



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA**  
**TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA**

**MORGANA ELIAS ARANTES**

---

**Reposicionamento *in silico* de novos fármacos contra o**  
***Schistosoma mansoni***

---

**Goiânia**

**2016**

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS  
TESES E  
DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

**1. Identificação do material bibliográfico:**      ☒ Dissertação      ☐ Tese

**2. Identificação da Tese ou Dissertação**

Nome completo do autor: Morgana Elias Arantes

Título do trabalho: Reposicionamento *in silico* de novos fármacos contra o *Schistosoma mansoni*

**3. Informações de acesso ao documento:**

Concorda com a liberação total do documento ☒ SIM      ☐ NÃO<sup>1</sup>

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.



---

Assinatura do (a) autor (a)

Data: 25 / 08 / 2016

---

<sup>1</sup> Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

**MORGANA ELIAS ARANTES**

---

---

**Reposicionamento *in silico* de novos fármacos contra o  
*Schistosoma mansoni***

---

---

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Medicina Tropical e Saúde Pública.

Orientador: Profº. Dr. José Cleildo Barreto Bezerra  
Co-orientadora: Profª Dra. Carolina Horta Andrade

**Goiânia**

**2016**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob orientação do Sibi/UFG.

Arantes, Morgana Elias

Reposicionamento in silico de novos fármacos contra o  
*Schistosoma mansoni* [manuscrito] / Morgana Elias Arantes. - 2016.  
LXXXV, 85 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. José Clecildo Barreto Bezerra; co-orientadora  
Dra. Carolina Horta de Andrade.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de  
Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) , Programa de Pós  
Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública, Goiânia, 2016.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, mapas, fotografias, abreviaturas, símbolos, gráfico,  
tabelas, algoritmos, lista de figuras, lista de tabelas.

1. controle. 2. *Schistosoma mansoni*. 3. reposicionamento de  
fármacos. 4. bioinformática. I. Bezerra, José Clecildo Barreto,  
orient. II. Andrade, Carolina Horta de, co-orient. III. Título.



**ATA DA REUNIÃO DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MORGANA ELIAS ARANTES** - Aos catorze dias do mês de março do ano de 2016 (14/03/2016), às 14:00 horas, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora: Profs. Drs. CAROLINA HORTA ANDRADE, PEDRO VITOR LEMOS CRAVO e RODOLPHO DE CAMPOS BRAGA, para, sob a presidência da primeira, e em sessão pública realizada no INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA, procederem à avaliação da defesa de dissertação intitulada: **“REPOSICIONAMENTO IN SILICO DE NOVOS FÁRMACOS CONTRA O *Schistosoma mansoni*”**, em nível de **MESTRADO**, área de concentração em **PARASITOLOGIA**, de autoria de **MORGANA ELIAS ARANTES**, discente do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA, da Universidade Federal de Goiás. A sessão foi aberta pela Coordenadora, Profa. Dra. **CAROLINA HORTA ANDRADE**, que fez a apresentação formal dos membros da Banca e orientou a Candidata sobre como utilizar o tempo durante a apresentação de seu trabalho. A palavra a seguir, foi concedida a autora da dissertação que, em 30 minutos procedeu à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da Banca arguiu a Candidata, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da defesa. Tendo-se em vista o que consta na Resolução nº. 1304/2014 do Conselho de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura (CEPEC), que regulamenta o Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública a Banca, em sessão secreta, expressou seu Julgamento, considerando a candidata **Aprovada** ou **Reprovada**:

**Banca Examinadora**

Profa. Dra. Carolina Horta Andrade

Prof. Dr. Pedro Vitor Lemos Cravo

Prof. Dr. Rodolpho de Campos Braga

**Aprovada / Reprovada**

Aprovada  
APROVADA  
Aprovada

Em face do resultado obtido, a Banca Examinadora considerou a candidata Habilitada, (**Habilitada ou não Habilitada**), cumprindo todos os requisitos para fins de obtenção do título de **MESTRE EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA**, na área de concentração em **PARASITOLOGIA**, pela Universidade Federal de Goiás. Cumpridas as formalidades de pauta, às 16 h 15 min, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de dissertação e para constar eu, **KARINY VIEIRA SOARES E SILVA**, secretária do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública lavrei a presente Ata que depois de lida e aprovada, será assinada pelos membros da Banca Examinadora e por mim em duas vias de igual teor.

A Banca Examinadora aprovou a seguinte alteração no título da Dissertação:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Profa. Dra. Carolina Horta Andrade (FF/UFG)

Prof. Dr. Pedro Vitor Lemos Cravo (IPTSP/UFG)

Prof. Dr. Rodolpho de Campos Braga (IQ/UFG)

Secretário da Pós-Graduação:

**Assinatura**

OK  
Carolina Horta Andrade  
Kariny Vieira Soares e Silva

**Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública**  
**Da Universidade Federal de Goiás**

**BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO**  
**MESTRADO**

**Aluna: Morgana Elias Arantes**

---

**Orientador: Profº. Dr. José Clecildo Barreto Bezerra**

---

**Co-orientadora: Profª Dra. Carolina Horta Andrade**

---

**Membros:**

**1. Profª. Dra. Carolina Horta Andrade**

**2. Prof. Dr. Rodolpho Campos Braga**

**3. Prof. Dr. Pedro Vitor Lemos Cravo**

**Data:14/03/2016**

*Dedico esse trabalho à minha família, com amor, admiração e gratidão pela compreensão, carinho, presença e incansável apoio ao longo do período de elaboração deste trabalho.*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao professor Dr. José Clecildo Barreto Bezerra, pela orientação e apoio no desenvolvimento deste trabalho proporcionando diversas oportunidades de aprendizado no âmbito do Laboratório de Estudos da Relação Parasito Hospedeiro (LAERPH).

Ao pesquisador Mestre Bruno Neves cuja ajuda e conselhos foram essenciais para a execução do projeto.

Agradeço a Dra. Carolina Horta Andrade pela ajuda técnica e por todo conhecimento proporcionado na área.

À toda equipe do LAERPH que me deram o apoio necessário para o desenvolvimento das minhas atividades.

Aos secretários da pós-graduação José Clementino e Kariny Soares pela gentileza e presteza no atendimento de minhas solicitações.

Ao programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de pesquisa e fomento à pesquisa.

Agradeço, ao Portal Capes Periódicos pelo acesso aos artigos científicos.

# SUMÁRIO

|                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>1.0. INTRODUÇÃO</b>                                                            | 1  |
| 1.1. Doenças Tropicais Negligenciadas                                             | 1  |
| 1.2. Esquistossomose                                                              | 2  |
| 1.3. Esquistossomose mansônica                                                    | 4  |
| 1.3.1. Ciclo de vida                                                              | 5  |
| 1.3.2. Morfologia e Fisiologia                                                    | 6  |
| 1.3.3. Manifestações Clínicas                                                     | 8  |
| 1.3.4. Diagnóstico e Controle                                                     | 10 |
| 1.3.5. Quimioterapia                                                              | 11 |
| 1.3.6. Praziquantel                                                               | 13 |
| 1.3.7 Descoberta e planejamento de fármacos                                       | 15 |
| 1.3.8. Reposicionamento de fármacos                                               | 17 |
| 1.3.9. Ferramentas <i>in silico</i> de reposicionamento                           | 19 |
| <b>2.0. JUSTIFICATIVA</b>                                                         | 22 |
| <b>3.0. OBJETIVOS</b>                                                             | 22 |
| 3.1. Objetivo Geral                                                               | 22 |
| 3.2. Objetivos específicos                                                        | 22 |
| <b>4.0. MÉTODOS</b>                                                               | 22 |
| 4.1. Compilação de uma lista com os alvos do <i>S. mansoni</i>                    | 23 |
| 4.2. Identificação dos alvos de fármacos homólogos aos alvos do <i>S. mansoni</i> | 23 |
| 4.3. Alinhamento par-a-par e comparação de regiões funcionais entre os alvos      | 23 |
| 4.4. Seleção dos fármacos para serem testados em ensaios <i>in vitro</i>          | 24 |
| <b>5.0. RESULTADOS</b>                                                            | 22 |
| 5.1. Compilação de uma lista com os alvos do <i>S. mansoni</i>                    | 25 |
| 5.2. Identificação dos alvos de fármacos homólogos aos alvos do <i>S. mansoni</i> | 26 |
| 5.3. Alinhamento par-a-par dos alvos e comparação das regiões funcionais          | 26 |
| 5.4. Fármacos encontrados no estudo e selecionados para teste                     | 28 |
| <b>6.0. DISCUSSÃO</b>                                                             | 31 |
| <b>7.0. CONCLUSÃO</b>                                                             | 39 |
| <b>8.0. REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>                                            | 40 |
| <b>ANEXO 1</b>                                                                    | 52 |
| <b>ANEXO 2</b>                                                                    | 66 |

## FIGURAS E TABELAS

|                                                                                                                                                       |                                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| <b>Figura 1</b> -Mapa da distribuição da esquistossomose no mundo em 2012. Adaptado de (WHO, 2013).....                                               | 3                                    |
| <b>Figura 2</b> -Mapa da distribuição do <i>Schistosoma mansoni</i> no Brasil de 2005 a 2009.....                                                     | 4                                    |
| <b>Figura 3</b> -Ciclo de vida do <i>Schistosoma mansoni</i> adaptado do <i>Centers for disease control and prevention</i> (CDC). ....                | 5                                    |
| <b>Figura 4</b> -Imagem de microscopia eletrônica do <i>Schistosoma mansoni</i> . ....                                                                | 7                                    |
| <b>Figura 5</b> -Estrutura química do (R)-praziquantel enantiômero ativo. ....                                                                        | 13                                   |
| <b>Figura 6</b> - Estratégia de Desenvolvimento de Fármacos.....                                                                                      | 17                                   |
| <b>Figura 7</b> -Fluxograma dos resultados encontrados no estudo do reposicionamento <i>in silico</i> de fármacos para a esquistossomose. ....        | 25                                   |
| <b>Figura 8</b> -Alvos do <i>S. mansoni</i> resultantes da busca nas bases de dados <i>TDR Targets</i> e <i>Pubmed</i> .....                          | 26                                   |
| <b>Figura 9</b> - Exemplo da análise da conservação do sítio ativo da anidrase carbônica II.. ....                                                    | 27                                   |
| <b>Figura 10</b> -Porcentagem das classes terapêuticas dos 102 fármacos encontrados no estudo que tiveram 60% ou mais do sítio ativo conservado. .... | <b>Erro! Indicador não definido.</b> |
| <b>Figura 11</b> - Comparação entre os fármacos encontrados neste estudo e outros estudos de reposicionamento de fármacos .....                       | 30                                   |
| <b>Tabela 1</b> - Fármacos com atividade esquistossomicida comprovada na literatura encontrados neste estudo.....                                     | 28                                   |
| <b>Tabela 2</b> -A lista dos fármacos para o teste em ensaios <i>in vitro</i> dentre os fármacos encontrados neste estudo. ....                       | 29                                   |
| <b>Tabela 3</b> - Lista com os 102 fármacos com 60% ou mais da sua região funcional conservada. .                                                     | 52                                   |

## SIGLAS E ABREVIATURAS

|                  |                                                              |
|------------------|--------------------------------------------------------------|
| <b>ADME</b>      | Absorption, Distribution, metabolism and excretion           |
| <b>AKR</b>       | AldoKeto Reductase                                           |
| <b>APL</b>       | Alkil-phospholipid                                           |
| <b>ATPase</b>    | Adenosine Triphosphatase                                     |
| <b>BLAST</b>     | Basic Local Alignment Search Tool                            |
| <b>cAMP</b>      | cyclic Adenosine Monophosphate                               |
| <b>cGMP</b>      | cyclic Guanosine Monophosphate                               |
| <b>COX-2</b>     | Ciclooxygenase 2                                             |
| <b>CYP</b>       | Cyclophilin                                                  |
| <b>DALY</b>      | Disability adjsusted life years                              |
| <b>DNA</b>       | Deoxyribonucleic Acid                                        |
| <b>DTN</b>       | Doença Tropical negligenciada                                |
| <b>EST</b>       | Expressed sequence tag                                       |
| <b>E-Value</b>   | Expectation Value                                            |
| <b>FDA</b>       | Food and Drug Admnistration                                  |
| <b>Genbank</b>   | Gene DataBase                                                |
| <b>GeneDB</b>    | Gene DataBase                                                |
| <b>HIV</b>       | Human immunodeficiency virus                                 |
| <b>HTS</b>       | High throughput screening                                    |
| <b>IPTSP</b>     | Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública              |
| <b>KEGG</b>      | Kyoto Encyclopedia of Gene and Genome                        |
| <b>Mg/kg</b>     | Miligrama por kilograma<br>Nicotinamide Adenine Dinucleotide |
| <b>NADPH</b>     | Phosphate                                                    |
| <b>NCBI</b>      | National Center for Biotechnology Information                |
| <b>OMS</b>       | Organização Mundial de Saúde                                 |
| <b>QSAR</b>      | Quantitive Structure Activity Relationship                   |
| <b>ROS</b>       | Reactive Oxygen Species                                      |
| <b>SchistoDB</b> | Schistosoma Database                                         |
| <b>TDR</b>       | Therapeutic Drug Research                                    |
| <b>TTD</b>       | Therapeutic Target Database                                  |
| <b>UMP-CMP</b>   | Uridylate kinase cytidine monophosphate                      |
| <b>VS</b>        | Virtual Screening                                            |
| <b>WIPO</b>      | World Intellectual Property Organization                     |

## RESUMO

A esquistossomose é uma doença tropical negligenciada causada por parasitos do gênero *Schistosoma*. No Brasil apenas o *Schistosoma mansoni* transmite esta doença. A Organização Mundial de Saúde estimou em 2012 cerca de 249 milhões de pessoas em risco de adquirirem esta doença por meio de diferentes espécies e países. A principal estratégia no controle desta doença é o tratamento dos indivíduos que vivem em áreas endêmicas com o fármaco praziquantel. O praziquantel é o fármaco utilizado em ampla escala no tratamento desta doença e atualmente há casos de resistência relatados, sendo necessário a descoberta de novos fármacos. O reposicionamento *in silico* é uma estratégia que reduz o tempo e o custo na busca de fármacos esquistossomicidas. Neste trabalho, por meio da ferramenta de bioinformática e com base em estudos anteriores, identificou-se potenciais novos alvos homólogos a alvos de fármacos em uso em humanos, identificando com isso, potenciais novos fármacos esquistossomicidas. Compilou-se uma lista com os potenciais alvos do *S. mansoni* que fazem parte das vias essenciais da base de dados do *TDR* e encontrou-se os alvos que fazem parte do tegumento na literatura científica. O arquivo com os alvos do *S. mansoni* continha 1376 alvos, sendo que destes apenas 61 alvos do *S. mansoni* possuía homologia com alvos de fármacos associados a 399 fármacos. Após a remoção dos fármacos duplicados, fármacos encontrados em estudos anteriores e após a análise da conservação do sítio ativo restou 28 alvos do *S. mansoni* associados a 102 fármacos que tinha 60% ou mais do sítio ativo. Encontrou-se alguns fármacos com atividade comprovada e validam o estudo como: artemeter, lumefantrina, meloxicam. Dentre os fármacos encontrados cerca 18 fármacos foram selecionados para serem testados e a sua atividade então comprovada, utilizando os seguintes critérios: baixa toxicidade *in vivo*, patente expirada e um valor de log *P* interessante para um fármaco de administração oral.

**Palavras chave:** controle, *Schistosoma mansoni*, reposicionamento de fármacos, bioinformática.

## ABSTRACT

Schistosomiasis is a neglected tropical disease caused by parasites of the genus *Schistosoma*. In Brazil only *Schistosoma mansoni* transmits this disease. The World Health Organization estimated in 2012 approximately 249 million people at risk of acquiring this disease around the world. The main strategy to control this disease is the treatment of individuals living in endemic areas with Praziquantel. The drug praziquantel is used on a large scale in the treatment of schistosomiasis and currently there are reported cases of resistance, indicating the need to discover new drugs. In silico drug repositioning is a strategy that reduces the time and cost in the search of anti-schistosomal agents. This work used bioinformatics tools and methodology based on previous studies, as a means to identify potential new *S. mansoni* targets and drug homologs, consequently identifying potential new schistosomal drugs. A list was compiled with *S. mansoni* potential targets that are part of essential processes in the database TDR and the targets that are part of the tegument were obtained in the scientific literature. The file with *S. mansoni* targets contained 1376 targets, and of these only 61 targets associated with 399 drugs had homology with drug targets. After removal of duplicate drugs, drugs found in previous studies and after the analysis of the conservation of the active site only 28 *S. mansoni* targets associated with 102 drugs had 60% or more of the active site conserved. Some of the drugs had activity and are interesting to validate this study such as: artemether, lumefantrine, meloxicam. Among the drugs found 18 drugs were selected to be tested using the following criteria: low toxicity in vivo, expired patent and a value of log P interesting for oral administration.

