

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DE PRODUTOS BIOATIVOS**

**NOVAS 2-TIOXO-IMIDAZOLIDIN-4-ONAS CANDIDATAS A
FÁRMACOS ESQUISTOSSOMICIDAS: SÍNTESE, ELUCIDAÇÃO
ESTRUTURAL E ATIVIDADE BIOLÓGICA**

Maira Galdino da Rocha Pitta

RECIFE, 2005

Maira Galdino da Rocha Pitta

**NOVAS 2-TIOXO-IMIDAZOLIDIN-4-ONAS CANDIDATAS A
FÁRMACOS ESQUISTOSSOMICIDAS: SÍNTESE, ELUCIDAÇÃO
ESTRUTURAL E ATIVIDADE BIOLÓGICA**

**DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOTECNOLOGIA DE PRODUTOS
BIOATIVOS PARA OBTENÇÃO DO
GRAU DE MESTRE EM
BIOTECNOLOGIA DE PRODUTOS
BIOATIVOS**

**Área de concentração: Química de
Compostos Bioativos**

**Orientadoras: Professora Doutora Maria
do Carmo Alves de Lima**

**Professora Doutora Mônica Camelo
Pêsoa de Azevedo Albuquerque**

RECIFE, 2005

Pitta, Maira Galdino da Rocha

Novas 2-tioxo-imidazolidin-4-onas candidatas a fármacos esquistossomicidas : síntese, elucidação estrutural e atividade biológica / Maira Galdino da Rocha Pitta. – Recife : O Autor, 2005.

188 folhas : il., fig., tab., esquemas.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCB. Biotecnologia de Produtos Bioativos, 2005.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Ciências biológicas – Biotecnologia 2. Fármacos – Derivados das imidazolidinas – Síntese e elucidação estrutural pelos métodos convencionais de análise. 3. Atividade biológica – Avaliação *in vitro* – Vermes adultos de *Schistosoma mansoni*.

**615.31
615.19**

**CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)**

**UFPE
BC2005-269**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA POR MAIRA GALDINO DA
ROCHA PITTA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOTECNOLOGIA DE PRODUTOS BIOATIVOS, COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE
EM BIOTECNOLOGIA.

DEFENDIDA PUBLICAMENTE EM 06 DE MAIO DE 2005 DIANTE DA BANCA
EXAMINADORA:



Dr. JOSÉ VALFRIDO DE SANTANA
Universidade Maurício de Nassau



Dra. MARIA DO CARMO ALVES DE LIMA
Departamento de Antibióticos - UFPE



Dra. MÔNICA CAMELO PESSOA DE AZEVEDO ALBUQUERQUE
Departamento de Medicina Tropical - UFPE

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DE PRODUTOS BIOATIVOS

REITOR

Professor Dr. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Professor Dr. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Professor Dr. Celso Pinto de Melo

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Professora Dra. Miriam Camargo Guarniere

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS

Professora Dra. Silene Carneiro do Nascimento

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS

Professora Dra. Norma Buarque de Gusmão

COORDENADORA DO CURSO DE MESTRADO

Professora Dra. Ana Maria Souto Maior

VICE-COORDENADOR DO CURSO DE MESTRADO

Professor Dr. Alexandre José da Silva Góes

DEDICO ESTE TRABALHO

*Aos meus pais
Ivan da Rocha Pitta
e Suely Lins Galdino,*

*que sempre acreditaram em mim e
que são meus exemplos de vida.*

Aos meus irmãos Ivan, Luis e Marina.

*Aos meus avós Felix (in memorian) e Gertrudes,
Walter e Joanna.*

AGRADECIMENTOS

A Profa. Dra. Maria do Carmo Alves de Lima, do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos, Departamento de Antibióticos da UFPE, e a Profa. Dra. Mônica Camelo Pessôa Azevedo de Albuquerque, do Departamento de Medicina Tropical da UFPE, pela orientação, amizade e incentivo constantes.

Aos Professores Doutores José Valfrido de Santana e Elizabeth Malagueño, do Laboratório de Imunologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) da UFPE, pela amizade, confiança, incentivo e, sobretudo, pela inestimável contribuição à minha formação acadêmico-científica durante a iniciação científica.

Aos Professores Doutores Mohammed Saad Lahlou e Glória Isolina Pinto Duarte, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFPE, pela antiga amizade e incentivo.

Aqueles que contribuíram diretamente para realização deste trabalho: Prof. João Inácio Irmão, responsável da Disciplina Parasitologia, do Departamento de Medicina Tropical, pela valiosa contribuição no fornecimento dos moluscos; Profa. Dra. Rosângela Coelho, do Laboratório de Virologia, do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) da UFPE, pela disponibilização de seu laboratório para realização de parte dos ensaios biológicos; Dra. Valéria Rêgo Alves Pereira, pelo pronto atendimento em doar a penicilina, sem a qual não seria

possível a finalização dos bioensaios; Prof. Dr. Marcelo Zaldini pela colaboração na interpretação dos resultados da parte biológica.

A toda minha querida família, em especial: meus irmãos Marina, Luis, Ivan, Tania, Maoro e Nadia, e sobrinhos Victor, Fernande e Salomé; aos meus tios e tias: Sérgio, Célia, Sandra, Paulo, Fátima, Antônio, Walter (*in memorian*), Ivo; aos meus primos Lília, Alice, Mariana (e o filho Cauet), Bruno, Lorena, Talita, Daniel, Luciana, Tatiana, Evelise, Walter, Edoardo, Jane e Ivo.

As minhas inesquecíveis amigas: Alessandra Jaques Marques, Carolina Leite de Marcedo, Cybelle Costa Campos, Glicia Arcoverde Modesto Amorim, Jessivane Carvalho de Oliveira, Leidiane de Carla Oliveira, Liliane Campos Leal e Myllena de Fátima, pelos momentos agradáveis que passamos e que certamente ainda passaremos juntas.

Aos amigos do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos, Ana Roberta Cañas, Angela Maria Coelho de Andrade, Andréa Cristina Apolinário da Silva, Bárbara Gomes, Cássia Regina, Clécio Henrique, Cleiton Diniz, Daniel Tércio, Diana Malta, Érika Vieira, Everaldo Santos, Flavia Uchôa, Francimary Guedes, Gerson Paiva, Iane Bezerra, Janaina Couto, Juliana Kelle Limoine, Larissa Araújo, Laudelina Rodrigues, Leila Cabral, Manuela Carvalho, Micheline Miranda, Maria Andréa de Souza, Rosa Mourão, Ricardo Olímpio, Silvânia Maria de Oliveira e Teresinha Gonçalves, por toda colaboração e agradável convívio.

Aos amigos do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), Conceição Gomes Leitão, Fernanda César, Liliane Karla Bezerra, Luís Felipe, Patrícia Alves Santos, Polliana Guabiraba, Renata Ramos, Silvana Ferreira, Sérgio Roberto Amorim, Tatiana da Silva, e Wlaudia Costa, pela amizade e cooperação.

A todos os professores da UFPE que contribuíram para minha formação no Curso de Graduação em Ciências Farmacêuticas e no Programa de Pós-graduação de Biotecnologia de Produtos Bioativos. Incluindo também as valiosas contribuições de Levi Rodrigues de Souza e Maria Suely Cavalcanti.

A CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1- Distribuição geográfica das espécies de schistosoma com importância epidemiológica na medicina humana (Control of Schistosomiasis, WHO Technical Report Series 830, WHO Geneva 1993: images WHO 92720)	34
Figura 1.2- Vermes adultos de <i>Schistosoma mansoni</i> (University of Technology Clinical Parasitology Collection, Dr Peter Darben)	36
Figura 1.3- Ciclo biológico dos schistosomas (TDR / Wellcome Trust)	38
Figura 1.4- Tártaro emético	47
Figura 1.5- 2,3-Di-hidroemetina	47
Figura 1.6- Exemplos de fármacos esquistossomicidas	48
Figura 1.7- Lucantone	49
Figura 1.8- Niridazol	50
Figura 1.9- Hicantone	50
Figura 1.10- Oxamniquine	51
Figura 1.11- Praziquantel	52
Figura 1.12- Imidazolidina-2,4-diona	61
Figura 1.13- 2-Tioxo-imidazolidin-4-ona	61
Figura 1.14- Polarização do grupo tiocarbonila	66
Figura 1.15- Fenitoína: 5-difenil-imidazolidina-2,4-diona	74
Figura 1.16- 5-difenil-imidazolidina-4-ona e 1-benzil-5,5-difenil-3-imidazolidin-2,4-diona (ZEJC <i>et al.</i> , 1989)	75
Figura 1.17- 3-(4-dialquil-amino-2-butilil)-5,5-disubstituídos-imidazolidina-2,4-diona (HUDKINS <i>et al.</i> , 1997)	75
Figura 1.18- 4-Alil-1-(2-oxo-1,2-diidro-indol-3-ilidenoamino)- 2-tioxo-imidazolidina-4,5-diona (KARALI <i>et al.</i> , 1998)	76

Figura 1.19- Nitrofurantoína	78
Figura 1.20- Imidazolidina-2,4-dionas sintetizadas (GÓES <i>et al.</i> , 1991a)	80
Figura 1.21- Derivados da 3-(4-cloro-benzil)-5-benzilideno-imidazolidina-2,4-dionas (GÓES <i>et al.</i> , 1991b)	80
Figura 1.22- Imidazolidina-2,4-dionas sintetizadas (LIMA <i>et al.</i> , 1992)	81
Figura 1.23- Derivados 3-(4-bromo-benzil)-5-benzilideno-imidazolidina-2,4-dionas (AMORIM <i>et al.</i> , 1992)	82
Figura 1.24- 5-Arilazo-3-benzil-4-tioxo-imidazolidin-4-ona (BRANDÃO <i>et al.</i> , 1997)	83
Figura 1.25- (5Z)-5-(1,1'-Bifenil-4-il-metileno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (KIEĆ-KONONOWICZ e SZYMAŃSKA, 2002)	84
Figura 1.26- 5-(3-Cloro-benzilideno)-2-(isonicotino-il-hidrazino)-imidazolin-4-ona (SZYMAŃSKA e KIEĆ-KONONOWICZ, 2002)	84
Figura 1.27- Complexos complexos de 3-amino-ciclo-hexa-espiro-5-imidazolidina-2,4-diona com platina (II) (KUSHEV <i>et al.</i> , 2002)	85
Figura 1.28- Derivados imidazolidinicos que interagem nos receptores α -adrenérgicos	86
Figura 1.29- 3-[2-Bis(2'-cloroetil)-amino]etil-5,5-pentametileno-hidantóina (PENG <i>et al.</i> , 1975)	90
Figura 1.30- 5-(2-fenil-3'-indolal)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (SUZEN e BUYUKBINGOL, 2000)	90
Figura 1.31- Ácido carboxílico hidroxi-amina 1-[4-(flúor-fenoxi)-benzil]-2-oxo-imidazolidin-4-ona e o ácido carboxílico hidroxi-amina 1-[4-(naftaleno-2-il-oxi)-benzil]-2-oxo-imidazolidin-4-ona (ROBINSON <i>et al.</i> , 2001)	91
Figura 1.32- 5,5-Difenil-hidantóina e a 5-(p-clorofenil)-5-metil-hidantóina (LUTTERMOSER e BOND, 1954)	92
Figura 1.33- 5-(2,4,5-Triclorofenil)-imidazolidina-2,4-diona e a 1-(5-nitro-tiofeno-3-il)-imidazolidin-2-tiona (WERBEL <i>et al.</i> , 1977;	92

BENAZET e LEROY, 1974)

Figura 1.34- Estrutura dos derivados tioxo-imidazolidinicos (ALBUQUERQUE <i>et al.</i> , 2005)	95
Figura 1.35- Alantofina (BATEMAN, 1980 <i>apud</i> : ROSSI <i>et al.</i> , 1965)	95
Figura 1.36- Derivados 1-(benzilideno-amino)-3-ciclo-hexil-2-tioxo-imidazolidina-4,5-diona (OZKIRIMLI e HAMALI, 1995)	96
Figura 1.37- Derivados 2-substituídos-6-flúor-2,3-diidrospiro [4H-1-benzopirano-4,4'-imidazolidina-2',5'-dionas (YAMAGUCHI <i>et al.</i> , 1994)	97
Figura 1.38- Derivados da imidacloprida (NISHIMURA <i>et al.</i> , 1998)	97
Figura 1.39- Estrutura química dos derivados ativos frente a promastigotas de <i>Leishmania (L) mexicana</i> e de <i>Leishmania infantum</i> (ROBERT <i>et al.</i> , 2003)	98
Figura 1.40- Compostos sintetizados ativos frente ao <i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i> (DARDONVILLE e BRUN, 2004)	99
Figura 2.1- Espectro no infravermelho da 5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT-12)	120
Figura 2.2- Espectro no infravermelho da 1-metil-5-(4-metil-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT-14)	121
Figura 2.3- Espectro no infravermelho da 5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT-15)	122
Figura 2.4- Espectro no infravermelho da 3-benzil-5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-53)	123
Figura 2.5- Espectro no infravermelho da 3-benzil-5-(4-metil-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-63)	124
Figura 2.6- Espectro no infravermelho da 3-benzil-5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-68)	125
Figura 2.7- Espectro no infravermelho da 3-(4-cloro-benzil)-5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-69)	126
Figura 2.8- Espectro no infravermelho da 3-(4-fenil-benzil)- 5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-72)	127

Figura 2.9- Espectro de ressonância nuclear de hidrogênio da 5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT-12)	131
Figura 2.10- Espectro de ressonância nuclear de hidrogênio da 5-(4-metil-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT-14)	132
Figura 2.11- Espectro de ressonância nuclear de hidrogênio da 5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT-15)	133
Figura 2.12- Espectro de ressonância nuclear de hidrogênio da 3-benzil-5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-53)	134
Figura 2.13- Espectro de ressonância nuclear de hidrogênio da 3-benzil-5-(4-metil-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-63)	135
Figura 2.14- Espectro de ressonância nuclear de hidrogênio da 3-benzil-5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-68)	136
Figura 2.15- Espectro de ressonância nuclear de hidrogênio da 3-(4-cloro-benzil)-5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-69)	137
Figura 2.16- Espectro de ressonância nuclear de hidrogênio da 3-(4-fenil-benzil)-5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-72)	138
Figura 2.17- Espectro de massa da 5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT-12)	149
Figura 2.18- Espectro de massa da 5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT-15)	150
Figura 2.19- Espectro de massas da 3-benzil-5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-53)	151
Figura 2.20- Espectro de massas da 3-benzil-5-(4-metil-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-63)	152
Figura 2.21- Espectro de massas da 3-benzil-5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-68)	153
Figura 2.22- Espectro de massas da 3-(4-cloro-benzil)-5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-69)	154

Figura 2.23- Espectro de massas da 3-(4-fenil-benzil)- 5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-72)	155
Figura 3.1- Cinética de mortalidade de vermes adultos de <i>Schistosoma mansoni</i> durante oito dias de cultura (RPMI 1640), em presença das 2-tioxo-imidazolidin-4-onas: JT-53 , JT-63 , JT-68 , JT-69 e JT-72	163
Figura 3.2- Coeficiente de partição dos compostos JT-68 , JT-69 e JT-72 calculados pelo método de Igor V. Tetko e Vsevolod Yo Tanchuk, http://146.107.217.178/acs/acs_alogps.pdf	165
Figura 3.3- Coeficiente de partição dos compostos JT-53 , JT-63 e JT-68 calculados pelo método de Igor V. Tetko e Vsevolod Yo Tanchuk, http://146.107.217.178/acs/acs_alogps.pdf	166

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1- Derivados da 5-benzilideno-imidazolidina-2,4-diona que apresentaram melhor atividade anticonvulsivante (THENMOZHIYAL <i>et al.</i> , 2004)	77
Tabela 1.2- Estrutura química dos derivados imidazolidinicos (DARDONVILLE <i>et al.</i> , 2000)	87
Tabela 1.3- Estrutura química dos derivados imidazolidinicos sintetizados (DYLAG <i>et al.</i> , 2004)	88
Tabela 1.4- Estrutura dos derivados imidazolidinônicos sintetizados por Oliveira e colaboradores	93
Tabela 1.5- Percentagem de ovos em 1 g de fragmento intestinal de camundongos fêmeas sob ação da imidazolidina 5, na dose única de 50 mg/Kg e na dose de 10 mg/Kg, a cada 24 horas durante cinco dias e administrada pelas vias oral (VO) e intraperitoneal (IP)	94
Tabela 2.1- Freqüências de absorção no infravermelho, em cm^{-1} , dos derivados 5-benzilideno-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (HT)	118
Tabela 2.2- Freqüências de absorção no infravermelho, em cm^{-1} , dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT)	119
Tabela 2.3- Deslocamentos químicos (δ) em ppm dos derivados 5-benzilideno-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT)	129
Tabela 2.4- Deslocamentos químicos (δ) em ppm das 3-benzil-5-benzilideno-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (JT)	130
Tabela 2.5- Principais fragmentações e intensidades relativas dos derivados 5-benzilideno-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (HT)	140
Tabela 2.6- Principais fragmentações e intensidades relativas dos derivados da 3-benzil-5-benzilideno-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT)	141

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1.1- Ordem crescente de acidez dos derivados imidazolidínicos	62
Esquema 1.2- Obtenção da imidazolidina-2,4-diona (BAYER, 1861 <i>apud</i> FINKBEINER, 1965)	63
Esquema 1.3- Obtenção da imidazolidina-2,4-diona a partir de éster etílico de glicina, e cianato de potássio (HARRIES e WEISS 1900 <i>apud</i> WARE, 1950)	63
Esquema 1.4- Obtenção da imidazolidina-2,4-diona a partir de sarcosina e cianato de potássio (MILLER e ROBSON, 1938 <i>apud</i> WARE, 1950)	64
Esquema 1.5- Obtenção da 1-fenil-imidazolidina-2,4-diona a partir de anilina, ácido cloroacético e uréia (KOCHKANYAN <i>et al.</i> , 1978)	64
Esquema 1.6- Obtenção da 1,3-difenil-imidazolidina-2,4-diona a partir de ácido cloroacético, anilina e N-fenil-uréia (KOCHKANYAN <i>et al.</i> , 1978)	65
Esquema 1.7- Obtenção da 3-fenil-1-metil-imidazolidina-2,4-diona a partir de sarcosina e isocosina e isocianato de fenila (FINKBEINER, 1965; CEGAN e VECERA, 1984)	65
Esquema 1.8- Obtenção da 5,5-di- <i>n</i> -propil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona utiliza como produto de partida a di- <i>n</i> -propilcetona (LEMPERT <i>et al.</i> , 1962)	67
Esquema 1.9- Obtenção da 3-fenil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona a partir do isotiocianato de fenila (BEYERMAN <i>et al.</i> , 1968)	67
Esquema 1.10- Obtenção da 5-isopropileno-2,4-ditioxo-imidazolidina a partir da 2,4-ditioxo-imidazolidina e acetona (COOK <i>et al.</i> , 1948)	68
Esquema 1.11- Obtenção da 5-benzilideno-1,3-dimetil-2-tioxo-imidazolidin-4-oxazina) a partir da 2-tioxo-imidazolidin-4-ona, benzaldeído e terahidro-1,4-oxazina (COOK e COX, 1949 <i>apud</i> EDEWARD, 1966)	68
Esquema 1.12- Condensação da 2-tioxo-imidazolidin-4-onas catalisada por base e ácido, respectivamente (EDWARD, 1966)	69

Esquema 1.13- Reações da 3-fenil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona com derivados cinamonitrilas (DABOUN <i>et al.</i> , 1982)	70
Esquema 1.14- Reação da 1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona com a 3,5-diterc-butil-4-hidroxi-benzaldeído (UNANGST <i>et al.</i> , 1993 e 1994)	70
Esquema 2.1- Esquema geral de obtenção dos derivados 2-tioxo-imidazolidinônicos	103
Esquema 2.2- Mecanismo reacional de obtenção da 1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT-1)	105
Esquema 2.3- Ionização do cianoacetato de etila	108
Esquema 2.4- Reação de condensação entre o benzaldeído e o cianacetato	108
Esquema 2.5- Formação dos derivados 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila (IP)	108
Esquema 2.6- Formação do carbânion da 2-tioxo-imidazolidin-4-ona	111
Esquema 2.7- Formação dos derivados da 5-benzilideno-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT)	112
Esquema 2.8- Formação do sal dos derivados da 5-benzilideno-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona	116
Esquema 2.9- Formação dos derivados da 3-benzil-5-benzilideno-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT)	116
Esquema 2.10- Principais vias de fragmentação propostas para 5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT-12)	142
Esquema 2.11- Principais vias de fragmentação propostas para 5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT-15)	143
Esquema 2.12- Principais vias de fragmentação propostas para 3-benzil-5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-53)	144
Esquema 2.13- Principais vias de fragmentação propostas para 3-benzil-5-(4-metil-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-63)	145

Esquema 2.14- Principais vias de fragmentação propostas para 3-benzil-5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-68)	146
Esquema 2.15- Principais vias de fragmentação propostas para 3-(4-cloro-benzil)-5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-69)	147
Esquema 2.16- Principais vias de fragmentação propostas para 3-(4-fenil-benzil)- 5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-72)	148

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

δ	Deslocamento químico
CAPES	Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior
CDCl ₃	Clorofórmico deuterado
d	Dubleto
dd	Duplo dubleto
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
DNDI	Drugs for Neglected Deaseses Initiative (Iniciativa de Drogas para Doenças Negligenciadas)
dt	Duplo tripleto
ED ₅₀	Dose Efetiva 50 %
Et	Etil
FM	Fórmula Molecular
GPIT	Grupo de Pesquisa em Inovação Terapêutica
HEPES	Sal sódico do ácido N-2-Hidroxietilpiperazina-N'-2-ácido etanosulfônico
iPr	Isopropil
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry (União Internacional de Química Pura e Aplicada)
IV	Espectroscopia no Infravermelho
J	Constante de acoplamento
LIKA	Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami
Log P (o/w)	Logaritmo do coeficiente de partição octanol/água
LPSF	Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos
m	Multiplete
M/z	massa/carga
Me	Metil
MES	Medida do eletrochoque máximo
MM	Massa Molecular
NCI	National Cancer Institute (Instituto Nacional de Câncer)

PF	Ponto de Fusão
q	Quadrupeto
QSAR	Quantitative Structure Activity Relationships (Relações Quantitativas Estrutura Química e Atividade)
Rdt	Rendimento
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMN13C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
RMN1H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
s	Singleto
t	Tripleto
TER	The Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (Programa Especial para Pesquisa e Treinamento em Doenças Tropicais)
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UV	Espectroscopia no Ultravioleta
WHO	World Health Organization (Organização Mundial de Saúde)

RESUMO

A esquistossomose, helmintíase largamente disseminada em todo o mundo, é causada por espécies do gênero *Schistosoma*. Segundo relatos da WHO, cerca de 200.000 pessoas morrem anualmente vítimas desta parasitose. A quimioterapia representa atualmente o maior instrumento para seu controle. Devido à ocorrência de isolados de *Schistosoma mansoni* resistentes ao único fármaco disponível, o praziquantel, o objetivo desse trabalho foi a busca de novos candidatos a fármacos esquistossomicidas através da síntese de novas 1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-onas: 3-benzil-5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT-53**), 3-benzil-1-metil-5-(4-metil-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT-63**), 3-benzil-1-metil-5-(4-metoxi-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT-68**), 3-(4-cloro-benzil)-1-metil-5-(4-metoxi-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT-69**) e 3-bifenil-4-ilmetil-1-metil-5-(4-metoxi-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT-72**) e também a avaliação da susceptibilidade *in vitro* do *S. mansoni*. Os compostos foram obtidos pela reação da 1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona com os ésteres de Cope em presença de piperidina, conduzindo aos derivados 5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-onas (**HT**). Estes reagiram com brometo de benzila substituído ou não, levando aos derivados imidazolidínicos (**JT**), os quais foram devidamente caracterizados por métodos convencionais de análise. Vermes adultos de *S. mansoni* mantidos em placas contendo meio de cultura apropriado foram submetidos às novas imidazolidinas nas concentrações de 80,5; 161,0; 322,0 e 644,0 μ M. A viabilidade dos vermes foi observada a cada 24 horas durante 8 dias, em microscópio invertido. Os resultados obtidos demonstraram que os parasitas foram sensíveis às substâncias nas concentrações indicadas, apresentando, além de elevados índices de mortalidade, modificações da atividade motora e alterações significativas no tegumento, ocasionando perda de sua integridade. Os resultados indicaram que as novas 1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-onas provocaram efeitos biológicos deletérios e irreversíveis em vermes adultos de *S. mansoni* e que a resposta biológica segue uma relação dose-dependente.

ABSTRACT

The Schistosomiasis, infection broadly disseminated all over the world, is caused by species of the genus *Schistosoma*. According to reports of WHO, about 200.000 people die annually victims of this parasitiasis. The chemotherapy represents the principal instrument now for her control. Due the occurrence of *Schistosoma mansoni* isolated resistant to the only available drug, praziquantel, the objective of that work was the research of new candidate schistosoma drug. for this reason, it was synthesized new 1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-ones: 3-benzyl-5-(3-fluorobenzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one (**JT-53**), 3-benzyl-1-methyl-5-(4-methyl-benzylidene)-2-thioxo-imidazolidin-4-one (**JT-63**), 3-benzyl-5-(4-methoxybenzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one (**JT-68**), 3-(4-chloro-benzyl)-5-(4-methoxy-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one (**JT-69**), and 3-biphenyl-4-ylmethyl-5-(4-methoxy-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one (**JT-72**) and evaluated the susceptibility *in vitro* of *S. mansoni*. The compounds had been gotten by the reaction of 1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one with esters of Cope in piperidine, leading to the derivatives 5-benzylidene-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one (**HT**). These had reacted with bromide of benzyl substituted or not, leading to the imidazolidines derivatives (**JT**) and characterized by conventional methods of analysis. Adult worms of *S. mansoni* maintained in dishes containing appropriate culture medium were submitted of the new imidazolidines at concentration of 80.5, 161.0, 322.0, and 644.0 μ M. The effect on the viability of worms was observed every 24 hours for 8 days in inverted microscope. The results obtained demonstrate that the parasites are sensitive to the drugs at related concentration, presenting, besides high mortality rate, modifications of the motor activity and significant alterations in the tegument, causing loss of your integrity. Our results indicate that the new 1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-ones provoked deleterious and irreversible biological effects in adult worms of *S. mansoni* and that the biological effects follow a dose-dependent relationship.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE TABELAS	
LISTA DE ESQUEMAS	
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO	25
OBJETIVOS	29
1. Geral	29
2. Específicos	29
CAPÍTULO 1	31
REVISÃO DA LITERATURA	31
1. Esquistossomose	32
1.1. Distribuição geográfica e dados epidemiológicos	33
1.2. Fisiopatogenia e controle	35
1.2.1. Morfologia	35
1.2.2. Ciclo biológico	37
1.2.3. Patologia	41
1.2.4. Diagnóstico	44
1.2.5. Quimioterapia	46
1.2.6. Vacinação	52
1.2.7. Profilaxia	53
1.3. Resistência parasitária	53
1.3.1. Resistência experimental	55
1.3.2. Resistência em populações	57
1.4. Avaliação da atividade esquistossomicida	59
2. Imidazolidinas: nomenclatura e propriedades físico-químicas	60
2.1. Nomenclatura	60
2.2. Reatividade	62

	23
2.2.1. Ciclização	66
2.2.2. Condensação	68
2.3. Caracterização estrutural	71
2.3.1. Espectroscopia no infravermelho	71
2.3.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio	72
2.3.3. Espectrometria de massas	72
3. Imidazolidinas: propriedades biológicas	73
3.1. Atividade anticonvulsivante	73
3.2. Atividade antimicrobiana	77
3.3. Atividade anti-hipertensiva	85
3.4. Atividade antineoplásica	89
3.5. Atividade esquistossomicida	91
3.6. Outras atividades	95
CAPÍTULO 2	100
SÍNTESE DE DERIVADOS 2-TIOXO-IMIDAZOLIDINÔNICOS	100
1. Material	101
1.1. Equipamentos	101
1.2. Reagentes e solventes	102
2. Metodologia	102
2.1. Obtenção da 1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT-1)	103
2.2. Obtenção dos derivados 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila (IP)	105
2.3. Obtenção dos derivados 5-benzilideno-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT)	109
2.4. Obtenção dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT)	112
3. Resultados e Discussão	117
3.1. Análise Espectroscópica	117
3.1.1. Espectroscopia no infravermelho	117
3.1.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de Hidrogênio	128

	24
3.1.3. Espectrometria de massas	139
3.2. Características configuracionais	156
CAPÍTULO 3	157
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE <i>IN VITRO</i> DE IMIDAZOLIDINAS EM VERMES DE <i>SCHISTOSOMA MANSONI</i>	157
1. Material	158
1.1. Equipamentos	158
1.2. Substâncias, meios de cultura e solventes	158
1.3. Material biológico	159
2. Metodologia	159
2.1. Obtenção de miracídios e infecção de moluscos <i>Biomphalaria glabrata</i>	159
2.2. Infecção de camundongos com cercárias de <i>Schistosoma mansoni</i>	160
2.3. Perfusão porta-hepática	160
2.4. Preparo do meio e das soluções para o cultivo de vermes adultos de <i>Schistosoma mansoni</i>	161
2.5. Avaliação da suscetibilidade <i>in vitro</i> do <i>Schistosoma mansoni</i>	161
3. Resultados e Discussão	162
CONCLUSÕES	167
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	170
ANEXOS	189

INTRODUÇÃO



INTRODUÇÃO

Desde os tempos remotos, o homem busca a cura para os diversos males, cujo tratamento acompanhou a evolução humana, podendo ser dividida em quatro fases principais: o uso de produtos oriundos da natureza, o isolamento de compostos orgânicos, a alteração molecular dos compostos orgânicos isolados para obtenção de medicamentos sintéticos e a obtenção de medicamentos por planejamento racional (MONTANARI, 1995). Atualmente, 85 % dos fármacos utilizados na terapêutica são de origem sintética, encontrando-se fora deste percentual os semi-sintéticos, ou seja, fármacos obtidos a partir de fontes naturais, mas que sofreram alterações na molécula original (BARREIRO e FRAGA, 2001).

A esquistossomose, doença que apresenta 200 milhões de pessoas infectadas no mundo, apresenta um único fármaco de escolha recomendado pela Organização Mundial de Saúde para o tratamento de todas as espécies de schistosomas que infectam o homem, o praziquantel (WHO, 2003). Este fato reflete o panorama atual em que apenas 10 % dos gastos mundiais com pesquisa em saúde vão para doenças que representam 90 % das enfermidades registradas no mundo, os impactos socioeconômicos das doenças parasitárias nos países em desenvolvimento exigem que medidas sérias e continuadas sejam implementadas para o seu controle (CHAMPEY, 2003. *In*: Notícias MSF, 2003).

O praziquantel é um fármaco seguro e eficaz quando administrado em dose oral única ou fracionadas no mesmo dia, propriedade que torna o uso clínico do praziquantel adequado, principalmente para a quimioterapia de populações (HARDMAN *et al.*, 2003; WHO, 2004).

Embora não constando na lista dos fármacos de primeira escolha recomendados pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 2003), a oxamniquina é eficaz para tratamento das infecções pelo *S. mansoni* e o metrifonato tem sido usado com considerável sucesso no tratamento das infecções pelo *S. haematobium*, mas não é eficaz para o *S. mansoni* e o *S. japonicum* (HARDMAN *et al.*, 2003). Todavia há relatos de cepas resistentes a estes fármacos, seja experimentalmente (ROGERS e BUEDING, 1971; LIANG *et al.*, 2001), seja em populações (KATZ *et al.*, 1973; CAMPOS *et al.*, 1976; COLES *et al.*, 1987; STELMA *et al.*, 1995; GUISSÉ *et al.*, 1997; CIOLI 2000), fato de conseqüências gravíssimas que encoraja o desenvolvimento de novas moléculas contra esse parasita humano, inclusive por ser inadequada a situação de existir apenas um único fármaco para tratamento de uma determinada doença. É vital que substâncias de potencial propriedade esquistossomicida sejam avaliadas para, no mínimo, minimizar o problema da resistência, oportunizando tratamentos alternativos para controle e/ou erradicação desta parasitose.

Neste contexto, a Química Medicinal, área interdisciplinar do conhecimento científico baseada nos princípios da Química, com aplicação para as áreas de Biologia, Medicina e Ciências Farmacêuticas, tem por objetivo a invenção ou a

descoberta de compostos biologicamente ativos, através da identificação, do desenho estrutural e da síntese, além do estudo das propriedades físico-químicas, do metabolismo, do modo de ação a nível molecular e da construção de relações entre estrutura química e atividade biológica.

O presente trabalho, no âmbito da Química Medicinal, foi desenvolvido utilizando abordagem de duas importantes áreas do conhecimento: a Química Orgânica e a Biologia, especificadamente a Parasitologia. A parte química compreenderá a síntese, purificação, elucidação estrutural e determinação das características físico-químicas de cinco novas moléculas da série 3-benzil-5-benzilideno-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT**). Por sua vez, a biológica consistiu na investigação da atividade esquistossomicida destas moléculas através de método experimental *in vitro*.

OBJETIVOS



OBJETIVOS

1. Geral

O presente trabalho teve como proposta contribuir, no âmbito da Química Medicinal, no desenvolvimento de novas moléculas candidatas a fármacos para combate da esquistossomose.

2. Específicos

- Sintetizar novos derivados 2-tioxi-imidazolidin-4-onas: 3-benzil-5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT-53**), 3-benzil-1-metil-5-(4-metil-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT-63**), 3-benzil-1-metil-5-(4-metoxi-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT-68**), 3-(4-cloro-benzil)-1-metil-5-(4-metoxi-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT-69**) e 3-(4-fenil-benzil)-1-metil-5-(4-metoxi-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT-72**);
- Caracterizar estruturalmente pelos métodos espectroscópicos convencionais: infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênio e espectrometria de massa;
- Avaliar a toxicidade *in vitro* das novas moléculas imidazolidínicas frente a vermes adultos de *Schistosoma mansoni* (Cepa BH – Belo Horizonte).

CAPÍTULO 1



REVISÃO DA LITERATURA

1. Esquistossomose

A esquistossomose é causada por helmintos trematódeos do gênero *Schistosoma* que, para o homem, tem como principais agentes etiológicos as espécies *S. haematobium*, *S. japonicum*, *S. mekongi*, *S. intercalatum* e *S. mansoni*. O *S. haematobium* é encontrado em grande parte da África (principalmente Egito), dos Orientes Próximo e Médio. O *S. japonicum* apresenta distribuição geográfica abrangendo a China, Japão, Ilhas Filipinas e sudoeste asiático. O *S. mekongi* encontrado no vale do rio Mekong, no Camboja. O *S. intercalatum* encontrado no interior da África Central. O *S. mansoni* é a única espécie de interesse médico e sanitário nas Américas, encontrando-se também na África. Os parasitas podem causar infecções crônicas por longos períodos em seus hospedeiros humanos. A gravidade da doença depende, geralmente, da carga parasitária adquirida, da cepa do parasita, da idade, do estado nutricional e da resposta imunitária do indivíduo. Em muitos casos, conduz a um acentuado déficit orgânico, que pode resultar em invalidez ou morte (REY, 2001; NEVES *et al.*, 2003).

1.1. Distribuição geográfica e dados epidemiológicos

As esquistossomoses permanecem uma das mais prevalentes infecções parasitárias, apresentando graves consequências econômicas e de saúde pública. Embora a distribuição da doença tenha mudado nos últimos 50 anos, com projetos bem sucedidos de controle, no mundo, o número de pessoas infectadas ou em situação de risco permanece constante (SAVIOLI *et al.*, 1997; BLANCHARD, 2004).

Atualmente estima-se uma prevalência mundial de cerca de 200 milhões de pessoas infectadas, entre as quais 20 milhões desenvolvem a forma grave da doença e outras 600 milhões se encontram em áreas de risco. Apresenta-se como doença endêmica em 74 países em desenvolvimento (WHO, 2004) (Figura 1.1), sendo consideradas um dos mais graves problemas de saúde pública, em escala mundial, e um pesado ônus para as populações das áreas endêmicas (REY, 2001).

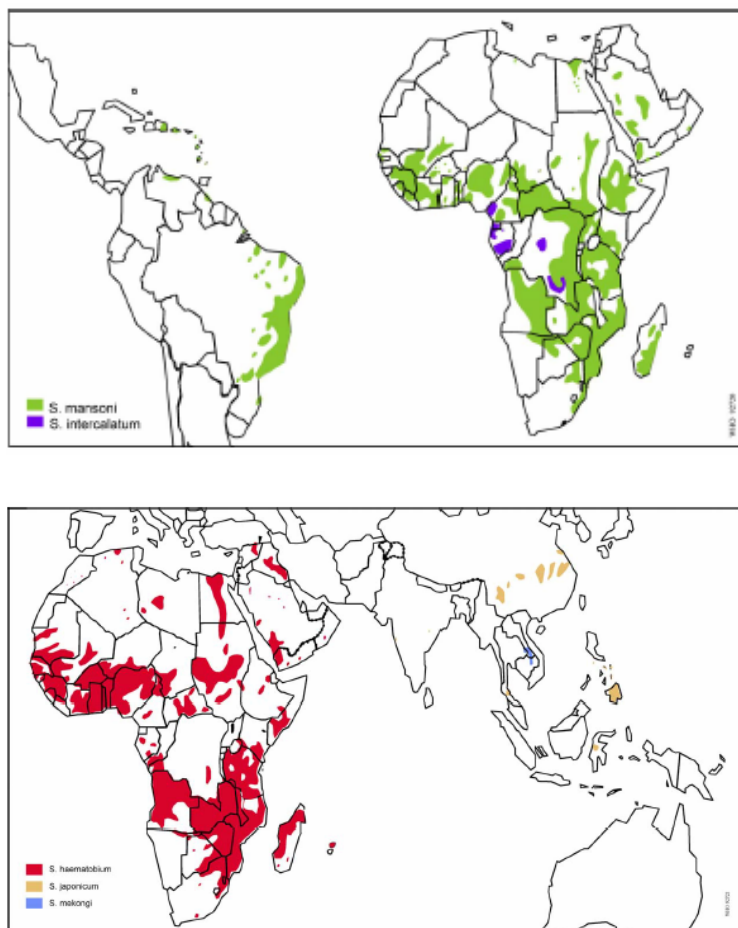


Figura 1.1- Distribuição geográfica das espécies de schistosoma com importância epidemiológica na medicina humana (Control of Schistosomiasis, WHO Technical Report Series 830, WHO Geneva 1993: images WHO 92720)

O *S. mansoni* afeta indivíduos na África, no Leste do Mediterrâneo, na América do Sul e no Caribe. No Brasil, esta doença se apresenta em franca expansão em consequência, principalmente, da migração de populações das regiões endêmicas rurais para áreas urbanas, dando um novo traçado aos focos

da doença. É encontrada desde o Estado do Rio Grande do Norte até Minas Gerais, compreendendo os Estados da Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia. Focos isolados da doença já foram assinalados nos estados acima, fora das áreas de maior prevalência, bem como em outros estados, tais como: Pará, Maranhão, Ceará, Rio de Janeiro, São Paulo, Goiás, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (XIMENES *et al.*, 2000). Estima-se que no Brasil existam 7,07 milhões de infectados e 35,02 milhões de indivíduos em áreas de risco (CHITSULO *et al.*, 2000).

1.2. Fisiopatogenia e controle

1.2.1. Morfologia

Os schistosomas são helmintos dióicos. Os vermes adultos machos de *S. mansoni* medem cerca de 1cm de comprimento (0,6 e 1,2 cm) por 0,11 cm de largura e sua cor é branca. As fêmeas têm o corpo cilíndrico, mais longo e mais fino que o macho entre 1,2 e 1,6 cm por 0,016 cm de diâmetro (Figura 1.2). São providos de ventosas, principais características dos trematódeos. Na extremidade anterior se encontra uma ventosa oral, afunilada, e a pequena distância desta uma segunda ventosa, pedunculada, a ventosa ventral, também denominada acetábulo. O aparelho digestivo tem início com a ventosa oral através do esôfago. Na altura do acetábulo, o tubo digestivo se bifurca e, quando alcança o terço médio do corpo, reúne-se em um único ceco (REY, 2001; NEVES *et al.*, 2003).



Figura 1.2- Vermes adultos de *Schistosoma mansoni* (University of Technology Clinical Parasitology Collection, Dr Peter Darben)

O macho apresenta a porção posterior do corpo achatado no sentido dorso-ventral, o qual se enrola longitudinalmente formando uma fenda, conhecida como canal ginecóforo, cuja finalidade está em albergar a fêmea e fecundá-la. O aparelho genital masculino é formado por seis a oito massas testiculares pequenas, localizadas por trás do acetábulo, unidas por pequenos canais eferentes, a um canal deferente único, o qual forma a vesícula seminal, que se abre no início do canal ginecóforo, não havendo órgão copulador (REY, 2001; NEVES *et al.*, 2003).

Na metade anterior do corpo, seguindo o acetábulo, dos vermes fêmeas tem-se a vulva, depois o útero e o ovário, na metade posterior se encontra a glândula vitelogênica e o ceco (MALAGUEÑO e SANTANA, 1994).

O revestimento externo dos vermes adultos é formado por uma citomembrana que mostra, na microscopia eletrônica, possuir sete camadas (heptalaminar) constituída de pregas ligadas aos canais tubulares, provavelmente implicadas na absorção dos nutrientes e, na superfície exterior, apresenta uma camada poliônica, constituindo o glicocálix, rico em carboidratos. Esse revestimento encontra-se em continuo processo de renovação, pois enquanto a camada superficial se descama, outra nova está sempre em formação internamente (SIMPSON *et al.*, 1981). O tegumento exibe grande quantidade de pequenos tubérculos repletos de espinhos em sua superfície, mais abundante na superfície dorsal (externa) do segmento posterior. Tais tubérculos estão ausentes no canal ginecóforo e também nas fêmeas. As fêmeas apresentam muitos espinhos na porção posterior final e na porção anterior (MILLER *et al.*, 1972).

O processo de síntese e reparo da membrana plasmática apical, e do envelope subjacente são considerados a principal proteção dos vermes em resposta aos danos causados pelos componentes imunes do hospedeiro (CAPRON *et al.*, 1982).

1.2.2. Ciclo biológico

O *S. mansoni* desenvolve um ciclo evolutivo do tipo heteroxênico, com passagem de formas evolutivas em dois hospedeiros: um definitivo, o homem ou

alguns vertebrados, onde se processa a reprodução sexuada, e outro, o hospedeiro intermediário, moluscos do gênero *Biomphalaria*, no qual se observa a reprodução assexuada. O meio aquático é um ambiente obrigatório na evolução do parasito e onde são encontradas as formas infectantes para ambos os hospedeiros (figura 1.3) (PESSÔA e MARTINS, 1977).

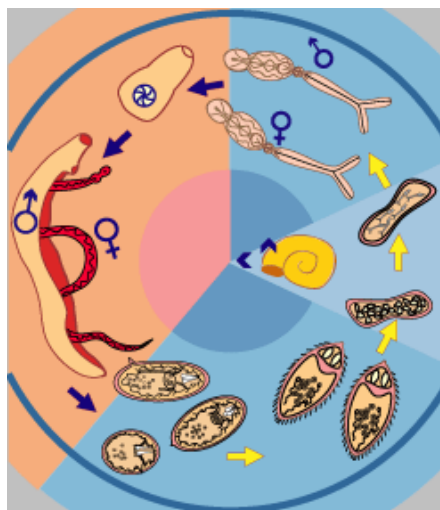


Figura 1.3- Ciclo biológico dos schistosomas (TDR / Wellcome Trust)

Os hospedeiros intermediários do *S. mansoni* são moluscos pulmonados de água doce, hermafroditas, pertencentes a família Planorbidae, caracterizada por ter a concha enrolada em espiral plana e, por essa razão, conhecidos por planorbídeos. Das várias espécies de moluscos *Biomphalaria* existentes em nosso meio só três são capazes de se infectarem com o *S. mansoni*: *B. glabrata*, *B. straminea* e *B. tenagophila*. Estes planorbídeos criam-se e vivem em coleções aquáticas onde há pouca correnteza, alimentando-se da vegetação aquática, algas e restos de vegetais mortos. A partir de 30 dias de idade, o molusco atinge a

maturidade sexual e ovipõe. Os ovos são contidos em massas gelatinosas denominadas desovas, as quais podem conter até mais de 100 unidades (MALAGUEÑO e SANTANA, 1994).

No hospedeiro definitivo, os vermes adultos de *S. mansoni* habitam o sistema porta-hepático. Os schistosomas adultos acasalam-se antes da maturação reprodutiva da fêmea, permanecendo nestas condições pelo resto da vida. O completo crescimento da fêmea, a morfogênese reprodutiva, e a manutenção da respectiva função reprodutiva, está na dependência desta associação. O pareamento é também um pré-requisito para migração dos vermes da veia porta-hepática para as veias mesentéricas (POPIEL, 1986).

Na veia mesentérica inferior, principalmente ao nível da parede intestinal do plexo hemorroidário superior, ocorre a postura dos ovos. Cada fêmea, com idade de até dois anos, põe cerca de 400 ovos por dia. Os ovos são postos na submucosa intestinal. Neste momento, eles são imaturos e gradativamente atingem a maturidade, a medida que o saco embrionário evolui para dar origem ao miracídio, larva ovalada ciliada, que caracteriza o ovo maduro (COELHO, 1970). Durante o processo de maturação, os ovos avançam em direção à luz intestinal em um período que perdura, de um mínimo de seis, a um máximo de vinte dias.

Os ovos maduros que não alcançam a luz intestinal sofrem com a morte dos miracídios, podendo ficar presos na mucosa intestinal. Como a postura nem sempre se dá na intimidade da mucosa do intestino, muitos ovos são arrastados

através da corrente sangüínea para o fígado e o baço, iniciando assim o processo inflamatório granulomatoso nesses órgãos. Aqueles que galgam até a luz do intestino, chegam ao exterior junto com o bolo fecal. Quando em contato com o meio aquático, e estimulados por fatores ambientais, como temperatura em torno de 28°C, luminosidade solar intensa e oxigenação da água, os ovos libertam o miracídio (STANDEN, 1952).

Os miracídios nadam ativamente em busca de hospedeiros intermediários, nestes transformam-se em esporocistos de primeiro estágio, os quais por reprodução assexuada dão de 150 a 200 esporocistos secundários, que migram para as glândulas digestivas e ovoteste, originam numerosas larvas denominadas cercárias. Após um mês de infecção do molusco, por este processo de expansão clonal, cerca de 100.000 cercárias são produzidas originárias de um único miracídio. A emergência das cercárias ocorre sob efeito da temperatura e luminosidade. Desta forma, nas horas mais quentes e mais luminosas do dia se verificam picos mais elevados de liberação cercariana. As cercárias vivem por até 48 horas, apresentando maior atividade nas primeiras 8 horas de vida. As cercárias nadam ativamente e quando alcançam a pele do homem, fixam-se de preferência nos folículos pilosos apoiando-se pela ventosa oral. Em seguida, através de ação lítica das glândulas de penetração e ação mecânica em função de movimentos vibratórios intensos, promovem a penetração do corpo cercariano e a concomitante perda da cauda (REY, 2001).

Após a penetração, as larvas resultantes, denominadas esquistossômulos, migram pelo tecido subcutâneo e penetram na circulação sanguínea, havendo também a possibilidade de migração por via linfática. Os esquistossômulos se dirigem para o sistema porta-hepático, local onde se desenvolvem, transformando-se em vermes adultos 30 dias após a penetração. Daí migram, acasalados, para o território da veia mesentérica inferior onde farão oviposição. Os primeiros ovos são vistos nas fezes em torno de 40 dias após a infecção do hospedeiro. Desta forma, resumidamente, está instalada a doença (REY, 2001; NEVES *et al.*, 2003).

1.2.3. Patologia

As lesões que ocorrem no organismo parasitado pelo *S. mansoni* são decorrentes, tanto da agressão direta do parasito ou de seus elementos, quanto da resposta do hospedeiro a tais agressões (PRATA, 1996 *apud* VERONESI, 1996). Adicionalmente, a intensidade do processo patológico no organismo do hospedeiro varia consideravelmente de acordo com uma série de circunstâncias, tais como a linhagem do parasito, a carga parasitária infectante, a frequência com que ocorrem as infecções, a idade, o estado nutricional e a resposta imunológica do hospedeiro, a carga parasitária acumulada ao longo dos anos e a duração da infecção. Entre estes, a carga parasitária, a linhagem do parasita e a resposta imunológica do individuo são considerados os fatores mais importantes. As alterações patológicas no hospedeiro são estabelecidas à medida em que se dá a evolução biológica do parasito (REY, 2001; NEVES *et al.*, 2003).

A cercária ao penetrar na pele do hospedeiro causa a dermatite cercariana, que é caracterizada por “sensação de comichão”, erupção urticariforme e é seguida, dentro de 24 horas, por eritema, edema, pequenas “pápulas de dor” e em geral, mais intensa nas reinfecções (REY, 2001; NEVES *et al.*, 2003). Cerca de três dias após a penetração das cercárias na pele, os esquistossômulos durante a sua migração da circulação sangüínea até atingir o sistema porta-hepático podem promover linfadenia generalizada, febre, aumento volumétrico do baço e sintomas pulmonares, mas não raro, há pacientes assintomáticos (PEDROSO, 1989).

