UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ESQUISTOSSOMICIDA DE IMIDAZOLIDINAS DISSUBSTITUÍDAS

ANTÔNIO SÉRGIO ALVES DE ALMEIDA JÚNIOR

RECIFE ï 2014

ANTÔNIO SÉRGIO ALVES DE ALMEIDA JÚNIOR

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco para a obtenção do Título de Mestre em Inovação Terapêutica.

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Ivan da Rocha Pitta

CO-ORIENTADORA:

Profª. Drª. Sheilla Andrade de Oliveira

RECIFE ï 2014

Catalogação na Fonte:
Elaine Cristina Barroso
CRB 1728

Almeida Júnior, Antônio Sérgio Alves de
Síntese, caracterização estrutural e avaliação da atividade esquistossomicida de imidazolidinas dissubstituídas/ Antônio Sérgio Alves de Almeida Júnior– Recife: O Autor, 2014.

84 f.: il., fig., tab.
Orientador: Ivan da Rocha Pitta
Coorientadora: Sheila Andrade de Oliveira
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. Inovação Terapêutica, 2014.
Inclui bibliografia

1. Imidazolina 2. Esquistossomose 3. Schistosoma Mansoni I. Pitta, Ivan da Rocha (orientador) II. Oliveira, Sheila Andrade de (coorientadora) III. Título

547.593 CDD (22.ed.) UFPE/CCB-2014-265

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Sílvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Francisco de Souza Ramos

DIRETORA DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Profª. Drª. Maria Eduarda Lacerda de Larrazabal

VICE- DIRETORA DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Profª. Drª. Oliane Maria Correia Magalhães

COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

Prof. Dr. César Augusto Souza de Andrade

VICE- COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Antônio Sérgio Alves de Almeida Júnior

Título da Dissertação: Síntese, Caracterização Estrutural e Avaliação da Atividade Esquistossomicida de Imidazolidinas Dissubstituídas

Aprovado em: 25/02/2014

Banca Examinadora

Profª. Drª. Maira Galdino da Rocha Pitta

Departamento de Bioquímica ï UFPE

Assinatura:_____

Drª. Marina Galdino da Rocha Pitta

Bolsista PNPD/CAPES ï UFPE

Assinatura:_____

Drª. Michelly Cristiny Pereira

Bolsista DCR ï UFPE

Assinatura:_____

DEDICO ESTE TRABALHO

A minha vovó Maria Aldenora.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela minha existência e por tudo que ele tem feito em minha vida.

A Universidade Federal de Pernambuco que desde a graduação fui recebido e acolhido por toda a sua estrutura e profissionais que me fizeram enriquecer intelectualmente e ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica e a todos que o compõem pela competência e dedicação aos alunos.

A Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo suporte financeiro da bolsa de mestrado.

Ao Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM ï FIOCRUZ) e a todos os funcionários que o fazem, pela sua estrutura e pelo suporte fornecido para a produção deste trabalho.

Ao meu orientador, o Professor Dr. Ivan da Rocha Pitta pela oportunidade e credibilidade desde a iniciação científica até agora.

A minha co-orientadora, a Professora Drª Sheilla Andrade de Oliveira pela orientação, ensinamentos, dedicação, paciência, pelas palavras de incentivo e pela recepção no seu laboratório.

A minha eterna orientadora, a Professora Suely Lins Galdino (*in memorian*), pela orientação, colaboração e confiança na realização deste trabalho enquanto estava presente em nosso meio.

A Professora Drª Maria do Carmo Alves de Lima, por ter acreditado e confiado em mim desde o 1º dia em que ela me avistou na sala de aula e me chamou para conhecer o seu Laboratório e desde então não saí mais de lá. Obrigado pela orientação, estímulo, carinho, dedicação, paciência e por todos os momentos de aprendizado desde a bancada até a sala de aula.

Aos companheiros e amigos Anekécia Lauro, Edna Santiago e Jamerson Oliveira, a ñTurma da Drogaò Por toda construção de conhecimento, confiabilidade, amizade, perseverança, fé, alegrias, companheirismo e por toda assistência dada para que juntos pudéssemos realizar este trabalho.

Aos meus novos amigos e companheiros do Laboratório de Imunopatologia e Biologia Molecular do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (LIBM/CPqAM-FIOCRUZ) Andréia Barros, Camila Carvalho, Carolline Guimarães, Leyllane Moreira, Renata Leão, Roni Evêncio e Veruska Cínthia pela amizade, carinho, cooperação e por toda a ajuda que me foi fornecida.

A todos que fazem ou faziam parte do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos (LPSF/UFPE) Albert Rocha, Thiago Bento, Willams Leal, César Amorim,

Paula Roberta, Diogo Aires, Elizabeth Lafayete, Sinara Almeida, Sandra Botelho, Sandra Alcântara, Felipe Freitas, Camila Brito, Gustavo Siqueira, Felippe Lacerda, Talitha Lima, Luiz Carlos, Nathália Colaço, Sybele Lacerda, Cleiton Diniz, Sanderssonilo Albuquerque, Íris Trindade, Josienny Cássia, Amélia Galdino, Rodolfo Lucas, Renata Carlos, pela amizade e cooperação neste trabalho.

A professora Draª Milena Botelho e a Vinícius Pinto do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM ï FIOCRUZ/ BA) pela colaboração.

Aos amigos que fiz na turma do PPGIT 2012.1 Luana Mariz, Bruno Trajano, Renato Ferreira, Jéssica Barbosa, Marlene Saraiva, João Luiz, Isabella Araújo, Thiago Matos, Jamilka Silva, Aline e Thiago pelas brincadeiras, estudos, estresses e pela grande amizade que fizemos.

A todos os meus amigos da graduação em especial a Cássia Regina, Nayara Natally, Marcela Woolley, Jéssica Luiza, Marily Jhullis, Thaís Thiane, Ana Lygia, Aline Pereira que estiveram na caminhada comigo até os dias de hoje e por todo carinho sempre.

Aos meus grandes e queridos amigos do peito Andreza Tavares, Michele France, Dannyela Garcia, João Paulo, Thayane Kalyne, Paulecy Nunes, Michele Brito, Lia Shara (prima) e Bruno Amorim pelo amor, abraços, amizade, ajuda, torcida, alegria, fé, por me aguentarem nos momentos difíceis e pela compreensão nas minhas ausências.

A minha família em especial a minha vovó Maria Aldenora, aos meus pais e minha irmã (Josefa Almeida, Antônio Sérgio e Larissa Almeida) pela torcida, por acreditarem no meu potencial e contribuindo de todas as formas para que um dia pudesse alcançar meu objetivo.

A todos os amigos não citados e aos que fizeram parte desse trabalho, diretamente e indiretamente e que presenciam a minha caminhada, o meu muito obrigado.

RESUMO

A esquistossomose é reconhecida pela Organização Mundial de Saúde, como um grave problema de saúde pública, acometendo os países da África, América Latina, Caribe e Oriente Médio. No Brasil, é encontrada a espécie *Schistosoma mansoni*, com estimativas de 6 a 8 milhões de indivíduos infectados. O fármaco utilizado para a quimioterapia desta parasitose é o praziquantel (PZQ). Contudo, são relatados na literatura casos de possíveis cepas de *S. mansoni* resistentes a esse tratamento, havendo a necessidade de desenvolver novos medicamentos mais eficazes e menos tóxicos para o tratamento da esquistossomose mansônica. O núcleo imidazolidínico é um heterociclo pentagonal, farmacóforo importante presente em vários compostos biologicamente ativos, conhecido na literatura pelo seu amplo espectro de atividades biológicas, inclusive a atividade esquistossomicida. Neste trabalho foi realizada a síntese e comprovação estrutural de novos derivados imidazolidínicos das séries LPSF/FZ e LPSF/RH e a sua avaliação esquistossomicida *in vitro* frente a vermes adultos de *S. mansoni.* Assim foram sintetizados oito novos compostos finais, onde inicialmente sintetizou-se o 1º intermediário (LPSF/FZ-1) através de uma reação de N-alquilação. Em seguida, a síntese do 2º intermediário (LPSF/FZS-1) através de uma reação de tionação. A formação dos quatro compostos finais da série LPSF/FZ (5-benzilideno-3-benzil-imidazolidina-2,4-diona) se deu através de uma reação de condensação de Knoevenagel entre o 1º intermediário e os benzaldeídos substituídos em meio etanólico. Para a formação dos quatro compostos finais da série LPSF/RH (5-benzilideno-3-benzil-4-tioxo-imidazolidin-2-ona), utilizou-se o 2º intermediário e os benzaldeídos através de uma reação de condensação de Knoevenagel. Sete derivados imidazolidínicos (LPSF/RH-38, LPSF/RH-39, LPSF/RH-40, LPSF/RH-41, LPSF/FZ-20, LPSF/FZ-21 e LPSF/FZ-24) foram avaliados quanto ao efeito na viabilidade celular através da linhagem de células macrofágicas J774 e atividade *in vitro* frente a vermes adultos de *S. mansoni*. Os compostos sintetizados apresentaram bons rendimentos e foram caracterizados pelas técnicas espectroscópicas (IV, RMN e Massas). Os derivados imidazolidínicos demonstraram ser menos citotóxicos quando comparados ao PZQ. Dentre os compostos testados *in vitro*, o LPSF/RH-38 foi o que demonstrou um melhor resultado, apresentando 100% de mortalidade na concentração de 100 εg/mL no sexto dia de observação. A presença do átomo de enxofre na posição 4 da imidazolidina nos compostos da série LPSF/RH foi um fator importante para o aumento da atividade esquistossomicida, ao contrário dos compostos da série LPSF/FZ, que apresentam um átomo de oxigênio na mesma posição. Diante dos resultados obtidos, verificamos uma atividade esquistossomicida promissora dos derivados imidazolidínicos sendo ainda necessários os testes *in vivo* para uma melhor avaliação destes compostos.

Palavras-chave: LPSF/RH-38; PZQ; *Schistosoma mansoni,* imidazolidina

ABSTRACT

Schistosomiasis is recognized by the World Health Organization as a serious public health problem, affecting countries of Africa, Latin America, Caribbean and Middle East. In Brazil, *Schistosoma mansoni* species is found, with estimates 6-8 million of infected individuals. The drug used for chemotherapy of this disease is praziquantel (PZQ). However, cases are reported in the literature of possible strains of *S. mansoni* resistant to this treatment, there is a need to develop new, more effective and less toxic for the treatment of schistosomiasis drugs. The imidazolidine core is a pentagonal heterocycle important pharmacophore present in many biologically active compounds, known in the literature by its broad spectrum of biological activities, including the antischistosomal activity. In this work the synthesis and structural confirmation of new imidazolidines derived from LPSF/FZ and LPSF/RH series was performed and its evaluation schistosomicidal *in vitro* against adult worms of *S. mansoni*. Thus were synthesized eight new final compounds where initially synthesized as 1st intermediate (LPSF/FZ-1) through N-alkylation reaction. Then the synthesis of 2nd intermediate (LPSF/FZS-1) through a thionation reaction. The formation of the final four series compounds LPSF/FZ (5-benzylidene-3-benzyl-imidazolidine-2,4-dione) was given via a Knoevenagel condensation reaction between the 1st intermediate and substituted benzaldehydes in ethanol medium. For the formation of the final four compounds of LPSF/RH (5-benzylidene-3-benzyl-4-thioxo-imidazolidin-2-one) series was used and the 2nd intermediate benzaldehydes by a reaction of the Knoevenagel condensation. Seven imidazolidines derivatives (LPSF/RH-38, LPSF/RH-39, LPSF/RH-40, LPSF/RH-41, LPSF/FZ-20, LPSF/FZ-21 and LPSF/FZ-24) were evaluated for effect on cell viability through the lineage of J774 macrophages and *in vitro* activity against adult worms of *S. mansoni*. The synthesized compounds showed good yields and were characterized by spectroscopic techniques (IR, NMR and Mass). The imidazolidines derivatives proved less cytotoxic compared to PZQ. Among the compounds tested *in vitro*, the LPSF/RH-38 was the one that showed the best results, with 100% mortality at a concentration of 100 εg/mL on the sixth day of observation. The presence of the sulfur atom in the 4 position of the imidazolidine compounds of LPSF/RH series was important to increase the schistosomicidal activity, unlike the compounds of the series LPSF/FZ, which have an oxygen atom in the same position factor. Based on these results, we see a promising antischistosomal activity of imidazolidines derived *in vivo* tests to better evaluate these compounds are still needed.

Keywords: LPSF/RH-38; PZQ; *Schistosoma mansoni,* imidazolidine

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mapa representativo dos países identificando a prevalência em esquistossomose (UTZINGER *et al*., 2010)..... 24

Figura 2: Mapa representativo do Brasil identificando a prevalência da esquistossomose mansônica nos estados em % por município (BRASIL, 2009)..... 25

Figura 3: Caramujos da espécie *Biomphalaria glabrata*, hospedeiro intermediário da *S. mansoni* no Brasil (http://www.ioc.fiocruz.br/informeioconline/galeria/lancamento_vacina/lancamento_vacina.html)..... 25

Figura 4: Granuloma circundante a um ovo esquistossomótico no fígado (ELBAZ & ESMAT, 2013)..... 27

Figura 5: Criança com esplenomegalia e ascite moderada (GRYSEELS, 2012)..... 28

Figura 6: Estrutura química do PZQ (CIOLI, PICA-MATTOCCIA & ARCHER, 1995)..... 31

Figura 7: Diagrama representativo das etapas do processo de descoberta de um novo fármaco e algumas estratégias necessárias para o desenvolvimento deste processo (BARREIRO, 2009)..... 34

Figura 8: Imidazolidina-2,4-diona..... 36

Figura 9: Derivados tioxo-imidazolidínicos. A) 2-tioxo-imidazolidin-4-ona. B) 4-tioxo-imidazolidin-2-ona. C) imidazolidina-2,4-ditiona..... 37

Figura 10: Derivado imidazolidínico LPSF/FZ-4 (OLIVEIRA *et al*., 2004)..... 38

Figura 11: Derivado imidazolidínico LPSF/PT-5 (PITTA *et al*., 2006)..... 39

Figura 12: Derivado imidazolidínico LPSF/RZS-5 (NEVES *et al*., 2010).... 40

Figura 13: Derivado imidazolidínico LPSF/PT-11(NEVES *et al*., 2011)..... 40

Figura 14: Rota de síntese dos derivados imidazoldínicos das séries

LPSF/FZ e LPSF/RH..... 43

Figura 15: Síntese do derivado intermediário LPSF/FZ-1..... 44

Figura 16: Síntese do derivado intermediário LPSF/FZS-1..... 44

Figura 17: Síntese dos derivados finais da série LPSF/FZ..... 45

Figura 18: Síntese dos derivados finais da série LPSF/RH..... 45

Figura 19: a) LPSF/RH, b) LPSF/FZ..... 65

Figura 20: a) LPSF/RH-38; b) LPSF/RH-40; c) LPSF/PT-5é é é é é é . 65

Figura 21: a) LPSF/RH; b) LPSF/FZ; c) LPSF/JT-69..... 67

Figura 22: a) LPSF/PT-5; b) LPSF/PT-11..... 68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Citotoxicidade dos derivados imidazolidínicos das séries LPSF/FZ e LPSF/RH testados frente à células de linhagem macrofágica J774..... 55
Tabela 2: Mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* tratados com o derivado imidazolidínico LPSF/RH-38..... 56
Tabela 3: Mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* tratados com o derivado imidazolidínico LPSF/RH-39..... 57
Tabela 4: Mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* tratados com o derivado imidazolidínico LPSF/RH-40..... 57
Tabela 5: Mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* tratados com o derivado imidazolidínico LPSF/RH-41..... 58
Tabela 6: Mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* tratados com o derivado imidazolidínico LPSF/FZ-20..... 58
Tabela 7: Mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* tratados com o derivado imidazolidínico LPSF/FZ-21..... 59
Tabela 8: Mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* tratados com o derivado imidazolidínico LPSF/FZ-24..... 59
Tabela 9: Mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* tratados com o PZQ..... 60
Tabela 10: Pontuação da motilidade de vermes adultos de *S. mansoni* submetidos ao tratamento com o controle negativo (DMSO) e PZQ..... 61
Tabela 11: Pontuação da motilidade de vermes adultos de *S. mansoni* submetidos ao tratamento com o derivado imidazolidínico LPSF/RH-38.... 62
Tabela 12: Pontuação da motilidade de vermes adultos de *S. mansoni* submetidos ao tratamento com o derivado imidazolidínico LPSF/RH-39.... 62
Tabela 13: Pontuação da motilidade de vermes adultos de *S. mansoni* submetidos ao tratamento com o derivado imidazolidínico LPSF/RH-40.... 62
Tabela 14: Pontuação da motilidade de vermes adultos de *S. mansoni* submetidos ao tratamento com o derivado imidazolidínico LPSF/RH-41.... 63
Tabela 15: Pontuação da motilidade de vermes adultos de *S. mansoni* submetidos ao tratamento com o derivado imidazolidínico LPSF/FZ-20.... 63

Tabela 16: Pontuação da motilidade de vermes adultos de *S. mansoni* submetidos ao tratamento com o derivado imidazolidínico LPSF/FZ-21.... 63
Tabela 17: Pontuação da motilidade de vermes adultos de *S. mansoni* submetidos ao tratamento com o derivado imidazolidínico LPSF/FZ-24.... 64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ar ï Argônio

DMSO ï Dimetilsulfóxido

EtOH ï Etanol

GPIT ï Grupo de Pesquisa em Inovação Terapêutica

HI ï Hepatointestinal

HS ï Hepatoesplênica

IV ï Infravermelho

KBr ï Brometo de potássio

KOH ï Hidróxido de potássio

LPSF ï Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos

MeOH ï Metanol

NO ï Óxido nítrico

PEG - Polietilenoglicol

pKa ï Constante de equilíbrio

PZQ ï Praziquantel

RMN ï Ressonância magnética nuclear

RPMI ï Medio Roswell Park Memorial Institute

WHO/OMSï Organização Mundial de Saúde

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO..... 19

2. OBJETIVOS..... 22

2.1. OBJETIVO GERAL..... 22

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... 22

3. REVISÃO DA LITERATURA..... 24

3.1 A DOENÇA..... 26

3.2 QUIMIOTERAPIA..... 28

3.3 POSSÍVEL RESISTÊNCIA AO PRAZIQUANTEL..... 32

3.4 ESTRATÉGIAS NA SÍNTESE DE NOVOS FÁRMACOS..... 33

3.4.1 Bioisosterismo..... 36

3.5 NOVAS ALTERNATIVAS TERAPÊUTICAS..... 37

3.5.1 Imidazolidinas..... 37

4. METODOLOGIA..... 43

4.1 MATERIAIS E MÉTODOS ï ESTUDO QUÍMICO..... 43

4.1.1 Materiais, Reagentes e Solventes..... 43

4.1.2 Equipamentos..... 43

4.1.3 Procedimentos experimentais..... 44

4.1.3.1 Diagrama geral de síntese..... 44

4.1.3.2 Síntese do derivado intermediário 3-(4-cloro-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (LPSF/FZ-1)..... 45

4.1.3.3 Síntese do derivado intermediário 3-(4-cloro-benzil)-4-tioxo-imidazolidin-2-ona (LPSF/FZS-1)..... 45

4.1.3.4 Síntese dos derivados finais 5-benzilideno-3-benzil-imidazolidina-2,4-diona. (LPSF/FZ)..... 46

4.1.3.3 Síntese dos derivados finais 5-benzilideno-3-benzil-4-tioxo-imidazolidin-2-ona (LPSF/RH)..... 46

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS ï ESTUDO BIOLÓGICO..... 47

4.2.1 Animais..... 47

4.2.2 Materiais e Equipamentos..... 47

4.2.3 Procedimentos experimentais..... 48

4.2.3.1 Avaliação da viabilidade celular dos derivados imidazolidínicos..... 48

4.2.3.2 Infecção por *Schistosoma mansoni*..... 48

4.2.3.3 Perfusão do sistema porta para recuperação de vermes adultos de *Schistosoma mansoni*..... 48

4.2.3.4 Avaliação da suscetibilidade *in vitro* de vermes adultos de *Schistosoma mansoni* frente aos derivados imidazolidínicos..... 49

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 51

5.1 ESTUDO QUÍMICO..... 51

5.1.1 Características físico-químicas e espectroscópicas dos compostos imidazolidínicos sintetizados..... 51

5.1.1.1 (*Z*)-3-(4-cloro-benzil)-5-(4-(pirrolidin-1-il-benzllideno)-imidazolidina-2,4-diona) - LPSF/FZ-20..... 51

5.1.1.2 (*Z*)-3-(4-clorobenzil)-5-(4-morfolino-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona) - LPSF/FZ-21..... 52

5.1.1.3 (*Z*)-3-(4-cloro-benzil)-5-(4-piperdin-1-il-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona) - LPSF/FZ-22..... 52

5.1.1.4 (*Z*)-3-(4-cloro-benzil)-5-(4-benzilóxi-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona) - LPSF/FZ-24..... 53

5.1.1.5 (*Z*)-1-(4-cloro-benzil)-4-(4-(pirrolidin-1-il-benzilideno)-5-tioxo-imidazolidin-2-ona) - LPSF/RH-38..... 53

5.1.1.6 (*Z*)-1-(4-cloro-benzil)-4-(4-morfolino-benzilideno)-5-tioxo-imidazolidin-2-ona) - LPSF/RH-39..... 54

5.1.1.7 (*Z*)-1-(4-cloro-benzil)-4-(4-bis-benzilóxi-1-il-benzilideno)-5-tioxo-imidazolidin-2-ona) - LPSF/RH-40..... 54

5.1.1.8 (Z)-1-(4-cloro-benzil)-4-(4-piperidin-1-il-benzilideno)-5-tioxo-imidazolidin-2-ona) -LPSF/RH-41..... 55

5.2 ESTUDO BIOLÓGICO..... 55

5.2.1 Avaliação da citotoxicidade em macrófagos J774 dos derivados imidazolidínicos..... 55

5.2.2 Avaliação da suscetibilidade *in vitro* de vermes adultos de *Schistosoma mansoni* frente aos derivados imidazolidínicos..... 56

5.2.2.1 Mortalidade dos parasitos..... 56

5.2.2.2 Motilidade dos parasitos..... 61

5.3 DISCUSSÃO..... 65

6. CONCLUSÕES..... 70

6. PERSPECTIVAS..... 72

7. BIBLIOGRAFIA..... 74

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A esquistossomose é reconhecida como um sério problema de saúde pública em todo o mundo. Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) demonstram alta prevalência dessa doença, onde cerca de 243 milhões de pessoas presentes em mais de 50 países encontram-se infectadas (WHO, 2008; 2012; 2013a). No Brasil, estima-se que cerca de 6 a 8 milhões de pessoas estejam infectadas pelo *S. mansoni* (BRASIL, 2005; VRANJAC, 2007; WHO, 2013a).