**Keywords:** control, *Schistosoma mansoni*, drug repositioning, bioinformatics

## 1.0. INTRODUÇÃO

### 1.1. Doenças Tropicais Negligenciadas

As doenças tropicais negligenciadas (DTN) são um grupo de doenças que afetam principalmente as populações pobres que vivem nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, essas populações não recebem o apoio da comunidade nacional e internacional (MACKEY et al., 2014). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) existem 17 DTN causadas por: protozoários, helmintos, vírus e bactérias (WHO, 2015). As DTN's atingem cerca de 1 bilhão de pessoas no mundo em 149 países. Em 2010, um estudo avaliou o impacto das DTN nas últimas décadas em todo o mundo e relatou um aumento de 111,000 mortes, sendo a maioria na África Subsaariana (BHUTTA et al., 2014).

A *disability adjusted life year* (DALY) é parâmetro que tenta quantificar o impacto dessas doenças na sociedade. O DALY é um cálculo da soma da perda de vida devido a morte prematura adicionado aos anos perdidos devido a invalidez (FENWICK, 2012). O DALY pode ainda ser aprimorado por não considerar a perspectiva do paciente e nem o contexto em que este se inseri, o peso das complicações crônicas na invalidez associadas as DTN e a invalidez associada as comorbidades e coinfeções (KING; BERTINO, 2008). O parâmetro do DALY permite avaliar o impacto dos investimentos da comunidade internacional nas DTN's.

À partir do DALY é possível determinar o impacto de uma doença na saúde pública e a sua influência na capacidade produtiva e econômica de um local (TORGERSON et al., 2015). O prejuízo no crescimento das crianças, retardo mental, cegueira, amputação e deficiência nutricional são causadas pelas seguintes DTN's: filaríose, leishmaniose, esquistossomose, cisticercose, hidátidose, helmintíase transmitida pelo solo entre outras doenças e afetam mais de um bilhão de pessoas no mundo (BOUTAYEB, 2007). Determinados fatores sociais podem agravar o impacto dessas doenças nas áreas endêmicas e estes incluem: gênero, desemprego, analfabetismo, má nutrição, poluição do ar, instabilidade política, falta de saneamento básico adequado, saúde e educação. Aqueles que vivem na pobreza estabelecem ambientes favoráveis a transmissão de patógenos e vetores e o aumento das doenças acentua a pobreza (diminuição na produtividade devido a invalidez) (BHUTTA et al., 2014). Com o objetivo de reduzir o impacto global dessas doenças, a OMS elaborou um roteiro denominado de

Declaração de Londres de 2012 que teve por meta o controle e a eliminação de 10 DTN até 2020 (WHO, 2013).

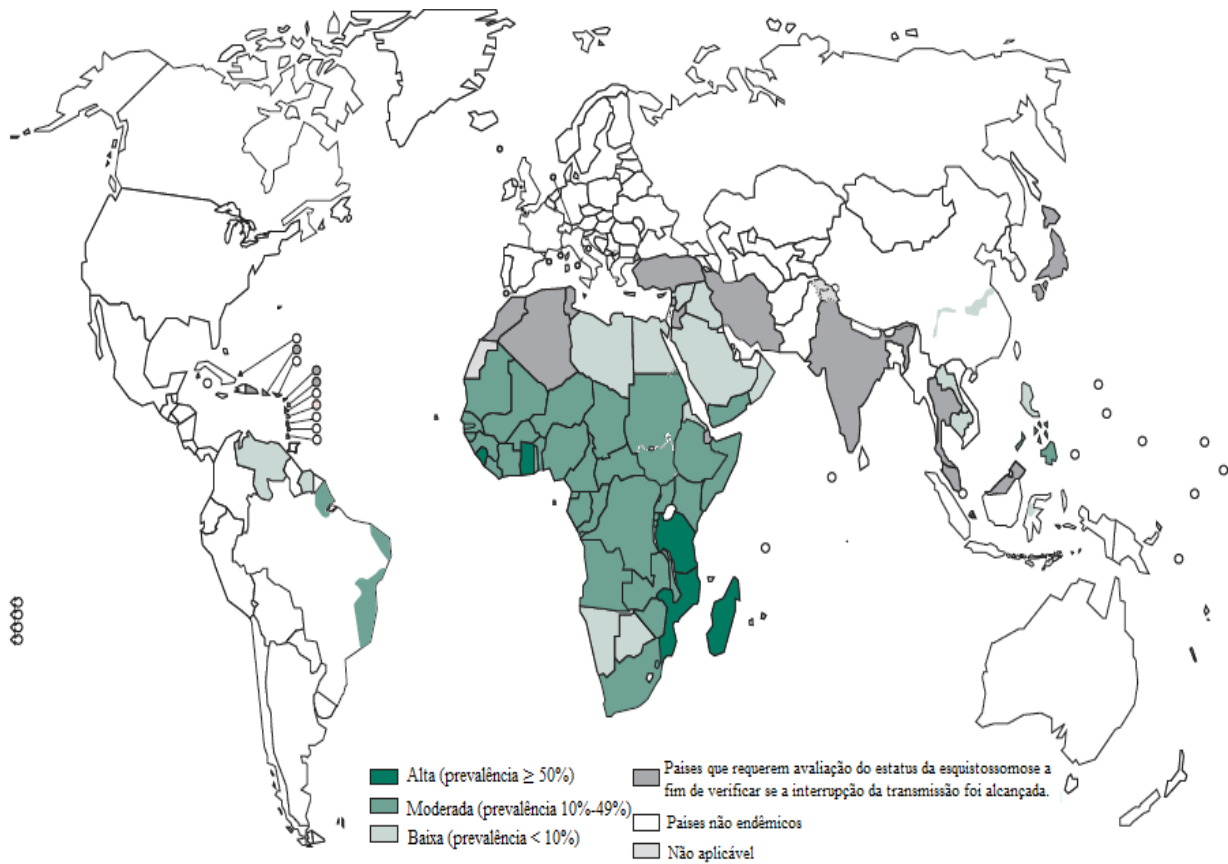
As metas propostas na Declaração de Londres visam reduzir a morbidade das DTN por meio de algumas estratégias: facilitar o acesso das populações de áreas endêmicas aos tratamentos preventivos e aumentar os investimentos nas áreas de pesquisa e inovação associada a implementação de programas de profilaxia e controle. Ao longo dos últimos 15 anos, os resultados das metas implementadas pela OMS surtiram alguns resultados, como por exemplo: a redução em 90% dos casos da tripanossomíase africana humana, a eliminação na Colômbia da oncocercose e a redução da leishmaniose visceral no Bangladesh (WHO, 2015).

As barreiras que dificultam a execução das metas propostas pela OMS podem ser divididas em: fatores ambientais, como os desastres ambientais e as mudanças climáticas, e os fatores humanos, como o crescimento populacional e a falta de investimento das empresas (WHO, 2013). O investimento por parte das indústrias farmacêuticas nessas doenças ainda está bem abaixo do esperado, apenas 200 milhões por ano para as 10 DTN, isso equivale a 2% de todo o investimento (LIESE; HOUGHTON; TEPLITSKAYA, 2014). Para alcançar as metas até 2020 a OMS sugere propostas como: o aumento nos investimentos na área de pesquisa e inovação e doações de medicamentos por parte das instituições públicas e privadas. Outras metas complementares as metas da OMS são: a adequada monitoração da fase IV e a avaliação dos casos de resistência das DTN.

## **1.2. Esquistossomose**

A esquistossomose é considerada uma DTN causada por trematódeos do gênero *Schistosoma sp.* que afeta cerca de 240 milhões de pessoas em 78 países e 800 milhões de pessoas vivem em áreas endêmicas incluindo crianças e adultos (WEERAKOON et al., 2015). Seis espécies diferentes de parasitos do gênero *Schistosoma sp.* infectam seres humanos, sendo três espécies amplamente distribuídas no mundo: *S. mansoni* (África, Arábia e América do Sul), *S. haematobium* (África e Arábia) e *S. japonicum* (China e Sul Asiático) e três espécies localmente distribuídas: *S. intercalatum* (Oeste e Centro da

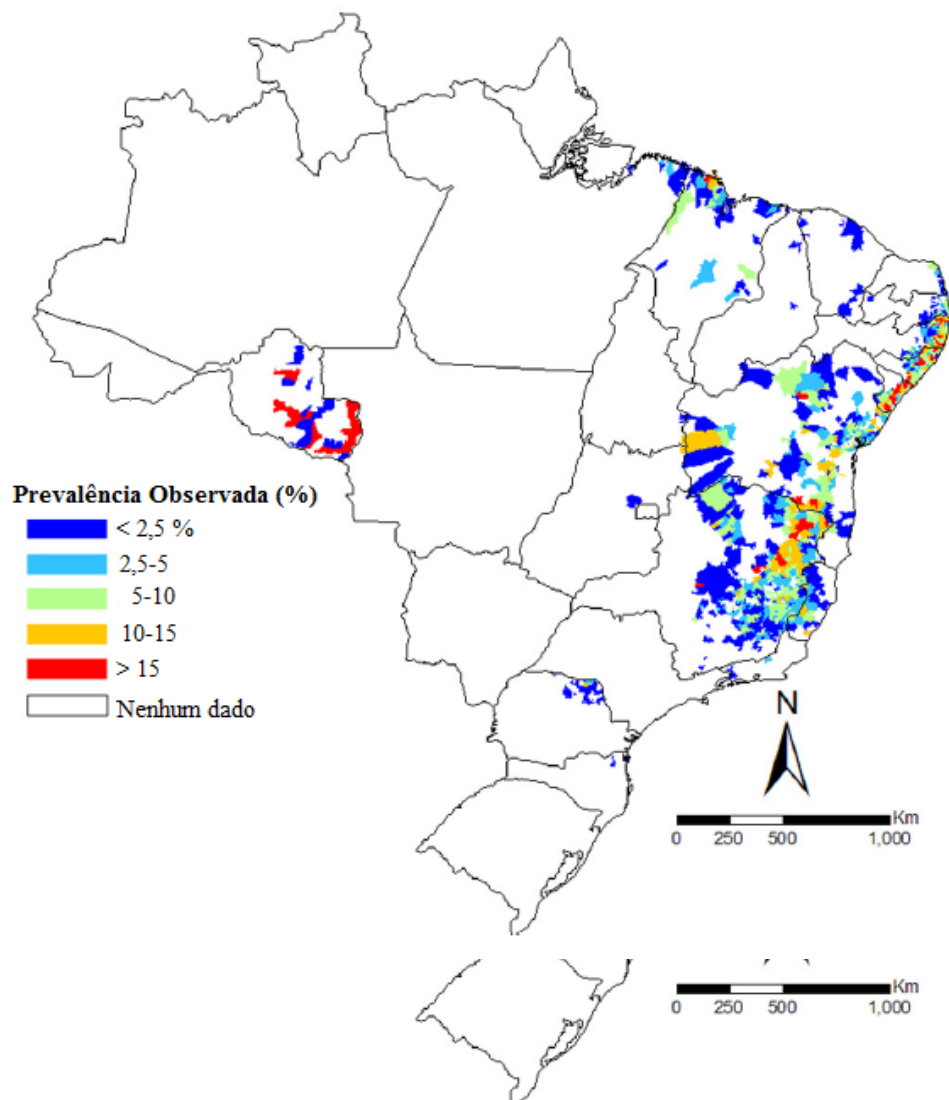
África), *S. mekongi* (Bacia do Rio Mekong) e *S. malayensis* (Malásia). (GRYSEELS, 2012). A distribuição da esquistossomose no mundo (Figura 1).



**Figura 1**-Mapa da distribuição da esquistossomose no mundo em 2012. Adaptado de (WHO, 2013).

O ciclo desses parasitos é heteroxênico (dois hospedeiros um definitivo e um intermediário) os hospedeiros definitivos são vertebrados e os hospedeiros intermediários caramujos aquáticos dos gêneros: *Biomphalaria sp.* (*S. mansoni*), *Bulinus sp.* (*S. haematobium*) e o anfíbio *Oncomelania sp.* (*S. japonicum*) (GRYSEELS, 2012). O *S. haematobium* foi o primeiro parasito do gênero *Schistosoma sp.* a ser descoberto em 1851 pelo pesquisador Theodore Bilharz e o seu ciclo de vida foi elucidado em 1915 por Leiper (BARAKAT, 2013). Apesar dessa doença ter sido descrita recentemente na história da humanidade, em 1910 pesquisadores encontraram ovos do *S. haematobium* calcificados em duas múmias que datam desde a 20<sup>th</sup> dinastia do antigo Egito sendo o caso mais antigo há 5000 anos atrás. A esquistossomose perde apenas para a malária como a principal causadora de morbidade nas doenças parasitárias (CHOI; YU, 2015). O valor do DALY atribuído a essa doença varia muito de 3,3 milhões até 36 milhões, essa diferença exorbitante deve-se principalmente a dificuldade de avaliar as diversas morbidades

associada a mesma (MOLEHIN et al., 2015). De acordo com a OMS, essa doença foi marcada para ser eliminada até 2015 nas regiões do leste do Mediterrâneo, Caribe, Indonésia e na bacia do rio Mekong e a mesma deve ser eliminada até 2020 nas Américas, Pacífico Ocidental e alguns países da África (WHO, 2012). No Brasil estima-se que entre 2,5 a 8 milhões de pessoas estejam infectadas com o *S. mansoni* em 19 estados mais o Distrito Federal, sendo que a sua distribuição se estende do Maranhão até o Espírito Santo e Minas Gerais com focos em outros estados (AMORIM et al., 2014). A alta prevalência dessa doença pode ser encontrada no Brasil nos seguintes estados: Alagoas, Pernambuco, Sergipe, Bahia, Paraíba e Minas Gerais. Distribuição do *S. mansoni* no Brasil (Figura 2).

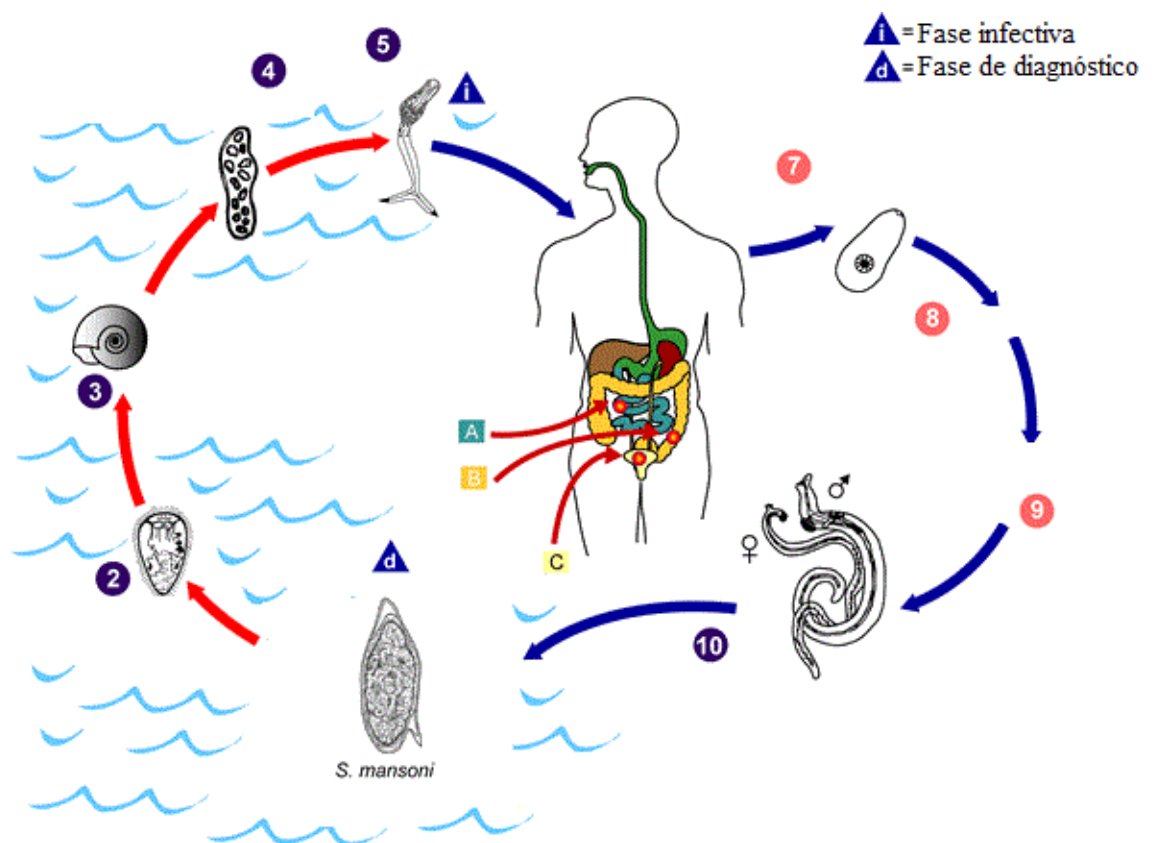


**Figura 2-**Mapa da distribuição do *Schistosoma mansoni* no Brasil de 2005 a 2009. Sistema de Coordenada Geográfica Horizontal Datum WGS84. Adaptado de (SCHOLTE et al., 2014).