Os vermes permanecem por longos períodos principalmente nos ramos intra-hepáticos do sistema porta e veia mesentérica inferior e aí permanecem por longos anos e não produzem lesão de monta. Já os vermes mortos podem provocar lesões extensas, embora circunscritas. São também responsáveis por ocasionar espoliações no hospedeiro devido ao seu alto grau de metabolismo. (REY, 2001; NEVES *et al.*, 2003).

Os ovos são os elementos fundamentais da patogenia da esquistossomose. Quando apenas um pequeno número de ovos viáveis consegue atingir a luz intestinal, as lesões produzidas são mínimas, com reparação tecidual rápida; quando em grande número, podem provocar hemorragias, edemas da submucosa e fenômenos degenerativos, com formações ulcerativas pequenas e superficiais. Os ovos que atingem o fígado, lá permanecem e causam as alterações mais importantes da doença. O antígeno solúvel, excretado pelo poro do ovo vivo,

provoca a reação inflamatória granulomatosa. Os granulomas apresentam, durante o seu desenvolvimento três fases: a) necrótica-exsudativa, com o aparecimento de uma zona de necrose em volta do ovo, circundada por exsudato de eosinófilos, neutrofilos e histiócitos; b) produtiva ou de reação histiocitária, com início de reparação da área necrosada e a c) de cura ou fibrose, na qual o granuloma, endurecido, é denominado nódulo que em seguida poderá haver calcificação do ovo ou mesmo absorção e desaparecimento do granuloma (POLAK *et al.*, 1959; PRATA 1996 *apud* VERONESI, 1996).

A fase inicial da doença, também denominada de fase aguda, é caracterizada por sudorese, calafrios, emagrecimento, fenômenos alérgicos, diarreia, disenteria, cólicas, hepatoesplenomegalia discreta, linfadenia, leucocitose com eosinofilia, aumento das globulinas e alterações discretas das funções hepáticas (transaminases). Pode haver até mesmo a morte do paciente na fase toxêmica ou, então, como ocorre com a maioria dos casos, evoluir para a esquistossomose crônica, cuja evolução é lenta (ANDRADE e ANDRADE, 1984 *apud* CONCEIÇÃO *et al.*, 1998).

A esquistossomose crônica pode apresentar grandes variações clínicas, dependendo de serem as alterações predominantemente intestinais, hepatointestinais ou hepatoesplênicas. As principais alterações no intestino são: a) diarreia mucosanguinolenta; devido à passagem simultânea de vários ovos para a luz intestinal, ocasionando pequenas (mas numerosas) hemorragias e edema, b) dor abdominal e c) tenesmo. Nos casos crônicos graves pode haver fibrose da alça

retossigmóide, levando à diminuição do peristaltismo e constipação intestinal. O fígado se mostra aumentado de volume e bastante doloroso a palpação (POLAK *et al.*, 1959). Os granulomas hepáticos irão causar uma fibrose periportal, a qual provocará obstrução dos ramos intra-hepáticos da veia porta, que levará a hipertensão portal. Essa hipertensão poderá intensificar-se com a evolução da doença, causando uma série de alterações que seriam as seguintes: a) esplenomegalia; b) desenvolvimento da circulação colateral anormal intra-hepática e de anastomoses do plexo hemorroidário, umbigo, região inguinal e esôfago, numa tentativa de compensar a circulação portal obstruída e diminuir a hipertensão portal, que leva a formação de “varizes esofagianas” que podem romper-se, provocando hemorragia, muitas vezes fatal e c) ascite (Barriga d’ água) que decorre das alterações hemodinâmicas, principalmente a hipertensão (PRATA 1996 *apud* VERONESI, 1996).

1.2.4. Diagnóstico

Em função da inespecificidade e da inconstância dos sinais e sintomas da esquistossomose, somente provas laboratoriais podem fornecer elementos seguros para justificar o diagnóstico. São disponíveis dois tipos de exames: demonstração da presença de ovos nas fezes ou nos tecidos do paciente e a realização de provas imunológicas (REY, 2001; NEVES *et al.*, 2003).

O exame de fezes pode ser feito utilizando-se o método preconizado por Hoffman (HOFFMAN *et al.*, 1934), o qual representa uma técnica qualitativa de

sedimentação espontânea. O método de Kato-Katz é uma técnica quantitativa que indica o número de ovos por grama de fezes, informando, desta forma, a intensidade da infecção (KATZ *et al.*, 1972).

As técnicas imunológicas medem a resposta do organismo do hospedeiro frente aos antígenos do parasito. Em função da complexidade da composição antigênica do *S. mansoni* nas suas diversas fases de evolução, torna-se necessário determinar quais dos antígenos têm importância em determinada fase da infecção, para então ser utilizado nas reações sorológicas (REY, 2001; NEVES *et al.*, 2003).

Várias técnicas imunológicas são disponíveis, entre elas: reação intradérmica ou intradermorreação; reação de fixação do complemento; reação de hemaglutinação indireta; radioimunoensaio; reação de imunofluorescência indireta; método imunoenzimático ou ELISA; técnica imunoenzimática para detecção de antígenos parasitários circulantes (ELISA de captura ou sanduíche); reação em cadeia – polimerase (PCR Polimerase Chain Reaction), apenas a reação intradérmica utiliza equipamentos simples que permitem a sua utilização no campo (NEVES *et al.*, 2003).

A ocorrência de reações cruzadas, principalmente com outras helmintoses, e a impossibilidade de detectar a intensidade da infecção deixam as técnicas sorológicas em segundo plano no diagnóstico da esquistossomose sendo o exame parasitológico o mais largamente aplicado (REY, 2001).

1.2.5. Quimioterapia

Os primeiros compostos a serem utilizados no combate da esquistossomose, relatados desde a antigüidade em papiros médicos com o nome *msdmt* e indicados para o tratamento da hematúria, provavelmente causada pelo *S. haematobium*, são os compostos de antimônio. Mas somente em 1918 Christopherson relatou o tratamento com antimônio, o tártaro emético (tartarato de antimônio com potássio) (Figura 1.4), iniciando então a quimioterapia contra a esquistossomose. Durante cinquenta anos os compostos antimoniais compuseram o arsenal da quimioterapia esquistossomicida, mas a intensidade dos efeitos colaterais os tornaram obsoletos. Estes incluíam sérias reações como desconforto subesternal, sintomas anafilactóides e síncope cardiovascular fatal. Além destes, dores severas ocorriam se a droga acidentalmente escapasse para o tecido perivascular com possível subsequente ulceração da pele. Desta forma, muitos pacientes abandonavam a terapia por falta de tolerância e/ou obediência (CIOLI *et al.*, 1995).

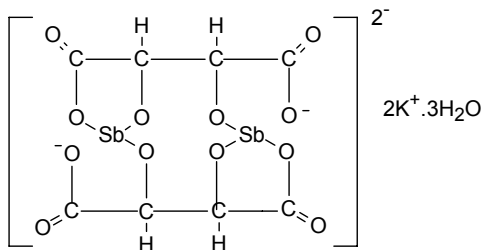


Figura 1.4- Tártaro emético

Em 1920, um segundo fármaco, a emetina, foi utilizada no tratamento do *S. japonicum*. Esta droga apesar de ter apresentado boa eficácia, demonstrou baixo índice terapêutico. Um breve renascimento à quimioterapia esquistossomícida foi trazido com a introdução de um análogo estrutural da emetina, a 2,3-di-hidroemetina (Figura 1.5), cuja toxicidade correspondia à metade daquela apresentada pelo composto protótipo. Todavia a administração exigia hospitalização com injeções diárias, o que levou ao abandono da droga como agente esquistossomícida (CIOLI *et al.*, 1995).

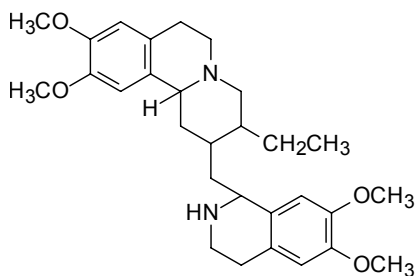


Figura 1.5- 2,3-Di-hidroemetina

O metrifonato, ácido dimetil-éster 2,2,2-tricloro-1-hidroxietil fosfônico (Figura 1.6), obtido da purificação do triclorfon, um organofosforado que foi introduzido na clínica em 1960 mostrando uma consistente atividade sobre *S. haematobium*. O metrifonato é instável em solução aquosa sendo espontaneamente transformado em vários compostos, entre eles tem-se o diclorvos, 2,2-diclorovinil dimetil fosfato (Figura 1.6), onde evidências sugerem que este composto é a molécula que possui atividade frente ao *S. haematobium*, atuando como um pró-fármaco, além de ser uma droga bem tolerada como veículo e podendo ser utilizada em formulações de liberação lenta (NORDGREN *et al.*, 1980).

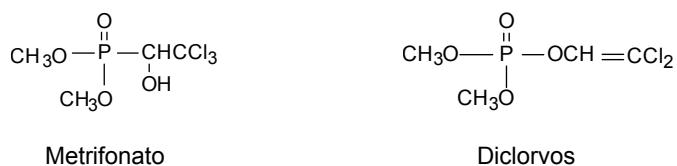


Figura 1.6- Exemplos de fármacos esquistossomicidas

Os nitrofuranos, fármacos inicialmente utilizadas na bacteriologia, tiveram sua atividade esquistossomicida explorada a partir de 1962 por pesquisadores chineses que estudavam indivíduos e animais infectados com *S. japonicum*. Um dos derivados nitrofuranos é o furopromidium que foi amplamente utilizado na China, mas a toxicidade e a baixa eficácia destes compostos, deixou no abandono esta classe de fármacos (CIOLI *et al.*, 1995).

O lucantone, ou 1-[2-(dietilamino)-etilamino]-4-metil-9*H*-tiofanten-9-ona (Figura 1.7), foi introduzido na clínica em 1962, ativo frente ao *S. mansoni* e ao *S. haematobium* com efeitos colaterais freqüentes limitados a náusea e vômitos, mas alterações cardiovasculares e no SNC ocorriam ocasionalmente limitando o seu uso (CIOLI *et al.*, 1995).

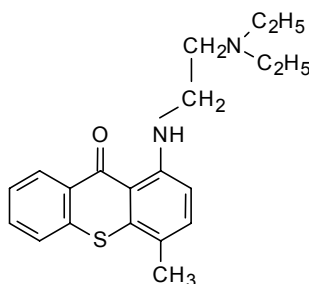


Figura 1.7- Lucantone

Em 1964 um outro fármaco foi introduzido no mercado, o niridazol, 1-(5-nitro-2-tiazolil)-imidazolidin-2-ona (Figura 1.8), este recebeu considerável atenção, certamente por constituir uma outra alternativa, apresentando a vantagem de ser administrado oralmente; mas por outro lado apresentou sérias desvantagens, tais como a necessidade de múltiplas doses e a ocorrência de graves efeitos colaterais como a toxicidade central e renal, mutagenicidade, carcinogenicidade, embriotoxicidade e imunossupressão celular (WEBSTER Jr. *et al.*, 1975). As três espécies principais de schistosoma mostraram-se sensíveis ao niridazol, mas as melhores taxas de cura foram encontradas com o *S. haematobium*, 80-100 %,

enquanto que a resposta ao *S. mansoni* foi de 30-70 % e ao *S. japonicum* era em torno de 50 % (CIOLI *et al.*, 1995).

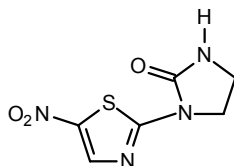


Figura 1.8- Niridazol

Após a exposição do lucantone à ação do *Aspergillus sclerotiorum*, um derivado 4-hidroximetil foi isolado e nomeado de hicantone, o 1-[2-(dietilamino)-etilamino]-4-hidroximetil-9H-tioxanten-9-ona (Figura 1.9), ativo frente ao *S. haematobium* e ao *S. mansoni* (ROSSI *et al.*, 1965). Por outro lado, a necrose hepática aguda ocorrida 2 a 5 dias após tratamento com hicantone foi o efeito colateral que limitou o seu uso, principalmente em programas de tratamento de populações (CIOLI *et al.*, 1995).

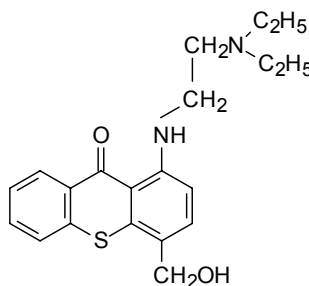


Figura 1.9- Hicantone

Um produto da oxidação microbiológica do UK3883 pelo *Aspergillus sclerotiorum*, o oxamniquina, 6-hidroximetil-2-isopropilaminometil-7-nitro-1,2,3,4,-tetra-hidroquinolina (Figura 1.10), é utilizado como fármaco de segunda escolha para o tratamento do *S. mansoni*, apresentando baixos efeitos colaterais (HARDMAN *et al.*, 2003).

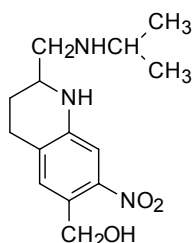


Figura 1.10- Oxamniquine

Atualmente o fármaco de escolha para o tratamento desta parasitose é o praziquantel ou o 2-ciclo-hexilcarbonil-1,2,3,6,7,11b-hexa-hidro-4*H*-pirazino-[2,1-a]isoquinolin-4-ona (Figura 1.11), por diversas razões como: a) alta eficácia contra todas espécies de *Schistosoma*, b) ausência de efeitos colaterais sérios, c) administração de dose oral única, d) custo competitivo e e) larga experiência clínica mostrando que ele é seguro, efetivo e fácil de administrar (CIOLI *et al.*, 1995).

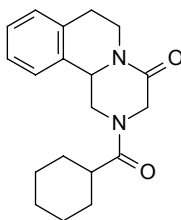


Figura 1.11- Praziquantel

1.2.6. Vacinação

Muitos dos antígenos que continuam sendo testados hoje como possíveis vacinas contra *Schistosoma* foram identificados a uma década atrás (PEARCE, 2003). A Organização Mundial de Saúde selecionou seis antígenos como possíveis candidatos para o desenvolvimento de uma vacina a ser empregada na esquistossomose humana: a) Glutathione S-transferase (GST 28 quilodáltons), b) Paramosina (Sm 97 quilodáltons), c) IrV5^a (65 quilodáltons), d) Triose Phosphatase Isomerase (TPI-Peptídeo sintético MAP4 de 28 quilodáltons), e) Sm 23 (23 quilodáltons) e f) o Sm 14 (14 quilodáltons) (BERGQUIST, 1998; BERGQUIST e COLLEY, 1998). Estes antígenos são representados por duas enzimas, dois antígenos de tecido muscular e dois de proteínas de superfície do parasito. Infelizmente, testes conduzidos por diferentes laboratórios mostraram resultados desapontadores (BERGQUIST, 1998). Todos os experimentos com vacinas para *S. mansoni* tem induzido apenas uma resistência parcial a infecção (PEARCE, 2003).

1.2.7. Profilaxia

As manifestações ambientais produzidas pela a atividade humana favorecem a proliferação dos caramujos transmissores da esquistossomose, presentes em uma vasta área do território nacional, doença que tem no homem seu principal hospedeiro definitivo. As condições inadequadas de saneamento básico, padrão sócio-econômico precário que atinge a maioria da população brasileira, são os principais fatores responsáveis pela presença de focos de transmissão. Ligada às intensas migrações, ou seja, êxodo rural, das populações carentes das áreas endêmicas à procura de emprego ou melhoria de condições de vida, aponta fortemente para a formação de novos focos de transmissão. Essas considerações só permitem a interferência de que o controle e a erradicação da doença no Brasil, se situam em futuro remoto. As medidas de profilaxia gerais são: a) tratamento da população em larga escala; b) saneamento básico que é sem dúvida, à medida que resulta em benefícios duradouros para a comunidade e c) combate aos caramujos transmissores (NEVES *et al.*, 2003).

1.3. Resistência parasitária

Populações de parasitas submetidos a um fármaco podem desenvolver resistência que, normalmente é transmitida geneticamente para as gerações seguintes. Desta forma, em populações geneticamente heterogêneas o

quimioterápico elimina unicamente os vermes susceptíveis, conduzindo a um aumento de vermes carregando genes que conferem a resistência ao fármaco e que passa a difundi-la pela sua descendência. A cada geração os genes que conferem a resistência se acumulam levando a uma população considerável de vermes que sobreviveram aos tratamentos (KÖHLER, 2001). Desta forma, a resistência é usualmente definida como perda, geneticamente transmitida, da sensibilidade em uma população de parasitos que era previamente sensível a uma determinada substância (SANGSTER e GILL, 1999); que é importante distingui-la de tolerância, que ocorre quando uma população de vermes não respondem a primeira exposição a um fármaco (COLES *et al.*, 1987).

Um aspecto crucial para a evolução da resistência nos helmintos é a inexistência ou insensibilidade de métodos para detectar o seu desenvolvimento. Desta forma, muitos casos não são detectados em estágios iniciais, reduzindo, ou mesmo anulando, a possibilidade do processo ser revertido. Para evitar aumento nos níveis de resistência, recomenda-se prosseguir a terapia com sensatez ou retirar totalmente o fármaco. No caso da esquistossomose esta última atitude é difícil de ser tomada, pois o praziquantel representa a única substância utilizada na esquistossomose africana e oriental (BENNETT *et al.*, 1997).

O conhecimento dos mecanismos de ação dos fármacos e de resistência podem ser explorados para o desenvolvimento de novas substâncias e para obter informações de como a resistência aos fármacos é instalada (KÖHLER, 2001).

Dois fármacos têm sido amplamente usados no tratamento desta parasitose com boa eficácia e baixa toxicidade: oxamniquina e praziquantel, ocorrendo preferência pelo uso do segundo nos últimos anos (CIOLI, 2000), infelizmente têm-se observado a existência de cepas de schistossomas resistentes a estes fármacos tanto em laboratório, quanto em populações (ISMAIL *et al.*, 1999).

1.3.1. Resistência experimental

O primeiro caso bem documentado de resistência a uma droga esquistossomicida foi apresentado por Rogers e Bueding (1971). Estes autores demonstraram que em especial, o hicantone quando administrado em baixas doses a camundongos, produziram cepas altamente resistentes. A resistência foi associada a uma cepa isolada do parasito não tendo sido reproduzida em outras cepas.

No ano de 1987, Bruce e colaboradores através de um estudo cooperativo entre cientistas do Brasil, Kenya e Estados Unidos da América, estabeleceu um banco de cepas que foram classificadas como resistentes ou tolerantes. As cepas MAP (Minas Gerais, Brasil, resistente a oxamniquina e ao hicantone), H-30 (Johns Hopkins, Porto Rico, resistentes ao hicantone) e MPROXR-1 (Universidade de Massachussetts, Estados Unidos da América, resistentes a oxamniquina), obtidas de pacientes após um tratamento mal sucedido e mantidas em laboratório em

passagem ao caramujo do gênero *Biomphalaria glabrata*, mostraram-se resistentes a oxamniquina e ao hicantone.

Desde essa época até a atualidade, muitos trabalhos relatam a ocorrência de cepas de schistosomas resistentes aos fármacos disponíveis na clínica médica. Em 1994, Fallon e Doenhoff demonstraram que ao tratar camundongos infectados com uma amostragem heterogenética de schistosomas com baixas doses de praziquantel e em seguida, isolando os ovos dos schistosomas sobrevivente e repetindo o ciclo de vida sete vezes, resultou em uma produção de schistosomas resistentes aos efeitos do fármaco. Mais especificamente, os camundongos que foram infectados com uma população de schistosomas do tipo selvagem e que foram tratados com 300 mg/kg de praziquantel durante 3 dias perderam 95 % dos seus vermes, enquanto que os selecionados para resistência a este fármaco só perderam 13 % de seus vermes. Um dos fatores que pode ter influenciado os resultados destes pesquisadores é que as doses foram administradas entre 28 e 37 dias após a infecção e durante este período, os vermes de *S. mansoni* estão imaturos (BENNETT *et al.*, 1997) e nesta fase são conhecidos por serem menos, ou não, suscetível ao praziquantel (ANDREWS *et al.*, 1983).

O freqüente uso do praziquantel no Egito indica ter também favorecido o desenvolvimento de schistosomas resistentes. Ismail e colaboradores, em 1996, observaram que camundongos infectados com vários isolados de *S. mansoni*, onde as cercárias foram obtidas a partir da manutenção do ciclo em laboratório a partir de ovos que foram eliminados de pacientes Egípcios que se submeteram previamente a

dois tratamentos com 40 mg/Kg de praziquantel, seguido por um terceiro de 60 mg/Kg do fármaco, constatou-se que estes camundongos não foram tão suscetíveis ao fármaco quando comparados a um isolado obtido de ovos de pacientes que foram tratados com uma única dose de 40 mg/Kg de praziquantel.

Estes mesmos pesquisadores em 1999 verificaram um aumento significativo nos valores da dose efetiva 50% de isolados oriundos de pacientes que não responderam ao tratamento com o praziquantel, com concentrações até cinco vezes maiores do que a do controle (ISMAIL *et al.*, 1999).

Em 2001, Liang e colaboradores confirmaram a resistência de *S. mansoni* ao praziquantel em camundongos tratados com três doses de 200 mg/kg, comparando cinco isolados resistentes e cinco isolados susceptíveis do Senegal, Quênia e Egito. Eles observaram que os isolados resistentes foram menos responsivos ao praziquantel (59 – 74 %) na redução da carga parasitária do que os isolados susceptíveis (92 – 100 %).

1.3.2. Resistência em populações

Em populações, cepas resistentes ao hicantone e ao oxamniquina foram pioneiramente evidenciadas no Brasil por Katz e colaboradores em 1973 e posteriormente por Campos e colaboradores em 1976.

Em 1987, Coles e colaboradores verificaram, em estudos no Kenya, a necessidade de se usar doses maiores de oxamniquina, devido a observação da presença de vermes resistentes até mesmo antes da quimioterapia extensiva ter sido aplicada. A partir daí vários trabalhos relatam à presença de cepas de *S. mansoni* resistentes em populações a essa substância (DIAS *et al.*, 1978; GUIMARAES *et al.*, 1979; YEANG *et al.*, 1987; CIOLI *et al.*, 1989; DRESCHER *et al.*, 1993).

Os primeiros relatórios alarmantes de possível resistência ao praziquantel foram de um intensivo foco no norte do Senegal, onde se observou que vinte semanas após o tratamento de uma amostra aleatória da população daquela região, com elevada carga parasitária e utilizando-se a dose padrão de 40 mg/kg, produziu baixíssimas taxas de cura (18-39 %) (GRYSEELS *et al.*, 1994; STELMA *et al.*, 1995). Várias explicações para este fenômeno foram consideradas como: a) alta taxa de infecção, podendo resultar em casais de vermes sobreviventes, mesmo sendo a droga efetiva; b) alta transmissão, com rápida reinfecção; c) grande numero de vermes imaturos; d) falta de adequada resposta imune sinérgica neste foco senegalês; e) susceptibilidade (ou resistência) da cepa local (CIOLI 2000; GRYSEELS *et al.*, 2001). Em estudos posteriores foi evidenciado que se aumentando a dose de praziquantel de 40 para 60 mg/kg não se obteve resultados significativos (GUISSÉ *et al.*, 1997), e quando a oxamniquina foi empregada na dose de 20 mg/kg, foi evidenciada alta percentagem de cura (STELMA *et al.*, 1997).

1.4. Avaliação da atividade esquistossomícida

A primeira tentativa de cultivar vermes adultos de *Schistosoma mansoni in vitro* foi realizada no final de 1930. A falta de um apropriado meio de cultura conduziu ao uso de diferentes tipos e substâncias na tentativa de satisfazer os metabólicos requeridos pelo parasita. Alguns pesquisadores tiveram relativo sucesso com o uso de soro animal (CHU, 1938 *apud* BARTH *et al.*, 1996; LEE e CHU, 1935 *apud* BARTH *et al.*, 1996). Tais meios permitem o aumento do tempo de vida dos vermes e em alguns casos o crescimento e regeneração dos vermes imaturos, porém uma limitada produção de ovos (CHEEVER e WELLER, 1958 *apud* SENFT e SENFT, 1962). Apesar desses meios poderem ser reproduzíveis, os seus componentes são variáveis e em alguns deles não são completamente definidos (SENFT e SENFT, 1962).

Poucos pesquisadores empregavam um meio quimicamente definido para estudos *in vitro*, Senft e Senft (1962) foram os primeiros pesquisadores a utilizarem um meio de cultura quimicamente definido, este era composto de 26 tipos de aminoácidos, uma série de enzimas, coenzimas, derivados de ácido nucléico, vitaminas, glicose, gluconato, balanceado em uma solução salina; além de um agente emulsificante, um indicador de pH e antibióticos com finalidade de facilitar o manejo técnico do meio.

A partir daí, vários meios de cultura foram relatados na qual era possível obter longos períodos de vida dos vermes adultos de *Schistosoma mansoni in vitro*, em contraste com a produção de ovos que geralmente cessa na segunda ou terceira

semana de cultura; diferentemente do que ocorre no hospedeiro definitivo, no qual os vermes são capazes de sobreviver ovipondo durante toda a sua vida no hospedeiro (MICHAELES e PRATA, 1968).

Depois de um estudo comparativo com os principais meios de cultura usados para manter vermes adultos de *Schistosoma mansoni*, Mercer e Chappell (1985), observaram que o meio RPMI 1640, o 199 e o essencial Eagle apresentaram resultados similares em termo de taxa de oviposição e número de vermes acasalados depois de 30 dias de cultura.

O procedimento experimental recomendado para avaliação da suscetibilidade *in vitro* do *Schistosoma mansoni* frente a produtos bioativos está de acordo com os trabalhos desenvolvidos por Barth e colaboradores (1996b) e Badr e colaboradores (1999), na qual o meio RPMI 1640 acrescido de HEPES a uma concentração de uso 20 mM e pH = 7, suplementado com 100 UI/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina e soro bovino fetal a 10 % é utilizado.

2. Imidazolidinas: propriedades físico-químicas

2.1. Nomenclatura

A primeira fórmula estrutural para a hidantoína foi sugerida, em 1870, por Kolbe, sendo imediatamente substituída pela representação cíclica adotada

atualmente, proposta, ainda no mesmo ano, por Streeker (WARE, 1950). Para esta representação, vários são os sistemas de numeração do anel encontrados na literatura, porém o adotado pelo IUPAC, onde a hidantoína, também denominadas imidazolidina-2,4-diona, 2,4-dicetotetrahidroimidazol ou 2,4-dioxo-imidazolidina, é um heterociclo pentagonal que apresenta dois átomos de nitrogênio e dois grupamentos carbonílicos nas posições 1/3 e 2/4 do anel, respectivamente (Figura 1.12).

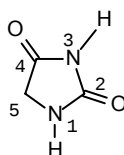


Figura 1.12- Imidazolidina-2,4-diona

Por sua vez, as tio-hidantoínas, também denominada de 2-tioxo-imidazolidin-4-onas são heterociclos pentagonais que apresentam no anel como as hidantoínas, dois átomos de nitrogênio nas posições 1/3, um grupamento tioxo na posição 2 e um grupamento carbonílico na posição 4 (Figura 1.13), de acordo com o sistema de numeração de anel adotado pela IUPAC.

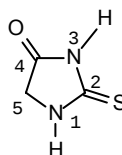
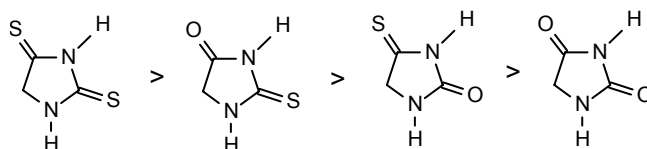


Figura 1.13- 2-Tioxo-imidazolidin-4-ona

2.2. Reatividade

O sistema anelar imidazolidínico tem sido estudado desde quando foi sintetizado por Bayer, em 1861, durante seus trabalhos com ácido úrico (FINKBEINER, 1965).

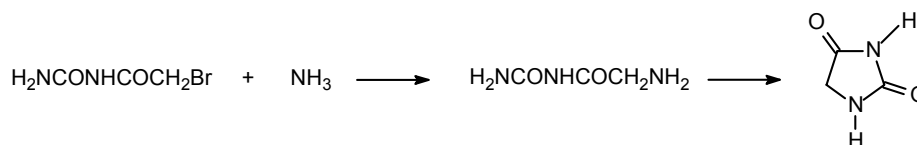
As imidazolidinas-2,4-dionas são ácidos fracos, devido à dissociação do próton ligado ao átomo de nitrogênio na posição 3. A 2-tioxo-imidazolidin-4-ona é ligeiramente mais ácida do que a imidazolidina-2,4-diona (ZIEF e EDSALL, 1937 *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985; PICKETY e McLEAN, 1939 *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985), já que o grupo tiocarbonila é mais atrator de elétrons que o grupo carbonila (EDWARD, 1966), as 4-tioxo-imidazolidin-2-onas são ácidos mais fracos que as 2-tioxo-imidazolidin-4-onas. Por sua vez, Santos e colaboradores (1982 *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985), assim como Edward e Chin (1963 *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985) afirmaram que as imidazolidina-2,4-ditionas são ácidos mais fortes do que as demais citadas anteriormente (Esquema 1.1).



Esquema 1.1- Ordem crescente de acidez dos derivados imidazolidínicos

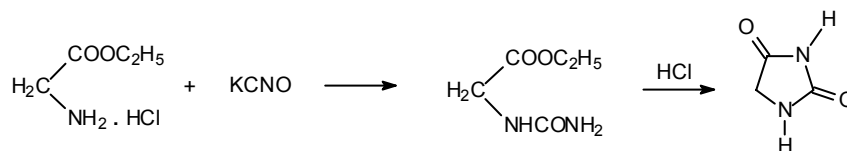
Uma outra característica importante no núcleo imidazolidínico é a presença de um grupo metilénico livre, que permite condensações com aldeídos, mais especificamente aromáticos (MORIYA *et al.*, 1980 *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985), enquanto as 2-tioxo-imidazilidinas condensam rapidamente com ésteres (WARE, 1950)

Após a preparação inicial da imidazolidina-2,4-diona por Bayer, através do aquecimento da bromo-acetiluréia com amônia em presença de etanol, a literatura descreve vários métodos de síntese deste heterocíclico pentagonal (Esquema 1.2) (BAYER, 1861 *apud* FINKBEINER, 1965).



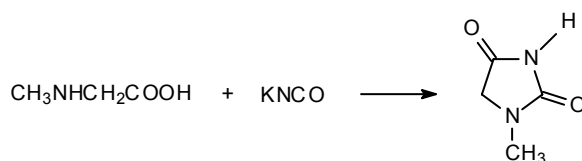
Esquema 1.2- Obtenção da imidazolidina-2,4-diona (BAYER, 1861 *apud* FINKBEINER, 1965)

HARRIES e WEISS (1900 *apud* WARE, 1950) obtiveram a imidazolidina-2,4-diona a partir do éster etílico de glicina e cianato de potássio, em presença de ácido clorídrico (Esquema 1.3).



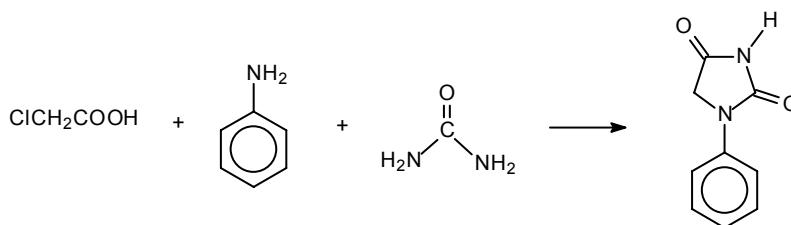
Esquema 1.3- Obtenção da imidazolidina-2,4-diona a partir de éster etílico de glicina, e cianato de potássio (HARRIES e WEISS 1900 *apud* WARE, 1950)

Outras metodologias são citadas para a preparação do anel, permitindo a obtenção de derivados imidazolidínicos substituídos. Fazendo-se reagir a sarcosina com cianato de potássio, Miller e Robson, em 1938 (*apud* WARE, 1950), promoveram a ciclização do anel da 1-metil-imidazolidina-2,4-diona (Esquema 1.4).



Esquema 1.4- Obtenção da imidazolidina-2,4-diona a partir de sarcosina e cianato de potássio (MILLER e ROBSON, 1938 *apud* WARE, 1950)

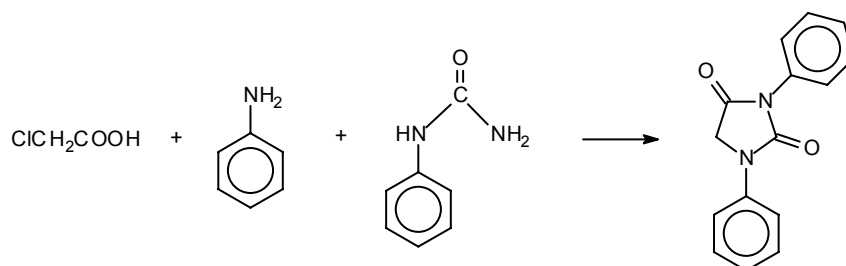
Já para a obtenção da 1-fenil-imidazolidina-2,4-diona realizada através da condensação direta de anilina com ácido cloroacético e uréia por Kochkanyan e colaboradores em 1978 (Esquema 1.5).



Esquema 1.5- Obtenção da 1-fenil-imidazolidina-2,4-diona a partir de anilina, ácido cloroacético e uréia (KOCHKANYAN *et al.*, 1978)

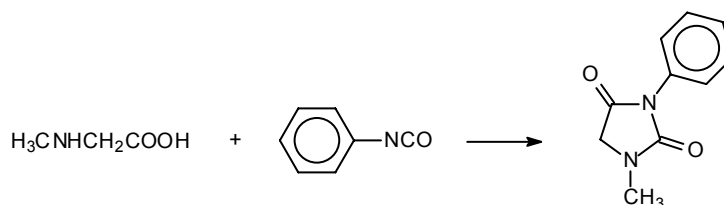
Para obtenção da imidazolidina-2,4-diona substituída pelo grupamento fenila nas posições 1 e 3, reage-se quantidades equimoleculares de ácido

monocloroacético, N-fenil-uréia e anilina conforme a metodologia preconizada por Kochkanian e colaboradores em 1978 (Esquema 1.6).



Esquema 1.6- Obtenção da 1,3-difenil-imidazolidina-2,4-diona a partir de ácido cloroacético, anilina e N-fenil-uréia (KOCHKANYAN *et al.*, 1978)

A sacosina, também denominada de ácido 1-metil-2-amino-etanóico, quando dissolvida numa mistura de hidróxido de potássio e água, seguida de adição do isocianato de fenila, permite a formação da 3-fenil-1-metil-imidazolidina-2,4-diona (Esquema 1.7) (FINKBEINER, 1965; CEGAN e VECERA, 1984).



Esquema 1.7- Obtenção da 3-fenil-1-metil-imidazolidina-2,4-diona a partir de sarcosina e isocosina e isocianato de fenila (FINKBEINER, 1965; CEGAN e VECERA, 1984)

Em 1966, Edward, estudando as mudanças produzidas pela substituição do grupo $\text{C}=\text{O}$ pelo grupo $\text{C}=\text{S}$ nas hidantoínas constatou que essas resultam, principalmente, da grande polarização do grupo tiocarbonila, através da forma

canônica (Figura 1.14), quando comparada com o grupo carbonila, devido à grande dificuldade que o volumoso átomo de enxofre tem para formar a ligação π com o carbono. Este efeito parece exceder em peso a alta eletronegatividade do oxigênio.

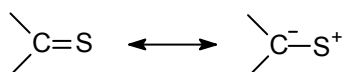


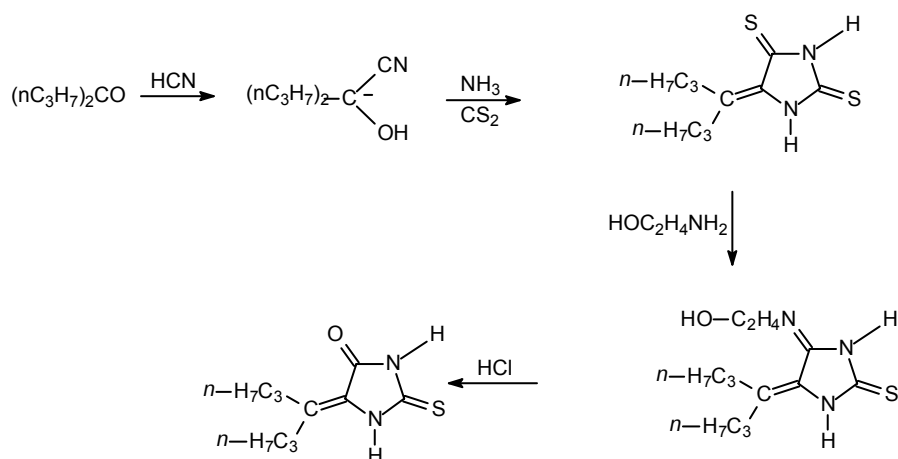
Figura 1.14- Polarização do grupo tiocarbonila

Tanto a 1-metil-imidazolidina e a 2-tioxo-imidazolidin-4-ona podem reagir com reagentes nucleofílicos e eletrofílicos, contudo a sua reatividade é afetada profundamente pelos diferentes métodos de ionização.

2.2.1. Ciclização

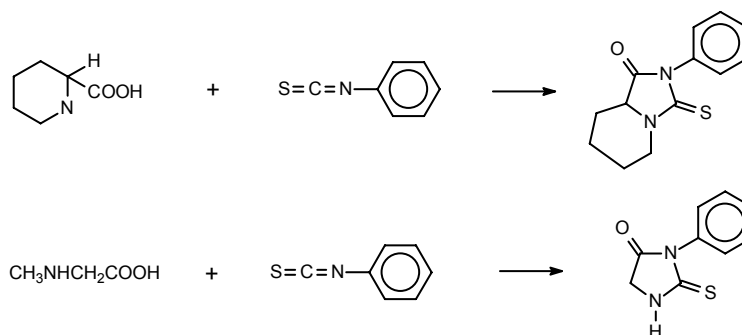
Alguns métodos de ciclização do anel da 2-tioxo-imidazolidin-4-ona são citados na literatura.

Um método para obtenção de 5,5-di-*n*-propil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona utiliza como produto de partida a di-*n*-propilcetona (Esquema 1.8) (LEMPERT *et al*, 1962).



Esquema 1.8- Obtenção da 5,5-di-*n*-propil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona utiliza como produto de partida a di-*n*-propilcetona (LEMPERT *et al.*, 1962)

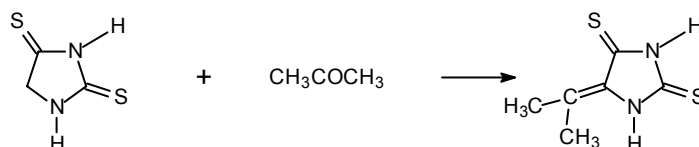
Através de estudos das conversões do ácido pipercolico (ácido 2-carboxílico-piperidínico) e da sarcosina (ácido metilamino-acético), usando isotiocianato de fenila, a formação da 3-fenil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona e da 2-ciclo-3-tioxo-hexazil-imidazo[1,5-*a*]piridin-1-ona foi constatada por Beyerman e colaboradores em 1968 (Esquema 1.9).



Esquema 1.9- Obtenção da 3-fenil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona a partir do isotiocianato de fenila (BEYERMAN *et al.*, 1968)

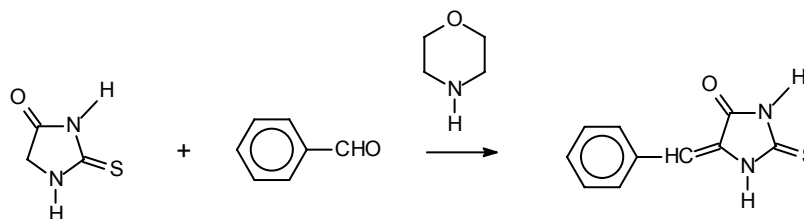
2.2.2. Condensação

Em 1948, Cook e colaboradores, demonstrando a presença do grupo metileno em 2,4-ditioxi-imidazolidinas, obtiveram a 5-isopropileno-2,4-ditioxi-imidazolidina, por reação de condensação com cetona (Esquema 1.10).



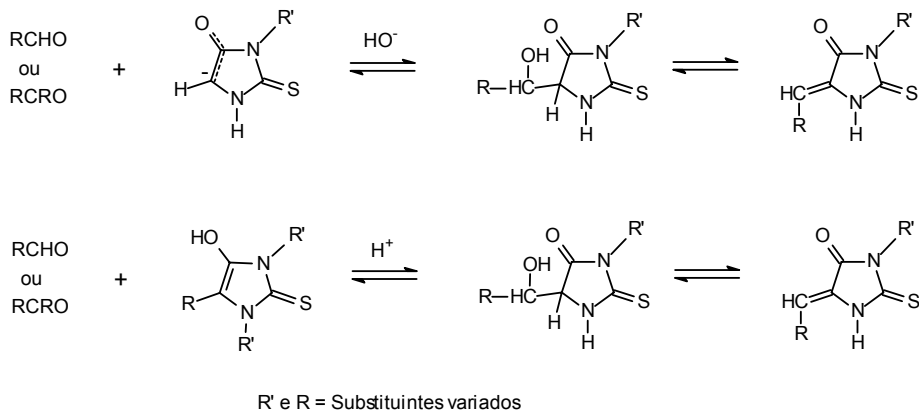
Esquema 1.10- Obtenção da 5-isopropileno-2,4-ditioxi-imidazolidina a partir da 2,4-ditioxi-imidazolidina e acetona (COOK *et al.*, 1948)

Este mesmo grupo, em 1949, realizaram outras reações de condensações partindo da 2-tioxi-imidazolidin-4-ona com benzaldeído na presença de piperidina e tetrahydro-1,4-oxazina conduzindo a 5-benzilideno-1,3-dimetil-2-tioxi-imidazolidin-4-oxazina (COOK e COX, 1949 *apud* EDEWARD, 1966) (Esquema 1.11).



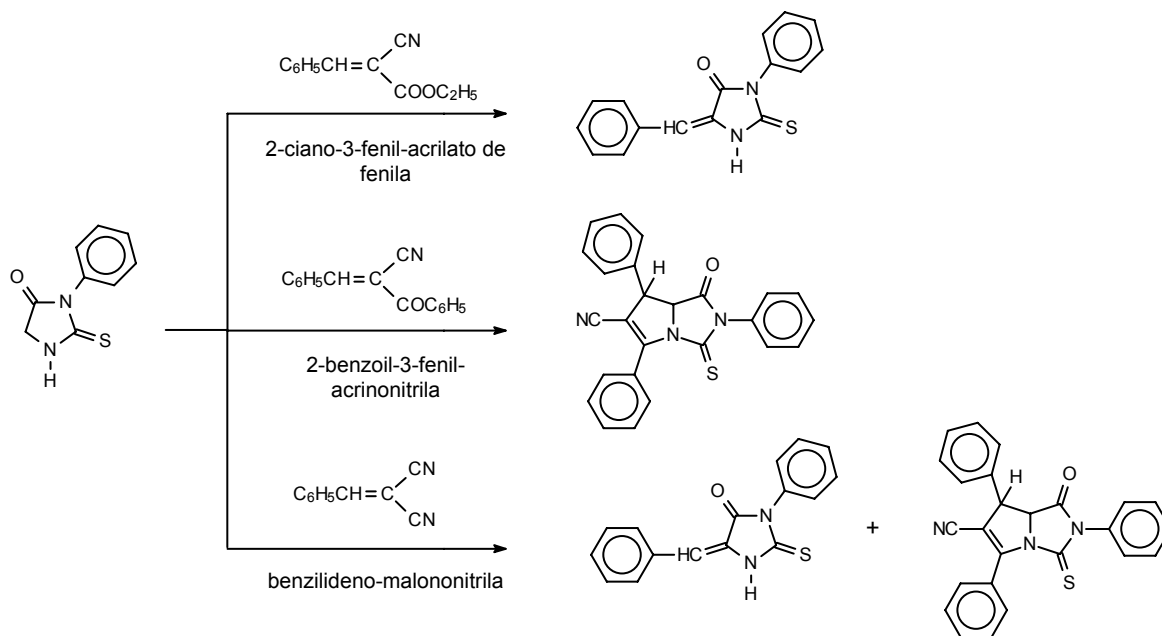
Esquema 1.11- Obtenção da 5-benzilideno-1,3-dimetil-2-tioxi-imidazolidin-4-oxazina a partir da 2-tioxi-imidazolidin-4-ona, benzaldeído e tetrahydro-1,4-oxazina (COOK e COX, 1949 *apud* EDEWARD, 1966)

Assim, aldeídos e cetonas aromáticos reagem com 2-tioxo-imidazolidin-4-onas apenas no carbono 5, por condensações catalisadas com base, envolvendo íons, e condensações catalisadas por ácido, envolvendo formas enolizadas (Esquema 1.12) (EDWARD, 1966).



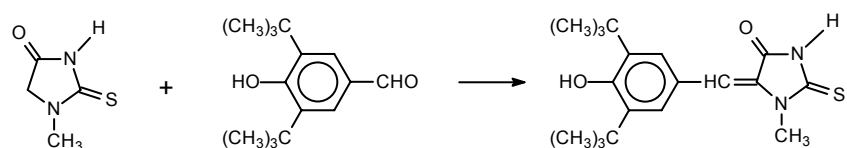
Esquema 1.12- Condensação da 2-tioxo-imidazolidin-4-onas catalisada por base e ácido, respectivamente (EDWARD, 1966)

Os derivados da 3-fenil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona podem reagir com cinamonitrilas substituídas, tais como 2-ciano-3-fenil-acrilato de fenila, 2-benzoil-3-fenil-acrinonitrila e benzilideno-malononitrila, dando um único produto ou uma mistura na proporção de 1:1 de dois derivados, estando este fato na dependência do substituinte das cinamonitrilas utilizadas (Esquema 1.13) (DABOUN *et al.*, 1982).



Esquema 1.13- Reações da 3-fenil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona com derivados cinamonitrilas (DABOUN *et al.*, 1982)

O derivado 5-benzilideno-3,5-di-*t*-butil-4-hidroxi-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-2-ona foi obtido por reação do 3,5-di-*t*-butil-4-hidroxi-benzaldeído, em ácido acético, com a 1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona, segundo condensação tipo Knoevenagel (Esquema 1.14) (UNANGST *et al.*, 1993 e 1994).



Esquema 1.14- Reação da 1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona com a 3,5-di-*t*-butil-4-hidroxi-benzaldeído (UNANGST *et al.*, 1993 e 1994)

2.3. Caracterização estrutural

2.3.1. Espectroscopia no infravermelho

As imidazolidina-2,4-dionas, na espectroscopia no infravermelho, apresentam duas bandas na região do grupo carbonila (C=O) em 1720 e 1780 cm^{-1} . Contudo, sua interpretação tem gerado controvérsias. À banda de menor frequência (1720 cm^{-1}) foi atribuída tanto ao carbono da posição 4 (DERKOSCH, 1961 *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985) quanto ao da posição 2 (DEMOEN, 1966. *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985).

Muitos estudos sobre a origem e localização das frequências características dos grupos C=O e N-H das imidazolidina-2,4-dionas foram extensivamente descritos por (ELLIOT e NATARAJAN, 1967 *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985; GOENECHEA, 1972 *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985).

Nas 2-tioxo-imidazolidin-4-onas um forte acoplamento ocorre entre as vibrações C=S e C-N, resultando em numerosas bandas entre as regiões de 1500-1200 cm^{-1} (ELMORE, 1958 *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985; COGROSSI, 1972 *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985). A identificação na literatura é às vezes baseada nas bandas de tioureída (ELMORE, 1958 *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985; JENSSEN e NIELSEN, 1966 *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985), e os estiramentos assimétricos das ligações NCS completam a caracterização (POUPAERT e BOUCHE, 1976 *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985).

2.3.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio

A espectroscopia de RMN ^1H é particularmente útil para a localização dos substituintes do anel imidazolidínico, considerando as alterações químicas dos hidrogênios prótons nas posições 1,3- e 5- e as mudanças características nos sinais dos átomos de nitrogênios nas posições 1 e 3 quando são adicionadas bases (CORRAL e ORAZI, 1965 *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985).

As espectroscopias de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) e carbono (RMN ^{13}C) têm ajudado a resolver diversos problemas configuracionais e conformacionais das imidazolidina-2,4-dionas e 2-tioxo-imidazolidin-4-onas (TRIGO *et al.*, 1981 *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985; COLEBROOK e KHADIN, 1982 *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985; ATTIA e SIEMION, 1976 *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985).

2.3.3. Espectrometria de massas

Os espectros de massas dos derivados imidazolidínicos, usando técnicas padrões, têm sido bastante estudados e estão amplamente discutidos na literatura. Estes espectros mostraram que a quebra do anel imidazolidínico ocorre por uma fissão α no C-4 do grupo carbonil com perda de CO e RNCO (KWON e KIM, 1983 *apud* LÓPEZ e TRIGO, 1985).