A incidência da esquistossomose descrita inicialmente em áreas de pobreza, onde existe precariedade no sistema de saneamento básico e educação vem sendo ampliada, e hoje já atinge as regiões litorâneas (WHO, 2013a; BARBOSA *et al*, 1998, 2001; SILVA & DOMINGUES, 2011).

A quimioterapia para o controle da esquistossomose é um fator importante para impedir a evolução da doença (KATZ & COELHO, 2008). O tratamento é limitada, com um número reduzido de fármacos disponíveis que apresentem eficácia e baixa toxicidade aos pacientes (KATZ & COELHO, 2008; BRASIL, 2005; KATZ & ALMEIDA, 2003). O medicamento utilizado na clínica para o tratamento da esquistossomose mansônica tem sido o praziquantel (PZQ), o qual se destaca pela sua eficácia contra todas as espécies de *Schistosoma*, boa tolerância pelos pacientes, baixo custo e apresenta poucos efeitos colaterais e baixa toxicidade (TALLIMA & RIDI, 2007).

Com o uso exclusivo do PZQ, foram relatadas na literatura evidências de casos que indicaram possíveis resistências de cepas de *S. mansoni* (PICA-MATTOCCIA *et al*., 2009; CIOLI & PICA-MATTOCCIA, 2003). Desde então, novas alternativas quimioterápicas devem ser desenvolvidas para que cepas de *S. mansoni* não apresentem resistência e que outros medicamentos façam parte da quimioterapia dessa parasitose.

A síntese de novos compostos heterocíclicos, com o anel imidazolidínico, vem sendo desenvolvida desde a Segunda Guerra Mundial, e o desenvolvimento do niridazol em 1964, representou o inicio de pesquisas na busca de fármacos esquistossomicidas (WEBSTER, 1975; WERBEL *et al*., 1977). O núcleo imidazolidínico é um heterociclo pentagonal, grupo farmacóforo importante,

presente em vários compostos biologicamente ativos (KURZ & WIDYAN, 2004) e vem se destacando pela sua ampla atividade biológica como antimicrobiano (CATERINA *et al*., 2008; ALBUQUERQUE *et al*., 1999), analgésico (JI *et al.*, 2006), anticâncer (BASAPPA *et al*., 2009; KAMINSKYY, ZIMENKOVSKY & LESYK, 2009), antifúngico (SAHA *et al*., 2000) e antiparasitário (GOMES *et al*., 2012), evidenciando a atividade esquistossomicida (SILVA *et al*., 2012; NEVES *et al*., 2011, 2010; PITTA *et al*., 2006; OLIVEIRA *et al*., 2004).

Diante do exposto, este trabalho buscou sintetizar e estudar novos compostos imidazolidínicos dissubstituídos através de ensaios de citotoxicidade a avaliação *in vitro* a fim de verificar seu potencial terapêutico frente a vermes adultos de *S. mansoni.*

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Sintetizar, caracterizar estruturalmente e avaliar o potencial da atividade esquistossomicida de novos derivados imidazolidínicos das séries LPSF/FZ (5-benzilideno-3-benzil-imidazolidina-2,4-diona) e LPSF/RH (5-benzilideno-3-benzil-4-tioxo-imidazolidin-2-ona).

2.2 Objetivos Específicos

→Realizar a síntese de 8 novos derivados imidazolidínicos das séries LPSF/FZ (5-benzilideno-3-benzil-imidazolidina-2,4-diona) e LPSF/RH (5-benzilideno-3-benzil-4-tioxo-imidazolidin-2-ona);

→Caracterizar os novos compostos sintetizados, através de análises espectrofotométricas no infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênio, bem como por espectrometria de massas;

→ Avaliar a atividade citotóxica dos compostos imidazolidínicos em linhagem de células macrofágicas J774;

→Verificar a atividade esquistossomicida dos 7 derivados imidazolidínicos LPSF/FZ e LPSF/RH sobre os vermes adultos de *S. mansoni*.

REVISÃO DA LITERATURA

3. REVISÃO DA LITERATURA

A esquistossomose, originalmente chamada de bilharziose, ocupa o segundo lugar das doenças de importância na Saúde Pública (WHO, 2012). Registros recentes da Organização Mundial de Saúde (OMS) demonstram uma incidência de cerca de 243 milhões de pessoas infectadas pelo *Schistosoma* (VITORINO et al. 2012; WHO, 2012). No Mundo, a esquistossomose está associada a vinte mil mortes causadas pelas consequências graves da infecção do parasita, incluindo fibrose hepática e hipertensão (WHO, 2013b).

A esquistossomose é prevalente em países localizados nas regiões tropical e subtropical, como na América Latina, Caribe, África e Oriente Médio; totalizando 54 países (WHO, 2013a, 2008) (Figura 1).

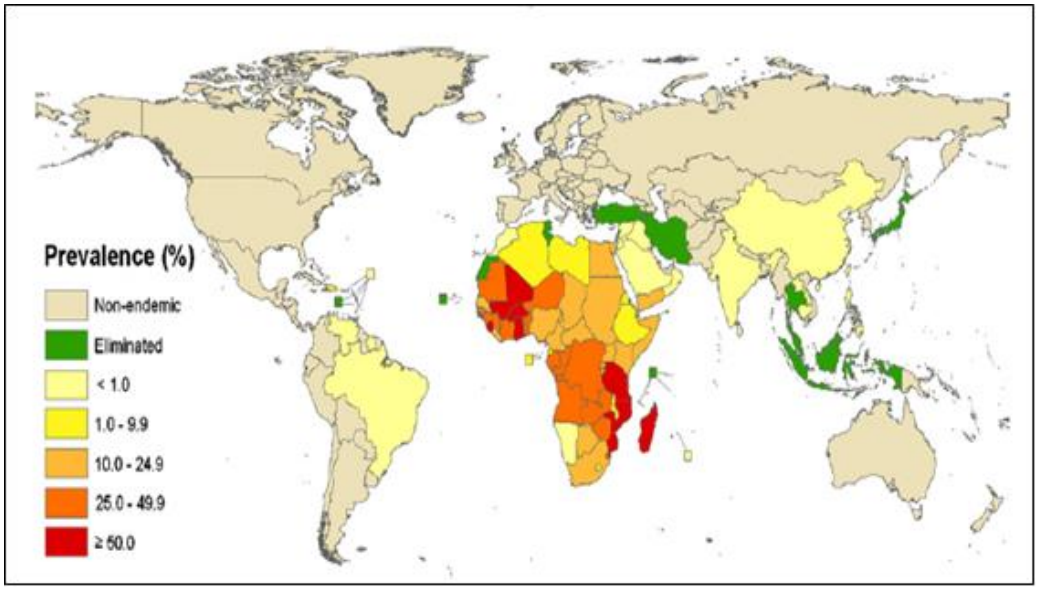


Figura 1 - Mapa representativo dos países identificando a prevalência de esquistossomose (UTZINGER *et al*., 2010).

No Brasil, a espécie encontrada é a *Schistosoma mansoni* (WHO, 2013a, 2008). As estimativas são de 6 a 8 milhões de pessoas infectadas pelo parasita (VRANJAC, 2007). A região Nordeste apresenta mais da metade dos casos registrados em 2011 de esquistossomose mansônica, seguido da região Sudeste (BRASIL, 2012). Os estados endêmicos são Alagoas, Maranhão, Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba, Sergipe, Espírito Santo e Minas Gerais (BRASIL, 2013a) (Figura 2).

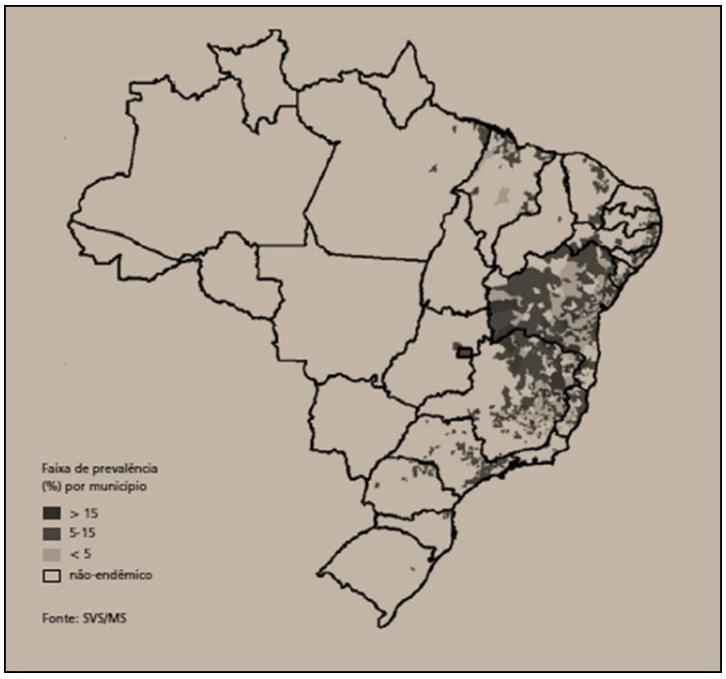


Figura 2 - Mapa representativo do Brasil identificando a prevalência da esquistossomose mansônica nos estados em % por município (BRASIL, 2009).

Em 2011, Pernambuco registrou aproximadamente nove mil casos positivos para a doença, com 114 óbitos, ocupando o terceiro lugar em prevalência no Nordeste (BRASIL, 2013b).

A esquistossomose mansônica é causada pelo verme trematódeo, da família *Schistosomatidae*, gênero *Schistosoma* e da espécie *Schistosoma mansoni.* Para a transmissão da doença, necessita-se do hospedeiro intermediário, o caramujo, pertencente à espécie *Biomphalaria glabrata* encontrado apenas no Brasil (Figura 3) (BRASIL, 2005).

Figura 3 - Caramujos da espécie *Biomphalaria glabrata*, hospedeiro intermediário da *S. mansoni* no Brasil (http://www.ioc.fiocruz.br/informeioconline/galeria/lancamento_vacina/lancamento_vacina.html).

Casos de infecções agudas em pessoas de classes alta e média e/ou turistas vêm sendo detectados, pois estas ao se deslocarem para casas de veraneio são infectadas pela parasitose, como é o caso da Ilha de Itamaracá e a praia de Porto de Galinhas em Pernambuco (GONÇALVES *et al*., 1991). Portanto, mostra-se que o perfil epidemiológico da esquistossomose perdeu seu caráter tipicamente rural para ocorrer com elevada prevalência nos centros urbanos, principalmente nos locais que ainda apresentam deficiência de saneamento básico (PORDEUS *et al*., 2008).

3.1 A DOENÇA

Na esquistossomose mansônica as agressões patogênicas acometem principalmente o fígado e caracterizam-se pela presença de granulomas periovulares e formação de fibrose periportal, além de alterações vasculares responsáveis pela hipertensão dentro do sistema venoso portal (REY, 2001).

As manifestações clínicas dos indivíduos infectados pelo *S. mansoni*, apresentam diferenças decorrentes de alterações na área endêmica, intensidade de infecção, estado nutricional e resposta imunológica (ALMEIDA, 2009).

Na fase aguda da doença pode ocorrer uma síndrome toxêmica, onde o hospedeiro definitivo desenvolve dermatite proveniente da invasão e morte das cercárias, erupção papular, eritema, edema e prurido (LAMBERTUCCI *et al*, 2008; PORDEUS, 2008). As manifestações mais comuns nessa fase da doença são febre, calafrios, fraqueza, dor de cabeça, anorexia, náuseas, vômitos e mal-estar geral. Em adição, diarréia aquosa grave, fezes às vezes sangrentas, tosse seca e perda de peso rápida podem se desenvolver (DA SILVA, CHIEFFI, CARRILHO; 2005).

A forma intestinal da esquistossomose se origina pela resposta inflamatória granulomatosa ao redor dos ovos de *S. mansoni*, em sua maioria, no mesentério do intestino. Estes granulomas provocam lesões intestinais (ELBAZ & ESMAT, 2013) micro-ulcerações, irritação muscular e sangramento microscópico. Dor abdominal, perda de apetite e diarréia com ou sem sangue são sintomas comuns, porém atípicos (GRYSEELS, 2012).

O paciente assintomático pode tornar-se sintomático após reinfecção ou com a contínua deposição de ovos em longo prazo sem tratamento (LAMBERTUCCI *et al*., 2000).

A maior parte dos pacientes infectados pelo *S. mansoni* evolui na fase crônica para forma benigna. Nessa fase o quadro clínico inicial pode ser assintomático, também conhecido como forma hepatointestinal (HI) que pouco difere das parasitoses intestinais comuns (LAMBERTUCCI *et al*., 2000). A forma HI caracteriza-se pela deposição de ovos na parede do intestino e no fígado, na qual liberam antígenos levando também a formação de uma resposta inflamatória granulomatosa (Figura 4) (COON, 2005). Este granuloma decorrente inicialmente da fase aguda irá proporcionar uma maior resposta, levando ao comprometimento patogênico dos hepatócitos (DA SILVA, CHIEFFI, CARRILHO; 2005).

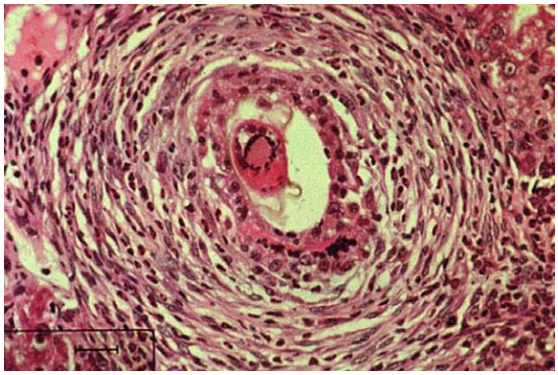


Figura 4: Granuloma circundante a um ovo esquistossomótico no fígado (ELBAZ & ESMAT, 2013).

Com a evolução da doença, um baixo percentual de indivíduos (5 a 10%) evolui para forma grave da infecção, denominada forma hepatoesplênica (HS) (GRYSEELS, 2012; ANDRADE & VAN MARCK, 1984). A forma HS resulta da retenção de ovos nos capilares sanguíneos dos espaços porta do fígado os quais podem levar a oclusão das veias porta; ocasionando o desenvolvimento de hipertensão portal, esplenomegalia, ascite, varizes e hemorragias gastrointestinais podendo ser fatal ao organismo (BURKE, 2009). O baço é grosseiramente aumentado, devido à hiperplasia dos elementos do sistema retículo-endotelial da polpa vermelha e da congestão passiva determinada pela hipertensão porta (MAGALHÃES & COUTINHO, 1961) (Figura 5). O acúmulo

excessivo de colágeno e componente da matriz no fígado decorrente da resposta inflamatória resulta na formação da fibrose periportal (ANDRADE, 2005).

Figura 5: Criança com esplenomegalia e ascite moderada (GRYSEELS, 2012).

A patogênese da forma HS ainda não foi totalmente esclarecida e estudos com o objetivo de desvendar o porquê de apenas poucos indivíduos desenvolvem a forma grave ainda é um desafio a ser alcançado.

3.2 QUIMIOTERAPIA

O tratamento para a esquistossomose é importante principalmente pela cura do paciente, mas também para o controle da morbidade, da transmissão interrompendo o ciclo evolutivo do parasito e o surgimento de novos casos (BRASIL, 2005; SAVIOLI *et al*., 2004; KATZ & ALMEIDA, 2003).

A quimioterapia é um fator importante para essa parasitose. Porém, ações governamentais como o saneamento básico, instalação de água e esgoto nas casas, educação em saúde são formas de contribuir para o controle da transmissão desta parasitose (KATZ & COELHO, 2008).

Ao longo de quase um século diversos fármacos vêm sendo estudados e propostos como quimioterápicos para a esquistossomose, dentre eles o tártaro emérito, antimoniais trivalentes, lucantone, hicantone e o niridazol. O alto efeito tóxico desses compostos foi responsável pela descontinuidade de fabricação e

uso no tratamento da doença e pela permanência exclusiva do praziquantel (PZQ) (KATZ & ALMEIDA, 2003).

Dentre os medicamentos testados para esquistossomose o primeiro agente terapêutico descrito foi o tártaro emérito (tartarato de antimônio e potássio) introduzido por Christopherson em 1918 (CHRISTOPHERSON, 1918). Algum tempo depois, outros sais de antimônio foram sendo introduzidos em uso clínico, tartarato de antimônio e sódio, disulfonato-bis-pirocatecol de sódio e antimônio (Stilbofen®), tiomalato de antimônio e sódio (Anthiomaline®) e gluconato de antimônio e sódio (Tiostam®) que eram administrados por via parentérica (via intramuscular ou intravenosa) (KATZ & COELHO, 2008). Essas drogas produziram inúmeros efeitos colaterais e tóxicos, levando pacientes à morte súbita. Por esse motivo, tiveram seu uso banido (KATZ, 2008a).

Na tentativa de controle da esquistossomose, ainda na Segunda Guerra Mundial, cientistas alemães conseguiram sintetizar o lucantone, que se diferenciou dos demais compostos por ser o primeiro fármaco de uso oral para o tratamento dessa patologia (FARLEY, 1991). Porém efeitos graves foram observados e óbitos associados à doença hepática fizeram com que esse composto fosse retirada do mercado. Estudos posteriores, nos anos 60, levaram a síntese e uso do hicantone, fármaco que poderia ser administrado tanto por via muscular como por via oral, em dose única. Todavia, efeitos adversos semelhantes aos obtidos com o uso do lucantone foram descritos (FILHO & SILVEIRA, 2001; KATZ, 2008a).