### 1.3. Esquistossomose mansônica

### 1.3.1. Ciclo de vida

O trematódeo *S. mansoni* possui diferentes fases de vida: as fases de vida livre (miracídio e cercária), as fases de vida no hospedeiro intermediário (esporocisto I e II) e as fases de vida no hospedeiro vertebrado (esquistossômulo ou adulto jovem e adulto) (SATOSKAR; SIMON, 2009). O hospedeiro intermediário do helminto *S. mansoni*, o caramujo do gênero *Biomphalaria sp.* pertence à classe Gastropoda, subclasse Pulmonata, ordem Basommatophora, família Planorbidae (BARBOSA, 1995). Esses organismos habitam locais físicos bem definidos como: corpos de água doce rasa ou água parada ou um rio com correnteza fraca e se alimentam de alga verde e matéria orgânica em decomposição. O ciclo de vida pode ser observado abaixo na Figura 3.



**Figura 3**-Ciclo de vida do *Schistosoma mansoni* adaptado do *Centers for disease control and prevention* (CDC). 1. Os ovos são liberados nas fezes eclodem na água liberando o miracídio. 2. O miracídio nada em direção ao caramujo *Biomphalaria sp.* 3. O miracídio penetra nos tecidos do caramujo. 4. No caramujo o miracídio passa por esporocistos do tipo I e II e então se diferencia em cercária. 5. As cercárias saem do caramujo e nadam em direção ao hospedeiro vertebrado que está na superfície e penetra na pele. 7. As cercárias perdem a cauda e transformam em esquistossômulo. 8. O esquistossômulo migra para o pulmão onde aumenta de tamanho. 9. O esquistossômulo migra para o fígado e transforma-se em adulto. 10. Os adultos pareiam e migram para as veias mesentéricas onde ocorre a reprodução sexuada e a postura dos ovos.

Os ovos são liberados nas fezes para o meio ambiente, quando os ovos entram em contato com água doce, o mesmo eclode liberando o miracídio que por sinais quimiotáticos encontram o caramujo aquático do gênero *Biomphalaria sp.* penetrando no mesmo. O miracídio então se modifica em um aglomerado celular denominado de esporocisto do tipo I e se multiplica por meio da reprodução assexuada. O esporocisto do tipo I após se multiplicar transforma em esporocisto do tipo II e migra para o ovotestis do caramujo onde ocorre a sua diferenciação em cercária (REY, 2001). A luz estimula a saída da cercária do caramujo, então a mesma nada em direção a superfície onde encontra o homem (hospedeiro vertebrado) e penetra na sua pele. A fase desde a infecção do caramujo até a saída da cercária dura cerca de quatro a seis semanas (COLLEY et al., 2014).

A penetração na pele faz com que a cercária perca a sua cauda bifurcada transformando-se em esquistossômulo (REY, 2001). Com 48 horas de infecção o esquistossômulo pode ainda ser encontrado na derme, após 72 horas de infecção, o mesmo atravessa os capilares sanguíneos e migra para o pulmão (TALLIMA; EL RIDI, 2007). O esquistossômulo fica de 3 a 16 dias nos capilares pulmonares onde ele modifica a sua morfologia, após esse período, ele migra para o fígado onde se transforma em adulto (REY, 2001). Cerca de 28 a 35 dias, o adulto migra para as veias mesentéricas onde sucede o pareamento da fêmea e do macho. Nas veias mesentéricas há a reprodução sexuada seguida da postura dos ovos pela fêmea (REY, 2001). Os ovos produzidos são eliminados nas fezes do hospedeiro vertebrado. A fase desde a penetração da cercária no hospedeiro vertebrado até a produção de ovos e a sua eliminação nas fezes dura de cinco a sete semanas (COLLEY et al., 2014).

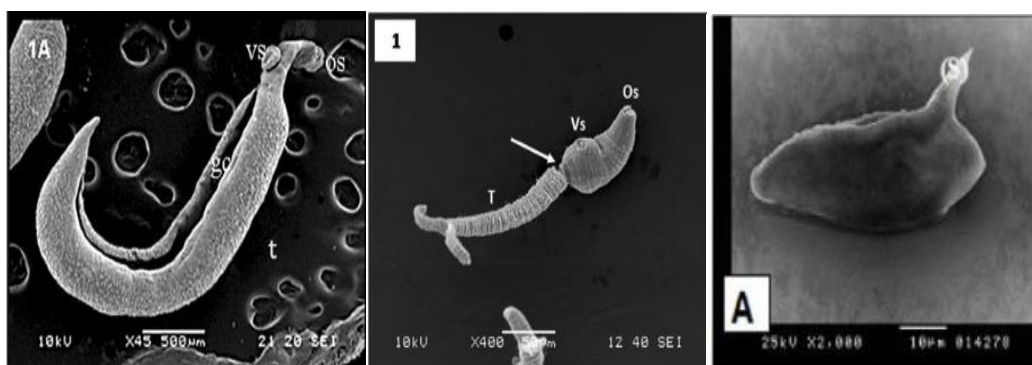
### **1.3.2. Morfologia e Fisiologia**

O *S. mansoni*, como todos platelmintos, é triblástico e acelomado, possui três camadas germinativas, é achatado dorso-ventralmente e possui simetria bilateral (WILSON, 2012). O ovo do *S. mansoni* tem um tamanho de 110 a 180 µm é formado por uma casca externa de proteínas acoplado a uma estrutura denominada de espinho e na parte interna há o *corium*, ele pode sobreviver até 7 dias no meio externo (REY, 2001). A forma larval do parasito denominada de miracídio é alongada e revestida por um epitélio ciliado, enquanto que a forma larval da cercária é piriforme com cauda bifurcada e duas ventosas (a ventosa oral e a ventosa ventral). Além disso, a cercária também possui

glândulas de penetração que secretam enzimas proteolíticas. Os adultos são dioicos com dimorfismo sexual possuem um corpo cilíndrico e uma coloração branca ou acinzentada, além de duas ventosas terminais (importantes na aderência do parasito a parede dos vasos sanguíneos), um trato digestivo incompleto, órgãos reprodutivos e um tegumento complexo (GRYSEELS et al., 2006).

O tegumento possui várias funções como a absorção de nutrientes, secreção de metabólitos, serve de interface entre o parasito e o hospedeiro na evasão do mesmo pelo sistema imune do hospedeiro. Proteínas compõem o tegumento: proteínas do citoesqueleto, proteínas de choque térmico e enzimas glicolíticas, além de enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (BRASCHI et al., 2006). No adulto, o tegumento é formado por células fundidas em forma de sincício que se estendem por todo o corpo do *Schistosoma* formando uma única membrana contínua de bicamada lipídica dupla (VAN HELLEMOND et al., 2006). A bicamada lipídica externa é denominada de membranocálice, ela é formada por uma barreira de glucanos e lipídeos, cuja função é impedir que os antígenos do parasito fiquem expostos.

O macho tem 1,0 cm de comprimento e as margens do seu corpo são encurvadas ventralmente em uma estrutura denominada de canal ginécóforo (SKELLY; WILSON, 2006). Ao mesmo tempo, o macho tem papilas sensoriais na porção dorsal do corpo denominadas de tubérculos. A fêmea tem 1,2 cm de comprimento e também possui os tubérculos, mas em menor quantidade e é mais lisa e mais fina do que a o macho. A fêmea e o macho adulto passam a maior parte da sua vida *in copula* nas veias mesentéricas, onde a fêmea produz os ovos que são liberados e fertilizados pelo macho (REY, 2001). O adulto pode viver em média de 3 a 10 anos no hospedeiro humano chegando a 40 anos (COLLEY et al., 2014). As imagens do *S. mansoni* adulto, cercária e ovo (Figura 4).



**Figura 4**-Imagem de microscopia eletrônica do *Schistosoma mansoni*: adulto (1A) (X45 e bar= 500µm), cercária (1) (X400 e bar= 500µm) e ovo (A) (X2000 e bar= 10µm)

adaptado de (EISSA; EL BARDICY; TADROS, 2011; LIMA et al., 2011; PEREIRA et al., 2013)

O parasito se nutre por meio de aminoácidos obtidos da digestão do sangue do hospedeiro, esses aminoácidos são usados no crescimento, desenvolvimento e reprodução do parasito (THÉTIOT-LAURENT et al., 2013). As fêmeas ingerem uma maior quantidade de sangue do que os machos (REY, 2001). O grupo heme oriundo da digestão da hemoglobina é tóxico para o parasito, pois estimula a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) (THÉTIOT-LAURENT et al., 2013). Em geral, a detoxificação do grupo heme é feita pela via de oxigenação do grupo heme, contudo parasitos como o *Schistosoma sp.*, *Plasmodium* e *Rhodnius* não possuem essa via. A hemoglobina ingerida pelo parasito é tóxica, visto que o mesmo não possui a via para oxigenação do grupo heme presente no hospedeiro vertebrado. Esses organismos produzem uma substância escura e cristalina denominada de hemozoína que captura o grupo heme. A hemozoína é então regurgitada para fora o meio externo

O parasito concomitante a nutrição de aminoácidos oriundos do sangue, ele também se nutre de glicose. O metabolismo da glicose no parasito adulto é do tipo anaeróbico e o produto final é o lactato (TIELENS, 1994). O metabolismo do tipo aeróbico ocorre no parasito adulto durante o processo reprodutivo e na produção dos ovos. O metabolismo energético durante a fase de vida livre (miracídio e cercária) é um metabolismo do tipo aeróbico, com o consumo da glicose endógena armazenada na forma de glicogênio e a produção de energia ocorre por meio do ciclo de Krebs (BRUCE et al., 1969). O esporocisto é considerado um anaeróbico facultativo, já que ajusta o seu metabolismo de acordo com as condições internas do molusco (TIELENS et al., 1992). Em condições de anaerobiose, o esporocisto produz lactato por meio da fermentação láctica e succinato por meio da ativação da via da fosfoenolpiruvato carboxiquinase, (PEPCK) (TIELENS, 1994).

### **1.3.3. Manifestações Clínicas**

As manifestações clínicas da fase aguda da doença, que corresponde a fase de migração do parasito pelo corpo do hospedeiro, deve-se a uma ativação de uma resposta imune do tipo TH1 e ocorre principalmente em viajantes ou imigrantes de áreas endêmicas (COLLEY et al., 2014). Estas manifestações são: coceira do nadador, dermatite cercariana, broncopneumonia e a síndrome Katayama (BARSOUM; ESMAT;

EL-BAZ, 2013; ROSS et al., 2007). A coceira do nadador é uma reação do sistema imune à penetração das cercárias na pele e a sua duração depende da presença delas na pele (GRAY et al., 2011).

As consequências da coceira do nadador são: o edema e a dilatação dos capilares. A dermatite cercária aparece principalmente em indivíduos reinfetados, porquanto é caracterizada pela erupção na pele de uma ferida maculopapular com coceira. A broncopneumonia é uma reação à presença do esquistossômulo no pulmão e nos capilares e a sua migração causa os sintomas tosse seca e falta de ar (CHEEPSATTAYAKORN; CHEEPSATTAYAKORN, 2014). A síndrome Katayama surge no período de 14 a 84 dias após a infecção e ocorre em alguns indivíduos com hipersensibilidade a presença do parasito nos tecidos (ROCHA et al., 1995). Os sintomas da síndrome de Katayama são: febre, artralgia e erupção na pele. Em casos graves há perda de peso, dor abdominal, diarreia, hepatoesplenomegalia e hipertensão portal (BARSOUM; ESMAT; EL-BAZ, 2013). Cerca de 60% dos infectados são sintomáticos, mas desses apenas 10% possuem sintomas graves e dos com sintomas graves apenas 0,1% vão a óbito.

A mudança da fase aguda para a fase crônica é caracterizada pela mudança da resposta imune do hospedeiro; de uma resposta do tipo TH1 para uma resposta do tipo TH2. Essa resposta é evidenciada pelo início do processo de calcificação dos granulomas formados pela presença dos ovos nos tecidos (BARSOUM; ESMAT; EL-BAZ, 2013; COLLEY et al., 2014). O granuloma leva a destruição do tecido e a sua fibrose que leva a perda da função tissular e a hepatomegalia (LAMBERTUCCI, 2014). Em cerca de 6% dos infectados ocorre à hipertensão do sistema porta hepático e o extravasamento do plasma para a cavidade abdominal (ascite). A sintomatologia dessa doença depende dos seguintes fatores: número total de parasitos no hospedeiro, duração da infecção, imunidade do hospedeiro, idade e sexo do hospedeiro (UTZINGER et al., 2015). A neuroesquistossomose é a forma mais grave dessa doença, ela ocorre quando o adulto ou o ovo alcançam o sistema nervoso central (medula e cérebro) (NASCIMENTO-CARVALHO; MORENO-CARVALHO, 2005). Os sintomas característicos da neuroesquistossomose são: aumento da pressão intracranial, mielopatia, epilepsia e perda de movimento. As manifestações clínicas secundárias da esquistossomose mansonica são a disúria, hematúria e em alguns casos disenteria.

As lesões provocadas pelo parasito e as modificações do sistema imune durante a infecção pelo *S. mansoni* favorece as coinfeções, ou seja, a infecção de mais de um

patógeno simultaneamente. No caso do *S. mansoni*, quando há coinfecção com a malária, essa doença é agravada com aumento na sua carga parasitária (WILSON et al., 2009). Os indivíduos com a esquistossomose são susceptíveis à infecção por *Salmonella* (ABRUZZI; FRIED, 2011). A esquistossomose também torna o indivíduo susceptível a infecção por vírus como Hepatites C e B e *human immunodeficiency virus* (HIV) (BARSOUM; ESMAT; EL-BAZ, 2013).

#### **1.3.4. Diagnóstico e Controle**

O diagnóstico definitivo do *S. mansoni* é realizado por meio da detecção dos ovos do parasito nas fezes utilizando técnicas parasitológicas como a técnica de sedimentação espontânea (RABELLO, 1992). Nos estudos epidemiológicos emprega-se técnicas quantitativas, como o método de Kato-Katz, que determina a intensidade da infecção de acordo com a quantidade e morfologia dos ovos liberados (KATZ; ROCHA; CHAVES, 1979). Em alguns casos quando o ovo não é detectado nas fezes é feito uma biopsia retal (HAMILTON; KLINKERT; DOENHOFF, 1998). O método imunológico utiliza os anticorpos monoclonais para detectar os antígenos do parasito presentes no sangue do hospedeiro, enquanto que o método da reação em cadeia da polimerase detecta material genético do *Schistosoma sp.* (PONTES; DIAS-NETO; RABELLO, 2002). Essas técnicas são altamente sensíveis e específicas.

O ultrassom permite acompanhar pacientes com hepatoesplenomegalia, embora a técnica de ressonância magnética de imagem já mostrou ser bem mais eficaz e sensível para indicar a progressão da doença. As vantagens da ressonância magnética são: a alta reprodutibilidade e a capacidade de avaliação panorâmica da cavidade abdominal, além da visualização das alterações morfológicas do tecido devido a infecção (BEZERRA et al., 2007). As técnicas de diagnóstico são essenciais no controle pós eliminação de uma doença, pois permitem determinar: a prevalência, a endemicidade e confirmar a sua eliminação (UTZINGER et al., 2015).