3. Imidazolidinas: bioatividade

As imidazolidinas e seus derivados são substâncias que despertam grande interesse. Os efeitos produzidos pela modificação estrutural no anel da imidazolidina-2,4-diona é de considerável interesse, particularmente aqueles produzidos sobre a atividade biológica, tais como anticonvulsivante, antimicrobiana, anti-hipertensiva, antineoplásica, esquistossomicida, entre outras.

3.1. Atividade anticonvulsivante

A expressão convulsão refere-se a uma breve alteração de comportamento causada pela ativação desordenada, sincrônica e rítmica de grupos de neurônios cerebrais. O termo epilepsia refere-se a um distúrbio da função cerebral caracterizado pela ocorrência periódica e imprevisível de convulsões. As convulsões epiléticas são classificadas em parciais, que se iniciam em um foco no córtex cerebral, e generalizadas, que envolvem amplamente ambos os hemisférios do cérebro (HARDMAN *et al.*, 2003).

A fenitoína, 5,5-difenil-imidazolidina-2,4-diona ou 5,5-difenil-hidantoína (Figura 1.15), foi sintetizada pela primeira em 1908 por Biltz, mas sua atividade anticonvulsivante só foi determinada em 1938 por Merrit e Putnam. A detenção

deste fármaco foi o resultado de uma pesquisa entre compostos estruturalmente relacionados com o fenobarbital que não apresentassem efeitos sedativos (MERRIT e PUTNAM, 1938a; MERRIT e PUTNAM, 1938b *apud* HARDMAN *et al.*, 2003). Este fármaco, por sua eficácia, faz parte da Relação de Medicamentos Essenciais da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2003).

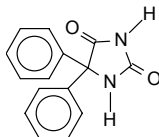


Figura 1.15- Fenitoína: 5-difenil-imidazolidina-2,4-diona

Estudos da relação entre estrutura química e atividade biológica revelaram que o substituinte aromático na posição carbono 5 do anel imidazolidínico parecia ser essencial contra as convulsões tônico-clônicas generalizadas, enquanto os substituintes alquilas na mesma posição favorecem a sedação. A assimetria existente neste carbono tem pouca importância para a ação farmacológica. (HARDMAN *et al.*, 2003).

A partir da descoberta da fenitoína, vários derivados foram sintetizados e avaliados seus efeitos no SNC. Em 1989, Zejc e colaboradores sintetizaram derivados da 5-difenil-imidazolidin-2,4-diona (Figura 1.15) e 5-difenil-imidazolidin-4-ona (Figura 1.16), o composto 1-benzil-5,5-difenil-3-imidazolidin-2,4-diona (Figura 1.16), mais ativo da série, mostrou uma ótima atividade inibitória no SNC além de efeitos anticonvulsivantes e antidepressivos.

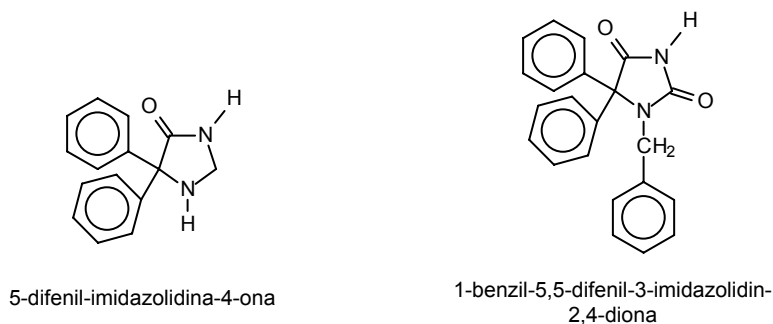


Figura 1.16- 5-difenil-imidazolidina-4-ona e 1-benzil-5,5-difenil-3-imidazolidin-2,4-diona (ZEJC *et al.*, 1989)

Hudkins e colaboradores, em 1997, sintetizaram derivados da 3-(4-dialquil-amino-2-butilil)-5,5-dissubstituídos-imidazolidina-2,4-diona (Figura 1.17) e testaram como anticonvulsivantes, mas os resultados obtidos para a DE_{50} demonstraram que a atividade antiepiléptica foi fraca quando comparada com fenitoína.

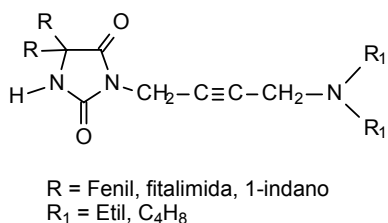


Figura 1.17- 3-(4-dialquil-amino-2-butilil)-5,5-dissubstituídos-imidazolidina-2,4-diona (HUDKINS *et al.*, 1997)

Karali e colaboradores (1998) obtiveram uma série 3-[2-tioxo-3-substituídos-4,5-imidazolidina-1-il)-imino]-1*H*-2-indolinonas com atividade anticonvulsivante,

através da ciclização do 3-(4-substituído-tiosemicaebazono)-1*H*-2-indolinonas com cloreto de oxálico, em presença de éter dietil anidro. Os produtos da síntese resultaram em compostos com potencial atividade anticonvulsivante, constatando-se que o composto 4-alil-1-(2-oxo-1,2-diidro-indol-3-ilidenoamino)- 2-tioxo-imidazolidina-4,5-diona (Figura 1.18) era o mais potente.

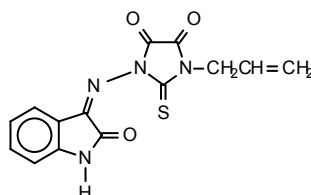
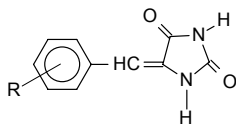


Figura 1.18- 4-Alil-1-(2-oxo-1,2-diidro-indol-3-ilidenoamino)- 2-tioxo-imidazolidina-4,5-diona (KARALI *et al.*, 1998)

No ano seguinte, Ulusoy e colaboradores sintetizaram uma série de benzilidenoamino-2-tioxo-3-alil-4,5-imidazolidinadionas e foram avaliados o efeito anticonvulsivante os derivados sintetizados, dois deles mostraram atividade anticonvulsivante em camundongos.

Em 2004, Thenmozhiyal e colaboradores sintetizaram uma série de 5-benzilideno-imidazolidina-2,4-dionas e testaram a atividade anticonvulsivante. Estes pesquisadores observaram que derivados substituídos com alquil, halogeno, trifluórmetil e alcóxil, foram os compostos que exibiram uma boa atividade anticonvulsivante. A dose efetiva foi considerada a dose que produz uma resposta de 2,5 ($ED_{MES(2,5)}$ em mg/Kg). Na tabela 1.1 encontra-se a estrutura química e a $ED_{MES(2,5)}$ dos derivados testados que apresentaram uma boa atividade farmacológica.

Tabela 1.1- Derivados da 5-benzilideno-imidazolidina-2,4-diona que apresentaram melhor atividade anticonvulsivante (THENMOZHIYAL *et al.*, 2004)



R	ED _{MES(2,5)}
2-Me	59(±6)
3-Me	74(±8)
4-Et	74(±9)
4-iPr	80(±6)
2,4-diMe	39(±4)
2,4,6-triMe	28(±2)
3-Cl	82(±7)
3-Br	89(±9)
2,6-diCl	72(±7)
4-Pos	77(±8)
4-CF ₃	64(±7)

3.2. Atividade antimicrobiana

A infecção é uma condição patológica devido a invasão multiplicação de microorganismos em tecidos do corpo que podem ser clinicamente inaparente ou podem resultar em dano celular local (HARDMAN *et al.*, 2003).

A nitrofurantoína (Figura 1.19), utilizada na clínica médica desde 1954, corresponde a um derivado nitrofurano imidazolidínico sintético utilizado na terapêutica como fármaco de escolha para o tratamento e prevenção de infecções

do trato urinário, inibindo diversas bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, como *Escherichia coli* e enterococos, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter* sp. e *Proteus* sp. As enzimas capazes de reduzir a nitrofurantoína parecem ser de suma importância na sua ativação. Formam-se intermediários altamente reativos, que são apontados como responsáveis pela capacidade do fármaco de lesar o DNA. As bactérias reduzem a nitrofurantoína, pela enzima bacteriana nitrorredutase, mais rapidamente que as enzimas celulares dos mamíferos, convertendo o fármaco a intermediários de meia vida curta, como os radicais de oxigênio livre, e acredita-se que essa propriedade seja responsável pela atividade antimicrobiana seletiva do composto. As bactérias sensíveis ao fármaco raramente se tornam resistentes durante a terapia e as cepas em que ocorre resistência, como algumas cepas de *Pseudomonas*, *Proteus*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, não são mediadas por plasmídios e sim por uma mutação que leva a perda da atividade da enzima bacteriana nitrorredutase (PETRI, 2003 *apud* HARDMAN *et al.*, 2003).

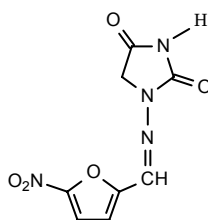


Figura 1.19- Nitrofurantoína

A partir daí vários derivados foram sintetizados contendo o sistema imidazolidínico, já que possuem propriedades antifúngicas e antibacterianas. Em

1972, SAULI sintetizou a iprodiona, denominada quimicamente de [3-(3,5-diclorofenil)-*N*-isopropil-2,4-dioxo-imidazolidina-1-carboxiamida], que constituiu o fungicida imidazolidínico mais importante, inibindo ao mesmo tempo a germinação de esporos e o crescimento de micélios de fungos.

Em 1979, Soares e Trabulsi testaram a atividade antimicrobiana da 6-[(*R*)-2[3-metisulfonil-2-oxo-imidazolidina-1-carboxamida]-2-fenilacetamida]-penicilínica e da 6-[(*R*)-2-(2-oxo-imidazolidina-1-carboxamida)-2-fenilacetamida- α 1-penicilínica contra 545 isolados clínicos, incluindo bacilos gram-negativos, cocos gram-positivos e bacterióides, o mezlocillin mostrou-se mais ativo que o azlocillin contra a maioria das cepas estudadas, mas azlocillin mostrou-se mais ativo contra cepas de *Pseudomonas*.

Derivados das 5-benzilideno-3-benzil-imidazolidina-2,4-dionas sintetizados por Góes e colaboradores (1991a) (Figura 1.20) apresentaram ação antibacteriana frente ao *Streptococcus faecalis*, observada no composto não substituído, e frente a *Mycobacterium smegmatis*, para os derivados substituídos pelo átomo de cloro e pelo grupamento nitro. A melhor ação antifúngica observada foi para o composto nitrado frente a *Candida albicans* e *Neurospora crassa*.

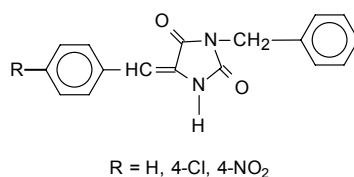


Figura 1.20- Imidazolidina-2,4-dionas sintetizadas (GÓES *et al.*, 1991a)

Neste mesmo ano, Góes e colaboradores sintetizaram e testaram derivados da 3-(4-cloro-benzil)-5-benzilideno-imidazolidina-2,4-dionas, substituídos pelo átomo de cloro no grupamento benzila (Figura 1.21). O composto não substituído apresentou atividade antifúngica contra *Candida albicans* e *Neurospora crassa*, e atividade antibacteriana contra *Escherichia coli* e *Mycobacterium smegmatis*. O composto clorado, também apresentou atividade antibacteriana frente ao *Mycobacterium smegmatis*, enquanto o composto bromado foi ativo contra *Staphylococcus aureus* e *Mycobacterium smegmatis*.

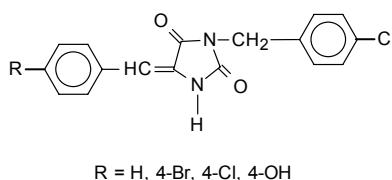


Figura 1.21- Derivados da 3-(4-cloro-benzil)-5-benzilideno-imidazolidina-2,4-dionas (GÓES *et al.*, 1991b)

Continuando os estudos com os derivados 3-(4-cloro-benzil)-5-benzilideno-imidazolidina-2,4-dionas sintetizou-se, em 1992, os derivados que apresentaram como substituintes o átomo de flúor, grupamentos alcoxí, alquil e nitro (Figura

1.22) o composto nitrato foi ativo contra os fungos *Candida albicans* e *Neurospora crassa*, e também contra as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Mycobacterium smegmatis*, fato que confirmaram os estudos anteriores com relação à contribuição do grupamento nitro nesta atividade biológica (LIMA *et al.*, 1992).

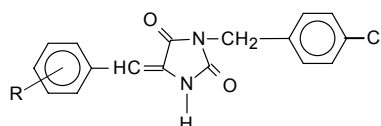


Figura 1.22- Imidazolidina-2,4-dionas sintetizadas (LIMA *et al.*, 1992)

Amorim e colaboradores (1992) também estudaram a atividade antimicrobiana de novos derivados 3-(4-bromo-benzil)-5-benzilideno-imidazolidina-2,4-dionas através da determinação da CMI, obtendo-se os seguintes resultados: o composto 3-benzil-5-(4-cloro-benzilideno)-imidazolidina-2,4-dionas e o 3-benzil-5-(4-fluor-benzilideno)-imidazolidina-2,4-dionas (Figura 1.23) foram ativos contra os fungos *Candida albicans* e *Neurospora crassa* no intervalo de 30-50 µg/mL, e também contra o *Mycobacterium smegmatis*, na concentração de 50 µg/mL e 10-30 µg/mL, respectivamente.

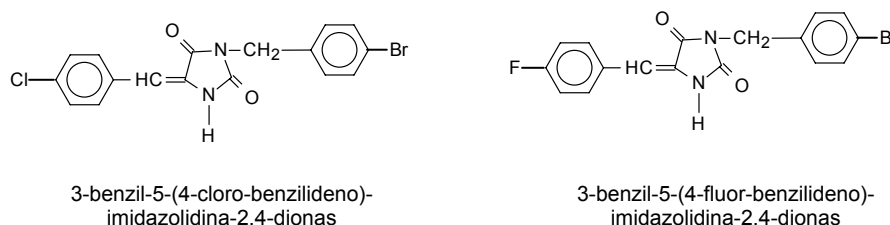


Figura 1.23- Derivados 3-(4-bromo-benzil)-5-benzilideno-imidazolidina-2,4-dionas (AMORIM *et al.*, 1992)

Cetinkaya e colaboradores (1996) sintetizaram dezessete uréias cíclicas contendo núcleos imidazolidínicos e benzimidazolinico e testaram a atividade de antimicrobiana *in vitro* contra cepas de: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Oito dos compostos obtidos mostraram-se efetivos para inibir o crescimento de bactérias Gram-positivas (*Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus*) com valores de CMI entre 25-400 µg/mL e nenhum dos compostos se mostrou atividade frente bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*) nas concentrações estudadas (6.25-800 µg/mL).

Brandão e colaboradores (1997) estudaram a influência do átomo de enxofre em posição 4 e a presença de azo-compostos na resposta biológica. Assim sendo estes pesquisadores sintetizaram e comprovaram a atividade antimicrobiana dos derivados 5-arilazo-4-tioxo-imidazolidínicos. O composto 5-arilazo-3-benzil-4-tioxo-imidazolidin-4-ona (Figura 1.24) revelou uma importante atividade frente aos microrganismos *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus anthracis*, *Micrococcus luteus*, *Serratia marcescens*, *Proteus morganii*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Pseudomonas fluorescens*,

Pseudonocardia thermophyla, *Nocardia asteroides*, *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium smegmatis*, *Mycobacterium fortuitum*, *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae*.

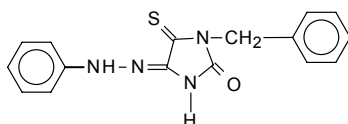


Figura 1.24- 5-Arilazo-3-benzil-4-tioxo-imidazolidin-4-ona (BRANDÃO *et al.*, 1997)

Marino e colaboradores (2001) visando desenvolvimento de inibidores da β -D-galactofuranosidase, que prevê uma boa quimioterapia para o tratamento para muitas doenças humanas, pois esta enzima é um constituinte presente em microrganismos patógenos, como em algumas espécies de *Penicillium fellutanum*, *Helminthosporium sacchari* e *Aspergillus*. Com este propósito sintetizaram os análogos do *N*- β -D-galactofuranosil-4-metoximidazolidine-2-tionas e do *N*- β -D-galactofuranosil-4-imidazoline-2-tionas, e os ensaios biológicos mostraram que esses derivados imidazolidínicos agiam como inibidores da β -D-galactofuranosidase.

Kieć-kononowicz e Szymańska (2002) avaliaram a presença do átomo de enxofre em posição 2, e vários derivados 5-benzilideno-2-tioxo-imidazolidin-4-ona foram obtidos e testados frente ao *Mycobacterium tuberculosis*. O composto (5*Z*)-

5-(1,1'-bifenil-4-il-metileno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (Figura 1.25) destacou-se como o derivado mais ativo em uma concentração mínima inibitória 0,78 µg/mL.

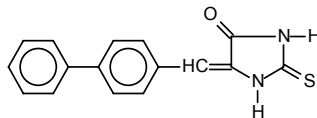


Figura 1.25- (5Z)-5-(1,1'-Bifenil-4-il-metileno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (KIEĆ-KONONOWICZ e SZYMAŃSKA, 2002)

Neste mesmo ano, Szymańska e Kieć-kononowicz, também observaram que os derivados 5-(cloro-benzilideno)-2-isoniazido e 5-(cloro-benzilideno)-2-amino substituídos originados da imidazolidin-4-ona apresentavam atividade frente *Mycobacterim tuberculosis*, o composto 5-(3-cloro-benzilideno)-2-(isonicotino-il-hidrazino)-imidazolina-4-ona (Figura 1.26) foi considerado o mais ativo quando comparado com a rifampina.

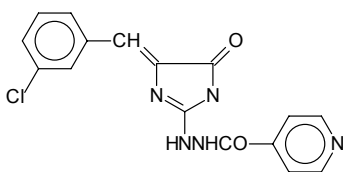


Figura 1.26- 5-(3-Cloro-benzilideno)-2-(isonicotino-il-hidrazino)-imidazolin-4-ona (SZYMAŃSKA e KIEĆ-KONONOWICZ, 2002)

Em 2002, um grupo de pesquisadores testaram dois complexos de 3-amino-ciclo-hexa-espiro-5-imidazolidina-2,4-diona com platina (II) (Figura 1.27), frente a bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e leveduras, e observaram que os novos complexos apresentaram uma atividade moderada frente a *Escherichia*

coli e *Proteus mirabilis*, com valores de CMI de 800 e 200 μM , respectivamente (KUSHEV *et al.*, 2002).

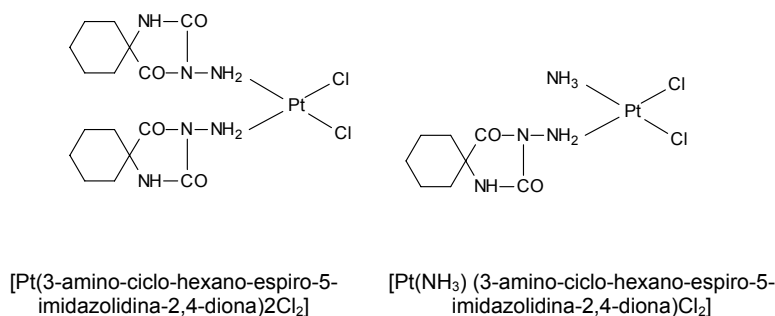


Figura 1.27- Complexos de 3-amino-ciclo-hexa-espiro-5-imidazolidina-2,4-diona com platina (II) (KUSHEV *et al.*, 2002)

3.3. Atividade anti-hipertensiva

A hipertensão é a mais comum das doenças cardiovasculares, é definida, de modo convencional, como uma pressão arterial maior ou igual 140/90. A pressão arterial elevada provoca alterações patológicas na vasculatura e hipertrofia do ventrículo esquerdo. Em consequência, a hipertensão constitui a principal causa de acidente vascular cerebral, leva a doença das artérias coronárias como infarto do miocárdio e morte cardíaca súbita e representa o principal fator contribuinte na insuficiência cardíaca, na insuficiência renal e no aneurisma dissecante da aorta. Os fármacos reduzem a pressão por suas ações sobre a resistência periférica e/ou débito cardíaco (HARDMAN *et al.*, 2003).

Nas últimas décadas, o interesse nos receptores α -adrenérgicos, na sua relevância fisiológica e na sua classificação, foi renovado. Considerando que receptores α_2 -adrenérgicos medeiam, entre outras ações biológicas, a hipertensão, a síntese de substâncias seletivas a esses receptores é de grande importância (FORNAI *et al.*, 1990; PIASCIK *et al.*, 1996).

Derivados imidazolidínicos foram considerados tradicionalmente como um dos principais tipos de fármacos que interagem com receptores α -adrenérgicos. Como exemplos tem-se a clonidina e a fentolamina (Figura 1.28). A clonidina, derivado imidazólico diclorado, reduz a pressão arterial estimulando os receptores α_2 -adrenérgicos no centro vasomotor da medula. A fentolamina, por sua vez, possuindo em sua estrutura um anel imidazolidínico, é utilizada como vasodilatador sistêmico atuando como bloqueador competitivo dos receptores adrenérgicos α_1 e α_2 (AMEMIYA *et al.*, 1992), estes fármacos, por sua eficácia, fazem parte da Relação de Medicamentos Essenciais da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2003).

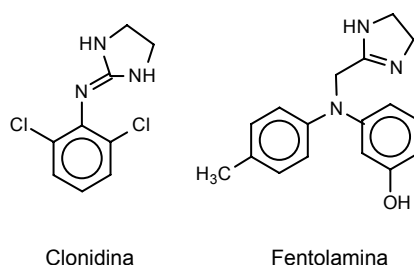
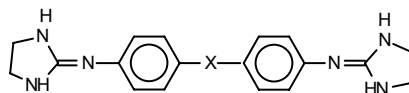


Figura 1.28- Derivados imidazolidínicos que interagem nos receptores α -adrenérgicos

No ano 2000, Dardonville e colaboradores sintetizaram e realizaram a atividade farmacológica de uma série de sais hidrocloreídricos com dois anéis imidazolidínicos, o 4,4'-di(2-imidazolidinilimino)di-fenilamina, o 4,4'-di(2-imidazolidinilimino)di-fenilcetona, o 4,4'-di(2-imidazolidinilimino)di-fenilsulfona e do 4,4'-di(2-imidazolidinilimino)di-fenilmetano (Tabela 1.2). A atividade de antagonistas adrenérgicos foi estudada dentro da aorta isolada de ratos e coelhos, estes compostos mostraram uma alta capacidade de reduzir a força de contração induzida pela noradrenalina.

Tabela 1.2- Estrutura química dos derivados imidazolidínicos (DARDONVILLE *et al.*, 2000)

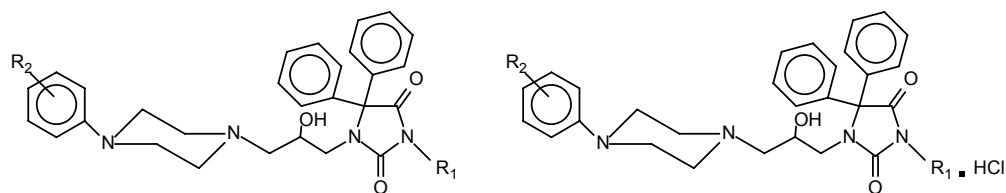


COMPOSTO	X
4,4'-di(2-imidazolidinilimino)di-fenilamina	NH
4,4'-di(2-imidazolidinilimino)di-fenilcetona	CO
4,4'-di(2-imidazolidinilimino)di-fenilsulfona	SO ₂
4,4'-di(2-imidazolidinilimino)di-fenilmetano	CH ₂

Em 2004, Dylag e colaboradores durante a procura por agentes antiarrítmicos entre derivado da fenitoína, identificaram o composto 3-etilo-1-[2-hidroxi-3-(4-fenilpiperazin-1-il)-propil]-2,4-dioxo-5,5-difenil-imidazolidina como derivado que apresentava uma atividade antiarrítmica assim como uma atividade antihipertensiva. A partir deste composto foram sintetizados novos derivados, que apresentaram uma forte atividade anti-hipertensiva e ou uma forte atividade

antiarrítmica (Tabela 1.3). O cloridrato de 1-[3-(4-(3-cloro-fenil)-piperazin-1-il)-2-hidroxi-propil]-3-etil-2,4-dioxo-5,5-difenil-imidazolidina foi o que exibiu a mais alta atividade de antiarrítmica.

Tabela 1.3- Estrutura química dos derivados imidazolidínicos sintetizados (DYLAG et al., 2004)



R ₁	R ₂
	H
	2-Cl
	3-Cl
	4-Cl
	2-CH ₃ O
	H
	2-Cl
	3-Cl
	4-Cl
	2-CH ₃ O
	H
	2-Cl
	2-CH ₃ O

3.4. Atividade antineoplásica

O câncer é uma doença caracterizada pela multiplicação e propagação descontroladas no corpo de formas anormais das próprias células corporais. Os termos “cânceres”, “neoplasia maligna” e “tumor maligno” são sinônimos e distinguem-se dos tumores benignos pelas suas propriedades de desdiferenciação, poder de invasão e capacidade de metastatizar-se. O aparecimento dessas características anormais reflete a padrões alterados de expressão gênica nas células cancerosas, resultantes de mutações genéticas. Existem três abordagens principais para o tratamento do câncer: excisão cirúrgica, irradiação e quimioterapia. A conveniência de cada uma irá depender do tipo de tumor e do estágio de seu desenvolvimento. A quimioterapia constitui o principal método de tratamento para apenas alguns cânceres, porém é cada vez mais utilizada como adjuvante da cirurgia ou da radioterapia para muitos tipos de tumores (RANG *et al.*, 2001).

Em pesquisas desenvolvidas no Instituto Nacional do Câncer (NCI), a 3-[2-bis(2'-cloroetil)-amino]etil-5,5-pentametileno-imidazolidina-2,4-diona (Figura 1.29) foi a mais potente de uma série de derivados imidazolidínicos, apresentando uma significativa atividade frente a vários tipos de cânceres, sobretudo a leucemia P388 (PENG *et al.*, 1975).

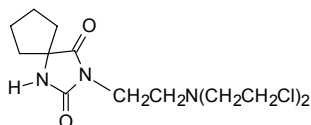


Figura 1.29- 3-[2-Bis(2'-cloroetil)-amino]etil-5,5-pentametileno-hidantoína (PENG *et al.*, 1975)

A 5-(2-fenil-3'-indolal)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (PIT) (Figura 1.30), foi testada no NCI frente cinquenta e quatro tipos de células tumorais humanas representando leucemias, melanomas e cânceres de pulmão, intestino, fígado, ovário, seio, próstata e do sistema nervoso central, contudo as altas doses necessárias para a sua ótima atividade contra leucemia, não permitiu a continuidade de seus testes em humanos (SUZEN e BUYUKBINGOL, 2000).

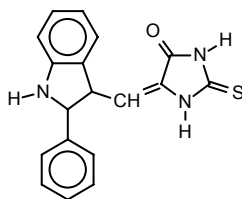


Figura 1.30- 5-(2-fenil-3'-indolal)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (SUZEN e BUYUKBINGOL, 2000)

Por apresentar um papel importante no tratamento de varias doenças, incluindo o câncer, os inibidores matriz metaloproteinase (MMPs) têm sido amplamente estudados. Os derivados do ácido carboxílico hidroxi-amina 1-[4-(flúor-fenoxi)-benzil]-2-oxo-imidazolidin-4-ona e o ácido carboxílico hidroxi-amina 1-[4-(naftaleno-2-il-oxi)-benzil]-2-oxo-imidazolidin-4-ona (Figura 1.31),

apresentaram-se como potentes inibidores da MMP-13 em uma concentração inibitória Cl_{50} a 50 % de 3 e 4 nM, respectivamente (ROBINSON *et al.*, 2001).

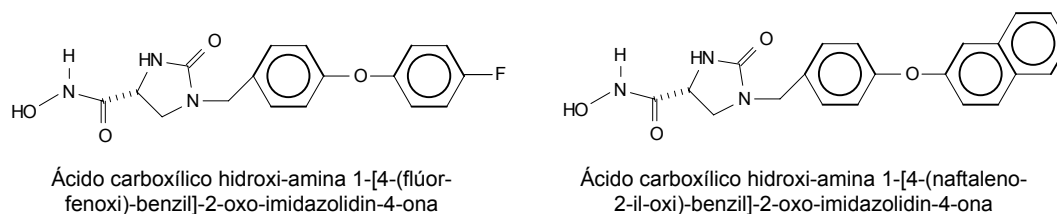


Figura 1.31- Ácido carboxílico hidroxi-amina 1-[4-(flúor-fenoxi)-benzil]-2-oxo-imidazolidin-4-ona e o ácido carboxílico hidroxi-amina 1-[4-(naftaleno-2-il-oxi)-benzil]-2-oxo-imidazolidin-4-ona (ROBINSON *et al.*, 2001)

Kushev e colaboradores (2002) prepararam e caracterizaram novos complexos 3-amino-ciclo-hexa-espiro-5-imidazolidina-2,4-diona (achsh). O complexo de platina desses derivados imidazolídínicos, $[Pt(3\text{-amino-ciclo-hexano-espiro-5-imidazolidina-2,4-diona})_2Cl_2]$ e $[Pt(NH_3)(3\text{-amino-ciclo-hexano-espiro-5-imidazolidina-2,4-diona})Cl_2]$ (Figura 1.27), foram testados *in vivo* contra Leucemia do tipo L1210. No entanto somente o $Pt(NH_3)(achsh)_2Cl_2]$ revelou atividade antitumoral.

3.5. Atividade esquistossomicida

Luttermoser e Bond (1954) observaram que a 5,5-difenil-hidantoína e a 5-(*p*-clorofenil)-5-metil-hidantoína (Figura 1.32) apresentavam atividade frente vermes adultos de *Schistosoma mansoni* em ratos portadores da doença.

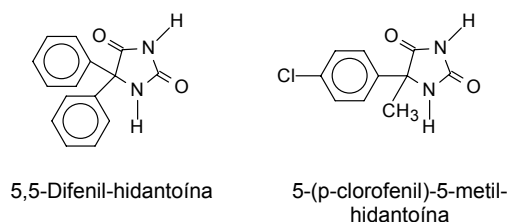


Figura 1.32- 5,5-Difenil-hidantoína e a 5-(p-clorofenil)-5-metil-hidantoína (LUTTERMOSER e BOND, 1954)

Posteriormente, pesquisadores observaram que a 5-(2,4,5-triclorofenil)-imidazolidina-2,4-diona e a 1-(5-nitro-tiofeno-3-il)-imidazolidin-2-tiona (Figura 1.33) também possuem atividade esquistossomicida (WERBEL *et al.*, 1977; BENAZET e LEROY, 1974).

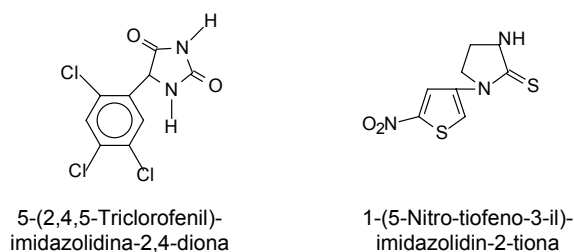
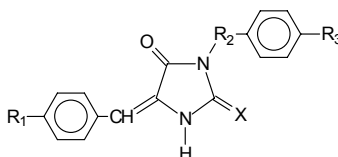


Figura 1.33- 5-(2,4,5-Triclorofenil)-imidazolidina-2,4-diona e a 1-(5-nitro-tiofeno-3-il)-imidazolidin-2-tiona (WERBEL *et al.*, 1977; BENAZET e LEROY, 1974)

Na procura de novos compostos esquistossomicidas, em 2004, Oliveira e colaboradores, descreveram a síntese, a estrutura e a atividade esquistossomicida dos derivados (Z)-3-benzil-5-benzilideno-imidazolidina-2,4-dionas, (Z)-3-benzil-5-benzilideno-2-tioxi-imidazolidin-4-onas e (Z)-5-benzilideno-3-(2-oxo-2-fenil-etil)-2-tioxi-imidazolidin-4-onas apresentando substituintes diferentes em posição *para*

do grupamento benzilidênico (Tabela 1.4). Este estudo mostrou que entre os derivados testados o composto (Z)-3-(4-cloro-benzil)-5-(4-nitro-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona, apresentando um substituinte nitro no anel benzilideno, foi o que apresentou melhor atividade esquistossomicida *in vitro*, apresentando uma mortalidade de 100 % dos vermes no final do período de 15 dias.

Tabela 1.4- Estrutura dos derivados imidazolidinônicos sintetizados por Oliveira e colaboradores



R ₁	X	R ₂	R ₃
H	O	CH ₂	Cl
Cl	O	CH ₂	Cl
NO ₂	O	CH ₂	Cl
Br	S	CH ₂	NO ₂
Br	S	CH ₂	Cl
Br	S	CH ₂ CO	NO ₂
Br	S	CH ₂ CO	Cl

Neste mesmo trabalho Oliveira e colaboradores (2004), avaliaram a susceptibilidade *in vivo* do *S. mansoni* frente ao composto (Z)-3-(4-cloro-benzil)-5-(4-nitro-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona, que mostrou uma melhor atividade *in vivo*, com concentrações de 50 mg/kg, administrada em dose única, pelas vias oral

(VO) e intraperitoneal (IP), e de 10 mg/kg de peso corporal, administrada cinco vezes a cada 24 horas, pelas mesmas vias. Os resultados obtidos se encontram na tabela 1.5 e são expressos em percentagem de ovos inviáveis contidos em 1 g de fragmento intestinal de camundongos fêmeas, após 15 dias de tratamento com este derivado.

Tabela 1.5- Percentagem de ovos em 1 g de fragmento intestinal de camundongos fêmeas sob ação da imidazolidina 5, na dose única de 50 mg/Kg e na dose de 10 mg/Kg, a cada 24 horas durante cinco dias e administrada pelas vias oral (VO) e intraperitoneal (IP)

	IP		IP Mg/Kg		VO		VO mg/Kg	
	Controle		5x10	50	Controle		5x10	50
Percentagem de ovos não viáveis por grama de fragmento intestinal	18	41	87	45	23	36	79	66

No ano seguinte, Albuquerque e colaboradores (2005) descreveram a síntese, estrutura e atividade esquistossomicida dos quimioterápicos derivados tioxo-imidazolidínicos (Figura 1.34) e avaliaram a toxicidade *in vitro* frente a vermes adultos de *S. mansoni* nas doses de 120 e 180 µg/mL, mostrando que o composto 3-(4-cloro-benzil)-5-(4-fluor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona na dose de 180 µg/mL, é o mais ativo da série, atingindo resposta máxima no nono dia de contato com os vermes.

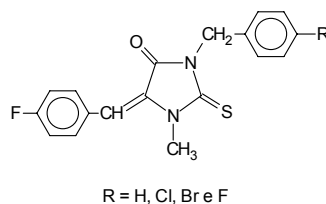


Figura 1.34- Estrutura dos derivados tioxo-imidazolidínicos (ALBUQUERQUE *et al.*, 2005)

Diante da comprovada atividade biológica dos derivados imidazolidínicos frente ao *Schistosoma mansoni*, que é objetivo de nosso estudo, e utilizando a estratégia de modificação molecular destes compostos. Novas imidazolidinas foram sintetizadas, com máximas chances de sucesso de novos medicamentos.

3.6. Outras atividades

A alantoína, 5-ureído-imidazolidina-2,4-diona (Figura 1.35) possui comprovada propriedade cicatrizante, sendo largamente empregada na indústria de cosméticos (BATEMAN, 1980 *apud*: ROSSI *et al.*, 1965).

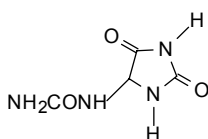


Figura 1.35- Alantoína (BATEMAN, 1980 *apud*: ROSSI *et al.*, 1965)

Constatou-se que compostos contendo a estrutura 2-tioxo-4,5-imidazolidin-4-ona possuem atividade herbicida (STOFFEL, 1969 *apud* OZKIRIMLI e HAMALI,

1995), tuberculostática, (MIZZONI, 1960 *apud* OZKIRIMLI e HAMALI, 1995) e sedativa (DANIELSON, 1965 *apud* OZKIRIMLI e HAMALI, 1995). A partir desses estudos realizados por Ozkirimli e Hamali (1995), sintetizaram e testaram à atividade hipnótico-sedativa de derivados 2-tioxo-4,5-imidazolidinônicos, tendo a 1-(benzilideno-amino)-3-ciclo-hexil-2-tioxo-imidazolidina-4,5-diona (Figura 1.36) como o derivado de maior atividade.

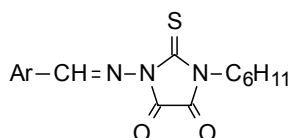


Figura 1.36- Derivados 1-(benzilideno-amino)-3-ciclo-hexil-2-tioxo-imidazolidina-4,5-diona (OZKIRIMLI e HAMALI, 1995)

Derivados 2-substituídos-6-flúor-2,3-diidrospiro-[4*H*-1-benzopirano-4,4'-imidazolidina]-2',5'-dionas (Figura 1.37) foram sintetizadas estereoquimicamente e exibiram atividade inibitória de aldose redutase, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Entre os derivados obtidos, o (2*S*,4*S*)-2,3-diidro-2'5'-diidrospiro-6-flúor-[4*H*-1-benzopirano-4,4'-imidazolidina]-2-carboxamida revelou ser o mais potente que os correspondentes estereoisômeros (2*R*, 4*R*) (YAMAGUCHI *et al.*, 1994).

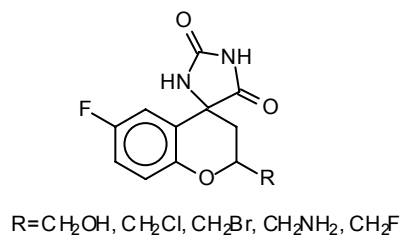


Figura 1.37- Derivados 2-substituídos-6-flúor-2,3-diidrospiro [4H-1-benzopirano-4,4'-imidazolidina-2',5'-dionas (YAMAGUCHI *et al.*, 1994)

Nishimura e colaboradores (1998) estudaram a atividade inseticida da imidacloprida. Os derivados da imidacloprida sintetizados (Figura 1.38) mostraram-se ativos quando testados em larvas de insetos.

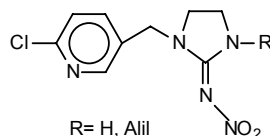
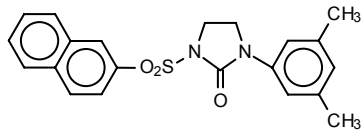
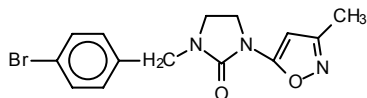


Figura 1.38- Derivados da imidacloprida (NISHIMURA *et al.*, 1998)

Em 2003 Robert e colaboradores sintetizaram e avaliaram a atividade antileishmanial de novos derivados da imidazolidin-2-ona. Dois dos compostos sintetizados, o 1-(4,6-dimetilpiridin-2-il)-3-(nafit-2-ilsulfonil)-imidazolidin-2-ona e o 1-(3-metilisoxazol-5-il)-3-(4-bromobenzil)-imidazolidin-2-ona, mostrou uma significativa atividade antileishmanial em promastigotas de *Leishmania (L) mexicana* e de *Leishmania infantum*, com IC_{50} na média de 8-16 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura 1.39)



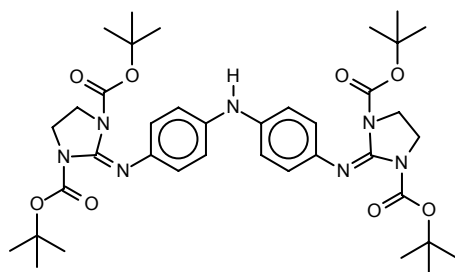
1-(4,6-dimetilpiridin-2-il)-3-(nafir-2-ilsulfonil)-imidazolidin-2-ona



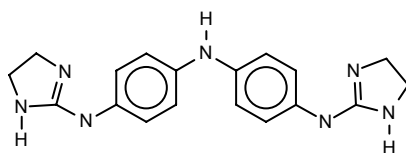
1-(3-metilisoxazol-5-il)-3-(4-bromobenzil)-imidazolidin-2-ona

Figura 1.39- Estrutura química dos derivados ativos frente a promastigotas de *Leishmania (L) mexicana* e de *Leishmania infantum* (ROBERT *et al.*, 2003)

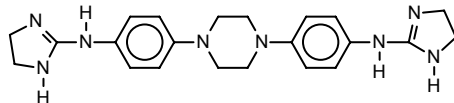
Mais recentemente, um grupo de pesquisadores sintetizaram e testaram a atividade *in vitro* frente ao *Trypanosoma brucei rhodesiense*, o 4,4'-bis[1,3-bis(*tert*-butoxicarbonil)-2-imidazolidinilimino]-difenilamina que apresentou uma IC₅₀ de 48 nM, o 4,4'-bis(4,5-dihidro-1*H*-2-imidazolilamino)-difenilamina uma IC₅₀ de 69 nM, e o Di-*tert*-butil-2-(4-[4-(4-[1,3-bis(*tert*-butiloxicarbonil)-tetrahydro-1*H*-2-imidazolilideno]-aminofenil)-piperazino]-fenilimino)-1,3-imidazolidinadicarboxilato uma IC₅₀ de 118 nM, mostrando uma excelente atividade *in vitro*, como evidenciado com seus baixos valores da IC₅₀, assim como uma alta seletividade para o parasita. A estrutura química destes compostos estão ilustrados na figura 1.40 (DARDONVILLE e BRUN, 2004).



4,4'-bis[1,3-bis(*tert*-butoxycarbonyl)-2-imidazolidinylimino]-difenilamina



4,4'-bis(4,5-dihidro-1H-2-imidazolilamino)-difenilamina



Di-*tert*-butil-2-(4-[4-(4-[1,3-bis(*tert*-butoxycarbonyl)-tetrahydro-1H-2-imidazolilideno]-aminofenil)-piperazino]-fenilimino)-1,3-imidazolidinadicarboxilato

Figura 1.40- Compostos sintetizados ativos frente ao *Trypanosoma brucei rhodesiense* (DARDONVILLE e BRUN, 2004)

CAPÍTULO 2



SÍNTESE DE DERIVADOS 2-TIOXO-IMIDAZOLIDINÔNICOS**1. Material****1.1. Equipamentos**

Os pontos de fusão foram determinados em aparelho Quimis Modelo 340.27.

A cromatografia analítica em camada delgada foi efetuada em cromatofolhas de alumínio MERCK Sílica Gel 60 F₂₅₄ de 0,25 mm de espessura e a revelação foi realizada através da luz ultravioleta (254 ou 366 nm) ou através de vapores de iodo.

As análises espectroscópicas foram realizadas na Université de Joseph Fourier de Grenoble, França.

- Espectrofotometria de absorção no infravermelho (IV): Espectrofotômetro Perking Helmer 1310, em pastilhas de KBr.
- Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN¹H): Aparelho Varian Modelo Plus 200 MHz, solvente o DMSO-d₆ ou CDCl₃.

- Espectrometria de massas (MS): Espectrômetro Delsi-Nermag, modelo R-1010C, sobre impacto eletrônico de 70 ev.

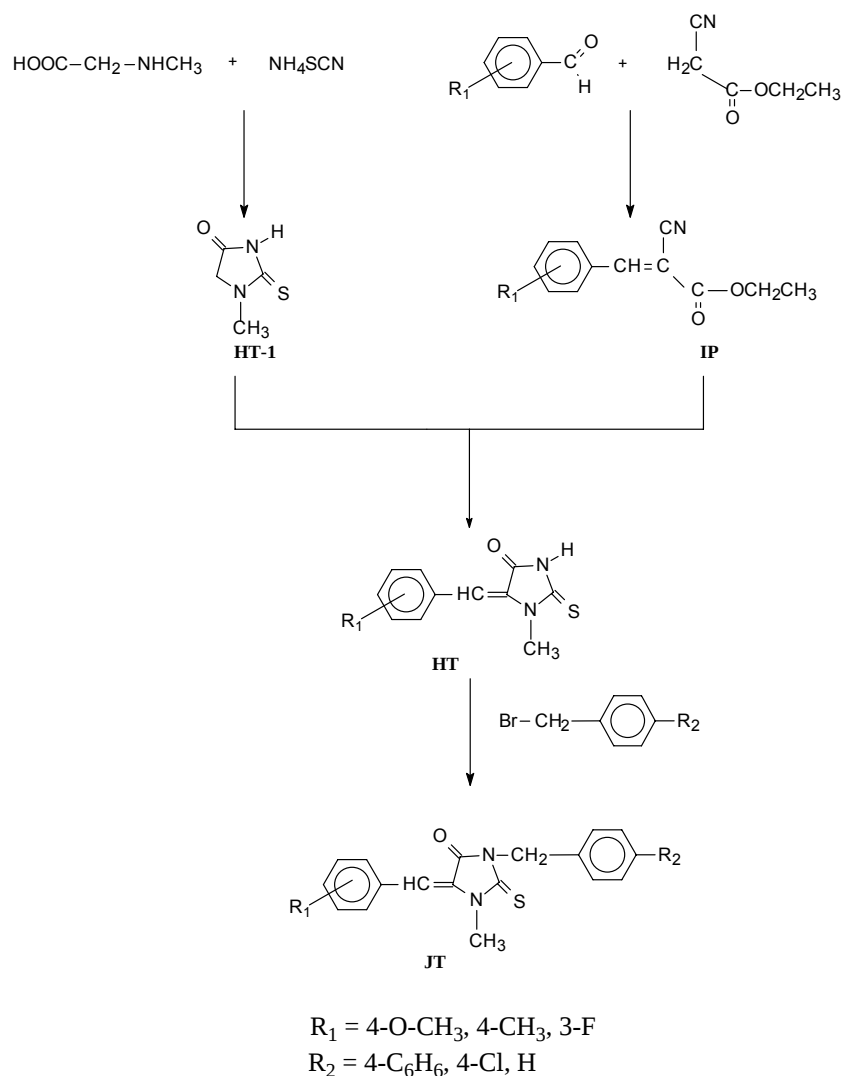
1.2. Reagentes e solventes

Para a obtenção dos novos compostos estudados neste trabalho foram utilizados: acetato de etila; ácido clorídrico; benzeno; brometo de benzila; brometo de 4-fenil-benzila; carbonato de potássio; cianoacetato de etila; cloreto de 4-cloro-benzila; diclorometano; etanol; éter dietílico; 3-flúor-benzaldeído; *n*-hexano; metanol; 4-metil-benzaldeído; 4-metoxi-benzaldeído; piperidina; tiocianato de amônio, todos com o grau de pureza para a síntese ou análise.

2. Metodologia

O esquema 2.1 representa o diagrama de obtenção dos novos derivados 3-benzil-5-benzilideno-2-tioxo-imidazolidínicos (**JT**), os quais foram obtidos em 4 etapas. Inicialmente a N-metil-glicina ou sarcosina reage com o tiocianato de amônio conduzindo a 1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**HT-1**). Paralelamente, foram obtidos os ésteres de Cope (**IP**) através da reação de benzaldeídos substituídos com o cianoacetato de etila, na presença de piperidina. Para obtenção dos intermediários substituídos na posição 5 do núcleo 2-tioxo-imidazolidínico, reagiu-se a 1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**HT-1**) com os diferentes ésteres de Cope (**IP**), obtendo-se os derivados 5-benzilideno-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (**HT**), os quais reagem com o brometo de benzila

substituído, produzindo os derivados 3-benzil-5-benzilideno-2-tioxi-imidazolidin-4-onas (**JT**).

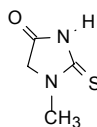


Esquema 2.1- Esquema geral de obtenção dos derivados 2-tioxi-imidazolidinônicos

2.1. Obtenção da 1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (HT-1)

Pelo aquecimento de 2 g de N-metil-glicina e de 1,69 g de tiocianato de amônio a 140 °C sob uma atmosfera inerte, durante 12 horas, obteve-se um líquido vermelho que cristalizou facilmente. Este composto, 1-metil-2-tioxi-

imidazolidin-4-ona (**HT-1**) foi purificado através de lavagens sucessivas com água destilada, etanol e *n*-hexano.



