abene Ribeiro, pelas análises espectroscópicas,

A todos meus amigos, em especial a Alice, Charles, Daniel, Danilo, Gevanio, Priscylla, Laíse, Lindinaura, Thaíse, Tiago pela convivência durante o curso de graduação e alguns até o presente momento,

Ao CNPq, FACEPE, pelo suporte financeiro.

RESUMO

Diante do cenário atual evidenciado pela possível resistência que as cepas de *S. mansoni* vêm desenvolvendo ao praziquantel associado ao fato dos derivados tiazolidínicos possuírem diversas atividades biológicas comprovadas, este trabalho teve como objetivo a planejamento estrutural, a síntese e avaliação da atividade esquistossomicida de novos derivados indólicos-tiazolidínicos-3,5-dissubstituídos a fim de contribuir no tratamento da esquistossomose mansônica. Neste estudo, uma série de oito compostos indólicos-tiazolidínicos foi sintetizada em três etapas utilizando reações clássicas de N-alkilação, condensação de Knoevenagel e adição de Michael e avaliados quanto a seu potencial citotóxico e atividade esquistossomicida *in vitro* frente aos parasitos adultos do *S. mansoni*. Os compostos foram devidamente caracterizados através de técnicas espectroscópicas convencionais e apresentaram rendimentos satisfatórios bem como uma promissora atividade esquistossomicida *in vitro* com uma taxa de mortalidade de 100% dos parasitos observada pelos compostos LPSF/GQ-238 (100, 80, 40 e 20 µg/mL), LPSF/GQ-242 (100, 80, 40 e 20 µg/mL), LPSF/GQ-399 (100 µg/mL), LPSF/GQ-368 (100, 80 e 40 µg/mL), que se destacaram frente aos demais compostos testados, sendo estes todos substituídos no núcleo indólico por um átomo de bromo. Diante dos resultados obtidos, foi possível concluir que os derivados indólicos-tiazolidínicos podem ser considerados potenciais candidatos a fármacos esquistossomicidas, sendo necessários estudos complementares *in vivo* a fim de comprovar seu potencial terapêutico.

Palavras-chaves: Esquistossomose. Tiazolidinas. Indol.

ABSTRACT

Given the current scenario evidenced by possible resistance to the strains of *S. mansoni* to praziquantel have been developing along with the fact thiazolidinics derivatives possess various biological activities proven, this study aimed to structural planning, synthesis and activity evaluation of new derivatives schistosomicidal thiazolidinics-indole-3,5-disubstituted to contribute in treatment of schistosomiasis. In this study, a series of eight indole-thiazolidinics compounds was synthesized in three steps using classical reactions of N-alkylation, Knoevenagel condensation and Michael addition and evaluated for their potential cytotoxic and schistosomicidal activity *in vitro* against adult parasites of *S. mansoni*. The compounds were characterized by conventional spectroscopic techniques well and showed satisfactory yields a promising schistosomicidal activity *in vitro* at a rate of 100% mortality by the compounds of parasites observed LPSF/GQ-238 (100, 80, 40 and 20 µg/mL) LPSF/GQ-242 (100, 80, 40 and 20 µg/mL) LPSF/GQ-399 (100 µg/mL) LPSF/GQ-368 (100, 80 and 40 µg/mL), which is emphasized compared to other compounds tested, all these indole nucleus substituted by a bromine atom. Considering the results obtained, it was concluded that the indole-thiazolidinics derivatives can be considered potential candidates for antischistosomal drugs, requiring further studies *in vivo* in order to prove their therapeutic potential.

Keywords: Schistosomiasis. Thiazolidines. Indole.

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Síntese da tiazolidina-2-4-diona (LIMA, 1998).....	44
Esquema 2: Reação de oxidação (LIESEN et al., 2008).....	45
Esquema 3: Esquema da reação de N-alquilação (BARROS et al., 2010).....	46
Esquema 4: Reação para a formação da 4-tioxo-tiazolidin-2-ona (GOUVEIA et al., 2009).....	47
Esquema 5: Reação de Condensação de Knoevenagel (BOZDAG-DUNDAR et al., 2007).....	47
Esquema 6: Reação de adição de Michael (MOURÃO et al., 2005).....	48
Esquema 7: Formação do sal imina na reação de Mannich (CLAYDEN, GREEVES & WARREN, 2000).....	48
Esquema 8: Reação de Mannich utilizando as tiazolidinonas (LOBO et al., 2012).....	49
Esquema 9: Reação de Diazotação evidenciando a formação da ligação C=N (DIXIT et al., 2012).....	50
Esquema 10: Diagrama de síntese dos derivados indólicos-tiazolidínicos.....	52
Esquema 11: Mecanismo reacional de N-alquilação conduzindo às 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ).....	58
Esquema 12: Mecanismo reacional da condensação de Knoevenagel conduzindo aos ésteres cianocinâmicos (LPSF/IP).....	59
Esquema 13: Mecanismo reacional da adição de Michael conduzindo aos derivados indólicos-tiazolidínicos (LPSF/GQ).....	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Distribuição global das espécies de <i>Schistosoma</i> (UTZINGER et al., 2010).....	24
Figura 2: Áreas endêmicas da esquistossomose mansoni no Brasil (BRASIL, 2009).....	25
Figura 3: Fêmea do <i>S. mansoni</i> no canal ginecofórico do macho no instante da cópula (GRYSEELS, 2012).....	25
Figura 4: Cercária penetrando a pele (à esquerda) e esquistossômulo após a penetração (à direita) (LAMBERTUCCI, 2010).....	26
Figura 5: Ciclo de vida da esquistossomose mansoni. 1: vermes adultos do <i>S. mansoni</i> ; 2: ovos; 3: Miracídios; 4: molusco do gênero <i>Biomphalaria glabrata</i> ; 5: cercárias (adaptada de GRYSEELS, 2012).....	27
Figura 6: Sintomatologia clínica da fase crônica da esquistossomose, hepatoesplenomegalia (GRYSEELS, 2012).....	28
Figura 7: Estruturas químicas da Oxamniquine e do Praziquantel (CIOLI, PICAMATTOCCIA & ARCHER, 1995).....	29
Figura 8: Derivado da Trioxaquina PA1259 (BOISSIER et al., 2009).....	31
Figura 9: Núcleo do oxadiazol-2-óxido (SAYED et al., 2008).....	32
Figura 10: Composto testado com maior taxa de mortalidade (SAYED et al., 2008).....	33
Figura 11: Mefloquina (KEISER et al., 2009).....	34
Figura 12: Microscopia Eletrônica de Varredura realizada com vermes de <i>S. mansoni</i> evidenciando as lesões no tegumento após tratamento com Mefloquina 100 µg/mL (MANNECK, HAGGENMULLER & KEISER, 2010).....	34
Figura 13: Potenciais candidatos imidazolidínicos a atividade esquistossomicida	36
Figura 14: Via redox em mamíferos, evidenciando a presença de dois sistemas distintos (TrxR e GR) e em <i>S. mansoni</i> evidenciando um complexo multifuncional (TGR) (KUNTZ et al., 2007).....	39
Figura 15: Mecanismos de transcrição do gene de PPAR. No estado inativado, o PPAR interage com o corepressor inibindo o processo de transcrição. Após a ligação do ligante exógeno (fármaco) ou ligante endógeno (ácidos graxos, prostaglandinas, etc), o PPAR é ativado e heterodimerizado com RXR e recruta	

coativadores facilitando a transcrição de vários genes (MONSALVE et al., 2013).	41
Figura 16: Representação da tríade no processo de planejamento de fármacos (BARREIRO et al., 2002).....	42
Figura 17: Exemplo de bioisosterismo (SINGH et al., 1981).....	43
Figura 18: Reatividade do núcleo da tiazolidina-2,4-diona (LIESEN et al., 2008)..	45
Figura 19: Estrutura química do Reagente de Lawesson (OZTURK, ERTAS & MERT, 2007).....	46
Figura 20: Espectro de Infravermelho (IV) do LPSF/GQ-369.....	62
Figura 21: Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹ H) do LPSF/GQ-369.....	63
Figura 22: Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono treze (RMN ¹³ C) do LPSF/GQ-369.....	63
Figura 23: Bioisosterismo apresentado entre o indol e a quinolina.....	80
Figura 24: Bioisosterismo de anel presente na Mefloquina, Trioxaquina e nos derivados indólicos-tiazolidínicos.....	82
Figura 25: Bioisosterismo existente nos derivados imidazolidínicos e indólicos-tiazolidínicos.....	82
Figura 26: Importância da porção benzílica nos derivados indólicos-tiazolidínicos.....	83
Figura 27: Porções dos derivados indólicos-tiazolidínicos.....	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados físico-químicos dos derivados indólicos-tiazolidínicos.....	64
Tabela 2: Viabilidade celular em macrófagos dos derivados indólicos-tiazolidínicos.....	71
Tabela 3: Motilidade de vermes controles e tratados com praziquantel (PZQ) e com os derivados indólicos-tiazolidínicos LPSF/GQ-83 e LPSF/GQ-399 em diferentes tempos pós-incubação.....	72
Tabela 4: Motilidade de vermes controles e tratados com praziquantel (PZQ) e com os derivados indólicos-tiazolidínicos LPSF/GQ-199 e LPSF/GQ-238 em diferentes tempos pós-incubação.....	74
Tabela 5: Motilidade de vermes controles e tratados com praziquantel (PZQ) e com os derivados indólicos-tiazolidínicos LPSF/GQ-241 e LPSF/GQ-242 em diferentes tempos pós-incubação.....	76
Tabela 6: Motilidade de vermes controles e tratados com praziquantel (PZQ) e com os derivados indólicos-tiazolidínicos LPSF/GQ-368 e LPSF/GQ-369 em diferentes tempos pós-incubação.....	78

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Taxa de mortalidade dos vermes adultos de <i>S. mansoni</i> frente ao derivado indólico-tiazolidínico LPSF/GQ-83.....	73
Gráfico 2: Taxa de mortalidade dos vermes adultos de <i>S. mansoni</i> frente ao derivado indólico-tiazolidínico LPSF/GQ-399.....	73
Gráfico 3: Taxa de mortalidade dos vermes adultos de <i>S. mansoni</i> frente ao derivado indólico-tiazolidínico LPSF/GQ-199.....	75
Gráfico 4: Taxa de mortalidade dos vermes adultos de <i>S. mansoni</i> frente ao derivado indólico-tiazolidínico LPSF/GQ-238.....	75
Gráfico 5: Taxa de mortalidade dos vermes adultos de <i>S. mansoni</i> frente ao derivado indólico-tiazolidínico LPSF/GQ-241.....	77
Gráfico 6: Taxa de mortalidade dos vermes adultos de <i>S. mansoni</i> frente ao derivado indólico-tiazolidínico LPSF/GQ-242.....	77
Gráfico 7: Taxa de mortalidade dos vermes adultos de <i>S. mansoni</i> frente ao derivado indólico-tiazolidínico LPSF/GQ-368.....	79
Gráfico 8: Taxa de mortalidade dos vermes adultos de <i>S. mansoni</i> frente ao derivado indólico-tiazolidínico LPSF/GQ-369.....	79

SUMÁRIO

1	Introdução.....	18
2	Objetivos.....	21
3	Revisão da Literatura.....	23
3.1	Introdução e Distribuição geográfica.....	23
3.2	Ciclo de vida.....	25
3.3	Doença.....	27
3.4	Tratamento.....	28
3.5	Possibilidade de resistência ao praziquantel.....	30
3.6	Alternativas de novos fármacos.....	30
3.6.1	Trioxaquinas.....	31
3.6.2	Oxadiazóis.....	32
3.6.3	Mefloquina.....	33
3.6.4	Imidazolidinas.....	35
3.6.5	Tiazolidinas.....	37
3.7	Promissores alvos biológicos.....	37
3.7.1	Tiorredoxina Glutationa Redutase.....	37
3.7.2	Via de síntese das purinas.....	39
3.7.3	Receptores ativados por proliferador de peroxissomas – PPARs.....	40
3.8	Importância da Química Medicinal na pesquisa de novos fármacos	42
3.8.1	Planejamento de fármacos baseado na estrutura do ligante e do alvo biológico.....	43
3.9	Química das tiazolidinas: importância e reatividade.....	44
3.9.1	Oxidação.....	45
3.9.2	N-alquilação.....	45
3.9.3	Tionação.....	46
3.9.4	Condensação de Knoevenagel.....	47
3.9.5	Adição de Michael.....	47
3.9.6	Reação de Mannich.....	48
3.9.7	Diazotação.....	49
4	Metodologia.....	51
4.1	Estudo Químico.....	51
4.1.1	Material e Métodos.....	51

4.1.2 Equipamentos.....	51
4.1.3 Reagentes e solventes.....	51
4.1.4 Procedimento experimental para obtenção dos derivados indólicos-tiazolidínicos.....	52
4.1.5 Métodos.....	53
4.1.5.1 Síntese dos derivados 3-benzil-tiazolidina-2,4-dionas substituídos (LPSF/GQ).....	53
4.1.5.2 Síntese dos derivados 3-indolil-2-ciano-acrilatos de etila (LPSF/IP).....	53
4.1.5.3 Síntese dos derivados 5-(indol-3il-metileno)-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ).....	53
4.2 Estudo Biológico.....	54
4.2.1 Materiais.....	54
4.2.2 Métodos.....	55
4.2.2.1 Viabilidade celular.....	55
4.2.2.2 Avaliação da suscetibilidade <i>in vitro</i> de vermes adultos de <i>Schistosoma mansoni</i> frente aos derivados indólicos-tiazolidínicos.....	55
5 Resultados e Discussão.....	58
5.1 Mecanismos reacionais.....	58
5.1.1 Mecanismo de N-alkilação.....	58
5.1.2 Mecanismo de Condensação de Knoevenagel.....	59
5.1.3 Mecanismo de Adição de Michael.....	60
5.2 Análise espectroscópica.....	61
5.2.1 3-(4-metilsulfanil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-365).....	64
5.2.2 3-(2,6-diflúor-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-175).....	65
5.2.3 3-(2-cloro-6-flúor-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-52).....	65
5.2.4 3-(3,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-142).....	65
5.2.5 2-ciano-3-(1 <i>H</i> -indol-3-ilmetileno)-acrilato de etila (LPSF/IP-19).....	66
5.2.6 2-ciano-3-(5-bromo-1 <i>H</i> -indol-3-ilmetileno)-acrilato de etila (LPSF/IP-59).....	66
5.2.7 3-(2-cloro-6-flúor-benzil)-5-(1 <i>H</i> -indol-3-ilmetileno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-83).....	66

5.2.8	3-(2-cloro-6-flúor-benzil)-5-(5-bromo-1 <i>H</i> -indol-3-ilmetileno)- tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-399).....	67
5.2.9	3-(2,6-diflúor-benzil)-5-(1 <i>H</i> -indol-3-ilmetileno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-199).....	67
5.2.10	3-(2,6-diflúor-benzil)-5-(5-bromo-1 <i>H</i> -indol-3-ilmetileno)-tiazolidina- 2,4-diona (LPSF/GQ-238).....	68
5.2.11	3-(3,4-dicloro-benzil)-5-(1 <i>H</i> -indol-3-ilmetileno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-241).....	68
5.2.12	3-(3,4-dicloro-benzil)-5-(5-bromo-1 <i>H</i> -indol-3-ilmetileno)-tiazolidina- 2,4-diona (LPSF/GQ-242).....	69
5.2.13	3-(4-metilsulfanil-benzil)-5-(5-bromo-1 <i>H</i> -indol-3-ilmetileno)- tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-368).....	69
5.2.14	3-(4-metilsulfanil-benzil)-5-(1 <i>H</i> -indol-3-ilmetileno)-tiazolidina-2,4- diona (LPSF/GQ-369).....	70
5.2	Estudo biológico.....	70
6	Considerações Finais e Perspectivas.....	86
	Referências.....	89



INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A esquistossomose mansônica, que é uma parasitose causada pelo verme trematódeo *Schistosoma mansoni*, continua sendo considerada um grave problema de saúde pública. No Brasil, cerca de 25 milhões de pessoas estão em áreas de risco passíveis de contrair a doença, além de se estimar que 6,8 milhões de pessoas estejam infectadas com *S. mansoni* (BRASIL, 2010; LAMBERTUCCI, 2010, BRASIL, 2011).

A quimioterapia da doença é realizada com o praziquantel (2-ciclohexilcarbonil-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4*H*-pirazino-(2,1- α)-isoquinolin-4-ona). Desde que foi introduzido na terapêutica da esquistossomose, o praziquantel tem sido amplamente utilizado para controle da morbidade em áreas endêmicas. No entanto, devido ao seu uso excessivo como monoterapia, têm surgido casos de resistência (RIBEIRO-DOS-SANTOS, VERJOVSKI-ALMEIDA & LEITE, 2006; DOENHOFF, CIOLI & UTZINGER, 2008).

Essa problemática envolvendo o praziquantel tem despertado o interesse da pesquisa para a descoberta de novos fármacos, onde vários estudos promissores têm sido apontados como alternativas terapêuticas no tratamento da esquistossomose. Os compostos que mais se destacam são os oxadiazóis (SAYED et al., 2008), as trioxaquinas (BOISSIER et al., 2009; PRADINES et al., 2011), a mefloquina (VAN NASSAUW et al., 2008; KEISER et al., 2009 & MANNECK, HAGGENMULLER & KEISER, 2010) e as imidazolidinas (OLIVEIRA et al., 2004; PITTA et al., 2006 & SILVA et al., 2012).

Dentre as estratégias mais utilizadas na busca de novos compostos bioativos, o bioisosterismo se apresenta como uma ferramenta bastante útil para o planejamento e descoberta de novos fármacos. A aplicação desta técnica é evidenciada nos trabalhos de Barreiro et al. (2002) e nos trabalhos de Pitta et al. (2006), sendo este último, a aplicação da técnica voltada para a esquistossomose (BARREIRO & FRAGA, 2008; BARREIRO et al., 2002 & PITTA et al., 2006).

As tiazolidinas são compostos pentagonais heterociclos que possuem diversas atividades biológicas como antiinflamatória (BARROS et al., 2010), antinociceptiva (PAVIN et al., 2011), antimicrobiana (SAKHUJA et al., 2011; TOMASIC et al., 2011; ZIDAR et al., 2010) antitumoral (MOURÃO et al., 2005; WANG et al., 2011), inibidor da ciclooxigenase/lipoxigenase (ELEFTHERIOU et al.,

2012), inibidor da tirosinase (HA et al., 2012), inibidor da neuraminidase (LIU et al., 2011), anti-*Trypanosoma cruzi* (MOREIRA et al., 2013), antimalárica (RUIZ et al., 2011), antidiabética (AMATO et al., 2012), antioxidante (GOUDA & ABU-HASHEM, 2011; BERCZYNSKI et al., 2012). Logo, as tiazolidinas surgem como perspectivas de novos fármacos podendo, assim, contribuir nos estudos para a descoberta de compostos potencialmente bioativos.

Dessa forma, devido à monoterapia associada aos casos de resistência relatados ao praziquantel e também ao amplo potencial biológico que as tiazolidinas apresentam, o presente trabalho visa a síntese e avaliação esquistossomicida *in vitro* de novos compostos.



OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

A seguir descreveremos todos os objetivos que fazem parte deste trabalho.

2.1 Geral

O presente estudo tem como finalidade a síntese de novos derivados indólicos-tiazolidínicos, tendo em vista busca de novos agentes terapêuticos com potencial atividade esquistossomicida.

2.2 Específicos

- ✓ Realizar a síntese de 8 novos compostos da série indólicos-tiazolidínicos (LPSF/GQ);
- ✓ Caracterizar estruturalmente os compostos através de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN ^1H), Ressonância Magnética Nuclear de carbono treze (RMN ^{13}C), espectroscopia de absorção no infravermelho;
- ✓ Avaliar a citotoxicidade dos compostos indólicos-tiazolidínicos frente a macrófagos J774;
- ✓ Avaliar a suscetibilidade *in vitro* de vermes adultos de *S. mansoni* (CEPA LE) frente aos derivados indólicos-tiazolidínicos sintetizados.

REVISÃO DA LITERATURA

3 REVISÃO DA LITERATURA

Os subtópicos deste capítulo perfazem a revisão minuciosa da bibliografia acerca da esquistossomose mansônica.

3.1 Introdução e Distribuição geográfica

A esquistossomose é um grave problema de saúde pública causada por vermes trematódeos do gênero *Schistosoma*. Atualmente, essa parasitose afeta cerca de 240 milhões de pessoas em todo o mundo, além de se estimar que mais de 700 milhões habitem áreas de risco. A infecção por estes parasitos é mais prevalente em regiões tropicais e subtropicais do mundo, onde o acesso à água potável e o saneamento básico é, em sua maioria, escasso (WHO, 2012).

A esquistossomose mansônica também é conhecida como “barriga d’água”, “xistossomose”, “xistosa” ou “doença do caramujo”, mas também pode ser chamada de bilharziose devido à sua descoberta por Theodore Bilharz (REY, 2008).

Existem seis tipos de espécies conhecidas de *Schistosoma*, sendo que destas, três são de grande importância no mundo, o *Schistosoma haematobium* que causa a esquistossomose urinária e o *Schistosoma japonicum* e *Schistosoma mansoni* que causam a esquistossomose intestinal. As infecções por *Schistosoma intercalatum*, *Schistosoma malayensis* e *Schistosoma mekongi* são bem focais e por isso de menor importância. No mundo 77 países são afetados com as principais espécies de *Schistosoma* ocorrem da seguinte maneira: *S. mansoni* encontrado na África, Oriente Médio, Caribe, Brasil, Venezuela e Suriname; *S. haematobium* encontrado na África e Oriente Médio e o *S. japonicum* encontrado na China, Filipinas e Indonésia (Figura 1) (FALLON, 1998; GRYSEELS, 2012; WHO, 2012).

Dentre as espécies, o *S. mansoni* é o agente etiológico da parasitose no Brasil, onde afeta cerca de 6,8 milhões de pessoas além de ser estimado que 25 milhões destas estejam susceptíveis a contrair a parasitose (WHO, 2010; BRASIL, 2011).

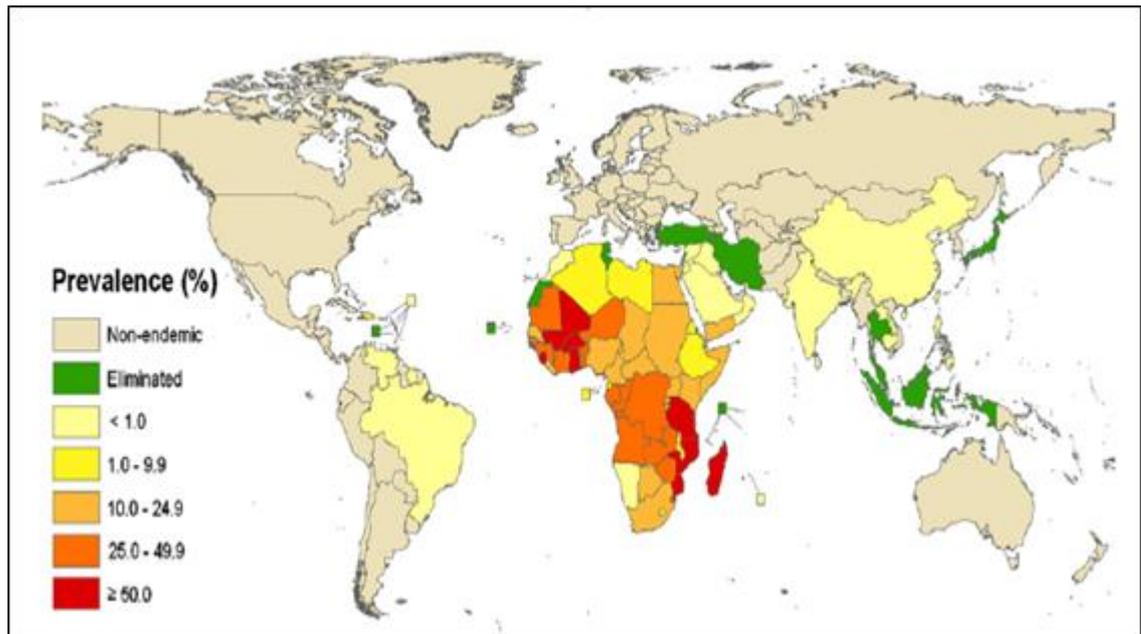


Figura 1. Distribuição global das espécies de *Schistosoma* (UTZINGER et al., 2010).

No território brasileiro, ocorre de forma endêmica nos estados do nordeste, sendo distribuída em Alagoas, Maranhão, Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte (faixa litorânea), Paraíba, Sergipe, e sudeste no Espírito Santo e Minas Gerais. No Pará, Piauí, Ceará, Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina, Paraná, Rio Grande do Sul, Goiás e no Distrito Federal, a transmissão é focal, não atingindo grandes áreas (Figura 2) (BRASIL, 2011).

No período de 2006 e 2007, Pernambuco apresentava o seguinte panorama epidemiológico: 92 dos 186 municípios registraram endemia da parasitose, onde as prevalências mais altas encontravam-se em localidades dos municípios das bacias do Capibaribe, Una, Sirinhaém, Ipojuca, Jaboatão dos Guararapes e Goiana (BRASIL, 2007). Em 2011, observou-se um aumento dos municípios pernambucanos afetados, passando de 92 para 102, o que justifica o estado de Pernambuco ter, no período entre 2005 a 2010, a maior taxa de mortalidade no Brasil (BRASIL, 2011a).

Dentre os 43 municípios que compõem a Zona da Mata pernambucana, 26 mereceram maior atenção: Água Preta, Aliança, Barreiros, Belém de Maria, Buenos Aires, Catende, Chã de Alegria, Condado, Cortês, Escada, Gameleira, Itambé, Itaquitanga, Jaqueira, Macaparana, Maraial, Nazaré da Mata, Palmares, Primavera, Quipapá, Ribeirão, Rio Formoso, Timbaúba, São Benedito do Sul, Vicência e Xexéu (BARBOSA et al., 2006).