No caso da esquistossomose mansônica, o fator de risco para a propagação dessa doença envolve a contaminação de recursos hídricos com fezes humanas contendo ovos viáveis em associação a presença do hospedeiro intermediário na água (MOLEHIN et al., 2015). Exemplos de atividades nas quais o indivíduo entra em contato com água e pode se contaminar são: pescaria, lavagem de roupas, banho, natação recreativa e trabalhos como irrigação, entre outras atividades (GRIMES et al., 2014). Uma forma de controle eficiente e bastante empregada é o tratamento d'água e o saneamento básico associado ao

uso do moluscicida niclosamida. Apesar do seu uso em grande escala, esse composto não é recomendando, devido a sua elevada toxicidade para a vida aquática (DAI et al., 2010). Outra forma de controle dessa doença, de acordo com a OMS, é o tratamento em massa da população (quimioterapia) com o fármaco praziquantel (CHOI; YU, 2015). Anualmente a quimioterapia é realizada em 52 dos países endêmicos, todavia, devido a falta do fármaco, em 2012 apenas 31 dentre os 52 países receberam a quimioterapia preventiva (CHOI; YU, 2015; CIOLI et al., 2014). As alterações climáticas podem alterar a transmissão dessa doença estendendo a sua distribuição para as altitudes mais elevadas. A migração humana também favorece a reintrodução de transmissão em áreas que já conseguiram eliminar a doença (MOLEHIN et al., 2015).

Atualmente, não existe nenhuma vacina aprovada para essa doença, porém existem forte evidências imunológicas em humanos e em modelos animais que indicam a viabilidade de uma vacina (MOLEHIN et al., 2015). Muitos dos indivíduos que vivem em áreas altamente endêmicas são resistentes a esquistossomose e os anticorpos destes indivíduos estão sendo estudados no desenvolvimento de vacinas (GAZE et al., 2014). Existem muitos institutos importantes na área de desenvolvimento de vacinas. O Instituto Pasteur que desenvolveu uma vacina de proteína recombinante combinada com alumínio contra a glutathione-S-transferase, denominada de Bilharvax, essa vacina já está em fase clínica III e consegue reduzir a excreção de ovos pelo parasito (MOLEHIN et al., 2015). O Instituto Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro) desenvolveu uma vacina de proteína recombinante a Sm14, que é uma proteína de ligação a ácidos graxos e o Instituto Sabin (Brasília) com a vacina SmTSP2 que atua sobre a tetraspanina 2 (uma proteína presente no tegumento do *Schistosoma sp.*) (BEAUMIER et al., 2013). Atualmente, as melhores vacinas em desenvolvimento possuem um nível de proteção em torno de 50-60%, essas vacinas ainda são pouco eficazes para serem utilizadas no controle da doença (MOLEHIN et al., 2015).

### **1.3.5. Quimioterapia**

No passado muitos fármacos foram empregados no tratamento da esquistossomose, mas os mesmos foram abandonados devido a vários problemas como toxicidade e baixa eficiência. Esses fármacos são: tártaro de antimônio, emetina, niridazol e oltipraz. O tártaro de antimônio é ativo contra o *S. mansoni*, *S. haematobium* e *S. japonicum* e teve o seu uso interrompido devido a efeitos adversos: as reações sistêmicas graves, os

problemas gastrointestinais, hepáticos e dermatológicos (THÉTIOT-LAURENT et al., 2013). Outros sintomas são as parestesias e dores agudas nas pontas dos dedos. Esses sintomas ocorrem devido à baixa taxa de excreção e a sua acumulação no organismo. O mecanismo de ação dos antimoniais, como por exemplo o oltipraz, consiste na inibição da enzima fosfofrutoquinase. A inibição dessa enzima leva a perda de aderência do parasito as paredes dos vasos sanguíneos e a sua morte.

A emetina é um composto usado no tratamento da disenteria amebiana e possui atividade esquistossomicida, mas a sua dose terapêutica é muito elevada e provoca muitos efeitos adversos (CIOLI; PICA-MATTOCCIA, 2003). O metrofinato é um organofosforado que possui baixa toxicidade, porém não é muito eficaz no tratamento da esquistossomose (THÉTIOT-LAURENT et al., 2013). Outra desvantagem é a necessidade de administração de repetidas dosagens, com intervalos de 14 dias, tornando difícil a aderência dos pacientes ao tratamento. Além disso, estudos mostram que o parasito adquire rapidamente resistência a esse composto. O mecanismo de ação do metrofinato envolve a inibição da enzima acetilcolinesterase. O niridazol foi interrompido por apresentar reações adversas neurológicas. O *Schistosoma sp.* reduz o niridazol em um composto com grupo nitro, que se liga em proteínas e ácidos nucleicos do parasito e promove a sua morte. O amoscanato possui uma taxa de cura de 92%, todavia devido a sua elevada toxicidade hepática substitui-o pelo Praziquantel.

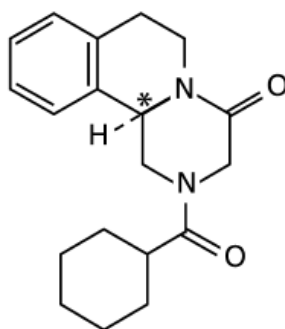
A oxamniquina é um pró-fármaco que era utilizado no tratamento da esquistossomose provocada pelo *S. mansoni* em alguns países como o Brasil, mas atualmente não está sendo mais empregado (EL RIDI; TALLIMA, 2013; FOSTER, 1987). A dosagem desse fármaco é de 20 mg/kg e a taxa de cura é de 80 a 90% (FOSTER, 1987).

O termo pró-fármaco refere-se um composto que é farmacologicamente inativo ou pouco ativo e que é convertido em um fármaco ativo após a sua biotransformação metabólica (KARAMAN; FATTASH; QTAIT, 2013). O pró-fármaco é usado quando o fármaco ativo possui alguns problemas associado à sua: solubilidade, absorção, distribuição entre outros. Esse pró-fármaco é esterificado por uma enzima, a sulfotransferase, presente no *S. mansoni* que se dissocia espontaneamente e resulta em um composto eletrolítico capaz de alquilar o DNA do *Schistosoma sp.* (PICA-MATTOCCIA; CIOLI, 1985). A resistência a oxamniquina já foi comprovada em vários locais no mundo. Os parasitas resistentes e os mamíferos possuem a enzima

sulfotransferase mutada e diferente da que está presente no *S. mansoni* susceptível a oxamniquina (CIOLI; PICA-MATTOCCIA; ARCHER, 1995).

### 1.3.6. Praziquantel

O sistema de anéis denominado de pirazino isoquinolina (grupo farmacofórico) foi descoberto em 1970 pela empresa Bayer na Alemanha. Inicialmente o praziquantel foi utilizado como um tranquilizante e só em 1980 demonstrou ter atividade anti-helmíntica passando a ser comercializado internacionalmente com o nome comercial biltricide (RIM; CHANG; LEE, 1981; SEUBERT; POHLKE; LOEBICH, 1977). O praziquantel tem sido o fármaco de escolha no tratamento da esquistossomose por ser ativo contra as cinco espécies que causam a esquistossomose, além do seu tratamento requerer apenas uma dosagem. O praziquantel é altamente efetivo e seguro quando comparado com outros compostos ativos contra a esquistossomose, com poucas reações adversas podendo ser utilizado por mulheres grávidas e que estão amamentando (CIOLI et al., 2014). A estrutura química do praziquantel pode ser observada na Figura 5.



**Figura 5**-Estrutura química do (*R*)-praziquantel enantiômero ativo. \* Indica carbono assimétrico (DOENHOFF; CIOLI; UTZINGER, 2008).

O praziquantel pode ser encontrado comercialmente na forma de uma capsula na dosagem de 600 mg. Na forma de pó possui gosto amargo, mesmo após a adição de aroma e açúcar, dificultando a administração em crianças (DOENHOFF; CIOLI; UTZINGER, 2008; MEYER et al., 2009). O fármaco é estável e insolúvel em água em condições de temperatura ambiente, entretanto é bastante solúvel em solventes orgânicos como o clorofórmio (RIM; CHANG; LEE, 1981). Esse fármaco é uma mistura racêmica, mas apenas o “dextro” isômero possui atividade farmacológica (ANDREWS, 1985). A dose recomendada do praziquantel para o tratamento do *S. mansoni* e do *S. haematobium* é de 40 mg/kg (WU; WANG; HUANG, 2011). Cerca de 80 a 100% do fármaco é absorvido,

com meia vida no plasma de 1 a 3 horas e a sua eliminação ocorre principalmente pela urina e fezes (STEINER et al., 1976; ANDREWS, 1985).

O mecanismo de ação do praziquantel ainda não foi completamente elucidado (DOENHOFF; CIOLI; UTZINGER, 2008). Sabe-se que o praziquantel promove alteração na morfologia e na fisiologia do parasito levando a morte. Um alvo do praziquantel é o canal de cálcio voltagem dependente que regula o influxo de cálcio no citoplasma do parasito. O praziquantel também inibe transportadores de adenosina e se liga a canais antigênicos, ativando a resposta imune do hospedeiro (DOENHOFF; CIOLI; UTZINGER, 2008). Os efeitos desse fármaco no parasito são diversos: aumento da atividade motora, principalmente nos parasitos mais maduros, seguido de contrações musculares e formação de vesículas no tegumento (XIAO; CATTO; WEBSTER, 1985). As contrações musculares são as responsáveis pelo descolamento do parasito da parede das veias mesentéricas, enquanto que a vesiculação favorece a ruptura do tegumento e a exposição dos antígenos de superfície tornando o parasito susceptível a ataques pelo sistema imune do hospedeiro (HUANG et al., 2011). Os genes que foram induzidos na presença de praziquantel foram o precursor da superóxido dismutase, glicerol-3-fosfato desidrogenase, isocitrato desidrogenase e tioredoxina peroxidase (ARAGON et al., 2008, 2009). Isso significa que a resposta do *Schistosoma* ao praziquantel é semelhante à sua resposta ao estresse oxidativo.

A sensibilidade do parasito ao praziquantel é dependente de vários fatores como a fase de vida do parasito no hospedeiro, o sexo do parasito e se o mesmo está ou não pareado. Alguns parâmetros que determinam a sensibilidade do *Schistosoma sp.* ao praziquantel e a sua morte são: o grau de contração da musculatura, imobilidade e opacidade (PICA-MATTOCCIA; CIOLI, 2004). No início da infecção no período de cercária até os primeiros dias de infecção o parasito é susceptível ao praziquantel, mas com 2 a 4 semanas após a infecção, o parasito torna-se insensível ao fármaco. A susceptibilidade ao fármaco volta e permanece durante o resto da vida do parasito após 6 a 7 semanas da infecção. As desvantagens do fármaco praziquantel são: não eficaz contra os adultos jovens, pode ser tóxico devido ao enantiômero levógeno e em alguns casos causa alergia e reações de hipersensibilidade (SHEN et al., 2007; DOENHOFF; CIOLI; UTZINGER, 2008).

Um estudo de seleção de resistência *in vivo* realizado mostrou que o aumento gradual da dose administrada do praziquantel em camundongos infectados por *S. mansoni*

ao longo de sete passagens, resultou na sobrevivência de 93% dos camundongos infectados e na morte de 89% dos camundongos controle (não infectados) (FALLON; DOENHOFF, 1994). Associado a isso têm-se observado uma diminuição da susceptibilidade do *S. mansonii* ao praziquantel em focos endêmicos nas últimas décadas. Um exemplo é o norte do Senegal que apesar do tratamento com o praziquantel a taxa de cura dos indivíduos infectados foi muito baixa de 18-38%, sendo que o esperado em um tratamento com praziquantel é uma taxa de cura de 60-90% (DOENHOFF; CIOLI; UTZINGER, 2008). Acredita-se que essa taxa de cura baixa pode ter ocorrido devido alguns fatores como: resistência, infecção de alta intensidade, rápida reinfecção, grande quantidade de adultos jovens, técnicas de diagnóstico pouco sensíveis e tolerância nativa ao fármaco (FALLON et al., 1995; GRYSEELS et al., 2001).

No Egito alguns pacientes infectados, apesar da administração de três doses do Praziquantel, ainda continuavam eliminando ovos viáveis nas fezes e estudos posteriores confirmaram a redução da sensibilidade dos parasitos ao praziquantel (ISMAIL et al., 1999). Enfim, há um crescente número de relatos de casos de indivíduos que viajaram para áreas endêmicas e que não conseguiram se curar. Existe ainda muita especulação a respeito do mecanismo de resistência ao praziquantel. Acredita-se que a alteração na sequência de aminoácidos da subunidade  $\beta$  dos canais de cálcio voltagem dependente, seja responsável pela diminuição da susceptibilidade do parasito ao praziquantel (DOENHOFF; CIOLI; UTZINGER, 2008).

### **1.3.7 Descoberta e planejamento de fármacos**

A descoberta de um novo fármaco e o seu lançamento no mercado é um processo dispendioso (1,5 bilhões) e demorado (10 a 15 anos) devido as etapas do processo (pesquisa, fase pré-clínica e clínica) (TAMIMI; ELLIS, 2009). O objetivo das empresas farmacêuticas no desenvolvimento de fármacos abrange desde o desenvolvimento de fármacos para as doenças que não possuem tratamento, até a melhoria dos fármacos já existentes, tornando os mesmos mais seguros, eficazes e baratos (MIGNANI et al., 2016). Há uma falta de novos fármacos para as doenças que atingem as populações pobres em países em desenvolvimento, visto que o custo do processo de desenvolvimento é maior do que retorno financeiro após o lançamento do fármaco no mercado (TAMIMI; ELLIS, 2009). Essas empresas tendem a investir em doenças de alta prevalência: doenças cardiovasculares, diabetes, dislipidemias, artrite entre outras (KAKKAR; DAHIYA,

2014). Apenas cerca de 20 novos fármacos ou novas entidades moleculares anualmente são aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos (CHEN et al., 2015).

O primeiro passo na produção de um novo fármaco é a identificação de novos compostos líderes por meio de tecnologias como: *high throughput screening* (HTS) e *virtual screening* (VS). Por dia, a técnica de HTS que emprega ferramentas de robótica e computação testa bibliotecas com cerca de 120 mil compostos visando identificar alguns com atividade farmacológica (LOMBARDINO; LOWE, 2004). O modelo estatístico que relaciona a estrutura química com atividade de um composto, denominado de QSAR é usado para rastrear em bancos de dados compostos com estruturas químicas semelhantes em um processo denominado de VS (GUNER; BOWEN, 2013; SPECK-PLANCHE; CORDEIRO, 2015). Além dos modelos de QSAR, os modelos farmacofóricos podem prever as propriedades farmacológicas de um composto ADME/ Tox (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) (GUNER; BOWEN, 2013). O grau de afinidade entre um alvo biológico e o seu ligante é estudado por meio da técnica computacional *Docking* (PADHY; GUPTA, 2011).

Após a identificação do composto líder, o mesmo pode ser sintetizado e purificado utilizando de tecnologias de síntese como a reação de ligação carbono-carbono catalisada por metais e a purificação dos compostos pode ser feita por meio de equipamentos como a ressonância magnética nuclear e a cromatografia líquida de alta performance (LOMBARDINO; LOWE, 2004). Esses compostos líderes passam por etapas desde a sua descoberta até o seu lançamento no mercado. As etapas podem ser observadas na Figura 6. Após a pesquisa e as análises computacionais os compostos são testados em ensaios *in vitro*, bioquímico e com células para confirmar a sua potência e seletividade. Os ensaios *in vitro* e em animais determinam a farmacodinâmica e farmacocinética e a segurança de um composto. Após a fase pré-clínica o composto passa de um composto líder para ser denominado de candidato a um novo fármaco. O próximo passo são os testes em humanos essa etapa é denominada de fase clínica A fase clínica I cujo objetivo é avaliar a segurança do fármaco, farmacodinâmica, farmacocinética e tolerabilidade e abarca poucos indivíduos saudáveis (TAMIMI; ELLIS, 2009).

Se o fármaco for considerado seguro, a dose do mesmo determinada e a farmacocinética conhecida, o próximo passo é a fase clínica II, nessa fase o fármaco vai ser testado em uma população maior e doente para conhecer a sua eficácia. (TAMIMI;

ELLIS, 2009). A última etapa antes do fármaco ser lançado no mercado é a fase clínica III onde se estudam os efeitos adversos, nessa fase o fármaco será testado em uma população grande. Posteriormente ao seu lançamento no mercado, o fármaco continua sendo monitorado, fase clínica IV, principalmente para identificar efeitos adversos raros. Os efeitos adversos raros decorrem das diferenças genéticas do tipo polimórfica entre indivíduos, isso resulta em uma resposta farmacológica variada (ANTMAN; WEISS; LOSCALZO, 2012).