HT-1

C₃H₄N₂OS **M=116**

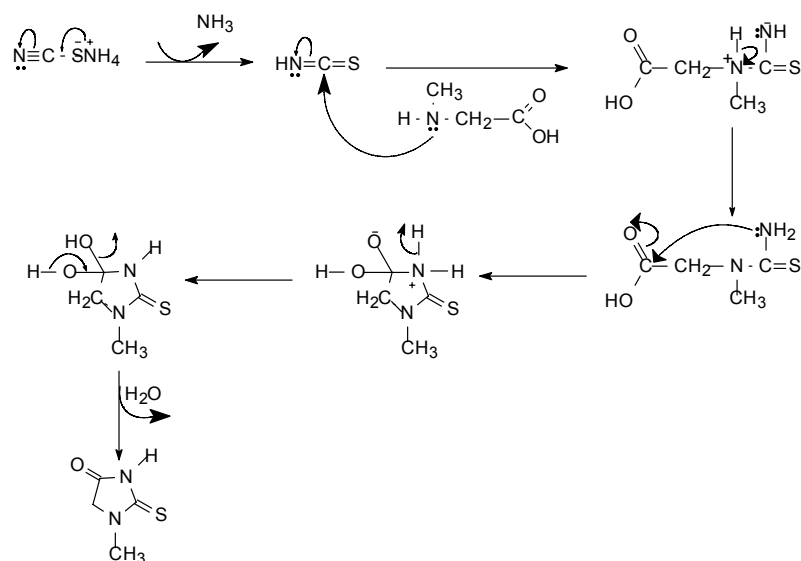
Rendimento: 55 %

Ponto de fusão: 222-224 °C

Ponto de fusão: 229-231 °C (ROWLEY *et al.*, 1971)

Rf: 0,30; CHCl₃/CH₃OH (96:4)

A reação iniciou-se pela eliminação de amônia e pelo ataque do par de elétrons livres do átomo de nitrogênio da N-metil-glicina ao átomo de carbono do grupamento -CN do tiocianato de amônio, formando um intermediário. Este intermediário sofreu um ataque intramolecular pelo par de elétrons livres do átomo de nitrogênio do grupamento amino ao átomo de carbono carboxílico, que favoreceu a liberação de água e formação da 1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**HT-1**) (Esquema 2.2).

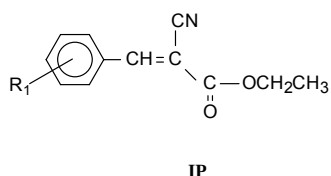


Esquema 2.2- Mecanismo reacional de obtenção da 1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**HT-1**)

2.2. Obtenção dos derivados 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila (**IP**)

Em um balão de fundo redondo foram adicionados benzaldeídos substituídos e cianoacetato de etila, e a piperidina utilizada como catalisador e o benzeno seco como solvente. Este balão foi conectado ao tubo de Dean-Starck contendo previamente 10 mL de benzeno seco. A mistura reacional foi aquecida lentamente até a estabilização da temperatura, em geral 110 °C, que foi mantida até o término da eliminação da água. Os precipitados obtidos, os ésteres de Cope (**IP**), foram concentrados e purificados por recristalizações seguidas de lavagens com solventes adequados.

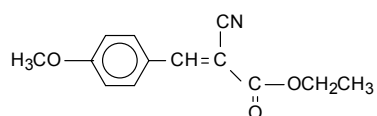
A estrutura geral dos derivados 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila (**IP**) e os respectivos substituintes do anel aromático.



R= 4-O-CH₃, 4-CH₃, 3-F

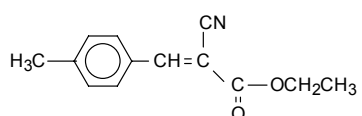
As quantidades dos reagentes e as características físico-químicas dos derivados cianocinâmicos (**IP**) obtidas se encontram a seguir.

a) 2-Ciano-3-(4-metoxi-fenil)-acrilato de etila (IP-6)



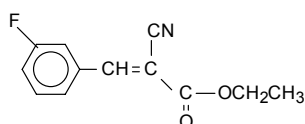
4-Metoxi-benzaldeído	10 g – 0,073 mols
Cianoacetato de etila	8,3088 g – 0,07353 mols
Benzeno	80 mL
Piperidina	10 gotas
Temperatura	100 – 120 °C
Purificação	Recristalização em etanol absoluto
F.M.	C ₁₃ H ₁₃ NO ₃
M.M	231
Rf	0,58 <i>n</i> -hex/AcOEt 7:3
P.F.	84 – 85 °C
Rdt (%)	85 %

b) 2-Ciano-3-*p*-toluil-acrilato de etila (IP-15)



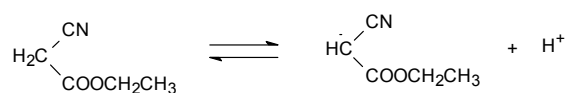
4-Metil-benzaldeído	10 g – 0,08333 mols
Cianoacetato de etila	9,41629 g – 0,08333 mols
Benzeno	80 mL
Piperidina	10 gotas
Temperatura	100 – 120 °C
Purificação	Recristalização em etanol absoluto
F.M.	C ₁₃ H ₁₃ NO ₂
M.M	215
Rf	0,86 bez/AcOEt 95:0,5
P.F.	92 – 93 °C
Rdt (%)	81,20 %

c) 2-Ciano-3-(3-flúor-fenil)-acrilato de etila (IP-21)



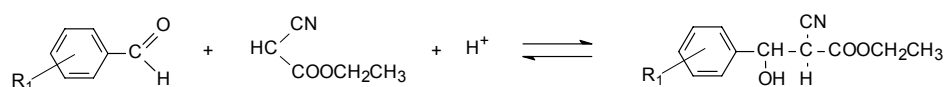
4-Flúor-benzaldeído	10 g – 0,08065 mols
Cianoacetato de etila	9,1129 g – 0,08065 mols
Benzeno	80 mL
Piperidina	10 gotas
Temperatura	100 – 120 °C
Purificação	Recristalização em etanol absoluto
F.M.	C ₁₂ H ₁₀ NFO ₂
M.M	219
Rf	0,76 bez/AcOEt 95:0,5
P.F.	90 – 91 °C
Rdt (%)	83,33 %

A reação de obtenção dos ésteres de Cope (**IP**) de etila apresenta um caráter reversível, contudo a formação dos produtos é preferencial devido à eliminação de água na forma de mistura azeotrópica. O mecanismo reacional é explicado em três etapas, conforme Cope e colaboradores (1941). Primeiramente ocorre a ionização do cianoacetato de etila, conduzindo a formação de um carbânion (Esquema 2.3).



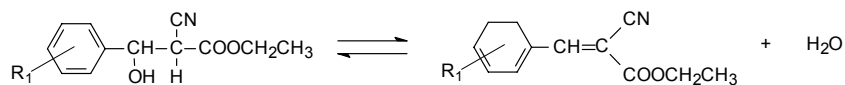
Esquema 2.3- Ionização do cianoacetato de etila

Em seguida, ocorre a reação de condensação do carbânion com o carbocátion resultante da diferença de eletronegatividade entre o carbono e o oxigênio da função aldeídica presente nos benzaldeídos resultando em um composto intermediário instável (Esquema 2.4).



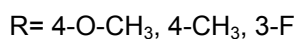
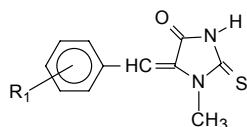
Esquema 2.4- Reação de condensação entre o benzaldeído e o cianoacetato

Devido à diferença de eletronegatividade entre o carbono e o oxigênio, ocorre o processo de desidratação do intermediário, obtendo-se finalmente os derivados 2-ciano-fenil-acrilatos de etila (**IP**) (Esquema 2.5).

Esquema 2.5- Formação dos derivados 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila (**IP**)

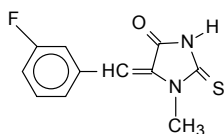
2.3. Obtenção dos derivados 5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (HT)

A 1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona dissolvida parcialmente em etanol seco juntamente com os derivados 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila (**IP**), em presença de piperidina como catalisador, foi aquecida lentamente até refluxo durante o tempo e temperatura necessários para a obtenção dos novos derivados. A reação foi acompanhada pela análise cromatográfica em camada delgada (CCD) através do sistema de eluição adequado. Os derivados da 5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**HT**) foram purificados através de cristalizações sucessivas ou lavagens com solventes adequados.



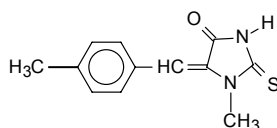
As características físico-químicas como as quantidades utilizadas na preparação dos derivados 5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**HT**) se encontram a seguir.

a) 5-(3-Flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (HT-12)



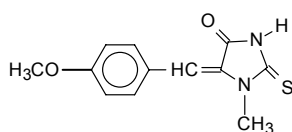
1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT-1)	1,3 g – 0,01 mols
IP-21	2,19 g – 0,01 mols
Benzeno	30 mL
Piperidina	10 gotas
Temperatura	70-80 °C
Purificação	Recristalização em ácido acético e lavagem com água destilada
F.M.	C ₁₁ H ₉ FN ₂ OS
M.M	236
Rf	0,70 CHCl ₃ /MeOH 6:4
P.F.	186 -188 °C
Rdt (%)	65 %

b) 1-Metil-5-(4-metil-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT-14)



1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT-1)	1,3 g – 0,01 mols
IP-15	2,15 g – 0,01 mols
Benzeno	30 mL
Piperidina	10 gotas
Temperatura	70-80 °C
Purificação	Recristalização em ácido acético e lavagem com água destilada
F.M.	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ OS
M.M	232
Rf	0,59 CHCl ₃ /MeOH 6:4
P.F.	227 -228 °C
Rdt (%)	52 %

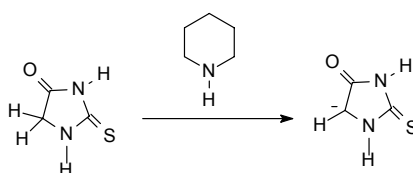
c) 5-(4-Metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT-15)



1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT-1)	1,3 g – 0,01 mols
IP-6	2,31 g – 0,01 mols
Benzeno	30 mL
Piperidina	10 gotas
Temperatura	70-80 °C
Purificação	Recristalização em ácido acético e lavagem com água destilada
F.M.	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₂ S
M.M	248
Rf	0,79 CHCl ₃ /MeOH 6:4
P.F.	84 – 85 °C
Rdt (%)	61 %

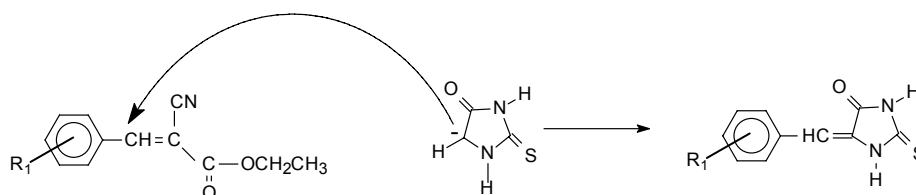
Os derivados 5-benzilideno-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**HT**) foram obtidos por uma reação de adição do tipo Michael da 2-tioxo-imidazolidin-4-ona com os derivados 2-ciano-3-fenil-acrilatos de etila (**IP**) em presença de piperidina de acordo com o método descrito por Daboun e colaboradores (1982).

O mecanismo de reação para a síntese dos derivados 5-benzilideno-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**HT**) pode ser explicado em duas etapas. A primeira, consiste na formação do carbânion na posição 5 do anel imidazolidínico (Esquema 2.6)



Esquema 2.6- Formação do carbânion da 2-tioxo-imidazolidin-4-ona

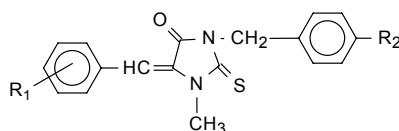
Na segunda etapa, o ataque do carbânion ao carbono β do 2-ciano-fenil-acrilato de etila forma um intermediário, que após sua estabilização através da eliminação do éster, produz os derivados 5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**HT**) (Esquema 2.7).



Esquema 2.7- Formação dos derivados da 5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**HT**)

2.4. Obtenção dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-onas (**JT**)

Para a obtenção dos novos compostos derivados 3-benzil-5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT**) foram colocados em um balão de fundo redondo as 5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-onas (**HT**), o carbonato de potássio como catalisador e o metanol como solvente. A mistura reacional foi mantida sob agitação constante à temperatura ambiente, durante 1 hora. Em seguida, foi adicionado o brometo de benzila substituído ou não. Todas reações foram acompanhadas por análise cromatográfica em camada delgada (CCD) através do sistema de eluição adequado. Os derivados do 3-benzil-5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT**) foram purificados por lavagens com os solventes adequados.

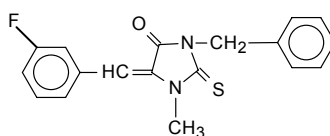


$R_1 = 4\text{-O-CH}_3, 4\text{-CH}_3, 3\text{-F}$

$R_2 = 4\text{-C}_6\text{H}_5, 4\text{-Cl}, \text{H}$

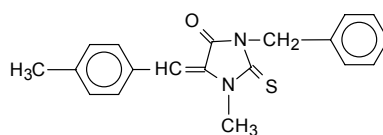
As características físico-químicas dos novos derivados da 3-benzil-5-benzilideno-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT**) se encontram a seguir.

a) 3-Benzil-5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-53)



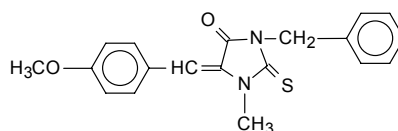
HT-12	0,47 g – 0,002 mols
Brometo de benzila	0,43 g – 0,0025 mols
Metanol	5 mL
K ₂ CO ₃	0,304 g - 0,0022 mols
Temperatura	ambiente
Purificação	lavagens com éter seco e água destilada
F.M.	C ₁₈ H ₁₅ FN ₂ OS
M.M	326
R _f	0,66 CHCl ₃ /MeOH 8:2
P.F.	183 - 184 °C
Rdt (%)	41 %

b) 3-Benzil-1-metil-5-(4-metil-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (JT-63)



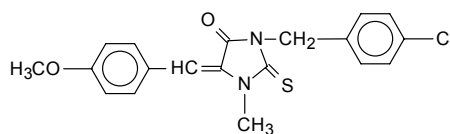
HT-14	0,46 g – 0,002 mols
Brometo de benzila	0,43 g – 0,0025 mols
Metanol	5 mL
K ₂ CO ₃	0,304 g - 0,0022 mols
Temperatura	ambiente
Purificação	lavagens com éter seco e água destilada
F.M.	C ₁₉ H ₁₈ N ₂ OS
M.M	322
Rf	0,81 CHCl ₃ /MeOH 6:4
P.F.	187 - 189°C
Rdt (%)	57 %

c) 3-Benzil-1-metil-5-(4-metoxi-benzilideno)-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (JT-68)



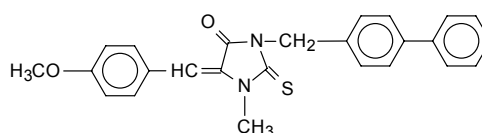
HT-15	0,50 g – 0,002 mols
Brometo de benzila	0,43 g – 0,0025 mols
Metanol	5 mL
K ₂ CO ₃	0,304 g - 0,0022 mols
Temperatura	ambiente
Purificação	lavagens com éter seco e água destilada
F.M.	C ₁₉ H ₁₈ N ₂ O ₂ S
M.M	337
Rf	0,78 CHCl ₃ /MeOH 6:4
P.F.	178 – 180 °C
Rdt (%)	56 %

d) 3-(4-Cloro-benzil)-1-metil-5-(4-metoxi-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-69)



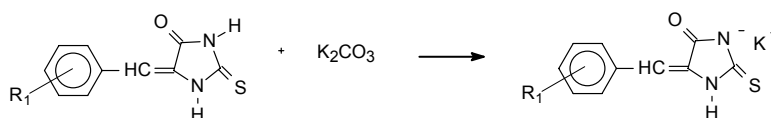
HT-15	0,50 g – 0,002 mols
Cloreto de 4-cloro-benzil	0,43 g – 0,0025 mols
Metanol	5 mL
K ₂ CO ₃	0,304 g - 0,0022 mols
Temperatura	Ambiente
Purificação	lavagens com éter seco e água destilada
F.M.	C ₁₉ H ₁₇ ClN ₂ O ₂ S
M.M	372,5
R _f	0,82 CHCl ₃ /MeOH 6:4
P.F.	217 - 219 °C
Rdt (%)	53 %

e) 3-(4-Fenil-benzil)-1-metil-5-(4-metoxi-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-72)



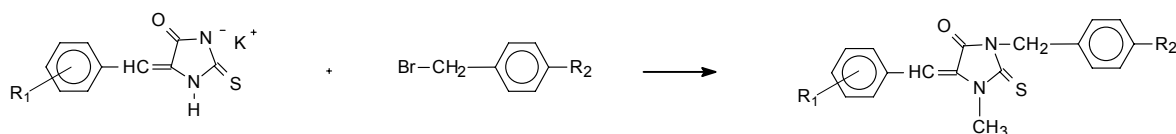
HT-15	0,50 g – 0,002 mols
Brometo de 4-fenil-benzil	0,63 g – 0,0025 mols
Metanol	5 mL
K ₂ CO ₃	0,304 g - 0,0022 mols
Temperatura	Ambiente
Purificação	lavagens com éter seco e água destilada
F.M.	C ₂₅ H ₂₂ N ₂ O ₂ S
M.M	414
R _f	0,76 CHCl ₃ /MeOH 6:4
P.F.	157 - 159 °C
Rdt (%)	67 %

O mecanismo reacional de obtenção dos derivados N-alquilados ocorre em duas etapas (FINKBEINER, 1965). Primeiramente o átomo de hidrogênio ligado ao nitrogênio da posição 3 do anel imidazolidínico dos derivados do 5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**HT**) é suficientemente ácido para ser suprimido em presença de uma base, no caso carbonato de potássio (Esquema 2.8).



Esquema 2.8- Formação do sal dos derivados da 5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona

Em seguida, o sal de potássio atua com agente nucleófilo, atacando o brometo ou cloreto de benzila para formar os derivados 3-benzil-5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT**) (Esquema 2.9).



Esquema 2.9- Formação dos derivados da 3-benzil-5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT**)

3. Resultados e discussão

3.1. Análise espectroscópica

A elucidação estrutural dos compostos inicialmente propostos na metodologia deste trabalho foi observada através das características físico-químicas citados na descrição metodológica e complementados por outros que se encontram neste item. Os dados apresentados não só indicam a obtenção, como também a pureza dos produtos finais das sínteses.

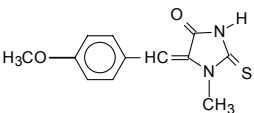
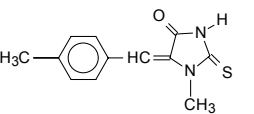
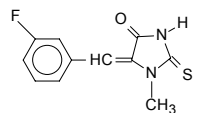
As características físico-químicas aqui discutidas compreendem os espectroscopia de infravermelho (IV), espectroscopia ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN¹H), e espectrometria de massas.

3.1.1. Espectroscopia no infravermelho

Os espectros no infravermelho foram realizados em pastilha de KBr, dando-se destaque para a citação das bandas de absorção características dos grupos funcionais presentes nos derivados sintetizados.

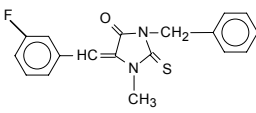
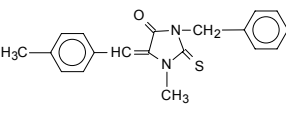
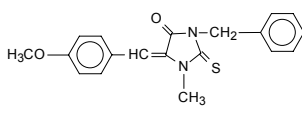
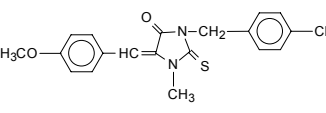
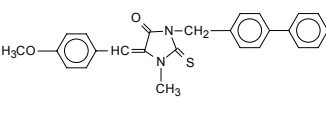
Observaram-se as frequências de absorção referentes à deformação axial do N-H em 3090 e 3110 cm⁻¹ e as vibrações de deformação da (C=O) em uma banda de absorção que variou entre 1670 cm⁻¹ a 1765 cm⁻¹. A vibração da ligação dupla C=C foi observada em uma frequência entre 1570 cm⁻¹ a 1600 cm⁻¹ e a de C=S entre 1460 cm⁻¹ e 1495 cm⁻¹ (Tabelas 2.1 e 2.2).

Tabela 2.1- Frequências de absorção no infravermelho, em cm^{-1} , dos derivados 5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-onas (**HT**)

COMPOSTO	NH	C=S	C=O	C=C
 HT-15	3090	1495	1710	1595
 HT-14	3110	1470	1765	1600
 HT-12	3090	1470	1715	1580

Espectrofotômetro Perking Helmer 1310, em pastilhas de KBr

Tabela 2.2- Frequências de absorção no infravermelho, em cm^{-1} , dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT**)

COMPOSTO	C=S	C=O	C=C
 JT-53	1460	1680	1570
 JT-63	1460	1770	1600
 JT-68	1460	1680	1590
 JT-69	1460	1670	1590
 JT-72	1450	1670	1590

Espectrofotômetro Perking Helmer 1310, em pastilhas de KBr

O espectro IV dos derivados 5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**HT**) e 3-benzil-5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-onas (**JT**) se encontram na figura 2.1 a 2.8.

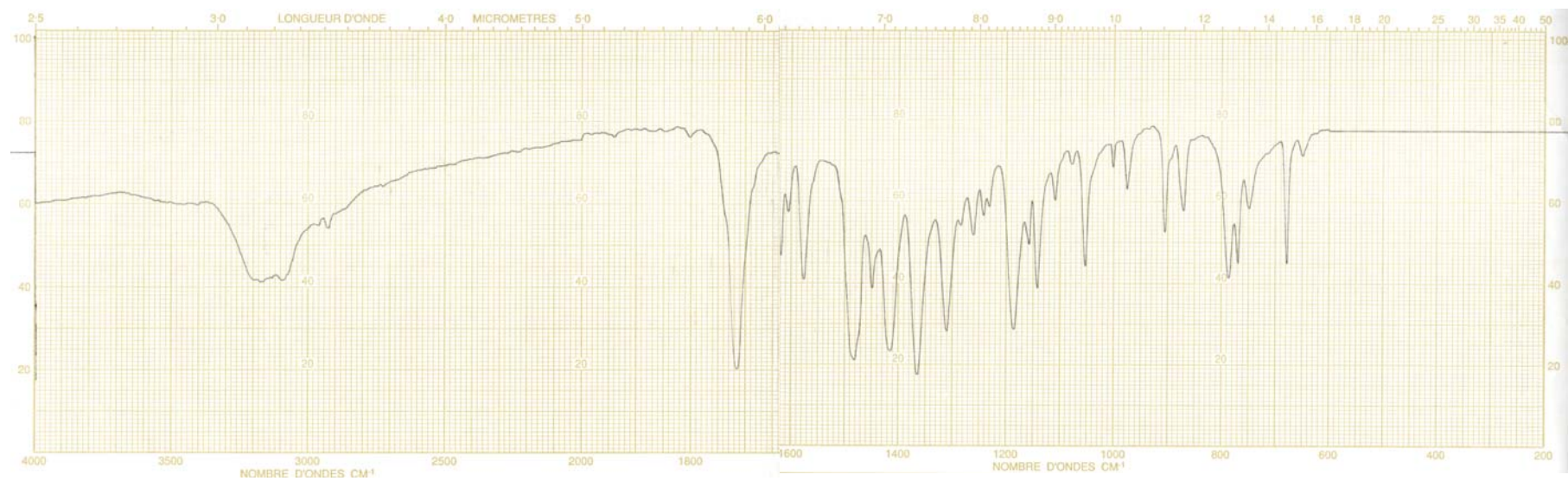


Figura 2.1- Espectro no infravermelho da 5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**HT-12**)

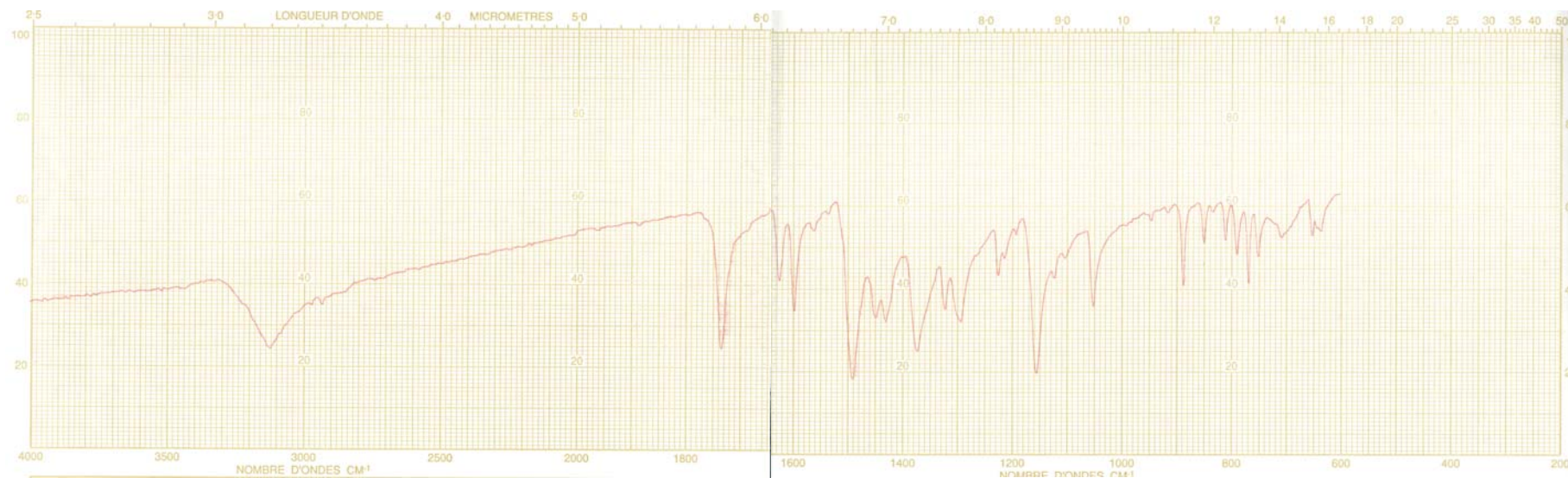


Figura 2.2- Espectro no infravermelho da 5-(4-metil-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT-14)

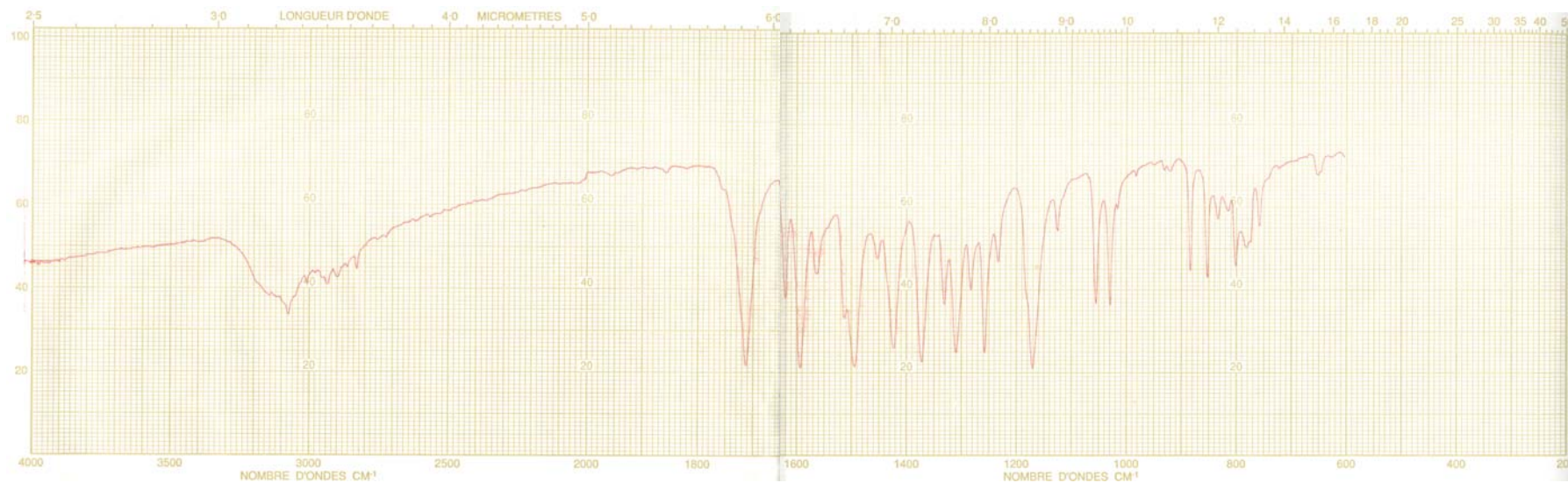


Figura 2.3- Espectro no infravermelho da 5-(4-metoxi-benzilideno)- 1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**HT-15**)

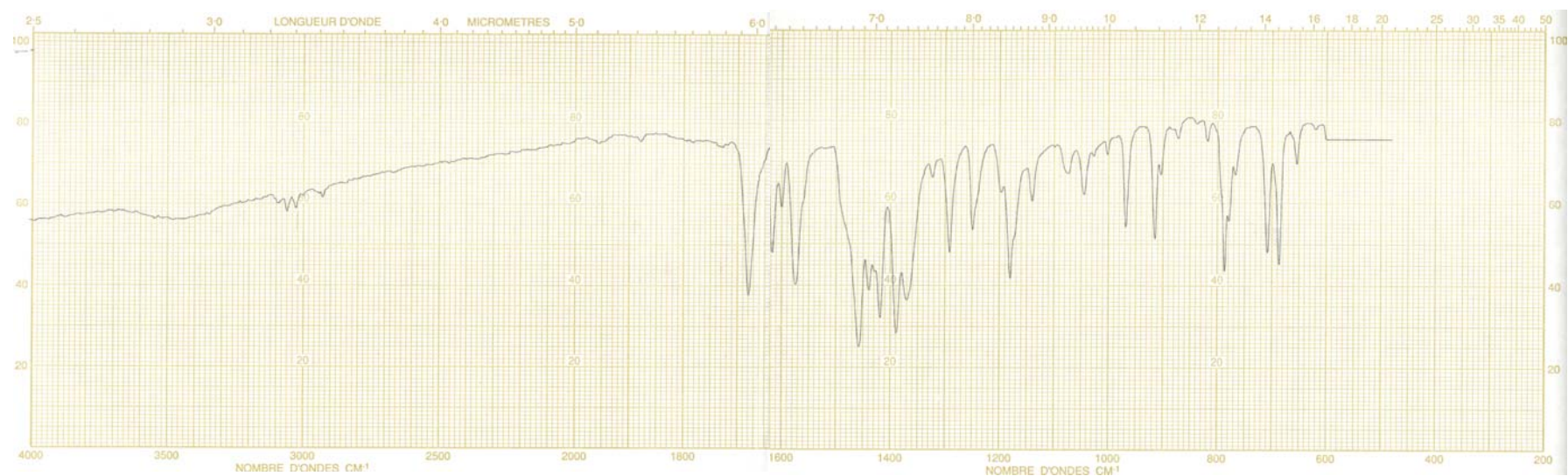


Figura 2.4- Espectro no infravermelho da 3-benzil-5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT-53**)

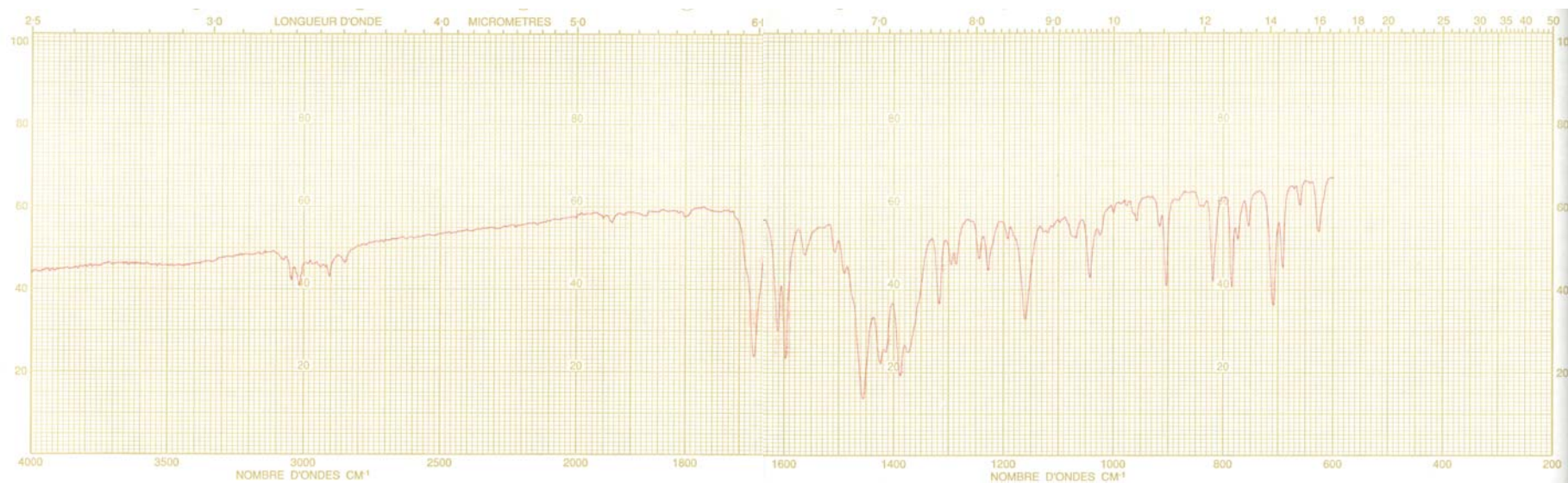


Figura 2.5- Espectro no infravermelho da 3-benzil-5-(4-metil-benzilideno)-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT-63**)

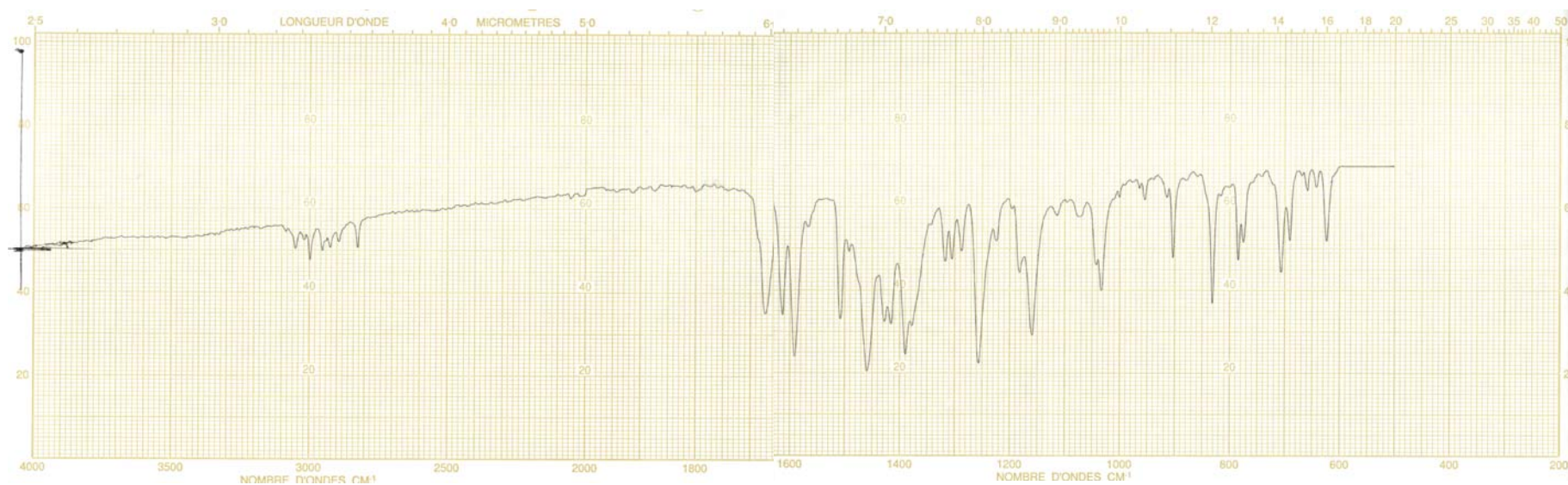


Figura 2.6- Espectro no infravermelho da 3-benzil-5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT-68**)

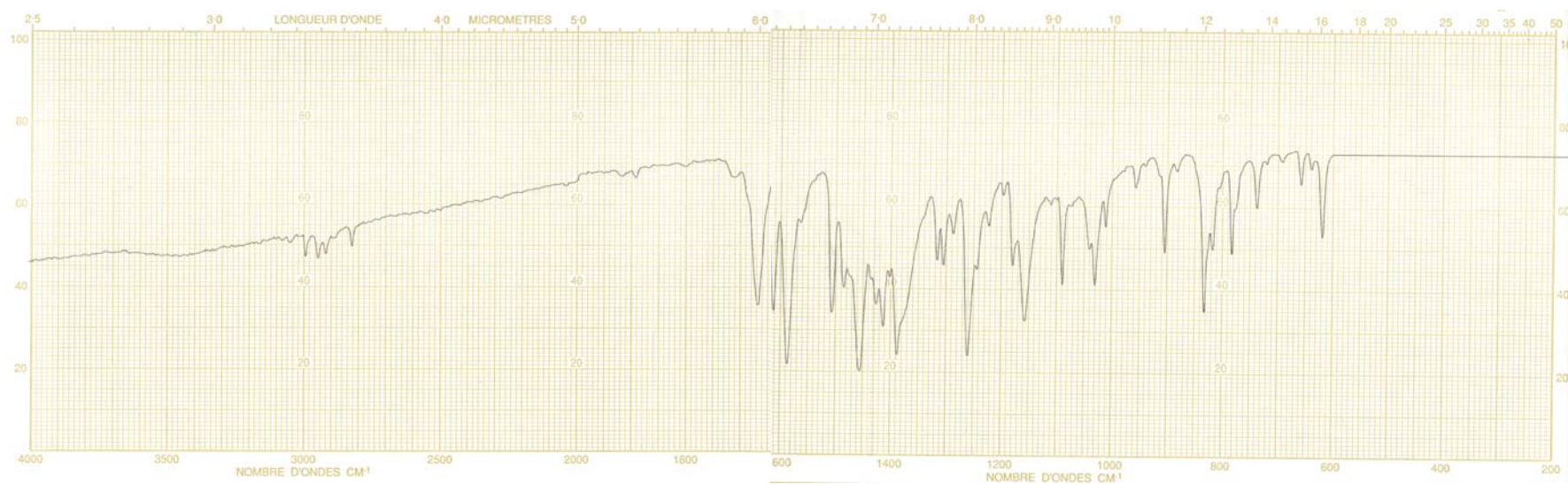


Figura 2.7- Espectro no infravermelho da 3-(4-cloro-benzil)-5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-69)

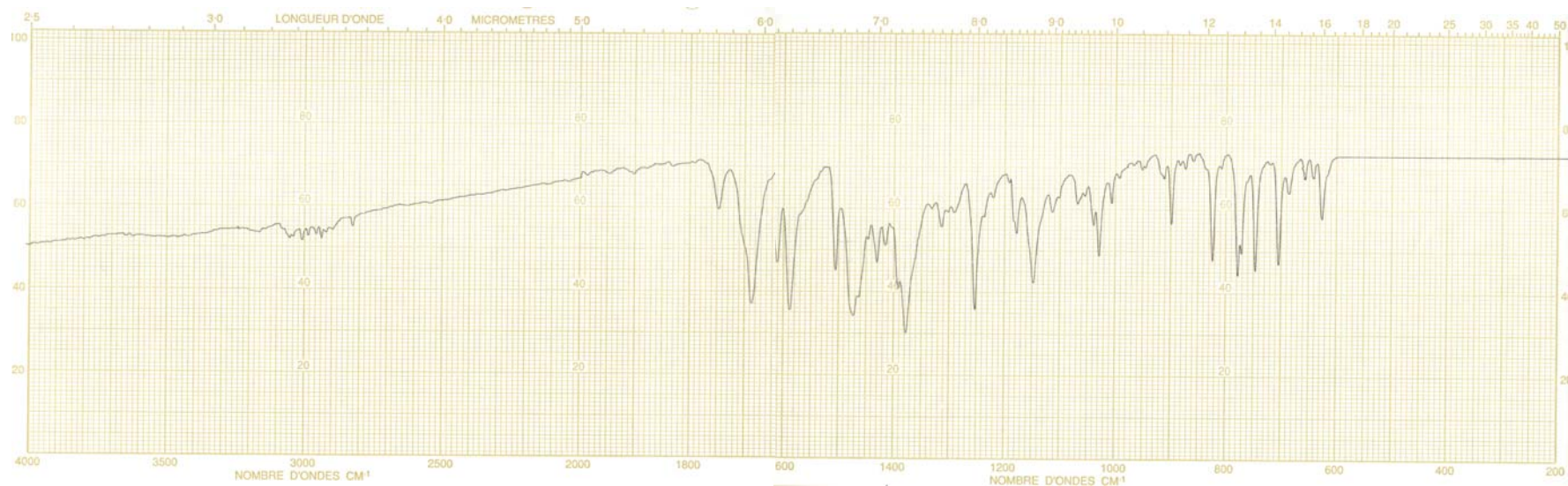


Figura 2.8- Espectro no infravermelho da 3-(4-fenil-benzil)- 5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (JT-72)

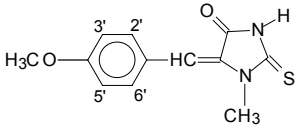
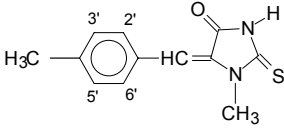
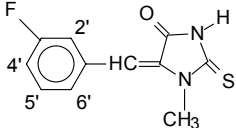
3.1.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio

Os espectros de RMN¹H foram realizados utilizando-se como solvente o DMSO-d₆ e/ou CHCl₃, para todos os derivados 1-metil-2-tioxo-imidazolidínicos (**HT** e **JT**). As multiplicidades dos sinais são indicadas pelas seguintes abreviações: singlete (s), dubleto (d), duplo dubleto (dd), tripleto (t), duplo tripleto (dt), quadrupletto (q), multipletto (m). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em ppm e os acoplamentos em Hz.

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN¹H) permitiu verificar as absorções características dos prótons presentes na estrutura dos intermediários 5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**HT-15**), 5-(4-metil-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**HT-14**), 5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**HT-12**) e dos compostos da série 3-benzil-5-benzilideno-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT**).

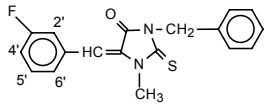
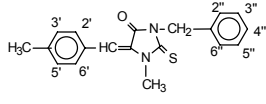
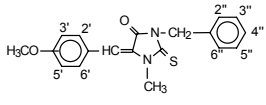
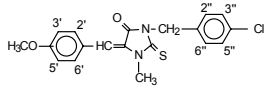
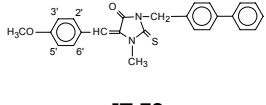
Os deslocamentos químicos (δ) dos hidrogênios presentes nos grupos CH-, CH₂-, CH₃-, NH- e anéis aromáticos dos intermediários (**HT**) e dos derivados 3-benzil-5-benzilideno-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT**) encontram-se descritos nas tabelas 2.3 e 2.4, respectivamente. Os espectros, nas figuras 2.9 a 2.16.

Tabela 2.3- Deslocamentos químicos (δ) em ppm dos derivados 5-benzilideno-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**HT**)

COMPOSTO	NH (s)	-CH= (s)	-CH ₃ (s)	N-CH ₃ (s)	Hidrogênios Benzilidênicos
 HT-15	12,27	6,69	3,79	3,45	8,12 (d, 2H 2'6') J=8,9 6,96 (d, 2H 3'5') J=8,9
 HT-14	12,27	6,69	2,32	3,46	7,98 (d, 2H 2'6') J=8,1 7,21 (d, 2H 3'5') J=8,1
 HT-12	12,44	6,73	-	3,46	9,03-9,1(m, 1H 6') 7,75 (d, 1H 2') J=7,8 7,39-7,49 (m, 1H 5') 7,22 (dt, 1H 4') J=6,4, J=2

Aparelho Varian Modelo Plus 200 MHz, solvente o DMSO-d₆ ou CDCl₃

Tabela 2.4- Deslocamentos químicos (δ) em ppm das 3-benzil-5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-onas (**JT**)

COMPOSTO	-CH=	-CH ₂ -	-CH ₃	N-CH ₃	Hidrogênios	
					Benzílico	benzilidênico
 JT-53	6,82	4,57	-	3,3	7,48-7,28 (m, 5H)	9,33-9,39 (m, 1H 6') 7,87 (d, 1H 2') J=7,81 7,48-7,28 (m, 1H 5') 7,26-7,19 (m, 1H 4')
 JT-63	6,4	4,62	2,39	3,28	7,42-7,46 (m, 2H 2''6'') 7,31-7,35 (m, 3H 3''4''5'')	8,11 (d, 2H 2'6') J=8,1 7,22 (d, 2H 3'5') J=8,1 8,11 (d, 2H) J=8,1
 JT-68	6,79	4,58	3,81	3,29	7,45-7,48 (m, 2H 2''6'') 7,29-7,48 (m, 3H 3''4''5'')	8,32 (d, 2H 2'6') J=8,6 6,99 (d, 2H 3'5') J=8,6
 JT-69	6,39	4,57	3,86	3,28	7,39 (d, 2H 3''5'') J=8,7 7,29 (d, 2H 2''6'') J=8,7	8,25 (d, 2H 2'6') J=8,8 6,88 (d, 2H 3'5') J=8,8
 JT-72	6,79	4,58	3,51	3,29	7,45-7,48 (m, 2H) 7,29-7,48 (m, 3H)	8,32 (d, 2H 2'6') J=8,6 6,99 (d, 2H 3'5') J=8,6

Aparelho Varian Modelo Plus 200 MHz, solvente o DMSO-d₆ ou CDCl₃

PITTA, M. G. R.