A década de sessenta se destacou por um grande número de estudos que almejavam a descoberta de medicamentos eficazes com menores efeitos colaterais na população. Já nessa época, estudos experimentais da esquistossomose mansônica demonstraram que compostos heterocíclicos com anel imidazolidínico apresentavam atividade contra o *S. mansoni* (WERBEL *et al*., 1977). Estes resultados levaram a síntese de novos derivados imidazolidínicos, surgindo assim o Niridazol (1-(5-nitro-2-tiazolil)-2-imidazolidinona) (LAMBERT, 1964).

O niridazol foi um composto usado por via oral e era administrado de 5 a 7 dias (KATZ & COELHO, 2008). Todavia, ao ser testado para demais espécies de esquistossomose, esse medicamento não apresentou eficácia, além disso, gerou

efeitos colaterais superiores aos demais compostos testados até o momento, como dores de cabeça, tontura, náuseas e vômitos, mas também casos graves de alucinações, convulsões, toxicidade nos rins e no sistema nervoso central, carcinogênese, mutagênese, embriotoxicidade e imunossupressão (KATZ & COELHO, 2008).

Nos anos setenta se iniciou estudos com o oxaminiquine, esse fármaco era encontrado em forma de cápsula ou xarope e administrado por via oral. Apesar de apresentar alto percentual de cura da esquistossomose mansônica no Brasil e em outros países americanos, não alcançou o mesmo resultado nos países africanos devido à existência de mais de um tipo de esquistossomose (KATZ, 2008b; RIBEIRO-DOS-SANTOS, VERJOVSKI-ALMEIDA & LEITE 2006).

Os parasitos machos de *S. mansoni* são mais vulneráveis aos efeitos da oxamniquine (CIOLI, PICA-MATTOCCIA & ARCHER, 1995), além de efeitos sobre cercárias e vermes na fase adulta (FOSTER *et al*., 1971). Esse fármaco mostrou um mecanismo de ação relacionado com um efeito anti-colinérgico, o que aumenta a motilidade dos parasitos, bem como a inibição da síntese de ácidos nucléicos (KATZ & COELHO, 2008). Na clínica, os efeitos colaterais relatados pelos doentes ao tratamento foram: náuseas, tonturas, sonolência, dor de cabeça, vômito, diarreia, desconforto gástrico e em pequena quantidade dos pacientes é possível à ocorrência de irritação, excitação nervosa, alucinações ou convulsões (KATZ, 2008a; RIBEIRO-DOS-SANTOS, VERJOVSKI-ALMEIDA & LEITE 2006). E em decorrência da destruição dos parasitos nos órgãos, pode aparecer também febre e eosinofilia (CIOLI, PICA-MATTOCCIA & ARCHER, 1995).

O PZQ (2-ciclohexilcarbonil-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino{2,1-a}isoquinolina-4-ona) (Figura 6) se tornou o tratamento de escolha por vários motivos: pela eficácia contra todas as espécies de *Schistosoma*, pela boa tolerância, ao mesmo tempo em que possui um menor custo e menor toxicidade em comparação aos outros compostos esquistossomicidas anteriormente utilizados (TALLIMA & RIDI, 2007); além de poder ser usado em larga escala e em dose única oral; com ausência de efeitos colaterais muito graves, mostrando eficácia, segurança e facilidade na administração (KATZ, 2008a; CIOLI, PICA-MATTOCCIA & ARCHER, 1995).

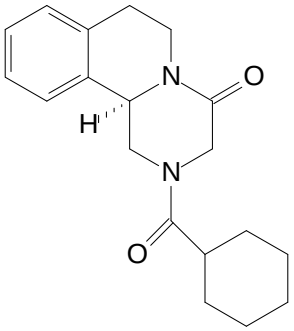


Figura 6: Estrutura química do PZQ (CIOLI, PICA-MATTOCCIA & ARCHER, 1995).

A administração desse fármaco pode ocasionar efeitos colaterais pouco frequentes e passageiros como, dores de cabeça, vertigem, tonturas, febre, cansaço, dores abdominais, diarreia, náuseas, vômitos e anorexia. Manifestações cutâneas como prurido e urticária podem também aparecer. Acredita-se que sejam uma reação do organismo as substâncias produzidas pela morte dos vermes (KATZ & COELHO, 2008; KATZ, 2008b).

Os mecanismos de ação do PZQ frente ao *Schistosoma* ainda não foram bem elucidados (PICA-MATTOCCIA *et al*., 2007), mas as evidências apontam para alterações nos canais de cálcio, devido ao rápido influxo de Ca^{2+} para o interior do verme e com base nas características estruturais e funcionais das subunidades-ϐ desses canais (GREENBERG, 2005; TALLIMA & RIDI, 2007). Isso seria responsável pela contração muscular dos parasitos, consequentemente a cessação dos movimentos e redução do seu comprimento (PICA-MATTOCCIA & CIOLI, 2004), danos do tegumento e formação de bolhas na superfície (vacuolizações), principalmente nos machos (TALLIMA & RIDI, 2007) e alterações metabólicas (captação de glicose, excreção de lactato, diminuição do glicogênio, diminuição da fosfatase alcalina e diminuição da ATPase, inibição da colinesterase e acetilcolinesterase) (NOEL, 2008). Estes últimos efeitos são típicos de uma exposição do fármaco ao verme após um período longo de horas, considerando-os como efeitos secundários, e as modificações do teor de Ca^{2+} e morfologia do tegumento, ocorrem após alguns segundos (CIOLI, PICA-MATTOCCIA & ARCHER, 1995).

3.3 POSSÍVEL RESISTÊNCIA AO PRAZIQUANTEL

Considera-se resistência quando ocorre a perda momentânea ou definitiva da sensibilidade de um organismo ao efeito de fármacos que possam intervir nas suas funções vitais. Por sua vez, tolerância aos fármacos ocorre quando um parasito não responde completamente a terapia, sem nunca ter entrado em contato com o fármaco. A resistência pode aparecer nos descendentes de parasitos que apresentam resposta diminuída do fármaco. O uso redundante de medicamentos para tratar de doenças infecciosas, leva ao desenvolvimento de resistência a drogas (COLES *et al*., 1986).

Em 1971, estudos de Rogers e Bueding demonstraram pela primeira vez a existência de cepas de *S. mansoni* resistentes a um fármaco esquistossomicida, o hicantone. Camundongos e hamsters infectados com cepas de *S. mansoni* de Porto Rico, tratados com hicantone voltaram a eliminar ovos viáveis após um ano de tratamento. As cercárias provenientes destes ovos foram utilizadas para infectar outros camundongos, na qual os vermes adultos mostraram-se resistentes ao tratamento com hicantone (ROGERS & BUEDING, 1971).

A primeira evidência de resistência ao PZQ foi em 1994 com os estudos experimentais de Fallon e Doenhoff. Eles infectaram ratos utilizando um ñpoolò de cercárias proveniente de quatro regiões geográficas distintas e os trataram com doses subcurativas de PZQ. Após sete ciclos de tratamento, com doses crescentes da droga, foi obtida uma cepa da qual 93% dos vermes adultos sobreviveram a três doses de 300 mg/kg. Essa cepa obteve resistência ao PZQ, porém foi sensível ao oxaminiquine, tratando-se assim de cepa resistente a um fármaco específico (CIOLI, PICA-MATTOCCIA & ARCHER, 1995).

Na clínica, foram observados os primeiros casos de diminuição da taxa de cura e falhas terapêuticas relacionadas ao PZQ, com um foco endêmico localizado no Senegal, onde uma amostra de pacientes aleatórios foram tratados com 40 mg/kg por via oral por 12 semanas do PZQ e apresentaram taxa de cura parasitológica entre 18-39% (STELMA *et al*., 1995) bem abaixo do normal esperado (80-90%) de áreas endêmicas (KATZ & COELHO, 2008).

No Egito foi relatado que após tratamentos sucessivos com doses altas do PZQ (duas doses de 40 mg/kg e uma dose de 60 mg/kg), ainda foi possível

identificar pacientes (1 a 2,4%) que não responderam a terapia com o PZQ, sendo identificado ovos viáveis nas fezes desses pacientes (FALLON, 1998; ISMAIL et al, 1996). A baixa atividade do PZQ nas áreas africanas pode ser atribuída a vários fatores, dentre os quais, um percentual baixo de maturação dos vermes, área de transmissão intensa, reinfecções rápidas e/ou ausência de resposta imune da população devido à exposição ser recente (FALLON *et al*.,1996) e a intensidade da infecção (GRYSEELS et al., 2001).

A divulgação desse resultado causou grande comoção na opinião pública, bem como várias manifestações da OMS, temerosa de o PZQ ser contestado como esquistossomicida na África (KATZ, 2008b).

Visto os relatos que evidenciam uma possível resistência a cepas de *S. mansoni* ao PZQ, fica nítida a necessidade em desenvolver novas alternativas terapêuticas para a quimioterapia da esquistossomose.

3.4 ESTRATÉGIAS NA SÍNTESE DE NOVOS FÁRMACOS

A descoberta e o desenvolvimento de um novo fármaco é um processo complexo que requer tempo e altos custos, possuindo suas raízes altamente ligadas ás inovações científicas e tecnológicas. Os avanços significativos das Ciências que levaram a uma melhor compreensão das vias bioquímicas, alvos moleculares e de mecanismos de doenças, tornaram possível a descoberta de inovações terapêuticas conhecidas, concedendo melhorias na qualidade de vida das pessoas (GUIDO & OLIVA, 2009).

Os esforços iniciais na pesquisa de um novo fármaco se direcionam a fase farmacodinâmica, fase onde se verifica a interação fármaco-alvo e consequentemente seus efeitos terapêuticos. Testes *in vitro* são realizados para testar os candidatos a fármacos para se obter a sua relação do seu potencial agonista ou antagonista. Partindo desse *screen* inicial, outros testes são realizados como o *in vivo,* para se verificar seu efeito farmacológico. No entanto, muito desses candidatos a fármacos que se mostraram com boa atividade nos testes *in vitro*, nem sempre tem uma mesma resposta no teste *in vivo*. Muitas das vezes, essa falha se corresponde a problemas farmacocinéticos desses compostos como sua baixa biodisponibilidade, baixa ou alta duração de ação e

até a presença de metabólitos, gerando problemas clínicos mal sucedidos (PEREIRA, 2007).

Os processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção nos estágios iniciais da pesquisa são de suma importância. O aprimoramento destas propriedades através das modificações moleculares desses compostos é essencial na seleção de candidatos a fármacos com maiores probabilidades de não serem abandonados na fase clínica. A frustração na fase clínica significa grandes perdas de tempo e dinheiro (PEREIRA, 2007).

Assim, a química medicinal vem se destacando no seu papel na produção e desenvolvimento de fármacos (GUIDO & OLIVA, 2009) onde existem várias estratégias (Figura 13) que se empregam para o desenho molecular podendo ser levado a síntese de um novo fármaco possível candidato a agente terapêutico. Essas estratégias são essenciais porque aperfeiçoam essas modificações moleculares, conseqüentemente diminuindo efeitos colaterais e aumentando seu potencial (BARREIRO, 2009). Dentre elas, destacamos para este trabalho o Bioisosterismo.

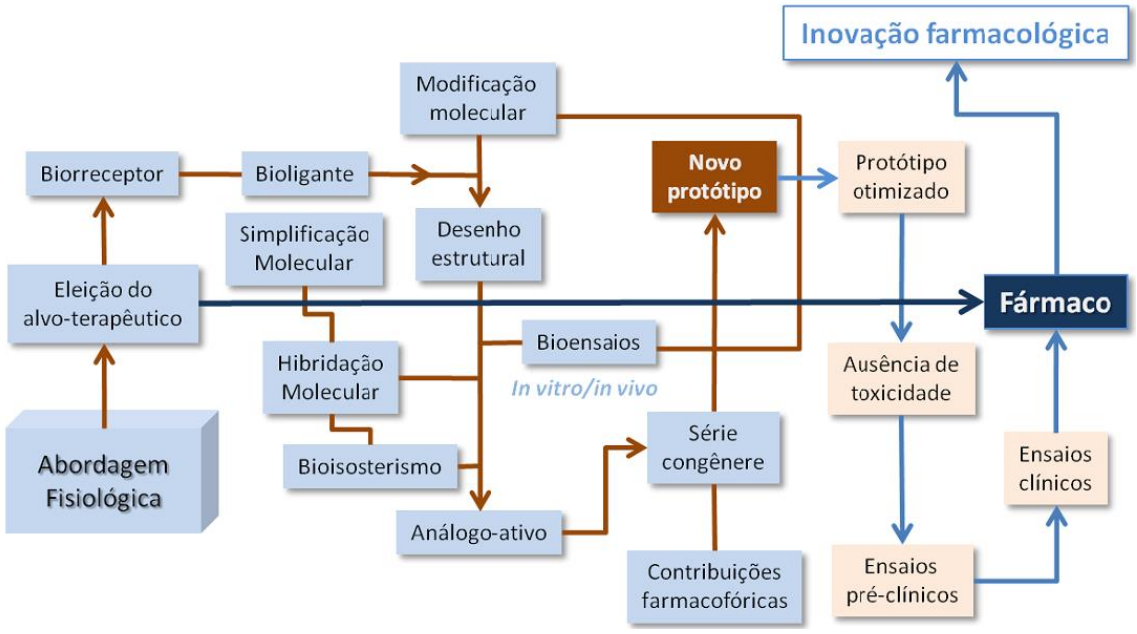


Figura 7: Diagrama representativo das etapas do processo de descoberta de um novo fármaco e algumas estratégias necessárias para o desenvolvimento deste processo (BARREIRO, 2009).

3.4.1 Bioisosterismo

Um dos desafios que a química medicinal enfrenta são a modulação e mediação do potencial de um composto terapêutico contra seu alvo biológico, além de certificar de que seu composto apresente uma resposta eficaz. Por isso, a química de substituição bioisostérica ou bioisosterismo é uma das técnicas mais significativas para auxiliar na navegação de forma eficiente o espaço disponível (MANNHOLD, KUBINYI & FOLKERS, 2012).

Bioisosterismo é uma estratégia da química medicinal para o desenho racional de novos fármacos, aplicados a um composto farmacóforo como um processo especial de modificação molecular (BURGER, 1983) que relacionados apresentam propriedade biológica agonista ou antagonista. É a substituição ou modificação de um grupo funcional por outro grupo possuindo semelhantes propriedades físico-químicas (SETHY *et al*., 2013).

Porém, não é possível prever os efeitos biológicos quando se faz uma mudança estrutural. Sem o conhecimento ou a descrição dos mecanismos dos receptores biológicos ou enzimas, não se pode prever o efeito sobre a atividade biológica resultante dessas modificações. Contudo, podemos prever o efeito da modificação no composto a partir de suas propriedades físicas das moléculas envolvidas, como a sua estereoquímica, influências eletrônicas e hidrofóbicas produzidas junto às mudanças ocorridas no composto (KIER & HALL, 2004). O bioisosterismo se subdivide em duas categorias, Bioisosterismo Clássico (Grupo ou átomo monovalente, Grupo ou átomo divalente, Grupo ou átomo trivalente, Grupo ou átomo tetravalente e anel equivalente) e Bioisosterismo Não-clássico (Cíclica, Não cíclica e Grupo funcional) (LIMA & BARREIRO, 2005).

O Bioisosterismo Clássico é ligado principalmente na semelhança eletrônica dos grupos do que na semelhança funcional. Já a adição desses dois grupos no Bioisosterismo Não-clássico permite mimetizar os arranjos espaciais, propriedades eletrônicas ou físico-química, importante para a atividade biológica (MANNHOLD, KUBINYI & FOLKERS, 2012).

Diante da propriedade (físico-química, biológica, farmacocinética ou farmacondinâmica) que é modificada pelo bioisosterismo, o resultado pode se inserir entre uma ou mais destas características (MANNHOLD, KUBINYI & FOLKERS, 2012):

→Estrutural: Apresenta um papel de manter conformações e parâmetros preferenciais, tais como o tamanho e ângulo de ligação, que desempenham um papel fundamental para o alcance disto.

→Interações do receptor: Quando uma porção substituída interage diretamente com um receptor ou uma enzima, os parâmetros a serem considerados relevantes serão o tamanho, a forma, as propriedades eletrônicas, o pKa, a reatividade química e as ligações de hidrogênio.

→Farmacocinética: Durante ou após a otimização de uma resposta biológica, é importante também aperfeiçoar a absorção, o transporte, a excreção e as propriedades da molécula. Os parâmetros importantes a serem considerados são lipofilicidade, hidrofilicidade, ligação de hidrogênio e pKa.

→Metabolismo: Uma porção do composto pode estar envolvida bloqueando ou auxiliando o metabolismo. Uma propriedade que deve ser aperfeiçoada é a reatividade química. Thornber, um dos idealizadores do conceito do Bioisosterismo, exemplificou essa característica, falando do derivado de tolueno que pode ser metabolizado em ácido benzóico, apresentando uma meia-vida curta ou efeitos colaterais inesperados.

3.5 NOVAS ALTERNATIVAS TERAPÊUTICAS

3.5.1 Imidazolidinas

As imidazolidina-2,4-dionas ou hidantoínas (Figura 7) são compostos heterociclos pentagonais (FINKBEINER, 1965) isósteros das tiazolidinas, que possuem dois átomos de nitrogênio e duas carbonilas no anel. Ela foi descoberta por Bayer em 1861, através da reação da bromo-acetiluréia com amônia em meio alcoólico, sob aquecimento (WARE, 1950).

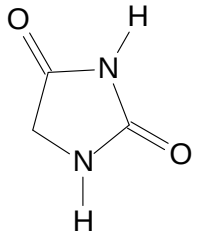


Figura 8: Imidazolidina-2,4-diona

Sua primeira fórmula estrutural foi sugerida por Kolbe, em 1870, modificada por Strecker no mesmo ano, propondo uma nova fórmula e deste então tem sido intensamente estudada (WARE, 1950). O interesse por esse anel tem sido amplamente centrado na obtenção natural da imidazolidina e pela síntese de uma variedade de compostos para uso farmacêutico (FINKBEINER, 1965).

Esforços para o desenvolvimento de novas técnicas de síntese dos derivados imidazolidínicos tem sido feitas, ao exemplo do uso do multi-passo convencional, *one-pot*, em fase sólida e a assistida por micro-ondas já estão sendo publicadas, com objetivo de serem mais eficientes e com menores custos (KURZ & WIDYAN, 2004).

A substituição dos átomos de oxigênio carbonílicos da imidazolidina por átomos de enxofre origina tioxo-derivados-imidazolidínicos. Klason, em 1890, sintetizou os primeiros derivados, a 2-tioxo-imidazolidin-4-ona, a 4-tioxo-imidazolidin-2-ona e a imidazolidina-2,4-ditiona (Figura 8) (OLIVEIRA *et al*., 2008). De acordo com Ware 1950, os compostos tiocarbonilados são preparados e isolados mais facilmente do que os compostos carbonilados, além de serem mais reativos. Edward, em 1966, destaca o aumento da polarização do grupo tiocarbonila evidenciado pela substituição do oxigênio pelo enxofre.

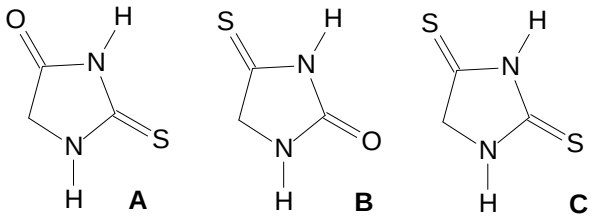


Figura 9: Derivados tioxo-imidazolidínicos. A) 2-tioxo-imidazolidin-4-ona. B) 4-tioxo-imidazolidin-2-ona. C) imidazolidina-2,4-ditiona (OLIVEIRA *et al*., 2008).

A imidazolidina é um farmacóforo importante, que está presente em vários compostos biologicamente ativos. Nas últimas décadas, a indústria farmacêutica vem se dedicando nas pesquisas na modificação estrutural das imidazolidinas e de seus derivados (KURZ & WIDYAN, 2004).