Os ensaios clínicos conduzidos no processo de desenvolvimento de fármacos fornece informações importantes para prever o custo do novo medicamento que será introduzido na prática médica (JONSSON, 2015). O patenteamento de um candidato a fármaco pode ocorrer posteriormente a fase pré-clínica ou posteriormente a fase clínica I ou II. A patente de um novo fármaco dura cerca de 25 anos e como o processo de desenvolvimento de um fármaco pode durar até 15 anos, ou seja, sobram só 10 anos para uma empresa recuperar todos os gastos desse processo (TAMIMI; ELLIS, 2009).

| Estratégia de Desenvolvimento de Fármaco      |                      |                                                                                                    |                                                                                   |                                        |
|-----------------------------------------------|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| Tecnologias auxiliares, Genômica e Proteômica | Pesquisa Pré-Clinica | Desenvolvimento pré-clínico, toxicológico, formulações, entrega de fármacos, farmacocinética, etc. | Desenvolvimento clínico, Fases Clínicas I-III, Regulações, Qualidade e Manufatura | Lançamento no mercado, Fase Clínica IV |

**Figura 6-** Estratégia de Desenvolvimento de Fármacos. Adaptado de (KAKKAR; DAHIYA, 2014).

### 1.3.8. Reposicionamento de fármacos

O reposicionamento *in silico* de fármacos é uma estratégia alternativa ao desenvolvimento de fármacos tradicional que busca novos usos terapêuticos para os fármacos que já são usados em humanos. A principal vantagem do reposicionamento é a diminuição do tempo e do custo do processo de desenvolvimento de um fármaco. O tempo do processo é reduzido devido ao conhecimento das propriedades farmacológicas do fármaco que vai ser reposicionado, como por exemplo, a farmacocinética, a farmacodinâmica e a toxicologia (ASHBURN; THOR, 2004). O reposicionamento também reduz as chances de fracasso de um fármaco na fase clínica em humanos e o tempo necessário para regulamentar o mesmo é reduzido. O custo do reposicionamento de um fármaco é baixo quando comparado ao processo tradicional, principalmente quando associado as técnicas computacionais as quais reduzem o número de ensaios *in*

*vitro* e *in vivo* realizados na busca de compostos ativos (DUDLEY; DESHPANDE; BUTTE, 2011).

Alguns princípios aplicados no reposicionamento são: a polifarmacologia que diz que um determinado alvo biológico pode estar presente em diferentes vias bioquímicas de diferentes processos patológicos e o *off target* que é quando um fármaco se liga a um alvo diferente do alvo terapêutico (KEISER et al., 2009). Esse efeito *off target* pode ser o responsável pelos efeitos adversos de muitos fármacos. Em média um único fármaco pode se ligar a seis receptores diferentes (KOCH; HAMACHER; NUSSBAUMER, 2014). Várias agências governamentais nos Estados Unidos desenvolveram programas para encontrar novos usos para os s terapêuticos que já são utilizados no tratamento de doenças (LANGEDIJK; MANTEL-TEEUWISSE; SLIJKERMAN, 2015).

O sildenafil, foi desenvolvido para o tratamento da angina e é utilizado no tratamento de disfunção erétil. A talidomida era utilizada no tratamento de enjoo matinal nas mulheres grávidas, mas devido ao fato de causar desfiguração nos recém-nascidos foi retirada do mercado. Esse fármaco mostrou eficaz no tratamento do eritema nodoso hansênico grave (WU; WANG; CHEN, 2013). O minoxidil foi desenvolvido para o tratamento da hipertensão e posteriormente aprovado pelo o *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos para o tratamento da calvície. Enfim, o raloxifeno que era utilizado no tratamento do câncer de mama é também eficaz no tratamento da osteoporose.

Os compostos antimaláricos artemeter e lumefantrina são ativos contra o *S. mansoni*. Esses compostos inibem a formação da hemozoína (KUMAR et al., 2007). O artemeter que é utilizado no tratamento da malária mostrou ser ativo em camundongo com uma redução de cerca de 83% dos parasitos imaturos (XIAO; CATTO, 1989). Esse composto mostrou ser mais eficaz contra a forma jovem do parasito do que contra o adulto e a sua eficácia aumenta quando combinado com o praziquantel (PÉREZ DEL VILLAR et al., 2012). No momento o fármaco artemether tem sido utilizado na prevenção da infecção pelo *S. mansoni*, é recomendado a administração de 6 mg/kg uma a duas semanas após o contato com água contaminada (UTZINGER et al., 2001).

Existem dificuldades no processo de reposicionamento principalmente quando a dose efetiva for maior que a empregada no tratamento original, a fase clínica I deve ser repetida e nesses casos pode ser que o candidato a um novo fármaco seja tóxico (ZHANG et al., 2014). Outra limitação é que muitos fármacos que estão no mercado estão em

patente dificultando o reposicionamento dos mesmos (PADHY; GUPTA, 2011). O uso de fármacos que ainda estão em fase clínica e que não foram pateados são interessantes para o reposicionamento e devem ser priorizados, principalmente os que já passaram pela fase clínica I (PADHY; GUPTA, 2011).

### **1.3.9. Ferramentas *in silico* de reposicionamento**

O reposicionamento *in silico* de fármacos baseia-se em diversas ferramentas computacionais como: a farmacogenômica, quimioinformática, a bioinformática entre outras ferramentas. A farmacogenômica é a convergência da genômica com a farmacologia e surgiu na tentativa de prever a resposta humana aos fármacos e entender os mecanismos genéticos importantes em uma resposta farmacológica (ANTMAN; WEISS; LOSCALZO, 2012). O objetivo da farmacogenômica é prever a eficácia de um fármaco e a sua segurança (WEN et al., 2015). O genoma do *S. mansoni* e o *S. haematobium* ainda não foi completamente anotado, todavia já se sabe que o genoma desses organismos é organizado em oito pares de cromossomos, sendo que sete pares são de cromossomos autossômicos e um par de cromossoma sexual (MOURÃO et al., 2012). O genoma do *S. mansoni* contém 11809 e o genoma do *S. haematobium* contém 13469 genes codificadores de proteínas. Além disso, o *S. mansoni* possui 205892 sequências expressas (EST) e o *S. japonicum* 103725 EST. A base de dados SchistoDB contém dados de genoma, os dados proteoma e os dados de metaboloma. A quimioinformática permite prever a interação entre ligante e alvos, essa análise pode ser feita identificando alvos similares ou ligantes similares e com isso identificar novos ligantes para um determinado alvo (KOCH; HAMACHER; NUSSBAUMER, 2014). Isso é possível devido ao princípio de que “alvos semelhantes podem interagir com ligantes semelhantes” (BREDEL; JACOBY, 2004; ROGNAN, 2007).

Atualmente, existe um grande número de bases de dados disponíveis gratuitamente na internet que auxiliam no processo de reposicionamento. Essas bases de dados possuem um grande número de compostos, cujos perfis farmacológicos estão cada vez mais completos. A base de dados *Therapeutic Drug Research* (TDR) contém informações de genomas de vários organismos, como por exemplo, o genoma do *S. mansoni* (AGÜERO et al., 2008). Essa base de dados se associa a diversas outras bases de dados como GenBak, SchistoDB, GeneDB e a base de dados *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG). A função da base de dados do KEGG é interpretar a

sequência de genomas e anotar o genoma, ou seja, armazenar informação a respeito da função dos genes e proteínas (OGATA et al., 2000). A função de cada gene é predita comparando o mesmo com os genes de organismos modelos como: *Caenorhabditis elegans*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium tuberculosis* and *Saccharomyces cerevisiae*. Essas informações são interessantes na identificação de potenciais novos alvos terapêuticos.

A base de dados *Drugbank* surgiu em 2006 e contém informações de cerca de 1500 fármacos e os seus alvos terapêuticos além das propriedades farmacológicas dos mesmos (RASK-ANDERSEN; ALMÉN; SCHIÖTH, 2011). Essa base de dados contém fármacos aprovados pelo FDA, nutracêuticos e fármacos não aprovados. De 4100 compostos apenas 1300 fármacos são aprovados para o uso em humanos. Outra base de dados que complementa as informações do *Drugbank* a respeito dos alvos e os seus fármacos é a base de dados *Therapeutic Target Database* (TTD). Essa base de dados possui informações a respeito dos alvos e dos fármacos aprovados para o uso em humanos e os fármacos que ainda estão em ensaio clínico, especialmente os alvos primários de cada fármaco (ZHU et al., 2009).

A base de dados do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) permite verificar o grau de similaridade entre duas proteínas por meio de análises de bioinformática. O alinhamento par a par de sequências denominado de *BLAST* é um procedimento que permite comparar duas sequências de aminoácidos visando identificar relações de similaridade entre os resíduos disponíveis na mesma ordem das sequências (AGARWAL; STATES, 1998). Essa técnica permite identificar sequências homologas, ou seja, se duas sequências compartilham um ancestral comum e a presença de sítios ativos conservados em ambas as proteínas e o grau de cobertura entre as proteínas. O valor de *E-value* (valor esperado, do inglês, *expectation value*) é um parâmetro estatístico que descreve o número esperado de vezes que uma homologia pode ocorrer ao acaso a partir de um determinado número de ensaios. O *Overlap* é um valor calculado no *BLAST* que determina o grau de cobertura entre as proteínas. O *Consurf* é uma ferramenta que avalia os aminoácidos funcionais conservados em uma proteína opor meio de análises filogenéticas, essa informação é usada no cálculo do grau de conservação do sítio ativo de uma proteína (ZAWAIRA; SHIBAYAMA, 2012).

## 2.0. JUSTIFICATIVA

A esquistossomose é uma doença tropical negligenciada que afeta cerca de 8 milhões de pessoas no Brasil e cerca de 240 milhões de pessoas no mundo. Essa doença é incapacitante podendo provocar a hepatoesplenomegalia e a hipertensão portal e em casos graves a neuroesquistossomose. O único fármaco que é utilizado para o tratamento e para o controle da doença por meio da quimioterapia nas áreas endêmicas é o praziquantel. Esse fármaco mostrou causar reações alérgicas e de hipersensibilidade, além de não ser eficaz no tratamento no início da infecção. Estudos em laboratório de seleção de resistência *in vivo*, mostrou que o *S. mansoni* pode tornar-se resistente ao praziquantel. Análise da população tratada com o praziquantel mostrou uma diminuição da susceptibilidade do parasito ao praziquantel nas áreas endêmicas.

A descoberta de um novo fármaco e o lançamento do mesmo no mercado depende de vários fatores e é um processo de alto custo e dispendioso. Há pouco tempo as empresas farmacêuticas aumentaram o seu investimento na busca de novos fármacos para as DTN's e novas estratégias de descoberta de novos fármacos estão sendo empregadas para reduzir o tempo e o custo do processo. O reposicionamento *in silico* é uma estratégia que associa a bioinformática, a genômica e a proteômica na busca de novos usos terapêuticos para os fármacos existentes.

Neves e colaboradores identificou cerca de 2,016 genes do *S. mansoni* que foram diferencialmente expressos nas fases de esquistossômulo e adulto. Os alvos do *S. mansoni* homólogos mostraram ser interessantes alvos terapêuticos, já que fazem parte de processos importantes para o parasito como a manutenção da homeostase do cálcio, proteínas que regulam o dobramento de outras proteínas, entre outros processos. Este trabalho diferencia-se do trabalho de Neves e colaboradores, pois busca novos alvos terapêuticos do *S. mansoni* que fazem parte de processos essenciais a sobrevivência do parasito.

### **3.0. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Reposicionar por meio de ferramentas *in silico* fármacos já aprovados em humanos para o tratamento da esquistossomose.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Identificar e selecionar potenciais novos alvos terapêuticos que fazem parte da morfologia, tegumento, crescimento, mobilidade e metabolismo energético do *S. mansoni*.
- Realizar uma busca por ligantes aos potenciais alvos do *S. mansoni* em base de dados de fármacos que foram aprovados em humanos.
- Confirmar a homologia entre os alvos e o grau de conservação do sítio ativo.
- Selecionar fármacos para serem testados em ensaios *in vitro*.

## 4.0. MÉTODOS

Este trabalho baseia-se no uso de ferramentas *in silico* e dos conhecimentos do genoma do *Schistosoma mansoni* para reposicionar fármacos para o tratamento da esquistossomose mansônica humana e baseou-se em estudos anteriores (NEVES et al., 2015).

### 4.1. Compilação de uma lista com os alvos do *S. mansoni*

Compilou-se uma lista de dados com os potenciais novos alvos terapêuticos (genes codificadores de proteínas) do *S. mansoni* encontrados na base de dados *Therapeutic Drug Research (TDR Targets)* que faziam parte das seguintes vias essenciais do parasito: *growth defect* (defeito de crescimento), *larval/adult lethal arrest* (mobilidade da larva e do adulto), *morphology defect* (defeito na morfologia). Obteve-se também os genes que faziam parte da via metabólica do *KEGG: energy metabolism* (metabolismo energético). Os alvos do *S. mansoni* que faziam parte do tegumento foram obtidos em artigos científicos usando o seguinte termo chave: “proteome” OR/AND “*Schistosoma mansoni*” OR/AND “tegument”). A anotação das proteínas dos alvos do *S. mansoni* e a sequência de aminoácidos no formato *FASTA* foram obtidas na base de dados *GeneDB*.

### 4.2. Identificação dos alvos de fármacos homólogos aos alvos do *S. mansoni*

Por meio da sequência *FASTA* das proteínas do *S. mansoni* foi feita uma busca na base de dados *Therapeutic Targets Database (TTD)* e a base de dados *Drugbank* visando identificar as sequências dos alvos de fármacos aprovados ou em fase clínica II e III em humanos. Essa busca permitiu identificar alvos de fármacos que apresentavam elevada homologia com os alvos do *S. mansoni*. Os alvos de fármacos aceitos foram aqueles cujo valor do *Expectation value (E-value)* foi inferior a  $10^{-20}$ . Os alvos de fármacos considerados nutracêuticos ou anticorpos monoclonais não foram incluídos no estudo, uma vez sendo improvável eles terem atividade esquistossomicida. As duplicatas e/ou alvos fármacos descritos em outro estudo foram excluídos (NEVES et al., 2015).

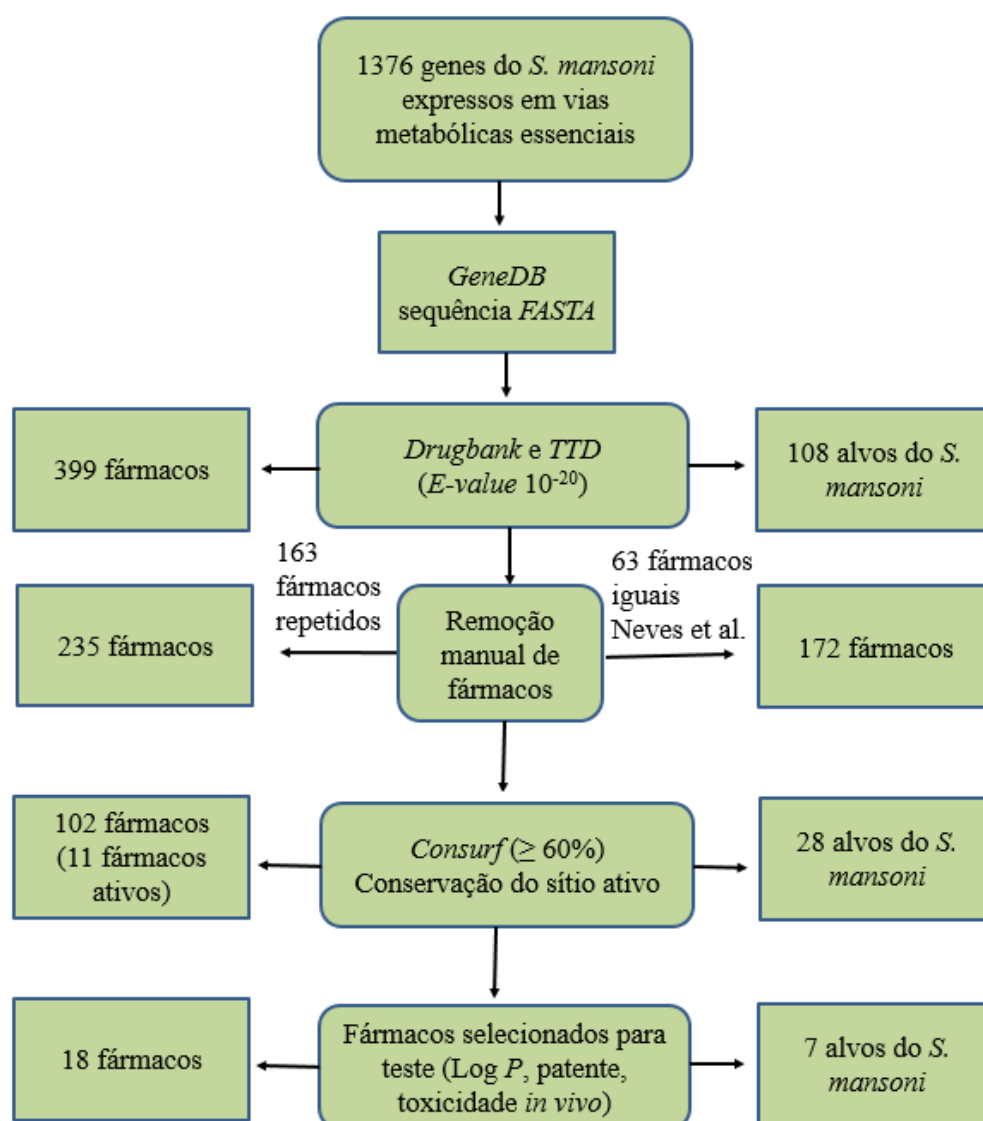
### 4.3. Alinhamento par-a-par e comparação de regiões funcionais entre os alvos

Confirmou-se a homologia entre os alvos dos fármacos e os alvos do *S. mansoni* por meio da análise de *BLAST* realizada na base de dados do NCBI. O valor de *Overlap* obtido permitiu determinar o grau de cobertura entre os alvos e o valor de *Identity* permitiu dizer o grau de similaridade entre as sequências. O próximo passo foi à análise de conservação do sítio ativo entre os alvos. O servidor *Consurf* determinou os aminoácidos funcionais dos alvos dos fármacos, ou seja, quais aminoácidos fazem parte do sítio ativo e interagem com os fármacos. O grau de conservação do sítio ativo dos alvos dos fármacos quando comparado com os alvos do *S. mansoni* foi determinado comparando visualmente a sequência dos aminoácidos funcionais dos alvos homólogos. Os resultados foram considerados satisfatórios quando o grau de conservação dos resíduos do sítio ativo foi superior ou igual a 60%. Os alvos preditos com um grau de conservação do sítio ativo inferior a 60% foram descartados.