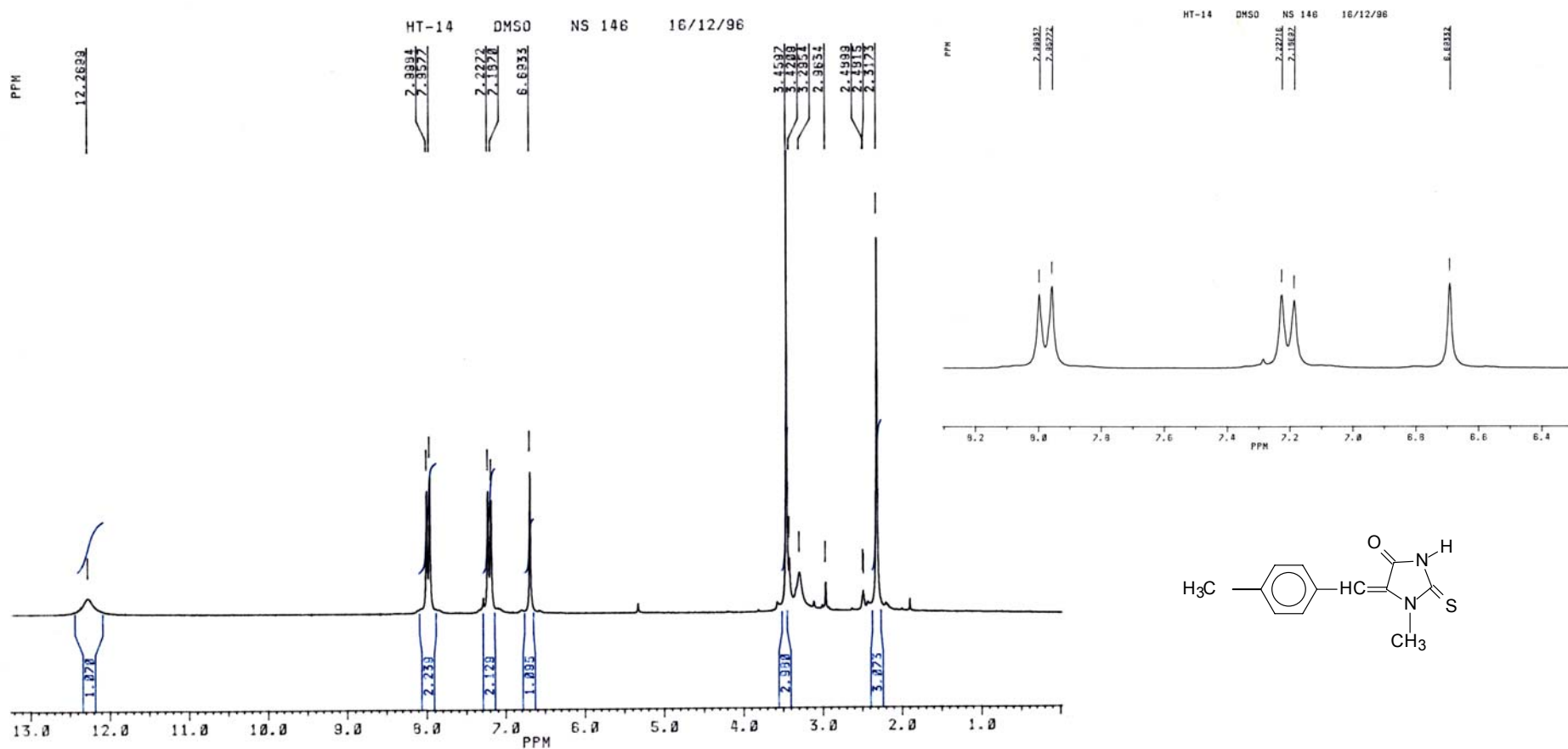


Figura 2.10- Espectro de ressonância nuclear de hidrogênio da -5-(4-metil-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**HT-14**)

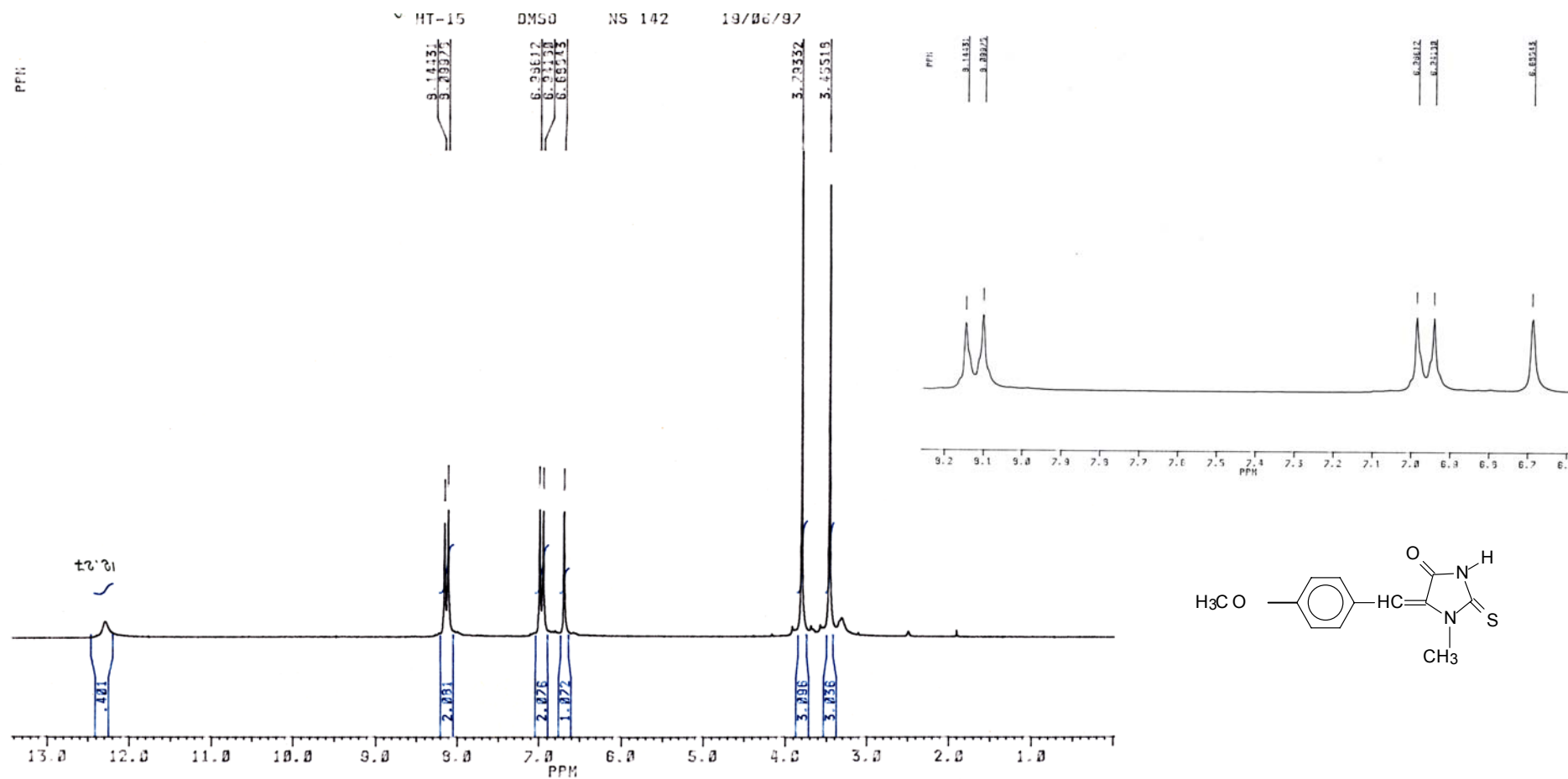


Figura 2.11- Espectro de ressonância nuclear de hidrogênio da 5-(4-metoxi-benzilideno)- 1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**HT-15**)

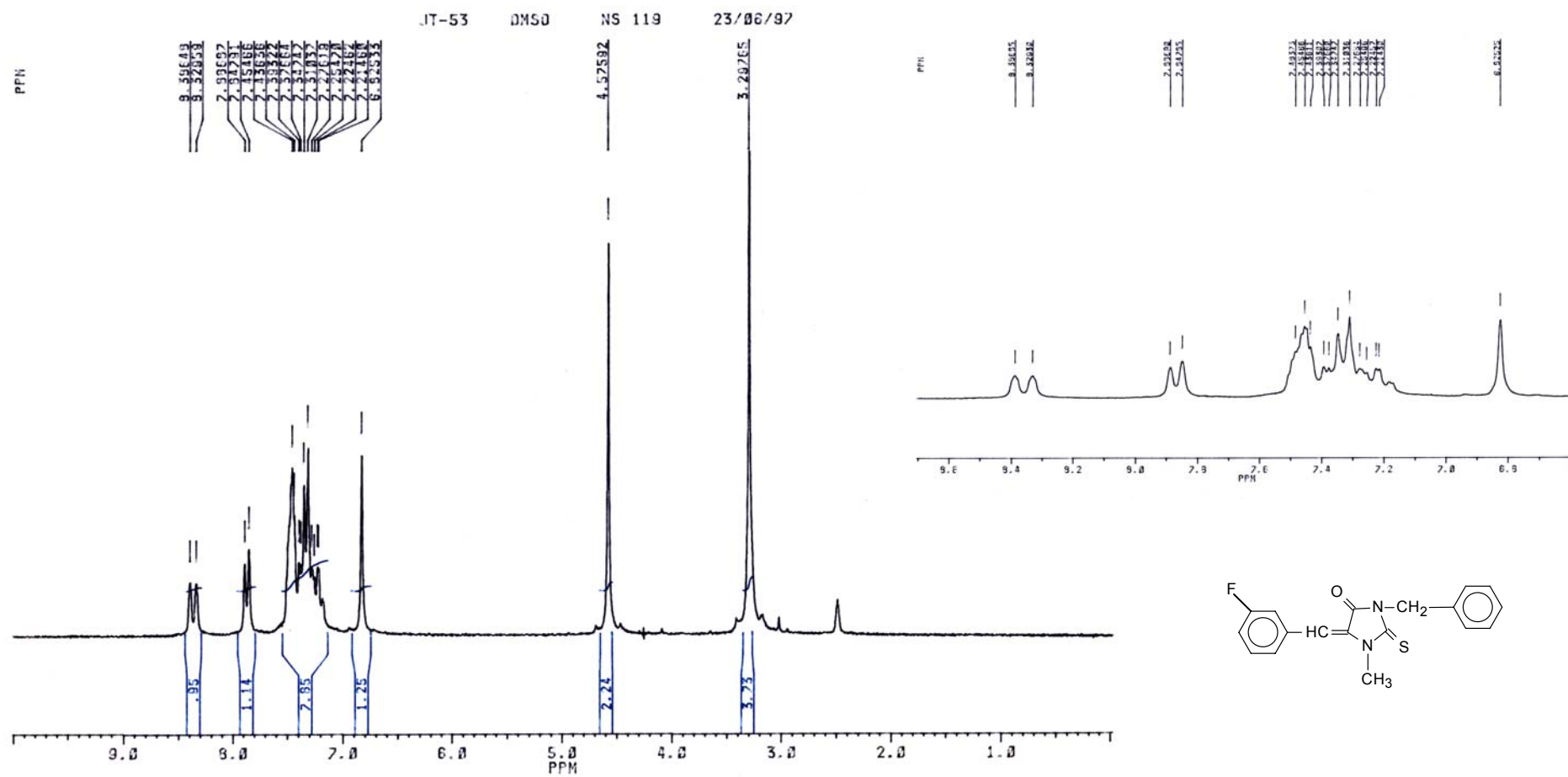


Figura 2.12- Espectro de ressonância nuclear de hidrogênio da 3-benzil-5-(3-fluór-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT-53**)

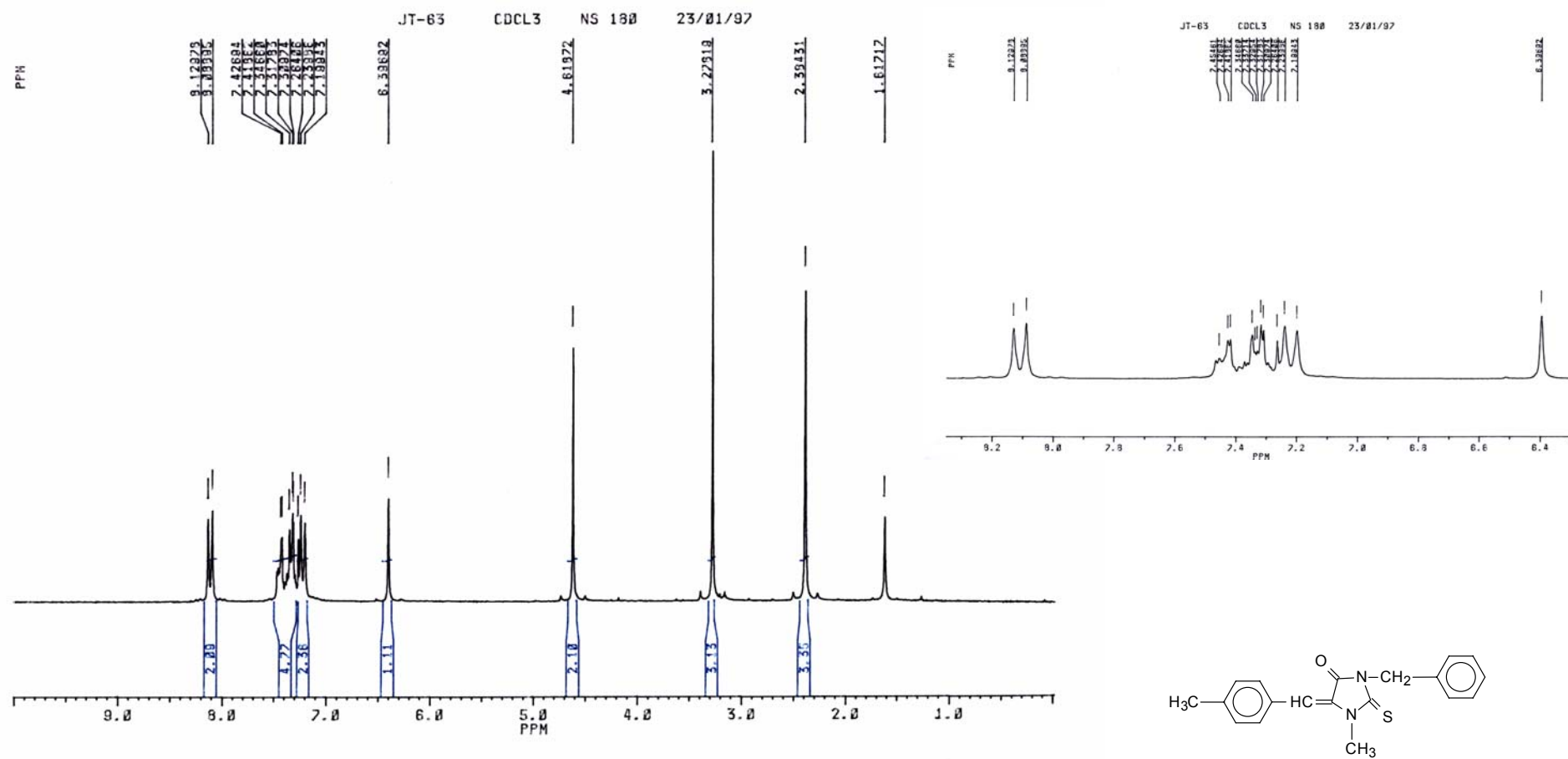


Figura 2.13- Espectro de ressonância nuclear de hidrogênio da 3-benzil-5-(4-metil-benzilideno)-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT-63**)

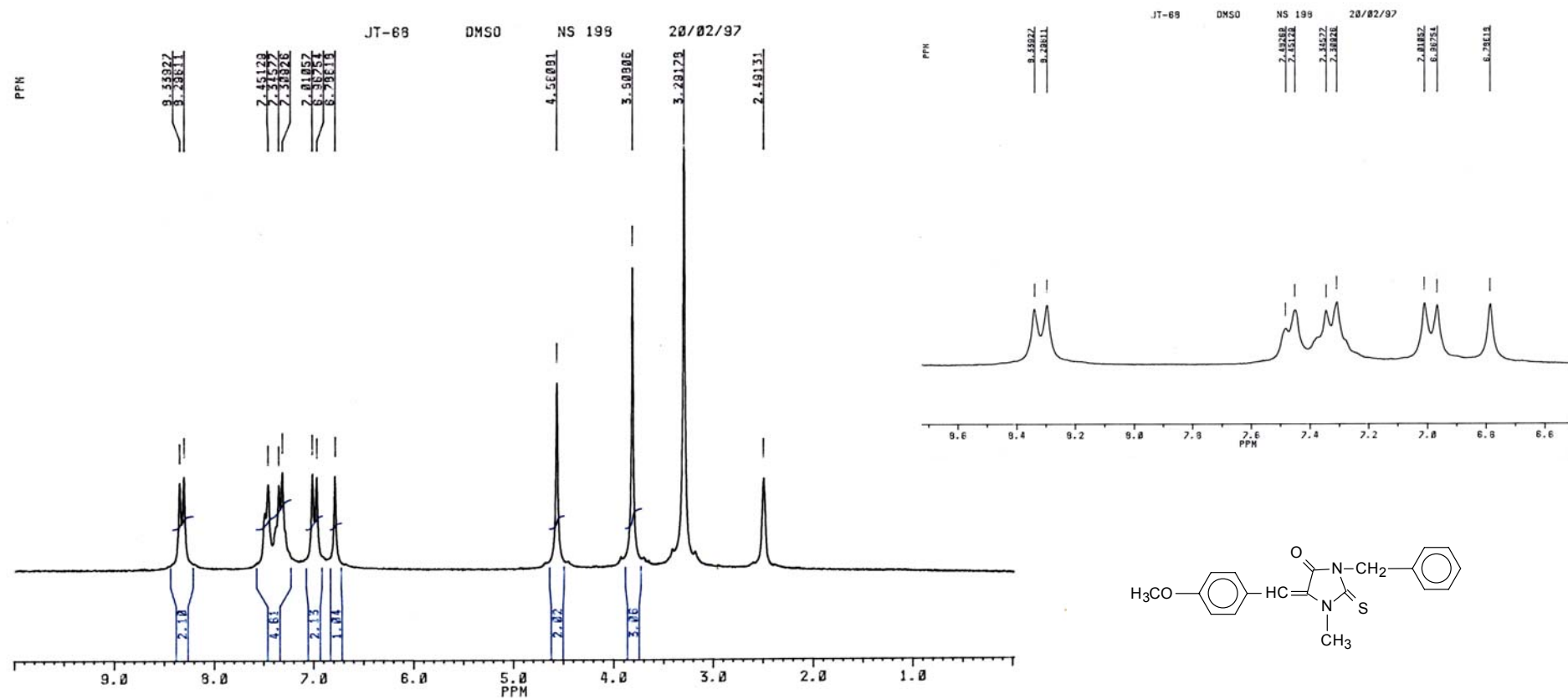


Figura 2.14- Espectro de ressonância nuclear de hidrogênio da 3-benzil-5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT-68**)

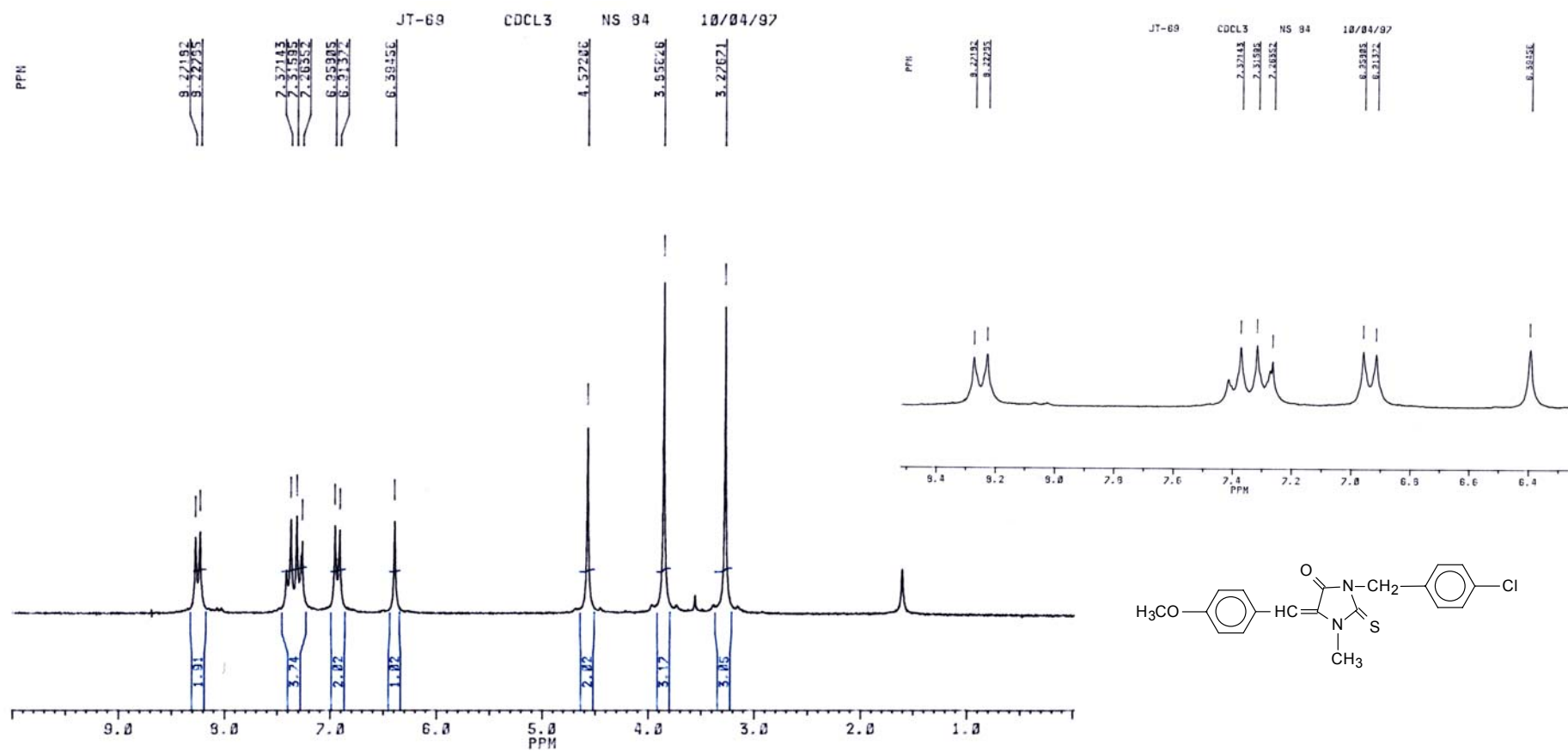


Figura 2.15- Espectro de ressonância nuclear de hidrogênio da 3-(4-cloro-benzil)-5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT-69**)

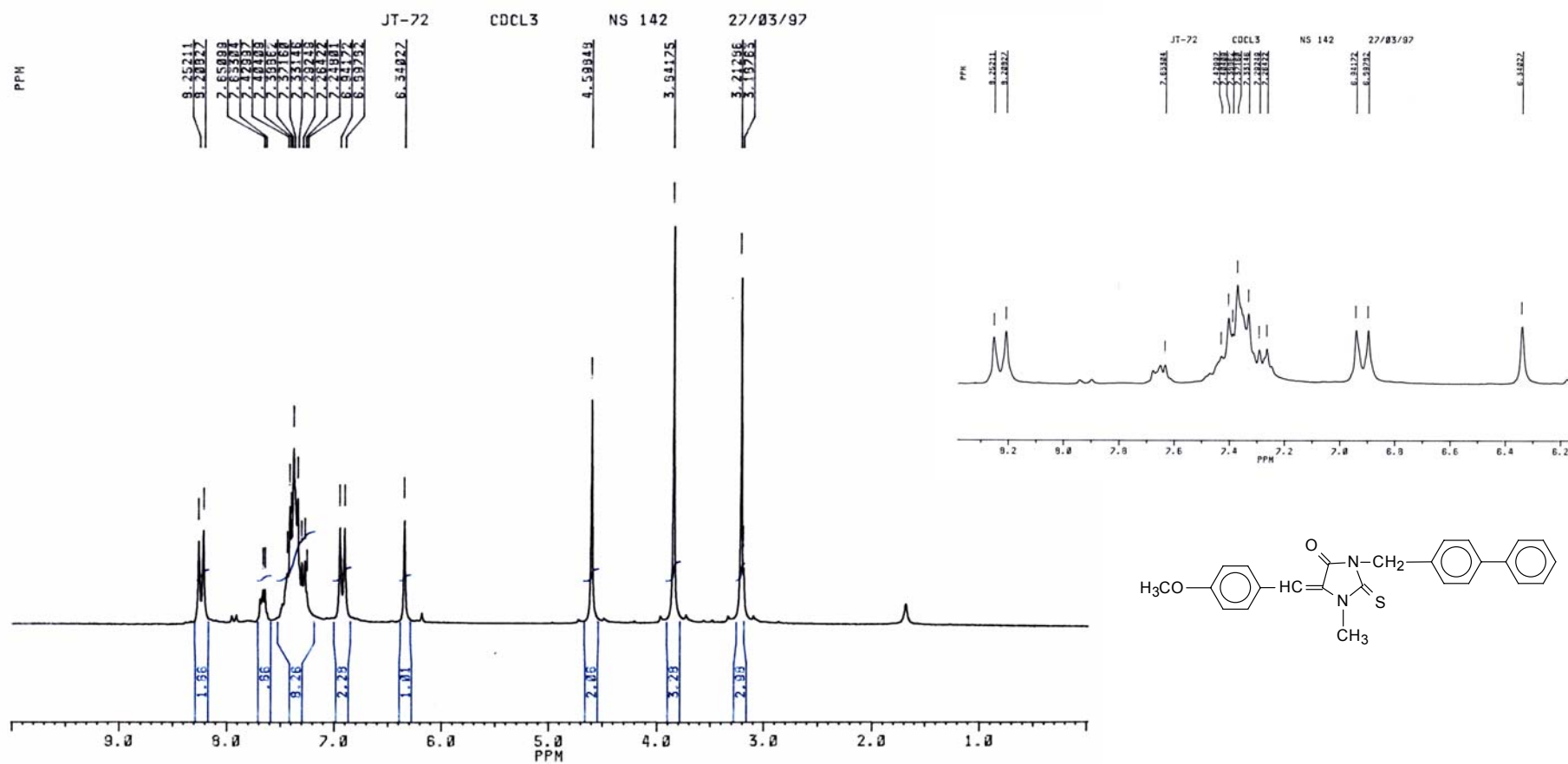


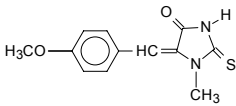
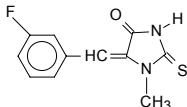
Figura 2.16- Espectro de ressonância nuclear de hidrogênio da 3-(4-fenil-benzil)- 5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT-72**)

3.1.3. Espectrometria de massas

Na espectrometria de massas, através da análise dos fragmentos obtidos através de impacto eletrônico e da sua abundância relativa dos derivados imidazolidínicos, determinamos a estrutura química dos intermediários 5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**HT-15**), 5-(4-metil-benzilideno)-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**HT-14**), 5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**HT-12**) (Tabela 2.5) e dos compostos finais 3-benzil-5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT**) (Tabela 2.6).

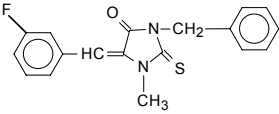
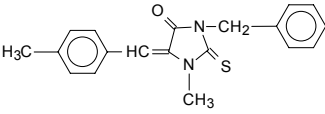
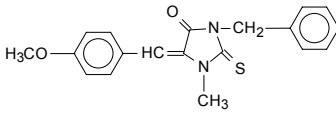
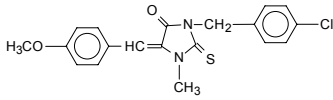
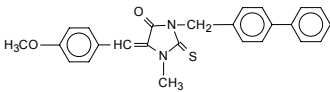
Nos esquema 2.10 a 2.16 encontram-se as fragmentações específicas propostas para os intermediários (**HT**) e dos compostos finais (**JT**). Os espectros encontram-se nas figuras 2.17 a 2.23.

Tabela 2.5- Principais fragmentações e intensidades relativas dos derivados 5-benzilideno-2-tioxiimidazolidin-4-onas (**HT**)

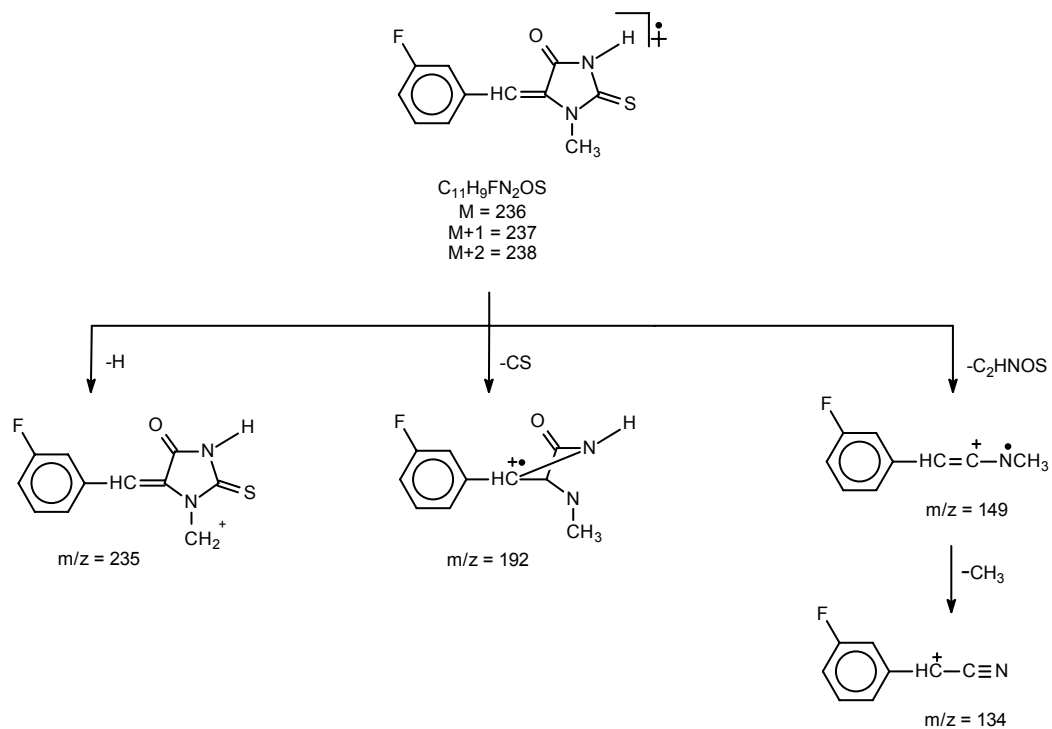
COMPOSTO	FRAGMENTOS m/z (%)						
 HT-15	M=248 (100) M+1=249 (21,21) M+2=250 (5,98)	247 (62,12)	233 (3,49)	204 (19,44)	161 (11,84)	146 (54,6)	92 (7,69)
 HT-12	M=236 (58,52) M+1=237 (9,80) M+2=238 (3,52)	235 (100)	192 (24,7)	149 (8,13)	134 (28,76)	-	-

Espectrômetro Delsi-Nermag, modelo R-1010C, sobre impacto eletrônico de 70 ev

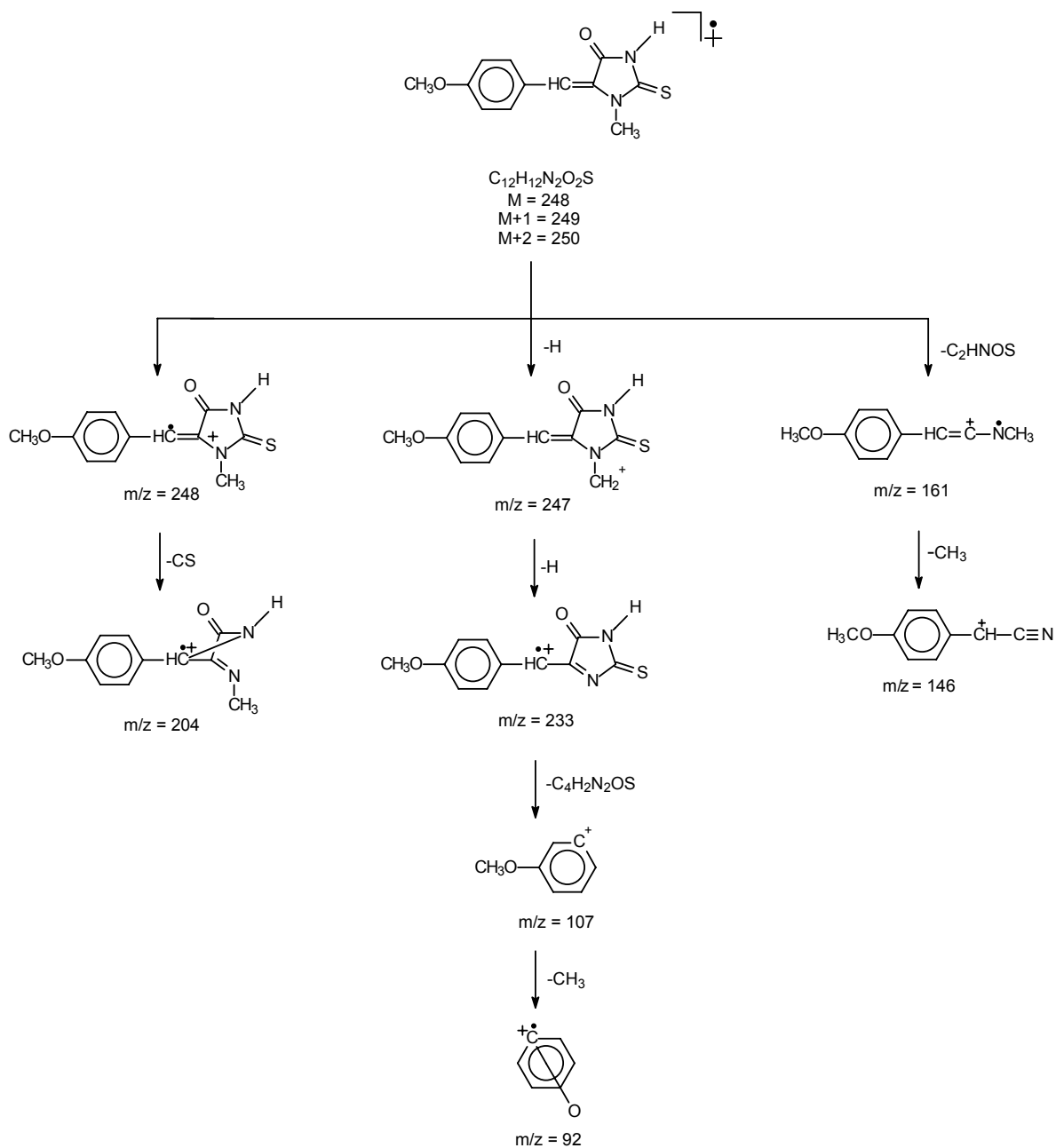
Tabela 2.6- Principais fragmentações e intensidades relativas dos derivados da 3-benzil-5-benzilideno-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT**)

COMPOSTOS	FRAGMENTOS m/z (%)							
 JT-53	M=326 (100) M+1=327 (13,7) M+2=328 (3,38)	293 (88,96)	235 (12,55)	148 (17,08)	148 (17,08)	-	-	-
 JT-63	M=322 (44,19) M+1=323 (10,97) M+2=324 (1,29)	298 (24,19)	145 (87,74)	130 (58,71)	91 (100)	65 (43,23)	-	-
 JT-68	M=338 (21,64) M+1=339 (3,18) M+2=340 (0,32)	305 (8,64)	161 (31,91)	146 (100)	91 (41,82)	65 (17,31)	-	-
 JT-69	M=372 (13,29) M+1=373 (3,79) M+2=374 (6,31)	161 (22,1)	146 (100)	125 (43,36)	90 (6,54)	63 (17,79)	-	-
 JT-72	M=414 (30,78) M+1=415 (4,36)	167 (75,8)	166 (49,25)	165 (100)	161 (25,63)	152 (40,93)	146 (93,22)	91 (9,65)

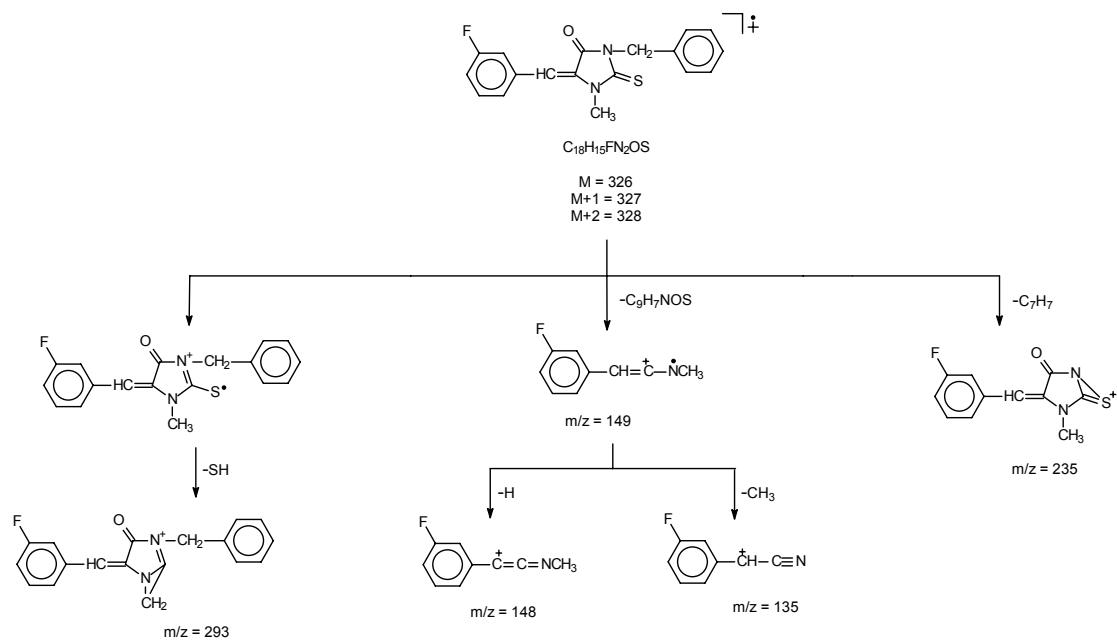
Espectrômetro Delsi-Nermag, modelo R-1010C, sobre impacto eletrônico de 70 ev



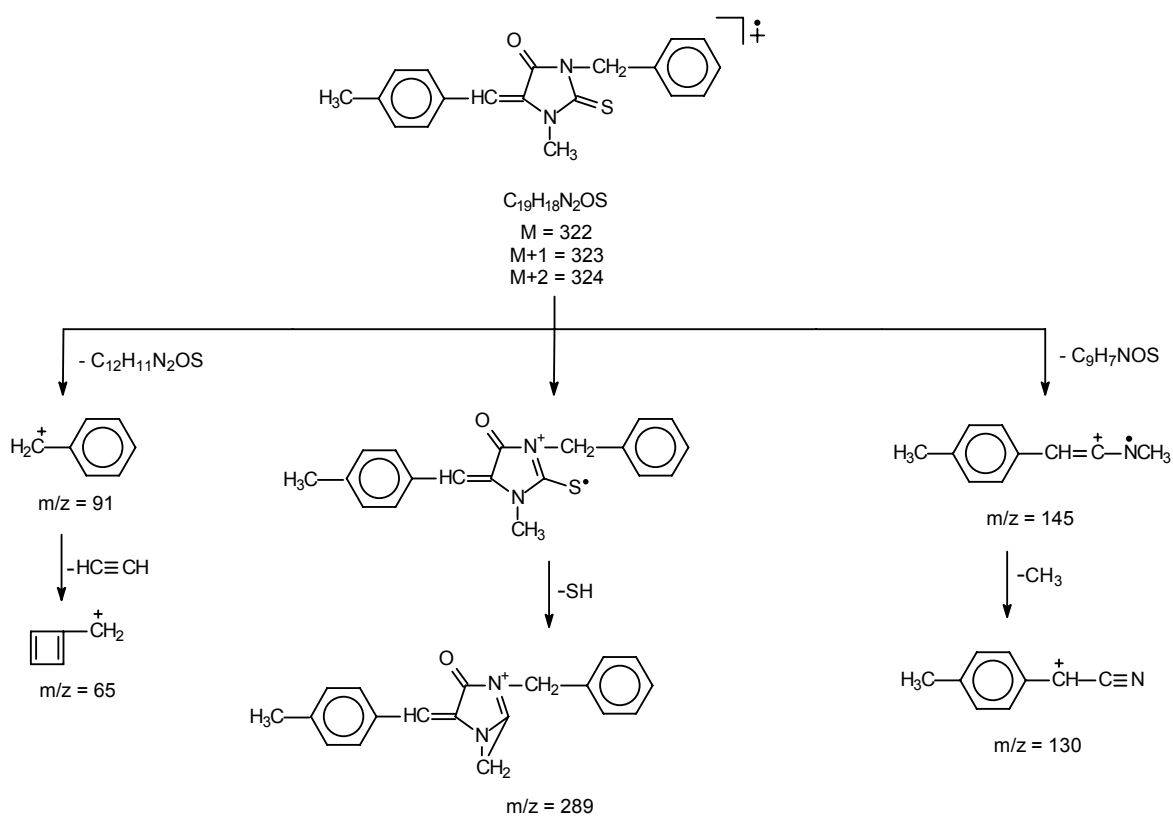
Esquema 2.10- Principais vias de fragmentação propostas para 5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**HT-12**)



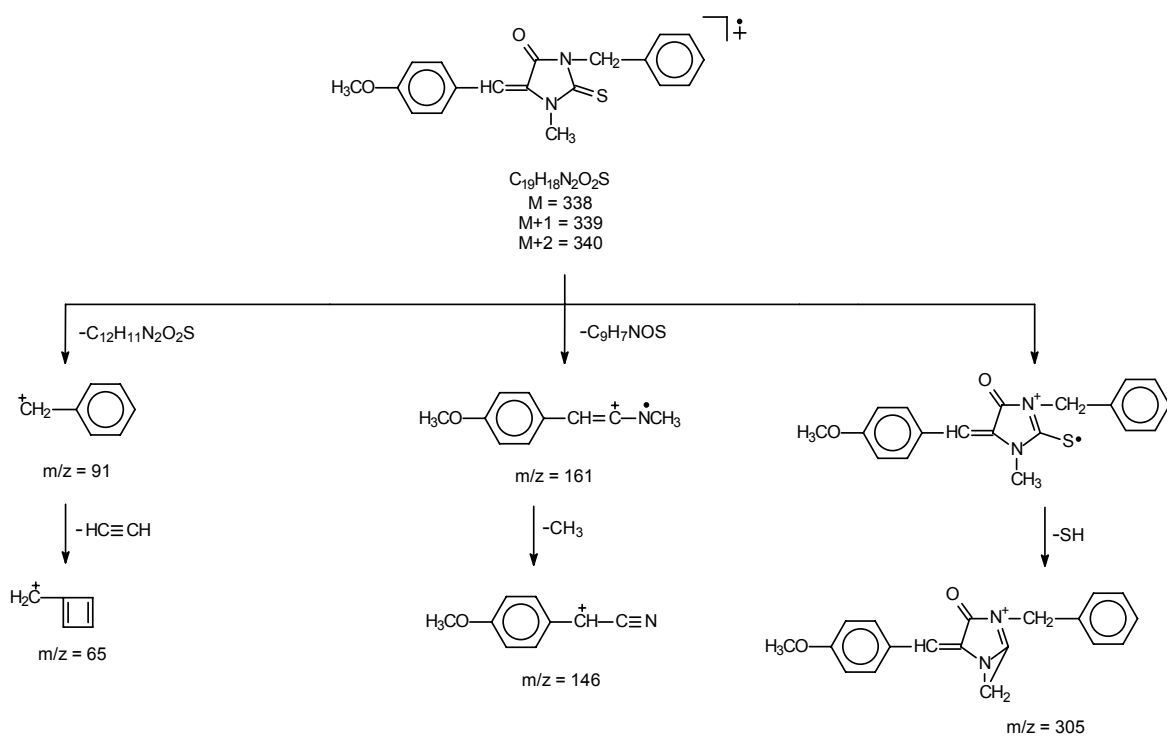
Esquema 2.11- Principais vias de fragmentação propostas para 5-(4-metoxi-benzilideno)- 1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**HT-15**)



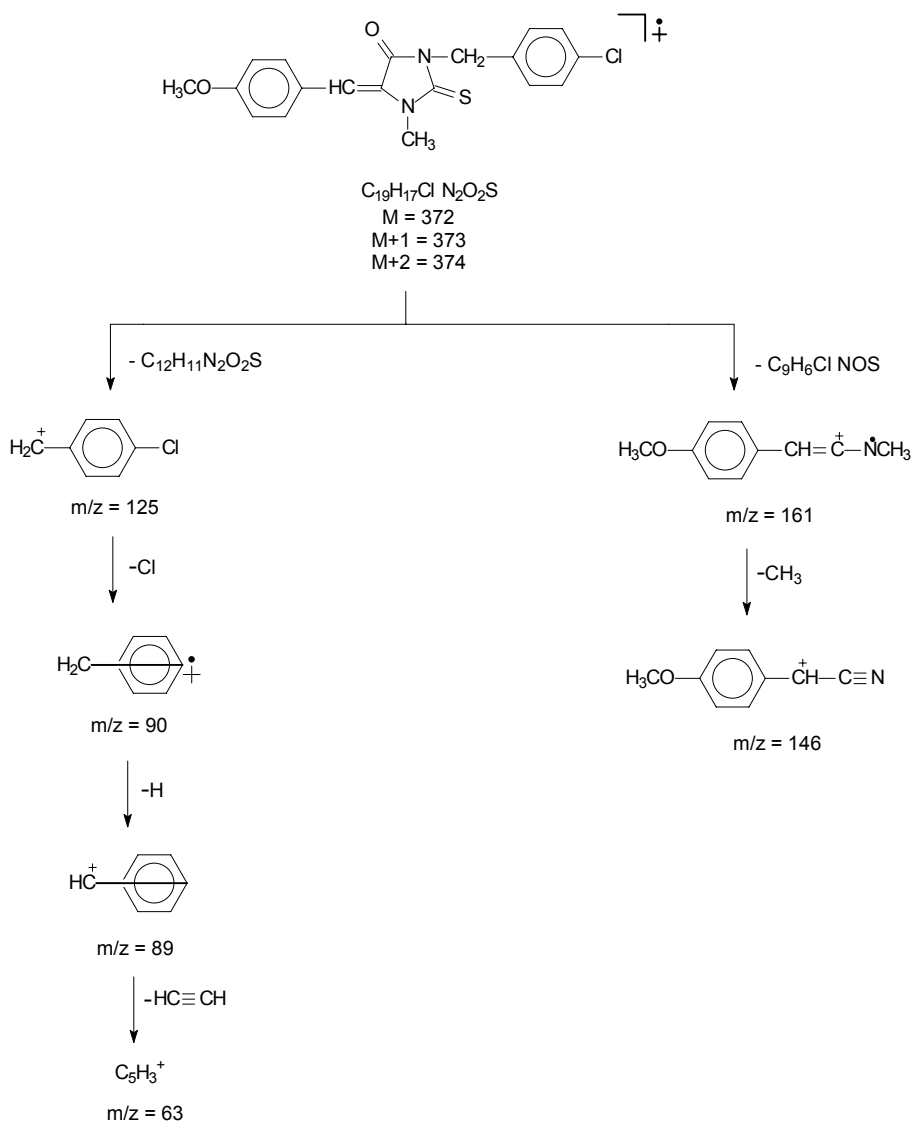
Esquema 2.12- Principais vias de fragmentação propostas para 3-benzil-5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT-53**)



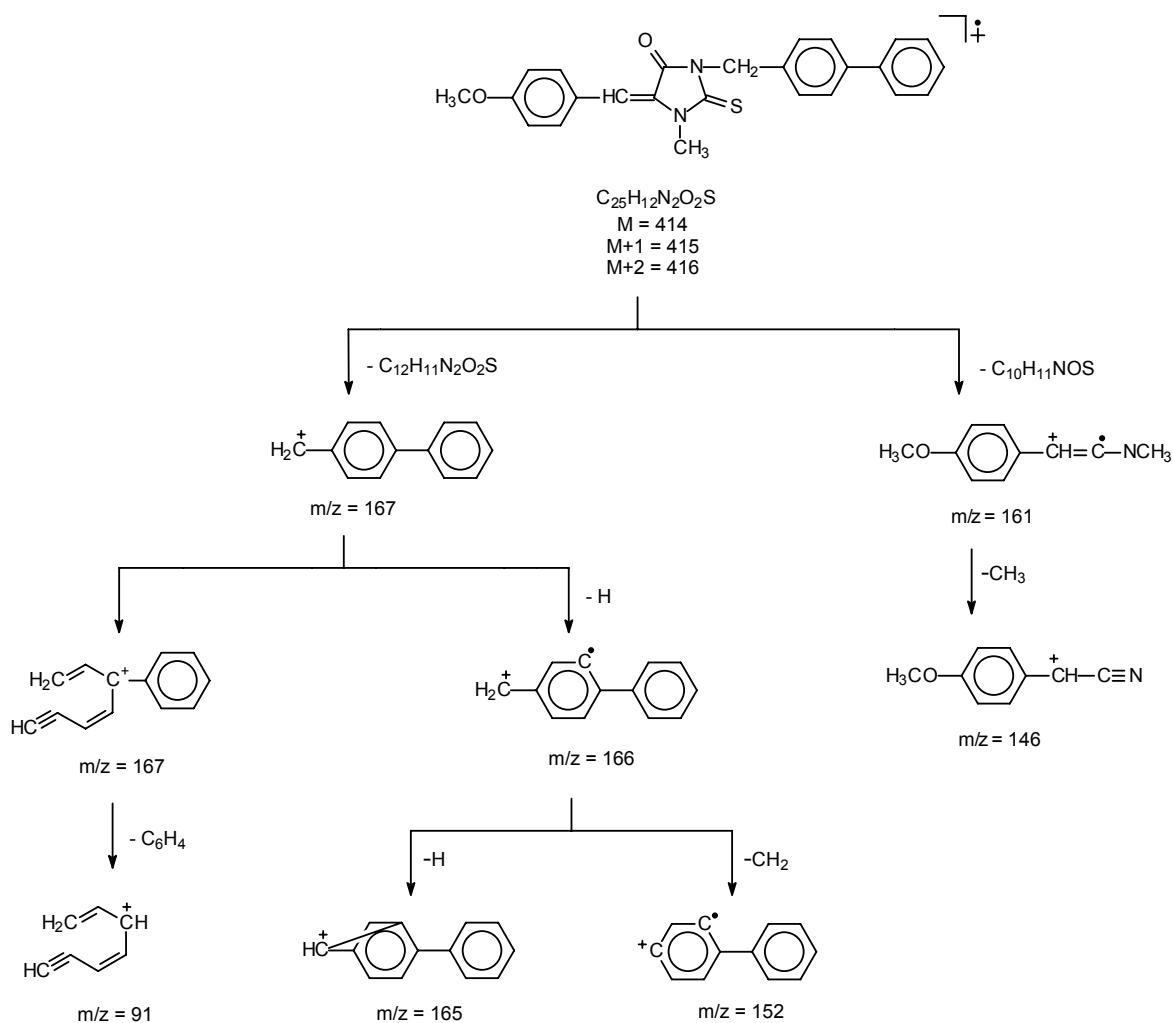
Esquema 2.13- Principais vias de fragmentação propostas para 3-benzil-5-(4-metil-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT-63**)



Esquema 2.14- Principais vias de fragmentação propostas para 3-benzil-5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT-68**)



Esquema 2.15- Principais vias de fragmentação propostas para 3-(4-cloro-benzil)-5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT-69**)



Esquema 2.16- Principais vias de fragmentação propostas para 3-(4-fenil-benzil)- 5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT-72**)

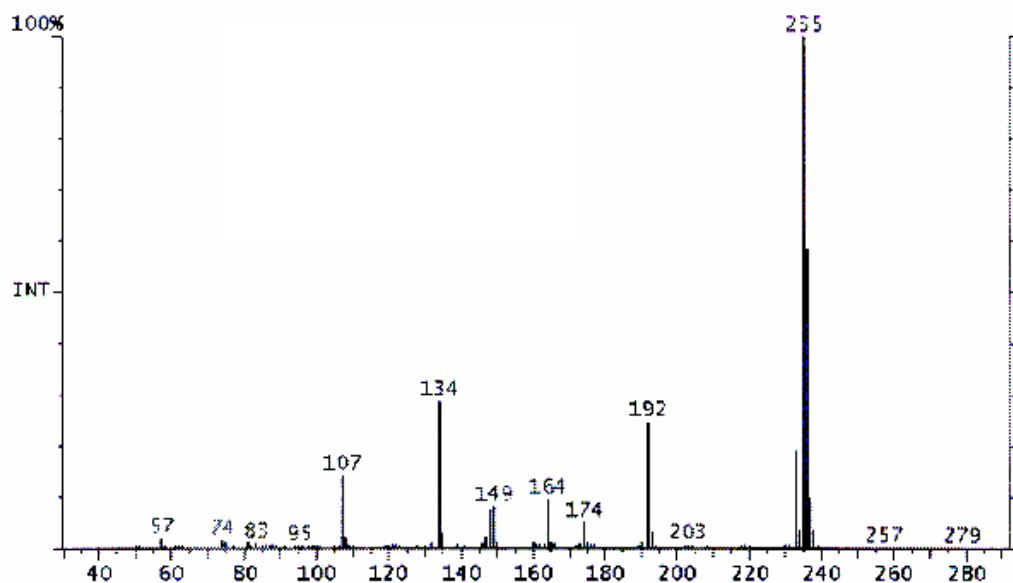
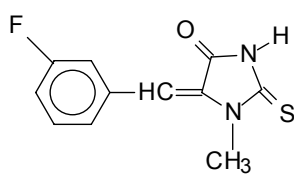