Os derivados imidazolidínicos já são conhecidos na literatura pelo seu amplo espectro de atividades biológicas, como por exemplo, atividade analgésica (JI *et al*., 2006), anticonvulsivante (CORTES *et al*., 1985), antifúngica (SAHA *et al*., 2000), antioxidante inibidor do óxido nítrico (SORRENTI *et al*., 2006), antiarrítmica (PEKALA *et al*., 2005), antimicrobiana (CATERINA *et al*., 2008; ALBUQUERQUE *et al*., 1999), anticâncer (BASAPPA *et al*., 2009; KAMINSKYY, ZIMENKOVSKY & LESYK, 2009), Anti HIV (COMBER *et al*., 1992; FLOSI *et al*., 2006), anti-inflamatória (GUERRA *et al*., 2011; UCHOA *et al*., 2009, 2008), antinociceptiva (GUERRA *et al*., 2011), anti-*T. cruzi* (GOMES *et al*., 2012), esquistossomicida (SILVA *et al*., 2012; NEVES *et al*., 2011, 2010; PITTA *et al*., 2006; OLIVEIRA *et al*., 2004).

O Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos - LPSF pertencente ao Grupo de Pesquisa em Inovação Terapêutica ï GPIT/UFPE apresenta vários trabalhos na literatura com derivados imidazolidínicos e suas atividades esquistossomicidas, e patentes vêm sendo geradas (WO 2012/119212 A1) confirmando assim, a importância das imidazolidinas como um composto bioativo.

No estudo *in vitro* com parasitos de *S. mansoni* o composto (Z)-3-(4-cloro-benzil)-5-(4-nitro-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (LPSF/FZ-4) (Figura 9) na concentração de 120 µg/mL apresentou uma mortalidade de 100% no 12º dia de observação (OLIVEIRA *et al*., 2004)

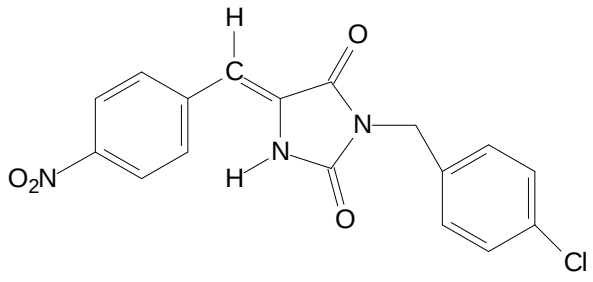


Figura 10: Derivado imidazolidínico LPSF/FZ-4 (OLIVEIRA *et al*., 2004).

Sete novos derivados imidazolidínicos foram testados *in vitro*, todos os compostos se mostraram potentes, porém destacou-se o derivado LPSF/PT-5 (1-benzil-4-[(4-cloro-fenil)-hidrazono]-5-tioxo-imidazolidin-2-ona) (Figura 10). O

LPSF/PT-5 se mostrou o mais ativo frente aos vermes de *S. mansoni* na concentração de 58 µM, que foi possível atingir a taxa de mortalidade de 100% após 24h de contato com o verme. Foi possível observar que todos os compostos testados provocaram alterações da superfície do parasito como a formação de bolhas e descamação (PITTA, M.G.R. *et al*., 2006).

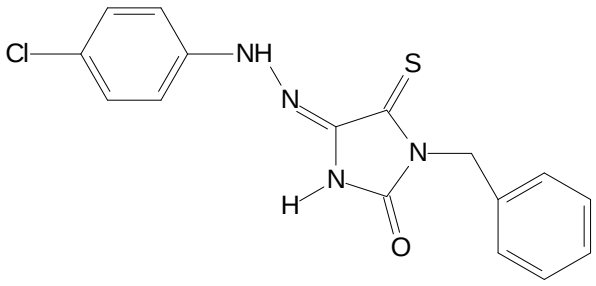


Figura 11: Derivado imidazolidínico LPSF/PT-5 (PITTA *et al*., 2006).

Diante dos bons resultados, o LPSF/PT-5 (Figura 10) foi testado *in vivo* utilizando três formulações diferentes (Tween 80, Emulsão e PEG). A formulação que apresentou melhores resultados foi o LPSF/PT-5 com PEG. Na concentração de 100 mg/Kg administrada por cinco dias, o composto induziu a redução de 70,5% de vermes adultos de *S. mansoni*, com grande diminuição de ovos imaturos e aumento de ovos mortos. As análises histológicas mostraram que o composto formulado com PEG nas concentrações de 10, 30 ou 100 mg/Kg por dia apresentou efeito positivo na redução da lesão hepática causada pelo *S. mansoni* (SILVA *et al*., 2012).

Dois compostos imidazolidínicos foram testados por Neves e colaboradores em 2010, o 5-(4-cloro-benzilideno-3-(4-nitrobenzil)-4-tioxo-imidazolidin-2-ona (LPSF/RZS-2) e o 5-(4-fluoreto-benzilideno-3-(4-nitrobenzil)-4-tioxo-imidazolidin-2-ona (LPSF/RZS-5) ambos apresentaram bons resultados contra *S. mansoni*. Porém, o destaque fica com o composto LPSF/RZS-5 (Figura 11). O composto LPSF/RZS-5 obteve 100% de mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* após 24h de observação na concentração de 640 µM, além de ter sido observada alterações tegumentares com o aparecimento de bolhas, falta de aderência a placa, ausência de ovos e a produção de NO através de células

esplênicas. Os dois compostos após indução produziram óxido nítrico e mostraram um comportamento semelhante ao PZQ (NEVES *et al*., 2010).

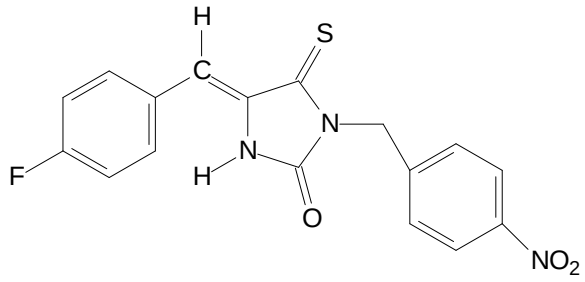


Figura 12: Derivado imidazolidínico LPSF/RZS-5 (NEVES *et al*., 2010)

Neves e colaboradores avaliaram dois compostos imidazolidínicos *in vitro*, dentre eles o LPSF/PT-11 (1-(4-cloro-benzil)-4-[(4-fluoro-fenil)-hidrazono]-5-tioxo-imidazolidin-2-ona) (Figura 12). Nas concentrações de 320, 200 e 100 µM em 24h de observação, o composto provocou mortalidade total dos parasitos. O LPSF/PT-11 se mostrou com baixa citotoxicidade e os testes de ultraestrutura, os parasitos tratados com o composto imidazolidínico apresentaram comportamento corporal similar aos parasitos tratados o PZQ (formação de bolhas, descamação do tegumento, perda dos espinhos do tubérculo, inchaço e alongamento corporal) (NEVES *et al*., 2011).

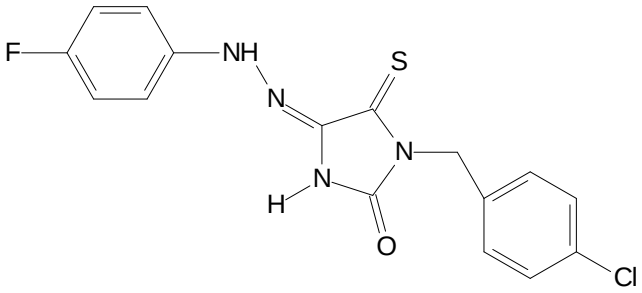


Figura 13: Derivado imidazolidínico LPSF/PT-11 (NEVES *et al*., 2011).

Estes resultados promissores obtidos até hoje, fazem com o que o LPSF/GPIT/UFPE continue a planejar e sintetizar novos derivados imidazolidínicos como candidatos a fármacos esquistossomicidas.

METODOLOGIA

4. METODOLOGIA

4.1 MATERIAIS E MÉTODOS ï ESTUDO QUÍMICO

4.1.1 Materiais, Reagentes e Solventes

Foram utilizados os seguintes reagentes e solventes para obtenção dos compostos imidazolidínicos: cloreto de 4-cloro-benzil, 4-(1-pirrolidinil)-benzaldeído; 4-(4-morfolinil)-benzaldeído; 3,4-dibenzilóxi-benzaldeído,4-(1-piperidinil)-benzaldeído e 4-benzilóxi-benzaldeído, reagente de Lawesson's, morfolina, hidróxido de potássio, metanol, etanol, *n*-hexano, 2,4-dioxano. Para a síntese do composto intermediário foi utilizado gás argônio (Ar) (WHITE MARTINS).

Para todas as sínteses não foi realizado nenhum procedimento prévio de purificação dos reagentes, todos são de procedência da Sigma-Aldrich, Vetec ou Acros, obedecendo às especificações para PA ou PS.

Na cromatografia em camada delgada foram utilizadas placas de sílica gel 60 Merck F_{254}, de 0,25 mm de espessura e na cromatografia em coluna sob pressão foi utilizada a sílica gel 60 Merck (230-400 Mesh).

4.1.2 Equipamentos

As placas de sílica gel para cromatografia em camada delgada foram reveladas em luz ultravioleta (254 ou 365 nm) no aparelho Vilber Lourmat modelo CN15.LC (LPSF/UFPE). As faixas de fusão foram determinadas em aparelho Quimis, modelo 340.27 (LPSF/UFPE). Para a evaporação dos solventes nas reações foi utilizado o Rotaevaporador Fisatom (LPSF/UFPE).

Para elucidação estrutural dos compostos sintetizados utilizamos na espectrofotometria de absorção no Infravermelho (IV), espectrofotômetro FTIR Bruker, modelo IFS66 (DQF/UFPE), em pastilhas de KBr de 1 % e 2 %, com bandas de absorção expressas em cm^{-1}. Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear foram realizados em espectômetro Varian, modelo Unity plus-400 (DQF/UFPE). Os espectros de Massa, MALDI-TOF Autoflex III (Bruker Daltonics, Billerica, MA, USA) Laser Nd: YAG, 255nm, freq. Laser 100 Hz (DQF/UFPE).

4.1.3 Procedimentos experimentais

As sínteses e os dados físico-químicos dos novos derivados imidazolidínicos foram realizadas no Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos, do Departamento de Antibióticos ï CCB/ UFPE. A caracterização estrutural por meio do RMN^{1}H, ^{13}C, IV e espectrometria de Massas foi realizada na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental ï DQF/ UFPE.

4.1.3.1 Diagrama geral de síntese

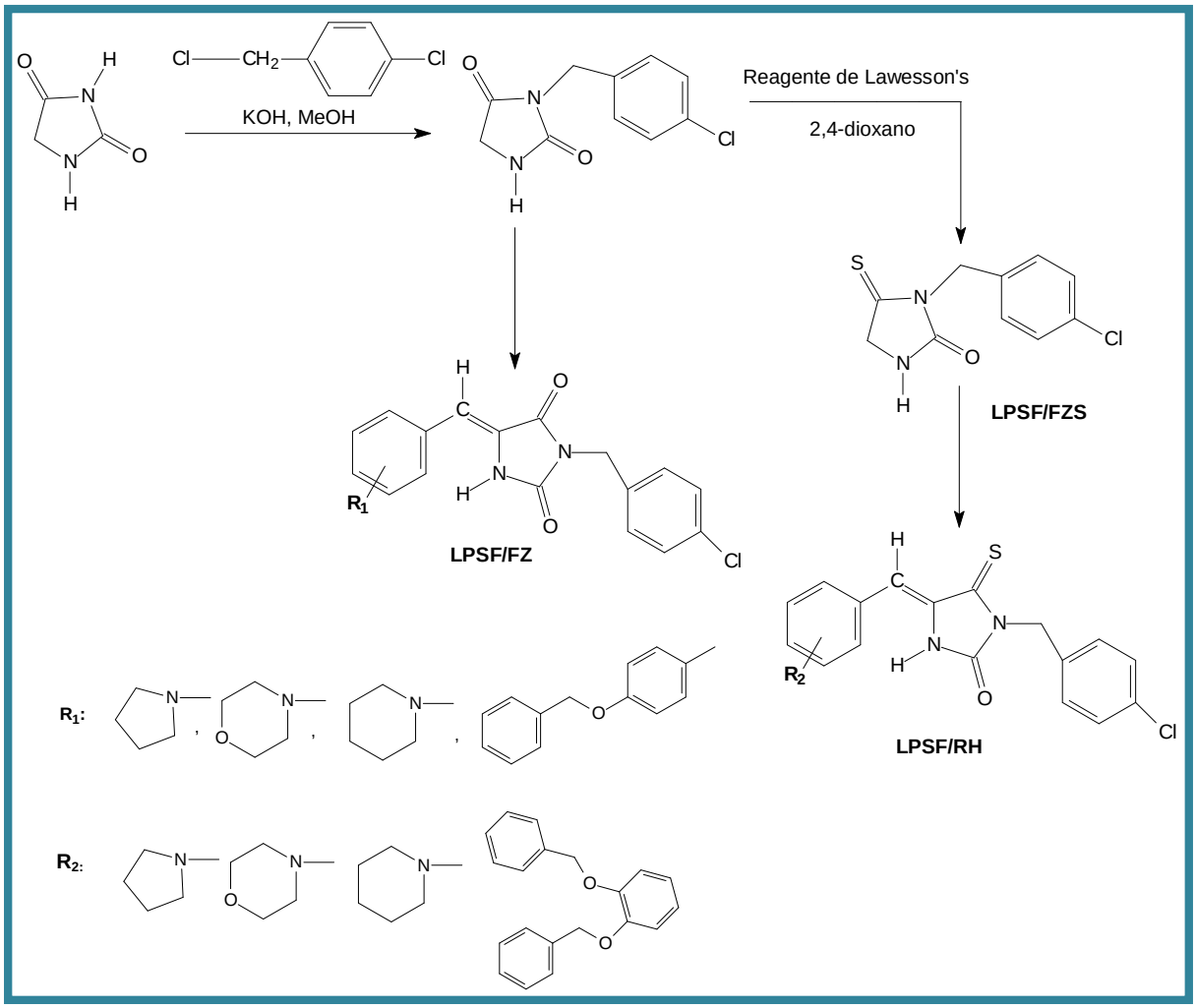


Figura 14: Rota de síntese dos derivados imidazoldínicos das séries LPSF/FZ e LPSF/RH.

4.1.3.2 Síntese do derivado intermediário 3-(4-cloro-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (LPSF/FZ-1)

Em um balão de fundo redondo foram adicionadas quantidades equimolares de imidazolidina-2,4-diona (1), cloreto de benzila (2) e hidróxido de potássio dissolvido em metanol. A reação foi aquecida a uma temperatura de 60-70 ºC por 24 horas. Em seguida, gelo foi adicionado à reação para precipitação do produto. Para a purificação do mesmo, lavou-o com metanol, levando à formação da 3-cloro-benzil-imidazolidina-2,4-diona (LPSF/FZ-1) (3) (Figura 14).

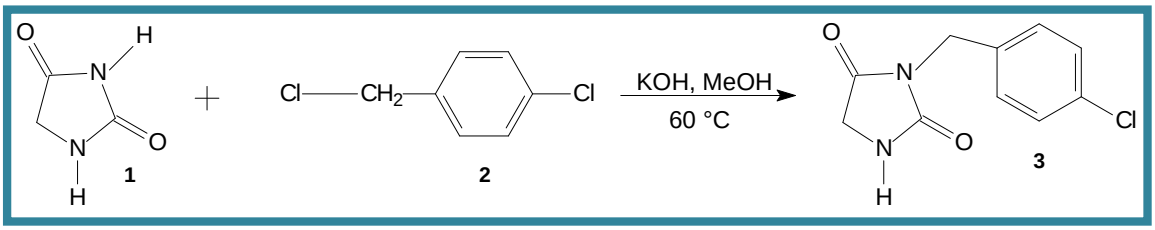


Figura 15: Síntese do derivado intermediário LPSF/FZ-1**.**

4.1.3.3 Síntese do derivado intermediário 3-(4-cloro-benzil)-4-tioxo-imidazolidin-2-ona (LPSF/FZS-1)

Em um balão de fundo redondo foram adicionadas quantidades equimolares da 3-benzil-imidazolidina-2,4-diona (LPSF/FZ-1) (3), o reativo de Lawessonôs (4) e o 1,4-dioxano, sob agitação e atmosfera de Argônio (Ar) a uma temperatura de 90 ºC. Após o período de 24 horas, rotaevapora-se a reação e o produto foi levado para a geladeira.

Depois de 24h, purifica-se a reação com *n*-hexano e metanol à quente, levando novamente a geladeira para precipitação do produto, levando a formação da 3-cloro-benzil-4-tioxo-imidazolidin-2-ona (LPSF/FZS-1) (5) (Figura 15).

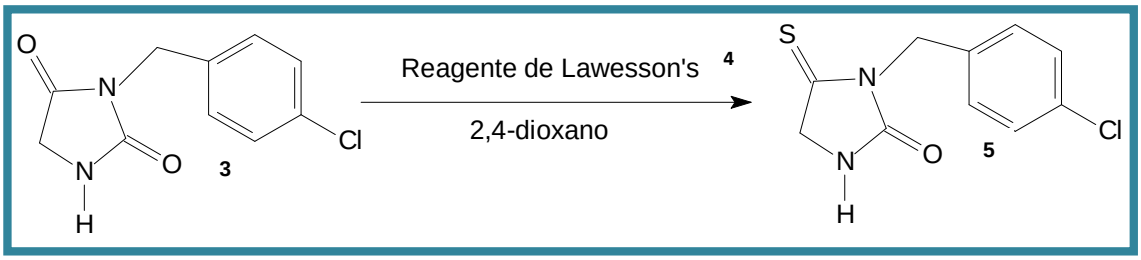


Figura 16: Síntese do derivado intermediário LPSF/FZS-1.

4.1.3.4 Síntese dos derivados finais 5-benzilideno-3-(4-cloro-benzil)-imidazolidina-2,4-diona (LPSF/FZ)

Em um balão de fundo redondo foram adicionadas quantidades equimolares da 3-benzil-imidazolidina-2,4-diona (LPSF/FZ-1) (3), os benzaldeídos substituídos (6), a morfolina e etanol sob agitação a uma temperatura de 60 ºC por 10 minutos. O produto obtido foi filtrado ainda quente e lavado com etanol, levando a formação de 5 novos derivados da série 5-benzilideno-3-benzil-imidazolidina-2,4-diona (LPSF/FZ) (Figura 16).

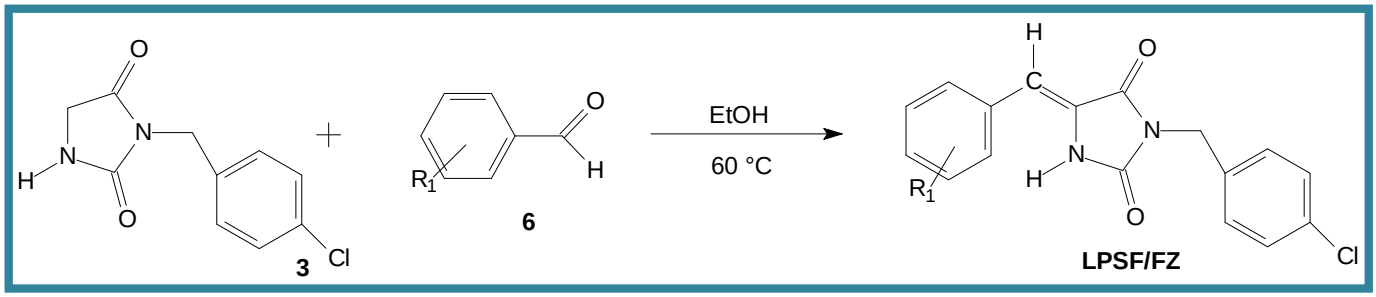


Figura 17: Síntese dos derivados finais da série LPSF/FZ**.**

4.1.3.5 Síntese dos derivados finais 5-benzilideno-3-(4-cloro-benzil)-4-tioxo-imidazolidin-2-ona (LPSF/RH)

Em um balão de fundo redondo foram adicionadas quantidades equimolares da 3-benzil-imidazolidina-2,4-diona (LPSF/FZS-1) (5), os benzaldeídos substituídos (6), a morfolina e etanol sob agitação a uma temperatura de 60 ºC por 10 minutos. O produto obtido foi filtrado ainda quente e lavado com etanol (Figura 17).