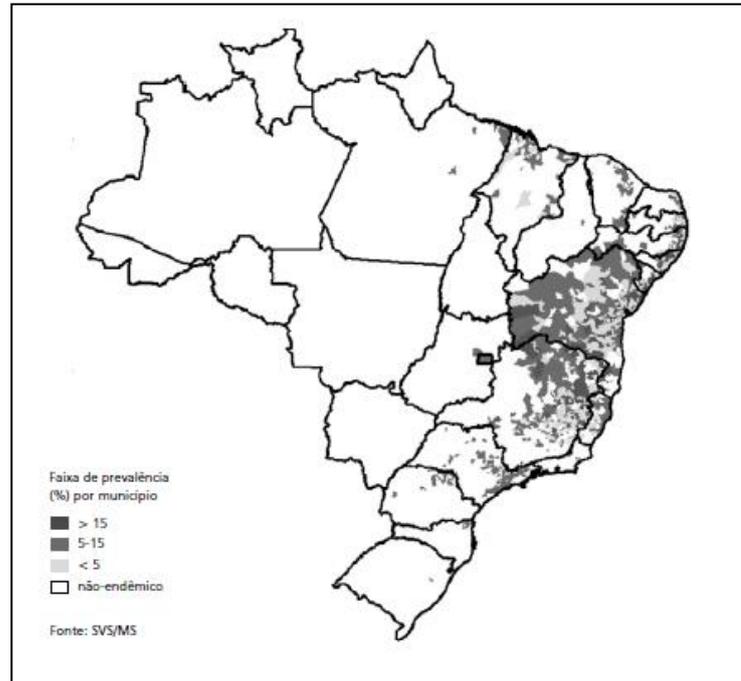


Figura 2. Áreas endêmicas da esquistossomose mansoni no Brasil (BRASIL, 2009).

3.2 Ciclo de vida

A fêmea do *S. mansoni*, após ser copulada pelo macho (Figura 3), libera seus ovos nas veias mesentéricas. Cada fêmea libera cerca de 100-300 ovos ao dia com dimensões de aproximadamente 150 μm de comprimento por 65 μm de largura, que são facilmente identificados pela presença de um espículo lateral. Uma parte desses ovos migra para o intestino enquanto a outra é levada para a circulação portal (LENZI et al., 2008).



Figura 3. Fêmea do *S. mansoni* no canal ginecóforico do macho no instante da cópula (GRYSEELS, 2012).

Os ovos que caem no intestino, logo são excretados juntamente com as fezes que em contato com a água doce e em condições ideais tais como hipotonicidade, e

a movimentação do embrião, eclodem liberando o miracídio. Estes permanecem na água doce até o instante do encontro com o hospedeiro intermediário que são os caramujos do gênero *Biomphalaria*. Esses miracídios, então, podem penetrar nos tecidos do caramujo onde darão origem aos esporocistos. Os mesmos, através de poliembrionia, dão origem às cercárias que com incidência de luminosidade e temperatura, o abandonam e retornam à água. Um único miracídio pode dar origem a 100-300 mil cercárias (LENZI et al., 2008).

As cercárias (Figura 4A) são a forma infectante para o hospedeiro definitivo que pode ser o homem ou pequenos mamíferos. Elas são formadas por corpo e cauda, e quando recém-eliminadas nadam ativamente com movimentos promovidos pela cauda até o encontro com o hospedeiro definitivo. Ao entrar em contato com pele e mucosas do hospedeiro, as cercárias perdem a cauda em um processo o qual não ultrapassa mais que 15 minutos, e se transformam rapidamente em esquistossômulos (Figura 4B) (LENZI et al., 2008; LAMBERTUCCI, 2010; GRYSEELS, 2012).

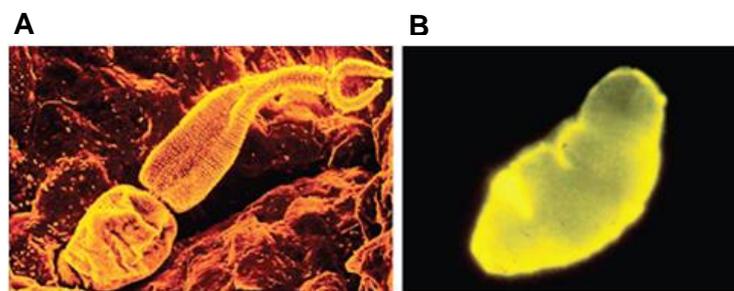


Figura 4. Cercária penetrando a pele (à esquerda) e esquistossômulo após a penetração (à direita), (LAMBERTUCCI, 2010).

Os esquistossômulos migram da epiderme para a derme e então ganham a corrente sanguínea ou linfática. Uma vez na corrente sanguínea, eles passam pela pequena circulação chegando até os pulmões. Após uma semana de infecção, esses esquistossômulos chegam ao fígado, se alimentam de sangue, desenvolvem-se e após 4-6 semanas dão origem aos vermes adultos. Depois de desenvolvidos, os parasitos acasalam e migram para as veias mesentéricas, onde ocorrerá a postura dos ovos, completando o ciclo de vida do parasito (Figura 5) (GRYSEELS, 2012).

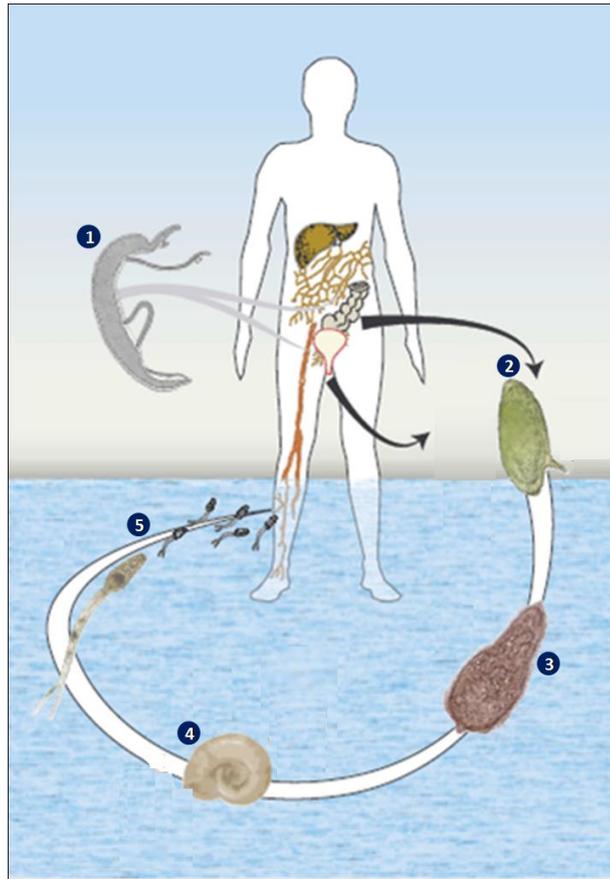


Figura 5. Ciclo de vida da esquistossomose mansoni. 1: vermes adultos do *S. mansoni*; 2: ovos; 3: Miracídeos; 4: molusco do gênero *Biomphalaria glabrata*; 5: cercárias (GRYSEELS, 2012/adaptada).

3.3 Doença

A patologia da esquistossomose compreende uma fase aguda e uma fase crônica. Em geral, a fase aguda é caracterizada por febre, calafrios, fraqueza, perda de peso, dor de cabeça, náuseas, vômitos, diarreia, hepatomegalia, esplenomegalia e eosinofilia marcante (LAMBERTUCCI et al., 2000). A maioria dos pacientes se recupera num período de um a dois meses com o tratamento específico, porém em outros, após nova exposição à água contaminada e sem tratamento adequado, a parasitose persiste e os indivíduos infectados podem desenvolver outras formas mais graves da doença pela disseminação de vermes e ovos em outros locais do corpo (GRYSEELS, 2012).

Fatores como a alta carga parasitária, associada à reinfecção e/ou deposição contínua de ovos, sem que haja tratamento adequado faz com que haja uma maior severidade da resposta inflamatória sobre os ovos do parasito o que pode conduzir a

parasitose a fase crônica (LAMBERTUCCI et al., 2000; REY, 2008; GRYSEELS, 2012).

Com a deposição dos ovos no fígado, será desencadeada uma resposta inflamatória com formação do granuloma e a persistência desse antígeno pode levar a fibrose hepática, com aumento do fígado, hepatomegalia, (Figura 6) e posterior hipertensão portal (CONLON, 2005). A condução dessa hipertensão portal está associada à redução do fluxo sanguíneo na veia porta devido à formação do tecido fibroso cicatricial (REY, 2008), decorrente da formação do granuloma (PETROIANU, 2003). A oclusão dos vasos hepáticos também pode ser provocada pelo próprio parasito vivo ou principalmente morto, nos casos de alta carga parasitária. A principal preocupação associada à hipertensão portal é a formação de varizes esofágicas e gástricas o que pode levar a um sangramento digestório (PETROIANU, 2003).

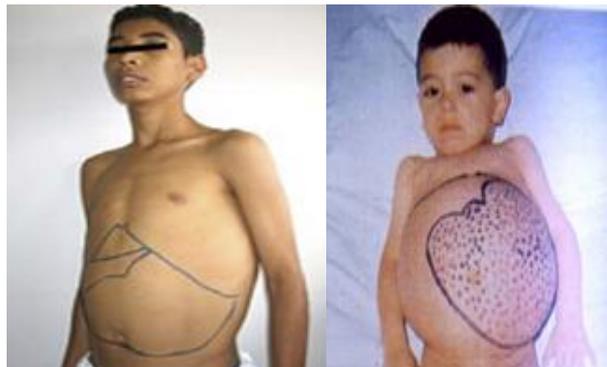


Figura 6. Sintomatologia clínica da fase crônica da esquistossomose, hepatoesplenomegalia (GRYSEELS, 2012).

3.4 Tratamento

A profilaxia da esquistossomose se baseia na educação sanitária associada ao saneamento básico. A quimioterapia tem por objetivo a cura dos pacientes infectados. Vários fármacos já compuseram o arsenal terapêutico da parasitose como os compostos antimoniais, emetina, niridazol, metrifonato, nitrofuranos, lucantone, hicantone. Contudo, devido à diversidade de efeitos colaterais apresentados pelos mesmos, todos foram retirados (CIOLI, PICA-MATTOCCIA & ARCHER, 1995).

Outro fármaco introduzido no mercado como agente esquistossomicida foi a oxamniquine (Figura 7A), um derivado 2-aminometiltetrahydroquinolina considerado um medicamento bastante eficaz. Ele apresenta atividade restrita apenas ao *S. mansoni* (CIOLI, PICA-MATTOCCIA & ARCHER, 1995).

Nos últimos 20 anos, a oxamniquine apresentou papel fundamental na terapêutica da infecção do *S. mansoni* (RICHTER, 2003). Contudo, esse cenário mudou com o aparecimento da resistência dos vermes a oxamniquine no Brasil e também devido ao surgimento do praziquantel, (2-ciclohexilcarbonil-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4*H*-pirazino-(2,1- α)-isoquinolin-4-ona), que apresenta melhor eficácia e por ser menos tóxico (Figura 7B) (LAMBERTUCCI, 2000; SACONATO & ATALLAH, 2000). O praziquantel é o único medicamento que ainda continua sendo utilizado. Trata-se de um derivado pirazinoisoquinolínico eficaz contra todas as espécies do *Schistosoma* além de possuir menos efeitos colaterais quando comparado a outros compostos (WATSON-MEGAN, 2009).

Os efeitos colaterais mais comumente observados com o uso do praziquantel são diarreia, dor abdominal, náuseas e tonturas (BRASIL, 2009). Estudos sugerem que o praziquantel causa a abertura dos canais de cálcio voltagem-dependente do parasito, o que leva a um influxo excessivo deste íon, com posterior paralisia espástica e morte do mesmo (GREENBERG, 2005).

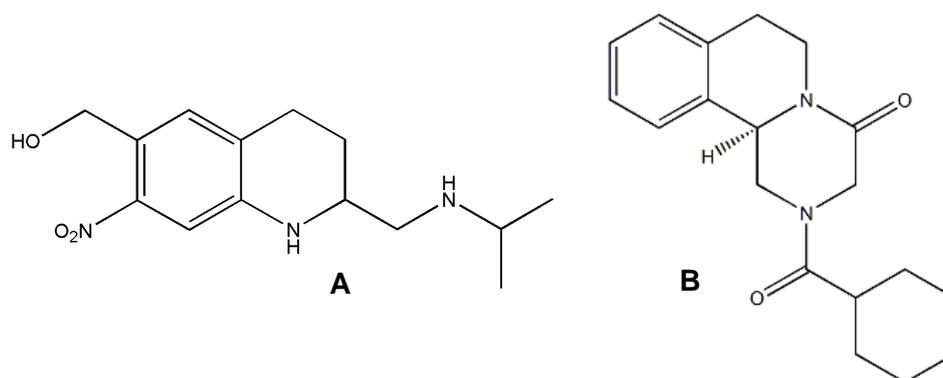


Figura 7. Estruturas químicas da Oxamniquine e do Praziquantel (CIOLI, PICA-MATTOCCIA & ARCHER, 1995).

3.5 Possibilidade de resistência ao praziquantel

Em 1995 foi registrado o primeiro caso de resistência adquirida ao praziquantel (PZQ) evidenciado no Senegal, quando ocorreu um surto epidêmico de esquistossomose intestinal onde o tratamento dos pacientes com 40 mg/Kg de PZQ não obteve resultado satisfatório com 18-39% de cura (STELMA et al., 1995). Esses percentual pode ser considerado baixo uma vez que o tratamento com este fármaco tem uma taxa de cura de aproximadamente 80-90% (KATZ, 2008). A dose foi aumentada para 60 mg/Kg com a finalidade de obter um sucesso terapêutico, mas os resultados continuaram sendo insatisfatórios (STELMA et al., 1997).

No Egito, a evidência de uma possível resistência pôde ser verificada quando após tratamentos sucessivos, com o PZQ ainda foi possível encontrar ovos viáveis nas fezes desses indivíduos (ISMAIL et al., 1996).

Melman et al. (2009) relatam que uma questão foi aberta no que diz respeito à resistência, pois a reinfeção é muito provável em áreas endêmicas e podem confundir a interpretação dos índices de cura, visto que não há um controle com o paciente para saber se ocorreu uma nova exposição. Contudo, estudos avançados foram realizados e foi verificado realmente que houve uma redução da susceptibilidade dos vermes ao PZQ sugerindo que haveria mesmo resistência das cepas ao fármaco.

3.6 Alternativas de novos fármacos

Devido ao praziquantel ser o único fármaco utilizado como alternativa terapêutica para a parasitose surge à necessidade da busca de novos fármacos, os quais sejam tão eficientes quanto o praziquantel, apresentando um novo mecanismo de ação, ao mesmo tempo em que apresente baixo custo e menos efeitos colaterais. Neste contexto algumas alternativas terapêuticas são pesquisadas tais como trioxaquinas, oxadiazóis, mefloquina, imidazolidinas, tiazolidinas as quais serão descritas a seguir.

3.6.1 Trioxaquininas

Muitos derivados baseados nas artemisininas têm sido sintetizados, dentre eles se destaca as trioxaquininas que possuem em sua estrutura duas porções características, uma porção 4-aminoquinolínica e outra porção contendo o 1,2,4-trioxano, essenciais para a atividade biológica (DECHY-CABARET et al., 2004).

As artemisininas são uma classe de compostos que têm surgido durante as três últimas décadas como promissores fármacos antimaláricos (GARAH et al., 2008).

O metabolismo da hemoglobina é um processo comum aos parasitos *Schistosoma* e *Plasmodium*. O mecanismo de ação proposto para os derivados trioxaquininas seria uma interferência na digestão do grupo heme livre contido no sangue, o que não levaria a formação da hemozoína. Esses derivados seriam agentes heme-alquilantes o que não permitiria a utilização do grupo heme pelo verme para a sua alimentação (ROBERT et al., 2005).

Como os vermes de *Schistosoma* também usam desse mecanismo para a sua alimentação, estudos foram feitos com a finalidade de se avaliar a atividade desses derivados contra cepas de *S. mansoni*. Os resultados desses estudos revelaram que as trioxaquininas se mostraram efetivas tanto contra as fases larvares quanto contra os vermes adultos do *Schistosoma*. Foi verificado que os derivados que possuíam um grupamento ciclopentil ligados ao grupo trioxano (PA1259 e PA1120) apresentaram atividade contra as formas larvares com um potencial esquistosomicida semelhante a do praziquantel, sendo o PA1259 (Figura 8) o mais ativo deles (BOISSIER et al, 2009).

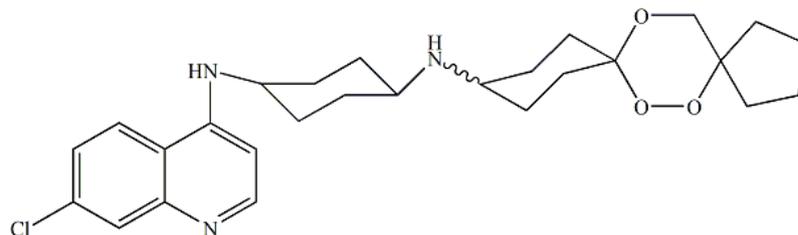


Figura 8. Derivado da Trioxaquina PA1259 (BOISSIER, 2009)

Dessa forma, estudos posteriores foram realizados a fim de avaliar o mecanismo de ação do PA1259. De fato, foi percebido que havia a formação de uma ligação covalente entre o grupamento heme livre e o PA1259, reforçando que a heme-alquilação é um alvo bastante promissor a ser estudado em conjunto com esses derivados que possuem grande potencial esquistossomicida (PRADINES et al., 2011).

3.6.2 Oxadiazóis

Os oxadiazóis são compostos heterocíclicos de cinco membros os quais possuem um átomo de oxigênio na posição 1 (um) do anel e dois átomos de nitrogênio dispostos no ciclo. Trabalhos recentes têm revelado uma diversidade de atividades farmacológicas atribuídas ao grupo de moléculas derivadas dos oxadiazóis dentre as quais podemos citar: antimicrobiana (BAKHT et al., 2010), antifúngica (SANGSHETI & SHINDE, 2011), antitumoral (ZHENG, et al., 2010), esquistossomicida (SAYED et al., 2008), anticonvulsivante (RAJAK et al., 2011).

Os oxadiazóis-2-óxidos (Figura 9) representam um grupo de moléculas que despertaram interesse no que diz respeito à atividade esquistossomicida, por possuírem em sua estrutura o óxido nítrico (NO) (RAI et al., 2009). O óxido nítrico (NO) exibe funções no organismo como relaxante muscular, resultando numa vasodilatação e posterior aumento do fluxo sanguíneo e inibição da agregação plaquetária (ZIEGLER et al., 1998). No organismo, a resposta imune ativa a NO sintase (NOS) a qual produz óxido nítrico que tem mostrado a capacidade de matar as fases larvares do parasito do gênero *Schistosoma* (JAMES & GLAVEN, 1989).

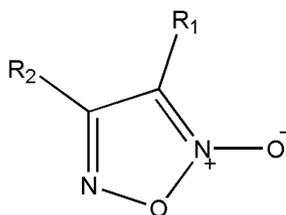


Figura 9. Núcleo do oxadiazol-2-óxido (SAYED et al., 2008).

A atividade esquistossomicida de alguns derivados oxadiazóis-2-óxidos foi testada contra cepas do *S. mansoni* que resultou na morte de fases evolutivas do parasito: esquistossômulos e vermes adultos. Dentre os compostos que foram

testados, destaca-se o derivado que possuía o grupamento nitrila (-CN) como substituinte 1 e o grupo fenil como substituinte 2. Foi obtido 100% de mortalidade dos parasitos na dose de 10 μ M após 24 horas (Figura 10) e na dose de 2 μ M decorrido um tempo de 24 horas (SAYED et al., 2008). Estudos de relação estrutura-atividade (SAR) revelaram que para esses análogos do oxadiazol o grupo farmacofórico, essencial para a atividade frente ao *Schistosoma mansoni*, seria o 3-ciano-1,2,5-oxadiazol-2-óxido e que substituições no grupamento fenila diminuiria a atividade. O alvo biológico desses compostos seria a enzima Tiorredoxina Glutaciona Redutase (TRG) a qual sofreria inibição mediante transferência do grupamento NO presente na estrutura desses derivados (RAI et al., 2009).

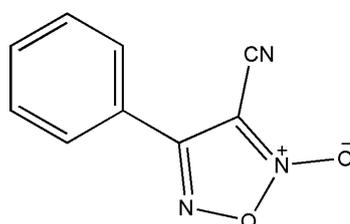


Figura 10. Composto testado com maior taxa de mortalidade (SAYED et al., 2008).

3.6.3 Mefloquina

A mefloquina (Figura 11), [(R,S)-(±)- α -(2-piperidinil)-2,8-bis-(trifluorometil)-4-quinolinametanol] é um fármaco antimalárico, análogo sintético da Quinina. Foi aprovada pela FDA (Food and Drug Administration) em 1989 para a profilaxia e tratamento da malária. Trata-se de arilamino álcool quiral que possui dois centros assimétricos os quais existem na forma de mistura racêmica (*eritro* e *treo*), sendo que cada forma possui um par de isômeros ópticos resultando em quatro isômeros (MANNECK et al., 2011; HOLTFRETER et al., 2011).

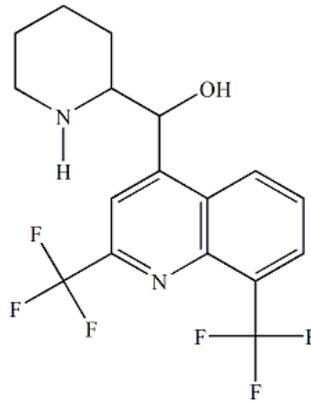


Figura 11. Mefloquina (KEISER et al., 2009)

Acredita-se que o mecanismo de ação da mefloquina seria a inibição da formação da hemozoína (KEISER et al., 2009). A atividade *in vitro* com mefloquina frente vermes de *S. mansoni* mostrou que após 1h de exposição dos vermes ao fármaco, na maior dose testada, resultou na máxima taxa de mortalidade. O que também foi observado na concentração de 10 µg/mL. A mefloquina também suprimiu a produção de ovos em todas as doses utilizadas no estudo (1, 10 e 100 µg/mL). Após 30 minutos de exposição, a mefloquina é capaz de causar extensas lesões tegumentares na dose de 100 µg/mL, observadas através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (Figura 12) (MANNECK, HAGGENMULLER & KEISER, 2010).

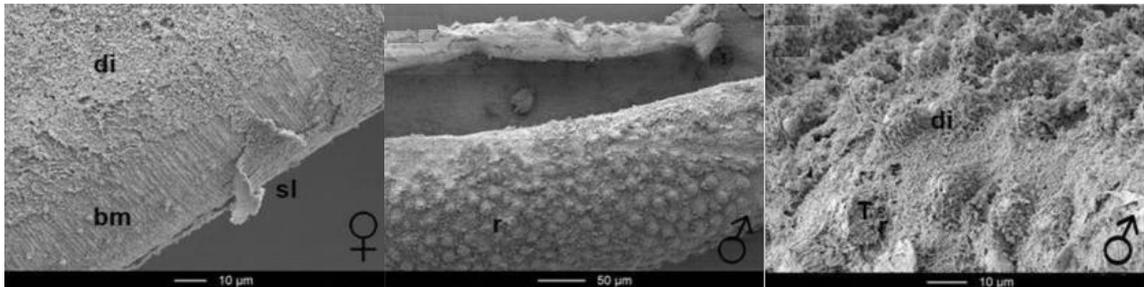


Figura 12. Microscopia Eletrônica de Varredura realizada com vermes de *S. mansoni* evidenciando as lesões no tegumento após tratamento com mefloquina 100 µg/mL (MANNECK, HAGGENMULLER & KEISER, 2010).

Van Nassauw et al. (2008) evidenciaram em estudo *in vivo* que a administração de mefloquina 150 mg/Kg em dose única não produziram resultados efetivos na redução da carga parasitária, no entanto, observou-se uma diminuição significativa dos estádios iniciais dos ovos de *S. mansoni*.

Em contrapartida, estudos realizados administrando mefloquina nas doses de 100 mg/Kg e 200 mg/Kg, também em dose única, resultou numa diminuição da carga parasitária de 45% e 72%, respectivamente. Essa discrepância de resultados quando comparadas com o estudo anterior necessita ser elucidada (KEISER et al., 2009).

Dessa maneira, a mefloquina se torna um promissor agente terapêutico, necessitando de estudos mais aprofundados os quais corroborem com os resultados atuais para que assim possa ser utilizado na clínica para diminuir os casos de esquistossomose.

3.6.4 Imidazolidinas

As imidazolidinas são um grupo de moléculas heterocíclicas pentagonais as quais possuem dois átomos de nitrogênio compondo o ciclo. Foram primeiramente descobertas por Bayer em 1861, durante sua pesquisa com o ácido úrico (WARE, 1950).

A literatura relata diversas atividades biológicas relacionadas a esses compostos, dentre as quais podemos destacar: analgésica (SUDO et al., 2010), antimicrobiana (ALI et al., 2012), anti-inflamatória (GUERRA et al., 2011) e esquistossomicida (OLIVEIRA et al., 2004; PITTA et al., 2006; NEVES et al., 2010; NEVES et al., 2011; SILVA et al., 2012). A ação esquistossomicida desse grupo de moléculas se reforça pelo fato de que o nirizadol, [(1-(5-nitro-tiazol-2-il)-imidazolidin-2-ona], fármaco que já foi utilizado na quimioterapia da parasitose possui o núcleo imidazolidínico, mas que foi retirado da clínica médica devido aos efeitos colaterais apresentados (CIOLI, PICA-MATTOCCIA & ARCHER, 1995).

O grupo de moléculas testado por Oliveira et al. (2004) demonstrou discreta atividade esquistossomicida. O derivado que apresentou uma melhor atividade foi o 3-(4-cloro-benzil)-5-(4-nitrobenzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (Figura 13A) o qual obteve uma taxa de mortalidade de 100% dos vermes, na dose de 120 µg/mL, após 15 dias de observação (OLIVEIRA et al., 2004).

Nos trabalhos de Pitta et al., todos os compostos se mostraram efetivos comprovando a potência dos derivados imidazolidínicos frente aos vermes de *S. mansoni*. Dentre eles podemos destacar o LPSF/PT-5 (1-benzil-4-[(4-cloro-fenil)-hidrazono]-5-tioxo-imidazolidin-2-ona) (Figura 13B), onde se verificou uma taxa de

mortalidade de 100% na dose de 174 μM , após um período de 24 h. Todos os compostos avaliados provocaram alterações no tegumento dos parasitos como descamação e formação de bolhas (PITTA et al., 2006).

A boa atividade do LPSF/PT-5 *in vitro* conduziu a sua avaliação *in vivo* o qual também demonstrou uma boa atividade, apresentando uma redução de 70,5% da carga parasitária dos camundongos tratados oralmente com este composto na dose de 100 mg/Kg (SILVA et al., 2012).