Figura 2.17- Espectro de massa da 5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (HT-12)

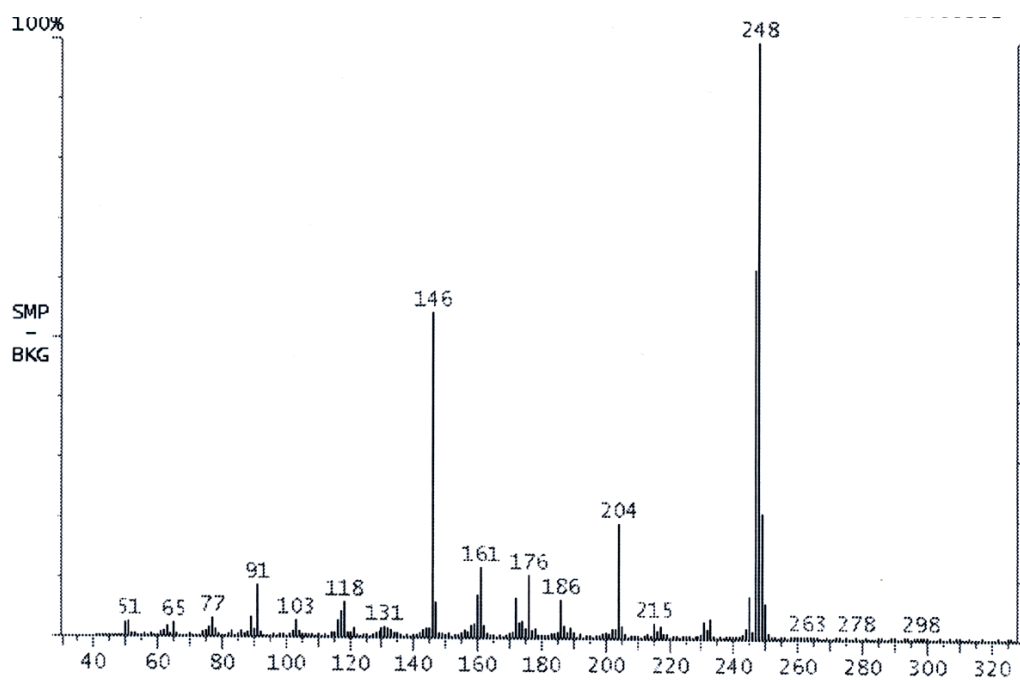
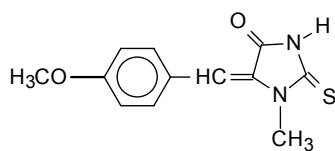


Figura 2.18- Espectro de massa da 5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**HT-15**)

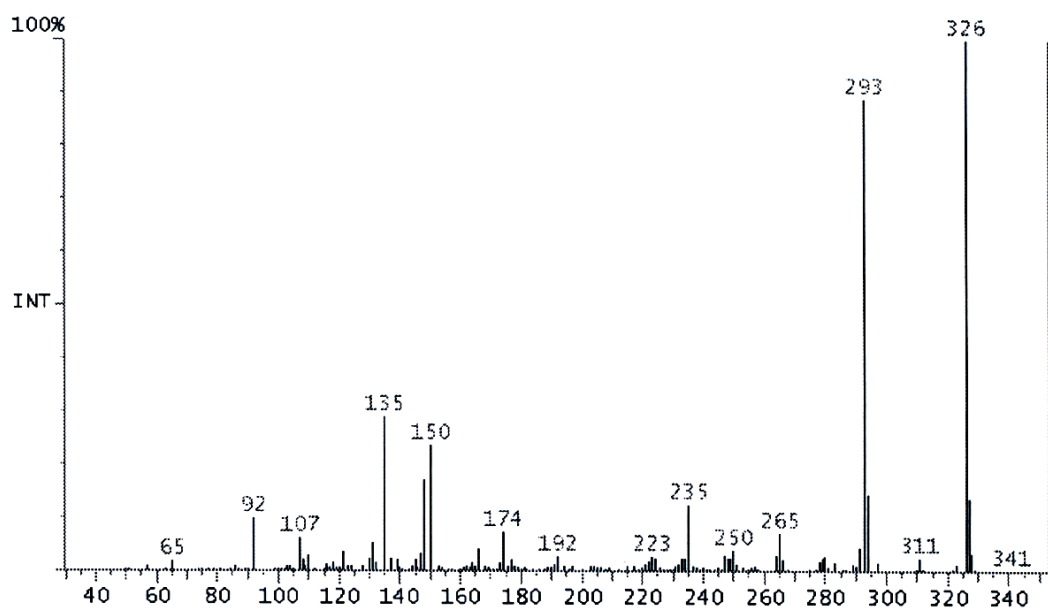
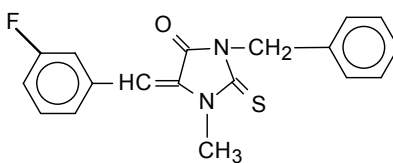


Figura 2.19- Espectro de massas da 3-benzil-5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT-53**)

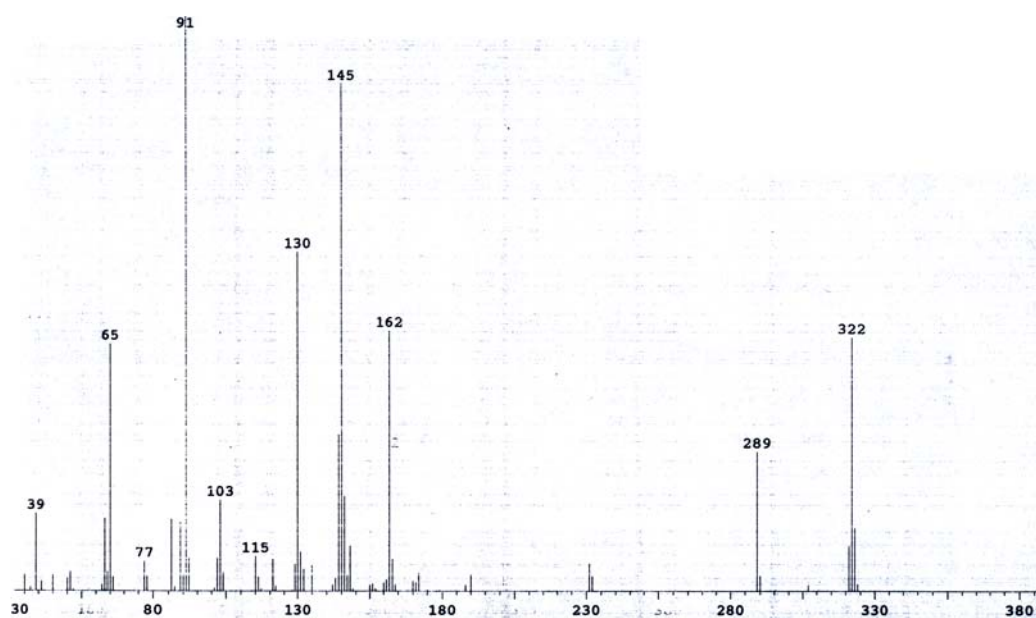
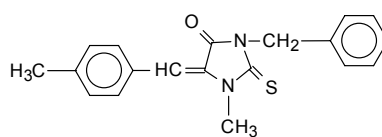


Figura 2.20- Espectro de massas da 3-benzil-5-(4-metil-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT-63**)

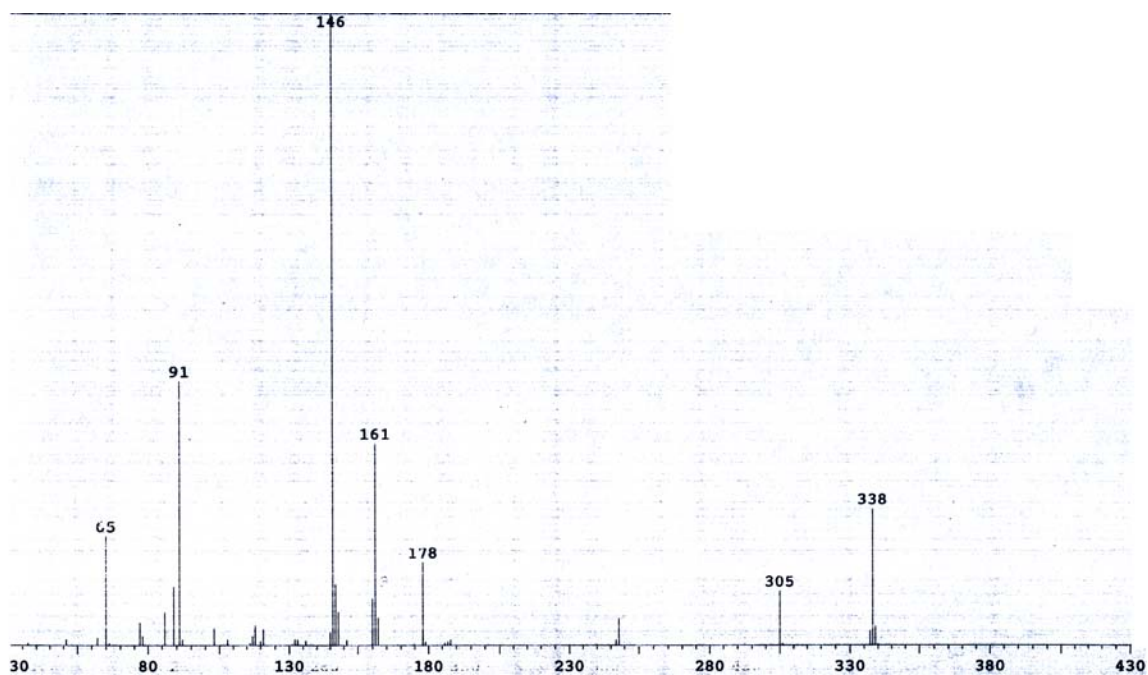
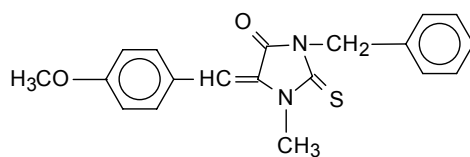


Figura 2.21- Espectro de massas da 3-benzil-5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT-68**)

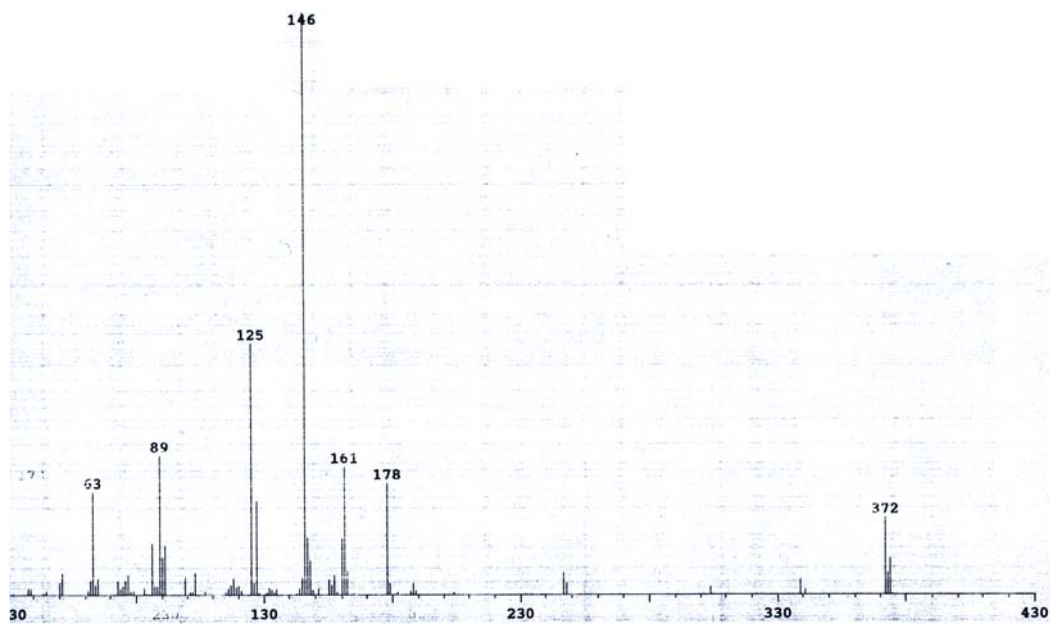
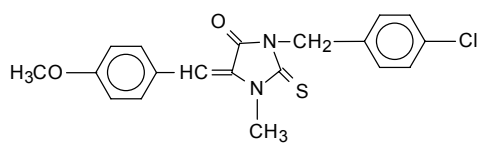


Figura 2.22- Espectro de massas da 3-(4-cloro-benzil)-5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT-69**)

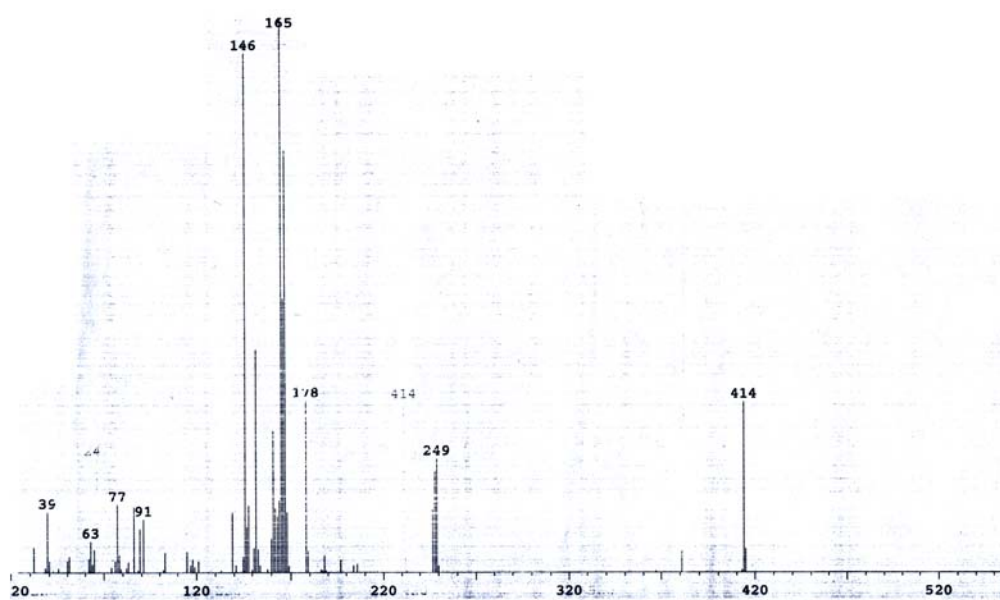
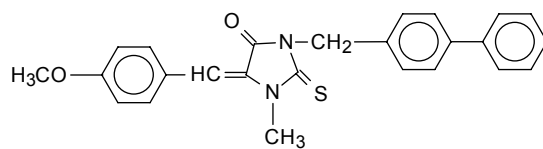


Figura 2.23- Espectro de massas da 3-(4-fenil-benzil)- 5-(4-metoxi-benzilideno)-1-metil-2-tioxi-imidazolidin-4-ona (**JT-72**)

3.2. Características configuracionais

Do ponto de vista configuracional os derivados 5-benzilideno-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (**HT**) e os 5-benzilideno-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-onas (**JT**) podem apresentar teoricamente sob as formas *Z* e *E*. As benzilideno imidazolidinonas sintetizadas foram isoladas na forma de um único isômero. Estudos de cristalográficos de raios X e RMN ^{13}C tem demonstrado que a configuração *Z* é preferencial para os derivados 5-arilideno-tiazolidinonas e 5-arilideno-imidazolidinonas (TAN *et al.*, 1986; SILVA *et al.*, 2001; ALBUQUERQUE *et al.*, 1986; DE SIMONE *et al.*, 1995). De uma maneira geral, o sinal do proton etilênico em RMN ^1H é mais desblindado para o isômero *Z* do que para o isômero *E*. As imidazolidinonas estudadas neste trabalho apresentam a configuração *Z*.

CAPÍTULO 3



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE *IN VITRO* DE IMIDAZOLIDINAS EM VERMES DE *SCHISTOSOMA MANSONI*

1. Material

1.1. Equipamentos

Autoclave (SAKURA); balança analítica (NEO CLAVE ASV 3001); câmara de fluxo laminar (DALTON); estufa com atmosfera úmida a 5 % de CO₂ (SANYO); e microscópio invertido 60x (OLYMPUS).

1.2. Substâncias, meios de cultura e solvente

Moléculas bioativas desenhadas e sintetizadas no Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos - LPSF:

- 3-benzil-5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT-53**);
- 3-benzil-1-metil-5-(4-metil-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT-63**);
- 3-benzil-1-metil-5-(4-metoxi-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT-68**);
- 3-(4-cloro-benzil)-1-metil-5-(4-metoxi-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT-69**);
- 3-(4-fenil-benzil)-1-metil-5-(4-metoxi-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT-72**).

Meio de cultura RPMI 1640 (SIGMA); HEPES (SIGMA); Soro bovino fetal (WL IMUNOQUÍMICA); Penicilina G potássica cristalina, com 1.000.000 de unidades internacionais (BANYU); Sulfato de estreptomicina (SIGMA); DMSO (MERCK).

1.3. Material Biológico

Vermes adultos de *Schistosoma mansoni* (Cepa BH, Belo Horizonte, Brasil);

Caramujos *Biomphalaria glabrata*;

Camundongos albino suíços *Mus musculus*.

2. Metodologia

2.1. Obtenção de miracídios e infecção de moluscos *Biomphalaria glabrata*

Após obtenção de fezes de camundongos após 50 dias de infecção com *S. mansoni*, o material foi homogeneizado em água destilada, filtrado em dupla camada de gaze e deixado sedimentar na geladeira. Após três lavagens, o sedimento foi colocado em placa de Petri sob iluminação artificial, por 30 minutos, a uma temperatura aproximada de 28°C. Após este período, verifica-se a presença de miracídios (STANDEN, 1952).

Os miracídios eclodidos foram capturados e contados. Grupos de cinco a dez miracídios foram colocados em recipientes de vidro. Moluscos *Biomphalaria glabrata*, medindo cerca de 10 mm de diâmetro, foram expostos individualmente a cada grupo de miracídios, durante duas horas. Decorrido esse tempo, os moluscos foram mantidos em aquários. Após 45 dias de infecção, os moluscos foram expostos à fonte luminosa para eliminação de cercárias (STANDEN, 1952).

2.2. Infecção de camundongos com cercárias de *Schistosoma mansoni*

Camundongos albino suíços *Mus musculus*, pesando entre 20-25 gramas, foram expostos às cercárias do *S. mansoni* através de imersão caudal. Assim, as caudas dos camundongos foram expostas à suspensão cercariana, a qual continha aproximadamente 120 cercárias por animal, durante duas horas (OLIVIER e STIREWALT, 1952).

2.3. Perfusão porta-hepática

Após 45-50 dias da infecção, a obtenção de vermes adultos de *S. mansoni* se dá através da perfusão do sistema porta-hepático dos camundongos (DUVALL e DEWITT, 1967). Os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e em seguida colocados em decúbito dorsal para exposição do aparelho digestivo; a veia cava é seccionada e, através de injeção intracardíaca com salina estéril, os vermes foram expulsos e coletados em placas de Petri contendo meio de cultura RPMI 1640. Os ensaios foram devidamente aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação

Animal da Universidade Federal de Pernambuco, conforme Processo Nº 185/2004, de acordo com a Lei 9605 Artigo 32 Decreto 3179 – Art 17 (Anexo).

2.4. Preparação do meio e das soluções para o cultivo de vermes adultos de *Schistosoma mansoni*

O procedimento experimental recomendado para avaliação da suscetibilidade *in vitro* do *S. mansoni* está de acordo com os trabalhos desenvolvidos por Badr e colaboradores (1999) e Barth e colaboradores (1996). Foi utilizado o meio RPMI 1640, suspenso em água mili-Q preparada de acordo com as indicações do fabricante, acrescido de HEPES a uma concentração de uso 20 mM e pH = 7, Penicilina 100 UI/mL, Estreptomicina pesada de forma que a concentração final seja 100 µg/mL e soro bovino fetal a 10 %.

2.5. Avaliação da suscetibilidade *in vitro* do *Schistosoma mansoni*

Após remoção dos vermes adultos de *S. mansoni* do hospedeiro definitivo por perfusão porta-hapática, estes foram lavados em meio RPMI 1640, acrescido de HEPES 20 mM pH = 7,5 e suplementado com Penicilina (100 U/mL), Estreptomicina (100 µg/mL) e soro bovino fetal (10 %). Em seguida, pares de vermes foram transferidos para placas estéreis, de 35 mm de diâmetro, contendo 2 mL de meio e incubados a 37 °C, em atmosfera úmida contendo 5 % de CO₂. Após um período de

duas horas de adaptação ao meio, os derivados 2-tioxo-imidazolidínicos objeto de estudo foram adicionados em concentrações preestabelecidas. Os parasitos foram mantidos durante 8 dias, sendo monitorados a cada 24 horas para avaliação dos seguintes parâmetros: atividade motora, alterações no tegumento, taxa de mortalidade e pareamento. Os vermes eram considerados inviáveis quando após 3 minutos de observação, não era observado nenhum movimento. Nas mesmas condições de ensaio, os vermes do controle foram tratados com igual volume de meio e também do solvente utilizado para dissolução das substâncias.

3. Resultados e Discussão

Na avaliação da susceptibilidade *in vitro* do *Schistosoma mansoni* frente aos cinco novos derivados 2-tioxo-imidazolidin-4-onas (**JT-53**, **JT-63**, **JT-68**, **JT-69**, **JT-72**) utilizou-se concentrações de 80,5; 161,0; 322,0; 644,0 μ M. Os vermes adultos de *Schistosoma mansoni* foram observados a cada 24 horas, durante 8 dias.

A figura 3.1 mostra a cinética de mortalidade das 2-tioxo-imidazolidin-4-onas em estudo.

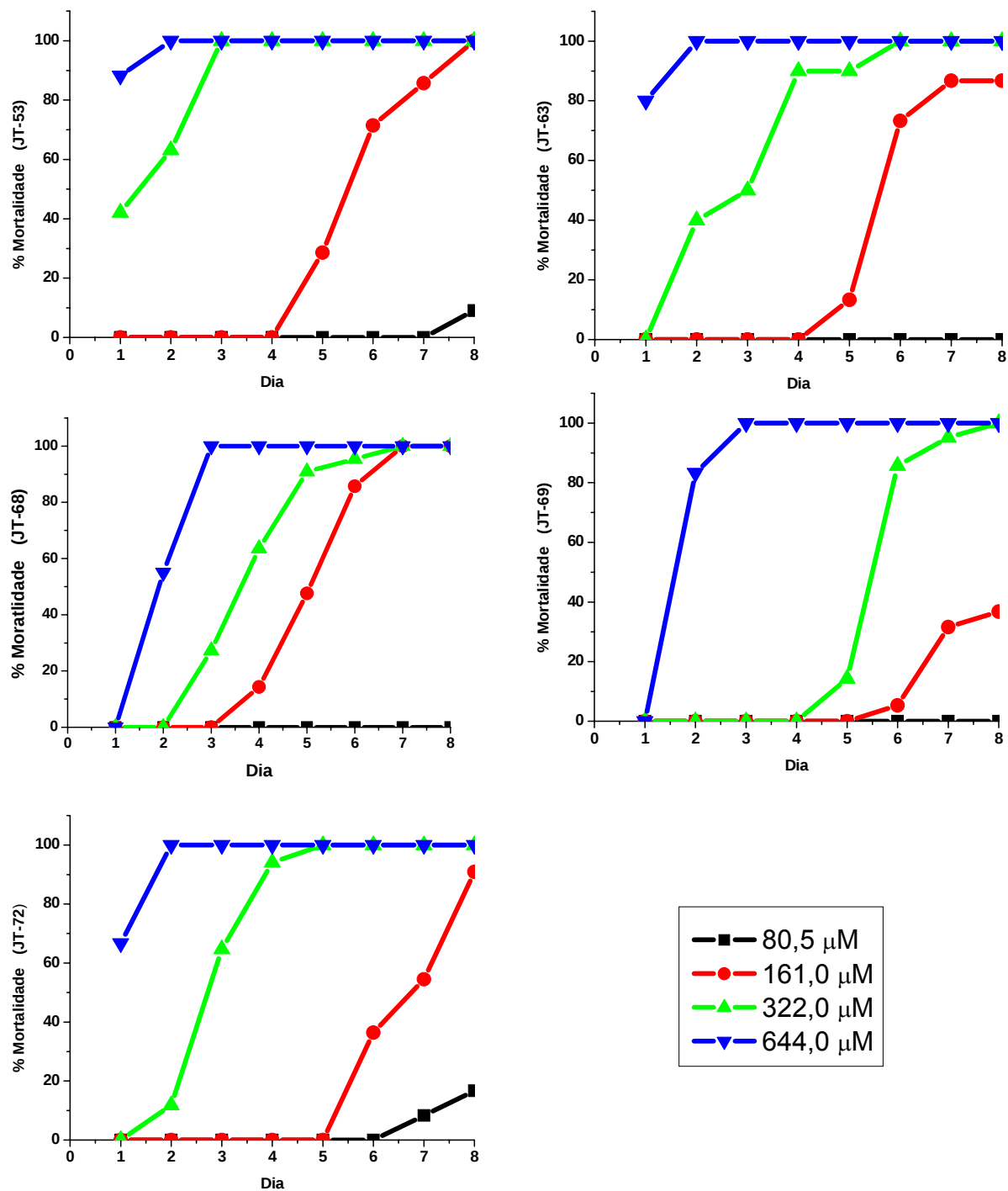


Figura 3.1- Cinética de mortalidade de vermes adultos de *Schistosoma mansoni* durante oito dias de cultura (RPMI 1640), em presença das 2-tioxo-imidazolidin-4-onas: JT-53, JT-63, JT-68, JT-69 e JT-72

Ao final do oitavo dia de ensaio, constatou-se que na dose de 644,0 μM todas as substâncias testadas provocaram efeito máximo, ou seja, ocasionaram a mortalidade dos vermes adultos de *S. mansoni*, enquanto o grupo controle permaneceu viável. Destaca-se que nesta concentração os compostos **JT-53**, **JT-63** e **JT-72** provocaram a resposta máxima com 48 horas de contato com os vermes. Por sua vez os compostos **JT-68** e **JT-69** alcançaram a resposta máxima com 72 horas de contato. Ressalta-se, ainda, que nesta dose, quando se compara a resposta biológica provocada pelos compostos **JT-68**, **JT-69** e **JT-72** (Figura 3.2), cuja diferença estrutural consiste, respectivamente, na presença dos átomos de hidrogênio e cloro e do radical fenila em posição 4 do grupo benzil, o composto **JT-72** obteve a resposta máxima com 48 horas de contato com os vermes, enquanto que **JT-68** e **JT-69** esta resposta foi alcançada com 72 horas. Estes resultados indicam que, provavelmente, a atividade esquistossomicida seja favorecida pelo aumento da lipofilia (logP o/w: **JT-68** = 4,40; **JT-69** = 5,11; **JT-72** = 6,28; calculados pelo método de Igor V. Tetko e Vsevolod Yo Tanchuk, http://146.107.217.178/acs/acs_alogps.pdf).

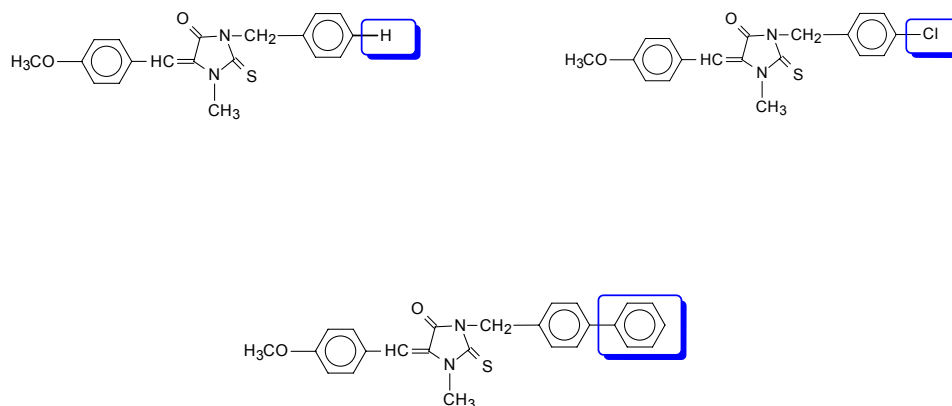


Figura 3.2- Coeficiente de partição dos compostos **JT-68**, **JT-69** e **JT-72** calculados pelo método de Igor V. Tetko e Vsevolod Yo Tanchuk, http://146.107.217.178/acs/acs_alogps.pdf

A análise dos efeitos dos substituintes no anel benzilideno nos compostos **JT-53**, **JT-63** e **JT-68** (Figura 3.3) mostra mais uma vez um efeito positivo da lipofilia sobre a atividade biológica (logP o/w: **JT-53** = 4,62; **JT-63** = 4,98; **JT-68** = 4,40; calculados pelo método de Igor V. Tetko e Vsevolod Yo Tanchuk, http://146.107.217.178/acs/acs_alogps.pdf).

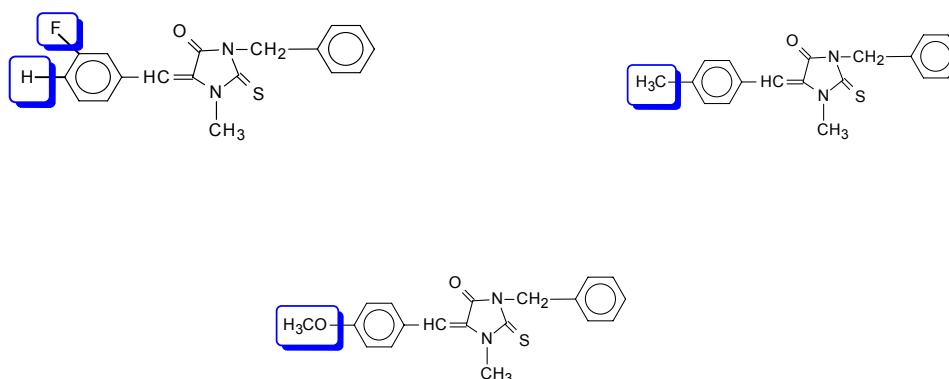


Figura 3.3- Coeficiente de partição dos compostos **JT-53**, **JT-63** e **JT-68** calculados pelo método de Igor V. Tetko e Vsevolod Yo Tanchuk, http://146.107.217.178/acs/acs_alogps.pdf

Na dose de 322,0 μ M, o composto **JT-72**, quando comparado aos compostos **JT-68** e **JT-69**, apresentou resposta máxima no quinto dia de contato com os vermes; igualmente nesta concentração, **JT-68** e **JT-69** alcançaram esta atividade biológica no sétimo e oitavo dia, respectivamente.

Os compostos **JT-63**, **JT-68** e **JT-69**, ao final do oitavo dia de experimento, não causaram letalidade na dose de 80,5 μ M; nesta concentração, **JT-53** e **JT-72** provocaram mortalidade em cerca de 9 e 16 % dos vermes, respectivamente.

O grupo controle permaneceu viável durante todo o período de ensaio. Utilizando o microscópio invertido (60 x), observou-se que todas as substâncias testadas causaram danos na superfície dos vermes. O efeito deletério aumentou com o tempo de exposição dos vermes aos compostos estudados. Adicionalmente, observou-se que a atividade esquistossomicida seguiu uma relação dose-resposta dependente.

CONCLUSÕES



CONCLUSÕES

Em vista do possível desenvolvimento de tolerância ou resistência aos fármacos em uso e o fato de se estimar uma prevalência mundial de cerca 200 milhões de pessoas, não apenas justifica, mas aponta a necessidade do imediato planejamento e desenvolvimento de novos agentes esquistossomicidas.

Uma vez comprovada a eficiência na atividade esquistossomicida de alguns compostos que apresentam o núcleo imidazolidínico, tendo como exemplo o niridazol, a comunidade científica percebeu a relevante importância em sintetizar novas moléculas e testá-las frente ao *Schistosoma mansoni*.

Diante disto, os resultados obtidos neste trabalho conduziram às seguintes conclusões:

- Foram sintetizados cinco novos compostos imidazolidínicos potencialmente ativos frente ao *Schistosoma mansoni*: 3-benzil-5-(3-flúor-benzilideno)-1-metil-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT-53**), 3-benzil-1-metil-5-(4-metil-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT-63**), 3-benzil-1-metil-5-(4-metoxi-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT-68**), 3-(4-cloro-benzil)-1-metil-5-(4-metoxi-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT-69**) e 3-bifenil-4-ilmetil-1-metil-5-(4-metoxi-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona (**JT-72**);

- Os compostos sintetizados tiveram suas estruturas comprovadas através da espectroscopia de infravermelho, da ressonância magnética nuclear de hidrogênio e da espectrometria de massas;
- Os compostos imidazolidínicos estudados, em diferentes concentrações, provocaram consideráveis efeitos sobre a mortalidade, pareamento, atividade motora e integridade do tegumento de vermes adultos de *Schistosoma mansoni* mantidos *in vitro*. Entre os compostos estudados, destacaram-se **JT-53**, **JT-68** e **JT-72** por garantir 100 % de mortalidade dos vermes tratados ao final do período de tratamento nas concentrações de 322 e 644 $\mu\text{mol/L}$.

A possibilidade de complementação e aprofundamento aos conhecimentos adquiridos, visando, sobretudo, a síntese de novos análogos estruturais imidazolidínicos, a determinação da contribuição dos grupos substituintes à atividade biológica, os estudos das relações entre estrutura química e atividade biológica para identificação do grupo farmacóforo e elucidação do mecanismo de ação a nível molecular e a avaliação da atividade *in vivo*, é de fundamental importância para dar continuidade a esta pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, M.C.P.A.; SILVA, T.G.; PITTA, M.G.R.; SILVA, A.C.A.; SILVA, P.G.; MALAGUEÑO, E.; SANTANA, J.V.; WANDERLEY, A.G.; LIMA, M.C.A.; GALDINO, S.L.; BARBE, J.; PITTA, I.R. Synthesis and schistosomicidal activity of benzylidene imidazolidine compounds. **Pharmazie**, v. 60, n. 1, p. 13-17, 2005.

AMEMIYA, Y.; HONG, S.S.; VENKATARAMAN, B.V.; PATIL, P.N.; SHAMS, G.; ROMSTEDT, K.; FELLER, D.R.; HSU, F.L.; MILLER, D.D. Synthesis and alpha-adrenergic activities of 2- and 4-substituted imidazoline and imidazole analogues. **J. Med. Chem.**, v. 35, n. 4, p. 750-755, 1992.

AMORIM, E.L.C; BRANDÃO, S.S.F.; CAVALCANTI, C.O.M.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; LUU-DUC, C. Synthèse et structure des bromo et nitrobenzyl benzylidène imidazolidinediones et thiazolidinediones substituées. **Ann. Pharmaceutiques Françaises**, v. 50, n. 2, p. 103-111, 1992.

ANDRADE, Z.; ANDRADE, S.G. Patologia da esquistossomose hepatoesplênica, p. 103-131, 1984. *In*: CONCEIÇÃO, M.J.; ARGENTO, C.A.; CHAGAS, V.L.A.; TAKIYA, C.M.; MOURA, D.C.; SILVA, S.C.F. Prognosis of Schistosomiasis Mansonii Patients Infected with Hepatitis B Vírus. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz Rio de Janeiro**, vol. 93, supl. I: 255-258, 1998.

ANDREWS, P.; THOMAS, H.; POHLKE, R.; SEUBERT, J. Praziquantel. **Méd. Res. Rev.**, v. 3, n. 2, p. 147-200, 1983.

ATTIA, I.; SIEMION, I.Z. **Rocz. Chem.**, v. 50, n. 12, p. 2063, 1976. *In*: LÓPEZ, C.A.; TRIGO, G.G. The chemistry of hydantoins, **Adv. Heterocycl. Chem.**, v. 38, p. 177-228, 1985.

BADR, S.G.E.; PICA-MATTOCCIA, L.; MORONI, R.; ANGELICO, M.; CIOLI, D. Effect of bile salts on oviposition *in vitro* by *Schistosoma mansoni*. **Parasitol. Res.**, v. 85, p. 421-

423, 1999.

BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M. **Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. Porto Alegre: Artes Médicas, p. 76-77, 2001.

BARTH, L.R.; FERNANDES, A.P.M.; RIBEIRO-PAES, J.T.; RODRIGUES, V. Effects of Goyazensolide during *in vitro* cultivation of *Schistosoma mansoni*. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 92, n. 3, p. 427-429, 1996a.

BARTH, L.R.; FERNANDES, A.P.M.; RODRIGUES, V. Oviposition by *Schistosoma mansoni* during *in vitro* cultivation. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 38, p. 423-426, 1996b.

BATEMAN, J.H. Hydantoin and derivatives. **Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology**, v.12, p.692-711, 1980. *In*: ROSSI, D.; PERUZZOTTI, G.; DENNIS, E.W.; BERBERIAN, D.A.; FREELE, H.; ARCHER, S. A new active metabolite of Miracil D. **Nature**, v. 208, p. 1005-1006, 1965.

BAYER A. **Ann.**, v. 117, p. 178, 1861. *In*: FINKBEINER, H. The carboxylation of hydantoins. **J. Org. Chem.**, v. 30, p. 3414-3419, 1965.

BENAZET, F.; LEROY, J.P. Activité de la (nitro-5 thiazolyl-2)-I imidazolidine thione-2 (26354 R.P.) sur la bilharziose expérimentale des animaux de laboratoire. **Bull. Soc. Pat. E.**, v. 3, p. 287-297, 1974.

BENNETT, L.J.; DAY, T.; FENG-TAO, L.; ISMAIL, M.; FARGHALY, A. The development of resistance to anthelmintics: a perspective with an emphasis on the antischistosomal drug praziquantel. **Exp. Parasitol.**, v. 87, p. 260-267, 1997.

BERGQUIST, N.R. Schistosomiasis vaccine development: progress and prospects. **Mem. Inst. Oswald. Cruz.**, v. 93, n. 1, p. 95-101, 1998.

BERGQUIST, N.R.; COLLEY, D.G. Schistosomiasis vaccines: research to development. **Parasitol. Today**, v. 14, p. 99-104, 1998.

BEYERMAN, H.C.; MAAT, L.; SINNEMA, A; VEEN, A.V. Conversions of sarcosine and pipecolic acid with phenil and methyl isothiocyanate. **Rec. Trav. Chim. Pays-Bas**, v. 87, p. 11-23, 1968.

BLANCHARD, T.J. Schistosomiasis. **Travel Medicine and infection Disease**, v. 2, p. 5-11, 2004.

BRANDÃO, S.S.F.; ROCHA FILHO, J.A.; CHANTEGREL, J.; ALBUQUERQUE, J.F.C.; XIMENES, E.A.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; PERRISSIN, M.; LUU-DUC, C. Synthèse et structure des arylazo-imidazolidines et arylidèthiazolidines substituées. **Ann. Pharmaceutiques Françaises**, v. 55, n. 5, p. 206-211, 1997.

CAMPOS, R.; MOREIRA, A.A.B.; SETTE, J.R.H.; CHAMONE, D.A.F.; SILVA, L.C. Hycantone resistance in a human strain of *Schistosoma mansoni*. **T. Roy. Soc. Trop. Med. H.**, v. 70, p. 261-262, 1976.

CAPRON, A.; DESSAINT, J.P.; CAPRON, M.; JOSEPH, M.; TORPIER, G. Effector mechanism of immunity to schistosomes and their regulation. **Immunol Rev**, v. 61, p. 41-66, 1982.

CEGAN, A.; VECERA, M. Substituent effects on hydrolytic and herbicidal activity of 3-arylimidazolidine-2,4-diones. **Collection Czechoslovak Chem Commun**, v. 49, p. 1521-1528, 1984.

CETINKAYA, B.; CETINKAYA, E.; KUCUKBAY, H.; DURMAZ, R. Synthesis and antimicrobial activity of electron rich olefin derived cyclic ureas. **Arzneimittelforschung**, v. 46, n. 12, p. 1154-1158, 1996.

CHAMPEY, Y. 2003. In: Notícias MSF: Presidente da DNDi, Iniciativa de Drogas para Doenças Negligenciadas, visita Fiocruz. Disponível em: <<http://www.msf.org.br/noticia/msfNoticiasMostrar.asp?id=207>>. Acesso em: 03 abril 2004.

CHEEVER, A.W.; WELLER, T.H. Observations on the growth and nutritional requirements of *Schistosoma mansoni* in vitro. **Am. J. Hyg.**, v. 68, n. 3, p. 322-339, 1958. In: SENFT, A.W.; SENFT, D.G. Chemically defined medium for the maintenance of *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.**, v. 48, p. 551-554, 1962.

CHITSULO, L.; ENGELS, D.; MONTRESOR, A.; SAVIOLI, L. The global status of schistosomiasis and its control. **Acta. Trop.**, v. 77, n. 1, p. 41-51, 2000.

CHRISTOPHERSON, J.B. The successful use of antimony in bilharziosis. Administered as intravenous injections of antimonium tartaratum (tartar emetic). **Lancet**, v.2, p. 325-327, 1918.

CHU, M.J. Certain behavior reaction of *Schistosoma japonicum* and *Chloromorphis simensis* in vitro. **Clin. Med.**, v. 2, p. 411-417, 1938. In: BARTH, L.R.; FERNANDES, A.P.M.; RODRIGUES, V. Oviposition by *Schistosoma mansoni* during in vitro cultivation. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 38, p. 423-426, 1996.

CIOLI, D. Praziquantel: is there real resistance and are there alternatives? **Curr. Opin. Infect. Dis.**, v. 13, n. 6, p. 659-663, 2000.

CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L.; ARCHER, S. Antischistosomal drugs: past, present ... and future? **Pharmac. Ther.**, v. 68, n. 1, p. 35-85, 1995.

CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L.; ARCHER, S. Drug resistance in schistosomes. **Parasitol. Today**, v. 9, p. 162-168, 1993.

CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L.; ARCHER, S. Resistance of schistosomes to hycanthone and oxamniquine. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 84, n. 1, p. 38-45, 1989.

COELHO, M.V. *Schistosoma mansoni*. O parasito. In: Sales da Cunha, A. **Esquistossomose mansoni**. São Paulo: Sarvier, Universidade de São Paulo. 1970.

COGROSSI, C. **Spectrochim. Acta.**, v. 28A, n. 5, p. 855, 1972. In: LÓPEZ, C.A.; TRIGO, G.G. The chemistry of Hydantoins. **Adv. Heterocycl. Chem.**, v. 38, p. 177-228, 1985.

COLEBROOK, L.D.; KHADIN, M.A. **Org. Magn. Reson.**, v. 19, n. 1, p. 27, 1982. *In*: LOPÉZ, C.A.; TRIGO, G.G. The chemistry of Hydantoins. **Adv. Heterocycl. Chem.**, v. 38, p. 177-228, 1985.

COLES, G.C.; MUTAHI, W.T.; KINOTI, G.K.; BRUCE, J.I.; KATZ, N. Tolerance of Kenyan *Schistosoma mansoni* to oxamniquine. **T. Roy. Soc. Trop. Med. H.**, v. 81, p. 782-785, 1987.

COLES, G.C.; MUTAHI, W.T.; KINOTI, G.K.; BRUCE, J.I.; KATZ, N. Tolerance of Kenyan *Schistosoma mansoni* to oxamniquine. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 81, p. 782-785, 1987.

COOK, A.H.; COX, S.F. Studies in the azole series. Part. XXII. The synthesis of N-alklamino-acids. **J. Chem. Soc.**, p. 2342-2347, 1949. *In*: EDWARD, J.T. Thiohydantoins. **Chemistry of Org. Sulfur. Compounds Eng.**, v. 2, p. 287-309, 1966.

COOK, A.H.; HEILBRON, S.I.; LEVY, A.L. **J. Chem. Soc.**, p. 201, 1948. *In*: EDEWARD, J.T. Thiohydantoins. **Chemistry of Org. Sulfur. Compounds Eng.**, v. 2, p. 287-309, 1966.

COPE, A.C.; HOFMANN, C.M.; WYCKOFF, C.; HARDENBER, E. Condensation reactions. II. Alkylidene cyanoacetic and malonic ester. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 63, p. 3452-3456, 1941.

CORRAL, R.A.; ORAZI, O.O. **Spectrochim. Acta.**, v. 21, n. 12, p. 2119, 1965. *In*: LOPÉZ, C.A.; TRIGO, G.G. The chemistry of Hydantoins. **Adv. Heterocycl. Chem.**, v. 38, p. 177-228, 1985.

DABOUN, H.A.F.; ABDOL, S.E.; HUSSEIN, M.M.; ELNAGDI, M.H. Activated nitriles in heterocyclic synthesis: Novel syntheses of pyrrolo[1,2-c]imidazole and pyrano[2,3-d]imidazole derivatives. **Synthesis**, p. 501-504, 1982.

DANIELSSON, B.; SUNDELL, L. **Acta. Pharm. Suecia**, v. 2, n. 137, 1965. *In*: OZKIRIMLI,

S.; HAMALI, O. Synthesis and hypnotic activity of some 2-thioxo-4,5-imidazolidinedione derivatives. **IL Fármaco**, v. 50, f. 1, p. 65-67, 1995.

DARDONVILLE, C.; BRUN, R. Bisguanidine, bis(2-aminoimidazoline), and Polyamine Derivatives as Potent and Selective Chemotherapeutic Agents against *Trypanosoma brucei rhodesiense* synthesis and *in vitro* evaluation. **J. Med. Chem.**, v. 47, p. 2296-2307, 2004.

DARDONVILLE, C.; GOYA, P.; ROZAS, I.; ALSASUA, A.; MARTÍN, M.I.; BORREGO, M.J. New aromatic iminoimidazolidine derivatives as $\alpha 1$ -adrenoceptor antagonists: a novel synthetic approach and pharmacological activity. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 8, p. 1567-1577, 2000.

DE SIMONE, C.A.; ZUKERMAN-SCHPECTOR, J.; PEREIRA, M.A.; LUU-DUC, C.; PITTA, I.R.; GALDINO, S.L.; AMORIM, E.L.C. 3-(4-Bromobenzyl)-5-(4-fluorobenzylidene)-imidazolidine-2,4-dione. **Acta Cryst. C51**, p. 2620-2621, 1995.

DEMOEN, P.S.A. **Bull. Soc. Chim. Belg.**, v. 75, p. 524, 1966. *In*: LOPÉZ, C.A.; TRIGO, G.G. The chemistry of Hydantoins. **Adv. Heterocycl. Chem.**, v. 38, p. 177-228, 1985.

DERKOSCH, J. **Monatsh. Chem.**, v. 92, p. 361, 1961. *In*: LOPÉZ, C.A.; TRIGO, G.G. The chemistry of Hydantoins. **Adv. Heterocycl. Chem.**, v. 38, p. 177-228, 1985.

DIAS, L.C.; PEDRO, R.J.; RIGO, E.; GOTO, M.M.; MAFRA, G.L. A human strain of *chistosoma mansonii* resistant to schistosomicides. **Rev. Saude. Publica.**, v. 12, n. 1, p. 110, 1978.

DRESCHER, K.M.; ROGERS, E.J.; BRUCE, J.I.; KATZ, N.; DIAS, L.C.S.; COLES, G. Response of drug resistant isolates of *Schistosoma mansonii* to antischistosomal agents. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 88, p. 89-95, 1993.

DUVALL, R.H.; DEWITT, W.B. An improved perfusion technique for recovering adult schistosomes from laboratory animals. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 16, p. 483-486, 1967.

DYLAG, T.; ZYGMUNT, M.; DOROTA, M.; HANDZLIK, J.; BEDNARSKI, M.; FILIPEK, B.; KIEC'-KONONOWICZ, K. Synthesis and evaluation of in vivo activity of diphenylhydantoin basic derivatives. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 39, p. 1013-1027, 2004.

EDWARD, J.T. Thiohydantoin. **Chemistry of Org. Sulfur. Compounds Eng.**, v. 2, p. 287-309, 1966.

EDWARD, J.T.; CHIN, O.J. **Can. J. Chem.**, v. 41, p. 1650, 1963. *In*: LOPÉZ, C.A.; TRIGO, G.G. The chemistry of Hydantoin. **Adv. Heterocycl. Chem.**, v. 38, p. 177-228, 1985.