#### **4.4. Seleção dos fármacos para serem testados em ensaios *in vitro***

Pesquisou-se em artigos científicos os fármacos que já possuem atividade esquistossomicida. Após a remoção dos fármacos com atividade comprovada selecionou-se alguns fármacos que possuíam um baixo custo de acordo com o site de compras de compostos químicos *Sigma*. Posteriormente avaliou-se: a patente, a toxicidade *in vivo* e o valor do coeficiente de partição octanol/água ( $\log P$ ). A patente do fármaco foi verificada por meio dos seguintes sites: *Google patent*, *WIPO* e *Scifinder*. O valor do  $\log P$  foi obtido na base dados do *Drugbank* e os valores de toxicidade *in vivo* na literatura científica.

## 5.0. RESULTADOS



**Figura 7**-Fluxograma dos resultados encontrados no estudo do reposicionamento *in silico* de fármacos para a esquistossomose.

### 5.1. Compilação de uma lista com os alvos do *S. mansoni*

Os alvos do *S. mansoni* que fazem parte das seguintes vias essenciais: crescimento, morfologia, mobilidade da larva e adulto e metabolismo energético do parasito foram obtidos na base de dados do *TDR* e os alvos pertencentes ao tegumento foram obtidos em artigos científicos da base de dados do *Pubmed*. (Figura 8.) Do total de 3492 alvos do *S. mansoni*, 2116 alvos foram removidos por terem sido encontrados em estudos anteriores, o resultado foi 1376 alvos (NEVES et al., 2015). Esses 1376 alvos são interessantes como potenciais novos alvos de fármacos.

| <i>TDR Targets e PubMed</i> |                              |
|-----------------------------|------------------------------|
| Alvos                       | Vias metabólicas essenciais  |
| 59                          | Metabolismo energético       |
| 995                         | Morfologia                   |
| 1009                        | Mobilidade da larva e adulto |
| 995                         | Crescimento                  |
| 434                         | Tegumento                    |
| 3492                        | Total                        |

**Figura 8-**Alvos do *S. mansoni* resultantes da busca nas bases de dados *TDR Targets* e *Pubmed*

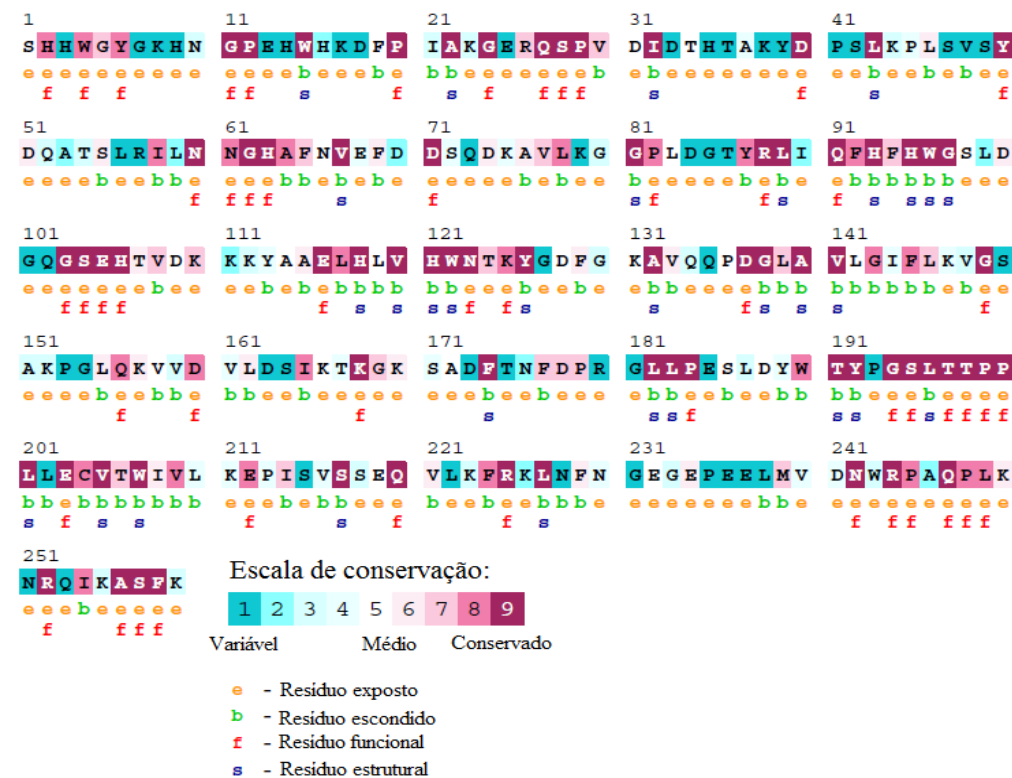
## 5.2. Identificação dos alvos de fármacos homólogos aos alvos do *S. mansoni*

Buscou-se dentre os 1376 alvos do *S. mansoni* os alvos homólogos a alvos de fármacos em uso em humanos nas seguintes bases de dados: *TTD* e *Drugbank*. Para ambas as bases de dados respeitou-se o valor de *E-value* menor ou igual a  $10^{-20}$ . No *TTD* foram encontrados 40 alvos do *S. mansoni* homólogos a alvos de fármacos associados a 197 fármacos. No *Drugbank* foram encontrados 68 alvos do *S. mansoni* homólogos a alvos de fármacos associados a 202 fármacos. O resultado foi 108 alvos do *S. mansoni* homólogos associados a 399 fármacos, após a remoção dos fármacos duplicados (163 fármacos) e os fármacos presentes no estudo de Neves e colaboradores (63 fármacos) restou 172 fármacos (Figura 7) associado a 58 alvos do *S. mansoni*.

## 5.3. Alinhamento par-a-par dos alvos e comparação das regiões funcionais

Dos 58 alvos do *S. mansoni* apenas 28 alvos associados 102 fármacos possuíam 60% do sítio ativo conservado com alvos de fármacos. Os resultados dos 102 fármacos encontrados podem ser visualizados na tabela do anexo 1. Identificou-se inicialmente os aminoácidos funcionais dos alvos dos fármacos por meio do servidor *Consurf* e então comparando manualmente a sequência de aminoácido entre os alvos, descobriu-se a porcentagem do sítio ativo conservado entre os alvos. A Figura 9 exemplifica como foi feito a análise da conservação do sítio ativo para a anidrase carbônica II. A anidrase carbônica II do *S. mansoni* teve 77% do seu sítio ativo conservado quando comparado com a anidrase carbônica II humana. A maioria dos alvos fazem parte do processo de

mobilidade do parasito ou fazem parte do tegumento. Dos alvos encontrados neste estudo apenas o alvo manose-6-fosfato isomerase possui homologia com um alvo de fármaco do organismo *Escherichia coli*, os outros alvos possuem homologia com alvos do organismo *Homo sapiens*.



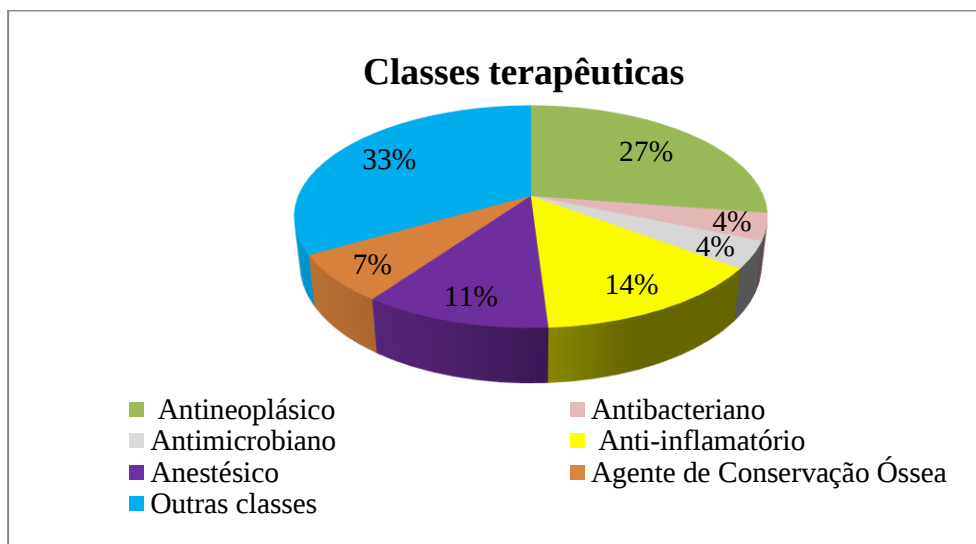
## Anidrase carbônica II

|                                |                                                                                                                      |     |
|--------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Alvo do Fármaco 4              | MGYGKHNGPEHWHKDFPIAKGERQSPVDIDTHTAKYDPSLKPLSVSYDQATSLRILNNGG                                                         | 63  |
| Alvo do <i>Schistosoma</i> 3   | + YG+ NGP W FP A G +QSP++++T + + D SL P++V +++ + + F<br>YCYGEKNGPHTWVLRFPNAGGFKQSPINLNTMSMRIDESLTPINVDFNELQNQTLHVKDF | 62  |
| Alvo do Fármaco 64             | AFNVEFD DSQDKAVLKGGLDGTYRLIQFHFHWGSLDGGSEHTVDKKKYAAELHLVHWN                                                          | 123 |
| Alvo do <i>Schistosoma</i> 63  | F+VE + AVL GGPL Y+L QFH HWGS + GSEH ++ AELH V N<br>NFSVEV - KGNVLSGGELTSEYKLTQFHLHWGSGNNMGSEHMINGISCPAELHCVFIN       | 119 |
| Alvo do Fármaco 124            | TKYGDGFKAVQQPDGLAVLGIFLKVGSA---KPGIQKVVLDVLSIKTKGKSADFT-NFDP                                                         | 179 |
| Alvo do <i>Schistosoma</i> 120 | TKY A+ DGL+V+GIF ++G + I+++ +L S K KG+S D D<br>TKYATMETAITYSGLSVVGIFFLGKSSNNNNALKRLCTLLKSTK-KGESKDIIQPLDL            | 178 |
| Alvo do Fármaco 180            | RGLLPESLD-YWTPGSLTTPPLLECVTWIVLKEPISVSSEQVLKFRKLNFNGEPEEL                                                            | 238 |
| Alvo do <i>Schistosoma</i> 179 | LLP L Y+TY GSLTTPP ECVTWIVL EP+ ++ +Q+ R+++ N +<br>NTLLPNDLSRYTYSGSLTTPPCNECVTWIVLDEPVMTIDCLETRQMHANCVCQ--           | 236 |
| Alvo do Fármaco 239            | MVDNWRPAQPLKNRQIKASFK                                                                                                | 259 |
| Alvo do <i>Schistosoma</i> 237 | DNWRP F+ +R ++ SF+<br>-TDNRPICPIGSRSVRCR                                                                             | 256 |

77% regiões funcionais conservadas  
 23% regiões funcionais não conservadas  
 53 regiões funcionais totais

**Figura 9-** Exemplo da análise da conservação do sítio ativo da anidrase carbônica II. O resultado o *Consurf* mostra os aminoácidos funcionais da anidrase carbônica II de *Homo*

*sapiens* (CA2), sendo os aminoácidos com a letra *f* em baixo os aminoácidos funcionais e os com a letra *s* os aminoácidos estruturais. A comparação manual dos aminoácidos funcionais da anidrase carbônica II do *Homo sapiens* e a anidrase carbônica II do *S. mansoni* mostrou que 77% do sítio ativo conservado entre os alvos.



**Figura 10**-Porcentagem das classes terapêuticas dos 102 fármacos encontrados no estudo que tiveram 60% ou mais do sítio ativo conservado.

#### 5.4. Fármacos encontrados no estudo e selecionados para teste

As classes terapêuticas dos 102 fármacos encontrados no estudo podem ser observadas na Figura 9. A maioria dos fármacos encontrados pertencia a classe dos antineoplásicos e outras classes terapêuticas. A pesquisa na literatura científica mostrou que dentre os fármacos encontrados no estudo, alguns já são ativos contra o *S. mansoni* e validam este estudo, como por exemplo: lumefantrina, lucantona ciclossporina, artemeter, entre outros (Tabela 1)

**Tabela 1**- Fármacos com atividade esquistossomicida comprovada na literatura encontrados neste estudo.

| Alvo do <i>S. mansoni</i>                 | Processo Biológico            | Fármaco       | Classe do Fármaco    | Referencia                     |
|-------------------------------------------|-------------------------------|---------------|----------------------|--------------------------------|
| 3',5' - AMP e GMP cíclico fosfodiesterase | Metabolismo de purina         | Dipiridamol   | Agente Vasodilatador | (EL KOUNI; MESSIER; CHA, 1987) |
| 6-Fosfogluconato desidrogenase            | Via de biossíntese da pentose | Meloxicam     | Anti-inflamatório    | (MOHAMED et al., 2006)         |
| Calcineurina                              | Regula o transporte de cálcio | Ciclossporina | Imunossupressor      | (TALLA et al., 1998).          |

|                                        |                                |               |                     |                                 |
|----------------------------------------|--------------------------------|---------------|---------------------|---------------------------------|
| Canais de sódio-potássio ATPase        | Transporte de sódio e potássio | Artemeter     | Antimalárico        | (XIAO; CATTO, 1989)             |
| Canais de sódio-potássio ATPase        | Transporte de sódio e potássio | Lumefantrina  | Antimalárico        | (KUMAR et al., 2007).           |
| DNA topoisomerase II                   | Replicação do DNA              | Lucantona     | Antineoplásico      | (THÉTIOT-LAURENT et al., 2013). |
| Glutamato desidrogenase                | Biossíntese do etileno glicol  | Hexaclorofeno | Anti-infectivo      | (PANIC et al., 2015)            |
| Serina-treonina proteína quinase       | Biossíntese do óxido nítrico   | Perifosina    | Antineoplásico      | (YEPES et al., 2014)            |
| Transportador de sódio-potássio ATPase | Transporte de sódio e potássio | Ouabaína      | Agente Cardiotônico | (FETTERER et al., 1981)         |
| Transportador de sódio-potássio ATPase | Transporte de sódio e potássio | Digoxina      | Antiarritmia        | (FETTERER et al., 1981)         |

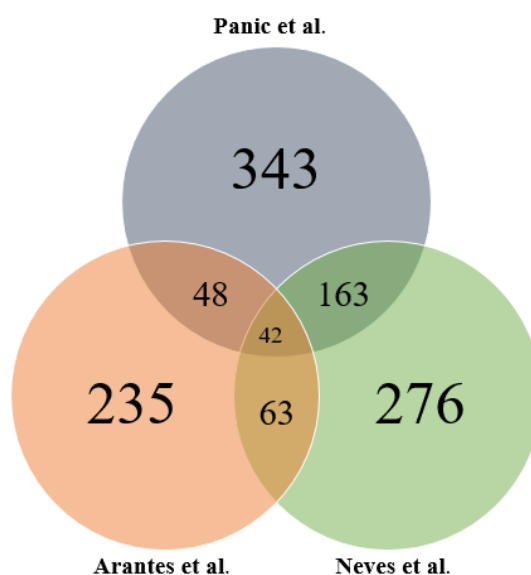
Dentre os fármacos de baixo custo alguns foram selecionados para serem testado usando os seguintes critérios: patente expirada, valor de Log *p* e baixa toxicidade *in vivo*. Os fármacos selecionados para serem testados *in vitro* estão na tabela 2. Dentre os 399 fármacos encontrados nas bases de dados do *Drugbank* e *TTD* após a remoção das duplicatas, 235 fármacos restaram e foram comparados com os fármacos encontrados nos estudos de Neves e colaboradores e Panic e colaboradores (Figura 11).