Neves et al. evidenciaram que o uso dos compostos LPSF/RZS-2 (5-(4-cloro-benzilideno-3-(4-nitrobenzil)-4-tioxo-imidazolidin-2-ona) e LPSF/RZS-5 (5-(4-fluor-benzilideno-3-(4-nitrobenzil)-4-tioxo-imidazolidin-2-ona) (Figura 13C) provocaram mortalidade de todos os vermes na dose de 640 μM após 48h e 80 μM após 24 h, respectivamente. Além disso, esses dois compostos induziram a produção de NO, pelas células esplênicas, o qual é nocivo aos parasitos de *S. mansoni* (NEVES et al., 2010). Em 2011, Neves et al. avaliaram a susceptibilidade dos parasitos frente aos derivados imidazolidínicos LPSF/PT-11 (1-(4-cloro-benzil)-4-[(4-fluoro-fenil)-hidrazono]-5-tioxo-imidazolidin-2-ona) o qual foi capaz e causar 100% na taxa de mortalidade dos parasitos na dose de 100 μM após 24 horas de exposição ao composto (Figura 13D). Adicionalmente, foi possível verificar extensivas lesões tegumentares causadas por esse derivado imidazolidínico, observadas através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (NEVES et al., 2011). Estes resultados fazem dos derivados imidazolidínicos potenciais candidatos a agentes esquistossomicidas.

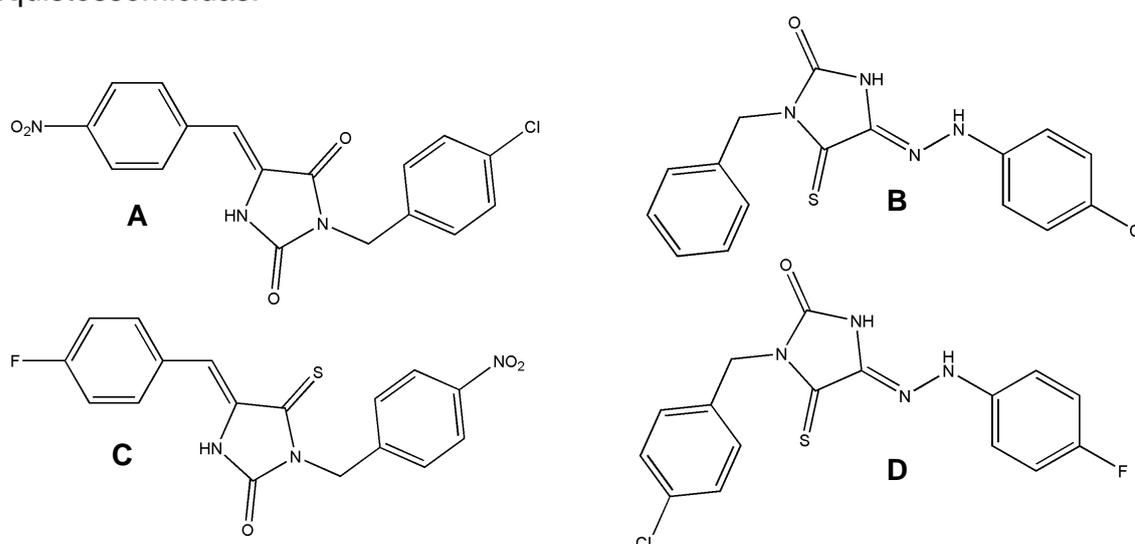


Figura 13. Potenciais candidatos imidazolidínicos a atividade esquistossomicida.

3.6.5 Tiazolidinas

A atividade biológica de derivados tiazolidínicos na esquistossomose mansônica pode ser evidenciada nos trabalhos de Luis (2012) onde dois compostos foram avaliados *in vitro*, LPSF/GQ-58 e LPSF/TA-02. Foi possível observar que em todas as concentrações testadas houve significativa diminuição da motilidade dos parasitos, no entanto a maior taxa de mortalidade encontrada foi 22% na dose de 100 µg/mL no sexto dia de avaliação apresentada pelo composto LPSF/GQ-58 (LUIS, 2012).

Esse mesmo derivado apresentou nos ensaios *in vivo*, uma redução de 40% da carga parasitária dos camundongos tratados. Adicionalmente, este composto foi capaz de reduzir a quantidade de ovos primários (revelados no oograma) o que sugere uma interferência deste composto na oviposição dos parasitos do *S. mansoni* (LUIS, 2012).

Silva (2010) fez, em seu estudo, um *screening* de uma série de derivados tiazolidínicos a fim de avaliar a susceptibilidade *in vitro* dos parasitos de *S. mansoni*. Os melhores compostos avaliados foram LPSF/SF-22 e LPSF/SF-25 os quais obtiveram, no sexto dia, uma taxa de mortalidade de 78% e 86% respectivamente, na dose de 80 µg/mL. A boa atividade do LPSF/SF-25 nos ensaios *in vitro* foi determinante para a condução da sua avaliação *in vivo*, onde foi possível observar uma redução de 28% da carga parasitária dos camundongos tratados com este composto na dose de 200 mg/Kg (SILVA, 2010).

Esses achados iniciais revelam a promissora atividade dos derivados tiazolidínicos, no entanto, a necessidade de estudos mais aprofundados desta classe de compostos heterocíclicos visando uma maior contribuição científica para a esquistossomose mansônica se faz necessário.

3.7 Promissores alvos biológicos

O desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas devem vir atrelados a um potencial alvo biológico. A esquistossomose mansônica possui alguns promissores alvos que serão abordados neste subtópico.

3.7.1 Tiorredoxina Glutationa Redutase

Os vermes adultos do *S. mansoni* vivem nas veias mesentéricas do hospedeiro definitivo por mais de trinta anos. Este ambiente é aeróbio o que leva os vermes a possuírem mecanismos para manter o equilíbrio redox. Adicionalmente, os mesmos estão susceptíveis às espécies reativas do oxigênio (ERO) produzidas pelo sistema imunológico do hospedeiro e pela sua própria respiração aeróbia (ALGER et al., 2002). Nos vertebrados existem dois sistemas os quais são independentemente capazes de desintoxicar o animal das espécies reativas do oxigênio, a glutatona (GSH) e a tiorredoxina (Trx). Cada um desses sistemas possui uma enzima NADPH-dependente a qual é responsável por manter a glutatona e a tiorredoxina na forma reduzida: glutatona redutase (GR) e tiorredoxina redutase (TrxR), respectivamente (TOWNSEND et al., 2003).

O mecanismo destas enzimas proposto para os vertebrados seria que os elétrons do NADPH fossem transferidos para as enzimas do complexo, Trx ou GR, que seria responsável pela conversão da forma oxidada da tiorredoxina (Trx-S₂) ou glutatona dissulfeto (GSSG), em suas respectivas formas reduzidas, Trx-(SH)₂ e GSH (Figura 14) (KUNTZ et al., 2007). Além da participação na proteção contra o estresse oxidativo nos mamíferos, essas flavoenzimas oxidorreduzidoras desempenham funções importantes na proliferação celular, na regulação redox de expressão gênica e metabolismo de xenobióticos (GROMER et al., 2004).

No *S. mansoni*, o mecanismo seria essencialmente o mesmo, porém os parasitos não possuem sistemas distintos para ocasionar a redução da glutatona e da tiorredoxina. Acredita-se que os vermes possuam um complexo multifuncional tiorredoxina glutatona redutase (TGR) o qual estaria acoplado a uma peroxirredutase (Prx₂) capaz de reduzir o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (Figura 14) (SIMEONOV et al., 2008).

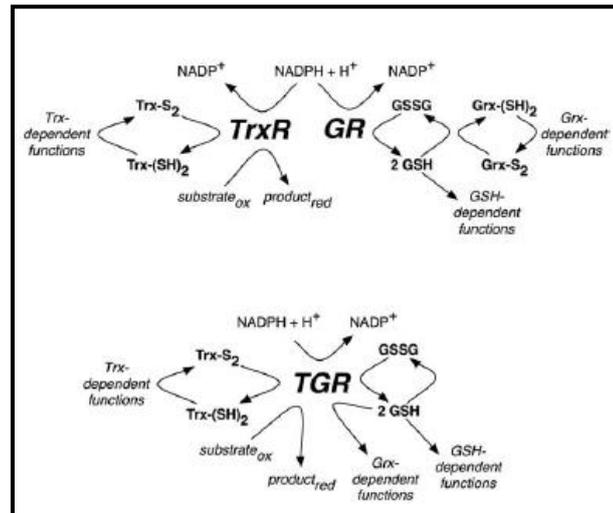


Figura 14. Via redox em mamíferos, evidenciando a presença de dois sistemas distintos (TrxR e GR) e em *S. mansoni* evidenciando um complexo multifuncional (TGR) (KUNTZ et al., 2007).

Logo, uma vez que os mecanismos para diminuir o estresse oxidativo nos mamíferos e nos vermes são distintos, e que uma inibição específica da TGR conduziria a morte do parasito devido ao aumento de radicais livres (ERO), esta via pode ser considerada de grande importância para direcionar a busca de novos fármacos esquistossomicidas (KUNTZ et al., 2007).

3.7.2 Via de síntese das purinas

As purinas são de importância vital para a sobrevivência de todos os organismos vivos. Elas participam da síntese de ácidos nucleicos, proteínas e outros metabólitos, além de estarem envolvidas em reações que requerem a produção de energia. De maneira geral, os nucleotídeos derivados de purinas podem ser obtidos por duas vias: a via “de novo” ou a via de “recuperação” das purinas (KOUNI, 2003).

A síntese “de novo” é realizada a partir de precursores metabólicos como aminoácidos, ribose-5-fosfato, CO_2 e NH_3 . São onze reações até a produção de um precursor comum, a inosina monofosfato (IMP). E reações específicas até a formação dos derivados purínicos, adenina monofosfato (AMP) e guanina monofosfato (GMP). A via de recuperação utiliza bases livres e nucleosídeos oriundos da quebra dos ácidos nucleicos para a formação das bases púricas (NELSON & COX, 2002). A purina nucleosídeo fosforilase (PNP) é uma enzima chave envolvida na via de salvação das purinas (CASTILHO et al., 2010).

A purina nucleosídeo fosforilase tem a função de catalisar a clivagem da ligação glicosídica do ribonucleosídeo ou desoxiribonucleosídeo na presença de pirofosfato inorgânico (Pi) afim de regenerar as bases livres ribose(desoxirribose)-1-fosfato (PEREIRA et al., 2005).

O *S. mansoni* não possuem as enzimas presentes na via de síntese “de novo”. Dessa forma, eles dependem exclusivamente da via de “recuperação” para a obtenção de ácidos nucléicos, RNA e DNA. Foi descoberto recentemente que o parasito possui uma enzima específica para que ocorra essa clivagem e assim gerar suas bases púricas, a *SmPNP*, que é a purina nucleosídeo fosforilase do *S. mansoni* (PEREIRA et al., 2005).

Logo, sabendo-se da existência dessa enzima específica no parasito, esta se torna um alvo na busca de novos protótipos de medicamentos, os quais tenham a capacidade de inibi-la, para assim contribuir na terapêutica da esquistossomose (PEREIRA, OLIVA & GARRATT, 2011).

3.7.3 Receptores ativados proliferador de peroxissomas - PPARs

A forma hepática da esquistossomose mansônica é uma das mais prevalentes da fase crônica da doença. Isto porque é nesta forma em que se evidencia a fibrose hepática e hepatomegalia, bem marcantes no paciente portador do *S. mansoni* (CHEN et al., 2008). De uma maneira geral, a fibrose hepática decorre do acúmulo de matriz extracelular (MEC), formada de proteínas que incluem colágeno, peptídeo glicano e glicoproteínas (PINZANI & ROMBOUITS, 2004).

As células estreladas hepáticas (CEH) são os principais tipos celulares envolvidos na fibrose hepática. São células que armazenam gordura e vitamina A, as quais quantidades são reduzidas quando da diferenciação das CEH, transformando-se em miofibroblastos sob ação de citocinas fibrogênicas como TGF- β (transforming growth factor – beta), TNF- α (tumoral necrosis factor – alfa), PDGF (platelet-derived growth factor) (ANDRADE, 2008). Essas mudanças patogênicas causam *up-regulation* de genes do colágeno tipo I e III ao passo que ocorre também maior deposição de matriz extracelular e aumento do processo fibrótico (CHEN et al., 2008).

Os PPARs (receptores ativados proliferador de peroxissomas) são proteínas transdutoras pertencentes a uma classe de receptores nucleares da qual fazem parte também o receptor do ácido retinóico, receptor de hormônios da tireóide e receptores de esteróides. Existem três tipos de PPARs já conhecidos e que têm seus genes codificados, o PPAR α (NR1C1), o PPAR δ/β (NR2C2) e o PPAR γ . Cada isoforma possui ligantes específicos, tendo como finalidade diferentes fins biológicos (KOTA et al., 2005). O mecanismo geral de atuação dos PPARs está descrito abaixo (Figura 15) (MONSALVE et al., 2013). As células Estreladas Hepáticas (CEH) possuem receptores do tipo PPARs que são fatores de transcrição nuclear que catalisam e coordenam eventos bioquímicos diferentes, a fim de encontrar um equilíbrio energético (KOTA et al., 2005). Sabe-se também que a ativação desses receptores PPAR γ causa uma diminuição da fibrose hepática em ratos devido à repressão do gene de colágeno tipo I (WANG et al., 2011a) e também repressão de TGF- β (KULKARNI et al., 2011). Desta forma, o receptor PPAR γ se torna um potente alvo biológico a ser explorado visando direcionar a busca de fármacos para a terapêutica da fibrose hepática na esquistossomose (WANG et al., 2011).

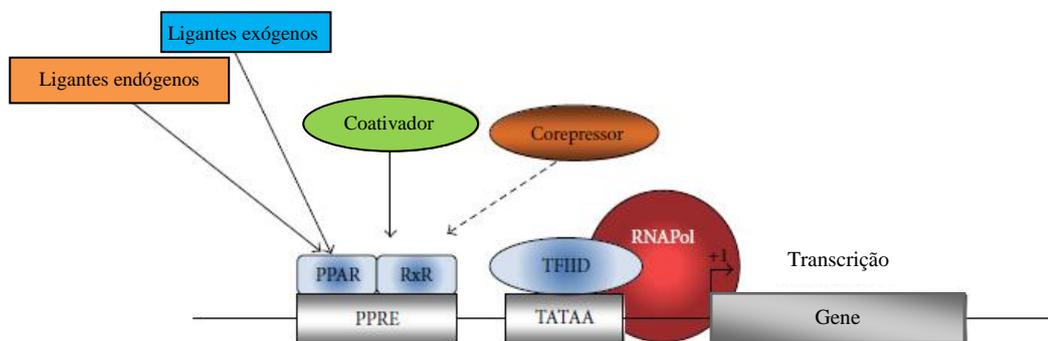


Figura 15. Mecanismos de transcrição do gene de PPAR. No estado inativado, o PPAR interage com o corepressor inibindo o processo de transcrição. Após a ligação do ligante exógeno (fármaco) ou ligante endógeno (ácidos graxos, prostaglandinas, etc), o PPAR é ativado e heterodimerizado com RXR e recruta coativadores facilitando a transcrição de vários genes (MONSALVE et al., 2013).

3.8 Importância da Química Medicinal na pesquisa de novos fármacos

Entende-se por Química Medicinal como uma disciplina baseada na química envolvendo aspectos das ciências biológicas, médicas e farmacêuticas. Dentre suas inúmeras atribuições, engloba o planejamento de novas substâncias bioativas, envolvendo a síntese ou a modificação molecular de substâncias; a identificação/elucidação da estrutura; a compreensão em nível molecular de processos bioquímicos, farmacológicos, toxicológicos, farmacocinéticos, a proposição e validação de modelos matemáticos através dos estudos de relações entre a estrutura química e a atividade farmacológica (REA) e/ou toxicológica, permitindo então a proposição de novas entidades de interesse (AMARAL & MONTANARI, 2002; BARREIRO, 2009).

Para a concepção de novos fármacos a Química Medicinal se apoia numa tríade composta por áreas importantes no processo de descoberta de moléculas potencialmente bioativas, são elas: Química Orgânica, Farmacologia e Química Computacional, as quais são compostas por sub-áreas afins que servem como auxiliares neste processo (Figura 16) (BARREIRO et al., 2002).

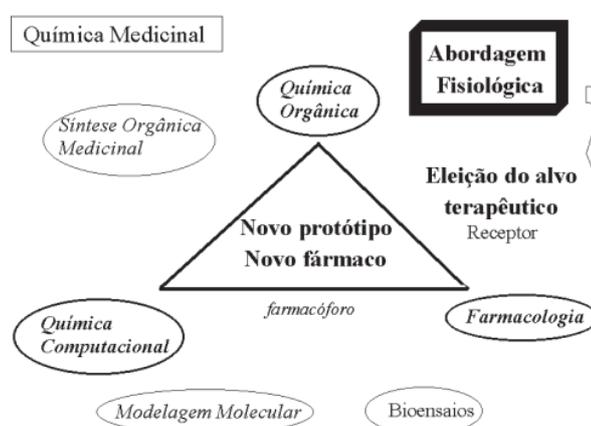


Figura 16. Representação da tríade no processo de planejamento de fármacos (BARREIRO et al., 2002).

O planejamento de fármacos é considerado como uma etapa crucial na descoberta de novos fármacos, uma vez que é nessa fase onde será desenhada uma nova entidade química, baseada em estudos preliminares, as quais poderão originar um fármaco com menor toxicidade, menores efeitos colaterais e maior

potência. Para tal, estratégias como o bioisosterismo, a hibridação molecular e simplificação molecular, ganham destaque (LIMA, 2007).

A simplificação molecular é uma estratégia empregada na obtenção de compostos estruturalmente mais simples, a partir de protótipos naturais ativos, estruturalmente complexos (BARREIRO et al., 2002). A hibridação molecular tem por objetivo a concepção de novos compostos a partir da união de dois grupos farmacofóricos de dois derivados bioativos o qual originará um novo híbrido com as propriedades dos compostos que o originaram (VIEGAS-JUNIOR et al., 2007).

O bioisosterismo se apresenta como a estratégia mais utilizada na busca de novos compostos bioativos. Consiste de uma estratégia de modificação molecular de um composto protótipo, baseada na troca de determinados fragmentos moleculares, por exemplo, um grupo funcional por outro que apresente volume molecular, distribuição eletrônica, propriedades físico-químicas semelhantes (BARREIRO & FRAGA, 2008).

Um exemplo disso seria o bioisosterismo de anel evidenciado nos heterociclos tiazolidinadiona, imidazolidinadiona e oxazolidinadiona (Figura 17), no qual os respectivos átomos de enxofre (S), nitrogênio (N) e oxigênio (O) possuem distribuição eletrônica semelhante (SINGH et al., 1981).

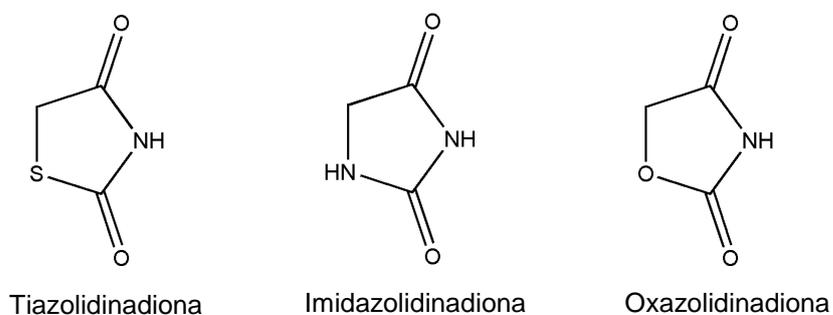


Figura 17. Exemplo de bioisosterismo (SINGH et al., 1981).

3.8.1 Planejamento de fármacos baseado na estrutura do ligante e do alvo biológico

O conhecimento da estrutura do ligante (composto protótipo) bem como do provável receptor no qual este se ligará é de fundamental importância para se obter sucesso no planejamento de novos fármacos (MONTANARI, 2011).

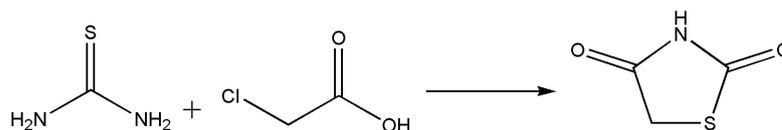
Sabe-se que a interação ligante-receptor é altamente específica, sendo primordial, então, a compreensão dos grupos químicos considerados essenciais (grupos farmacofóricos) e distribuição espacial dos ligantes são características primordiais para uma melhor interpretação da relação entre a estrutura química e a atividade biológica. A obtenção da estrutura tridimensional (3D) do receptor biológico é um dado que se soma ao conhecimento das características dos ligantes. No entanto, a estrutura 3D nem sempre está disponível, mas este pode ser construída a partir de uma sequência de aminoácidos que se encontra disponível. O ligante e o receptor biológico devem possuir características semelhantes para que assim possa ocorrer a ligação e conseqüentemente a resposta biológica. Esse padrão de similaridade pode ser feito quantitativamente através de cálculos matemáticos, onde a análise QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) é a mais utilizada para deduzir a interação alvo-ligante (MONTANARI, 2011).

De posse destes conhecimentos, há uma maior colaboração na descoberta de novas moléculas potencialmente bioativas.

3.9 Química das tiazolidinas: importância e reatividade

As tiazolidinadionas são um grupo de moléculas heterocíclicas, as quais estão dispostas num anel de cinco membros contendo um átomo de enxofre na posição 1 e um átomo de nitrogênio na posição 3 do ciclo (SINGH et al., 1981).

A obtenção no núcleo da tiazolidina-2,4-diona (TZD) foi primeiramente descrito por Liberman et al., onde a partir de uma reação entre o ácido monocloacético e tioureia em meio aquoso a temperatura de 90° C, através de uma reação de ciclização, originou-se o anel heterociclo (Esquema 1) (LIBERMAN, 1948 *apud* LIMA, 1998).



Esquema 1. Síntese da tiazolidina-2-4-diona (LIMA, 1998).

A tiazolidinadiona (TZD) permite reações clássicas como oxidação, *N*-alquilação, Reação de Mannich, Condensação de Knoevenagel, Adição de Michael e Diazotação (reação com sais de diazônio) (Figura 18) (LIESEN et al., 2008).

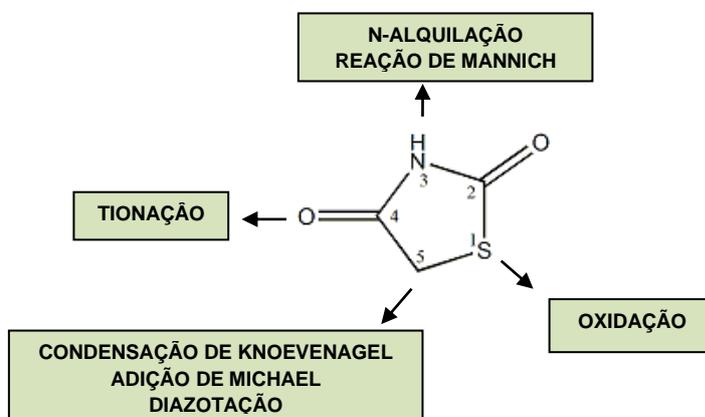
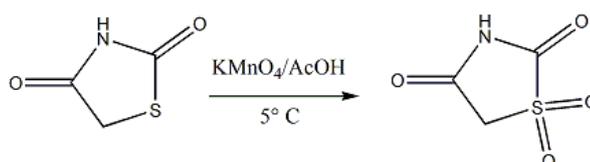


Figura 18. Reatividade do núcleo da tiazolidina-2,4-diona (LIESEN et al., 2008).

3.9.1 Oxidação

As reações de oxidação ocorrem na posição 1 do anel da tiazolidina-2,4-diona utilizando permanganato de potássio (KMnO_4) em ácido acético aquoso a 5°C , por se tratar de uma reação exotérmica, conduzindo a formação de 1,1-dioxo-2,4-tiazolidinadionas (Esquema 2) (LIESEN et al., 2008).

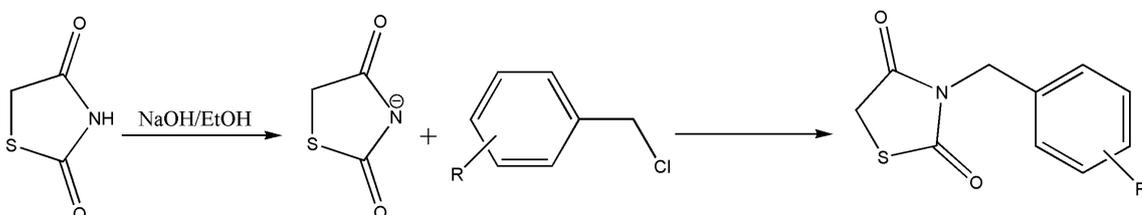


Esquema 2. Reação de oxidação (LIESEN et al., 2008).

3.9.2 *N*-alquilação

As reações de *N*-alquilação são do tipo ácido-base de Lewis e que também são possíveis de ser realizadas no núcleo das TDZs. Trata-se de uma reação de substituição nucleofílica de 2ª ordem ($\text{S}_\text{N}2$), onde se faz reagir a tiazolidinadiona com haletos de benzila ou haletos de benzoíla substituídos conduzindo a formação de

derivados substituídos da posição 3 no núcleo (LIMA et al., 1998). A reação se processa em meio básico (NaOH) e metanol (Esquema 3), onde ocorrerá desprotonação do núcleo conduzindo a formação do ânion que agirá como nucleófilo da reação na etapa posterior com os haletos de benzila/benzoíla (LIESEN et al., 2008).



Esquema 3. Esquema mostrando as etapas da reação de N-alkilação (BARROS et al., 2010).

3.9.3 Tionação

A transformação do grupo carbonil em tiocarbonil tem sido de muito interesse na síntese orgânica aplicada a química medicinal. Para esse tipo de reação a literatura descreve dois tipos de reagente capazes de realizar essa conversão, o pentasulfeto de fósforo (P_4S_{10}) e o Reagente de Lawesson (RL). Dentre estes, o RL é o mais utilizado pelo fato de o P_4S_{10} requerer excesso desse reagente e o alto tempo de reação (OZTURK, ERTAS & MERT, 2007).

O mecanismo reacional do RL (2,4-bis(4-metóxfenil)-1,3-ditio-2,4-fosfetano-2,4-dissulfeto) é similar ao da reação de Wittig (Figura 19) (CAREY & SUNDBERG, 1990).

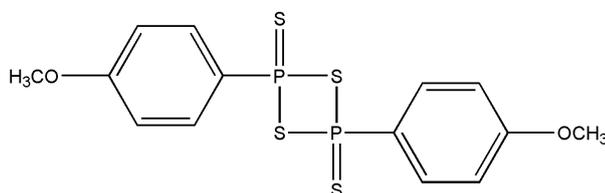
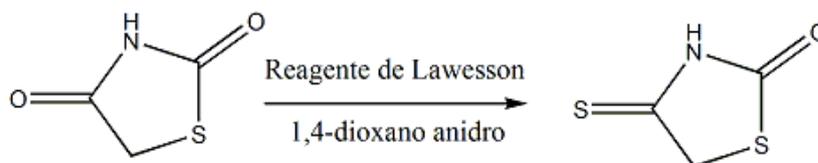


Figura 19. Estrutura química do Reagente de Lawesson (OZTURK, ERTAS & MERT, 2007).