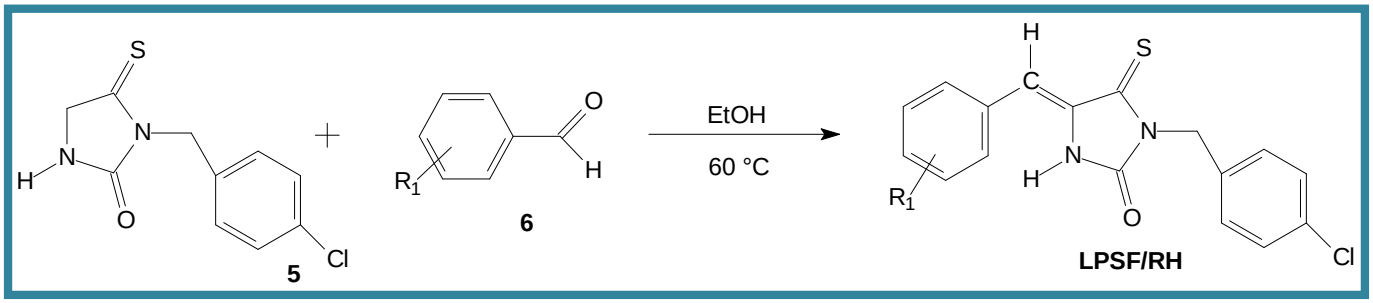


Figura 18: Síntese dos derivados finais da série LPSF/RH.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS ï ESTUDO BIOLÓGICO

4.2.1 Animais

Foram utilizados camundongos machos com 30 dias de idade, albinos suíços (*Mus musculus*) mantidos no Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM ï FIOCRUZ/Recife), em gaiolas individuais, sob condições padronizadas de temperatura, luminosidade e alimentação. A utilização desses animais no presente trabalho foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-FIOCRUZ) sob licença nº 38/2012.

As cercárias (Cepas LE) de *S. mansoni* foram obtidas por meio do setor de Malacologia do Laboratório de Esquistossomose e do Serviço de Referência em Esquistossomose do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM).

Os vermes adultos de *S. mansoni* foram obtidos do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM - FIOCRUZ) após realização da perfusão dos camundongos infectados.

4.2.2 Materiais e Equipamentos

→Câmara de fluxo;

→Equipamento de perfusão;

→Microscópio óptico invertido;

→Placas de Petri e placas de cultura com 24 poços;

→Anestésicos: cloridrato de xilasina (Bayer) e cloridrato de ketamina (Agener União);

→Solução salina obtida a partir de cloreto de sódio, citrato de sódio e água destilada;

→Pipeta graduada, tubos de falcon, seringa, ponteiras, álcool 70% e matérias cirúrgicos todos esterilizados;

→Praziquantel (2-ciclohexilcarbonil-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4*H*-pirazino{2,1-a}isoquinolina-4-ona) (PZQ) (Sigma-Aldrich) como fármaco controle nos experimentos;

→Meio RPMI 1640 (Sigma-Aldrich) completo suplementado com penicilina, estreptomicina e soro bovino fetal;

→Dimetilsulfóxido (DMSO) (Sigma-Aldrich);

→Derivados imidazolidínicos.

4.2.3 Procedimentos experimentais

4.2.3.1 Avaliação da viabilidade celular dos derivados imidazolidínicos

Células de linhagem macrofágica J774 gerada em camundongos (1 x 10^5 células/poço), foram cultivadas em placas de 96 poços de fundo plano, contendo meio de cultura RPMI completo. Para o ensaio de citotoxicidade, as células foram incubadas com os compostos em seis concentrações (100, 80, 40, 20, 10 e 5 µg/ml). Como controle positivo, foi utilizado Violeta de Genciana (10 µg/ml ou 20 µM) e PZQ. O controle negativo foi composto por células J774 contendo apenas meio RPMI completo e DMSO. As células foram incubadas, durante 72 horas, em estufa de CO_2 (5 %), a 37ºC. Cada composto foi testado em triplicata. Em seguida, foi adicionado meio RPMI sem fenol red e 10 % de AlamarBlue. E foi realizada uma leitura da placa em espectrofotômetro (570 nm; 600 nm). (KEENAN et al, 2012; ROMANHA et al, 2010; BECERRA et al, 2012).

4.2.3.2 Infecção por *Schistosoma mansoni*

Após 15 dias do recebimento dos camundongos, os animais foram infectados por via percutânea, utilizando cerca de 120 cercárias (Cepa LE ï Belo Horizonte), oriundas de *Biomphalaria glabrata*, para cada animal. Após 45 dias de infecção, foi realizado exame parasitológico das fezes dos camundongos para avaliar a positividade da infecção (HOFFMAN; PONS; JANER, 1934).

4.2.3.3 Perfusão do sistema porta para recuperação de vermes adultos de *Schistosoma mansoni*

Os camundongos foram submetidos a eutanásia após 55 dias de infecção. Os animais foram anestesiados por via intraperitoneal com cloridrato de ketamina (100-200 mg/Kg) associada a cloridrato de xilasina (5-16 mg/Kg). Após anestesia, os animais foram submetidos à perfusão do sistema porta hepático para a recuperação dos vermes, os quais foram separados em placas de petri contendo meio RPMI-1640 e em seguida os parasitos foram contados e classificados, de acordo com o sexo e vitalidade (DUVAL & DEWITT, 1967).

4.2.3.4 Avaliação da suscetibilidade *in vitro* de vermes adultos de *Schistosoma mansoni* frente aos derivados imidazolidínicos

Os parasitos foram removidos dos camundongos infectados e posteriormente 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 % em uma placa de petri. Após a lavagem os vermes adultos foram transferidos para placas de cultura de tecidos contendo 2 mL de meio RPMI-1640 completo.

Para cada concentração foram utilizados 3 poços da placa de cultura e foram acrescidos a cada poço 4 vermes (4 machos, 4 fêmeas e 2 casais, respectivamente), em seguida foram incubados a 37ºC, em atmosfera úmida contendo 5 % de CO_2. Após o período de 2 horas de adaptação ao meio, os derivados imidazolidínicos foram adicionados nas concentrações de 100 µg/mL, 80 µg/mL, 40 µg/mL e 20 µg/mL, 10 µg/mL e 5 µg/mL. Para esta atividade esquistossomicida *in vitro* foram testados os derivados imidazolidínicos LPSF/FZ-20, LPSF/FZ-21, LPSF/FZ-24, LPSF/RH-38, LPSF/RH-39, LPSF/RH-40 e LPSF/RH-41. Utilizou-se o praziquantel como controle positivo dos experimentos. Os parasitos foram mantidos em cultura por 6 dias sendo monitorados a cada 24 horas e observados no microscópio óptico invertido (BestScope BS-2090) para avaliação da atividade motora e da taxa de mortalidade. Para confirmação dos resultados todos os testes foram realizados em duplicata.

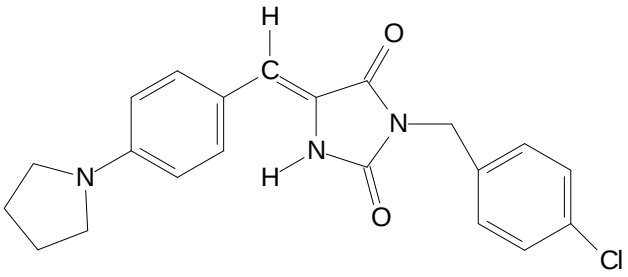
RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDO QUÍMICO

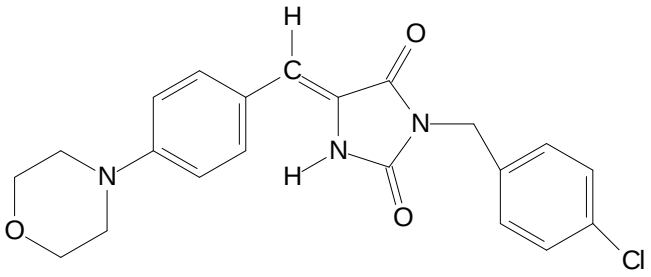
5.1.1 Características físico-químicas e espectroscópicas dos compostos imidazolidínicos sintetizados

5.1.1.1 (*Z*)-3-(4-cloro-benzil)-5-(4-(pirrolidin-1-il-benzllideno)-imidazolidina-2,4-diona) - LPSF/FZ-20



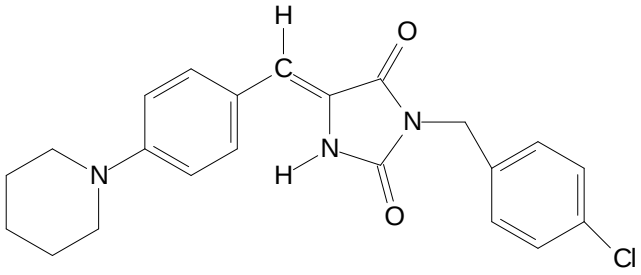
Fórmula molecular: $C_{21}H_{20}O_2N_3Cl$; Massa molar: 381,8554 g/mol; Faixa de fusão: 232-234°C; Rendimento: 48,67%; Razão de frente: 0,56 sistema *n*-hex/ AcOEt 6:4; IV (KBr, cm^{-1}): 1606, 1705, 1749, 3205. RMN^{1}H 400 MHz (d ppm, DMSO-d_6): ŭ: 1.96 (t, 4H, *J*= 6,4 Hz, pirrolidina), 3.29 (t, 4H, *J*= 6,4 Hz, pirrolidina), 4.65 (s, 2H, CH_2 benzil), 6.50 (s, 1H, HC=), 6.55 (d, 2H, *J*= 8,4 Hz, benzil), 7.31 (d, 2H, *J*= 8,4 Hz, benzilideno), 7.40 (d, 2H, *J*= 8,4 Hz, benzilideno), 7.50 (d, 2H,*J*= 8,4 Hz, benzil), 10.51 (s, 1H, NH). RMN^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): 24.78, 40.43, 47.09, 111.64, 119.21, 121.58, 128.38, 129.19, 131.28, 131.93, 135.66, 147.81, 154.50, 163.84. $[M+H]^+$: calculado= 381.124; encontrado= 382.134.

5.1.1.2 (*Z*)-3-(4-cloro-benzil)-5-(4-morfolino-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona) - LPSF/FZ-21



Fórmula molecular: $C_{21}H_{20}O_3N_3Cl$; Massa molecular: 397,8548 g/mol; Faixa de fusão: 260-262°C; Rendimento: 42,22%; Razão de frente: 0,54 sistema *n*-hex/ AcOEt 7:3; IV (KBr, cm^{-1}): 1598, 1710, 1743, 3258. RMN^{1}H 400 MHz (d ppm, DMSO-d_6): ŭ: 3.21 (t, 4H, J_1= 4,8 Hz, J_2=4,8 Hz, morfolinil), 3.73 (t, 4H, J_1= 4,5 Hz, J_2= 5,1 Hz, morfolinil), 4.65 (s, 2H, CH_2 benzil), 6.51 (s, 1H, HC=), 6.95 (d, 2H,*J*= 9 Hz, benzil), 7.31 (d, 2H, *J*= 8,4 Hz, benzilideno), 7.41 (d, 2H, *J*= 8,4 Hz, benzilideno), 7.56 (d, 2H, *J*= 9,3 Hz, benzil), 10.71 (s, 1H, NH). $[M+H]^+$: calculado= 397.119; encontrado= 398.129.

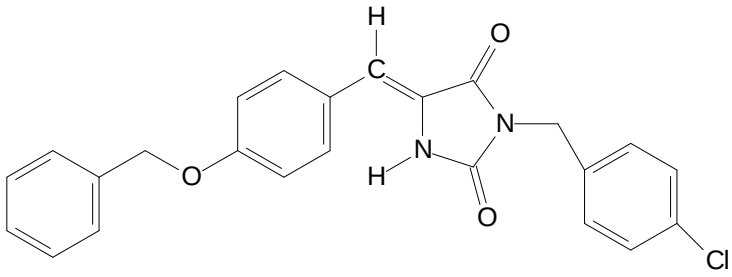
5.1.1.3 (*Z*)-3-(4-cloro-benzil)-5-(4-piperdin-1-il-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona) - LPSF/FZ-22



Fórmula molecular: $C_{22}H_{22}O_2N_3Cl$; Massa molecular: 395,8820 g/mol; Faixa de fusão: 241-243°C; Rendimento: 62,21%; Razão de frente: 0,48 sistema *n*-hex/ AcOEt 7:3; IV (KBr, cm^{-1}): 1598, 1707, 1751, 2936, 3326. RMN ^{1}H 400 MHz (d ppm, DMSO-d_6) ŭ: 1.57 (s, 4H, piperidinil), 3.26 (s, 4H, piperidinil), 3.32 (s, 2H, piperidinil), 4.65 (s, 2H, CH_2 benzil), 6.50 (s, 1H, C=H), 6.91 (d, 2H, *J*= 6,0 Hz, benzil), 7.32 (d, 2H, *J*= 4,4 Hz, benzilideno), 7.40 (d, 2H, *J*= 4,8 Hz, benzilideno), 7.51 (d, 2H, *J*= 5,6 Hz, benzil), 10.64 (s, 1H, NH). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6)

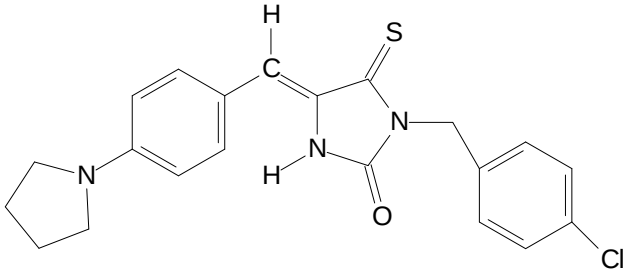
ŭ: 23.89, 24.92, 40.55, 48.20, 111.63, 114.48, 121.54, 122.83, 128.50, 129.31, 131.14, 132.05, 135.68, 151.13, 154.65, 163.95.

5.1.1.4 (*Z*)-3-(4-cloro-benzil)-5-(4-benzilóxi-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona) - LPSF/FZ-24



Fórmula molecular: $C_{24}H_{19}O_3N_2Cl$; Massa molecular: 418,8723 g/mol; Faixa de fusão: 183-185°C; Rendimento: 29,97%; Razão de frente: 0,58 sistema AcOEt/ *n*-hex 8:2; IV (KBr, cm^{-1}): 1177, 1599, 1729, 3245. RMN ^{1}H 400 MHz (d ppm, DMSO-d_6) ŭ: 5.04 (s, 2H, N-CH_2), 5,17 (s, 2H, CH_2-O), 7.03 (s, 1H, =CH), 7.07 (d, 2H, *J*= 7,6 Hz, benzil), 7.35 (d, 2H, *J*= 7,6 Hz, benzilideno), 7.40-7.38 (m, 5H, benzilóxi), 7.46 (d, 2H, *J*= 7,6 Hz, benzilideno), 7.69 (d, 2H, *J*= 8 Hz, benzil), 11.23 (s, 1H, NH).

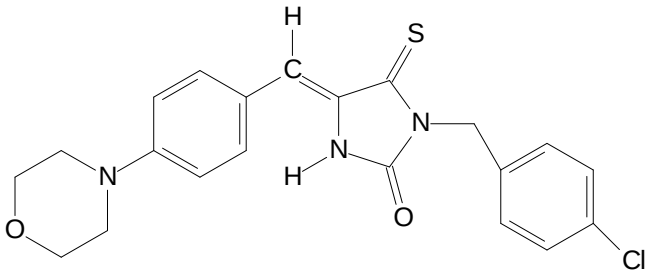
5.1.1.5 (*Z*)-1-(4-cloro-benzil)-4-(4-pirrolidin-1-il-benzilideno)-5-tioxo-imidazolidin-2-ona) - LPSF/RH-38



Fórmula molecular: $C_{21}H_{20}O_1N_3Cl_1S_1$; Massa molecular: 397,9210 g/mol; Faixa de fusão: 245°C; Rendimento: 66,15%; Razão de frente: 0,57 sistema AcOEt/ *n*-hex 7:3; IV (pastilha KBr, v cm^{-1}): 1731; 1597; 1155; RMN^{1}H 400 MHz (d ppm, DMSO- d_6), ŭ: 1.962 - 1.995 (t, 4H, pirrolidina, *J* = 6,4 Hz), 3.315 ï 3.347 (t, 4H, pirrolidina, *J* = 6,4 Hz), 5,05 (s, 2H, -CH=), 6.583 ï 6.606 (d, 2H, benzil, *J* = 8,8

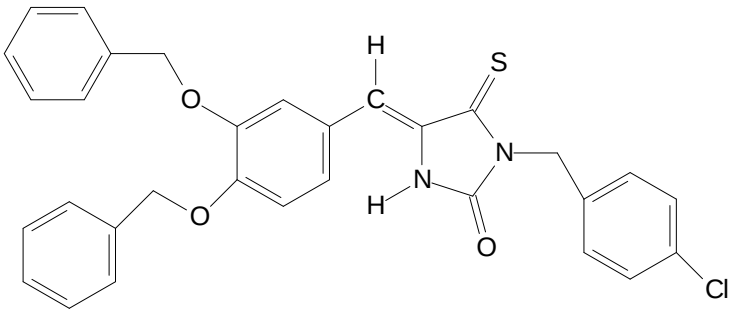
Hz), 7.05 (s, 1H, -CH=), 7.37 (dd, 4H, CH), 7.59 (d, 2H, *J* = 8,8, benzil), 10, 97 (s, 1H, N-H).

5.1.1.6 (*Z*)-1-(4-cloro-benzil)-4-(4-morfolino-benzilideno)-5-tioxo-imidazolidin-2-ona) - LPSF/RH-39



Fórmula molecular: $C_{21}H_{20}O_2N_3Cl_1S_1$; Massa molecular: 413,9204 g/mol; Faixa de fusão: 270°C; Rendimento: 60 %; Razão de frente: 0,58 sistema AcOEt/ *n*-hex 6:4; IV (pastilha KBr, ɜ cm^{-1}): 1739; 1597, 1118; RMN^{1}H (400 MHz, DMSO), ŭ: 3.28 (m, 4H, morfolinil), 3.726 ï 3.750 (t, 4H, morfolinil, *J* = 4,8), 5.05 (s, 2H, -CH_2-); 6,97 (d, 2H, J = 8,8 Hz, benzil) 7.02 (s, 1H, -CH=), 7.37 (dd, 4H, J = 8,4 Hz, benzilideno), 7,62 (d, 2H, J = 8,8 Hz, benzil), 11,08 (s, 1H, N-H); RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO-d_6): ŭ: 187.5, 155.4, 151.36, 134.68, 131.8, 130.7, 129.4, 128.3, 122.6, 117, 114, 65.7, 46.8, 44.2, 40.1.

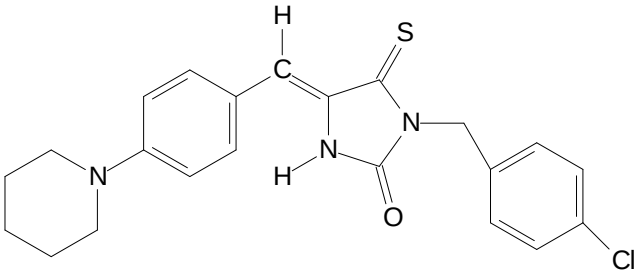
5.1.1.7 (*Z*)-1-(4-cloro-benzil)-4-(4-bis-benzilóxi-1-il-benzilideno)-5-tioxo-imidazolidin-2-ona) - LPSF/RH-40



Fórmula molecular: $C_{31}H_{25}O_3N_2ClS$; Massa molecular: 541,0598 g/mol; Faixa de fusão: 199°C; Rendimento: 40%; Razão de frente: 0,48 sistema *n*-hex/AcOEt 6:4; IV (pastilha KBr, ɜ cm^{-1}): 1737.56, 3400. RMN ^{1}H 400 MHz (d ppm, DMSO-

d_6) ŭ: 5.05 (s, 2H, CH_2), 5.21 (s, 2H, CH_2), 5.23 (s, 2H, CH_2), 7.01 (s, 1H, -CH=), 7.12 (d, 1H, J= 8.4Hz, benzilideno), 7.30 ï 7.48 (m, 5H, fenil), 7.30 ï 7.48 (m, 5H, fenil), 7.30 ï 7.48 (m, 2H, benzilideno), 7.33 (d, 2H, J= 8Hz, benzil), 7.38 (d, 2H, J= 8Hz, benzil).