**Tabela 2**-A lista dos fármacos para o teste em ensaios *in vitro* dentre os fármacos encontrados neste estudo.

| Alvo do <i>S. mansoni</i>                | Processo Biológico          | Fármaco           | Log <i>p</i> | Toxicidade <i>in vivo</i> LD50 (camundongo) |
|------------------------------------------|-----------------------------|-------------------|--------------|---------------------------------------------|
| Aldoceto redutase I                      | Oxidação e Redução          | Doxorubicina      | 1.27         | 570mg/kg oral                               |
| Mannose-6-fosfato isomerase              | Metabolismo de Carboidrato  | Sulfanilamida     | -0.62        | 3000mg/kg oral                              |
| Transportador catiônico de aminoácido    | Transporte de aminoácido    | Sulfassalazina    | 2.5          | 12500 mg/kg oral                            |
| Transportador de aminoácido y            | Transporte de aminoácido    | Levotiroxina      | 4            | 10000 mg/kg oral                            |
| Tubulina                                 | Movimentação do microtúbulo | 2-Metoxiestradiol | 3.7          | 3450 mg/kg oral                             |
| 3',5'- AMP e GMP cíclico fosfodiesterase | Transdução de sinais        | Sildenafil        | 1.9          | 1000 mg/kg oral                             |

|                                             |                         |                |       |                                |
|---------------------------------------------|-------------------------|----------------|-------|--------------------------------|
| 3',5'- AMP e GMP<br>cíclico fosfodiesterase | Transdução de<br>sinais | Vardenafila    | 1.4   | 1000 mg/kg oral                |
| DNA topoisomerase II                        | Replicação do<br>DNA    | Ciprofloxacino | 0.28  | 5000 mg/kg oral                |
| DNA topoisomerase II                        | Replicação do<br>DNA    | Pefloxacina    | 0.27  | 4000mg/kg oral                 |
| DNA topoisomerase II                        | Replicação do<br>DNA    | Lomefloxacina  | -0.30 | 4000mg/kg oral                 |
| DNA topoisomerase II                        | Replicação do<br>DNA    | Norfloxacino   | -1.03 | 4000mg/kg oral                 |
| DNA topoisomerase II                        | Replicação do<br>DNA    | Sparfloxacino  | 2.5   | 2000mg/kg oral                 |
| DNA topoisomerase II                        | Replicação do<br>DNA    | Levofloxacina  | 2.1   | 1803 mg/kg oral                |
| DNA topoisomerase II                        | Replicação do<br>DNA    | Moxifloxacina  | 2.9   | 300 mg/kg oral                 |
| DNA topoisomerase II                        | Replicação do<br>DNA    | Gatifloxacina  | 2.6   | 300 mg/kg oral                 |
| DNA topoisomerase II                        | Replicação do<br>DNA    | Novobiocina    | 4.1   | 1500 mg/kg oral                |
| DNA topoisomerase II                        | Replicação do<br>DNA    | Etoposídeo     | 0.60  | 215 mg/kg oral                 |
| DNA topoisomerase II                        | Replicação do<br>DNA    | Teniposídeo    | 1.24  | 29570 µg/kg<br>intraperitoneal |

\*Todos os fármacos possuem patentes expiradas.



**Figura 11-** Esse gráfico mostra a comparação dos fármacos potencialmente ativos no *S. mansoni* no adulto e no jovem em estudos de reposicionamento (NEVES et al., 2015; PANIC et al., 2015).

## 6.0. DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi reposicionar fármacos já aprovados em humanos ou usados em ensaios clínicos para o tratamento da esquistossomose. A identificação de fármacos potencialmente ativos contra a esquistossomose foi feita por meio da técnica de análise de similaridade entre alvos, comparando a sequência proteica de alvos do *S. mansoni* com a sequência proteica de alvos de fármacos em uso em humanos. Este trabalho diferenciou-se do trabalho de Neves e colaboradores em relação ao critério de seleção dos alvos do *S. mansoni*. Os genes do *S. mansoni* selecionados são importantes para a sobrevivência do parasito e para o seu desenvolvimento como: metabolismo energético, tegumento, morfologia, crescimento e mobilidade da larva e do adulto. Os 1376 genes encontrados no estudo são interessantes novos alvos de fármacos.

Posteriormente a construção da compilação da lista com os genes codificadores de proteínas do *S. mansoni*, a sequência proteica desses genes no formato *FASTA* foi utilizada na busca por alvos de fármacos homólogos aos alvos do *S. mansoni*. A busca por similaridade é uma ferramenta da bioinformática que permite identificar proteínas homólogas, ou seja, proteínas que originaram de um ancestral em comum e que provavelmente possuem a mesma função (VERLI, 2014). Os alvos encontrados possuíam um valor de *E-value* inferior ou igual à  $10^{-20}$ . O valor de *E-value* baixo é interessante, pois garante que a homologia é devido ao grau de similaridade entre os alvos e não devido ao acaso e isso assegura a confiabilidade dos resultados. A maioria dos alvos do *S. mansoni* possuíam homologia com alvos de fármacos humano, isso significa que além do fármaco se ligar a proteínas do *S. mansoni* o mesmo se liga as proteínas humanas. Para o reposicionamento isso não é necessariamente um problema, visto que a dose para o efeito terapêutico de um fármaco pode variar muito no tratamento de doenças distintas, as vezes sendo abaixo da dose tóxica.

O valor obtido do *BLAST* em porcentagem determina o grau similaridade entre as proteínas. O valor de *Overlap* encontrado foi calculado relacionando a sequência proteica do alvo fármaco com a sequência do alvo do *S. mansoni*, a porcentagem do *Overlap* diz qual a porcentagem da sequência proteica do alvo do fármaco que está contida na sequência proteica do alvo do *S. mansoni*. Quanto maior o valor de *Overlap* melhor, pois garante que as interações entre a micromolécula e a macromolécula tem alta probabilidade de ocorrer culminando na atividade farmacológica. O *Consurf* avalia quais aminoácidos são estruturais e funcionais para uma proteína, podendo calcular a

porcentagem da conservação do sítio ativo entre os alvos homólogos, podendo desempenhar a atividade farmacológica desejada.

Dos 1376 potenciais novos de fármacos somente 108 alvos do *S. mansoni* possuíam homologia com alvos de fármacos e esses estavam associados a 399 fármacos, ou seja, pode haver mais um fármaco capaz de se ligar em um mesmo alvo. Após a remoção dos 163 fármacos repetidos restou 235 potenciais novos fármacos 48 fármacos estavam presentes no trabalho de Panic e colaboradores e 63 fármacos presentes no trabalho de Neves e colaboradores, sendo que 42 dos fármacos estavam presentes em ambos os trabalhos (NEVES et al., 2015; PANIC et al., 2015) (Figura 10). O rol exemplificativo dos fármacos encontrados em todos os três trabalhos: alendronato, vinblastina, cisplatina, mefloquina. Os fármacos encontrados são potencialmente ativos no adulto e no esquistossômulo.

Os fármacos encontrados no trabalho de Neves e colaboradores foram removidos restando 172 fármacos dos 235 iniciais os quais apenas 102 associados a 28 alvos possuíam 60% ou mais do sítio ativo conservado (NEVES et al., 2015). Dos alvos encontrados a maioria faziam parte da morfologia e do tegumento do parasito. Esse resultado é interessante, pois a maioria dos fármacos esquistossomicidas no mercado, como por exemplo o praziquantel, atuam na morfologia ou no tegumento do parasito (DOENHOFF; CIOLI; UTZINGER, 2008). Dentre os potenciais novos alvos terapêuticos muitos são interessantes como por exemplo: a DNA topoisomerase II, a calmodulina, transportadores de aminoácidos e metais e enzimas do metabolismo energético. De acordo com a literatura científica, dentre os fármacos encontrados alguns já demonstraram ter atividade esquistossomicida literatura (Tabela 1). Após a remoção dos fármacos ativos, 18 fármacos de baixo custo foram selecionados para serem testados em ensaios *in vitro* usando os critérios de baixa toxicidade *in vivo*, patente expirada e um valor de log *p* intermediário.

Um fármaco que ainda está em patente deve ser utilizado em último caso no reposicionamento, pois a dificuldade de produção do mesmo em larga escala torna o reposicionamento do mesmo inviável para o tratamento de um DTN. As DTN atingem principalmente países com populações com uma renda econômica baixa, logo é importante que os fármacos usados no tratamento das DTN possuam um baixo custo. A toxicidade *in vivo* é um critério importante na seleção dos fármacos, pois um fármaco que é tóxico em um animal, como por exemplo, em camundongo provavelmente será tóxico

em humano. O valor de  $\log P$  é um critério interessante de seleção, pois indica o grau de hidrofobicidade e lipofilicidade de um determinado composto, é interessante um fármaco ter um valor de  $\log P$  intermediário cerca de dois (LIPINSKI et al., 2012). O valor de  $\log P$  adequado garante que o fármaco seja absorvido por via oral e seja bem distribuído nos tecidos pelo plasma.

De acordo com a literatura dentre os fármacos encontrados no estudo que alguns já possuem atividade esquistossomicida e são interessantes para validar o estudo são eles: dipiridamol, meloxicam, ciclosporina, artemeter, lumefantrina, lucantona, hexaclorofeno, perifosina, ouabaína e digoxina. Esses resultados podem ser encontrados na tabela 1 dos resultados. O dipiridamol, um análogo tóxico de nucleosídeo, quando coadministrado com um inibidor de transporte de nucleosídeo promoveu a morte do *S. mansoni* e a sobrevivência do hospedeiro (EL KOUNI; MESSIER; CHA, 1987). O meloxicam é um inibidor da ciclooxigenase-2 (COX-2) e mostrou ter atividade contra o *Schistosoma*, pois houve uma redução na carga parasitária e no número de ovos quando combinada com o praziquantel promoveu a erradicação do parasito (MOHAMED et al., 2006). Nos meus resultados o meloxicam mostrou inibir a enzima 6-fosfogluconato desidrogenase que é importante na via das pentoses, pois ela converte a glicose-6-fosfato e o NADP(+) em 6-fosfogluconato e NADPH (BÁNHEGYI; CSALA; BENEDETTI, 2009).

A ciclosporina é um agente imunossupressor que promove a alteração do tegumento e do sistema digestivo do parasito e com isso possui atividade esquistossomicida (SERRA; LARDANS; DISSOUS, 1999). Acredita-se que a ciclosporina se liga nas proteínas da família das ciclofilina (CYP) que são importantes no processo de dobragem das proteínas que são produzidas no retículo endoplasmático e que são transportadas para a superfície (SERRA; LARDANS; DISSOUS, 1999). Nas células dos mamíferos a ciclosporina se liga as CYP e inibe a calcineurina que é uma fosfatase dependente de calmodulina (SERRA; LARDANS; DISSOUS, 1999). A calcineurina é importante pois a mesma promove a desfosforilação do fator de transcrição NF-AT (SERRA; LARDANS; DISSOUS, 1999).

No *S. mansoni* o fator de transcrição NF-AT é importante na regulação da expressão da proteína Sm28GST que é uma enzima antioxidante com atividade de glutathione-S-transferase e que é importante no desenvolvimento do tegumento e na sobrevivência do parasito (SERRA; LARDANS; DISSOUS, 1999). Os resultados indicam que a ciclosporina se liga à calcineurina e promove a inibição da mesma e a

inibição da ativação do fator de transcrição NF-AT não e com isso a expressão da Sm28GST é prejudicada.

Os seguintes compostos antimaláricos mostraram ter atividade esquistossomocida: artemeter, lumefantrina e lucantona. O mecanismo de ação do artemeter e lumefantrina é a inibição da formação da hemozoína, importante para a detoxificação do grupo heme no *S. mansoni* (KUMAR et al., 2007). O artemeter que é utilizado no tratamento da malária mostrou ser ativo em camundongo com uma redução de cerca de 83% dos parasitos imaturos (XIAO; CATTO, 1989). Esse composto mostrou ser mais eficaz contra a forma jovem do parasito do que contra o adulto e a sua eficácia aumenta quando combinado com o praziquantel (PÉREZ DEL VILLAR et al., 2012). A Lucantona é um análogo do miracil A e mostrou ser ativo *in vivo*, mas não *in vitro*, pois o mesmo deve ser biotransformado no hospedeiro e transformado em hicantona que é a sua forma ativa (THÉTIOT-LAURENT et al., 2013). A lucantona foi descontinuada devido ao fato de causar hepatotoxicidade e teratogênia (THÉTIOT-LAURENT et al., 2013).

O composto hexaclorofeno mostrou ser um bom agente profilático em área de risco, pois o mesmo impede a penetração da cercaria pela pele e consegue ficar na pele por até 48 horas após várias lavagens (FRIPP; ARMSTRONG, 1974). A perifosina faz parte de uma família de compostos sintéticos denominados de análogos alquilfosfolípideo (APL) que possuem estruturas semelhantes como: eldefosina, miltefosina entre outros e que possuem atividade esquistossomicida (YEPES et al., 2014). Nos resultados a perifosina se liga à rac-alfa serina treonina proteína quinase, também denominada de proteína quinase B ou Akt. As APL promovem a morte do *S. mansoni* por meio da indução da apoptose e alteração das membranas celulares (YEPES et al., 2014).

Os resultados observados em experimentos foram: redução na mobilidade do parasito, paralise da ventosa oral e acetabular, aumento na permeabilização da membrana por meio da indução da apoptose por meio da interação com as membranas celulares (YEPES et al., 2014). A ouabaína causa contração espontânea da musculatura do parasito e a tensão da contração aumenta com o aumento da dose, sendo que a dose de  $3 \times 10^{-6}$  M ocorre a morte do parasito (FETTERER et al., 1981). A digoxina atua de maneira semelhante a ouabaína, contudo é menos eficaz. A digoxina e a ouabaína são inibidores de canais de sódio-potássio e o seu mecanismo de ação é por meio da alteração do potencial de membrana.

Os alvos e fármacos selecionados para teste estão na tabela 2. Os seguintes alvos foram selecionados: aldoceto redutase, manose-6-fosfato isomerase, tubulina, 3'-5' AMP e GMP cíclico fosfodiesterase, 6-fosfogluconato desidrogenase, DNA topoisomerase II e transportadores de aminoácidos. As *aldoketo reductase* (AKR) são uma superfamília de oxidoreductase com mais de 100 membros identificados divididos em 6 subgrupos distintos de acordo com a sequência de aminoácidos (GAUDET et al., 2003). A maioria das AKR usam o NAD (P)(H) como cofator em reações químicas de redução de: aldeídos, monossacarídeos, esteroides, prostaglandinas, hidrocarbonetos aromáticos, etc. (GAUDET et al., 2003).

No *Echinostoma caproni* um trematódeo, cujo hospedeiro intermediário é o mesmo hospedeiro do *Schistosoma mansoni*: o caramujo *Biomphalaria glabrata*, a AKR é uma enzima antioxidante que promove a detoxificação dos produtos da peroxidação lipídica (GUILLOU et al., 2007). O hospedeiro intermediário reage a presença do parasito por meio da produção de *reactive oxygen species* (ROS) (GUILLOU et al., 2007). As ROS promovem uma peroxidação da membrana lipídica do parasito e uma das consequências dessa peroxidação lipídica é a produção de aldeídos, os quais modificam as proteínas do parasito por carbonilação (GUILLOU et al., 2007). A enzima AKR, por conseguinte, reduz a maioria dos aldeídos dos fosfolípidos reduzindo com isso o impacto da peroxidação lipídica induzida pelo hospedeiro (GUILLOU et al., 2007).