A aplicação deste tipo de reação em TZD é observada nos trabalhos de Gouveia et al. (2009) onde houve reação entre o reagente de Lawesson e a tiazolidina-2,4-diona na proporção de 1:3, utilizando o 1,4-dioxano anidro como solvente, conduzindo a formação da 4-tioxi-tiazolidin-2-ona (Esquema 4).

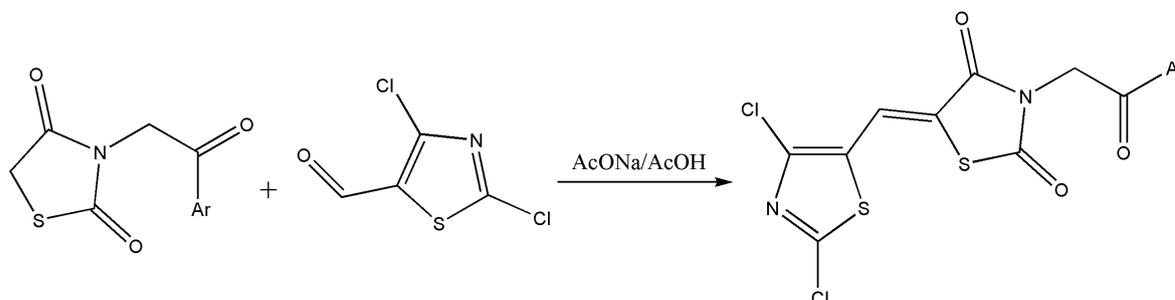


Esquema 4. Reação para a formação da 4-tioxi-tiazolidin-2-ona (GOUVEIA et al., 2009).

3.9.4 Condensação de Knoevenagel

Esta transformação consiste na reação entre um composto carbonílico (aldeídos ou cetonas) e outro contendo o grupo metileno ativado, resultando na formação do aduto com uma ligação dupla carbono-carbono (CUNHA & SANTANA, 2012). O composto metileno ativo é assim chamado quando observamos a seguinte estrutura $Z-CH_2-Z'$, onde Z e Z' são átomos ou grupamentos retiradores de elétrons causando uma polarizabilidade da ligação C-H deixando os hidrogênios ácidos (OLIVEIRA et al., 2008).

As TDZs sofrem esse tipo de reação quando reagem com aldeídos aromáticos substituídos utilizando acetato de sódio fundido como catalisador e ácido acético glacial como solvente a temperatura de 110°C (Esquema 5) (BOZDAG-DUNDAR et al., 2007).



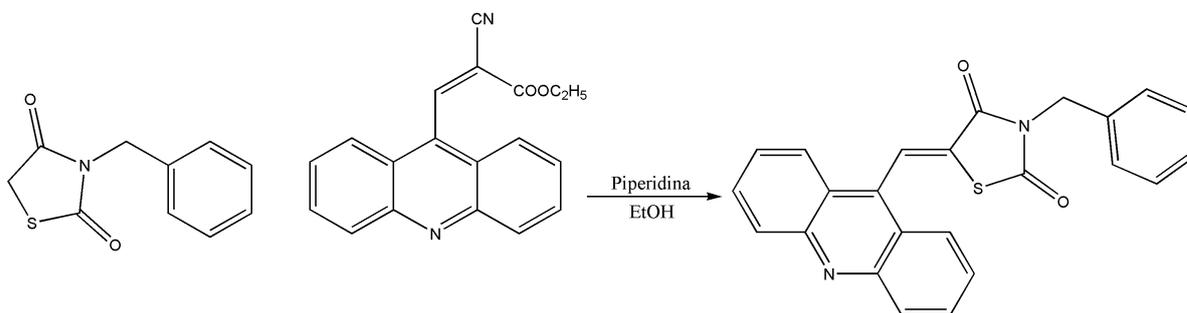
Esquema 5. Reação de Condensação de Knoevenagel (BOZDAG-DUNDAR et al., 2007).

3.9.5 Adição de Michael

Uma das reações mais utilizadas na formação da ligação carbono-carbono é a reação de Michael, convencionalmente caracterizada pela adição de nucleófilos (doadores de Michael) a olefinas ativadas (aceptores de Michael) (MATTOS & MARZORATI, 1999).

Nas TZDs, estas reações ocorrem com a inserção do grupamento benzilideno na posição 5 do anel e neste caso, as TZDs funcionam como os doadores de Michael e os ciano-acrilatos de etila, formados a partir de uma reação de condensação de Knoevenagel, como aceptores de Michael (SILVA et al., 2001).

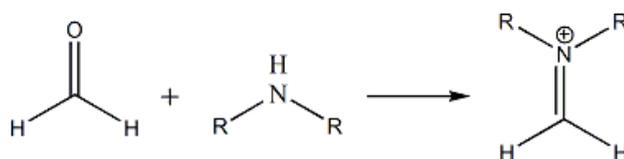
Mourão et al. (2005) sintetizaram uma série de derivados tiazolidínicos a partir de uma 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona substituída e 9-[etil-(2-ciano)-acrilato]-acridina utilizando piperidina como catalisador e etanol como solvente, conduzindo a formação de derivados 5-benzilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (Esquema 6) (MOURÃO et al., 2005).



Esquema 6. Reação de adição de Michael (MOURÃO et al., 2005).

3.9.6 Reação de Mannich

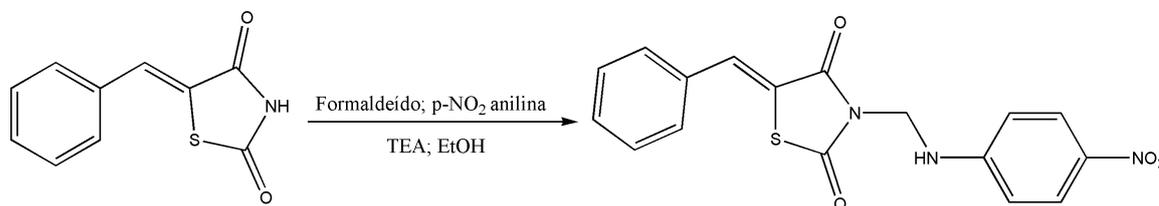
A reação de Mannich consiste de uma amino-alkilação a qual utiliza formaldeído e uma amina primária ou secundária para a formação de um sal imina (Esquema 7). Essa base de Mannich reage então com compostos que possuem hidrogênios ácidos conduzindo ao produto final (CLAYDEN, GREEVES & WARREN, 2000).



Esquema 7. Formação do sal imina na reação de Mannich (CLAYDEN, GREEVES & WARREN, 2000).

As tiazolidinadonas por possuírem características ácidas fracas e formarem sais básicos, são passíveis de ocorrer à reação de Mannich. Esse tipo de reação envolvendo o núcleo da tiazolidina-2,4-diona tem como condições reacionais a

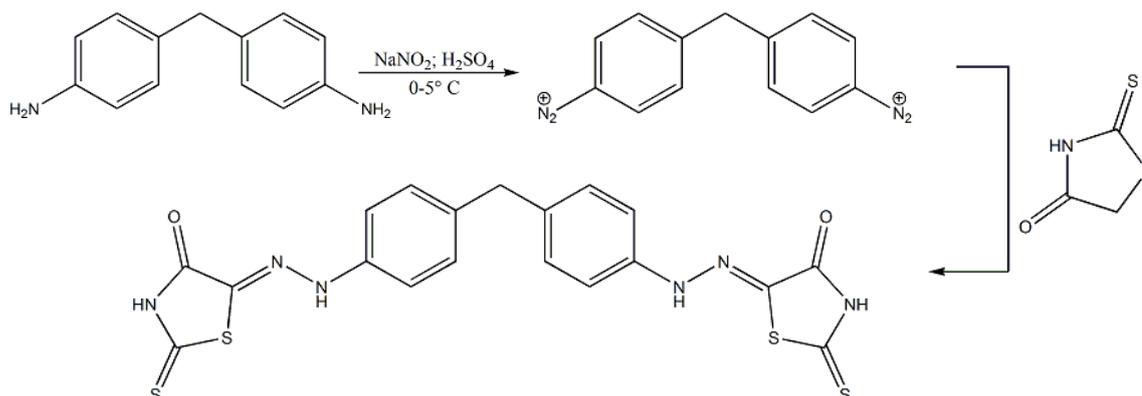
utilização de trietilamina e etanol absoluto a temperatura ambiente, além do formaldeído e aminas secundárias substituídas (Esquema 8) (SHARMA & PATHAK, 2011; LOBO et al., 2012).



Esquema 8. Reação de Mannich utilizando as tiazolidinonas (LOBO et al., 2012).

3.9.7 Diazotação

Esse tipo de reação ocorre com o objetivo de se produzir uma ligação do tipo C=N. Os sais de diazônio, eletrófilos reacionais, são formados quando uma amina aromática reage com nitrito de sódio na presença de ácido (LIESEN et al., 2008). As tiazolidinonas permitem esse de reação na posição 5 do anel, na qual é evidenciada quando se faz reagir uma bis anilina com nitrito de sódio na presença de H₂SO₄ concentrado na temperatura de 0-5° C. Posteriormente é adicionado a tiazolidinona, previamente solubilizada que agirá como nucleófilo da reação (Esquema 9) (DIXIT et al., 2012).



Esquema 9. Reação de Diazotação evidenciando a formação da ligação C=N (DIXIT et al., 2012).

Deste modo, utilizando a reatividade química da tiazolidinadiona foram idealizados e sintetizados de novos compostos potencialmente bioativos e assim contribuir na busca de novas alternativas para a esquistossomose.



METODOLOGIA

4 METODOLOGIA

A seguir serão descritos os materiais empregados na síntese dos novos potenciais derivados indólicos-tiazolidínicos.

4.1 Estudo químico

Os derivados indólicos-tiazolidínicos foram obtidos a partir de uma rota sintética já consolidada no Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos utilizando mecanismos reacionais de N-alkilação, condensação de Knoevenagel e adição de Michael.

4.1.1 Material e Métodos

Para a síntese e comprovação estrutural dos novos derivados indólicos-tiazolidínicos sintetizados, foram utilizadas placas cromatográficas Merck silicagel 60 F254, de 0,25 mm de espessura, reveladas em luz ultravioleta (254 ou 366 nm) e os seguintes equipamentos, reagentes e solventes:

4.1.2 Equipamentos

- ✓ Espectrofotômetro de Absorção no Infravermelho - FTIR Bruker Modelo IFS 66 (DQF/UFPE).
- ✓ Espectrômetro de RMN - espectrômetro Varian Modelo Plus 400 MHz (DQF/UFPE).
- ✓ Espectrômetro de Massa MALDI-TOF Autoflex III (Bruker Daltonics, Billerica, MA, USA). Laser Nd:YAG, 355 nm. Freq. laser: 100 Hz
- ✓ Determinação dos pontos de fusão - Quimis Modelo 340.27 (LPSF).
- ✓ Lâmpada de Ultravioleta – Philco (LPSF).
- ✓ Rota evaporador – Fisatom (LPSF).

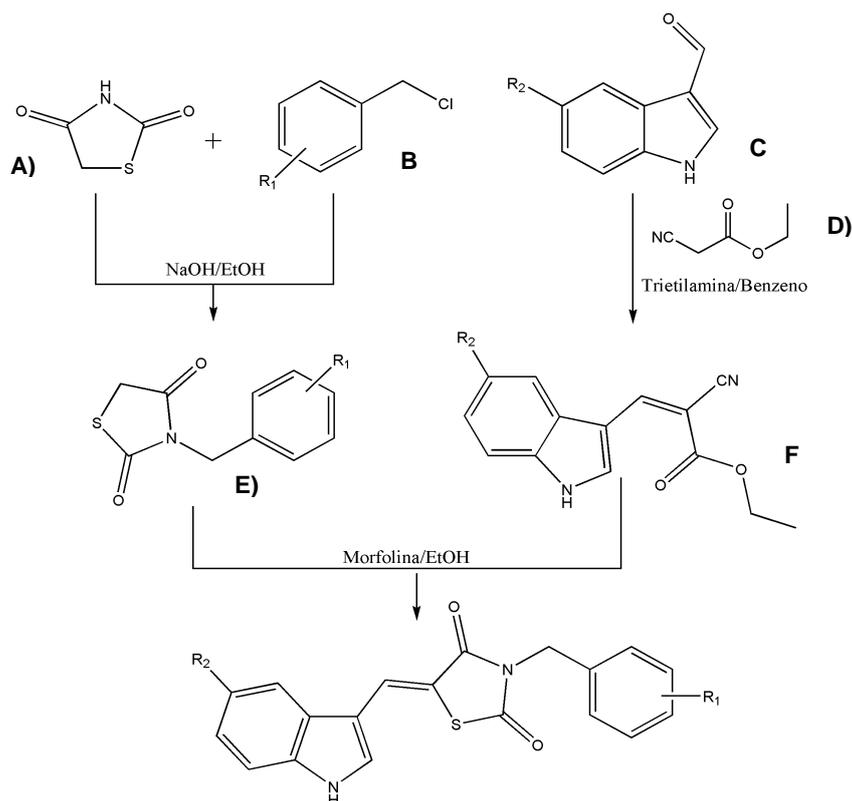
4.1.3 Reagentes e Solventes

Os seguintes reagentes e solventes foram utilizados para obtenção dos compostos: aldeídos aromáticos substituídos (3-indolcarboxaldeído, 5-bromo-

indolcarboxaldeído, haletos de benzila substituídos (cloreto de 3,4-dicloro-benzil, cloreto de 2,6-diflúor-benzil, cloreto de 2-cloro-6-flúor-benzil, cloreto de 4-metiltio-benzil), trietilamina, morfolina, benzeno, cianoacetato de etila, etanol absoluto, metanol, hidróxido de sódio, acetato de etila. Estes reagentes e solventes utilizados na síntese dos compostos ou para suas análises pertencem às marcas Sigma-Aldrich, Acros, Merck, Vetec ou Quimis e foram utilizados sem purificação.

4.1.4 Procedimento experimental para obtenção dos derivados indólicos-tiazolidínicos

A rota sintética empregada para a obtenção dos derivados indólicos-tiazolidínicos foi uma via plena convergente, onde foram utilizadas propostas de mecanismos reacionais de N-alkilação, condensação de Knoevenagel, adição de Michael (Esquema 10).



$R_1 = 3,4\text{-dicloro}; 2,6\text{-diflúor}; 4\text{-SCH}_3; 2\text{-cloro-6-flúor}$. $R_2 = \text{H, Br}$.

Esquema 10. Diagrama de síntese dos derivados indólicos-tiazolidínicos. A) tiazolidina-2,4-diona; B) haletos de benzila; C) carboxaldeído; D) cianoacetato de etila; E) 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona; F) ésteres de Cope.

4.1.5 Métodos

A seguir serão descritos os métodos empregados na síntese dos novos potenciais derivados indólicos-tiazolidínicos.

4.1.5.1 Síntese dos derivados 3-benzil-tiazolidina-2,4-dionas substituídos (LPSF/GQ)

Em um balão de fundo redondo, com capacidade de 250 mL foram adicionados 5 g (0,04273 mol) de tiazolidina-2,4-diona e 1,7094 g (0,04273 mol) de hidróxido de sódio previamente solubilizado numa mistura etanol/água 6:4 (10 mL) e deixado sob agitação por 15 minutos a temperatura ambiente. Ao sal de sódio de tiazolidina-2,4-diona formado, adicionou-se, gota-a-gota, quantidades equimolares do respectivo haleto de benzila substituído. A reação foi mantida em refluxo por 24 horas. Ao final da reação, o produto esperado foi precipitado com a adição de gelo picado, filtrado e após, purificado por cromatografia *flash* em sílica gel utilizando como eluente clorofórmio/metanol 92:08.

4.1.5.2 Síntese dos derivados 3-indolil-2-ciano-acrilatos de etila (LPSF/IP)

Em um balão de fundo redondo, com capacidade de 250 mL foram adicionados quantidades equimolares do aldeído aromático substituído e cianoacetato de etila na presença de 30 gotas de trietilamina como catalisador e 20 mL de benzeno como solvente. O sistema reacional foi acoplado a um Dean-Stark e aquecida a uma temperatura de 110 °C, durante 4 horas. O produto foi rota evaporado a secura e purificado através de recristalizações sucessivas em etanol absoluto.

4.1.5.3 Síntese dos derivados 5-(indol-3il-metileno)-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ)

Em um balão de fundo redondo, com capacidade de 250 mL foram adicionadas quantidades equimolares de 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona e 3-indolil-2-ciano-acrilatos de etila na presença de 250 µL de morfolina como catalisador e 10

mL de etanol absoluto como solvente. A mistura reacional foi aquecida a 50° C e mantida por aproximadamente 4 horas. O produto foi então filtrado e purificado com sucessivas lavagens em etanol absoluto.

4.2 Estudo Biológico

Esta etapa teve como objetivos a obtenção da viabilidade celular, a fim de verificar o potencial citotóxico dos compostos obtidos e também avaliar a susceptibilidade dos parasitos do *S. mansoni* frente aos derivados indólicos-tiazolidínicos.

4.2.1 Materiais

- ✓ Camundongos albinos suíços (*Mus musculus*) machos e fêmeas, com 30 dias de idade, fornecidos pelo Biotério do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM/FIOCRUZ);
- ✓ Cepas LE de *S. mansoni* mantida no Laboratório do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães (CPqAM/FIOCRUZ);
- ✓ Vermes adultos do *S. mansoni* obtidos no Laboratório do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães (CPqAM) após realizada a perfusão dos camundongos infectados;
- ✓ Praziquantel (2-ciclohexilcarbonil-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino{2,1-a}isoquinolina-4-ona) (PZQ);
- ✓ Anestésicos: cloridrato de xilasina e cloridrato de ketamina;
- ✓ Salina obtida a partir de cloreto de sódio, citrato de sódio e água destilada;
- ✓ Placas de Petri e placas de cultura com 24 poços;
- ✓ Meio RPMI 1640 completo suplementado com penicilina, estreptomicina e soro bovino fetal;
- ✓ Dimetilsulfóxido (DMSO);
- ✓ Pipeta graduada, tubos de falcon, seringa, ponteiras, álcool e materias cirúrgicos todos esterilizados;
- ✓ Câmara de fluxo;
- ✓ Equipamento de perfusão;

4.2.2 Métodos

A seguir serão descritos os métodos empregados na avaliação biológica dos potenciais derivados indólicos-tiazolidínicos.

4.2.2.1 Viabilidade celular

Células J774 de linhagem macrofágica gerada em camundongo (1×10^5 células/poço) foram cultivadas em placas de 96 poços de fundo plano, contendo meio de cultura RPMI completo. Como controle positivo, foi utilizado Violeta de Genciana ($10 \mu\text{g/ml}$ ou $20 \mu\text{M}$). O controle negativo foi composto por células J774 contendo meio RPMI completo e DMSO. As células foram incubadas, durante 72 horas, em estufa de CO_2 (5%), a 37°C . Cada composto foi testado em triplicata. Após, foi adicionado meio RPMI sem fenol red e 10% de AlamarBlue. Em seguida, foi realizada uma leitura da placa em espectrofotômetro (570 nm - 600 nm) (KEENAN et al., 2012; ROMANHA et al., 2010; BECERRA et al., 2012).

4.2.2.2 Avaliação da suscetibilidade *in vitro* de vermes adultos de *Schistosoma mansoni* frente aos derivados indólicos-tiazolidínicos

A infecção foi realizada por via percutânea em animais com 30 dias de idade, utilizando para cada camundongo cerca de 120 cercárias de *S. mansoni* (Cepa LE – Belo Horizonte) oriundas de *Biomphalaria glabrata* mantidos no Departamento de Malacologia do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães (CPqAM). Após 60 dias, foi realizado exame parasitológico das fezes dos camundongos para avaliar a positividade da infecção (HOFFMAN; PONS; JANER, 1934). Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/ Fundação Oswaldo Cruz (CPqAM/FIOCRUZ) autorizado pela licença No. 38/2012.

Após 60 dias de infecção, os camundongos foram submetidos à eutanásia. Os animais foram anestesiados por via intraperitoneal com cloridrato de ketamina (115 mg/Kg) associada a cloridrato de xilasina (10 mg/Kg). Após anestesia, os animais foram submetidos à perfusão do sistema porta hepático para retirada dos vermes, os

quais foram separados em placas de Petri contendo meio RPMI completo (DUVAL & DEWITT, 1967).

Os parasitos foram removidos dos camundongos infectados com alta carga parasitária através da perfusão do sistema porta-hepático, e, em seguida lavados em meio RPMI-1640 acrescido de HEPES 20 mM pH = 7,5 e suplementado com penicilina (100 UI/ml), estreptomicina (100 µg/mL) e soro bovino fetal a 10%. Após a lavagem, os vermes adultos foram transferidos para placas de cultura de tecidos contendo 2 mL de meio. Para cada concentração testada, três poços foram utilizados, sendo que cada poço recebeu quatro vermes, e em seguida foram incubados a 37°C, em atmosfera úmida contendo 5% de CO₂. Após um período de 2 horas de adaptação ao meio, os derivados indólicos-tiazolidínicos foram adicionados nas concentrações de 100 µg/mL, 80 µg/mL, 40 µg/mL, 20 µg/mL, 10 µg/mL e 5 µg/mL. O praziquantel foi utilizado na dose de 3 µg/mL. Essas foram as concentrações preconizadas de *screening* dos compostos. Os parasitos foram mantidos em cultura por 6 dias sendo monitorados a cada 24 horas para avaliação da atividade motora e da taxa de mortalidade. A motilidade dos parasitos foi analisada de acordo com os critérios propostos por Horiuchi et al., 2005. Os parasitos que mostraram ausência de contração corporal por um período de 30 segundos foram considerados mortos (PORTELA et al., 2011).



RESULTADOS E DISCUSSÃO

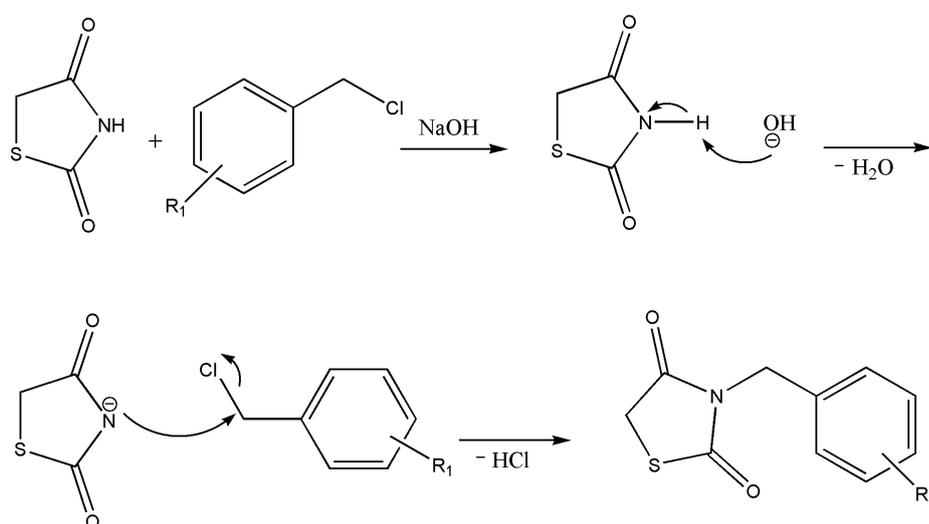
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir serão descritos os resultados obtidos da síntese química dos novos derivados indólicos-tiazolidínicos bem como da avaliação deste na atividade esquistossomicidas.

5.1 Mecanismos Reacionais

A síntese dos novos derivados indólicos-tiazolidínicos se deu por mecanismos reacionais clássicos os quais se encontram descritos a seguir.

5.1.1 Mecanismo de N-alkilação



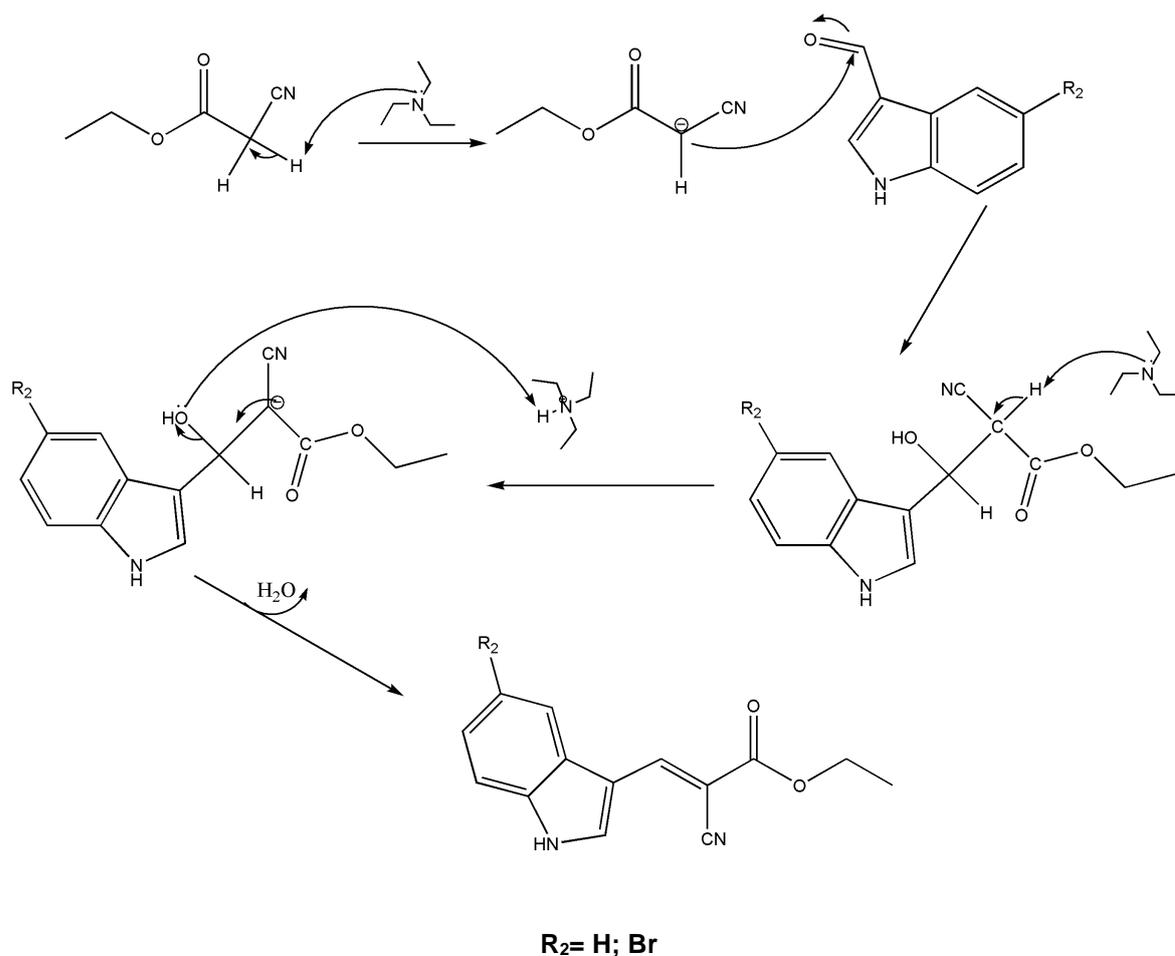
R₁ = 2,6-diflúor; 3,4-dicloro; 2-cloro-6-flúor; 4-SCH₃.