ELLIOT, J.H.; NATARAJAN, P.N. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 19, p. 209, 1967. *In*: LOPÉZ, C.A.; TRIGO, G.G. The chemistry of Hydantoin. **Adv. Heterocycl. Chem.**, v. 38, p. 177-228, 1985.

ELMORE, D.T. **J. Chem. Soc.**, p. 3489, 1958. *In*: LOPÉZ, C.A.; TRIGO, G.G. The chemistry of Hydantoin. **Adv. Heterocycl. Chem.**, v. 38, p. 177-228, 1985.

FALLON, P.; DOENHOFF, M. F. Drug-resistance schistosomiasis: resistance to praziquantel and oxamiquine induced in *S. mansoni* in mice is drug specific. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 51, p. 83-88, 1994.

FINKBEINER, H. The carboxylation of hydantoin. **J. Org. Chem.**, v. 30, p. 3414-3419, 1965.

FORNAI, F.; BLANDIZZI, C.; DEL TACCA, M. Central alpha-2 adrenoceptors regulate central and peripheral functions. **Pharmacol. Res.**, v. 22, n. 5, p. 541-554, 1990.

GOENECHEA, S. **Mikrochim Acta**, v. 3, p. 276, 1972. *In*: LOPÉZ, C.A.; TRIGO, G.G. The chemistry of Hydantoin. **Adv. Heterocycl. Chem.**, v. 38, p. 177-228, 1985.

GÓES, A.J.S.; LIMA, M.C.A.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; LUU-DUC, C. Synthèse et activité antimicrobienne des fluorobenzyl benzylidène thiazolidinediones et imidazolidinediones substituées. **J. Pharm. Belg.**, v. 46, n. 4, p. 236-240, 1991a.

GÓES, A.J.S.; LIMA, M.C.A.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; LUU-DUC, C. Synthèse et activité antifongique des chlorobenzyl benzylidène thiazolidinediones et imidazolidinediones substituées. **Ann. Pharmaceutiques Françaises**, v. 49, n. 2, p. 92-98, 1991b.

GRYSEELS, B.; MBAYE, A.; DE VLAS, S.J.; STELMA, F.F.; GUISSÉ, F.; VAN LIESHOUT, L.; FAYE, D.; DIOP, M.; LY, A.; TCHUEM-TCHUENTE, L.A.; ENGELS, D.; POLMAN, K. Are poor responses to praziquantel for the treatment of *Schistosoma mansoni* infections in Senegal due to resistance? An overview of the evidence. **Trop. Med. Int. Health**, v. 6, p. 864-873, 2001.

GRYSEELS, B.; STELMA, F.F.; TALLA, I.; VAN DAM, G.J.; POLMAN, K.; SOW, S.; DIAW, M.; STURROCK, R.F.; DOEHRING-SCHWERDTFEGGER, E.; KARDOFF, R.; DECAM, C.; NIAN, M.; DEELDER, A.M. Epidemiology, immunology and chemotherapy of *Schistosoma mansoni* infections in a recently exposed community in Senegal. **Trop. Geogr. Med.**, v. 46, p. 209-219, 1994.

GUIMARAES, R.X.; TCHAKERIAN, A.; DIAS, L.C.; DE ALMEIDA, F.M.; VILELA, M.P.; CABECA, M.; TAKEDA, A.K. Resistance to hycanthone and oxamniquine in patients with a clinical hepato-intestinal form of schistosomiasis. **AMB Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 25, n. 2, p. 48-50, 1979.

GUISSÉ, F.; POLMAN, K.; STELMA, F.F.; MBAYE, A.; TALLA, I.; NIAN, M.; DEELDER, A.M.; NDIR, O.; GRYSEELS, B. Therapeutic evaluation of two different dose regimens of praziquantel in a recent *Schistosoma mansoni* focus in Northern Senegal. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 56, p. 511-514, 1997.

HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E.; GILMAN, A.G. Eds. **Goodman & Gilman, As bases farmacológicas da terapêutica**. 10 ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2003.

HARRIES, C.; WEISS, M. **Ber**, v. 33, p. 3418-3420, 1900. In: WARE, E. The chemistry of hydantoins. **Chem. Rev.**, v. 46, p. 403-470, 1950.

HOFFMAN, W.A.; PONS, J.A.; JANER, J.L. Sedimentation concentration method in schistosomiasis mansoni. **PR J. Public. Health. Trop. Med.**, v. 9, p. 283-298, 1934.

HUDKINS, R.L.; HUDKINS-DE HAVEN, D.L.; DOUKAS, P. Design of dual acting anticonvulsant-antimuscarinic succinimide and hydantoin derivatives. **Bioorg Med Chem Lett**, v. 7, n. 8, p. 979-984, 1997.

ISMAIL, M.; BOTROS, S.; METWALLY, A.; WILLIAM, S.; FARGHALLY, A.; TAO, L.F.; DAY, T.A.; BENNETT, J.L. Resistance to praziquantel: direct evidence from *Schistosoma mansoni* isolated from Egyptian villagers. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 60, p. 932-935, 1999.

ISMAIL, M.; METWALLY, A.; FARGHALY, A.; BRUCE, J.; TAO, L.F.; BENNETT, J.L. Characterization of isolates of *Schistosoma mansoni* from Egyptian villagers that tolerate high doses of praziquantel. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 55, p. 214-218, 1996.

JENSSEN, K.A.; NIELSEN, P.H. **Acta. Chem. Scand.**, v. 20, p. 597, 1966. In: LOPÉZ, C.A.; TRIGO, G.G. The chemistry of Hydantoins. **Adv. Heterocycl. Chem.**, v. 38, p. 177-228, 1985.

KARALI, N.; GÜRSOY, A.; TERZIOGLU, N.; ÖZKIRIMLI, S.; ÖZER, H.; EKINCI, A.C.A. Synthesis and preliminary CNS depressant activity evaluation of new 3-[(3-substituted-5-methyl-4-thiazolidinon-2-ylidene)-hydrazono]-1*H*-2-indolinones and 3-[(2-thioxo-3-substituted-4,5-imidazolidine-dion-1-yl)-imino]-1*H*-2-indolinones. **Arch. Pharm. Med. Chem.**, v. 331, p. 254-258, 1998.

KATZ, N.; CHAVES, A.; PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in schistosomiasis mansoni. **Rev. Inst. Méd. Trop. São Paulo**, v. 14, p. 397-400, 1972.

KATZ, N.; DIAS, E.P.; ARAÚJO, N.; SOUZA, C.P. Estudo de uma cepa humana de *Schistosoma mansoni* resistente a agentes esquistossomicidas. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 7, p. 381-387, 1973.

KIEC-KONONOWICZ, K.; SZYMANSKA, E. Antimycobacterial activity of 5-arylidene derivatives of hydantoin. **IL Farmaco**, v. 57, p. 909-916, 2002.

KOCHKANYAN, R.O.; ISRAELIAN, Y.U.; ZARITOVSKII, A.N. New method for the synthesis of azolidones. **Chem. Heterocyclic Compounds**, v. 1, p. 70-72, 1978.

KÖHLER P. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. **Int. J. Parasitol.**, v. 31, p. 336-345, 2001.

KUSHEV, D.; GORNEVA, G.; ENCHEV, V.; NAYDENOVA, E.; POPOVA, J.; TAXIROV, S.; MANEVA, L.; GRANCHAROV, K.; SPASSOVSKA, N. Synthesis, cytotoxicity, antibacterial and antitumor activity of platinum (II) complexes of 3-aminocyclohexanespiro-5-hydantoin. **J. Inorg. Biochem.**, v. 89, p. 203-211, 2002.

KWON, B.M.; KIM, S.Ch. **J. S. Perkin II**, p. 761, 1983. *In*: LOPÉZ, C.A.; TRIGO, G.G. The chemistry of Hydantoins. **Adv. Heterocycl. Chem.**, v. 38, p. 177-228, 1985.

LEE, C.V.; CHU, H.J. Simple techniques for studying Schistosome worm *in vitro*. **Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.)**, v. 32, p. 1397-1400, 1935. *In*: BARTH, L.R.; FERNANDES, A.P.M.; RODRIGUES, V. Oviposition by *Schistosoma mansoni* during *in vitro* cultivation. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 38, p. 423-426, 1996.

LEMPERT, K.; LEMPERT-SRÉTER, M.; BREUER, J.; PATAKY, I.; PFEIFER, K.A. Hydantoine, thiohydantoine, glykocyamidine, XI Darstellung einiger 2-[dialkylamino-alkylimino]-imidazolidinone-(5). **Berattelse**, v. 95, p. 2885-2895, 1962.

LIANG, Y.S.; COLES, G.C.; DOENHOFF, M.J.; SOUTHGATE, V.R. *In vitro* responses of praziquantel-resistant and -susceptible *Schistosoma mansoni* to praziquantel. **Int. J. Parasitol.**, v. 31, p. 1227-1235, 2001.

LIMA, M.C.A.; COSTA, L.B.; GÓES, A.J.S.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; LUU-DUC, C. Synthèse et activité antimicrobienne des chlorobenzyl benzylidène imidazolidinediones et thiazolidinediones substituées. **Pharmazie**, v. 47, n. 3, p. 182-184, 1992.

LOPÉZ, C.A.; TRIGO, G.G. The chemistry of Hydantoins. **Adv. Heterocycl. Chem.**, v. 38, p. 177-228, 1985.

LUTTERMOSER, G.W.; BOND, H.W. **J. Parasitol.**, v. 40, p. 33, 1954. *In*: WERBEL, L.M.; ELSLAGER, E.F. Antischistosomal effects of 5-(2,4,5-trichlorophenyl)-hydantoin and related compounds. **J. Med. Chem.**, v. 20, n. 12, p. 1569-1572, 1977.

MALAGUEÑO, E.; SANTANA, J.V. Etiologia da esquistossomose. *In*: MALTA, J. **Esquistossomose mansônica**. Recife: Editora Universitária, 1994.

MARINO, C.; HERCZEGH, P.; LEDERKREMER, R.M. Synthesis of β -D-galactofuranosyl nucleoside analogues. A new type of β -D-galactofuranosidase inhibitor. **Carbohydr. Res.**, v. 333, p. 123-128, 2001.

MERCER, J.G.; CHAPPELL, L.H. *Schistosoma mansoni*: effect of maintenance *in vitro* on the physiology and biochemistry of adult worms. **Parasitology**, v. 90, p. 339-349, 1985.

MERRIT, H.H.; PUTNAM, T.J. A new series of anticonvulsant drugs tested by experiments on animals. **Arch. Neurol. Psychiatry**, v. 39, p. 1003-1015, 1938a. *In*: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E.; GILMAN, A.G. Eds. **Goodman & Gilman, As bases farmacológicas da terapêutica**. 10 ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana Editores, 1996a, p. 396-398.

MERRIT, H.H.; PUTNAM, T.J. Sodium diphenyl hydantoinate in treatment of convulsive disorders. **JAMA**, v. 111, p. 1068-1073, 1938b. *In*: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E.; GILMAN, A.G. Eds. **Goodman & Gilman, As bases farmacológicas da terapêutica**. 10 ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana Editores, 1996b, p. 396-398.

MICHAELS, E.L.; PRATA, A. Evolution and characteristics of *Schistosoma mansoni* eggs laid *in vitro*. **J. Parasit.**, v. 54, p. 921-930, 1968.

MILLER, E.C.; ROBSON, W. The synthesis of α -methylamino- β -indolylpropionic acid. **J. Chem. Soc.**, p.1910-1912, 1938. *In*: WARE, E. The chemistry of hydantoins. **Chem. Rev.**, v. 46, p. 403-470, 1950.

MILLER, F.H.; TULLOCH Jr., G.S.; KUNTZ, R.E. Scanning electron microscopy of integumental surface of *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.**, v. 58, p. 693-698, 1972.

MIZZONI, R.H. **US**, v.2, n. 949, p. 459, 1960. *In*: OZKIRIMLI, S.; HAMALI, O. Synthesis and hypnotic activity of some 2-thioxo-4,5-imidazolidinedione derivatives. **IL Farmaco**, v. 50, f. 1, p. 65-67, 1995.

MONTANARI, C.A. Química Medicinal: Contribuição e Perspectivas no Desenvolvimento da Farmacoterapia. **Química Nova**, v. 18, n. 1, p. 56-62, 1995.

MORIYA, T.; HAGIO, K.; YONEDA, N. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 28, n.6, p. 1891, 1980. *In*: LOPÉZ, C.A.; TRIGO, G.G. The chemistry of Hydantoins. **Adv. Heterocycl. Chem.**, v. 38, p. 177-228, 1985.

NEVES, D.P.; MELO, A.L.; GENARO, O.; LINARDI, P.M. **Parasitologia Humana**. 10 ed. São Paulo: Atheneu, 2003, p. 147-193.

NISHIMURA, K.; KANAKA, M.; IWAYA, K.; SHIBUY, K. Relationship between insecticidal and nerve-excitatory activities of imidacloprid and alkylated congeners at the imidazolidine NH site. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 62, p. 172-178, 1998.

NORDGREN, I.; HOLMSTEDT, B.; BENGTSSON, E.; FINKEL, Y. Plasma levels of metrifonate and dichlorvos during treatment of schistosomiasis with Bilarcil. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 29, p. 426-430, 1980.

OLIVEIRA, S.M.; ALBUQUERQUE, M.C.P.A.; PITTA, M.G.R.; MALAGUEÑO, E.; SANTANA, J.V.; LIMA, M.C.A; PITTA, I.R.; GALDINO, L.S. A Resposta do *Schistosoma mansoni* mantido *in vitro* frente a derivados imidazolidinônicos. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 23, n. 3, p. 343-348, 2004.

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

OZKIRIMLI, S.; HAMALI, O. Synthesis and hypnotic activity of some 2-thioxo-4,5-imidazolidinedione derivatives. **IL Farmaco**, v. 50, f. 1, p. 65-67, 1995.

PEARCE, E.J. Progress towards a vaccine for schistosomiasis. **Acta Trop.**, v. 86, p. 309-313, 2003.

PEDROSO, E.R.P. Alterações pulmonares associadas à esquistossomose mansoni. **Mem. Inst. Oswaldo. Cruz**, v. 84, supl. 1, p. 46-57, 1989.

PENG, G.W.; MARQUEZ, V.E.; DRISCOLL, J.S. Potential central nervous system antitumor agents. Hydantoin derivatives. **J. Med. Chem.**, v. 18, n. 8, p. 846-849, 1975.

PESSÔA, S.B.; MARTINS A.V. **Parasitologia Médica**, 10^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1977.

PETRI Jr, W.A. Sulfonamidas, sulfametoxazol-trimetoprima, quinolonas e agentes para infecções do trato urinário. *In*: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E.; GILMAN, A.G. **Eds. Goodman & Gilman, As bases farmacológicas da terapêutica**. 10 ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2003, p. 887.

PIASCIK, M.T.; SOLTIS, E.E.; PIASCIK, M.M.; MACMILLAN, L.B. Alpha-adrenoceptors and vascular regulation: molecular, pharmacologic and clinical correlates. **Pharmacol. Ther.**, v. 72, n. 3, p. 215-241, 1996.

PICKETY, L.W.; McLEAN, M. The dissociation of hydantoin. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 61, p. 423-425, 1939. *In*: LOPÉZ, C.A.; TRIGO, G.G. The chemistry of Hydantoins. **Adv. Heterocycl. Chem.**, v. 38, p. 177-228, 1985.

POLAK, M.; MONTENEGRO, M.R.; MEIRA, J.A.; CONTE, V.P.; ESPEJO, H.; FRANCHINI, F.; PONTES, J.F. Schistosomiasis mansoni: pathological changes in the liver different stages of the disease studied by means of laparoscopy and needle biopsy. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 1, p. 18-40, 1959.

POPIEL, I. The reproductive biology of schistosomes. **Parasitol. Today**, v. 2, p. 10-15,

1986.

POUPAERT, J.; BOUCHE, R. **J. Pharm. Sci.**, v. 65, n. 8, p. 1258, 1976. *In*: LOPÉZ, C.A.; TRIGO, G.G. The chemistry of Hydantoins. **Adv. Heterocycl. Chem.**, v. 38, p. 177-228, 1985.

PRATA A. Esquistossomose mansonii. *In*: **Veronesi Tratado de Infectologia**. São Paulo: Atheneu. 1996.

RANG, H.P., DALE, M.M., RITTER, J.M. **Farmacologia**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, p.557.

REY L. **Parasitologia - Parasitos e doenças parasitária do homem nas Américas e na África**. 3 ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, p. 426-443.

ROBERT, J.H.; SABOURIN, C.; ALVAREZ, N.; ROBERT-PIESSARD, S.; LE BAUT, G.; LE PAPE, P. Synthesis and antileishmanil activity of new imidazolidin-2-one derivatives. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 38, p. 711-718, 2003.

ROBINSON, P.R.; LAIRD, E.R.; DONAHUE, K.M.; LOPRESTI-MORROW, L.L.; MITCHELL, P.G.; REESE, M.R.; REEVES, L.M.; ROUCH, A.I.; STAM, E.J.; YOCUM, S.A. Design and Synthesis of 2-Oxo-imidazolidine-4-carboxylic Acid Hydroxyamides as Potent Matrix Metalloproteinase-13Inhibitors. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 11, p. 1211-1213, 2001.

ROGERS, S.H.; BUEDING, E. Hycanthone resistance: development in *S. mansonii*. **Science**, v. 172, p. 1057-1058, 1971.

ROSSI, D.; PERUZZOTTI, G.; DENNIS, E.W.; BERBERIAN, D.A.; FREELE, H.; ARCHER, S. A new active metabolite of Miracil D. **Nature**, v. 208, p. 1005-1006, 1965.

ROWLEY, G.L.; GREENLEAF, A.L.; KENYON, G.L. On the specificity of creatinine kinase. New glyciociamines and glyciociamine analogs related to creatine. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 93, p. 5542-5551, 1971.

SANGSTER, N.C.; GILL, J. Pharmacology of Anthelmintic Resistance. **Parasitol. Today**, v. 15, n. 4, p. 141-146, 1999.

SANTOS, E.; ROSILLO, I.; DEL CASTILLO, B.; AVENDÁNO, C. **J. Chem. Res. Synop.**, 131, 1982. *In*: LOPÉZ, C.A.; TRIGO, G.G. The chemistry of Hydantoins. **Adv. Heterocycl. Chem.**, v. 38, p. 177-228, 1985.

SAULI, M. 1-(Alkoxy carbonyl)-and 1-carbamoyl-3-arylhydantoins and- 2-thiohydantoins. **Ger. Offen.**, v. 2, n. 149, p. 923, 1972. *In*: **Chem. Abstr.**, v. 77, 19647c, 1972.

SAVIOLI, L.; RENGANATHAN, E.; MONTRESOR, A.; DAVIS, A.; BEHBEHANI, K. Control of schistosomiasis - a global picture. **Parasitol. Today**, v. 13, p. 444-448, 1997.

SENFT, A.W.; SENFT, D.G. Chemically defined medium for the maintenance of *Schistosoma mansoni*. **J. Parasitol.**, v. 48, p. 551-554, 1962.

SHAW, M.K.; ERASMUS, D.A. *Schistosoma mansoni*: differential cell death associated with in vitro culture and treatment with Astiban (Roche). **Parasitology**, v. 75, p. 101-109, 1977.

SILVA, T.G.; BARBOSA, F.S.V.; BRANDÃO, S.S.F.; LIMA, M.C.A.; GALBINO, S.L.; PITTA, I.R.; BARBE, J. Synthesis and structural elucidation of new benzylidene imidazolidines and acrydinylidene thiazolidines. **Heter. Comm.**, v.7, n. 6, p. 523-528, 2001.

SIMPSON, A.J.; SCHRYER, M.D.; CESARI, I.M.; EVANS, W.H.; SMITHERS, S.R. Isolation and partial characterization of the tegumental outer membrane of adult *Schistosoma mansoni*. **Parasitol.**, v. 83, p. 163-177, 1981.

SOARES, L.A.; TRABULSI, L.R. Studies on the antibacterial activity of two new acylureidopenicillins, mezlocillin and azlocillin. **Arzneimittelforschung**, v. 29, n. 12a, p. 1932-1934, 1979.

STANDEN, D. The effect of temperature light and salinity upon the hatching of the ova of *Schistosoma mansoni*. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 45, p. 225-241, 1952.

STANDEN, D. The effect of temperature light and salinity upon the hatching of the ova of *Schistosoma mansoni*. **T. Roy. Soc. Trop. Med. H.**, v. 45, p. 225-241, 1952.

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

STELMA, F.F.; TALLA, I.; SOW, S. Efficacy and side effects of praziquantel in an epidemic focus of *Schistosoma mansoni*. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 53, p. 167-170, 1995.

STOFFEL, P.J. **US** 3, v. 461, p. 333, 1969. *In*: OZKIRIMLI, S.; HAMALI, O. Synthesis and hypnotic activity of some 2-thioxo-4,5-imidazolidinedione derivatives. **IL Farmaco**, v. 50, f. 1, p. 65-67, 1995.

SUSEN, S.; BUYUKBINGOL, E. Anti-cancer activity studies of indolalithiohydantoin (PIT) on certain cancer cell lines. **IL Farmaco**, v. 55, p. 246-248, 2000.

SZYMAŃSKA, E.; KIEĆ-KONONOWICZ, K. Antimycobacterial activity of 5-arylidene aromatic derivatives of hydantoin. **IL Farmaco**, v. 57, n. 5, p. 355-362, 2002.

SZYMAŃSKA, E.; KIEĆ-KONONOWICZ, K.; BIALECKA, A.; KASPROWICZ, A. Antimycobacterial activity of 5-arylidene aromatic derivatives of hydantoin. Part 2. **IL Farmaco**, v. 57, n. 1, p. 39-44, 2002.

TAN, S.F.; ANG, K.P.; FONG, Y.F. (Z) and (E)-5-arylmethynehydantoinins: Spectroscopic properties and configuration assignment. **J. Chem. Soc. Perkin Trans. II**, p. 1941-1944, 1986.

THENMOZHIAL, J.C.; WONG, P.T.; CHUI, W. Anticonvulsant activity of

phenylmethylenhydantoin: a structure-activity relationship study. **J. Med. Chem.**, v. 47, p. 1527-1535, 2004.

TRIGO, G.G.; MARTINEZ, M.; GÁLVEZ, E. **J. Pharm. Sci.**, v. 70, n. 1, p. 81, 1981. *In*: LOPÉZ, C.A.; TRIGO, G.G. The chemistry of Hydantoin. **Adv. Heterocycl. Chem.**, v. 38, p. 177-228, 1985.

ULUSOY, N.; OZKIRIMLI, S.; GURSU, E. Synthesis and preliminary anticonvulsant activity evaluation of new 2-thioxo-4,5-imidazolidinedione derivatives. **Boll. Chim. Farm.**, v. 138, n. 10, p. 516-20, 1999.

UNANGST, P.C.; CONNOR, D.T.; CETENKO, W.A.; SORENSON, R.J.; KOSTLAN, C.R.; SIRCAR, J.C.; WRIGHT, C.D.; SCHRIER, D.J.; DYER, R.D. Synthesis and biological evaluation of 5-[3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxyphenyl]-methylene]oxazoles, -thiazoles, and -imidazole: novel dual 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitors with anti-inflammatory activity. **J. Med. Chem.**, v. 37, p. 322-328, 1994.

UNANGST, P.C.; CONNOR, D.T.; CETENKO, W.A.; SORENSON, R.J.; SIRCAR, J.C.; WRIGHT, C.D.; SCHRIER, D.J.; DYER, R.D. Oxazole, thiazole and imidazole derivatives of 2,6-di-tert-butylphenol as dual 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitors. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 3, n. 8, p. 1729-1734, 1993.

WARE, E. The chemistry of hydantoin. **Chem. Rev.**, v. 46, p. 403-470, 1950.

WEBSTER Jr., L.T.; BUTTERWORTH, A.E.; MAHMOUND, A.A.F.; MINGOLA, E.N.; WARREN, K.W. Suppression of delayed hypersensitivity in schistosome-infected patients by niridazole. **N. Engl. J. Med.**, v. 292, p. 1144-1147, 1975.

WERBEL, L.M.; ELSLAGER, E.F. Antischistosomal effects of 5-(2,4,5-trichlorophenyl)hydantoin and related compounds. **J. Med. Chem.**, v. 20, n. 12, p. 1569-1572, 1977.

WHO. World Health Organization. Disponível em: <<http://www.who.int/en/>> Acesso em: 23 set. 2004.

WHO. World Health Organization. Essential Medicines. Model List. 13th edition. Revised April 2003.

XIMENES, R.A.A; SOUTHGATE, B.; SMITH, P.G.; GUIMARÃES NETO, L. Migration and urban schistosomiasis. The case of São Lourenço da Mata, Northeast of Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. São. Paulo.**, v. 42, p. 209-217, 2000.

YAMAGUCHI, T.; MIURA, K.; USUI, T.; UNNO, R.; MATSUMOTO, Y.; FUKUSHIMA, M.; MIZUNO, K.; KONDO, Y.; BABA, Y.; KURONO, M. Synthesis and aldose reductase inhibitory activity of 2-substituted 6-fluoro-2,3-dihydrospiro[4H-1-benzopyran-4,4'-imidazolidine]-2'-5'-diones. **Arzneim. Forschung. Drug Res.**, v. 44(I), n. 3, p. 344-348, 1994.

YEANG, F.S.; MARSHALL, I.; HUGGINS, M. Oxamniquine resistance in *Schistosoma mansoni*: fact or fiction? **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v. 81, n. 3, p. 337-339, 1987.

ZEJC, A.; KIEC-KONONOWICZ, K.; CHLON, G.; KLEINROK, Z.; KOLASA, K.; PIETRASIEWICZ, T.; CZECHOWSKA, G. Synthesis and pharmacological properties of diphenylimidazolidine acetic and propionic acids derivatives. **Pol. J. Pharmacol. Pharm.**, v. 41, n. 5, p. 483-93, 1989.

ZIEF, M.; EDSALL, J.T. **Am. Chem. Soc.**, v. 59, p. 2245, 1937. In: LOPÉZ, C.A.; TRIGO, G.G. The chemistry of Hydantoin. **Adv. Heterocycl. Chem.**, v. 38, p. 177-228, 1985.

ANEXOS



ORIGINAL ARTICLES

Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami – LIKA¹, Centro de Ciências Biológicas², Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife, Brasil, GERCTOP³, Université de la Méditerranée, Faculté de Pharmacie, Marseille, France

Synthesis and schistosomicidal activity of new substituted thioxo-imidazolidine compounds

M. C. P. A. ALBUQUERQUE^{1,2}, T. G. SILVA², M. G. R. PITTA¹, A. C. A. SILVA², P. G. SILVA¹, E. MALAGUEÑO¹, J. V. SANTANA¹, A. G. WANDERLEY², M. C. A. LIMA², S. L. GALDINO², J. BARBE³, I. R. PITTA²

Received August 13, 2003, accepted April 4, 2004

Prof. Ivan da Rocha Pitta, Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Antibióticos, BR-50670-901 Recife, Brasil
irpitta@aol.com

Pharmazie 60: 13–17 (2005)

Synthesis and physico-chemical properties of 3-benzyl-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-ones, 5-benzylidene-3-(4-nitro-benzyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-ones and 4-acridin-9-ylmethylene-1-benzyl-5-thioxo-imidazolidin-2-ones compounds are described. These thioxo-imidazolidine derivatives were prepared by alkylation and condensation with 4-fluoro-benzaldehyde or nucleophilic Michael addition with cyanoacrylates. The schistosomicidal activity of 3-benzyl-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one compounds was evaluated.

1. Introduction

Imidazolidine compounds are used for the treatment of schistosomiasis infections. Their efficacy is good but has serious drawbacks (Robinson et al. 1970; Waruiru 1992). This work describes the synthesis and the physicochemical properties of 3-benzyl-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-ones, 5-benzylidene-3-(4-nitro-benzyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-ones and 4-acridin-9-ylmethylene-1-benzyl-5-thioxo-imidazolidin-2-one compounds. These derivatives were synthesized using two different general routes. The first process used was condensation with various benzaldehydes while the second was nucleophilic addition with cyanoacrylates. The synthesis of some 5-aryldene-3-benzyl-4-thioxo-imidazolidin-2-ones and 5-aryldene-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-ones has been reported in previous papers (Albuquerque et al. 1999; Brandão et al. 2000; Silva et al. 2001; Andrade et al. 2002).

2. Investigations, results and discussion

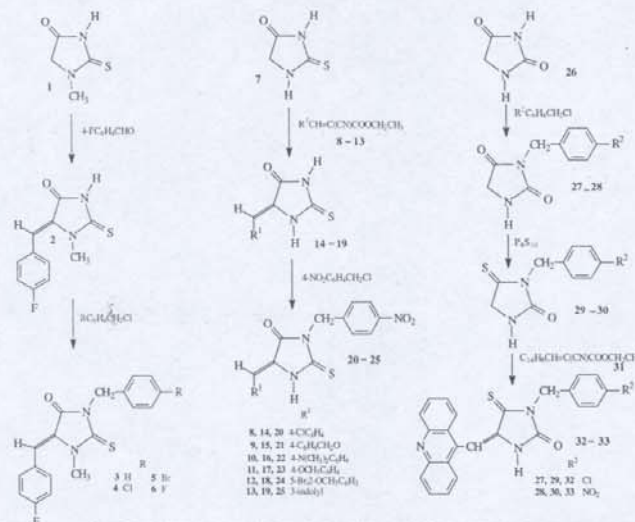
2.1. Synthesis of the compounds

The 3-benzyl-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-ones were synthesized in three stages. Initially 1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one (**1**) was prepared using 1-methyl-glycine and ammonium thiocyanate (Romley et al. 1971). Then, the 1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one reacts with 4-fluoro-benzaldehyde in DMF in the presence of sodium methoxide (Krapcho 1973) to form 5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one (**2**). The alkylation of this compound was carried out in the presence of potassium hydroxide and benzyl halides in alcoholic medium (Finkbeiner 1965). 3-Benzyl-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-

ones **3–6** were thus obtained. In addition, some other new 5-aryldene or 5-(3-indolylmethylene) 3-(4-nitro-benzyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-ones **20–25** were obtained by nucleophilic Michael addition of 2-thioxo-imidazolidin-4-one **7** to aryl-substituted ethyl-(2-cyano-3-phenyl)-acrylates **8–12** or ethyl-[2-cyano-3-(3-indol)]-acrylate **13**. The 5-aryldene or 5-(3-indolylmethylene)-2-thioxo-imidazolidin-4-ones **14–19** obtained were alkylated using 4-nitro-benzyl-chloride in the presence of potassium hydroxide. The 4-acridin-9-ylmethylene-1-benzyl-5-thioxo-imidazolidin-2-one derivatives **32–33** were only synthesized by nucleophilic addition of substituted 3-benzyl-4-thioxo-imidazolidin-2-ones **29–30**, to 9-[ethyl-(2'-cyano)-acrylate]-acridine **31**. In fact, direct condensation of 9-acridinaldehyde with the substituted imidazolidine-2-ones **29–30** did not lead to the expected 4-acridin-9-ylmethylene-1-benzyl-5-thioxo-imidazolidin-2-ones **32–33**, but to that obtained using 2-thioxo-imidazolidin-4-one. After alkylation of imidazolidin-2-4-dione **26** with benzyl halides, the oxo group in position 4 of substituted 3-benzyl-imidazolidine-2,4-diones **27–28** was replaced by thioxo with tetraphosphorous decasulfide. The 9-methyl-acridine starting product for the preparation of 9-acridinaldehyde, was obtained from diphenylamine with zinc dichloride in an acetic acid medium (Silva et al. 2001; Tsuge et al. 1963). Subsequently, oxidation of 9-methyl-acridine with pyridinium chlorochromate gave 9-acridinaldehyde (Silva et al. 2001; Mosher and Natale 1995). The condensation with ethyl cyanoacetate in the presence of piperidine in hot anhydrous benzene leads to the 9-[ethyl-(2'-cyano)-acrylate]-acridine **31** (Scheme). The thioxoimidazolidines **2–6**, **14–25** were isolated in single isomer form. X-ray crystallographic studies have demonstrated the preferred Z configuration for 5-aryldene-imidazolidinone (De Simone et al. 1996). The study using coupled spectrometry ¹³C-¹H NMR, determining the ³J_{CH}

ORIGINAL ARTICLES

Scheme



coupling constant value between the ethylene proton and the carbon atom located at the α position of the exocyclic bond for 1-methyl-3-(4-chloro-benzyl)-5-(4-chloro-benzylidene)-imidazolidine-2,4-dione also suggests a Z configuration (Silva et al. 2001). The molecular mechanics study using the Hyperchem and Mopac programs for 3-benzyl-5-benzylidene-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one compounds confirmed likewise that the Z isomer is also, from the thermodynamic point of view, the most stable (Brandão et al. 2000).

2.2. Biological activity

2.2.1. Schistosomicidal activity

The BH (BH - Belo Horizonte, MG, Brazil) strain of *Schistosoma mansoni* is routinely maintained at LIKA (Keizo Asami Immunopathology Laboratory) by standard passage through *Biomphalaria glabrata* snails provided by

the Department of Tropical Medicine (University Federal of Pernambuco). Adult schistosomes, obtained by perfusion using dissecting needles, were recovered from the mesenteric and portal veins of untreated Swiss albino mice, weighing 18–22 g, infected 8–12 weeks earlier (Duvall and Dewitt 1967). There are models available which can be used to study the susceptibility of *S. mansoni* adult worms to drugs *in vitro* (Mercer and Chapell 1985). Both males and females were examined in the experiments. The worms were maintained in a RPMI-1640 medium (Sigma) buffered to pH 7.5, supplemented with HEPEs (20 mM), 10% foetal bovine serum (Cultilab), penicillin (100 U/mL), and streptomycin (100 mg/mL). Incubation was carried out at 37 °C in a humid atmosphere containing 5% CO₂. The effect of 3-benzyl-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-ones compounds 3–6 on the viability of on *S. mansoni* was examined by incorporating the drugs into the medium employed for parasite culture. The

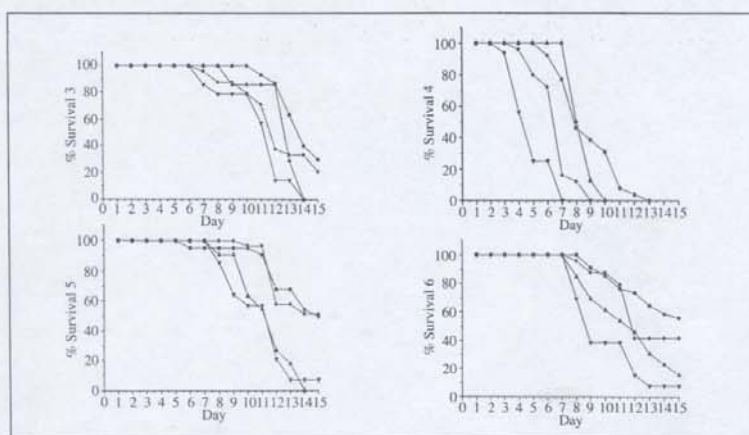


Fig. 1
Survival of schistosomes maintained *in vitro* for 15 days in the presence of thioxoimidazolidine compounds 3-6 at 120 and 180 µg/mL.

■ Male 120 µg/mL, ● male 180 µg/mL, ▲ female 120 µg/mL, ▼ female 180 µg/mL

ORIGINAL ARTICLES

drugs, at appropriate concentrations, were dissolved in DMSO (1.5% v/v). This solvent concentration did not affect the worms' mortality, pairing, or motility. In all experiments two adult worms, unpaired were placed in multi-well plastic tissue culture dishes containing 3 mL of medium. A minimum of 30 worms was used in each treatment and control group. The worms viability was observed using an inverted microscope (60 $\times$) for 15 days after addition of the drugs. The worms already treated with DMSO were included as a control in every experiment. Praziquantel was chosen as the standard control. Parasites were considered dead when no movement could be detected over a 3-min period. Strict aseptic techniques were used throughout the experiments.

The viability of adult worms was observed *in vitro* during incubation with 120 or 180 $\mu\text{g/mL}$ of thioxoimidazolidine derivatives 3–6. The Fig. shows that up to the 7th day no mortality was observed in the worms, either male or female, at 120 $\mu\text{g/mL}$ of 3. On the 11th day of the assay all the worms, in the case of both doses, had shown sensitivity to this compound. After 15 days a maximum response had been obtained for the female worms. A relationship was also observed between time- and dose-dependent response. The *para*-chloro-benzyl compound 4 was the most active of the series. From the 3rd day of contact with this compound onwards the female worms, at a dose of 180 $\mu\text{g/mL}$, showed sensitivity, and by the end of the period of the assay no parasites had survived. The maximum response was reached on the 7th day with the female worms incubated with 180 $\mu\text{g/mL}$. This compound also showed a relation between time- and dose-dependent response. The results obtained with the *para*-bromine-benzyl compound 5 were atypical in terms of the dose-response relation. However, by the end of 15th day, the females had proved to be more sensitive than the males, in the case of both doses. With the compound 6 where the fluorine atom is present in the *para* position of two aromatic rings, from the 8th day onwards the male worms showed sensitivity to the dose of 180 $\mu\text{g/mL}$, and the female worms at both doses. With this compound the maximum response was not achieved, but the females showed greater sensitivity than the males. The action of praziquantel, at a dose of 60 $\mu\text{g/mL}$ showed that females and males began to show signs of sensitivity from the first day and by the end of the 15th day, no parasite had survived.

The motility of the worms was considerably reduced after 24 h of contact with the drugs. By way of microscopic observation, alterations in the worms tegument were observed. With 3, at a dose of 120 $\mu\text{g/mL}$, the male worms showed bending and shortening of the body, suggesting a contraction of the longitudinal muscles. With compound 4, the females showed many bubbles when the 180 $\mu\text{g/mL}$ dose was used. Compound 6 caused degeneration in the internal structure of the worms, leading to a loss of transparency. It should be pointed out that the surviving worms, at the end of the assay period, showed irreversible alterations to the tegument and discrete movements. Control groups were not affected for up to 15 days of observation and all these worms remained paired throughout the observation period and exhibited vigorous activity.

The results presented demonstrate that 4, at a dose of 180 $\mu\text{g/mL}$, is the most active of the series, achieving a maximum response by the 9th day of contact with the worms.

Except for compound 5, the effectiveness of the derivatives studied was observed to be dose-dependent. At the end of the experiment the worms in the control groups remained viable. A great difference in the biological re-

sponse was observed between the four composites of the series due to the different substitutes in the benzyl ring. The impossibility of determining a dose-response relation in the case of 5 is, perhaps, due to the presence of the voluminous bromine atom. The mechanism through which the antiparasitic effect is mediated still remains unknown. The potency of these derivatives might be taken as a basis for the development of new antischistosomal compounds.

2.2.2. Toxicological data

Adult Swiss albino mice of both sexes weighing between 25 and 35 g, were acquired from the Bioterium of the Department of Physiology and Pharmacology at the Federal University of Pernambuco. The animals received as much water and food (Labina[®]) as requested and were kept under controlled lighting conditions (12 h light/dark cycle) and temperature (23–26 °C).

Seventy mice, deprived of food for 12 h, were divided randomly into 14 groups ($n=5/\text{group}$). Subsequently, the compounds 3–6 were diluted in DMSO (1.5%, v/v) and administered orally in doses of 40, 200 and 1000 mg/kg with a volume of 0.1 mL/10 g. The control groups received saline solution (NaCl 0.9%) and DMSO in the same volume. After oral administration, the animals were carefully observed for 6 h on a flat surface and then transferred to their respective cages and observed at regular intervals for 96 h. Effects seen were as follows: excitement or depression of the central nervous system, stereotyped movements, piloerection, spontaneous movement, diarrhoea. These observations were noted using the table designed by Malone (1977).

The administration of compounds 3–6 did not produce any alteration in the behaviour pattern of the animals in comparison to the control groups. No mouse from any group died. These data show that, in principle, compounds 3–6 exhibit low levels of toxicity, even when administered in high doses.

3. Experimental

Melting points were measured in a capillary tube on Büchi (or Quimis) apparatus. TLC was performed on silicagel plates Merck 60 F₂₅₄. IR of 1% KBr pellets were recorded on a Bruker IFS66 spectrometer or Perkin Elmer 1310 for 2–6, 17. ¹H NMR spectra were recorded on a Bruker AC 300 P spectrophotometer or Bruker AC 200 FT for 2–6 in DMSO-*d*₆. MS, by electronic impact 70eV, were recorded on Delsi-Nermag R 1010 C spectrometer or HP G1019A for 3–6, 32, 33. The intensity of the molecular peaks is given compared to the most intense peak M^+ (%). The fragmentations observed were in accordance with the structures suggested. The published chemical data for 1 (Brandão et al. 2000), 8 (Le Moal et al. 1966), 9, 12–15, 18, 19 (Brandão et al. in press), 27 (Lima et al. 1992), 28 (Finkbeiner 1965), 29 (Albuquerque et al. 1995), 30 (Valls et al. 1985) and 31 (Silva et al. 2001) were not reported.

3.1. 5-(4-Fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one (2)

A mixture of 1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one (1) (1.3 g, 10 mmol), 4-fluoro-benzaldehyde (1.86 g, 15 mmol) and sodium acetate (2.5 g) in 10 mL of acetic acid was refluxed for 3 h. After cooling, the precipitated product was washed with water and acetic acid. Yield 57%. M.p. 222–224 °C. R_f (CHCl₃:CH₃OH 96:4) 0.7. IR cm^{-1} (KBr): ν 3100, 1730, 1630, 1490, 1160, 840 cm^{-1} . RMN ¹H (δ ppm DMSO *d*₆): 3.45 (s, 3H NCH₃), 6.74 (s, CH ethylenic), 7.56 (t, 2H benzylidene, $J=8.9$ Hz), 8.13 (dd, 2H benzylidene, $J=5.7$ Hz); 12.37 (s, 1H NH). C₁₁H₉FN₂OS

3.2. 3-Benzyl-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-ones: general procedure

A solution of sodium hydroxide (0.12 g, 2.2 mmol) in methanol (3 mL) was added drop-wise to a stirred suspension of 5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one (0.47 g, 2 mmol) in methanol (2 mL). After 10 min of contact, the benzyl halide (2.5 mmol) was added and left at room temperature for 24 h. After cooling, the precipitate was filtered

ORIGINAL ARTICLES

and washed with water and diethyl ether. The benzylidene imidazolidines resulting from this reaction showed a degree of purity sufficient for the analyses and antitumor assays.

3.2.1. 3-Benzyl-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one (3)

Yield 50%. M.p. 220–222 °C. TLC. (CHCl₃:CH₃OH 99:1) R_f 0.91. IR cm⁻¹ (KBr): ν 1674, 1610, 1595, 1458, 1389, 1153, 831 cm⁻¹. ¹H NMR (δ ppm DMSO d₆): 3.3 (s, 3H NCH₃), 4.57 (s, 2H NCH₂), 6.83 (s, CH ethylenic), 7.31–7.49 (m, 5H benzyl), 7.25 (t, 2H benzylidene, J = 8.8 Hz), 8.33 (dd, 2H benzylidene). MS m/z (%): 326 (M⁺ 19.5), 293 (100), 235 (6.2), 148 (6.5), 134 (9.1). C₁₈H₁₅FN₂O₂S

3.2.2. 3-(4-Chloro-benzyl)-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one (4)

Yield 33%. M.p. 218–220 °C. TLC. (CHCl₃:CH₃OH 98:2) R_f 0.91. IR cm⁻¹ (KBr): ν 1689, 1612, 1595, 1453, 1373, 1152, 826 cm⁻¹. ¹H NMR (δ ppm DMSO d₆): 3.29 (s, 3H NCH₃), 4.57 (s, 2H NCH₂), 6.84 (s, CH ethylenic), 7.25 (t, 2H benzylidene, J = 8.9 Hz), 7.4 (d, 2H benzyl, J = 8.4 Hz), 7.5 (d, 2H benzyl, J = 8.4 Hz), 8.33 (dd, 2H benzylidene). MS m/z (%): 360 (M⁺ 100), 327 (92.7), 292 (41.8), 235 (64), 148 (40.5), 134 (50.2). C₁₈H₁₄ClFN₂O₂S

3.2.3. 3-(4-Bromo-benzyl)-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one (5)

Yield 69%. M.p. 215–217 °C. TLC. (CHCl₃:CH₃OH 98:2) R_f 0.76. IR cm⁻¹ (KBr): ν 1689, 1612, 1595, 1453, 1374, 1158, 837 cm⁻¹. ¹H NMR (δ ppm DMSO d₆): 3.29 (s, 3H NCH₃), 4.55 (s, 2H NCH₂), 6.83 (s, CH ethylenic), 7.25 (t, 2H benzylidene, J = 8.8 Hz), 7.43 (d, 2H benzyl, J = 8.3 Hz), 7.54 (d, 2H benzyl, J = 8.2 Hz), 8.33 (dd, 2H benzylidene). MS m/z (%): 404 (M⁺ 100), 406 (100), 373 (65.7), 371 (59), 292 (74.3), 235 (58.5), 148 (36.3), 134 (35.1). C₁₈H₁₄BrFN₂O₂S

3.2.4. 3-(4-Fluoro-benzyl)-5-(4-fluoro-benzylidene)-1-methyl-2-thioxo-imidazolidin-4-one (6)

Yield 54%. M.p. 220–222 °C. TLC. (CHCl₃:CH₃OH 98:2) R_f 0.85. IR cm⁻¹ (KBr): ν 1674, 1616, 1600, 1510, 1463, 1242, 1160, 837 cm⁻¹. ¹H NMR (δ ppm DMSO d₆): 3.29 (s, 3H NCH₃), 4.57 (s, 2H NCH₂), 6.84 (s, CH ethylenic), 7.17 (t, 2H benzyl, J = 8.8 Hz), 7.25 (t, 2H benzylidene, J = 8.8 Hz), 7.54 (dd, 2H benzyl, J = 8.8 Hz), 8.33 (dd, 2H benzylidene). MS m/z (%): 344 (M⁺ 100), 311 (66.5), 235 (25.1), 148 (25.8), 134 (26.2). C₁₈H₁₄F₂N₂O₂S

3.3. 3-Aryl-2-cyano-ethyl acrylates: general procedure

An equimolar (23 mMol) mixture of aldehyde and ethyl cyanoacetate dissolved in benzene (20 mL) with piperidine (3 drops) was heated at 110–120 °C for 4–7 h. Upon cooling the precipitated product was recrystallized from ethanol.

3.3.1. 2-Cyano-3-(4-dimethylamino-phenyl)-ethyl acrylate (10)

Yield, 50%. R_f, C₈H₈: AcOEt (95:5), 0.61. F, 122–123 °C. IR (cm⁻¹): 3775, 2993, 2209, 1705, 1612, 1569, 1527, 1383, 1274, 1184, 1086, 838. ¹H NMR (δ ppm DMSO d₆): 1.28 (t, 3H CH₃, J = 6.9 Hz), 3.83 (s, 6H NCH₃), 4.26 (q, CH₂, J = 6.9 Hz), 6.84 (d, 2H Ar, J = 9 Hz), 7.96 (d, 2H Ar, J = 9.3 Hz), 8.11 (s, CH ethylenic). C₁₄H₁₆N₂O₂

3.3.2. 2-Cyano-3-(4-methoxy-phenyl)-ethyl acrylate (11)

Yield, 36%. R_f, C₈H₈: AcOEt (95:5), 0.75. F, 81–83 °C. IR (cm⁻¹): 2993, 2216, 1717, 1586, 1561, 1261, 1185, 1019, 838. ¹H NMR (δ ppm DMSO d₆): 1.29 (t, 3H CH₃, J = 7.2 Hz), 3.83 (s, 3H OCH₃), 4.29 (q, CH₂, J = 6.9 Hz), 7.14 (d, 2H Ar, J = 9 Hz), 8.07 (d, 2H Ar, J = 9 Hz), 8.29 (s, CH ethylenic). C₁₃H₁₃NO₃

3.4. 5-Arylidene-2-thioxo-imidazolidin-4-ones: general procedure

An equimolar (4.3 mMol) mixture of 2-thioxoimidazolidin-4-one, **7** (0.5 g) and 3-aryl-2-cyanoethyl acrylate **10**, **11** dissolved in ethanol (10 mL) with piperidine (250 μL) was heated at 80–90 °C for 6–8 h. After cooling, the precipitated product was recrystallized from ethanol (**16**) or acetic acid (**17**).