5.1.1.8 (*Z*)-1-(4-cloro-benzil)-4-(4-piperidin-1-il-benzilideno)-5-tioxo-imidazolidin-2-ona) -LPSF/RH-41



Fórmula molecular: $C_{22}H_{22}ON_3ClS$; Massa molecular: 411,9476 g/mol; Faixa de fusão: 248-250°C; Rendimento: 74,17%; Razão de frente: 0,561 sistema AcOEt/ *n*-hex 7:3; IV (KBr, cm^{-1}): 1155, 1597, 1739, 3240. RMN ^{1}H 400 MHz (d ppm, DMSO-d_6) ŭ: 3.26 (m, 4H, morfolinil), 3.73 (t, 4H, *J*= 4,8 Hz, morfolinil), 5.05 (s, 2H, CH_2 benzil), 6.97 (d, 2H, *J*= 8,8 Hz, benzil), 7.02 (s, 1H, =CH), 7.37 (dd, 4H, *J*= 8,4 Hz, benzilideno), 7.62 (d, 2H, *J*= 8,8 Hz, benzil), 11.08 (s, 1H, NH) RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) ŭ: 46.87, 65.76, 114.05, 117.01, 122.65, 128.31, 129.41, 130.71, 131.83, 134.68, 151.36, 155.43, 187.75. $[M+H]^+$: calculado= 412.082; encontrado= 413.096.

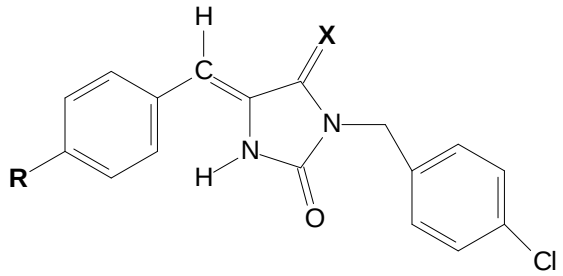
5.2 ESTUDO BIOLÓGICO

5.2.1 Avaliação da citotoxicidade em macrófagos J774 dos derivados imidazolidínicos

Os derivados imidazolidínicos LPSF/FZ-20, LPSF/FZ-21 e LPSF/FZ-22 se mostraram citotóxicos para a linhagem de macrófagos J774, apresentando um IC_{50} de 6,87 µM; 3,28 µM e 6,7 µM, respectivamente. Os demais derivados imidazolidínicos (LPSF/FZ-24, LPSF/RH-38, LPSF/RH-39, LPSF/RH-40 e

LPSF/RH-41) apresentaram-se com baixa citotoxicidade com IC_{50} de 50,29 µM a >100 µM para a linhagem de macrófagos J774 quando comparados com os controles positivos, o PZQ (<1,0µM) e o Violeta de genciana (<1,0µM) (Tabela 1).

Tabela 1: Citotoxicidade dos derivados imidazolidínicos das séries LPSF/FZ e LPSF/RH testados frente à células de linhagem macrofágica J774.



COMPOSTO	X	R	IC_{50} (µM)
LPSF/FZ-20	O	pirrolidinil	6.87 ± 3.42
LPSF/FZ-21	O	morfolinil	3.28 ± 0.11
LPSF/FZ-22	O	piperidinil	6.7 ± 2.7
LPSF/FZ-24	O	benzilóxi	>100,0
LPSF/RH-38	S	pirrolidinil	50.29 ± 0.29
LPSF/RH-39	S	morfolinil	>100
LPSF/RH-40	S	bis-benzilóxi	>100
LPSF/RH-41	S	piperidinil	>100
PZQ	-	-	<1,0
VG	-	-	<1,0

PZQ: Praziquantel, VG: Violeta de Genciana

5.2.2 Avaliação da suscetibilidade *in vitro* de vermes adultos de *Schistosoma mansoni* frente aos derivados imidazolidínicos

5.2.3.1 Mortalidade dos parasitos

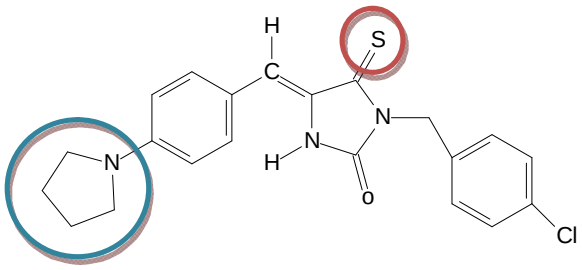
Os derivados imidazolidínicos que apresentaram uma maior taxa de mortalidade frente a vermes adultos de *S. mansoni* foram os da série LPSF/RH e o derivado LPSF/RH-38 na dose de 100 εg/mL apresentou no último dia de

observação (144 horas) uma taxa de mortalidade de 100%. Os demais derivados desta série, o LPSF/RH-39, LPSF/RH-40 e LPSF/RH-41 apresentaram no último dia de observação, uma taxa de mortalidade de 50% na concentração de 100 ε g/mL, 83,33% nas concentrações de 80 e 10 ε g/mL e 75% na concentração de 80 ε g/mL, respectivamente.

Os derivados da série LPSF/FZ (LPSF/FZ-20, LPSF/FZ-21 e LPSF/FZ-24) apresentaram no último dia de observação, uma taxa de mortalidade de 25% na concentração de 40 ε g/mL, 16,66% na concentração de 80 ε g/mL e 20 ε g/mL e 16,66% nas concentrações de 40 ε g/mL e 20 ε g/mL, respectivamente.

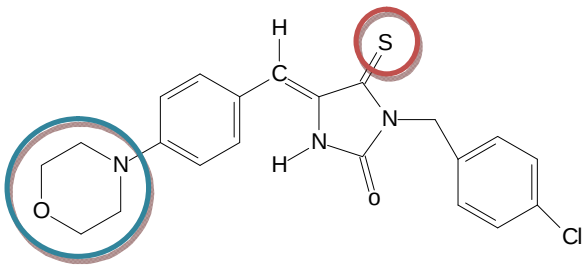
Junto à motilidade, ainda foi avaliado os seguintes parâmetros: capacidade de pareamento dos casais, aderências das ventosas a placa de cultura e capacidade de oviposição.

Tabela 2: Mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* tratados com o derivado imidazolidínico LPSF/RH-38



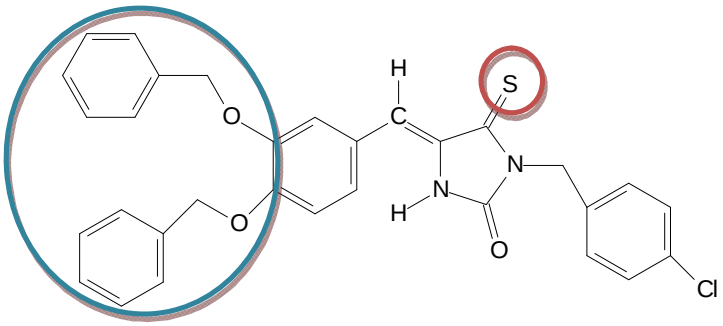
Composto	Tempo	Concentração ($\mu g.mL^{-1}$)						Observação (Vermes)
		100	80	40	20	10	5	
		Mortalidade (%)						
LPSF/RH-38	24h	16,66	8,33	0	0	0	0	Incapacidade de pareamento; Ventosas não aderentes; Ausência de ovos;
	48h	33,33	16,66	0	0	0	0	
	72h	41,66	25	8,33	0	0	0	
	96h	66,66	33,33	16,66	0	0	0	
	120h	91,16	33,33	25	0	0	0	
	144h	100	58,33	50	16,66	0	0	

Tabela 3: Mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* tratados com o derivado imidazolidínico LPSF/RH-39



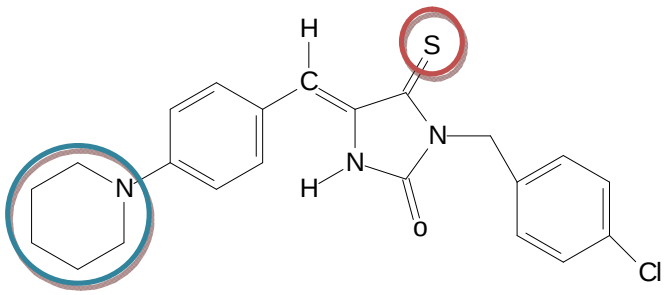
Composto	Tempo	Concentração (µg.mL^{-1})						Observação (Vermes)
		100	80	40	20	10	5	
		Mortalidade (%)						
LPSF/RH-39	24h	0	0	0	0	0	0	Incapacidade de pareamento; Ventosas não aderentes; Ausência de ovos;
	48h	8,33	0	0	0	0	0	
	72h	33,33	8,33	0	0	0	8,33	
	96h	41,66	8,33	0	0	0	8,33	
	120h	50	41,66	0	8,33	16,66	33,33	
	144h	50	50	0	16,66	16,66	41,66	

Tabela 4: Mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* tratados com o derivado imidazolidínico LPSF/RH-40



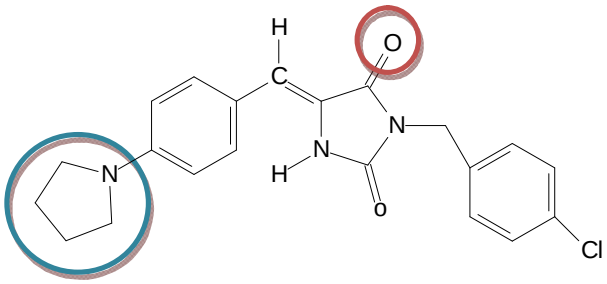
Composto	Tempo	Concentração (µg.mL^{-1})						Observação (Vermes)
		100	80	40	20	10	5	
		Mortalidade (%)						
LPSF/RH-40	24h	0	33,33	0	0	66,66	33,33	Incapacidade de pareamento; Ventosas não aderentes; Ausência de ovos;
	48h	0	33,33	0	0	66,66	33,33	
	72h	0	33,33	0	0	66,66	33,33	
	96h	0	33,33	0	0	66,66	33,33	
	120h	8,33	83,33	16,66	0	66,66	50	
	144h	33,33	83,33	33,33	33,33	83,33	50	

Tabela 5: Mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* tratados com o derivado imidazolidínico LPSF/RH-41.



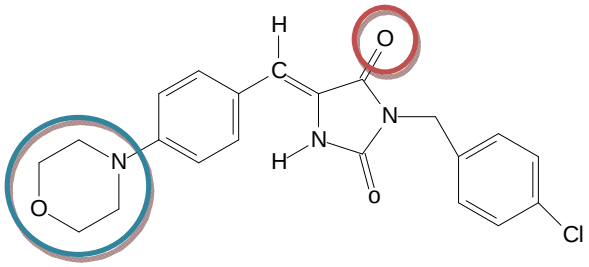
Composto	Tempo	Concentração (µg.mL^{-1})						Observação (Vermes)
		100	80	40	20	10	5	
		Mortalidade (%)						
LPSF/RH-41	24h	0	33,33	0	0	0	0	Incapacidade de pareamento; Ventosas não aderentes; Ausência de ovos;
	48h	0	33,33	0	0	0	0	
	72h	0	66,66	0	0	0	0	
	96h	8,33	75	8,33	0	0	0	
	120h	8,33	75	8,33	0	0	0	
	144h	16,66	75	8,33	0	0	0	

Tabela 6: Mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* tratados com o derivado imidazolidínico LPSF/FZ-20.



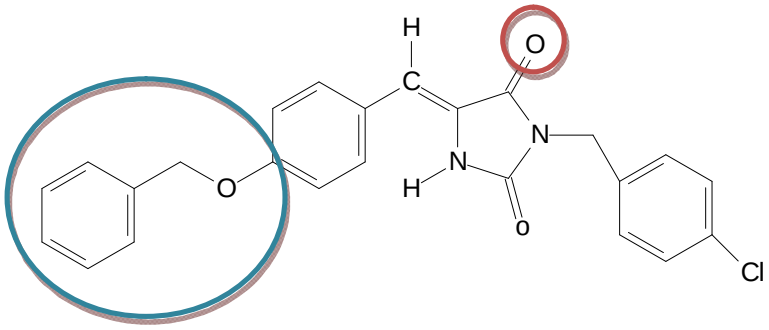
Composto	Tempo	Concentração (µg.mL^{-1})						Observação (Vermes)
		100	80	40	20	10	5	
		Mortalidade (%)						
LPSF/FZ-20	24h	0	0	0	0	0	0	Pareamento dos vermes; Ventosas aderentes; Presença de ovos;
	48h	0	0	0	0	0	0	
	72h	0	0	0	16,66	0	0	
	96h	0	0	0	16,66	16,66	8,33	
	120h	16,66	0	0	16,66	16,66	8,33	
	144h	16,66	0	25	16,66	16,66	8,33	

Tabela 7: Mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* tratados com o derivado imidazolidínico LPSF/FZ-21.



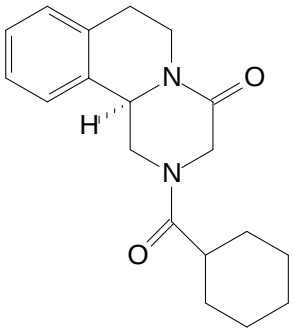
Composto	Tempo	Concentração (µg.mL^{-1})						Observação (Vermes)
		100	80	40	20	10	5	
		Mortalidade (%)						
LPSF/FZ-21	24h	0	0	0	0	0	0	Pareamento dos vermes; Ventosas aderentes; Presença de ovos;
	48h	0	8,33	0	0	0	0	
	72h	0	8,33	0	0	0	0	
	96h	0	8,33	0	8,33	0	0	
	120h	0	16,66	0	8,33	0	8,33	
	144h	0	16,66	0	16,66	8,33	8,33	

Tabela 8: Mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* tratados com o derivado imidazolidínico LPSF/FZ-24.



Composto	Tempo	Concentração (µg.mL^{-1})						Observação (Vermes)
		100	80	40	20	10	5	
		Mortalidade (%)						
LPSF/FZ-24	24h	0	0	0	0	0	0	Pareamento dos vermes; Ventosas aderentes; Presença de ovos;
	48h	0	0	0	0	0	0	
	72h	0	0	0	0	0	0	
	96h	0	0	0	0	0	0	
	120h	0	0	8,33	16,66	0	0	
	144h	0	8,33	16,66	16,66	0	0	

Tabela 9: Mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni* tratados com o PZQ.



Composto	Tempo	Concentração ($\mu g.mL^{-1}$)						Observação (Vermes)
		100	80	40	20	10	5	
		Mortalidade (%)						
PZQ	24h	100	100	100	100	100	100	Incapacidade de pareamento; Ventosas não aderentes; Ausência de ovos;
	48h	100	100	100	100	100	100	
	72h	100	100	100	100	100	100	
	96h	100	100	100	100	100	100	
	120h	100	100	100	100	100	100	
	144h	100	100	100	100	100	100	

5.2.2.2 Motilidade dos parasitos

Os vermes adultos de *S. mansoni* expostos aos derivados imidazolidínicos e ao PZQ (controle positivo) foram observados por um período de 6 dias (144 h) quanto aos seus movimentos, obedecendo aos critérios criados por Horiuchi (2005), utilizando pontuações (0; 1,5 e 3) para cada movimento analisado.

- Pontuação 3: Vermes ativos, movimentos corporais normais do parasito;
- Pontuação 1,5: Vermes lentos a muito lentos, retardamento dos movimentos corporais, podendo apresentar apenas movimentos cefálicos do parasito;
- Pontuação 0: Vermes imóveis/mortos, ausência total dos movimentos corporal e cefálico do parasito.

O derivado imidazolidínico LPSF/RH-38 foi o composto que apresentou uma melhor resposta esquistossomicida. Os parasitos apresentaram ausência total (100%) de seus movimentos (pontuação 0) no 6º dia de observação na dose de 100 µg/mL. Nas doses de 80 µg/mL e 40 µg/mL, houve uma diminuição

expressiva dos movimentos dos parasitos de 58,33% e 50%, respectivamente. Nas doses de 20 µg/mL, 10 µg/mL e 5 µg/mL, os vermes em sua maioria, apresentaram-se com movimentos lentos a muito lentos (pontuação 1,5) (Tabela 11).

Os parasitos expostos aos demais derivados da série LPSF/RH (LPSF/RH-39, LPSF/RH-40 e LPSF/RH-41) no 6º dia de observação, apresentaram ausência total de seus movimentos (pontuação 0) com 50% nas doses de 100 µg/mL e 80 µg/mL (Tabela 12), 83,33% nas doses de 80 µg/mL e 10 µg/mL (Tabela 13) e 75% na dose de 80 µg/mL (Tabela 14), respectivamente. Além disso, esses derivados da série LPSF/RH foram capazes de acarretar contração na musculatura dos parasitos.

Os parasitos expostos com os derivados imidazolidínicos da série LPSF/FZ (LPSF/FZ-20, LPSF/FZ-21 e LPSF/FZ-24) apresentaram movimentos lentos a muito lentos (pontuação 1,5), com taxa de motilidade de 75% na dose de 40 µg/mL (Tabela 15), 75% na dose de 80 µg/mL (Tabela 16) e 83,33% nas doses de 40, 80 e 100 µg/mL, respectivamente, no último dia de observação (Tabela 17).

Entretanto, os parasitos em contato com o PZQ (controle positivo), apresentaram ausência total de seus movimentos (pontuação 0), logo nas primeiras 24h de observação (Tabela 10).

Tabela 10: Pontuação da motilidade de vermes adultos de *S. mansoni* submetidos ao tratamento com o controle negativo (DMSO) e PZQ.

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 3ε g/mL	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100

Tabela 11: Pontuação da motilidade de vermes adultos de *S. mansoni* submetidos ao tratamento com o derivado imidazolidínico LPSF/RH-38.

Grupo	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/RH-38																		
100ε g/mL	8.3	75	16.6	8,3	58,3	33,3	0	58.3	41,6	0	33,3	66,6	0	8,3	91,6	0	0	100
80ε g/mL	8.3	83.3	8,3	8,3	75	16,6	8,3	66,6	25	0	58,3	41,6	0	58,3	41,6	0	41,6	58,3
40ε g/mL	33,3	66,6	0	33,3	66,6	0	16,6	75	8,3	0	83,3	16,6	0	75	25	0	50	50
20ε g/mL	83,3	16,6	0	75	25	0	41,6	58,3	0	25	75	0	8,3	91,6	0	0	83,3	16,6
10ε g/mL	75	25	0	66,6	33,3	0	50	50	0	8,3	91,6	0	8.3	91,6	0	8,33	91,6	0
5ε g/mL	58,3	41,6	0	58,3	41,6	0	58,3	41,6	0	50	50	0	50	50	0	33,3	66,6	0

Tabela 12: Pontuação da motilidade de vermes adultos de *S. mansoni* submetidos ao tratamento com o derivado imidazolidínico LPSF/RH-39.