Esquema 11. Mecanismo reacional de N-alkilação conduzindo às 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ)

A obtenção do primeiro intermediário se inicia quando se trata a tiazolidina-2,4-diona (TZD) na presença de uma solução alcoólica de hidróxido de sódio. Esta etapa consiste na desprotonação do hidrogênio lábil no núcleo tiazolidínico formando um sal em solução. Posteriormente o haleto de benzila é adicionado e o nucleófilo

formado (sal de TZD) ataca o carbono parcialmente positivo do haleto de benzila, conduzindo a formação dos derivados 3-benzil-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ).

5.1.2 Mecanismo de Condensação de Knoevenagel

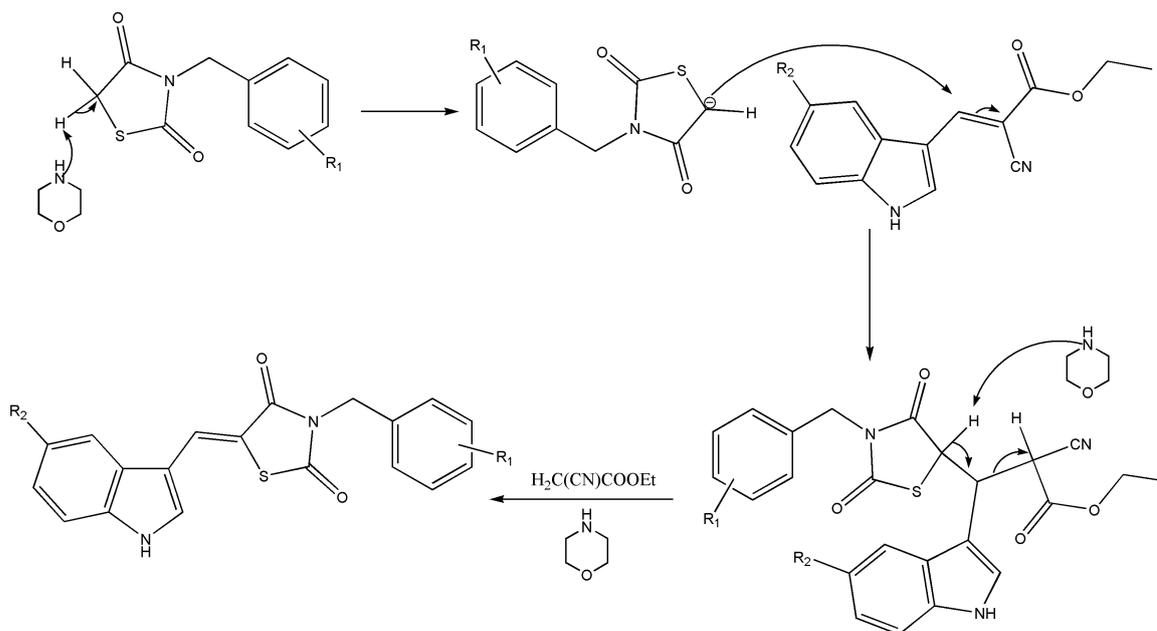


Esquema 12. Mecanismo reacional da condensação de Knoevenagel conduzindo aos ésteres cianocinâmicos (LPSF/IP)

Os ésteres de Cope, assim também chamados os ésteres cianocinâmicos, são obtidos através da reação entre aldeídos substituídos e cianoacetato de etila, através do mecanismo reacional de condensação de Knoevenagel. A reação se inicia quando o catalisador da reação desprotona o hidrogênio do metileno ativo do cianoacetato de etila e este passa a ser o nucleófilo da reação atacando a carbonila do aldeído. O catalisador restaurado, novamente desprotona o hidrogênio

remanescente do metileno formando um carbânion. A hidroxila formada captura o hidrogênio do catalisador, restaurando-o novamente, e após um rearranjo intramolecular, há a desidratação do composto formando os ésteres cianocinâmicos (LPSF/IP).

5.1.3 Mecanismo de Adição de Michael



Esquema 13. Mecanismo reacional da adição de Michael conduzindo aos derivados indólicos-tiazolidínicos (LPSF/GQ)

Os intermediários formados, LPSF/GQ e LPSF-IP, são os reagentes para a última etapa e formação dos compostos finais. A reação se inicia quando há a desprotonação do hidrogênio ácido da tiazolidina-2,4-diona que serve como nucleófilo, atacando o carbono parcialmente positivo do éster de Cope. Posteriormente, o hidrogênio ácido remanescente da TZD também é capturado formando um carbânion que após um rearranjo intramolecular há a formação dos derivados indólicos-tiazolidínicos (LPSF/GQ) com recuperação do cianoacetato de etila do catalisador na reação.

5.2 Análise espectroscópica

Para a caracterização das moléculas foram realizadas análises de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C além de Infravermelho (IV).

Como pontos característicos na elucidação estrutural dos novos derivados indólicos-tiazolidínicos através da análise do RMN ^1H , foram observados singletos referentes ao próton presente no núcleo indólico (NH) o qual apresentou deslocamento químico que variou de 12.03 a 12.31 ppm. Outro ponto importante presente nos nossos derivados são a presença dos prótons oriundos da formação da ligação CH_2 (benzil) e CH (aril), que apresentaram variações de deslocamentos 4.75 a 4.97 ppm e 7.79 a 7.90 ppm, respectivamente. Além disso, em todos os espectros analisados observaram-se sinais de singleto (s), dubleto (d), tripleto (t), duplo dubleto (dd), quarteto (q) e multipletos (m) na região característica de grupamentos aromáticos (7.09 a 8.22 ppm).

O espectro de RMN ^{13}C evidencia as absorções dos átomos de carbono característicos dos derivados indol-tiazolidínicos. Os deslocamentos dos carbonos referentes à carbonila ($\text{C}=\text{O}$) do núcleo da tiazolidina-2,4-diona são evidenciados nos sinais entre 164 a 167 ppm. Os deslocamentos dos carbonos aromáticos variaram entre 110 a 137 ppm, devido à natureza dos substituintes aos quais estes se encontram ligados (F, N, Cl, Br, S).

A espectroscopia na região do infravermelho foi utilizada como ferramenta adjunta na caracterização dos compostos sintetizados, na qual é possível evidenciar grupos funcionais característicos presentes dos compostos sintetizados. Os derivados indol-tiazolidínicos presentes neste trabalho, apresentaram estiramentos/bandas características dos grupos funcionais N-H ($3241\text{-}3399\text{ cm}^{-1}$) e $\text{C}=\text{O}$ ($1659\text{-}1733\text{ cm}^{-1}$) além do sinal característico a funcionalidade $\text{C}=\text{C}$ ($1449\text{-}1603\text{ cm}^{-1}$). A espectrometria de massas confirmou todos os compostos sintetizados.

A dupla ligação exocíclica presente na posição 5 no núcleo tiazolidínico, evidencia a possibilidade da formação de distereoisômeros (*Z* ou *E*). No entanto, a literatura revela através de estudos de cristalografia de raio-X e através de RMN ^{13}C , a preferência pela configuração *Z* de derivados 5-arilideno-tiazolidina-2,4-diona. (GUARDA et al., 2003; KAROLAK-WOJCIECHOWSKA et al., 2009; HANDZLIK et al., 2012). Góes et al. (2004), concluíram a partir de diversos compostos sintetizados e presentes na literatura que os hidrogênios vinílicos correspondentes a

configuração *Z*, possuíam deslocamentos químicos que variavam entre 7.78 a 8.29 ppm (RMN¹H), corroborando com nossos resultados no qual os hidrogênios vinílicos tiveram deslocamentos químicos variando entre 7.79 a 7.90 ppm (GÓES et al., 2004).

A figura 20 exemplifica um espectro de infravermelho (IV) referente ao composto LPSF/GQ-369, no qual é possível identificar o estiramento C=C vinílico em 1596 cm⁻¹, os estiramentos C=O no núcleo tiazolidínico em 1662 e 1729 cm⁻¹ e o estiramento NH do indol em 3412 cm⁻¹.

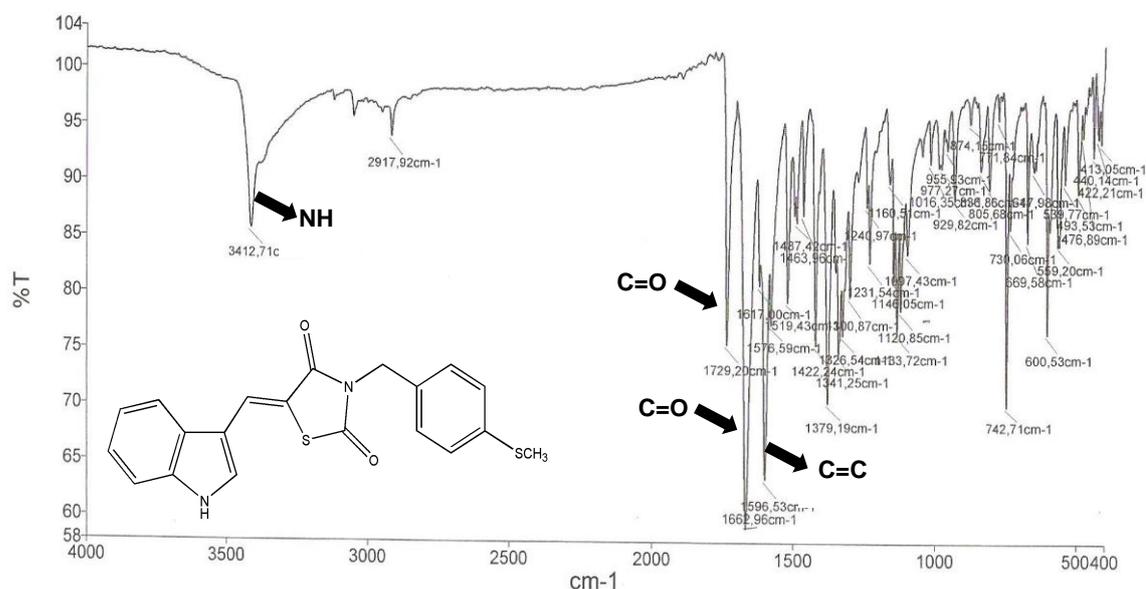


Figura 20. Exemplo de espectro de Infravermelho (IV) do LPSF/GQ-369.

Na figura 21, é possível identificar no espectro de RMN ¹H sinais característicos dos prótons CH₂ (benzílico) e CH (vinílico) em 4.77 e 7.89 ppm, respectivamente, apresentados como singletos, os quais comprovam a formação do composto pretendido. Além disso, os hidrogênios aromáticos benzílicos (7.24 ppm), os hidrogênios indólicos (7.19-8.21 ppm) e o sinal do NH indólico (12.22 ppm), também foram identificados para o composto LPSF/GQ-369.

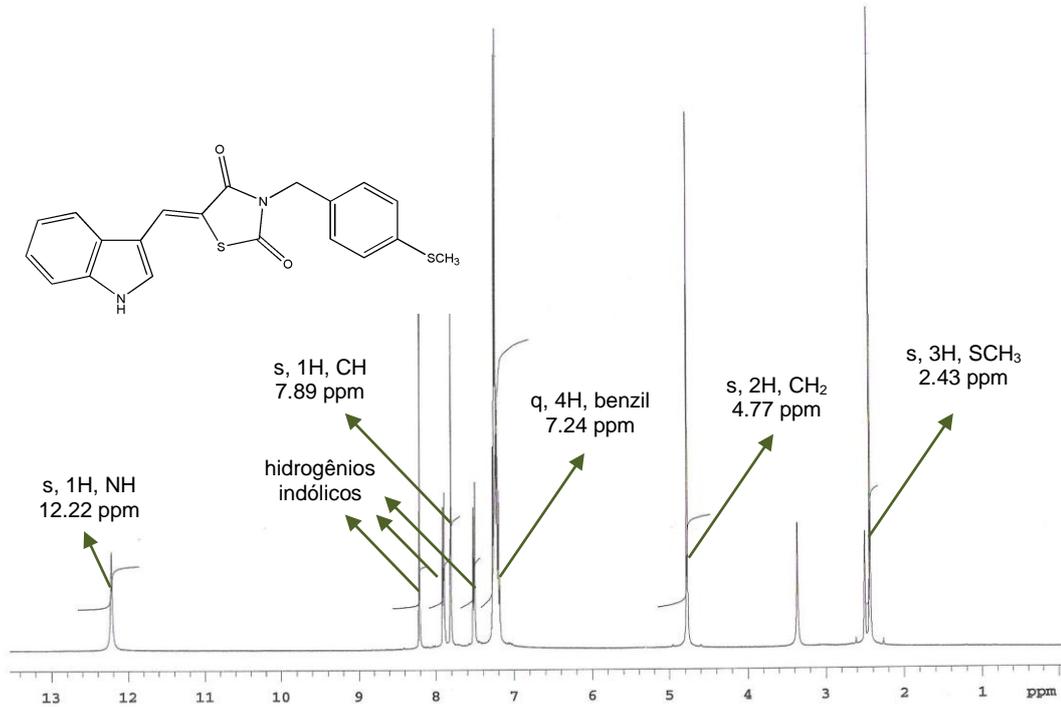


Figura 21. Exemplo de espectro de RMN ¹H do LPSF/GQ-369.

A figura 22 revela sinais característicos no espectro de RMN ¹³C do LPSF/GQ-369 como, por exemplo, as C=O em 165 e 167 ppm, o -SCH₃ em 14.64 ppm, o -CH₂ em 44.06 ppm, os carbonos aromáticos benzílicos em 126, 128, 136 e 137 ppm.

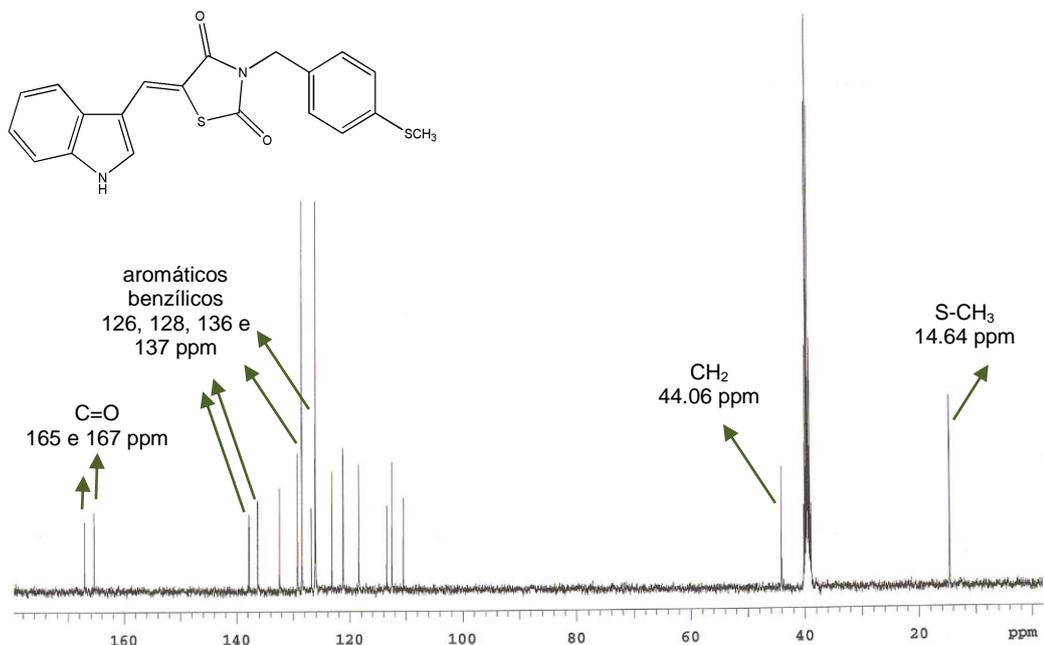
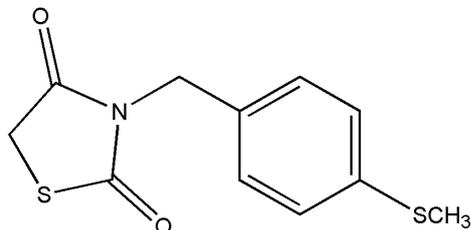


Figura 22. Exemplo de espectro de RMN ¹³C do LPSF/GQ-369.

Tabela 1. Dados físico-químicos dos derivados indólicos-tiazolidínicos.

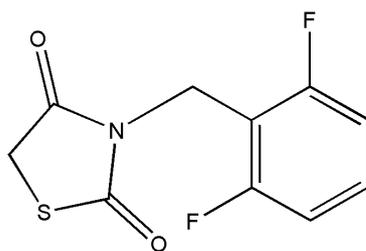
Composto	Ponto de Fusão (° C)	Rendimento (%)	Rf (<i>n</i> -Hex/AcOEt 6:4)
LPSF/GQ-83	239-241	45	0,68
LPSF/GQ-399	244-246	51	0,54
LPSF/GQ-199	245-247	56	0,64
LPSF/GQ-238	259-261	44	0,47
LPSF/GQ-241	258-260	45	0,61
LPSF/GQ-242	280-282	72	0,55
LPSF/GQ-368	180-182	46	0,50
LPSF/GQ-369	210-211	40	0,55

5.2.1 3-(4-metilsulfanil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-365)



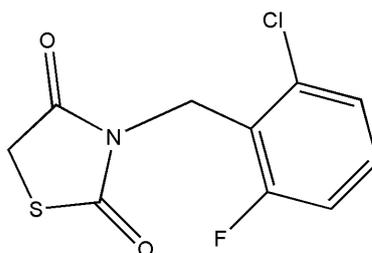
$C_{11}H_{11}NO_2S_2$. Rendimento: 60%. Faixa de fusão: 109° C. Rf 0,42 (*n*-hexano/acetato de etila, 7:3). IV (KBr, cm^{-1}): 1676, 1737, 2924, 2990. RMN 1H 400 MHz (d ppm, DMSO- d_6): 2.50 (s, 3H, SCH₃), 4.25 (s, 2H, CH₂ benzil), 4.62 (s, 2H, CH₂ anel), 7.21 (s, 4H, aromático). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): 14.66, 34.03, 43.89, 125.99, 128.46, 132.17, 137.70, 171.89, 172.31. MS [M-H]⁺: calculado= 253.0231; encontrado= 253.051.

5.2.2 3-(2,6-diflúor-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-175)



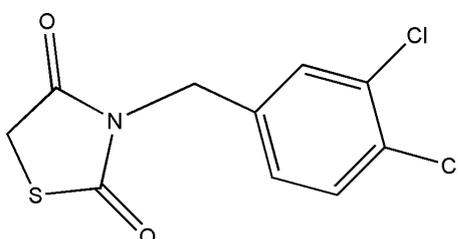
$C_{10}H_7F_2NO_2S$. Rendimento: 54%. Faixa de fusão: 132-133° C. Rf 0,53 (*n*-hexano/acetato de etila, 7:3). IV (KBr, cm^{-1}): 1678, 1753, 3001, 3080. RMN 1H 400 MHz (d ppm, DMSO- d_6): 4.20 (s, 2H, CH_2 benzil), 4.91 (s, 2H, CH_2 anel), 7.34 (t, 1H, aromático, $J= 7,6$ Hz), 7.46 (d, 2H, aromático, $J= 7,6$ Hz). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): 33.44, 41.00, 128.67, 130.31, 135.40, 171.18, 171.36.

5.2.3 3-(2-cloro-6-flúor-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-52)



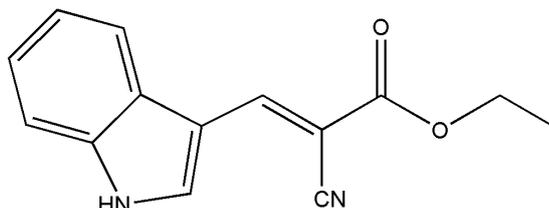
$C_{10}H_7ClFNO_2S$. Rendimento: 27%. Faixa de fusão: 90 °C. Rf; 0.4 (*n*-hexano/acetato de etila 9:1) (BARROS et al., 2010).

5.2.4 3-(3,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-142)



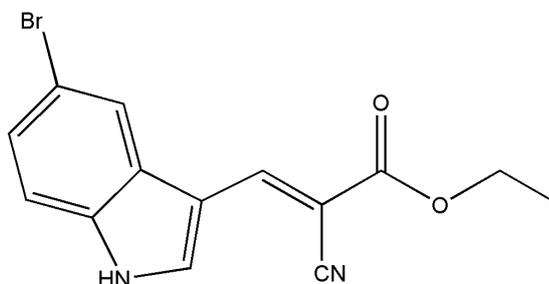
$C_{10}H_7Cl_2NO_2S$. Rendimento: 18%. Faixa de Fusão: 68-70 °C. Rf: 0.59 (*n*-hexano:acetato de etila, 7:3) (LO & SHROPSHIRE, 1957)

5.2.5 2-ciano-3-(1*H*-indol-3-ilmetileno)-acrilato de etila (LPSF/IP-19)



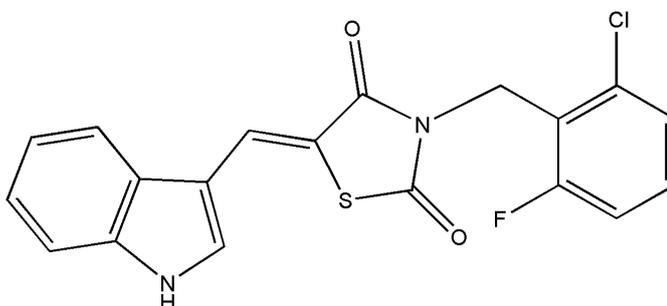
$C_{14}H_{12}N_2O$. Rendimento: 84%. Faixa de Fusão: 162-165 °C. Rf: 0.71 (benzeno:acetato de etila, 6:4) (BRANDÃO et al., 2004).

5.2.6 2-ciano-3-(5-bromo-1*H*-indol-3-ilmetileno)-acrilato de etila (LPSF/IP-59)



$C_{14}H_{11}BrN_2O$. Rendimento: 87%. Faixa de Fusão: 201-203 °C. Rf: 0.68 (*n*-hexano:acetato de etila, 7:3) (SANTIN et al., 2013).

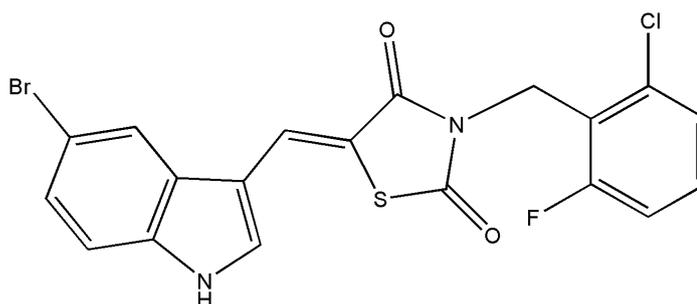
5.2.7 3-(2-cloro-6-flúor-benzil)-5-(1*H*-indol-3-ilmetileno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-83)



$C_{19}H_{12}ClFN_2O_2S$. Rendimento: 45%. Faixa de fusão: 239-241° C. Rf: 0,68 (*n*-hexano/acetato de etila, 6:4). IV (KBr, cm^{-1}): 1449, 1668, 1726, 3241. RMN 1H 400 MHz (d ppm, DMSO- d_6): 4.96 (s, 2H, CH_2), 7.32 (d, 2H, indol, $J= 8$ Hz), 7.38 (t, 1H,

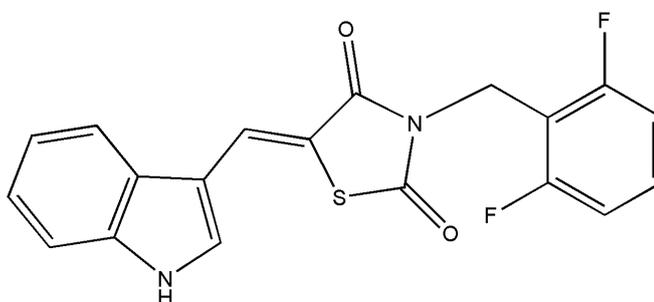
benzil, $J= 6,4$ Hz), 7.40 (t, 2H, benzil, $J= 8$ Hz), 7.50 (d, 1H, indol, $J= 8$ Hz), 7.79 (s, 1H, CH), 7.88 (d, 1H, indol, $J= 8$ Hz), 8.16(s, 1H, CH/indol), 12.19 (s, 1H, NH). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): 37.06, 110.40, 112.46, 113.13, 114.72, 118.39, 120.77, 121.20, 123.17, 125.65, 126.01, 126.80, 129.14, 130.62, 134.19, 136.22, 162.71, 164.84, 166.36. MS $[\text{M}-\text{H}]^+$: calculado= 386.0294; encontrado= 386.050.

5.2.8 3-(2-cloro-6-flúor-benzil)-5-(5-bromo-1H-indol-3-ilmetileno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-399)



$\text{C}_{19}\text{H}_{11}\text{BrClFN}_2\text{O}_2\text{S}$. Rendimento: 51%. Faixa de Fusão: 244-246° C. Rf 0,54 (*n*-hexano/acetato de etila, 6:4). IV (KBr, cm^{-1}): 1601, 1678, 1733, 3296. RMN ^1H 400 MHz (d ppm, DMSO- d_6): 4.97 (s, 2H, CH_2), 7.23 (t, 1H, benzil, $J= 9,6$ Hz), 7.33 (d, 1H, $J= 8,4$, benzil), 7.34 (s, 1H, indol), 7.39 (m, 1H, indol), 7.45 (d, 1H, $J= 8,4$, benzil), 7.82 (s, 1H, CH), 8.17 (d, 1H, indol, $J= 4,4$ Hz), 12.30 (s, 1H, NH). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): 37.09, 110.09, 113.99, 114.45, 114.68, 120.70, 120.86, 121.18, 125.58, 125.72, 128.63, 130.06, 130.50, 130.59, 134.22, 134.92, 162.69, 164.67, 166.22. MS $[\text{M}-\text{H}]^+$: calculado= 463.9397; encontrado= 463.894.