3.4.1. 5-(4-Dimethylamino-benzylidene)-2-thioxo-imidazolidin-4-one (16)

Yield 50%. M.p. 251–253 °C. TLC. (n-hex.: AcOEt 60:40) R_f 0.61. IR cm⁻¹ (KBr): ν 3811, 3087, 1732, 1713, 1640, 1589, 1482, 1374, 1320, 1185, 1164, 809 cm⁻¹. ¹H NMR (δ ppm DMSO d₆): 3 (s, 6H NCH₃),

6.43 (s, CH ethylenic), 6.72 (d, 2H benzylidene, J = 9 Hz), 7.64 (d, 2H benzylidene, J = 8.7 Hz), 12.02 (s, 2H NH). MS m/z (%): 247 (M⁺ 100), 159 (5.1), 89 (9.5). C₁₂H₁₁N₃O₂S

3.4.2. 5-(4-methoxy-benzylidene)-2-thioxo-imidazolidin-4-one (17)

Yield 72%. M.p. 260–262 °C. TLC. (n-hex.: AcOEt 70:30) R_f 0.57. IR cm⁻¹ (KBr): ν 3140, 1715, 1640, 1590, 1510, 1475, 1365, 1255, 1170, 820 cm⁻¹. ¹H NMR (δ ppm DMSO d₆): 3.81 (s, 3H OCH₃), 6.47 (s, CH ethylenic), 6.99 (d, 2H benzylidene, J = 8.7 Hz), 7.75 (d, 2H benzylidene, J = 8.7 Hz), 12.25 (s, 2H NH). MS m/z (%): 234 (M⁺ 100), 147 (33.4), 132 (23.2), 117 (6.4), 103 (7.4). C₁₁H₁₀N₂O₃S

3.5. 5-Arylidene or 5-(1H-Indol-3-ylmethylene)-3-(4-nitro-benzyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-ones: general procedure

A solution of 5-substituted 2-thioxo-imidazolidin-4-one **14–19**, (0.4 mMol), potassium carbonate (0.48 mMol) in ethanol (2 mL) was stirred at room temperature for 1 h. Then 4-nitro-benzyl chloride (0.4 mMol) was added and the mixture was agitated for 18–24 h. Upon cooling in an ice bath, the product precipitated and was collected and washed with *n*-hexane, methanol and water.

3.5.1. 5-(4-Chloro-benzylidene)-3-(4-nitro-benzyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-one (20)

Yield 68%. M.p. 219–220 °C. TLC. (n-hex.: AcOEt 60:40) R_f 0.52. IR cm⁻¹ (KBr): ν 3081, 2809, 1717, 1683, 1633, 1518, 1349, 1184, 712 cm⁻¹. ¹H NMR (δ ppm DMSO d₆): 4.69 (s, 2H NCH₂), 6.75 (s, CH ethylenic), 7.52 (d, 2H benzyl, J = 8.4 Hz), 8.15 (d, 2H benzyl, J = 8.4 Hz), 7.8 (d, 2H benzylidene, J = 8.7 Hz), 8.23 (d, 2H benzylidene, J = 8.7 Hz), 11.89 (s, 1H NH). MS m/z (%): 373 (M⁺ 58), 294 (12.3), 106 (22.1), 89 (100), 77 (22.8). C₁₇H₁₂ClN₃O₃S

3.5.2. 5-(4-Benzoyloxy-benzylidene)-3-(4-nitro-benzyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-one (21)

Yield 71%. M.p. 209–211 °C. TLC. (n-hex.: AcOEt 50:50) R_f 0.6, IR cm⁻¹ (KBr): ν 3071, 2833, 1711, 1634, 1599, 1511, 1344, 1253, 1167, 734 cm⁻¹. ¹H NMR (δ ppm DMSO d₆): 4.67 (s, 2H NCH₂), 5.19 (s, 2H OCH₂), 6.72 (s, CH ethylenic), 7.1 (d, 2H benzyl, J = 9 Hz), 7.8 (d, 2H benzyl, J = 9 Hz), 8.1 (d, 2H benzylidene, J = 8.7 Hz), 8.21 (dd, 2H benzylidene, J = 6.9, 2.1 Hz), 11.73 (s, 1H NH). MS m/z (%): 445 (M⁺ 7.3), 106 (12.1), 91 (100), 77 (21.7). C₂₄H₁₉N₃O₅S

3.5.3. 5-(4-Dimethylamino-benzylidene)-3-(4-nitro-benzyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-one (22)

Yield 87%. M.p. 215–216 °C. TLC. (n-hex.: AcOEt 50:50) R_f 0.75. IR cm⁻¹ (KBr): ν 3067, 2807, 1695, 1586, 1530, 1372, 1345, 1167, 944, 819 cm⁻¹. ¹H NMR (δ ppm DMSO d₆): 3.02 (s, 6H N(CH₃)₂), 4.66 (s, 2H NCH₂), 6.67 (s, CH ethylenic), 6.76 (d, 2H benzyl, J = 9.3 Hz), 7.8 (d, 2H benzyl, J = 9 Hz), 7.98 (d, 2H benzylidene, J = 8.7 Hz), 8.23 (d, 2H benzylidene, J = 8.7 Hz), 11.63 (s, 1H NH). MS m/z (%): 382 (M⁺ 5.4), 246 (16.9), 169 (15.7), 106 (9.1), 89 (51.6), 78 (100), 63 (68.4). C₁₉H₁₈N₄O₃S

3.5.4. 5-(4-Methoxy-benzylidene)-3-(4-nitro-benzyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-one (23)

Yield 79%. M.p. 186–187 °C. TLC. (n-hex.: AcOEt 50:50) R_f 0.48. IR cm⁻¹ (KBr): ν 2992, 2832, 1701, 1634, 1597, 1510, 1345, 1255, 1172, 889 cm⁻¹. ¹H NMR (δ ppm DMSO d₆): 3.83 (s, 3H OCH₃), 4.68 (s, 2H NCH₂), 6.74 (s, CH ethylenic), 7.04 (d, 2H benzyl, J = 8.7 Hz), 7.81 (d, 2H benzyl, J = 8.7 Hz), 8.12 (d, 2H benzylidene, J = 8.7 Hz), 8.23 (dd, 2H benzylidene, J = 8.7 Hz), 11.77 (s, 1H NH). MS m/z (%): 369 (M⁺ 100), 233 (15.8), 174 (22.3), 146 (18.8), 106 (12.2), 89 (37.1), 77 (20.8). C₁₈H₁₅N₃O₅S

3.5.5. 5-(5-Bromo-2-methoxy-benzylidene)-3-(4-nitro-benzyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-one (24)

Yield 76%. M.p. 236–237 °C. TLC. (n-hex.: AcOEt 50:50) R_f 0.74. IR cm⁻¹ (KBr): ν 3070, 2832, 1717, 1633, 1520, 1508, 1350, 1254, 1188, 1027, 807 cm⁻¹. ¹H NMR (δ ppm DMSO d₆): 3.87 (s, 3H OCH₃), 4.66 (s, 2H NCH₂), 6.98 (s, CH ethylenic), 7.06 (d, 1H benzylidene, J = 9 Hz), 7.56 (dd, 1H benzylidene, J = 8.7, 2, 4 Hz), 7.84 (d, 2H benzyl, J = 8.4 Hz), 8.21 (d, 2H benzylidene, J = 8.4 Hz), 8.85 (d, 1H benzylidene, J = 2.1 Hz), 12 (s, H NH). MS m/z (%): 447 (M⁺ 20), 449 (30.3), 312 (7.7), 254 (9), 102 (14.2), 89 (52.2), 78 (100), 63 (44.5). C₁₈H₁₄BrN₃O₅S

ORIGINAL ARTICLES

3.5.6. 5-(1H-Indol-3-ylmethylene)-3-(4-nitro-benzyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-one (25)

Yield 68%. M.p. 228–230 °C. TLC. (n-hex:AcOEt 50:50) R_f 0.85. IR cm^{-1} (KBr): ν 3393, 3061, 1697, 1621, 1512, 1346, 1232, 949, 742 cm^{-1} . ^1H NMR (δ ppm DMSO d_6): 4.73 (s, 2H NCH_2), 7.13 (s, CH ethylenic), 7.12 (dt, 1H indolyl, $J = 7.8$ 1.5 Hz), 7.2 (dt, 1H indolyl, $J = 7.8$, 1.5 Hz), 7.47 (d, 1H indolyl, $J = 8.1$ Hz), 7.83 (d, 2H benzyl, $J = 9$ Hz), 8.08 (d, 1H indolyl, $J = 7.8$ Hz), 8.24 (d, 2H benzyl, $J = 8.7$ Hz), 8.37 (s, 1H indolyl), 11.88 (s, 1H NH). MS m/z (%): 378 (M^+ 16.8), 242 (12.9), 169 (30.3), 155 (30.3), 136 (16.1), 106 (32.9), 90 (39), 89 (63.9), 78 (100), 63 (57.4). $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$

3.6. 4-Acridin-9-ylmethylene-1-benzyl-5-thioxo-imidazolidin-2-ones: general procedure

3-Benzyl-4-thioxo-imidazolidin-2-one **29–30** (0.5 mmol) and 9-[ethyl-(2'-cyano)-acrylate]-acridine, **31**, (0.5 mmol) were dissolved in abs. ethanol (12 ml). The solution was refluxed for 2 h in the presence of a small amount of piperidine as a catalyst. The precipitate obtained was filtered and washed with water. The compounds isolated were of acceptable purity and were analysed without further recrystallization.

3.6.1. 4-Acridin-9-ylmethylene-1-(4-chloro-benzyl)-5-thioxo-imidazolidin-2-one (32)

Yield 89%. M.p. 265 dec. °C. TLC. (C_6H_6 :AcOEt 70:30) R_f 0.62. IR cm^{-1} (KBr): ν 2939, 2706, 1754, 1651, 1437, 1340, 1222, 1149, 737 cm^{-1} . ^1H NMR (δ ppm DMSO d_6): 5.08 (s, 2H NCH_2), 7.44 (s, 4H benzyl), 7.69 (s, CH ethylenic), 7.65 (dt, 2H acridinyl, $J = 7.2$ Hz), 7.88 (dt, 2H acridinyl, $J = 7.5$ Hz), 8.05 (d, 2H acridinyl, $J = 8.7$ Hz), 8.21 (d, 2H acridinyl, $J = 8.7$ Hz), 10.84 (s, 1H NH). MS m/z (%): 429 (M^+ 47.4), 428 (100), 397 (19.1), 304 (58.4), 229 (22.8), 218 (21.3), 125 (23.9). $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{ClN}_4\text{O}_3\text{S}$

3.6.2. 4-Acridin-9-ylmethylene-1-(4-nitro-benzyl)-5-thioxo-imidazolidin-2-one (33)

Yield 75%. M.p. 286–288 °C. TLC. (C_6H_6 :AcOEt 70:30) R_f 0.52. IR cm^{-1} (KBr): ν 2938, 2711, 1758, 1656, 1605, 1521, 1342, 1225, 1152, 757 cm^{-1} . ^1H NMR (δ ppm DMSO d_6): 5.23 (s, 2H NCH_2), 7.67 (d, 2H benzyl, $J = 9$ Hz), 8.24 (d, 2H benzyl, $J = 9$ Hz), 7.71 (s, CH ethylenic), 7.66 (dt, 2H acridinyl), 7.88 (dt, 2H acridinyl, $J = 7.5$, 1.2 Hz), 8.08 (d, 2H acridinyl, $J = 8.4$ Hz), 8.21 (d, 2H acridinyl, $J = 8.1$ Hz), 10.9 (s, 1H NH). MS m/z (%): 440 (M^+ 1.3), 353 (9.25), 301 (27.8), 229 (100), 203 (20.6), 192 (16.9). $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$

Acknowledgements: The authors thank the CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasil) and the CAPES/COFE-CUB (Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior/Comité Français d'Évaluation de la Coopération Universitaire avec le Brésil) for their support.

References

- Albuquerque JFC, Rocha Filho JA, Brandão SSF, Lima MCA, Ximenes EA, Galdino SL, Pitta IR, Chantegrel J, Perrissin M, Luu-Duc C (1999) Synthesis and antimicrobial activity of substituted imidazolidinediones and thioxoimidazolidinediones. *Farmaco* 54: 77–82.
- Albuquerque JF, Albuquerque A, Azevedo CC, Thomasson F, Galdino SL, Chantegrel J, Catanho MTJ, Pitta IR, Luu-Duc C (1995) Substituted thiazolidinediones and thio-imidazolidinones: synthesis, structural study and pharmacological activity. *Pharmazie* 50: 387–389.
- Andrade AMC, Lima WT, Rocha MPA, Lima MCA, Galdino SL, Barbosa Filho JM, Góes AJS, Pitta IR (2002) Synthesis and structural study of substituted thioxo thiazolidinones and thioxo imidazolidinones. *Boll Chim Farm* 141: 428–433.
- Brandão SSF, Guarda VL, Pitta IR, Chantegrel J, Perrissin M, Souza VM, Galdino SL, Thomasson F, Lima MCA, Leite LFCC, Luu-Duc C (2000) Synthèse et étude structurale des arylidèneimidazolidines et arylidène-benzothiazines. *Boll Chim Farm* 139: 54–58.
- Brandão SSF, Andrade AMC, Pereira DTM, Barbosa Filho JM, Lima MCA, Galdino SL, Pitta IR, Barbe J A novel way of synthesis of 1,3,5-trisubstituted-2-thioxoimidazolidinones. *Heterocycl Comm* (in press).
- De Simone CA, Pereira MA, Luu-Duc C, Pitta IR, Galdino SL, Menezes EHC, Zukerman-Schpector J. (1996) 3-Benzyl-5-(2-fluorobenzylidene)-imidazolidine-2,4-dione. *Acta Cryst C52*: 2771–2772.
- Duvall RH, Dewitt WB (1967) An improved perfusion technique for recovering adult schistosomes from laboratory animals. *Am J Trop Med Hyg* 16: 483–486.
- Finkbeiner H (1965) The carboxylation of hydantoins. *J Org Chem* 30: 3414–3419.
- Krapcho J, Turk CF (1973) 4-[3-(Dimethylamino)propyl]-3,4-dihydro-2-(hydroxyethyl)-3-phenyl-2H-1,4-benzothiazine and related compounds. A new class of antiinflammatory agents. *J Med Chem* 16: 776–779.
- Le Moal H, Carrie R, Foucaud A, Bargain M, Sevellec C (1966) Recherches sur la structure et les propriétés physicochimiques de composés à liaison éthyleniques activées. I-Synthèse et structure des esters α -cyano acryliques β,β disubstitués. *Bull Soc Chim France* 1033–1040.
- Lima MCA, Costa DLB, Góes AJS, Galdino SL, Pitta IR, Luu-Duc C. (1992) Synthèse et activité antimicrobienne de dérivés chlorobenzyl benzylidène imidazolidinediones et thiazolidinediones substituées. *Pharmazie* 47: 182–184.
- Malone RA (1977) The Pharmacological approach to natural product screening and evaluation. In: Warner H, Wolf P (eds): *New natural products and plant drugs With Pharmacological, Biological or Therapeutic Activity*. Springer Verlag, Berlin, p. 24–53.
- Mercer JG, Chapell LM (1985) *Schistosoma mansoni*: effect of maintenance *in vitro* on the physiology and biochemistry of adult worms. *Parasitology* 90: 339–349.
- Mosher MD, Natale NR (1995) The preparation of intercalating isoxazoles via a nitrile oxide cycloaddition. *J Heterocycl Chem* 32: 779–781.
- Robinson CH, Bueding E, Fisher J (1970) Relationship between structure, conformation, and antischistosomal activity of nitroheterocyclic compounds. *Mol Pharmacol* 6: 604–616.
- Romley GL, Greenleaf AL, Kenyon GL (1971) On the specificity of creatine kinase. New glycosaminates and glycosamine analogs related to creatine. *J Amer Chem Soc* 93: 5542–5551.
- Silva TG, Barbosa FSV, Brandão SSF, Lima MCA, Leite LFCC, Galdino SL, Pitta IR, Barbe J (2001) Synthesis and structural elucidation of new benzylidene imidazolidines and acridinylidene thiazolidines. *Heterocycl Comm* 7: 523–528.
- Tsuge O, Nishinohara M, Tashiro M (1963) Compounds related to acridine I-Condensation of acridine derivatives having active methyl group and aromatic nitroso compounds. *Bull Chem Soc Japan* 44: 1477–1485.
- Valls N, Segarra VM, Alcalde E, Marin A, Elguero J (1985) Synthesis, spectroscopy and tautomeric study of thiazoles substituted in position 2 and 4 by hydroxy, marcapto and amino groups. *J Prakt Chem* 327: 251–260.
- Waruiri RM (1992) Autoradiographic quantification of the efficacy of nitridazole in mice infected with 75Se-labelled cercariae of *Schistosoma mansoni*. *Veterin Parasitol* 43: 75–83.

A Resposta do *Schistosoma mansoni* Mantido *In Vitro* frente a Derivados Imidazolidinônicos

Silvânia M. OLIVEIRA ¹, Mônica C.P.A. ALBUQUERQUE ², Maira G.R. PITTA ³,
 Elisabeth MALAGUEÑO ^{3,4}, José V. SANTANA ^{3,5}, Maria do Carmo A. LIMA ¹,
 Ivan R. PITTA ¹ & Suely L. GALDINO ^{1*}

¹ Departamento de Antibióticos, ² Departamento de Medicina Tropical,

³ Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, ⁴ Departamento de Ciências Farmacêuticas,

⁵ Departamento de Biofísica. Universidade Federal de Pernambuco. 50670-901. Recife, PE

RESUMO. Doenças tropicais afetam centenas de milhões de pessoas impedindo o desenvolvimento social e econômico nos países mais pobres. Ferramentas (por exemplo drogas, vacinas, diagnósticos) e estratégias para controlar as doenças tropicais frequentemente não surtem efeitos devido a dificuldades na implementação ou esbarram no desenvolvimento de resistência de droga. Na procura de novos compostos esquistossomicidas, o trabalho presente descreve a síntese, estrutura e atividade esquistossomicida dos quimioterápicos (Z)-3-benzil-5-benzilideno-imidazolidina-2,4-dionas, (Z)-3-benzil-5-benzilideno-2-tioxo-imidazolidin-4-onas e (Z)-5-benzilideno-3-(2-oxo-2-fenil-etil)-2-tioxo-imidazolidin-4-onas apresentando substituintes diferentes em posição para dos anéis aromáticos. Este estudo mostrou que entre os derivados testados o composto (Z)-3-(4-cloro-benzil)-5-(4-nitro-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona, apresentando um substituinte nitro no radical benzilideno, foi o que apresentou melhor atividade esquistossomicida *in vitro*.

SUMMARY. "Behavior of *Schistosoma mansoni* Adult Worms maintained *in vitro* against Imidazolidinone Derivatives". Tropical diseases affect hundreds of millions people, most of whom are poor. They impede social and economic development in the poorest countries, and cause untold suffering to those affected. Tools (e.g. drugs, vaccines, diagnostics) and strategies to control tropical diseases often fail due to difficulties in implementation or development of drug resistance, for example. Research is needed to generate new knowledge, and to develop new and improved tools, methods and strategies for disease control. In the search for compounds with schistosomicidal activity, the present work describes the synthesis, structural and chemotherapeutic investigations of (Z)-3-benzyl-5-benzylidene-imidazolidine-2,4-dione or (Z)-3-benzyl-5-benzylidene-2-thioxo-imidazolidin-4-one or (Z)-5-benzylidene-3-(2-oxo-2-phenyl-ethyl)-2-thioxo-imidazolidin-4-one derivatives with different substituents in position para of the phenyl rings. This study clearly showed that among the tested compounds the (Z)-3-(4-chloro-benzyl)-5-(4-nitro-benzylidene)-imidazolidine-2,4-dione, a nitro derivative on benzylidene, was more active than chloro, bromo and unsubstituted compounds in producing mortality of *Schistosoma mansoni* adult worms maintained *in vitro*.

INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma infecção parasitária causada por espécies de vermes trematódeos, cujo hospedeiro definitivo é o homem. A doença acomete cerca de 200 milhões de pessoas das regiões tropicais e subtropicais da Terra. Sua distribuição é determinada pela espécie, as quais provocam diferentes formas clínicas da doença. A esquistossomose intestinal, geralmente causada pelo *S. mansoni*, é endêmica em várias partes da África, América do Sul e Mediterrâneo oriental. Os vermes adultos, os quais não se multiplicam no corpo humano, desenvolvem-se nas veias mesentéricas e portais. As sequelas da doença são causadas predominantemente

pelos ovos, muitos dos quais são excretados nas fezes, mas uma boa quantidade penetra no fígado e no intestino grosso, induzindo a formação de granulomas e reações fibróticas. A infecção severa crônica pode resultar em hipertensão portal caracterizada por hepato-esplenomegalia, varizes esofágicas e ascite. Pela inexistência de vacinas e de ações eficazes em saúde pública, as drogas são as principais ferramentas no controle da esquistossomose.

A quimioterapia "moderna" contra esquistossomose iniciou-se em 1918, quando acidentalmente, constatou-se o primeiro tratamento com êxito da doença utilizando tartarato de antimônio e potássio ¹. Esta droga foi usada até a Se-

PALAVRAS CHAVES: Imidazolidinonas, *Schistosoma mansoni*, Susceptibilidade *in vitro*.

KEY WORDS: Imidazolidinones, *Schistosoma mansoni*, Schistosomicidal activity *in vitro*.

* Autor a quem a correspondência deverá ser enviada: E-mail: suelygaldino@aol.com

gunda Guerra Mundial, época em que a luncantona foi introduzida na clínica. Um período de intenso progresso ocorreu na década de 1960 com a introdução da emetina, niridazol, hincantona, oxamniquina e metrifonato. Este período culminou em 1977, com a síntese do praziquantel, atualmente droga de escolha no tratamento da esquistossomose. Apesar do importante passo dado há mais de duas décadas no tratamento clínico da esquistossomose, na ocasião da introdução na terapêutica do praziquantel, ainda hoje no mundo, das 200 milhões de pessoas infectadas, 120 milhões são sintomáticas e 20 milhões desenvolvem a forma grave da doença, ressaltando as 600 milhões que se encontram em situação de risco ². Além do praziquantel, a outra alternativa disponível na quimioterapia da esquistossomose e recomendada pela WHO é a oxamniquina ³. Infelizmente, como anteriormente relatado, estas duas drogas, entre outras ainda utilizadas em alguns países, além dos efeitos secundários indesejáveis apresentados, não atendem às expectativas quando se almeja o controle da esquistossomose a nível de populações.

Pela comprovada eficácia do praziquantel, como consequência da sua utilização indiscriminada e praticamente exclusiva na maioria das áreas endêmicas, dois potenciais perigos têm surgido: primeiro, a possibilidade de que pesquisas envolvendo novas drogas sejam interrompidas ou nem mesmo iniciadas, provocando inclusive o desinteresse de centros de pesquisas e das companhias farmacêuticas em desenvolverem novos medicamentos. O segundo, após o pioneiro relato de resistência a uma droga esquistossomocida apresentado por Rogers e Bueding em 1971 ⁴, a possibilidade de ocorrer a emergência de cepas de *Schistosoma* praziquantel- e oxamniquina-resistentes ^{5,9}.

A quimioterapia representa hoje o único recurso imediato para minimizar a prevalência e a incidência da esquistossomose no mundo ¹⁰. Em busca de novos agentes ativos na esquistossomose, o niridazol, ainda utilizado em vários países no tratamento da doença causada pelo *S. hematobium*, apresenta-se como protótipo pela presença do anel imidazolidinônico, o qual confere, além da atividade anti-helmíntica, outras propriedades biológicas. A atividade esquistossomocida demonstrada pelas imidazolidinonas e de análogos estruturais norteiam as investigações na busca de novas drogas que apresentem maior seletividade pelos alvos celulares do *S. mansoni*. A preparação e avaliação da atividade esquistossomocida de novos heterociclos pentagonais imidazolidinônicos certamente con-

tribuirá no desenvolvimento de novas drogas contra esse parasito humano.

MATERIAL E MÉTODOS

Parte Química

Os compostos imidazolidinônicos estudados foram sintetizados mediante a utilização de duas diferentes vias de síntese. Os derivados 3-5, foram preparados pela alquilação do anel imidazolidinônico utilizando-se o cloreto de 4-clorobenzila ¹¹, seguido da condensação tipo Knoevenagel com benzaldeídos clorado e nitrado ¹². As tioxo-imidazolidinonas 15-21 foram obtidas através de uma reação de adição nucleofílica tipo Michael, utilizando-se ésteres 2-ciano-3-fenilacrilatos de etila, seguido da alquilação com os cloro-metil-benzeno ou os 2-cloro-1-fenil-etanos correspondentes (Figura 1, Tabela 1).

Teoricamente as imidazolidinonas em estudo podem existir sob duas formas diastereoisoméricas, porém as moléculas isoladas apresentaram-se isomericamente puras. Adicionalmente, a configuração *Z* foi comprovada através de estudos cristalográficos realizados com análogos estruturais ¹³⁻¹⁴. Estudos usando espectrometria acoplada de RMN ¹³C-H, através da determinação da constante de acoplamento ³*J*_{CH} entre o próton etilênico e o átomo de carbono localizado em posição α da dupla ligação exocíclica também sugere a configuração *Z* como a mais estável ¹⁵.

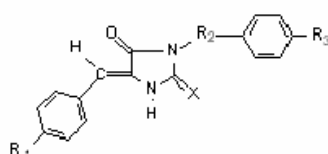
Os pontos de fusão foram determinados em tubo capilar em aparelho Buchi (ou Quimis). As cromatografias em camada delgada foram realizadas em placas de sílica gel Merck 60 F254. Os espectros de infravermelho foram obtidos em pastilhas de KBr a 1% no aparelho FTIR Bruker modelo IFS66. As análises de RMN ¹H foram realizadas nos aparelhos Bruker AC 300 P para os compostos 7,11,14,18; Bruker AC 200 FT para 19-21 e Varian Mercury de 200 MHz para 15-17, todos utilizando o DMSO-d₆ como solvente.

Os espectros de massas foram registrados sobre impacto eletrônico a 70 eV em espectrômetro Delsi-Nemag R 1010 C para os compostos 14,19-21, ou ainda no espectrômetro HP G1019A para 7,11,15-17. A intensidade dos picos moleculares estão em relação com o pico mais intenso M⁺(%). Os fragmentos observados e os picos dos isótopos estão de acordo com as estruturas propostas.

As características químicas e físico-químicas dos derivados 2-5 ¹², 8-10 ¹⁵ e 12,13 ¹⁷ não são mencionadas neste trabalho.

3-(4-bromo-fenil)-2-ciano-acrilato de etila 7

Uma mistura equimolar (23 mMol) de aldeí-



Composto	R ₁	X	R ₂	R ₃
3	H	O	CH ₂	Cl
4	Cl	O	CH ₂	Cl
5	NO ₂	O	CH ₂	Cl
15	Br	S	CH ₂	NO ₂
16	Br	S	CH ₂	Cl
17	Br	S	CH ₂ CO	NO ₂
18	Br	S	CH ₂ CO	Cl

Tabela 1. Estrutura dos derivados imidazolidinônicos.

do e cianacetato de etila dissolvida em benzeno (20 mL) na presença de piperidina (3 gotas) foi aquecida à 110-120°C por 4-7 h. Após resfriamento o produto precipitado foi recristalizado no etanol.

C₁₂H₁₀BrNO₂. Rendimento, 96%. F, 77-79 °C. TLC, C₆H₆: AcOEt (80:20) R_f 0.74. IR cm⁻¹ (KBr): ν 2988, 2222, 1724, 1611, 1582, 1269, 1203, 1068, 1010, 828. RMN ¹H (δ ppm DMSO d₆): 1.30 (t, 3H CH₃, J = 7.2Hz), 4.32 (q, CH₂, J=7.2Hz), 7.81 (d, 2H Ar, J=9Hz), 7.97 (d, 2H Ar, J=8.7Hz), 8.37 (s, CH etilênico). MS m/z(%): 279(M⁺ 100), 281(82.1), 236(4.9), 200(15.2), 127(4.7).

5-Arilideno-2-tioxo-imidazolidin-4-onas.

Procedimento geral

Uma mistura equimolar (4,3 mMol) de 2-tioxo-imidazolidin-4-ona, **6** (0,5g) e 3-aryl-2-ciano-acrilato de etila **7,10** dissolvida em etanol (10 mL) na presença de piperidina (250 µL) foi aquecida a 80-90 °C por 6-8 h. Após resfriamento, o produto precipitado foi recristalizado no etanol.

5-(4-bromo-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona **11**

C₁₀H₇BrN₂OS. Rendimento, 96%. F, 288-289 °C. TLC, n-hex.: AcOEt (80:20) R_f 0,58. IR cm⁻¹ (KBr): ν 3274, 1730, 1649, 1501, 1477, 1352, 1190, 1089, 815, 669. RMN ¹H (δ ppm DMSO d₆): 6.46 (s, CH etilênico), 7.61 (d, 2H benzilideno, J=8.7Hz), 7.7 (d, 2H benzilideno, J=8.7Hz), 12.23, 12.41 (sl, 2H NH). MS m/z (%): 282 (M⁺ 100), 284(91), 195(37.2), 197(50), 117(28.9), 90(28.3).

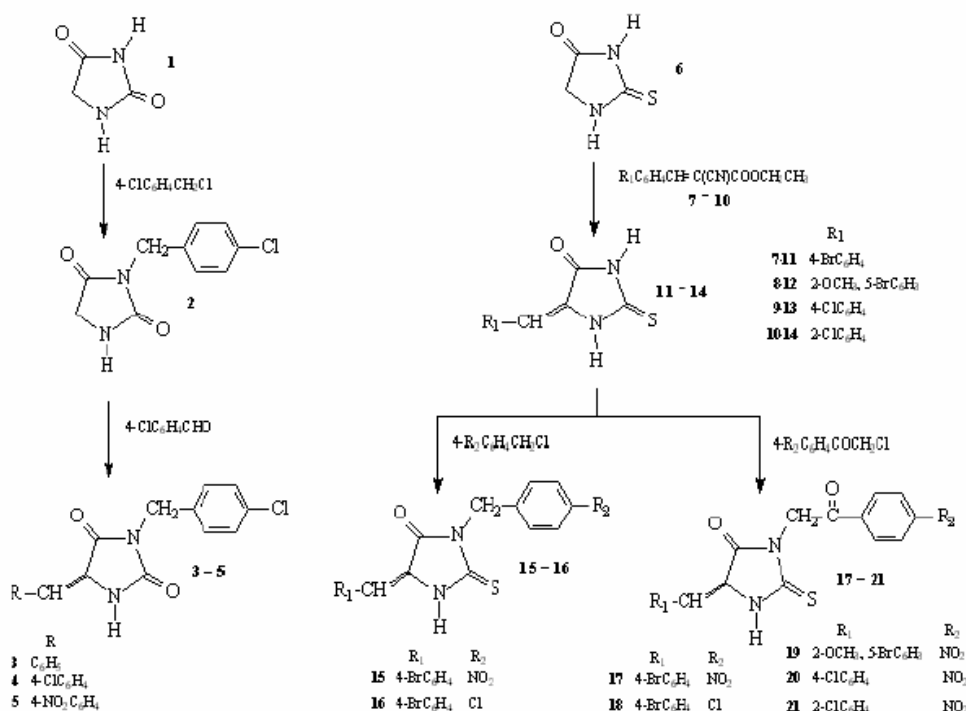


Figura 1. Esquema reacional.

5-(2-cloro-benzilideno)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona 14

$C_{10}H_7ClN_2OS$. Rendimento, 57%. F, 230-232 °C. TLC, *n*-hex.: AcOEt (70:30) R_f 0,57. IR cm^{-1} (KBr): ν 3140, 1729, 1666, 1522, 1381, 1195, 1051, 739. RMN 1H (δ ppm DMSO d_6): 6.58 (s, CH etilênico), 7.37-7.43 (m, 2H benzilideno), 7.52-7.56 (m, 1H benzilideno), 7.8-7.83 (m, 1H benzilideno), 12.3, 12.48 (sl, 2H NH). MS m/z (%): 238(M^+ 44.2), 203(97.3), 151(17.9), 115(100), 107(20.3), 89(37.7).

5-Arilideno-3-(4-benzil ou fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-onas. Procedimento geral

Uma solução do derivado 5-benzilideno 2-tioxo-imidazolidin-4-ona **11-14**, (0,4 mMol), carbonato de potássio (0,48 mMol) em etanol (2 mL) foi agitada por 1h na temperatura ambiente. Adiciona-se o cloro de benzila ou fenacila (0,4 mMol) e mantém-se a agitação por 18-24 h. Após resfriamento em banho de gelo, o produto precipitado foi lavado com *n*-hexano, tolueno e água.

5-(4-bromo-benzilideno)-3-(4-nitro-benzil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona 15

$C_{17}H_{12}BrN_3O_3S$. Rendimento, 89%. F, 201-203 °C. TLC, *n*-hex.: AcOEt (70:30) R_f 0,45. IR cm^{-1} (KBr): ν 3077, 1717, 1632, 1582, 1516, 1347, 1172, 886, 713 cm^{-1} . RMN 1H (δ ppm DMSO d_6): 4.66 (s, 2H NCH_2), 6.68 (s, CH etilênico), 7.78 (d, 2H benzil, $J=8.8Hz$), 8.22 (d, 2H benzil, $J=8.8Hz$), 7.65 (d, 2H benzilideno, $J=8.6Hz$), 8.07 (d, 2H benzilideno, $J=8.6 Hz$), (1H NH) não detectado. MS m/z (%): 417(M^+ 62.5), 419(63.3), 305(26.1), 195(21.2), 161(100), 115(25.6), 89(47.9).

5-(4-bromo-benzilideno)-3-(4-cloro-benzil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona 16

$C_{17}H_{12}BrClN_2OS$. Rendimento, 76%. F, 216-218 °C. TLC, *n*-hex.: AcOEt (70:30) R_f 0,62. IR cm^{-1} (KBr): ν 3076, 1716, 1684, 1632, 1582, 1502, 1410, 1170, 813 cm^{-1} . RMN 1H (δ ppm DMSO d_6): 4.54 (s, 2H NCH_2), 6.72 (s, CH etilênico), 7.41 (d, 2H benzil, $J=8.4Hz$), 7.53 (d, 2H benzil, $J=8.4 Hz$), 7.65 (d, 2H benzilideno, $J=8.6Hz$), 8.11 (d, 2H benzilideno, $J=8.6Hz$), (1H NH) não detectado. MS m/z (%): 406(M^+ 13.6), 408(16.7), 282(5), 284(5.2), 161(8.5), 127(31.2), 125(100), 89(13.4).

5-(4-bromo-benzilideno)-3-(4-nitro-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona 17

$C_{18}H_{12}BrN_3O_4S$. Rendimento, 76%. F, 220-221 °C. TLC, *n*-hex.: AcOEt (50:50) R_f 0,64. IR cm^{-1} (KBr): ν 3081, 1701, 1629, 1495, 1407, 1381, 1346, 1185, 823 cm^{-1} . RMN 1H (δ ppm DMSO d_6): 5.0 (s, 2H NCH_2), 7.56 (s, CH etilênico), 8.32 (d, 2H fenacil, $J=8.6Hz$), 8.43 (d, 2H fenacil, $J=8.8Hz$), 7.17 (d, 2H benzilideno, $J=8.6 Hz$), 7.75 (d, 2H benzilideno, $J=8.4Hz$), (1H NH) não detectado. MS m/z (%): 445(M^+ 0.2), 282(37.1), 284(35.7), 266(30.4), 268(29.1), 197(37.5), 196(100), 150(37.3), 116(38.7), 89(56.3).

5-(4-bromo-benzilideno)-3-(4-cloro-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona 18

$C_{18}H_{12}BrClN_2O_2S$. Rendimento, 46%. F, 208-211 °C. TLC, *n*-hex.: AcOEt (70:30) R_f 0,24. IR cm^{-1} (KBr): ν 3088, 1713, 1691, 1634, 1506, 1180, 821 cm^{-1} . RMN 1H (δ ppm DMSO d_6): 4.92 (s, 2H NCH_2), 6.64 (s, CH etilênico), 7.72 (d, 2H fenacil, $J=8.7Hz$), 8.15 (d, 2H fenacil, $J=8.4Hz$), 7.18 (d, 2H benzilideno, $J=8.4Hz$), 7.75 (d, 2H benzilideno, $J=8.4Hz$), (1H NH) não detectado. MS m/z (%): 434 (M^+ 1.1), 139 (42.1), 111 (16.4), 93 (28.5), 91 (25), 67 (18.2), 51 (47.5), 41 (60.6), 39 (100).

5-(2-metoxi-5-bromo-benzilideno)-3-(4-nitro-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona 19

$C_{19}H_{14}BrN_3O_5S$. Rendimento, 63%. F, 200-202 °C. TLC, *n*-hex.: AcOEt (80:20) R_f 0,5. IR cm^{-1} (KBr): ν 3064, 1718, 1696, 1630, 1505, 1345, 1279, 1249, 1180, 1025, 846 cm^{-1} . RMN 1H (δ ppm DMSO d_6): 5.1 (s, 2H NCH_2), 6.93 (s, CH etilênico), 8.29 (d, 2H fenacil, $J=8.7Hz$), 8.37 (d, 2H fenacil, $J=8.8Hz$), 6.97 (d, 1H benzilideno, $J=9.1Hz$), 7.4 (dd, 1H benzilideno, $J=8.9, 2.4Hz$), 8.5 (d, 1H benzilideno, $J=2.3Hz$), 11.95 (sl, 1H NH). MS m/z (%): 475 (M^+ 20), 313 (72.2), 311 (67.7), 257 (41.9), 255 (100), 223(28.4), 150 (41.3), 120 (32.2), 103 (48.4).

5-(4-cloro-benzilideno)-3-(4-nitro-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona 20

$C_{18}H_{12}ClN_3O_4S$. Rendimento, 15%. F, 158-160 °C. TLC, *n*-hex.: AcOEt (50:50) R_f 0,63. IR cm^{-1} (KBr): ν 3345, 3105, 1718, 1631, 1506, 1347, 1172, 1085, 847 cm^{-1} . RMN 1H (δ ppm DMSO d_6): 5.02 (s, 2H NCH_2), 6.69 (s, CH etilênico), 8.33 (d, 2H fenacil, $J=8.4Hz$), 8.43 (d, 2H fenacil, $J=8.4Hz$), 7.08 (d, 2H benzilideno, $J=8.1Hz$), 7.86 (d, 2H benzilideno, $J=8.1Hz$), 11.92 (sl, 1H NH). MS m/z (%): 401(M^+ 6), 369(4.9), 151(42.1), 150(95.9), 104(56.5), 76(65.6), 64(100).

5-(2-cloro-benzilideno)-3-(4-nitro-fenacil)-2-tioxo-imidazolidin-4-ona 21

$C_{18}H_{12}ClN_3O_4S$. Rendimento, 54%. F, 171-173 °C. TLC, *n*-hex.: AcOEt (60:40) R_f 0,66. IR cm^{-1} (KBr): ν 3061, 1708, 1696, 1623, 1522, 1428, 1345, 1288, 1181, 844, 776 cm^{-1} . RMN 1H (δ ppm DMSO d_6): 5.01 (s, 2H NCH_2), 6.91 (s, CH etilênico), 8.3 (d, 2H fenacil, $J=8.6Hz$), 8.39 (d, 2H fenacil, $J=8.8Hz$), 6.7-6.77 (m, 1H benzilideno), 7.18-7.26 (m, 1H benzilideno), 7.43 (d, 1H benzilideno, $J=7.8 Hz$), 8.27 (d, 1H benzilideno, $J=6.5Hz$), 12.03 (sl, 1H NH). MS m/z (%): 401(M^+ 0.4), 334(3.4), 150(39.2), 104(43.8), 89(35.8), 76(68.4), 64(100).

Parte Biológica**Susceptibilidade *in vivo* do *S. mansoni* frente à 3-(4-cloro-benzil)-5-(4-nitro-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona 5**

Nos ensaios *in vivo* para avaliação da atividade esquistossomocida de drogas utiliza-se camundongos infectados com *S. mansoni* (cepa

BH-Belo Horizonte, Brasil) e verifica-se a alteração do oograma, estudo que avalia o desenvolvimento dos ovos de *S. mansoni* encontrados na parede intestinal distal do hospedeiro, sob a ação dessas drogas. A susceptibilidade do *S. mansoni* é então avaliada pela presença de animais com alteração de oograma: é considerado alterado quando estiverem ausentes um ou mais dos estádios correspondentes a ovos imaturos¹⁸⁻²⁰.

Susceptibilidade in vitro do S. mansoni frente a derivados imidazolidinônicos

A susceptibilidade de vermes adultos de *S. mansoni*, mantidos *in vitro* em meio de cultura RPMI 1640 enriquecido, frente à drogas é avaliada quanto a sua atividade motora, alterações no tegumento e taxa de mortalidade^{21,22}. Após remoção dos vermes adultos de camundongos, os mesmos são lavados no meio e, em seguida, em duplas, são transferidos para placas estéreis de 35 mm de diâmetro contendo 2mL de meio e incubados a 37 °C, em atmosfera úmida contendo 5% de CO₂. Após um período de 2 h de adaptação, adicionam-se as drogas em concentrações variadas. São realizadas triplicatas para cada concentração utilizada. Os parasitos são mantidos durante 15 dias sendo monitorados a cada 24 h para avaliação do seu estado geral.

RESULTADOS

Na avaliação da susceptibilidade *in vivo* do *S. mansoni* frente à 3-(4-cloro-benzil)-5-(4-nitro-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona **5** foram utilizadas concentrações de 50 mg/kg, administrada em dose única, pelas vias oral (VO) e intraperitoneal (IP), e de 10 mg/kg de peso corporal, administrada cinco vezes a cada 24 h, pelas mesmas vias. Os resultados obtidos, expressos em percentagem de ovos inviáveis contidos em 1 g de fragmento intestinal de camundongos fêmeas, após 15 dias de tratamento com este derivado **5**, encontram-se na Tabela 2.

Os resultados relativos à viabilidade de ovos de *S. mansoni* analisados em fragmento da porção distal do intestino grosso de camundon-

gos fêmeas demonstraram, nos grupos controles, que a percentagem de ovos viáveis foi maior do que a de ovos inviáveis, indicando uma predominância das formas imaturas e maduras viáveis e, portanto, capazes de manter a evolução parasitária. Quando submetidos ao tratamento com **5** os resultados mostraram-se inversos. A inviabilidade dos ovos, somada a ausência de uma das fases evolutivas dos estádios imaturos viáveis, demonstrou o efeito biológico do composto testado. O grupo tratado por via IP, em cinco doses consecutivas de 10 mg/Kg, teve um acréscimo de 69% de ovos inviáveis. Quando a mesma via foi empregada com a dose única de 50 mg/Kg, observou-se um aumento de apenas de 4%, quando comparado ao controle. O tratamento por VO apresentou um aumento de inviabilidade de 56 e de 30%, respectivamente para as dose de 5x10 e de 50 mg/Kg. O esquema terapêutico em 5 doses diárias de 10 mg/Kg evidenciou ser mais efetivo em inviabilizar os ovos de *S. mansoni*.

A susceptibilidade do *S. mansoni* mantidos *in vitro* frente a derivados imidazolidinônicos, na dose de 120 µg/mL, foi observada a cada 24 h durante 15 dias. Os vermes controles foram mantidos em meio de cultura acrescido de DM-SO (1,5%), solvente utilizado para dissolução das drogas. As percentagens de mortalidade de vermes adultos ao final de 15 dias são mostrados na Tabela 3.

O composto **5**, nitro substituído no anel benzilidênico, mostrou-se o mais ativo entre os compostos ensaiados, causando o efeito máximo em 12 dias. Enquanto que o derivado **3** não substituído neste mesmo anel, não causou efeitos deletérios nos vermes adultos de *S. mansoni*, embora tenha provocado acentuada redução na motilidade. A substituição do grupo nitro do composto **5** pelo átomo de cloro provocou uma diminuição da susceptibilidade, ocasionando uma mortalidade de 24,32% em **4**.

Os ensaios realizados com a série substituída no nitrogênio em posição 3 do anel 2-tioxi-imidazolidin-4-ona por radicais benzila ou fenacila

	IP		IP mg/Kg		VO		VO mg/Kg	
	Controle	5x10	50		Controle	5x10	50	
Percentagem de ovos não viáveis por grama de fragmento intestinal	18	41	87	45	23	36	79	66

Tabela 2. Percentagem de ovos em 1g de fragmento intestinal de camundongos fêmeas sob ação da imidazolidina **5**, na dose única de 50 mg/Kg e na dose de 10 mg/Kg, a cada 24 horas durante cinco dias e administrada pelas vias oral (VO) e intraperitoneal (IP).

Composto	% Mortalidade
3	0
4	24,32
5	100
15	0
16	82,50
17	31,11
18	0

Tabela 3. Susceptibilidade de vermes adultos de *S. mansoni* mantidos *in vitro* frente a derivados imidazolidinônicos na dose de 120 µg/mL, durante 15 dias.

e em posição 5 por um radical *para*-bromo-benzilideno, demonstraram que o tratamento com o derivado 16 provocou a mortalidade de 82,50% dos vermes. Neste composto, quando comparado ao 15, inversamente ao que aconteceu com a série 3-benzil-5-benzilideno-imidazolidina-2,4-dionas, a substituição do átomo de cloro pelo grupo nitro anulou a atividade do composto 15 frente ao *S. mansoni*. Por sua vez, 31,11% dos vermes mostraram-se sensíveis ao composto 17, derivado *para*-nitro substituído. O derivado 18 não apresentou atividade frente a *S. mansoni* mantidos *in vitro*. O grupo controle permaneceu viável durante os 15 dias de ensaio. Exame em microscópico invertido (60x) mostrou que todas as drogas causaram danos na superfície nos vermes, observando-se a presença de vesículas no tegumento semelhantes às citadas por Shaw e Erasmus²³. Este efeito foi dependente do tempo de exposição.

CONCLUSÕES

O grupo nitro é considerado parasitofórico devido a sua indispensável, ou no mínimo favorável, contribuição para a atividade antiparasitária de um grande número de nitro-derivados, notadamente furanos, tiofenos, tiazóis e imidazóis. A presença deste grupo em derivados imidazolidina-2,4-dionas conferiu melhor atividade esquistossomocida, como observado no composto 5. Os parasitas mostraram-se menos sensíveis aos derivados 2-tioxo-imidazolidinonas, nos quais procedeu-se a substituição do carbonila em posição 2 do anel heterocíclico pelo grupamento tioxo. Os efeitos causados pelos derivados imidazolidinônicos *in vitro* sobre a integridade do tegumento e viabilidade de vermes adultos de *S. mansoni*, assim como a interrupção da oviposição pelo oograma mostrando ausência de um dos estádios evolutivos, estimulam as pesquisas para síntese e avaliação biológica de novas moléculas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Christopherson, J.B. (1918) *Lancet* 2: 325-7.
2. Capron, A. (1998) *Parasitology Today* 14: 379-84.
3. WHO Drug Information, Model List of Essential Drugs (EDL), 11th edition (1999) 13: 249-62.
4. Rogers, S.H. & E. Bueding (1971) *Science* 172: 1057-8.
5. Danso-Appiah, A. & S.J. De Vlas (2002) *Trends Parasitol.* 18: 125-9.
6. Cioli, D. (2000) *Curr. Opin. Infect. Dis.* 13: 659-63.
7. Coles, G.C., Y.S. Liang & M.J. Doenhoff (2001) *Emerg. Infect. Dis.* 7: 1069-70.
8. Grover, J.K., V.Vats, G. Uppal & S. Yadav (2001) *Trop. Gastroenterol.* 22: 180-9.
9. Morgan, J.A., R.J. Dejong, S.D. Snyder, G.M. Mkoji & E.S. Loker (2001) *Parasitology* 123 Suppl:S: 211-2.
10. Cioli, D., L. Pica-Mattoccia & S. Archer (1995) *Pharmac. Ther.* 68: 35-85.
11. Finkbeiner H. (1965) *J. Org. Chem.* 30: 3414-9.
12. Goes, A.J.S., M.C.A. Lima, S.L. Galdino, I.R. Pitta & C. Luu-Duc (1991) *Ann. Pharm. Fr.* 49: 92-8.
13. De Simone, C.A., J. Zukerman-Schpector, C. Luu-Duc, I.R. Pitta, S.L. Galdino & E.L.C. Amorim (1995) *Acta Cryst.* C51: 2620-1.
14. De Simone, C.A., M.A. Pereira, C. Luu-Duc, I.R. Pitta, S.L. Galdino, E.H.C. Menezes & J. Zukerman-Schpector (1996) *Acta Cryst.* C52: 2771-2.
15. Silva T.G., F.S.V. Barbosa, S.S.F. Brandão, M.C.A. Lima, L.F.C.C. Leite, Galdino S.L., I.R. Pitta & J. Barbe (2001) *Heterocyclic Communications* 7: 523-8.
16. Pellegrino, J. & J. Faria (1965) *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 14: 363-9.
17. S.S.F. Brandao, A.M.C.Andrade, D.T.M.Pereira, J.M.Barbosa Filho, M.C.A.Lima, S.L.Galdino, I.R.Pitta & J. Barbe *Org. Prep. Proced. Int.* (in presse)
18. Katz, N., J. Pellegrino & J.M. Pompeu-Memória (1966) *J. Parasitol.* 52: 917-9.
19. Katz, N. & J. Pellegrino (1973) *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo* 16: 245-52.
20. Coelho, P.M.Z. & L.H. Pereira (1991) *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* 33: 50-7.
21. Badr, S.G.E., L. Pica-Mattoccia, R. Moroni, M. Angelico & D. Cioli (1999) *Parasitol. Res.* 85: 421-3.
22. Barth, L.R., A.P.M. Fernandes, J.T. Ribeiro-Paes & V. Rodrigues (1996) *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo* 92: 427-9.
23. Shaw, M.K. & D.A. Erasmus (1977) *Parasitology* 75: 101-9.