Grupos	Percentagem da motilidade dos vermes (%) após incubação																	
	24 h			48 h			72 h			96 h			120 h			144h		
	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/RH-39																		
100 ε g/mL	33,3	66,6	0	16,6	75	8,3	16,6	50	33,3	8,3	50	41,6	0	50	50	0	50	50
80 ε g/mL	41,6	58,3	0	58,3	41,6	0	33,3	58,3	8,3	8,3	83,3	8,3	0	58,3	41,6	0	50	50
40 ε g/mL	75	25	0	50	50	0	25	75	0	25	75	0	0	100	0	0	100	0
20 ε g/mL	100	0	0	100	0	0	58,3	41,6	0	50	50	0	25	66,6	8,3	8,3	75	16,6
10 ε g/mL	100	0	0	91,6	8,3	0	75	25	0	75	25	0	50	41,6	8,3	50	41,6	8,3
5 ε g/mL	100	0	0	100	0	0	83,3	8,3	8,3	41,6	50	8,3	25	41,6	33,3	16,6	41,6	41,6

Tabela 13: Pontuação da motilidade de vermes adultos de *S. mansoni* submetidos ao tratamento com o derivado imidazolidínico LPSF/RH-40.

Grupos	Percentagem da motilidade dos vermes (%) após incubação																	
	24 h			48 h			72 h			96 h			120 h			144h		
	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/RH-40																		
100 ε g/mL	25	75	0	25	75	0	25	75	0	16,6	75	8,3	0	91,6	8,33	0	66,6	33,3
80 ε g/mL	16,6	50	33,3	16,6	50	33,3	0	66,6	33,3	0	66,6	33,3	0	16,6	83,3	0	16,6	83,3
40 ε g/mL	66,6	33,3	0	66,6	33,3	0	58,3	41,6	0	33,3	66,6	0	16,6	50	33,3	16,6	50	33,3
20 ε g/mL	41,6	58,3	0	41,6	58,3	0	16,6	83,3	0	0	100	0	0	83,3	16,6	0	66,6	33,3
10 ε g/mL	33,3	0	66,6	0	33,3	66,6	0	33,3	66,6	0	33,3	66,6	0	33,3	66,6	0	16,6	83,3
5 ε g/mL	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	16,6	50	33,3	16,6	50	33,3	8,3	41,6	50	8,3	41,6	50

Tabela 14: Pontuação da motilidade de vermes adultos de *S. mansoni* submetidos ao tratamento com o derivado imidazolidínico LPSF/RH-41.

Grupos	Percentagem da motilidade dos vermes (%) após incubação																	
	24 h			48 h			72 h			96 h			120 h			144h		
	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/RH-41																		
100 ε g/mL	91,6	8,3	0	91,6	8,3	0	50	50	0	25	66,6	8,3	16,6	75	8,3	16,6	66,6	16,6
80 ε g/mL	41,6	25	33,3	41,6	25	33,3	8,33	25	66,6	8,3	16,6	75	8,33	16,6	75	8,3	16,6	75
40 ε g/mL	0	0	0	0	0	0	66,6	33,3	0	66,6	33,3	0	25	66,6	8,3	25	66,6	8,33
20 ε g/mL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	83,3	16,6	0	58,3	41,6	0
10 ε g/mL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	83,3	16,6	0	66,6	33,3	0
5 ε g/mL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	83,3	16,66	0	58,3	41,6	0

Tabela 15: Pontuação da motilidade de vermes adultos de *S. mansoni* submetidos ao tratamento com o derivado imidazolidínico LPSF/FZ-20.

Grupos	Percentagem da motilidade dos vermes (%) após incubação																	
	24 h			48 h			72 h			96 h			120 h			144h		
	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/FZ-20																		
100 ε g/mL	91,3	8,3	0	50	50	0	50	50	0	50	50	0	50	33,3	16,6	33,3	50	16,6
80 ε g/mL	91,3	8,3	0	75	25	0	58,3	41,6	0	33,3	66,6	0	33,3	66,6	0	33,3	66,6	0
40 ε g/mL	100	0	0	100	0	0	91,6	8,3	0	25	75	0	16,6	83,3	0	0	75	25
20 ε g/mL	83,3	16,6	0	75	25	0	50	33,3	16,6	41,6	41,6	16,6	33,3	50	16,6	33,3	41,6	25
10 ε g/mL	100	0	0	100	0	0	100	0	0	83,3	0	16,6	83,3	0	16,6	83,3	0	16,6
5 ε g/mL	100	0	0	91,6	8,3	0	83,3	16,6	0	58,3	33,3	8,3	58,3	33,3	8,3	58,3	33,3	8,3

Tabela 16: Pontuação da motilidade de vermes adultos de *S. mansoni* submetidos ao tratamento com o derivado imidazolidínico LPSF/FZ-21.

Grupos	Percentagem da motilidade dos vermes (%) após incubação																	
	24 h			48 h			72 h			96 h			120 h			144h		
	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/FZ-21																		
100 ε g/mL	100	0	0	75	25	0	66,6	33,3	0	66,6	33,3	0	66,6	33,3	0	58,3	41,6	0
80 ε g/mL	66,6	33,3	0	50	41,6	8,3	41,6	41,6	8,3	25	66,6	8,3	33,3	66,6	16,6	8,3	75	16,6
40 ε g/mL	91,6	8,3	0	83,3	16,6	0	75	75	0	50	50	0	16,6	83,3	0	41,6	58,3	0
20 ε g/mL	91,6	8,3	0	91,6	8,3	0	83,3	16,6	0	66,6	25	8,3	33,3	50	8,3	16,6	66,6	16,6
10 ε g/mL	91,6	8,3	0	91,6	8,3	0	91,6	8,3	0	83,3	16,6	0	83,3	0	0	16,6	66,6	8,3
5 ε g/mL	100	0	0	100	0	0	91,6	8,3	0	75	25	0	58,3	33,3	8,3	25	58,3	8,3

Tabela 17: Pontuação da motilidade de vermes adultos de *S. mansoni* submetidos ao tratamento com o derivado imidazolidínico LPSF/FZ-24.

Grupos	Percentagem da motilidade dos vermes (%) após incubação																	
	24 h			48 h			72 h			96 h			120 h			144h		
	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/FZ-24																		
100 ε g/mL	100	0	0	41,66	58,3	0	41,6	58,3	0	41,6	58,3	0	8,3	91,6	0	8,3	91,6	0
80 ε g/mL	100	0	0	66,6	33,3	0	66,6	33,3	0	50	50	0	25	75	0	8,3	83,3	8,3
40 ε g/mL	100	0	0	75	25	0	66,6	33,3	0	41,6	58,3	0	33,3	58,3	8,3	0	83,3	16,6
20 ε g/mL	100	0	0	83,3	16,6	0	83,3	16,6	0	41,6	58,3	0	25	58,3	16,6	25	58,3	16,6
10 ε g/mL	100	0	0	91,6	8,3	0	83,3	16,6	0	66,6	33,3	0	66,6	33,3	0	50	50	0
5 ε g/mL	100	0	0	100	0	0	58,3	41,6	0	58,3	41,6	0	58,3	41,6	0	41,6	58,3	0

5.3 DISCUSSÃO

As imidazolidinas apresentam atividade antiparasitária, se destacando como potencial terapêutico na atividade esquistossomicida. Alguns estudos *in vitro* com ensaios de citotoxicidade, análises dos parasitos bem como atividades *in vivo* com os derivados imidazolidínicos demonstram resultados promissores quando comparados com o PZQ, fármaco de escolha para o tratamento da esquistossomose (SILVA *et al*., 2012; NEVES *et al*., 2011, 2010; PITTA *et al*., 2006; OLIVEIRA *et al*., 2004).

Neste trabalho foram testados sete derivados imidazolidínicos, onde se observou que os derivados da série LPSF/RH (Figura 17, a), formados por um átomo de enxofre (porção tioxo) na posição 4 do anel imidazolidínico, apresentaram uma melhor resposta biológica nos ensaios *in vitro*. No entanto, os derivados da série LPSF/FZ, os quais apresentam em sua estrutura um átomo de oxigênio na mesma posição do anel imidazolidínico, demonstraram uma baixa atividade esquistossomicida frente aos parasitos na avaliação *in vitro* (Figura 17, b). Essa diferença pode ter permitido uma melhor interação fármaco-receptor devido ao aumento do tamanho do átomo na posição 4 da imidazolidina (enxofre é maior que oxigênio), que permite que os elétrons do enxofre fiquem mais disponíveis para a formação de interações intermoleculares com os

resíduos de aminoácidos de proteínas do parasito (EDWARD, 1966 *apud* OLIVEIRA, 2008).

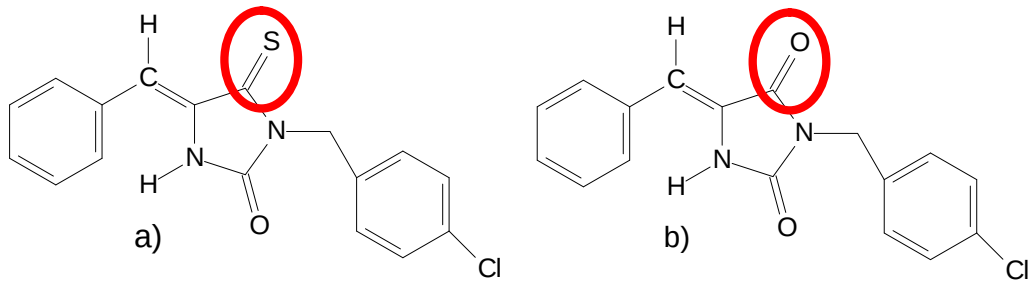


Figura 19: a) LPSF/RH, b) LPSF/FZ.

Os compostos LPSF/RH-38 (Figura 18, a) e LPSF/RH-40 (Figura 18, b) destacaram-se por apresentar a melhor atividade *in vitro* contra os vermes adultos de *S. mansoni* com 100% de mortalidade na concentração de 100 µg/mL (250 µM) e 83,33% de mortalidade nas concentrações de 80 µg/mL (142 µM) para o composto LPSF/RH-38 e 10 µg/mL (17,8 µM) no tempo de 144 horas, para o composto LPSF/RH-40. Nos trabalhos realizados por Pitta, M.G.R. (2006), o derivado imidazolidínico 1-benzil-4-[(4-cloro-fenil)-hidrazono]-5-tioxo-imidazolidin-2-ona (LPSF/PT-5) (Figura 19, c) apresentou atividade esquistossomicida na avaliação da suscetibilidade, com uma taxa de mortalidade de 100% na concentração de 174 µM em 24h de contato com os vermes adultos de *S. mansoni* (PITTA *et al*., 2008).

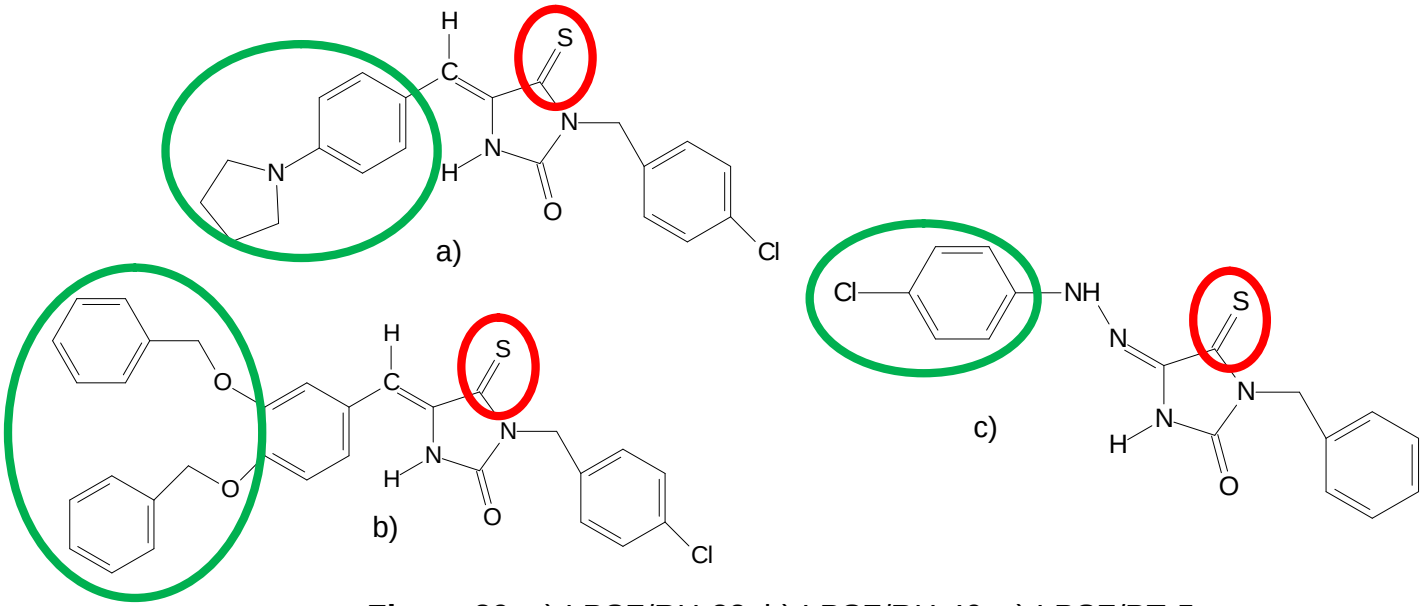


Figura 20: a) LPSF/RH-38; b) LPSF/RH-40; c) LPSF/PT-5.

O composto LPSF/RH-38 apresenta um grupamento pirrolidinil, o qual possui um efeito estérico e um heteroátomo de nitrogênio que permite uma melhor interação com o receptor, pela presença dos pares de elétrons livres. Já o composto LPSF/RH-40 é o que se caracteriza por apresentar um maior efeito estérico, além dos dois grupos benzilóxi possuírem efeito indutivo negativo.

O composto LPSF/PT-5 apresenta o átomo de cloro na posição *para* do anel benzil. Esse halogênio se caracteriza por ser um retirador de elétrons por efeito indutivo negativo e por apresentar um efeito mesomérico positivo. A posição *para* também permite que o efeito eletrônico se propague na molécula num sentido linear, isso pode permitir uma melhor interação com o receptor (McMURRY, 2011; BRUICE, 2006).

Além do composto LPSF/PT-5, todos os derivados testados neste trabalho apresentam o átomo de cloro na posição *para* do anel aromático na posição 3 do anel imidazolidínico. Eles apresentam os mesmos efeitos eletrônicos do composto LPSF/PT-5. A introdução de um átomo de halogênio como substituinte torna o derivado mais lipofílico, ou seja, menos solúvel a água. Estudos indicam que os halogênios podem melhorar a absorção dos compostos em meio biológico, mais precisamente nas membranas celulares (THOMAS, 2003). Isso pode ter sido um fator principal para a boa eficácia verificada pelos derivados imidazolidínicos utilizados nesse estudo.

Os resultados obtidos com estes derivados foram semelhantes com os observados com o derivado (3-(4-cloro-benzil)-1-metil-5-(4-metóxi-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona) LPSF/JT-69 (Figura 19, c), que apresenta o átomo cloro na mesma posição que os derivados das séries LPSF/FZ (Figura 19, b) e LPSF/RH (Figura 19, a), e apresentou eficácia de 100% de mortalidade dos parasitos nas primeiras 72h de contato com o derivado, na concentração de 119 µg/mL (322 µM) (PITTA *et al*., 2006). E Oliveira et al. (2004) que demostrou uma taxa de mortalidade de 82% do derivado 5-(4-bromo-benzilideno)-3-(4-cloro-benzil)-2-tioxo-imidazolin-4-ona (LPSF/NN-140) na concentração de 120 µg/mL (294 µM) por 15 dias de observação (OLIVEIRA *et al*., 2004).

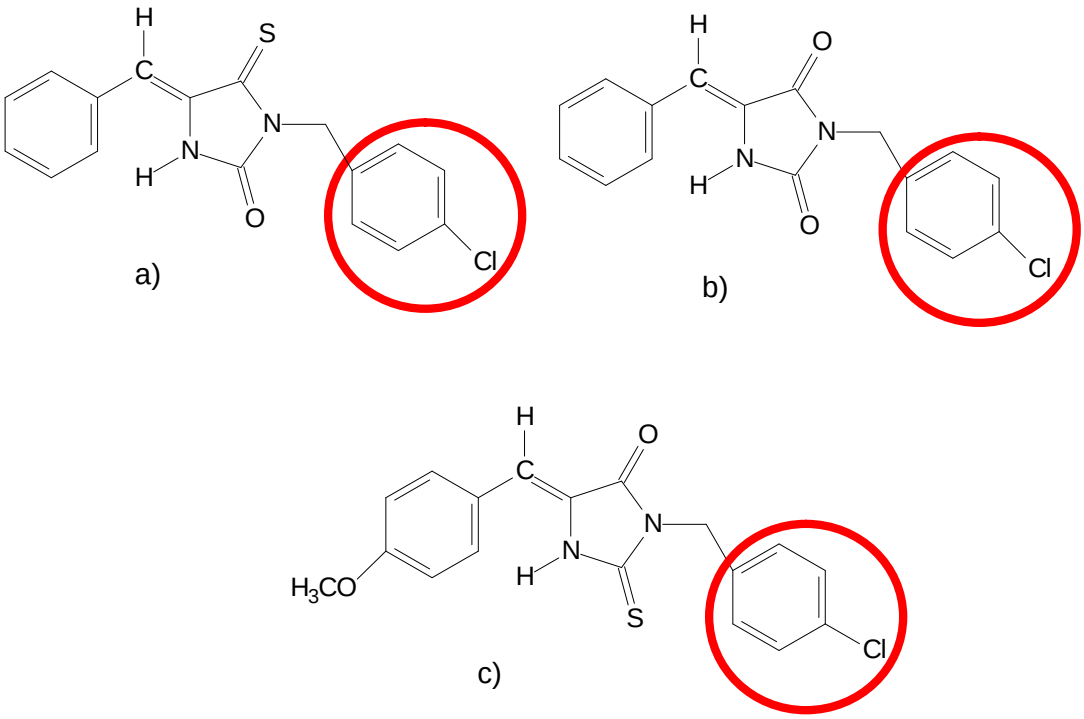


Figura 21: a) LPSF/RH; b) LPSF/FZ; c) LPSF/JT-69

Os vermes submetidos à exposição com os compostos testados, em sua maioria, apresentaram-se mortos e contraídos ou muito lentos sendo semelhantes aos vermes tratados com o PZQ. Sabe-se que o PZQ assim como os derivados imidazolidínicos ainda não possuem um mecanismo de ação elucidado (THIBAUT et al., 2009; TALIMA e RIDI, 2007). No entanto, trabalhos indicam que o PZQ apresenta uma possível influência nos canais de cálcio havendo um rápido influxo de Ca^{2+} para o interior do parasito, acarretando contração muscular, cessação de seus movimentos seguido de morte (PICA-MATTOCCIA & CIOLI, 2004; GREENBERG, 2005; TALLIMA & RIDI, 2007).

O LPSF/PT-5 (1-benzil-4-[(4-cloro-fenil)-hidrazono]-5-tioxo-imidazolidin-2-ona) (Figura 20, a) e LPSF/PT-11 (1-(4-cloro-benzil)-4-[(4-fluoro-fenil)-hidrazono]-5-tioxo-imidazolidin-2-ona) (Figura 20, b) foram capazes de induzir a ausência de oviposição pelos vermes adultos de *S. mansoni*. Além disso, os ensaios de ultraestrutura demonstraram alterações significantes com a formação de bolhas, descamação do tegumento, perdas de espinho do tubérculo, inchaço e alongamento corporal, indicando os sérios danos causados pelos derivados imidazolidínicos (NEVES *et al*., 2011).