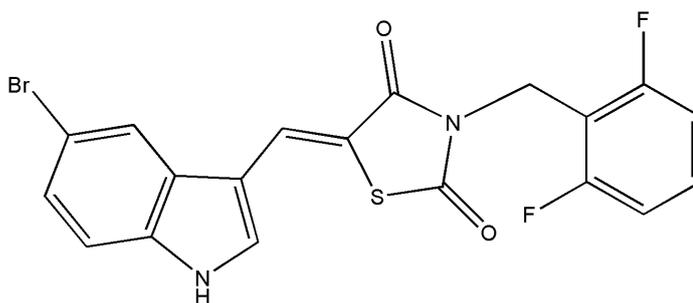
5.2.9 3-(2,6-diflúor-benzil)-5-(1H-indol-3-ilmetileno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-199)



$\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$. Rendimento: 56%. Faixa de fusão: 245-247° C. Rf 0,64 (*n*-hexano/acetato de etila, 6:4). IV (KBr, cm^{-1}): 1593, 1672, 1729, 3314. RMN ^1H 400 MHz (d ppm, DMSO- d_6): 4.91 (s, 2H, CH_2), 7.09 (t, 2H, benzil, $J= 8$ Hz), 7.19 (t, 1H,

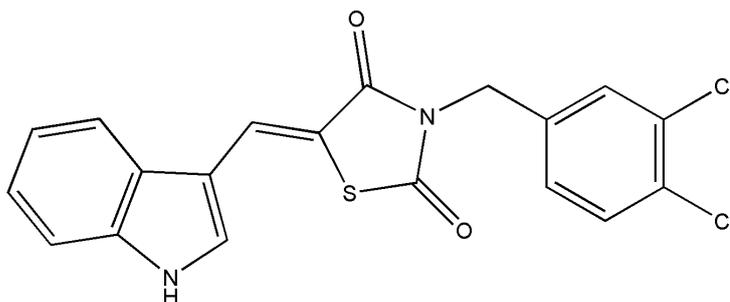
indol, $J= 7,2$ Hz), 7.25 (t, 1H, indol, $J= 7,2$ Hz), 7.41 (q, 1H, benzil, $J= 8$ Hz), 7.51 (d, 1H, indol, $J= 8$ Hz), 7.89 (d, 1H, indol, $J= 8$ Hz), 7.79 (s, 1H, CH), 8.18 (s, 1H, CH/indol), 12.19 (s, 1H, NH). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): 33.34, 110.35, 111.10, 111.44, 111.69, 112.39, 113.12, 118.33, 121.14, 123.11, 126.02, 126.74, 129.10, 130.32, 136.18, 159.69, 162.16, 164.71, 166.29. MS $[\text{M}-\text{H}]^+$: calculado= 370.0588; encontrado= 370.081.

5.2.10 3-(2,6-difluor-benzil)-5-(5-bromo-1H-indol-3-ilmetileno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-238)



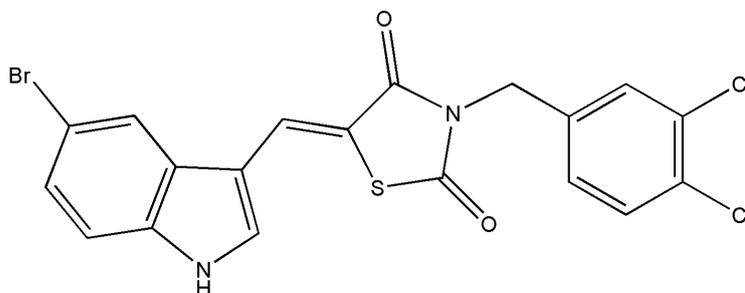
$\text{C}_{19}\text{H}_{11}\text{BrF}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$. Rendimento: 44%. Faixa de fusão: 259-261° C. Rf 0,47 (*n*-hexano/acetato de etila, 6:4). IV (KBr, cm^{-1}): 1598, 1669, 1728, 3297. RMN ^1H 400 MHz (d ppm, DMSO- d_6): 4.91 (s, 2H, CH_2), 7.09 (t, 1H, benzil, $J= 8,4$ Hz), 7.35 (d, 1H, indol, $J= 8,4$ Hz), 7.41 (t, 1H, benzil, $J= 8,4$ Hz), 7.45 (d, 1H, indol, $J= 8,4$ Hz), 7.81 (s, 1H, CH), 8.15 (s, 1H, indol) 8.18 (s, 1H, indol), 12.30 (s, 1H, NH). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): 33.49, 110.06, 110.88, 111.07, 111.25, 111.50, 111.69, 113.85, 114.00, 114.33, 121.15, 125.75, 128.60, 130.34, 134.91, 159.70, 162.17, 164.59, 166.20. MS $[\text{M}-\text{H}]^+$: calculado= 447.9693; encontrado= 447.919.

5.2.11 3-(3,4-dicloro-benzil)-5-(1H-indol-3-ilmetileno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-241)



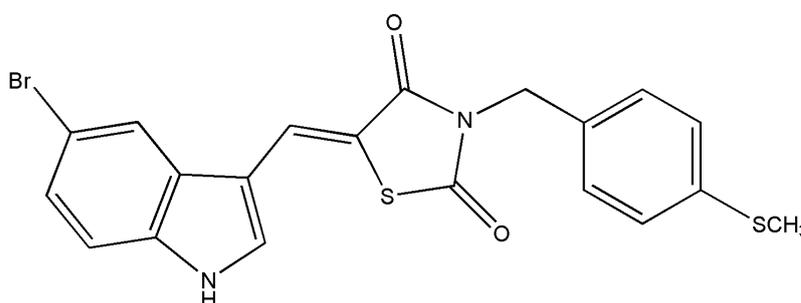
$C_{19}H_{12}Cl_2N_2O_2S$. Rendimento: 45%. Faixa de fusão: 258-260° C. Rf 0,61 (*n*-hexano/acetato de etila, 6:4). IV (KBr, cm^{-1}): 1593, 1672, 1729, 3250. RMN 1H 400 MHz (d ppm, DMSO- d_6): 4.83 (s, 2H, CH_2), 7.20 (t, 1H, benzil, $J=8$ Hz), 7.26 (t, 1H, benzil, $J=8$ Hz), 7.29 (dd, 1H, benzil, $J_1=8,4$ Hz, $J_2=1,6$), 7.51 (d, 1H, indol, $J=8$ Hz), 7.61 (d, 2H, indol, $J=8,4$ Hz), 7.82 (s, 1H, CH), 7.91 (d, 1H, indol, $J=8$ Hz), 8.22 (s, 1H, indol), 12.21 (s, 1H, NH). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): 43.35, 110.43, 112.49, 113.34, 118.43, 121.25, 123.21, 126.37, 126.79, 127.98, 129.32, 129.85, 130.44, 130.88, 131.15, 136.26, 136.88, 165.36, 167.20. MS $[M-H]^+$: calculado= 401.9997; encontrado= 402.013.

5.2.12 3-(3,4-dicloro-benzil)-5-(5-bromo-1*H*-indol-3-ilmetileno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-242)



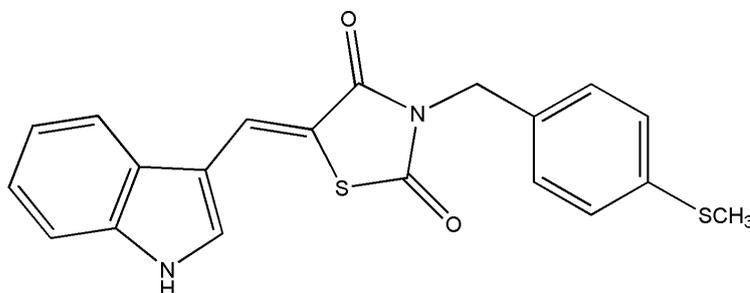
$C_{19}H_{11}BrCl_2N_2O_2S$. Rendimento: 72%. Faixa de fusão: 280-282° C. Rf 0,55 (*n*-hexano/acetato de etila, 6:4). IV (KBr, cm^{-1}): 1603, 1672, 1727, 3399. RMN 1H 400 MHz (d ppm, DMSO- d_6): 4.83 (s, 2H, CH_2), 7.29 (dd, 1H, benzil, $J_1=8,4$ Hz, $J_2=2$ Hz), 7.35 (dd, 1H, benzil, $J_1=8,4$ Hz, $J_2=1,6$ Hz), 7.46 (d, 1H, benzil, $J=8,8$ Hz), 7.59 (d, 1H, indol, $J=1,2$ Hz), 7.61 (s, 1H, indol), 7.84 (s, 1H, CH), 8.18 (d, 1H, indol, $J=1,6$ Hz), 8.22 (s, 1H, indol), 12.03 (s, 1H, NH). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): 43.37, 110.14, 113.93, 114.21, 114.44, 121.21, 125.75, 126.11, 127.98, 128.64, 129.86, 130.26, 130.46, 130.86, 131.15, 135.00, 136.81, 165.24, 167.10. MS $[M-H]^+$: calculado= 479.9102; encontrado= 479.831.

5.2.13 3-(4-metilsulfanil-benzil)-5-(5-bromo-1*H*-indol-3-ilmetileno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-368)



$C_{20}H_{15}BrN_2O_2S_2$. Rendimento: 46%. Faixa de fusão: 180-182° C. Rf 0,50 (*n*-hexano/acetato de etila, 6:4). IV (KBr, cm^{-1}): 1603, 1659, 1731, 3430. RMN 1H 400 MHz (d ppm, DMSO- d_6): 2.41 (s,3H, SCH₃); 4.75(s, 2H, CH₂); 7.22 (q, 4H, benzil, $J=8,8$ Hz); 7.33(dd, 1H, indol, $J_1=8,4$ Hz, $J_2=1,6$ Hz); 7.43(d, 1H, indol, $J=8,4$ Hz); 7.81(s, 1H, CH); 8.16 (d, 1H, indol, $J=1,6$ Hz); 8.19 (s, 1H, indol); 12.31(s, 1H,NH). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): 14.64, 44.08, 110.13, 113.91, 114.28, 114.39, 121.21, 125.73, 125.92, 126.07, 128.44, 128.62, 130.15, 132.33, 134.95, 137.79, 165.25, 166.96. MS [M-H]⁺: calculado= 457.9758; encontrado= 457.822.

5.2.14 3-(4-metilsulfanil-benzil)-5-(1*H*-indol-3-ilmetileno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-369)

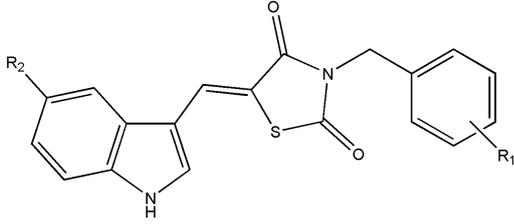


$C_{20}H_{16}N_2O_2S_2$. Rendimento: 40%. Faixa de fusão: 210-211° C. Rf 0,55 (*n*-hexano/acetato de etila, 6:4). IV (KBr, cm^{-1}): 1596, 1662, 1729, 3412. RMN 1H 400 MHz (d ppm, DMSO- d_6): 2.43 (s,3H, SCH₃); 4.77 (s, 2H, CH₂); 7.19 (d, 2H, indol, $J=8$ Hz); 7.24 (q, 4H, benzil, $J=8$ Hz); 7.51(d, 1H, indol, $J=8$ Hz); 7.89(s, 1H, CH); 7.90 (d, 1H, indol, $J=7,6$ Hz); 8.21 (s, 1H, indol); 12.22 (s,1H,NH). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): 14.64, 44.06, 110.43, 112.46, 113.39, 118.40, 121.21, 123.17, 126.07, 126.18, 126.78, 128.45, 129.20, 132.38, 136.22, 137.78, 165.37, 167.06. MS [M-H]⁺: calculado= 380.0653; encontrado= 380.000.

5.2 Estudo biológico

Os resultados da viabilidade celular de macrófagos após exposição aos derivados indólicos-tiazolidínicos se encontram na Tabela 1 a qual demonstra que nenhum dos compostos testados foi citotóxico quando comparados ao padrão citotóxico, o violeta de genciana, e ao composto de referência utilizado no tratamento da parasitose, o praziquantel.

Tabela 2. Viabilidade celular em macrófagos dos derivados indólicos-tiazolidínicos

Composto	R ₁	R ₂	Cl ₅₀ (µg/mL)
			
LPSF/GQ-83	2-Cl,6-F	H	81.62
LPSF/GQ-399	2-Cl,6-F	Br	ND
LPSF/GQ-199	2,6-F ₂	H	ND
LPSF/GQ-238	2,6-F ₂	Br	14.37
LPSF/GQ-241	3,4-Cl ₂	H	80.65
LPSF/GQ-242	3,4-Cl ₂	Br	>100
LPSF/GQ-368	4-SCH ₃	Br	78.38
LPSF/GQ-369	4-SCH ₃	H	46.30
PZQ	-	-	<1
VG	-	-	<1

VG: Violeta de Genciana, PZQ: Praziquantel. ND: não determinado, pois não foi possível calcular a Cl₅₀.

Os resultados da avaliação biológica podem ser evidenciados através de gráficos relativos à taxa de mortalidade (Gráficos 1-8), já os dados referentes à motilidade dos vermes estão resumidos nas Tabelas 3-6. Durante todo o período de observação de 144 horas, todos os vermes adultos *S. mansoni* incubados na ausência de qualquer fármaco (grupo controle negativo) exibiu movimento ondulatório e peristáltico característico ao longo do eixo do corpo, com aderência ocasional no fundo da placa de cultura, através da ventosa ventral (pontuação 3). Em contraste, os vermes expostos à droga esquistossomicida de escolha, praziquantel (grupo controle positivo) apresentaram contração muscular imediatamente após a administração de praziquantel. Depois de 24 horas de tratamento com praziquantel, 100% dos vermes morreram (pontuação 0).

Tabela 3. Motilidade de vermes controles e tratados com praziquantel (PZQ) e com os derivados indol-tiazolidínicos LPSF/GQ-83 e LPSF/GQ-399 em diferentes tempos pós-incubação.

Grupos	Percentual da motilidade dos vermes (%) após incubação																	
	24 h			48 h			72 h			96 h			120 h			144 h		
	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0
Controle	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
PZQ	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
LPSF/GQ-83																		
100 µg/mL	8.33	91.67	0	0	100	0	0	66.67	33.33	0	58.33	41.67	0	50	50	0	16.67	83.33
80 µg/mL	50	50	0	8.33	91.67	0	0	100	0	0	66.67	33.33	0	50	50	0	50	50
40 µg/mL	75	25	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	58.33	41.67	0	58.33	41.67
20 µg/mL	75	25	0	58.33	41.67	0	25	75	0	8.33	91.67	0	0	91.67	8.33	0	75	25
10 µg/mL	58.33	41.67	0	58.33	41.67	0	58.33	41.67	0	50	50	0	41.67	58.33	0	16.67	75	8.33
5 µg/mL	100	0	0	58.33	41.67	0	58.33	41.67	0	58.33	41.67	0	33.33	66.67	0	0	100	0
LPSF/GQ-399																		
100 µg/mL	0	91.67	8.33	0	66.67	33.33	0	50	50	0	50	50	0	0	100	0	0	100
80 µg/mL	0	91.67	8.33	0	66.67	33.33	0	50	50	0	50	50	0	33.33	66.67	0	16.67	83.33
40 µg/mL	33.33	66.67	0	8.33	75	16.67	8.33	50	41.67	0	58.33	41.67	0	41.67	58.33	0	33.33	66.67
20 µg/mL	0	50	50	8.33	83.33	8.33	0	66.67	33.33	0	58.33	41.67	0	41.67	58.33	0	33.33	66.67
10 µg/mL	75	25	0	50	41.67	8.33	8.33	66.67	25	8.33	66.67	25	0	50	50	0	50	50
5 µg/mL	75	25	0	50	50	0	50	50	0	33.33	66.67	0	0	83.33	16.67	0	66.67	33.33

Critério de pontuação: 3 - movimento corporal completo; 1.5 - movimento corporal parcial; 0 - morto.

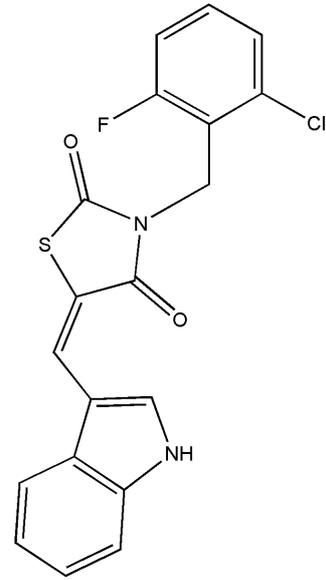
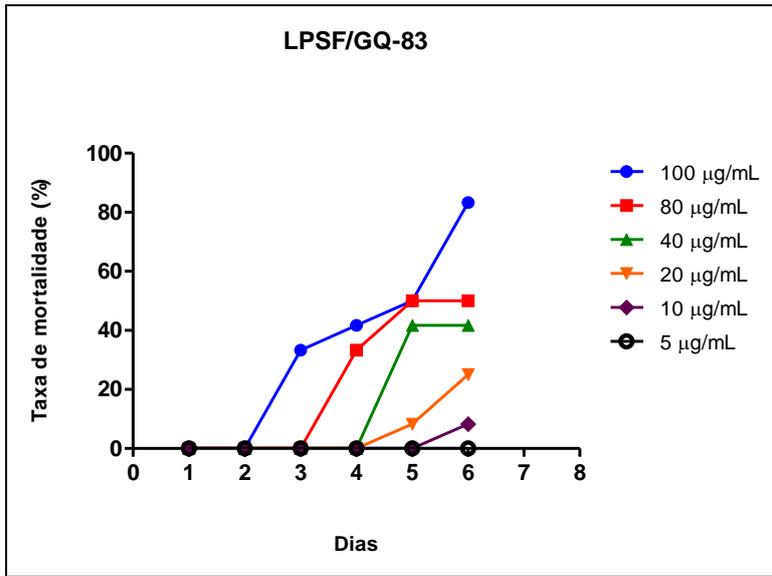


Gráfico 1. Taxa de mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* frente ao derivado indólico-tiazolidínico LPSF/GQ-83.

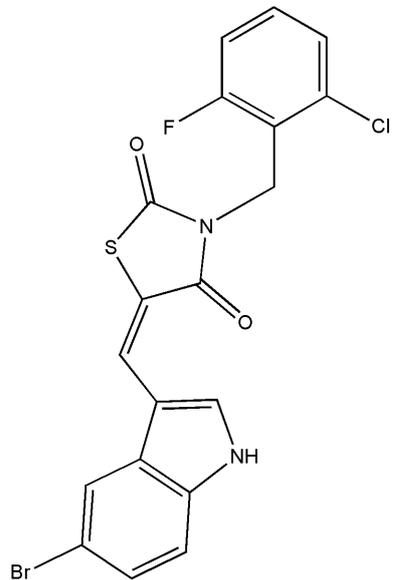
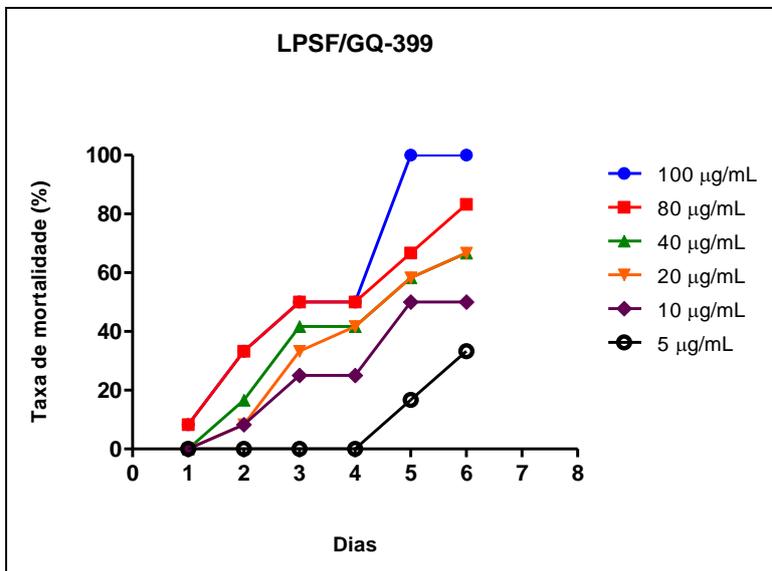


Gráfico 2. Taxa de mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* frente ao derivado indólico-tiazolidínico LPSF/GQ-399.

Tabela 4. Motilidade de vermes controles e tratados com praziquantel (PZQ) e com os derivados indol-tiazolidínicos LPSF/GQ-199 e LPSF/GQ-238 em diferentes tempos pós-incubação.

Grupos	Percentual da motilidade dos vermes (%) após incubação																	
	24 h			48 h			72 h			96 h			120 h			144 h		
	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0
Controle	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
PZQ	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
LPSF/GQ-199																		
100 µg/mL	83.33	8.33	8.33	75	16.67	8.33	50	33.33	16.67	25	58.33	16.67	25	58.33	16.67	0	83.33	16.67
80 µg/mL	83.33	8.33	8.33	75	16.67	8.33	66.67	25	8.33	50	41.67	8.33	33.33	58.33	8.33	16.67	58.33	25
40 µg/mL	83.33	8.33	8.33	83.33	0	16.67	66.67	16.67	16.67	41.67	33.33	25	50	25	25	25	41.67	33.33
20 µg/mL	100	0	0	100	0	0	91.67	8.33	0	66.67	16.67	16.67	41.67	33.33	25	25	41.67	33.33
10 µg/mL	100	0	0	100	0	0	75	25	0	75	25	0	50	50	0	25	75	0
5 µg/mL	91.67	8.33	0	91.67	8.33	0	83.33	16.67	0	75	25	0	75	25	0	50	50	0
Grupos	Percentual da motilidade dos vermes (%) após incubação																	
	24 h			48 h			72 h			96 h			120 h			144 h		
	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0
LPSF/GQ-238																		
100 µg/mL	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
80 µg/mL	0	16.67	83.33	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
40 µg/mL	0	50	50	0	8.33	91.67	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
20 µg/mL	8.33	41.67	50	0	41.67	58.33	0	25	75	0	8.33	91.67	0	8.33	91.67	0	0	100
10 µg/mL	33.33	66.67	0	25	58.33	16.67	0	75	25	0	33.33	66.67	0	25	75	0	16.67	83.33
5 µg/mL	66.67	33.33	0	58.33	41.67	0	50	50	0	50	50	0	50	41.67	8.33	50	41.67	8.33

Critério de pontuação: 3 - movimento corporal completo; 1.5 - movimento corporal parcial; 0 - morto.

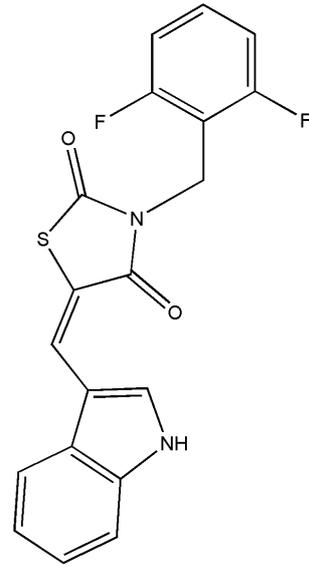
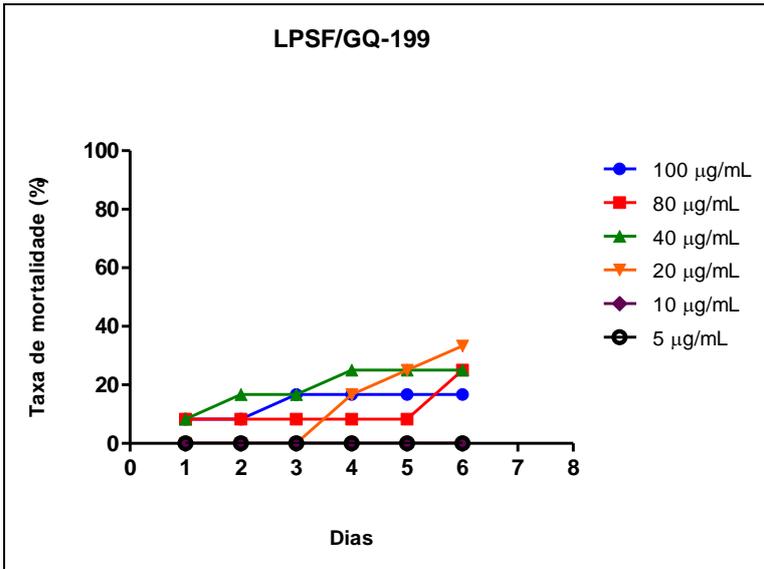


Gráfico 3. Taxa de mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* frente ao derivado indólico-tiazolidínico LPSF/GQ-199.

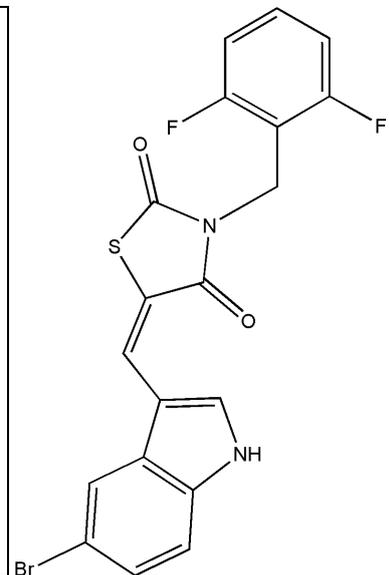
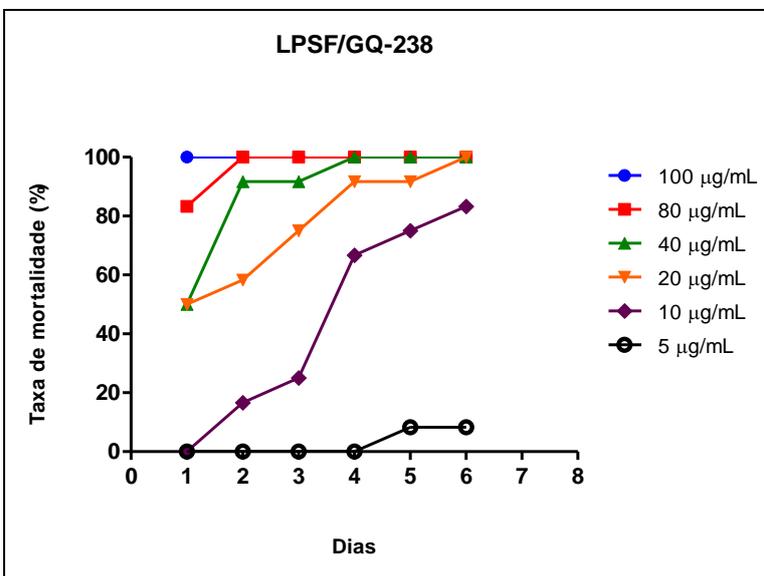


Gráfico 4. Taxa de mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* frente ao derivado indólico-tiazolidínico LPSF/GQ-238.

Tabela 5. Motilidade de vermes controles e tratados com praziquantel (PZQ) e com os derivados indol-tiazolidínicos LPSF/GQ-241 e LPSF/GQ-242 em diferentes tempos pós-incubação.

Grupos	Percentual da motilidade dos vermes (%) após incubação																	
	24 h			48 h			72 h			96 h			120 h			144 h		
	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0
Controle	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
PZQ	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
LPSF/GQ-241																		
100 µg/mL	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	91.67	8.33	0	83.33	16.67	0	75	25
80 µg/mL	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	83.33	16.67	0	75	25
40 µg/mL	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	83.33	16.67	0	83.33	16.67
20 µg/mL	8.33	91.67	0	8.33	91.67	0	8.33	91.67	0	0	100	0	0	83.33	16.67	0	83.33	16.67
10 µg/mL	41.67	58.33	0	8.33	91.67	0	8.33	91.67	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0
5 µg/mL	58.33	41.67	0	50	50	0	41.67	58.33	0	33.33	66.67	0	25	75	0	8.33	91.67	0
Grupos	Percentual da motilidade dos vermes (%) após incubação																	
	24 h			48 h			72 h			96 h			120 h			144 h		
	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0
LPSF/GQ-242																		
100 µg/mL	0	75	25	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
80 µg/mL	0	75	25	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
40 µg/mL	0	91.67	8.33	0	50	50	0	25	75	0	0	100	0	0	100	0	0	100
20 µg/mL	41.67	50	8.33	0	91.67	8.33	0	66.67	33.33	0	33.33	66.67	0	16.67	83.33	0	0	100
10 µg/mL	50	50	0	50	50	0	50	50	0	50	50	0	25	75	0	25	75	0
5 µg/mL	66.67	33.33	0	66.67	33.33	0	58.33	41.67	0	58.33	41.67	0	50	50	0	50	50	0

Critério de pontuação: 3 - movimento corporal completo; 1.5 - movimento corporal parcial; 0 - morto.

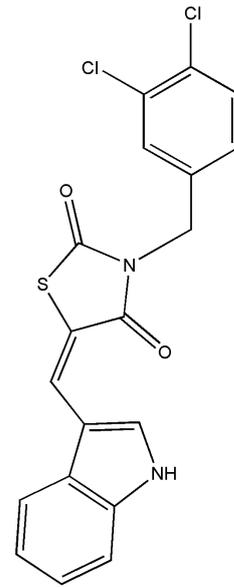
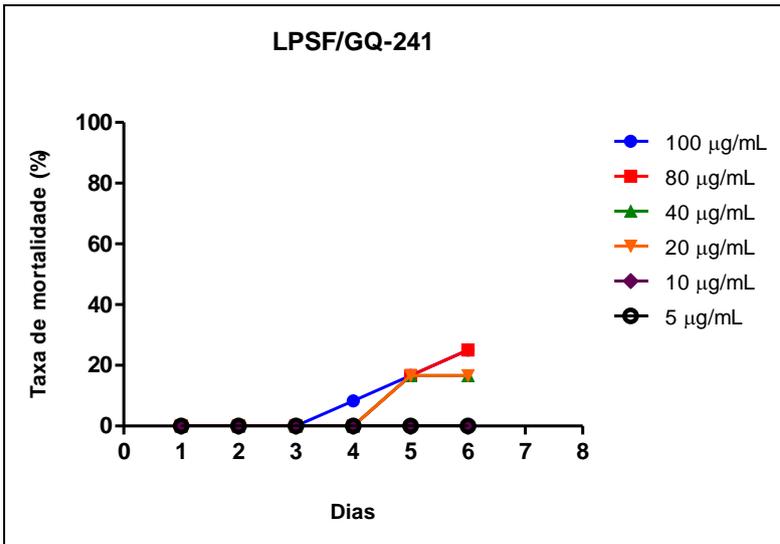


Gráfico 5. Taxa de mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* frente ao derivado indólico-tiazolidínico LPSF/GQ-241.

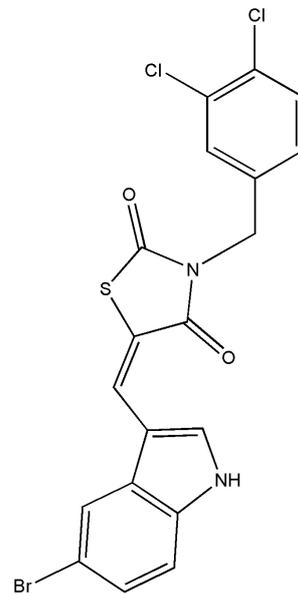
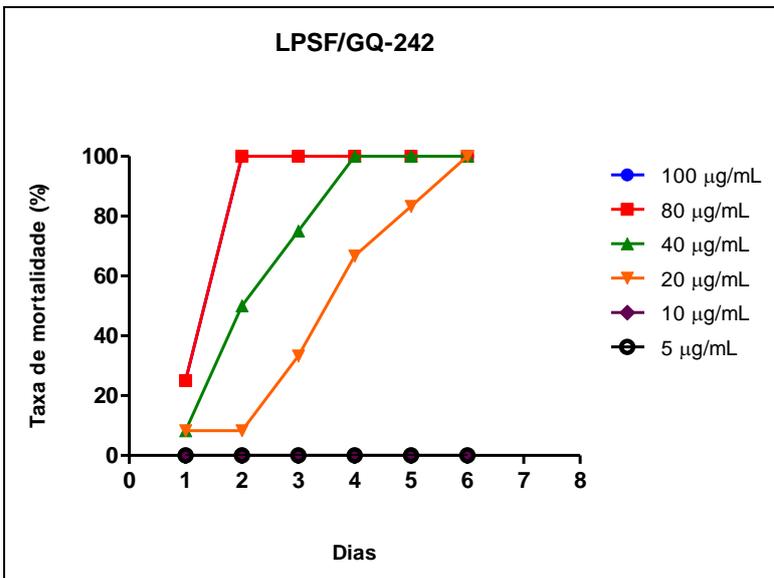


Gráfico 6. Taxa de mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* frente ao derivado indólico-tiazolidínico LPSF/GQ-242.

Tabela 6. Motilidade de vermes controles e tratados com praziquantel (PZQ) e com os derivados indol-tiazolidínicos LPSF/GQ-368 e LPSF/GQ-369 em diferentes tempos pós-incubação.

Grupos	Percentual da motilidade dos vermes (%) após incubação																	
	24 h			48 h			72 h			96 h			120 h			144 h		
	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0	3	1,5	0
Controle	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
PZQ	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
LPSF/GQ-368																		
100 µg/mL	8.33	91.67	0	0	66.67	33.33	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
80 µg/mL	0	100	0	0	66.67	33.33	0	16.67	83.33	0	0	100	0	0	100	0	0	100
40 µg/mL	83.33	16.67	0	16.67	66.67	16.67	0	41.67	58.33	0	8.33	91.67	0	0	100	0	0	100
20 µg/mL	83.33	16.67	0	33.33	58.33	8.33	0	83.33	16.67	0	50	50	0	25	75	0	8.33	91.67
10 µg/mL	91.67	8.33	0	83.33	16.67	0	66.67	33.33	0	50	50	0	16.67	83.33	0	8.33	91.67	0
5 µg/mL	91.67	8.33	0	75	25	0	75	25	0	50	50	0	50	50	0	41.67	58.33	0
LPSF/GQ-369																		
100 µg/mL	8.33	91.67	0	8.33	91.67	0	8.33	91.67	0	8.33	91.67	0	0	83.33	16.67	0	75	25
80 µg/mL	41.67	58.37	0	41.67	58.37	0	25	75	0	25	75	0	8.33	83.33	8.33	0	83.33	16.67
40 µg/mL	58.33	41.67	0	58.33	41.67	0	58.33	41.67	0	50	50	0	16.67	83.33	0	8.33	75	16.67
20 µg/mL	58.33	41.67	0	58.33	41.67	0	58.33	41.67	0	41.67	58.33	0	33.33	66.67	0	0	100	0
10 µg/mL	75	25	0	50	50	0	50	50	0	25	75	0	8.33	91.67	0	0	100	0
5 µg/mL	66.67	33.33	0	50	50	0	41.67	58.37	0	33.33	66.67	0	33.33	66.67	0	16.67	83.33	0

Critério de pontuação: 3 - movimento corporal completo; 1.5 - movimento corporal parcial; 0 - morto.

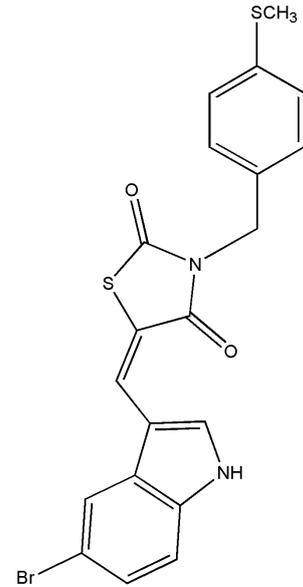
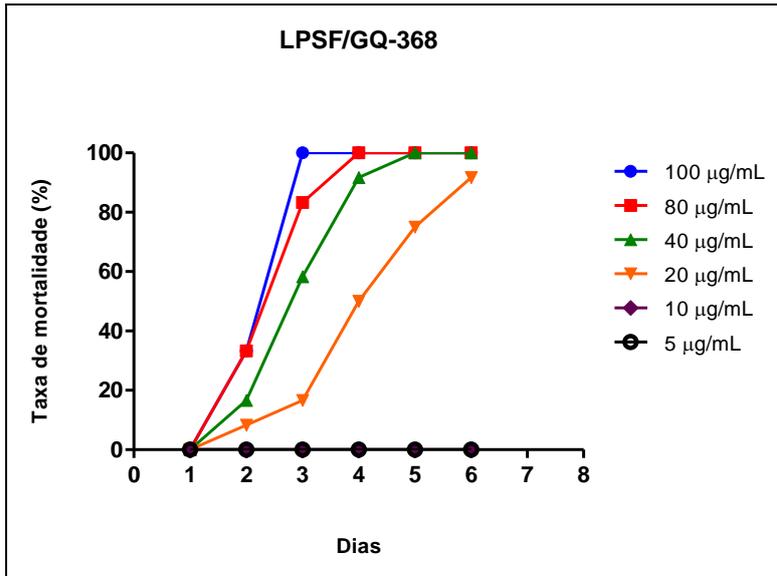


Gráfico 7. Taxa de mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* frente ao derivado indólico-tiazolidínico LPSF/GQ-368.

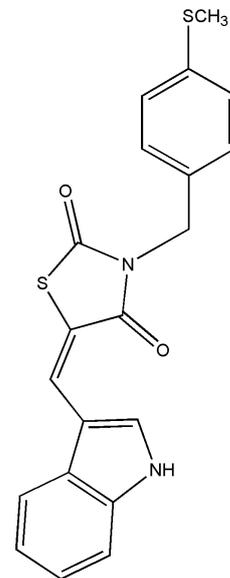
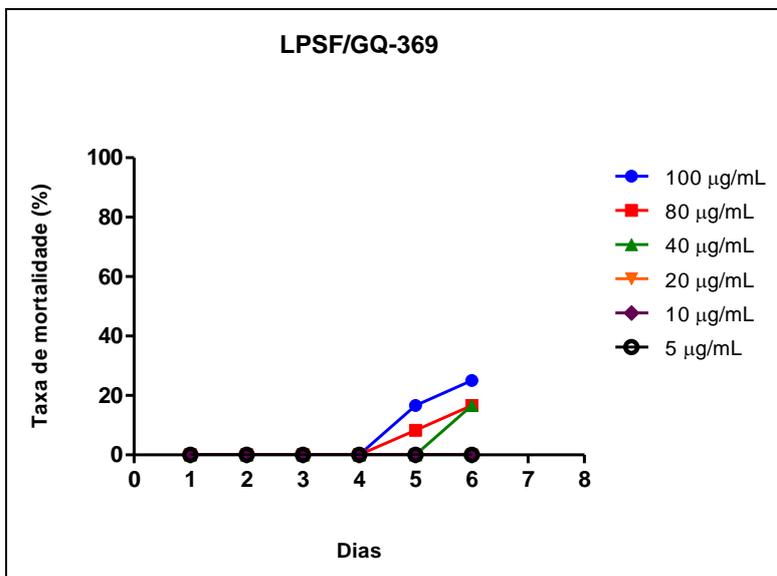


Gráfico 8. Taxa de mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* frente ao derivado indólico-tiazolidínico LPSF/GQ-369.

Os compostos testados podem ser divididos em dois grupos distintos, isto porque metade deles possuem a substituição 5-(1*H*-indol-3-il-metileno) e a outra metade 5-(5-bromo-1*H*-indol-3-il-metileno). Esta modificação química de apenas um átomo de halogênio provocou a alteração nos nossos resultados como podemos evidenciar acima. Após 24 horas, o LPSF/GQ-238 provocou a morte de todos os parasitos na dose de 100 µg/mL (pontuação 0), essa taxa de mortalidade seguiu nas doses de 80, 40 e 20 µg/mL ao longo dos dias de avaliação. O LPSF/GQ-242 também provocou a morte de 100% dos vermes nas doses de 100 e 80 µg/mL após 48 horas de avaliação. O LPSF/GQ-368 alcançou a máxima taxa de mortalidade após 72 horas na maior dose utilizada nos experimentos. O último composto que possui o mesmo perfil de substituição alcançou 100% de mortalidade somente em uma dose após 120 horas de exposição. Nos demais compostos avaliados foi possível observar apenas a alteração na motilidade dos parasitos e baixa ou nenhuma mortalidade, exceto o LPSF/GQ-83, o qual provocou 83,33% de mortalidade após 144 horas de observação.

A mortalidade causada por esses compostos possuíram como característica comum a contração espiralada dos parasitos associada ao escurecimento do tegumento dos mesmos.

A alta taxa de mortalidade observada pelos compostos avaliados neste estudo pode ser justificada pela presença dos anéis indólico e tiazolidínico em suas estruturas. Moléculas com o núcleo indol têm sido amplamente estudadas, visto o seu vasto espectro de atividades associadas a este heterociclo tais como o inibidor da monoamino oxidase A e B (LA REGINA et al., 2008), antifúngica (TIWARE et al., 2006), antituberculose (KARALI et al., 2007; GUZEL, KARALI & SALMAN, 2008), anti-inflamatória (GUERRA et al., 2011; SANTIN et al., 2013).

O indol se apresenta como bioisómero de anel da quinolina, estrutura presente nas trioxaquininas e mefloquina (Figura 23) (BARREIRO & FRAGA, 2008).



Figura 23. Bioisosterismo apresentado entre o indol e a quinolina.

Estes compostos citados anteriormente possuem comprovada atividade esquistossomicida. Estudos revelaram que os derivados trioxaquinas se mostraram efetivos contra as fases larvares e parasitos adultos do *S. mansoni*, nas doses de 5 µg/mL e 50 µg/mL, respectivamente (BOISSIER et al., 2009). Estudos posteriores a fim de avaliar o modo de ação das trioxaquinas foram realizados. De fato foi percebido que havia a formação de uma ligação covalente entre o heme livre e o PA1259, reforçando que a heme-alquilação é o provável mecanismo de ação desses derivados (PRADINES et al., 2011; PORTELA et al., 2012).

Do mesmo modo ocorre na mefloquina, que também possui comprovada atividade frente a parasitos *S. mansoni* (KEISER et al., 2009). A atividade *in vitro* da mefloquina mostrou que na concentração de 100 µg/mL, após 1h de exposição dos parasitos a droga, resultou numa taxa de mortalidade de 100%. Essa taxa de mortalidade também foi observada na concentração de 10 µg/mL após 24h de exposição. Além disso, a mefloquina é capaz de causar extensivas lesões tegumentares na dose de 100 µg/mL, observadas através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (MANNECK, HAGGENMULLER & KEISER, 2010).

É possível fazer uma analogia entre esses compostos, visto que na estrutura das trioxaquinas há a presença de um átomo de cloro e na mefloquina o radical trifluoro metil diretamente ligados ao núcleo quinolina, do mesmo modo em que nos nossos compostos avaliados com melhor resultado, o núcleo indol possui um átomo de bromo conectado. A presença deste substituinte eletronegativo/retirador de elétrons no anel heterociclo provocou mudanças significativas nos nossos resultados (Figura 24).

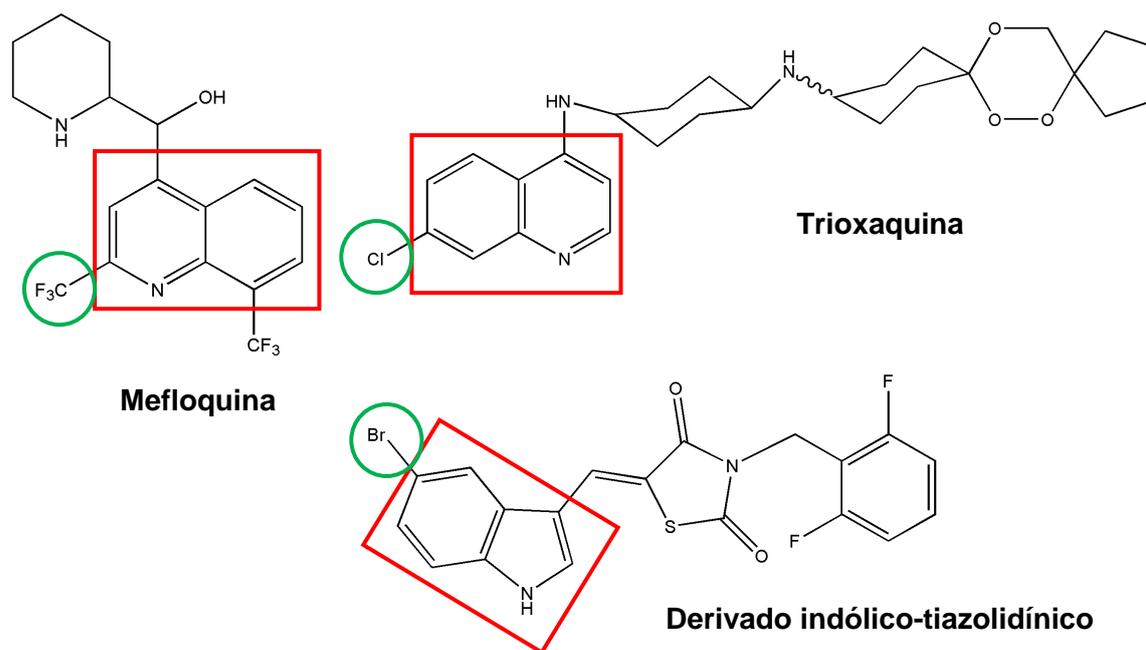


Figura 24. Bioisosterismo de anel presente na Mefloquina, Trioxaquina e nos derivados indólicos-tiazolidínicos.

Adicionalmente, as tiazolidinas também são bioisósteras das imidazolidinas que possuem comprovada atividade esquistossomocida (OLIVEIRA et al., 2004; ALBUQUERQUE et al., 2005; PITTA et al., 2006; SILVA et al., 2012).

Nos trabalhos de Pitta e colaboradores (2006) o composto imidazolidínico PT-05 (1-benzil-4-[(4-cloro-fenil)-hidrazono]-5-tioxi-imidazolidin-2-ona) foi capaz de causar 100% de mortalidade na maior dose testada após um período de 24h (PITTA et al., 2006), assim como evidenciado nos nossos resultados (LPSF/GQ-238) (Figura 25).

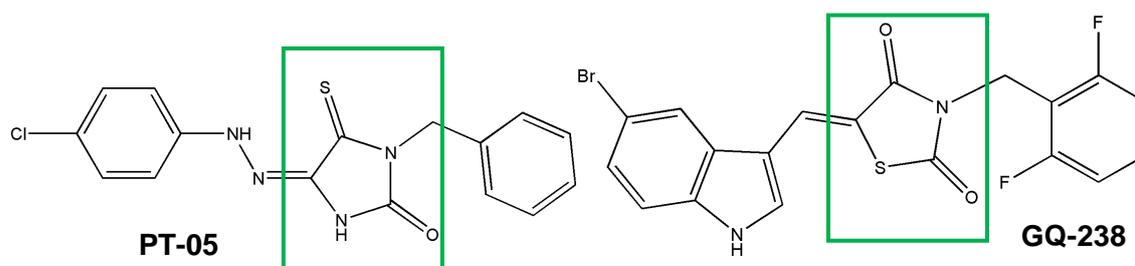


Figura 25. Bioisosterismo existente nos derivados imidazolidínicos e indólicos-tiazolidínicos.

O mecanismo de ação pelo qual atuam os derivados imidazolidínicos *in vitro* ainda é incerto. No entanto, eles são capazes de causar extensas lesões tegumentares (PITTA et al., 2006). Neves e colaboradores (2011) evidenciaram através de microscopia eletrônica de varredura (MEV), alterações tegumentares como descamação, formação de bolhas, enrugamento do tegumento e contração da ventosa. Além disso, os derivados imidazolidínicos avaliados neste estudo foram capazes de estimular a produção de óxido nítrico (NO) o qual é nocivo aos parasitos de *S. mansoni* (NEVES et al., 2011). O tegumento do parasito constitui um alvo biológico importante, visto que os vermes de *S. mansoni* realizam sua alimentação através da superfície tegumentar (XIAO et al., 2002). É provável então, que os nossos compostos avaliados neste trabalho sigam o mesmo mecanismo de ação *in vitro*. No entanto, um estudo mais aprofundado utilizando a técnica de MEV e dosagem de óxido nítrico, se faz necessário a fim de comprovar um mecanismo de ação para os derivados tiazolidínicos frente ao *S. mansoni*.

A porção benzílica existente nos nossos compostos sintetizados também possui notório papel biológico (Figura 26). As porções 2,6-diflúor-benzil e 2-cloro-6-flúor-benzil têm fundamental importância na substituição de derivados imidazolidínicos para a atividade analgésica, sedativa e adjuvante de anestésico (PITTA, 2008). Adicionalmente, o 2-cloro-6-flúor-benzil também possui importância como comprovada na atividade anti-inflamatória de derivados tiazolidínicos (BARROS et al., 2010).

A porção 3,4-dicloro-benzil possui importância biológica como inibidor da ativação de plasminogênio (SUSUMU, 2006). O 4-metilsulfanil-benzil se destaca também por possuir moderada atividade como inibidor da histidina descarboxilase (FREE, MAJCHROWICZ & HESS, 1971).

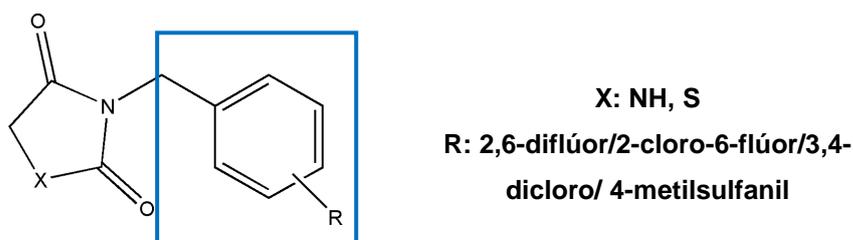


Figura 26. Importância da porção benzílica nos derivados indol-tiazolidínicos.

A porção 5-(5-bromo-1*H*-indol-3-il-metileno)-tiazolidina-2,4-diona também está presente em um derivado tiazolidínico com comprovada atividade anti-inflamatória (SANTIN et al., 2013), justificando que a presença desta porção molecular nos nossos compostos é essencial a atividade esquistosomicida.

Dessa forma, pode-se notar que os nossos derivados indólicos-tiazolidínicos se constituem de 3 porções distintas as quais possuem importâncias que quando associadas resultam em propriedades biológicas de grande interesse para a pesquisa científica (Figura 27).

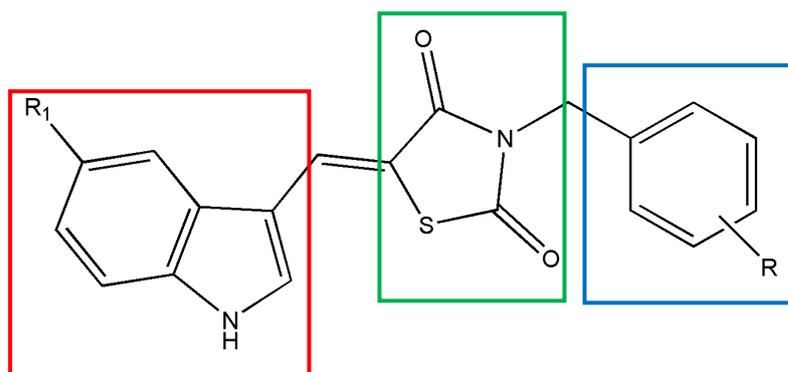


Figura 27. Porções dos derivados indólicos-tiazolidínicos.

No nosso trabalho, a ferramenta principal de descoberta racional de novos fármacos, o bioisosterismo, foi utilizada com sucesso. Como evidenciado, realizou-se testes com moléculas que possuíam em suas estruturas os núcleos indólicos e tiazolidínicos que possuem bioisósteros equivalentes. Logo, pode-se afirmar que realizamos uma espécie de hibridação de bioisósteros.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

A seguir serão apresentadas as considerações finais e perspectivas obtidas com a finalização deste trabalho.