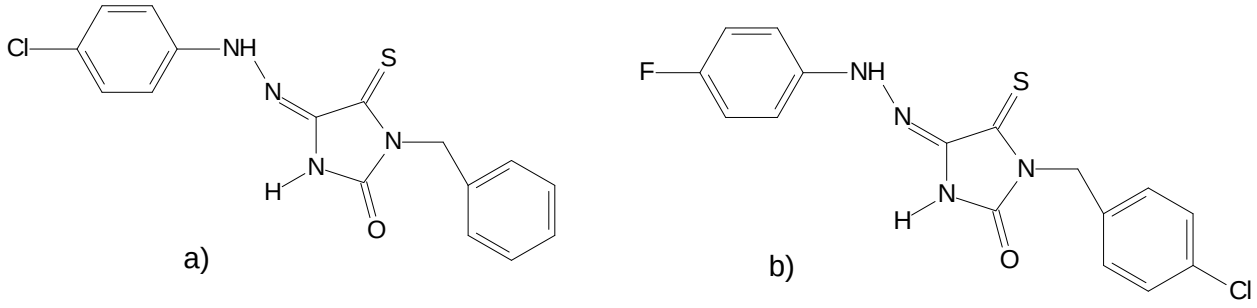


Figura 22: a) LPSF/PT-5; b) LPSF/PT-11

CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

- Os compostos sintetizados apresentaram em geral bons rendimentos, assim como suas estruturas evidenciadas e comprovadas pelas técnicas de análises espectrofotométricas no infravermelho, ressonância magnética nuclear, bem como por espectrometria de massas;

- Os estudos de citotoxicidade mostrou que os derivados imidazolidínicos LPSF/FZ-24, LPSF/RH-38, LPSF/RH-39, LPSF/RH-40 e LPSF/RH-41 não são citotóxicos, apresentando um IC50 entre 50.29 µM a >100 µM;

- A partir dos resultados obtidos através da avaliação in vitro frente aos vermes adultos do Schistosoma mansoni foi possível concluir que dentre todos derivados imidazolidínicos testados, o LPSF/RH-38 pode ser apontado como um derivado promissor nos estudos para o tratamento da S. mansoni. Os compostos da série LPSF/RH apresentaram os melhores resultados do que a série LPSF/FZ na atividade in vitro. Estes derivados diferenciam-se por possuir em sua estrutura o átomo de enxofre na posição 4 do anel imidazolidínico, evidenciando uma porção importante nestes derivados imidazolidínicos;

- Os compostos da série LPSF/FZ apesar de não apresentarem mortalidade expressiva na atividade biológica, eles mostraram ação sobre os movimentos corporais dos parasitos de S. mansoni, provocando a diminuição de seus movimentos. Assim, confirmado a ação dos derivados imidazolidínicos sobre a atividade esquistossomicida.

PERSPECTIVAS

7. PERSPECTIVAS

- Avaliar a atividade *in vivo* do derivado imidazolidínico LPSF/RH-38 frente aos vermes imaturos e adultos de *Schistosoma mansoni*;

- Estudos de solubilidade dos derivados para melhorar a resposta biológica;

- Realizar Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e de transmissão (MET) dos vermes adultos do *S. mansoni* tratados *in vitro* com o derivado imidazolidínico LPSF/RH-38.

- Elucidar um possível mecanismo de ação do composto LPSF/RH-38 que demonstre a sua boa atividade esquistossomicida.

BIBLIOGRAFIA

8. BIBLIOGRAFIA

ALBUQUERQUE, J. F. C. *et al*. **Synthesis and antimicrobial activity of substituted imidazolidinediones and thioxoimidazolidinones.** Il Farmaco, 54, 77 ï 82 p. 1999.

ALMEIDA, M. M. **Efeito da quimioterapia com praziquantel no perfil de citocinas de indivíduos infectados pelo *S. mansoni* portadores de fibrose periportal**. 78f. (Mestrado em Ciências Biológicas: Imunopatologia das doenças infecciosas e parasitárias) ï Universidade Vale do Rio Doce, Governador Valadares. 2009.

ANDRADE, Z. A. **Regressão da fibrose hepática**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Brasília, v. 38, n. 6, p. 514 - 520, 2005.

ANDRADE, Z. A.; VAN MARCK, E. A. E. **Schistosomal glomerular disease.** Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 79, n. 4, p. 499 - 506, 1984.

BARBOSA, C. S. *et al*. **Epidemia de esquistossomose aguda na praia de Porto de Galinhas, Pernambuco, Brasil.** Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 17(3):725-728, mai-jun, 2001.

BARBOSA, C. S. *et al*. **Urban schistosomiasis in Itamaracá Island, Pernambuco, Brazil: Epidemiological factors involved in the recent endemic process**. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 93, p. 265 ï 266, 1998.

BARREIRO, E. J.
A Química Medicinal e o paradigma do composto-protótipo.
Rev. Virtual Quim, 1 (1), 26-34 p. 2009.

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.

BURGER, A. A. **Guide to the Chemical Basis of Drug Design**, NY, EUA,. Wiley, 24-29 p. 1983

BASAPPA, C. S. *et al*. **Anti-tumor and anti-angiogenic activity of novel hydantoin derivatives: Inhibition of VEGF secretion in liver metastatic osteosarcoma cells**. Bioorganic & Medicinal Chemistry. v. 17, 4928ï 4934 p. 2009.

BRASIL. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. 6º edição. Ministério da Saúde, Brasília, 2005.

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

BRASIL. **Casos positivos de Esquistossomose por mês. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas**. **2011**. http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos_esquistossomose_mes_2011_06_08_2012.pdf. Acesso no dia 15/03/2013a.

BRASIL. **Óbitos por Esquistossomose. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990-2011**. http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/obitos_esquistossomose_25_03_2013.pdf. Acesso no dia 15/03/2013b.

BRASIL. **Plano integrado de ações estratégicas de eliminação da hanseníase, filariose, esquistossomose e oncocercose como problema de saúde pública, tracoma como causa de cegueira e controle das geohelmintíases: Plano de ação 2011-2015**. Ministério da Saúde, Secretaria

de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância em Doenças Transmissíveis. ï Brasília, 2012.

BRUICE, P.Y. **Química Orgânica**. 4ª Edição, 2006.

BURKE, M. L. *et al*. **Immunopathogenesis of human schistosomiasis.** Parasite Immunology. 31, 163 ï 176 p. 2009.

CATERINA, M. C. *et al*. **Imidazolidines as new anti-*Trypanosoma cruzi* agents: Biological evaluation and structureï activity relationships.** Bioorganic & Medicinal Chemistry.16, 2226ï 2234 p. 2008.

CIOLI D.; PICA-MATTOCCIA L. **Praziquantel**. Parasitol. Res.90(Suppl1):S3ï S9. 2003.

CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L.; ARCHER, S. **Antischistosomal Drugs: Past, Present And Future.** Pharmac. Ther. Vol.68.No.I. DD. 35-85.1995.

CHRISTOPHERSON, J.B., **The successful use of antimony in bilharziosis. Adminis-teredas intravenous injectionsof antimoniumtartaratum (tartar emetic)**. Lancet II, 325ï 327. 1918.

COLES, G. C. *et al*. **Drug resistance in schistosomiasis**. Trans R Soc Trop Med Hyg. 80:347. 1986

COMBER, R. N. *et al*. **5,5-Disubstituted Hydantoins: Syntheses and Anti-HIV Activity**. Journal of Medicinal Chemistry. v. 19, n. 35, 356-3572 p. 1992.

COON, D. R.; **Schistosomiasis: Overview of the History, Biology, Clinicopathology, and Laboratory Diagnosis.** Clinical Microbiology Newsletter, 27 (21). 2005.

CORTES, S. *et al*. **Effect of Structural Modification of the Hydantoin Ring on Anticonvulsant Activity**. Journal of Medicinal Chemistry. Vol. 28, No. 5. 1985.

DA SILVA, L. C.; CHIEFFI, P. P.; CARRILHO, F. J. **Schistosomiasis mansoni ï Clinical features**. Gastroenterol Hepatol. 28(1):30-39 p. 2005.

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 16: 483-486, 1967.

EDWARD, J.T., **Chem. Org. Sulfur Compd.** Eng. 2, 287.1966.

ELBAZ, T.; ESMAT, G. **Hepatic and intestinal schistosomiasis.** Journal of Advanced Research, 2013.

FALLON, P. G. **Schistosome resistance to praziquantel.** Drug Resistance Updates. I, 236-24 p. 1998.

FALLON, R. G. *et al*. **Schistosome Resistance to Praziquantel: Fact or Artifact?** Parasitology Today. vol. 12, no. 8. 1996.

FARLEY, J. **Bilharzia: A History of Imperial Tropical Medicine**. Press Syndicate of the University of Cambridge, England.1991.

FILHO, R. P.; SILVEIRA, M. A. B.; **Panorama atual da esquistossomíase no mundo.** Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences vol. 37, n. 2, maio/ago., 2001.

FINKBEINER, H. **The Carboxylation of Hydantoins**. Vol. 30, 3414-3419 p. 1965.

FLOSI, W. J. *et al*. **Discovery of imidazolidine-2,4-dione-linked HIV protease inhibitors with activity against lopinavir-resistant mutant HIV.** Bioorganic & Medicinal Chemistry. v. 14, 6695ï 6712 p. 2006.

FOSTER, MESMER E.T., CHEETAHAM B.L., KING D.F. **The control of immature Schistosoma mansoni in mice by UK 3883, a novel 2-aminomethyltetrahydroquinoline derivative.** Ann Trop Med Parasitol; 65:221-32. 1971

GOMES, F. O. S. *et al*. **New imidazolidine derivatives as anti-Trypanosoma cruzi agents: structureï activity relationships**. Parasitol Res. v.111, n. 6, 2361ï 2366 p. 2012.

GONÇALVES F., COUTINHO A., SANTANA W., BARBOSA C. S. **Esquistossomose aguda, de caráter episódico, na ilha de Itamaracá: Estado de Pernambuco**. *Cad. Saúde Pública***,** 7(3) p. 424-425, 1991.

GREENBERG, R. M. **Are Ca^{2+} channels targets of praziquantel action?** International Journal for Parasitology. 35, 1ï 9 p. 2005

GRYSEELS, B.; **Schistosomiasis.** Infect Dis Clin N Am. 26, 383ï 397 p. 2012.

GUERRA, A. S. H. *et al*. **Anti-inflammatory and antinociceptive activities of indoleï imidazolidine derivatives.** International Immunopharmacology. 11, 1816ï 1822 p. 2011.

GUIDO, R. V. C. & OLIVA, G. **Structure-Based Drug Discovery for Tropical Diseases.** Current Topics in Medicinal Chemistry. 9, 824-843 p. 2009.

HOFFMANN, K. F. & STRAND, M. **Molecular identification of a Schistosoma mansoni tegumental protein with similarity to cytoplasmic dynein light chains**. The journal of biological chemistry 271: 26117 ï 26123, 1996.

HORIUCHI, A.; SATOU, T.; AKAO, N.; KOIKE, K.; FUJITA, K.; NIKAIDO, T. **The effect of free and polyethylene glycol-liposome-entrapped albendazole on larval mobility and number in Toxocara canis infected mice.** Vet Parasitol 129 (1-2): 83- 87, 2005.

ISMAIL M, METWALLY A, FARGHALLY A, BRUCE J, TAO LF, BENNETT JL. **Characterization of isolates of Schistosoma mansonifrom Egyptian villagers thattolerate highly doses of praziquantel**. Am J Trop Med Hyg. 55:214-8.1996.

JI, G. C. *et al*. **Analgesic activity of a non-peptide imidazolidinedione somatostatin agonist: In vitro and in vivo studies in rat.** Pain, 124, 34ï 49 p. 2006.

LAMBERT, C. R., **Chemotherapy of Experimental Schistosoma Mansoni Infections with a Nitro-Thiazole Derivative, Ciba 32,644-Ba**. Ann Trop Med Parasitol. 58, 292-303.1964.

KAMINSKYY, D.; ZIMENKOVSKY, B.; LESYK, R. **Synthesis and in vitro anticancer activity of 2,4-azolidinedione-acetic acids Derivatives**. European Journal of Medicinal Chemistry. v. 44, p. 3627ï 3636 p. 2009.

KATZ, A. & ALMEIDA, K.; **Esquistossomose, xistosa, barriga dõágua.** Cienc. Cult. [online] 55 (1), 38-43 p. 2003.

KATZ, A. & COELHO, P. M. Z. **Clinical therapy of schistosomiasis mansoni: The Brazilian contribution**. Acta Tropica. 108, 72ï 78 p. 2008

KATZ, N. **Terapêutica clínica na esquistossomose mansoni**. *Schistosoma mansoni* e Esquistossomose, uma visão multidisciplinar. Cap. 29, p.849-871, 2008a.

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

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.

KIER, L. B. & HALL, L. H. **Bioisosterism: Quantitation of Structure and Property Effects.** CHEMISTRY & BIODIVERSITY, Vol. 1, 138-151 p. 2004.

KURZ, T. & WIDYAN, K. **A convenient synthesis of 3-amino-4-imino(thioxo)-imidazolidin-2-ones.** Tetrahedron Letters. 45, 7049ï 7051 p. 2004

LAMBERTUCCI, J. R. *et al*. **Schistosoma mansoni: assessment of morbidity before and after control**. Acta Tropica 77, 101ï 109 p. 2000.

LAMBERTUCCI, J. R. *et al***. Imaging techniques in the evaluation of morbidity in schistosomiasis mansoni.** Acta Tropica 108, 209ï 217 p. 2008

LIMA, L. M. & BARREIRO, E. J. **Bioisosterism: A Useful Strategy for Molecular Modification and Drug Design.** Current Medicinal Chemistry, 12, 23-49 p. 2005.

MAGALHÃES - FILHO, A.; COUTINHO, E. M. **Lesões esplênicas iniciais na Esquistossomose mansônica humana.** Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, São Paulo, v.2, p. 251 - 259, 1961.

MANNHOLD, M.; KUBINYI, R.; FOLKERS, G. **Bioisosteres in Medicinal Chemistry.** First Edition, Wiley-VCH, 3-14 p. 2012.

McMURRY, J. **Química Orgânica, vol 1**. Cengage Learning, São Paulo, 2011.

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

NEVES, J. K. A. L. *et al*. **Biological and immunological activity of new imidazolidines against adult worms of *Schistosoma mansoni.*** Parasitol Res,. 107: 531ï 53 p. 2010.

NOEL, F. **Sistema neuromuscular e controle da motilidade do verme adulto**. In: Carvalho, O.S., Coelho, P.M.Z., LENZI, H.L. Schistosoma mansoni & Esquistossomose: Uma visão interdisciplinar. Rio de Janeiro: Fiocruz 207-244, 2008.

OLIVEIRA, S. M. *et al*. **Estrutura, Reatividade E Propriedades Biológicas De Hidantoínas.** Quim. Nova,Vol. 31, No. 3, 614-622 p. 2008.

OLIVEIRA, S. M. *et al***. A Resposta do *Schistosoma mansoni* Mantido *In Vitro* frente a Derivados Imidazolidinônicos.** Acta Farm. Bonaerense, 23(3): 343-8 p. 2004.

PEKALA, E. *et al*. **Synthesis, structureï activity relationship of some new anti-arrhythmic 5-arylidene imidazolidine-2,4-dione derivatives.** European Journal of Medicinal Chemistry, 40, 259ï 269 p. 2005.

PEREIRA, D. G. **Importância Do Metabolismo No Planejamento De Fármacos.** Quim. Nova,Vol., 30, No. 1, 171-177 p. 2007.

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

PICA-MATTOCCIA, L. *et al*. **Cytochalasin D abolishes the schistosomicidal activity of praziquant.** Experimental Parasitology, 115, 344ï 351 p. 2007.

PICA-MATTOCCIA, L. & CIOLI, D. **Sex- and stage-related sensitivity of *Schistosoma mansoni* to in vivo and in vitro praziquantel treatment.** International Journal for Parasitology, 34, 527ï 533 p. 2004.

PITTA, M.G R. *et al*. **New imidazolidinic bioisosters: potential candidates for antischistosomal drugs.** Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 101(Suppl. I): 313-316 p. 2006.

PORDEUS, L. C. *et al*. **A ocorrência das formas aguda e crônica da esquistossomose mansônica no Brasil no período de 1997 a 2006: uma revisão de literatura.** Brasília: Epidemiol. Serv. Saúde. 17(3):163-175 p. jul-set 2008.

REY, L. T. **Epidemiologia e Controle da Esquistossomose nas Américas**. Parasitologia, 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 455 ï 479. 2001.

RIBEIRO-DOS-SANTOS, G., VERJOVSKI-ALMEIDA, S., LEITE, L. C. C. **Schistosomiasisð a century searching for chemotherapeutic drugs.** Parasitol Res. 99: 505ï 521 p. 2006.

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.

ROGERS, S. H. & BUEDING, E. **Hycanthone Resistance: Development in *Schistosoma mansoni*.** SCIENCE. 172, 1057-1058 p. 4 JUNE 1971.

SAHA. A. K. *et al*. **Novel Antifungals Based on 4-Substituted Imidazole: A Combinatorial Chemistry Approach to Lead Discovery and Optimization.** Bioorganic & Medicinal Chemistry Lettersm, 10, 2175-2178 p. 2000.

SAVIOLI L, ALBONICO M, ENGELS D, MONTRESOR A. **Progress in the prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis**. Parasitol Int.;53:103-13. 2004.

SETHY, S. P. *et al*. **The Role Of Bioisosterism In Molecular Modification And Drug Design: A Review.** ASIAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES AND RESEARCH, volume 3 issue 1, Jan. 2013.

SILVA, A. C. A. *et al*. **Study of the Activity of 3-benzyl-5-(4-chloro-arylazo)-4-thioxo-imidazolidin-2-one against Schistosomiasis Mansoni in mice**. The Scientific World Journal, 2012. Volume 2012.

SILVA, P. C. V. & DOMINGUES, A. L. C. **Aspectos epidemiológicos da esquistossomose hepatoesplênica no Estado de Pernambuco, Brasil**. Brasília: Epidemiol. Serv. Saúde, jul-set 2011. 20(3):327-336 p.

STELMA FF. *et al.* **Efficacy and side effects of praziquantelin an epidemic focus of Schistosoma mansoni.** Am J Trop Med Hyg. 53. 167-70. 1995.

SORRENTI, V. *et al*. **Imidazole derivatives as antioxidants and selective inhibitors of Nnos.** Nitric Oxide, 2006. 14, 45ï 50 p.

TALLIMA, H. & RIDI, R. E. **Praziquantel binds *Schistosoma manso*ni adult worm actin.** International Journal of Antimicrobial Agents, 2007. 29, 570ï 575 p.

THIBAUT, J. P. B. *et al*. **The effects of 3-methylclonazepam on Schistosoma mansoni musculature are not mediated by benzodiazepine receptors**. European journal of pharmacology 606: 9-16, 2009.

THOMAS, G. **Química Medicinal: uma introdução.** Editora Guanabara Koogan, 2003.

UCHÔA. F. T. *et al*. **Preclinical pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of thiazolidinone PG15: an anti-inflammatory candidate**. J Pharm Pharmacol.61(3):339-45. Mar-2009.

UCHÔA. F. T. *et al.* **Development and application of LC-UV method for the quantification of the anti-inflammatory thiazolidinone PG15 in rat plasma.** J. Braz. Chem. Soc. vol.19, no.8 São Paulo. 2008.

UTZINGER, J.; NôGORAN, E.K.; CAFFREY, C.R.; KEISER, J. **From innovation to application: Socialï ecological context, diagnostics, drugs and integrated control of schistosomiasis**. Acta Tropica, p. 1-17. 2010.

VRANJAC, A. **Vigilância Epidemiológica e Controle da Esquistossomose**. 2007.

WARE, E. **The Chemistry Of The Hydantoins.** Chemical. Review. 46, 403-470 p. 1950.

WEBSTER, L. T.; BUTTERWORTH. A. E.; MAHMOUD. A. A. F.; MGOLA. E. N.; WARREN, K. S. **Suppression of delayed hypersensitivity in schistosome-infected patients by niridazole**. N. Engl. J. Med. 292: l144-1147, 1975.

WERBEL, L. M. *et al*. **Antischistosomal effects of 5-(2,4,5-trichlorophenyl) hydantoin and related compounds**. J Med Chem 20(12), 1569-72. 1977.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **The social context of schistosomiasis and its control: an introduction and annotated bibliography**. 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Media centre ï Schistosomiasis. Facts heet N°115 - Janeiro 2012**. www.who.int/mediacentre/factsheets/fs115/en/i ndex.html. Acessado no dia 15/03/2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Initiative for Vaccine Research (IVR). Parasitic Diseases**. www.who.int/vaccine_research/diseases/soa_parasitic/en/index5.html. Acessado no dia 14/01/2013a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Media centre ï Schistosomiasis. Facts heet N°115 - Março 2013**. www.who.int/mediacentre/factsheets/fs115/en/index.html. Acessado no dia 15/03/2013b.