- ✓ A síntese dos derivados se deu por reações clássicas utilizadas na síntese orgânica aplicada a fármacos e já se encontram consolidadas o que foi evidenciado nos rendimentos reacionais apresentados;
- ✓ Nos ensaios de citotoxicidade, todos os compostos se mostraram ser menos citotóxicos quando comparados ao padrão citotóxico (violeta de genciana) e ao composto padrão utilizado no tratamento da parasitose (praziquantel), o que viabiliza o prosseguimento dos estudos de todos os compostos;
- ✓ A partir dos resultados obtidos através da avaliação *in vitro* frente aos vermes adultos do *Schistosoma mansoni* foi possível concluir que dentre todos derivados indólicos-tiazolidínicos testados, o LPSF/GQ-238, o LPSF/GQ-242, o LPSF/GQ-368 e o LPSF/GQ-399 podem ser apontados como promissores nos estudos para o tratamento da esquistossomose mansônica;
- ✓ Todos os compostos que apresentaram melhores resultados, possuíam como característica comum a presença de um átomo de bromo substituído no núcleo indólico, sugerindo a importância dessa porção nos derivados tiazolidínicos para a esquistossomose mansônica;
- ✓ Utilizar as técnicas de Microscopia Eletrônica de Varredura e de Transmissão, para observar se o melhor composto foi capaz de promover danos no tegumento e organelas do parasito e assim poder propor um mecanismo de ação *in vitro* para os derivados indólicos-tiazolidínicos;
- ✓ Realizar a dosagem de óxido nítrico e verificar se nossos compostos são capazes de estimular sua produção;

- ✓ Realizar o ensaio *in vivo* para avaliação do potencial esquistossomicida do nosso melhor composto avaliado nos testes *in vitro*, utilizando as técnicas do oograma e cheever, a fim de avaliar a viabilidade e quantidade de ovos, respectivamente, de camundongos infectados por *S. mansoni*;
- ✓ Realizar a síntese de mais derivados indólicos-tiazolidínicos modificando a porção benzil e fazer um estudo de relação estrutura-atividade para essa classe de compostos na esquistossomose mansônica.

REFERÊNCIAS

Referências

ALBUQUERQUE, M.C.P.A. ET AL. Synthesis and schistosomicidal activity of new substituted thioxo-imidazolidine compounds. **Pharmazie**, v. 60, p. 13–17, 2005.

ALGER, H.M. ET AL. Molecular and enzymatic characterisation of *Schistosoma mansoni* thioredoxin. **International Journal for Parasitology**, v. 32, p. 1285–1292, 2002.

ALI, O.M. ET AL. Antimicrobial activity of new synthesized [(oxadiazolyl)methyl]phenytoin derivatives. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, v. 69, n. 4, p. 657-67, 2012.

AMARAL, A.T.; MONTANARI, C.A. Química medicinal: 25 anos de planejamento racional de fármacos. **Química Nova**, v. 25, Supl. 1, p. 39-44, 2002.

AMATO, A.A. ET AL. GQ-16, A Novel PPAR γ Ligand, Promotes Insulin Sensitization Without Weight Gain. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 10, p. 28169-79, 2012.

ANDRADE, Z. A. Schistosomiasis and hepatic fibrosis regression. **Acta Tropica**, v. 108, p. 79–82, 2008.

BAKHT, M.A. ET AL. Molecular properties prediction, synthesis and antimicrobial activity of some newer oxadiazole derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 5862-5869, 2010.

BARBOSA, C.S. ET AL. Assessment of shistosomiasis through scholl surveys in the Forest zone of Pernambuco, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, p. 55-62, 2006.

BARREIRO, E.J. A Química Medicinal e o paradigma do composto-protótipo. **Revista Virtual de Química**, v. 1, p. 26-34, 2009.

BARREIRO, E.J. Estratégia de simplificação molecular no planejamento racional de fármacos: A descoberta de novo agente cardioativo. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 1172-1180, 2002.

BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M. **Química Medicinal**: As bases moleculares da ação dos fármacos. 2ª edição, Porto Alegre - RS, Art Med Ltda, 2008.

BARREIRO, E.J. ET AL. A química medicinal de N-acilidrazonas: novos compostos-protótipos de fármacos analgésicos, anti-inflamatórios e antitrombóticos. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 129-148, 2002.

BARROS, C.D. ET AL. Synthesis and anti-inflammatory activity of new arylidene-thiazolidine-2,4-diones as PPAR γ ligands. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 3805-11, 2010.

BECERRA, M.C. ET AL. In vitro activity of N-benzenesulfonylbenzotriazole on *Trypanosoma cruzi* epimastigote and trypomastigote forms. **Experimental Parasitology**, v. 131, p. 57-62, 2012.

BERCZYNSKI, P. ET AL. Free radical scavenging activity of novel thiazolidine-2,4-dione derivatives. **The Journal of Biological and Chemical Luminescence**. doi 10.1002/bio.2454. 2012.

BOISSIER, J. ET AL. In Vitro Activities of Trioxaquines against *Schistosoma mansoni*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 11, p. 4903–4906, 2009.

BOZDAG-DUNDAR, O. ET AL. Synthesis and antimicrobial activity of some new thiazolyl thiazolidine-2,4-dione derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, p. 6012–6017, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde: Relatório de Situação – Pernambuco. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica, 3ª edição, Brasília – DF. Ministério da Saúde, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde: Guia de Vigilância Epidemiológica. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 7ª edição. – Brasília – DF. Ministério da Saúde, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde: Guia de vigilância epidemiológica. Secretaria de Vigilância em Saúde. 7. Brasília: Ministério da Saúde press; 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde, 2011. Disponível em: <http://www.portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=35752> Acessado em: 01 maio 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde: Relatório de Situação – Pernambuco. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica, 5ª edição, Brasília – DF. Ministério da Saúde, 2011a.

BRANDAO, S.S.F. ET AL. A novel way of synthesis of 1,3,5-trisubstituted-2-thioxoimidazolidinones. **Heterocyclic Communications**, v. 10, p. 9-14, 2011.

CAREY, F.A.; SUNDBERG, R.J. **Advanced Organic Chemistry** – part. B, 3ª ed., New York: Plenum Pub Corp., p.958, 1990.

CASTILHO, M.S. ET AL. Structural basis for selective inhibition of purine nucleoside phosphorylase from *Schistosoma mansoni*: Kinetic and structural studies. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 1421–1427, 2010.

CHEN, H. ET AL. Rosiglitazone prevents murine hepatic fibrosis induced by *Schistosoma japonicum*. **World Journal of Gastroenterology**, v. 14, p. 2905-2911, 2008.

CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L. Praziquantel. **Parasitology Research**, v. 90, p. 3-9, 2003.

CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L.; ARCHER, S. Antischistosomal drugs: past, present and future? **Pharmacology & Therapeutics**, v. 68, p. 35-85, 1995.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S. **Organic Chemistry**, Oxford University Press, United Kingdom, 2000.

CONLON, C.P. Schistosoma. **Medicine**, v. 33, p. 8, 2005.

CUNHA, S.; SANTANA, L.L.B. Condensação de Knoevenagel de aldeídos aromáticos com o ácido de meldrum em água: uma aula experimental de química orgânica verde. **Química Nova**, v. 35, n. 3, p. 642-647, 2012.

DECHY-CABARET, O. ET AL. Synthesis and antimalarial activity of trioxaquine derivatives. **Chemistry European Journal**, v. 10, p. 1625-1636, 2004.

DIXIT, R.B. ET AL. Synthesis, characterization and antimicrobial activities of new bis-hydrazonothioxothiazolidinone derivatives. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 16, p. 193-197, 2012.

DOENHOFF M.J., CIOLI D., UTZINGER J. Praziquantel: mechanism of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 21, p. 659-667, 2008.

DUVALL, R.H.; DEWITT, W.B. An improved perfusion technique for recovering adult schistosomes from laboratory animals. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 16, p. 483-486, 1967.

ELEFThERIOU, P. ET AL. Fragment-based design, docking, synthesis, biological evaluation and structure-activity relationships of 2-benzo/benzisothiazolimino-5-arylidene-4-thiazolidinones as cyclooxygenase/lipoxygenase inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, p. 111-124, 2012.

FALLON, P.G. Schistosome resistance to praziquantel. **Drug Resistance Updates**, v. 1, p. 236-41, 1998.

FREE, C.A.; MAJCHROWICZ, E.; HESS, S.M. Mechanism of inhibition of histidine decarboxylase by rhodanines. **Biochemical Pharmacology**, v. 20, p. 1421-1428, 1971.

GARAH, F.B. ET AL. The Antimalarial Trioxaquine DU1301 Alkylates Heme in Malaria-Infected Mice. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 8, p. 2966-2969, 2008.

GÓES, A.J.S. ET AL. Síntese e atividade antiedematogênica de derivados *N*-triptofil-5-benzilideno-2,4-tiazolidinadiona e *N*-triptofil-5-benzilideno-rodanina. **Quimica Nova**, v. 27, n. 6, p. 905-910, 2004.

GOUDA, M.A.; ABU-HASHEM, A.A. Synthesis, Characterization, Antioxidant and Antitumor Evaluation of Some New Thiazolidine and Thiazolidinone Derivatives. **Archiv der Pharmazie - Chemistry in Life Sciences**, v. 11, p. 170–177, 2011.

GOUVEIA, F.L. ET AL. Synthesis, antimicrobial and cytotoxic activities of some 5-arylidene-4-thioxo-thiazolidine-2-ones. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p. 2038–2043, 2009.

GREENBERG, R.M. Are Ca²⁺ channels targets of praziquantel action? **International Journal for Parasitology**, v. 35, p. 1-9, 2005.

GROMER, S.; URIG, S.; BECKER, K. The thioredoxin system-From science to clinic. **Medical Care Research and Review**, v. 24, p. 40-89, 2004.

GRYSEELS, B. Schistosomiasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 26, p. 383-97, 2012.

GUARDA, V.L.M. ET AL. Synthesis and structural study of arylidene thiazolidine and benzothiazine compounds. **Sulfur Letters**, v. 26, p. 17-27, 2003.

GUERRA, A.S.H.S. ET AL. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of indole–imidazolidine derivatives. **International Immunopharmacology**, v. 11, p. 1816-1822, 2011.

GUZEL, O.; KARALI, N.; SALMAN, A. Synthesis and antituberculosis activity of 5-methyl/trifluoromethoxy-1H-indole-2,3-dione 3-thiosemicarbazone derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 8976-8987, 2008.

HA, Y.M. ET AL. Design, synthesis and biological evaluation of 2-(substituted phenyl)-thiazolidine-4-carboxylic acid derivatives as novel tyrosinase inhibitors. **Biochimie**, v. 94, p. 533-540, 2012.

HANDZLIK, J. ET AL. Synthesis and SAR-study for novel arylpiperazine derivatives of 5-arylidenehydantoin with α 1-adrenoceptor antagonistic properties. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, p. 4245–4247, 2012.

HOFFMAN, W.A.; PONS, J.A.; JANER, S.L. The sedimentation concentration method in *Schistosomiasis mansoni*. **Puerto Rico Journal of Public Health and Tropical Medicine**, v. 9, p. 283-291, 1934.

HOLTFRETER, M.C. ET AL. *Schistosoma mansoni*: schistosomicidal effect of mefloquine and primaquine in vitro. **Experimental Parasitology**, v. 127, n. 1, p. 270-6, 2011.

HORIUCHI, A. ET AL. The effect of free and polyethylene glycol-liposome-entrapped albendazole on larval mobility and number in *Toxocara canis* infected mice. **Veterinary Parasitology**, v. 129, n. 1-2, p. 83-87, 2005.

ISMAIL, M. ET AL. Characterization of isolates of *S. mansoni* from Egyptian villagers that tolerate high doses of praziquantel. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, v. 55, p. 214-218, 1996.

JAMES, S. L.; GLAVEN, J. Macrophage cytotoxicity against schistosomula of *Schistosoma mansoni* involves arginine-dependent production of reactive nitrogen intermediates. **The Journal of Immunology**, v. 143, p. 4208-4212, 1989.

KARALI, N. ET AL. Synthesis and structure–antituberculosis activity relationship of 1H-indole-2,3-dione derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, p. 5888-5904, 2007.

KAROLAK-WOJCIECHOWSKA, J. ET AL. Crystallographic and spectroscopic studies of 5-arylidene-2-amino-imidazol-4-ones. **Journal of Molecular Structure**, v. 930, p. 126–134, 2009.

KATZ, N. **Terapêutica experimental da esquistossomose mansoni**. *Schistosoma mansoni e Esquistossomose, uma visão multidisciplinar*. Cap. 28, p. 214–218, 2008.

KEENAN, M. ET AL. Analogues of fenarimol are potent inhibitors of *Trypanosoma cruzi* and are efficacious in a murine model of Chagas disease. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, p. 4189-4204, 2012.

KEISER, J. ET AL. Mefloquine - An Aminoalcohol with Promising Antischistosomal Properties in Mice. **Plos Neglected Tropical Diseases**, doi: 10.1371/journal.pntd.0000350, v. 3, n. 1, 2009.

KOTA, B.P.; HUANG, T.H.; ROUFOGALIS, B.D. An overview on biological mechanisms of PPARs. **Pharmacological Research**, v. 51, p. 85–94, 2005.

KOUNI, M.H. Potential chemotherapeutic targets in the purine metabolism of parasites. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 99, p. 283-309, 2003.

KULKARNI, A.A. ET AL. PPAR- γ Ligands Repress TGF β -Induced Myofibroblast Differentiation by Targeting the PI3K/Akt Pathway: Implications for Therapy of Fibrosis. **Plos One**, v. 6, p. 1-11, 2011.

KUNTZ, A.N. ET AL. Thioredoxin Glutathione Reductase from *Schistosoma mansoni*: An Essential Parasite Enzyme and a Key Drug Target. **Plos Medicine**, v. 4, p. 1071-1086, 2007.

LA REGINA, G. ET AL. Synthesis, structure–activity relationships and molecular modeling studies of new indole inhibitors of monoamine oxidases A and B. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 9729–9740, 2008.

LAMBERTUCCI, J.R. Acute schistosomiasis mansoni: revisited and reconsidered. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 4, p. 422-435, 2010.

LAMBERTUCCI, J.R. ET AL. *Schistosoma mansoni*: assessment of morbidity before and after control. **Acta Tropica**, v. 77, p. 101–109, 2000.

LENZI, H.L. ET AL. **Migração e Desenvolvimento do *Schistosoma mansoni* no Hospedeiro Definitivo**. Omar dos Santos Carvalho, Paulo Marcos Zech Coelho, Henrique Leonel Lenzi. *Schistosoma mansoni & Esquistossomose: uma visão multidisciplinar*, Rio de Janeiro, FIOCRUZ, 2008, Parte I, cap. 3, p. 86-146.

LIMA, J. G. Alguns aspectos químicos do anel tiazolidina-2,4-diona. **Revista Universitária Rural**, Série Ciências Exatas da Terra, v. 18-20, n. 1-2, p. 1-8, 1998.

LIESEN, A. P. ET AL. Métodos de obtenção, reatividade e importância biológica de 4-tiazolidinonas. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p.369-376, 2008.

LIMA, L.M. Química medicinal moderna: desafios e contribuição brasileira. **Química Nova**, v. 30, n. 6, p. 1456-1468, 2007.

LIU, Y. ET AL. Design, synthesis and biological activity of thiazolidine-4-carboxylic acid derivatives as novel influenza neuraminidase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 19, p. 2342–2348, 2011.

LO, C.P.; SHROPSHIRE, E.Y. The alkylation of 2,4-thiazolidinedione. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 22, n. 8, p. 999-1000, 1957.

LOBO, P.L. ET AL. Novel thiazolidine-2,4-dione mannich bases: Synthesis, characterization and antimicrobial activity. **Der Pharma Chemica**, v. 4, p. 867-871, 2012.

LUIS, A.F. **Estudos epidemiológicos imunogenéticos e pesquisa de fármacos esquistossomicidas e antifibróticos**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Pernambuco. 2012.

MANNECK, T. ET AL. Schistosoma mansoni: antischistosomal activity of the four optical isomers and the two racemates of mefloquine on schistosomula and adult worms in vitro and in vivo. **Experimental Parasitology**, v. 127, n. 1, p. 260-69, 2011.

MANNECK, T.; HAGGENMÜLLER, Y.; KEISER, J. Morphological effects and tegumental alterations induced by mefloquine on schistosomula and adult flukes of Schistosoma mansoni. **Parasitology**, v.137, n. 1, p. 85-98, 2010.

MATTOS, M.C.; MARZORATI, L. Aspectos mecanísticos da adição de Michael. **Química Nova**, v. 22, n. 5, p. 710-714, 1999.

MELMAN, S.D. ET AL. Reduced Susceptibility to Praziquantel among Naturally Occurring Kenyan Isolates of Schistosoma mansoni. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 3, p. 1-10, 2009.

MONTANARI, C.A. **Química Medicinal**. Métodos e fundamentos em planejamento de fármacos. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2011.

MONSALVE, F.A. ET AL. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Targets for the Treatment of Metabolic Diseases. **Mediators of Inflammation**, ID 549627, p. 1-18, 2013.

MOREIRA, T.L.B. ET AL. Effect of thiazolidine LPSF SF29 on the growth and morphology of Trypanosoma cruzi. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 41, p. 183-187, 2013.

MOURÃO, R.H. ET AL. Synthesis and Biological Activity of Novel Acridinylidene and Benzylidene thiazolidinediones. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 40, p. 1129–1133, 2005.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger princípios de bioquímica**. 3ª edição, 2002. São Paulo. Editora: Sarvier. Parte 3, cap 22, p. 639-681.

NEVES, J.K.A.L. ET AL. Biological and immunological activity of new imidazolidines against adult worms of *Schistosoma mansoni*. **Parasitology Research**, v. 107, p. 531–538, 2010.

NEVES, J.K.A.L. ET AL. Antischistosomal action of thioxo-imidazolidine compounds: An ultrastructural and cytotoxicity study. **Experimental Parasitology**, v. 128, p. 82–90, 2011.

NOBRE, S.M. **Reações de acoplamento C-C: Desenvolvimento de sistemas catalíticos, estudo de mecanismo e aplicação na síntese do trans-Reveratrol**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2008.

OLIVEIRA, S.M. ET AL. A Resposta do *Schistosoma mansoni* Mantido In Vitro frente a Derivados Imidazolidinônicos. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 23, n. 3, p. 343-8, 2004.

OLIVEIRA, S.M. ET AL. Estrutura, reatividade e propriedades biológicas de hidantoínas. **Química Nova**, v. 31, p. 614-622, 2008.

OZTURK, T.; ERTAS, E.; MERT, O. Use of Lawesson's Reagent in Organic Syntheses. **Chemical Reviews**, v. 107, p. 5210-5278, 2007.

PAVIN, N.F. ET AL. Antinociceptive and anti-hypernociceptive effects of Se-phenyl thiazolidine-4-carboselenoate in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 668, p. 169-176, 2011.

PEREIRA, H.D.M. ET AL. Structures for the potential drug target purine nucleoside phosphorylase from *Schistosoma mansoni* causal agent of Schistosomiasis. **Journal of Molecular Biology**, v. 353, p. 584–599, 2005.

PEREIRA, H.D.M.; OLIVA, G.; GARRATT, R.C. Purine nucleoside phosphorylase from *Schistosoma mansoni* in complex with ribose-1-phosphate. **Journal of Synchrotron Radiation**, v. 18, p. 62-65, 2011.

PETROIANU, A. Tratamento cirúrgico da hipertensão porta na esquistossomose mansoni. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 2, p. 253-265, 2003.

PINZANI, M.; ROMBOOTS, K. Liver fibrosis: from bench to clinical targets. **Digestive and Liver Disease**, v. 36, p. 231–242, 2004.

PITTA, I.R. **Compound with Anesthetics Activity, Methods for its Production and Pharmaceutical Compositions Comprising the Same**. BRPI0701016 (A2). Data de depósito: 03/05/2007. Data de registro: 16/12/2008.

PITTA, M.G.R. ET AL. New imidazolidinic bioisosters: potential candidates for antischistosomal drugs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, p. 313-316, 2006.

PORTELA, J. ET AL. Antischistosomal Activity of Trioxaquines: In Vivo Efficacy and Mechanism of Action on *Schistosoma mansoni*. **Plos Neglected Tropical Disease**, doi: 10.1371/journal.pntd.0001474, 2012.

PRADINES, V. ET AL. Trioxaquine PA1259 Alkylates Heme in the Blood-Feeding Parasite *Schistosoma mansoni*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 5, p. 2403-2405, 2011.

RAI, G. ET AL. Structure Mechanism Insights and the Role of Nitric Oxide Donation Guide the Development of Oxadiazole-2-Oxides as Therapeutic Agents against Schistosomiasis. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 52, p. 6474-6483, 2009.

RAJAK, H. ET AL. A novel series of 2,5-disubstituted 1,3,4-oxadiazoles: Synthesis and SAR study for their anticonvulsant activity. **Chemical Biology and Drug Design**, v. 77, p. 152-158, 2011.

REY, L. **Parasitologia Médica** 6^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. 2008.

RIBEIRO-DOS-SANTOS, G., VERJOVSKI-ALMEIDA S.; LEITE L.C. Schistosomiasis- a century searching for chemotherapeutic drugs. **Parasitology Research**, v. 99, p. 505–521, 2006.

RICHTER, J. The impact of chemotherapy on morbidity due to schistosomiasis. **Acta Tropica**, v. 86, p. 161-183, 2003.

ROBERT, A. ET AL. The antimalarial drug artemisinin alkylates heme in infected mice. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, v. 102, p. 13676-13680, 2005.

ROMANHA, A.J. ET AL. In vitro and in vivo experimental models for drug screening and development for Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.105, n.2, p. 233-238, 2010.

RUIZ, F.A.R. ET AL. Synthesis and antimalarial activity of new heterocyclic hybrids based on chloroquine and thiazolidinone scaffolds. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 19, p. 4562-4573, 2011.

SACONATO, H.; ATALLAH, A. Interventions for treating Schistosomiasis mansoni. **Cochrane Database System Reviews**, v. 2, 2000.

SAKHUJA, R. ET AL. Design and synthesis of spiro[indole-thiazolidine]spiro[indole-pyrans] as antimicrobial agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, p. 5465–5469, 2011.

SANGSHETTI, J.N.; SHINDE, D.B. Synthesis of some novel 3-(1-(1-substitutedpiperidin-4-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-5-substituted phenyl-1,2,4-oxadiazoles as antifungal agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 1040-1044, 2011.

SANTIN, J.R. ET AL. Chemical synthesis, docking studies and biological effects of a pan peroxisome proliferator-activated receptor agonist and cyclooxygenase inhibitor. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2012.12.029>, 2013.

SAYED, A.A. ET AL. Identification of oxadiazoles as new drug leads for the control of schistosomiasis. **Nature Medicine**, v. 14, p. 407-412, 2008.

SHARMA, O.P.; PATHAK, D.P. Synthesis, Characterization and Evaluation for Anticonvulsant Activity of N-mannich bases of 2,4-thiazolidinedione and 2, 5-pyrrolidinedione. **International Journal of Pharmaceutical Frontier Research**, v. 1, p. 18-28, 2011.

SILVA, A.L. **Potencial terapêutico de novos fármacos na avaliação da atividade esquistossomicida**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 2010.

SILVA, A.C.A. ET AL. Study of theActivity of 3-benzyl-5-(4-chloro-arylazo)-4-thioxoimidazolidin-2-one against Schistosomiasis Mansoni in Mice. **Scientific World Journal**, v. 2012, p. 1-8, 2012.

SILVA, T.G. ET AL. Synthesis and structural elucidation of new benzylidene imidazolidines and acridinylidene thiazolidines. **Heterocyclic Communications**, v. 7, p. 523-528, 2001.

SIMEONOV, A. ET AL. Quantitative High-Throughput Screen Identifies Inhibitors of the Schistosoma mansoni Redox Cascade. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 2, p. 1-10, 2008.

SINGH, S. P. Chemistry and biological activity of thiazolidinones. **Chemical Reviews**, v. 81, n. 2, p. 175–203, 1981.

STELMA, F.F. ET AL. Efficacy and side effects of praziquantel in an epidemic focus of *Schistosoma mansoni*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 53, p. 167-170, 1995.

STELMA, F.F.; SALL, S.; DAFF, B. Oxamniquine cures *Schistosoma mansoni* infection in a focus in which cure rates with praziquantel are unusually low. **Journal of Infectology Disease**, v. 176, p. 304-307, 1997.

SUDO, R.T. ET AL. Interaction of Morphine With a New α_2 -Adrenoceptor Agonist in Mice. **The Journal of Pain**, v. 11, n. 1, p. 71-78, 2010.

SUSUMO, M. **Inhibitor of plasminogen activator inhibitor-1**. WO2006095713 (A1). Data de registro: 14/09/2006.

TIWARI, R.K. ET AL. Synthesis and antifungal activity of substituted-10-methyl-1,2,3,4-tetrahydropyrazino[1,2- α]indoles. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 2747–2752, 2006.

TOMASIC, T. ET AL. Novel 2-thioxothiazolidin-4-one inhibitors of bacterial MurD ligase targeting D-Glu- and diphosphate-binding sites. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 3964-3975, 2011.

TOWNSEND, D.M.; TEW, K.D.; TAPIERO, H. The importance of glutathione in human disease. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 57, p. 145-155, 2003.

UTZINGER, J. ET AL. From innovation to application: Social–ecological context, diagnostics, drugs and integrated control of schistosomiasis. **Acta Tropica**, p. 1-17. 2010.

VAN NASSAUW, L. ET AL. Schistosomicidal activity of the antimalarial drug, mefloquine, in *Schistosoma mansoni*-infected mice. **Travel Medicine Infectious Disease**, v. 6, n. 5, p. 253-58, 2008.

VIEGAS-JUNIOR, C. ET AL. Molecular Hybridization: A Useful Tool in the Design of New Drug Prototypes. **Current Medicinal Chemistry**, v. 14, p.1829-1852, 2007.

XIAO, S.H. ET AL. Ultrastructural alterations in adult *Schistosoma mansoni* caused by artemether. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 717-724, 2002.

WANG, S. ET AL. Design, synthesis and biological evaluation of novel 4-thiazolidinones containing indolin-2-one moiety as potential antitumor agent. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 3509-3518, 2011.

WANG, Z. ET AL. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma inhibits hepatic fibrosis in rats. **Hepatobiliary Pancreatic Disease International**, v. 10, p. 64-71, 2011a.

WARE, E. The chemistry of the hydantoins. Department of Chemistry. **Hood College**, v. 46, n. 3, p. 403-470,1950.

WATSON-MEGAN, B.S. Praziquantel. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 18, n. 3, p. 229-231, 2009.

WHO. World Health Organization, 2012. Disponível em:<
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs115/en/>> Acessado em: 10 set 2012.

WHO, World Health Organization Disponível em:
http://www.who.int/neglected_diseases/preventive_chemotherapy/sch/db/index.html?units=minimal®ion=all&country=bra&countries=bra&year=2010. Acessado em: 01 maio 2012.

ZHENG, Q.Z. ET AL. Synthesis, biological evaluation, and molecular docking studies of 2-chloropyridine derivatives possessing 1,3,4-oxadiazole moiety as potential antitumor agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 7836-7841, 2010.

ZIDAR, N. ET AL. Discovery of Novel 5-Benzylidenerhodanine and 5-Benzylidenethiazolidine-2,4-dione Inhibitors of MurD Ligase. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 53, p. 6584-6594, 2010.

ZIEGLER, T. ET AL. Nitric Oxide Synthase Expression in Endothelial Cells Exposed to Mechanical Forces. **Hypertension**, v. 32, p. 351-355, 1998.