A mannose é um açúcar simples que dependendo do seu nível no organismo pode causar complicações boas ou ruins, desde a produção de energia que é essencial para a sobrevivência dos organismos até a cegueira em camundongos e levar a complicações da diabetes no humano (SHARMA; ICHIKAWA; FREEZE, 2014). A mannose quando fosforilada pela hexoquinase produz a mannose-6-fosfato que serve de substrato para três enzimas importantes: hexoquinase, mannose-6-fosfato isomerase e a mannose-6-fosfato mutase (SHARMA; ICHIKAWA; FREEZE, 2014). A mannose-6-fosfato isomerase faz parte da via glicolítica e é essencial no metabolismo energético de carboidratos de diversos organismos. O artemeter além da sua atividade esquistossomicida estar relacionado com a produção de hemozóina, esse fármaco também mostrou inibir enzimas importantes no metabolismo do carboidrato como a mannose-6-fosfato isomerase (ZHAI et al., 2000).

O tegumento do schistosoma adulto é composto por duas bicamadas lipídicas na superfície e uma camada continua de células denominada de sincício. Algumas moléculas

como a glicose conseguem atravessar essa barreira, outras moléculas necessitam de transportadores específicos (SKELLY et al., 2014). Alguns transportadores de aminoácidos, importantes para a nutrição do parasito e absorção desses nutrientes, já foram caracterizados no parasito como o transportador do schistosoma permease1 (SKELLY et al., 2014). Os aminoácidos são obtidos por meio da digestão do sangue e promovem o crescimento, a reprodução e o desenvolvimento dos parasitos (THÉTIOT-LAURENT et al., 2013). Os microtúbulos são formados por heterodímeros de  $\alpha$  e  $\beta$  tubulina que são proteínas estruturais importantes em vários processos como: transporte intracelular, modificação do citoesqueleto, produção de cílios e flagelos e segregação dos cromossomos (DUVAUX-MIRET et al., 1991).

No *Schistosoma* a tubulina está presente nos processos: troca do tegumento, formação do cílio no miracídio e na divisão celular do esporocisto (DUVAUX-MIRET et al., 1991). A 6-fosfogluconato desidrogenase faz parte do metabolismo energético e da via das pentoses na cercaria e no adulto do *S. mansoni* (COLES, 1970). O AMP cíclico (cAMP) e o GMP cíclico (cGMP) são segundos mensageiros importantes em diversos processos no organismo como: transcrição gênica, migração celular, proliferação celular, morte celular entre outros (MARTINEZ; GIL, 2014). A formação e a ativação do cAMP e cGMP ocorre a partir da enzima adenilato ciclase por meio do ATP e GTP, enquanto a inativação desses mensageiros ocorre por meio da enzima fosfodiesterase (MARTINEZ; GIL, 2014). Fármacos que inibem a 3'-5' AMP e GMP cíclico fosfodiesterase interferem na transdução de sinais e na regulação de processos celulares importantes.

No *S. mansoni* o cAMP mostrou ser importante na regulação do metabolismo energético de carboidratos. O cAMP também regula o processo de transformação do miracídio, pois uma diminuição na concentração do cAMP favorece a transformação (KAWAMOTO et al., 1989). Portanto, o aumento do cAMP intracelular prejudica o desenvolvimento do parasito e a inibição da fosfodiesterase leva a um aumento do cAMP intracelular. A DNA topoisomerase é importante nos seguintes processos: replicação do DNA, recombinação, transcrição e mediação da resposta inflamatória em mamíferos (DE OLIVEIRA et al., 2006). As DNA topoisomerase são essenciais em todos os organismos, visto que ela altera a topologia do DNA formando rupturas na estrutura da dupla hélice (DEWEESE; OSHEROFF, 2010). Todas as topoisomerase precisam de ATP para catalisar a reação e removem a tensão do enrolamento do DNA e os nós na fita. As topoisomerase II precisam de metais íons no sitio ativo para desempenhar a sua atividade.

Cerca de 18 fármacos foram selecionados para serem testados: doxorubicina, sulfonilamida, tiroxina, etc. A doxorubicina, também conhecida como adriamicina, é uma antraciclina que inibe a DNA topoisomerase II (inibe a síntese de ácidos nucleicos) e trata diversos tipos de câncer, desde câncer hematológico, sarcoma e tumores sólidos em crianças e adultos, além disso possui atividade antibiótica (BARRANCO, 1984; CHAURASIA et al., 2015; HOLMGREN et al., 2015). A capacidade desse fármaco de matar as células cancerígenas rapidamente e diminuir a progressão da doença já é conhecida a muito tempo, contudo o uso prolongado e em doses elevadas desse fármaco pode resultar em toxicidade cardíaca e celular devido a ativação das vias: intrínseca apoptótica da mitocôndria e extrínseca (HOLMGREN et al., 2015). Esse composto mostrou ser ativo no tratamento da leishmaniose em baixas dosagens e no tratamento da tripanossomíase africana que causa a doença do sono (CHAURASIA et al., 2015; DETERDING et al., 2005). A sulfanilamida é um antibacteriano pertence à classe de compostos orgânicos denominado de aminosulfonamidas (LIU; JOUANNETAUD; ZUNINO, 2010). Esse fármaco inibe a enzima anidrase carbônica do *Plasmodium falciparum* e possui atividade antimalárica (KRUNGKRAI et al., 2005).

A sulfassalazina é um azobenzeno que foi introduzido no mercado em 1941 e inicialmente foi utilizado no tratamento da artrite reumatoide (KLOTZ, 1985). Desde 1941 esse composto mostrou ser eficaz no tratamento da inflamação do intestino e pode ser usado também no tratamento da doença de Crohn e na colite ulcerativa (KLOTZ, 1985). O fármaco possui a estrutura de uma sulfapiridina (atividade antibacteriana) e o 5-aminosalicílico (atividade anti-inflamatória) ligados por uma ligação azo que pode ser quebrada por bactérias presentes no colón (KLOTZ, 1985). O 5-aminosalicílico é metabolizado e desempenha a sua atividade farmacológica por meio da inibição da síntese de prostaglandinas (SACK; PEPPERCORN, 1983). A sulfapiridina é a principal responsável pelas reações adversas: náusea, dor de cabeça, anorexia, problema hepático, febre, feridas, trombocitopenia, etc.

A levotiroxina é um hormônio da tireoide que é usado no tratamento do hipotireoidismo e é importante na regulação da produção das ROS (PAN et al., 2013). No hipotireoidismo há um aumento das ROS, o seu aumento causa: oxidação de macromoléculas essenciais e diminuição na capacidade cognitiva. Esse fármaco mostrou ser ativo contra o *Typanosoma cruzi* (BELLERA et al., 2014). O 2-metoxiestradiol é um hormônio do tipo estrogênio que não possui atividade estrogênica (KUMAR et al., 2016).

Ele é um interessante agente quimioterápico no tratamento do câncer e a sua atividade anticancerígena tem sido associada as seguintes propriedades: antitubulina, antiangiogênica, próapoptótica e indução de ROS (KUMAR et al., 2016). A citotoxicidade desse composto é devida a interrupção do processo de produção de microtúbulos e a indução de apoptose ligada a p53.

A sildenafil e a vardenafil são benzenosulfonamidas inibidores reversíveis da fosfodiesterase-5 que está presente no músculo liso (CORBIN; FRANCIS, 1999). Este fármaco é usado no tratamento da angina e problemas eréteis. Os efeitos adversos desse fármaco são: dor de cabeça, redução da pressão arterial e perturbação visual. Os seguintes compostos fazem parte da classe orgânica das fluorquinolonas e foram selecionados para serem testados: ciprofloxacino, gatifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacino, pefloxacino e sparfloxacino (ZHANEL et al., 1999). Esses compostos são antibióticos eficazes no tratamento de infecções por bactérias gram-negativa e algumas gram-positiva. As fluorquinolonas entram na célula bacteriana por difusão passiva e se inibem a DNA girase, um tipo de DNA topoisomerase II formada por duas subunidades A e duas subunidades B, inibindo por consequência a síntese de DNA (ZHANEL et al., 1999). Os efeitos adversos desses compostos são: náusea, vômito, diarreia, tontura, dor de cabeça, coceira, fototoxicidade e hepatotoxicidade.

A novobiocina é um antibiótico aminocumarina da classe orgânica dos glicosídeos e eficiente no tratamento de infecções por bactérias gram-positiva (DONNELLY; BLAGG, 2008; HEIDE, 2014). Esse composto se liga a DNA topoisomerase II (DNA girase) inibindo a hidrólise do ATP e a proteína de choque térmico 90 (Hsp90) (DONNELLY; BLAGG, 2008). O teniposídeo e o etoposídeo são podofilotoxinas com atividade antineoplásica. Esses compostos atuam por meio da inibição da enzima DNA topoisomerase II causando com isso a interrupção do ciclo celular na fase de S-G2 e a morte celular (KAMAL et al., 2015). O teniposídeo é eficiente no tratamento de vários tipos de câncer: carcinoma do pulmão, tumor maligno intracraniano, linfoma, leucemia, entre outros. Alguns sintomas são: leucocitopenia, vômito, diarreia, anorexia e perda de cabelo (HE et al., 2015). O estudo do encapsulamento desse composto em nanopartículas para a redução da toxicidade está em processo de desenvolvimento (HE et al., 2015). Os resultados encontrados vão ser publicado no artigo que se encontra no anexo 2.

## 7.0. CONCLUSÃO

Este trabalho buscou reposicionar fármacos para o tratamento da esquistossomose usando as ferramentas de genômica e bioinformática. A metodologia deste trabalho baseou-se nos trabalhos de Neves e colaboradores e diferenciou-se deste no critério de seleção dos alvos. Inicialmente, compilou-se uma lista com potenciais alvos terapêuticos do *S. mansoni* que faziam parte de vias essenciais para o parasito como: morfologia, tegumento, crescimento mobilidade e metabolismo energético e então buscou-se em base de dados de fármacos alvos de fármacos homólogos aos alvos do *S. mansoni*. Selecionou-se dentre os fármacos encontrados que possuíam 60% ou mais do seu sítio ativo conservado 18 fármacos para serem testados em ensaios de atividade usando os seguintes critérios: baixo custo, patente expirada, baixa toxicidade *in vivo* e log *P*. Dos 1376 potenciais novos alvos encontrados neste estudo, apenas 61 alvos associados a 191 fármacos possuíam homologia com alvos de fármacos em uso em humanos. Contudo, destes 61 alvos apenas 28 associados a 102 fármacos possuíam um 60% do sítio ativo conservado após a remoção de duplicatas e fármacos encontrados em estudos anteriores. Dentre os fármacos encontrados muitos fármacos já mostraram ter atividade esquistossomicida na literatura científica como por exemplo: artemether, lumefantrina, ciclosporina. Alguns fármacos para serem testados: sulfassalazina, levotiroxina, ciprofloxacino, 2-metoxiestradiol, sparfloxacino, novobiocina. Os fármacos selecionados pertencem a diversas classes orgânicas como: fluorquinolonas, benzenosulfonamidas, podofilotoxinas, etc. Neste estudo encontrou-se alvos interessante como: DNA topoisomerase II, calmodulina, tubulina, transportador de aminoácido e 3',5'-AMP e GMP cíclico fosfodiesterase. Os fármacos encontrados neste estudo podem ser interessantes como compostos líderes para a identificação e desenvolvimento de novos compostos análogos ativos.

## 8.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRUZZI, A.; FRIED, B. Coinfection of *Schistosoma* (Trematoda) with bacteria, protozoa and helminths. **Advances in parasitology**, v. 77, p. 1–85, 2011.

AGÜERO, F. A.; AL-LAZIKANI, B.; ASLETT, M.; BERRIMAN, M.; BUCKNER, S.F.; CAMPBELL, R. K.; CARMONA, S.; CARRUTHERS, I. M.; CHAN, A. W. E.; CHEN, F.; CROWTHER, G. J.; DOYLE, M. A.; HERTZ-FOWLER, C.; HOPKINS, A. L.; MCALLISTER, G.; NWAKA, S.; OVERINGTON, J. P.; PAIN, A.; PAOLINI, G.V.; PIEPER, U.; RALPH, S. A.; RIECHERS, A.; ROOS, D. S.; SALI, A.; SHANMUGAM, D.; SUZUKI, T.; VAN VOORHIS, W. C.; VERLINDE, C. L. M. Genomic-scale prioritization of drug targets: the *TDR Targets* database. **Nature reviews. drug discovery**, v. 7, p. 900–907, 2008.

AMORIM, R. F.; MACIEL, J.; AMBROZIM, F.M.; DE ALMEIDA, C. P.; ALBUQUERQUE, N. O.; VENTURIN, D. A.; ALVARENGA TELLES, V. G.; CRAUSE, D. H.; SOARES, A. R. Schistosomiasis in the Northern State of Espírito Santo, Brazil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 43, n. 3, p. 323–331, 2014.

ANDREWS, P. Praziquantel: mechanisms of anti-schistosomal activity. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 29, p. 129–156, 1985.

ANTMAN, E.; WEISS, S.; LOSCALZO, J. Systems Pharmacology, Pharmacogenetics, and Clinical Trial Design in Network Medicine. **System Biology Medicine**, v. 4, n. 4, p. 367–383, 2012.

ARAGON, A. D.; IMANI, R. A.; BLACKBURN, V. R.; CUNNINGHAM, C. Microarray based analysis of temperature and oxidative stress induced messenger RNA in *Schistosoma mansoni*. **Molecular Biochemical Parasitology**, v. 162, n. 2, p. 134–141, 2008.

ARAGON, A. D.; IMANI, R. A.; BLACKBURN, V. R.; CUPIT, P. M.; MELMAN, S. D.; GORONGA, T.; WEBB, T.; LOKER, E. S.; CUNNINGHAM, C. Towards an understanding of the mechanism of action of praziquantel. **Molecular and biochemical parasitology**, v. 164, n. 1, p. 57–65, 2009.

ASHBURN, T. T.; THOR, K. B. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. **Nature reviews. drug discovery**, v. 3, n. 8, p. 673–683, 2004.

BÁNHÉGYI, G.; CSALA, M.; BENEDETTI, A. Hexose-6-phosphate dehydrogenase: Linking endocrinology and metabolism in the endoplasmic reticulum. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 42, n. 4, p. 283–289, 2009.

BARAKAT, R. M. R. Epidemiology of Schistosomiasis in Egypt: Travel through Time: Review. **Journal of Advanced Research**, v. 4, n. 5, p. 425–432, 2013.

BARBOSA, F. S. **Tópicos em malacologia médica**. Fiocruz, 1995.

BARRANCO, S. C. Cellular and molecular effects of adirmycin on dividing and

- nondividing cells. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 24, p. 303–319, 1984.
- BARSOUM, R. S.; ESMAT, G.; EL-BAZ, T. Human Schistosomiasis: Clinical Perspective: Review. **Journal of Advanced Research**, v. 4, n. 5, p. 433–444, 2013.
- BEAUMIER, C. M. et al. New vaccines for neglected parasitic diseases and dengue. **Translational Research**, v. 162, n. 3, p. 144–155, 2013.
- BELLERA, C. L.; BALCAZAR, D. E.; ALBERCA, L.; LABRIOLA, C. A.; TALEVI, A.; CARRILLO, C. Identification of Levothyroxine Antichagasic Activity through Computer-Aided Drug Repurposing. **The Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1–9, 2014.
- BEZERRA, A. S. A.; D'IPPOLITO, G.; CALDANA, R. P.; CECIN, A. O.; AHMED, M.; SZEJNFELD, J. Chronic hepatosplenic schistosomiasis mansoni: magnetic resonance imaging and magnetic resonance angiography findings. **Acta radiologica**, v. 48, n. 2, p. 125–134, 2007.
- BHUTTA, Z. A.; SOMMERFELD, J.; LASSI, Z. S.; SALAM, R. A.; DAS, J. K. Global burden, distribution, and interventions for infectious diseases of poverty. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 3, n. 1, p. 21, 2014.
- BOUTAYEB, A. Developing countries and neglected diseases: challenges and perspectives. **International journal for equity in health**, v. 6, p. 20, 2007.
- BRASCHI, S.; CURWEN, R. S.; ASHTON, P. D.; VERJOVSKI-ALMEIDA, S.; WILSON, A. The tegument surface membranes of the human blood parasite *Schistosoma mansoni*: A proteomic analysis after differential extraction. **Proteomics**, v. 6, p. 1471–1482, 2006.
- BREDEL, M.; JACOBY, E. Chemogenomics: an emerging strategy for rapid target and drug discovery. **Nature reviews Genetics**, v. 5, p. 262–275, 2004.
- BRUCE, J. I.; WEISS, E.; STIREWALT, M. A.; LINCICOME, D. R. *Schistosoma mansoni*: Glycogen Content and Utilization of Glucose, Pyruvate, Glutamate, and Citric Acid Cycle Intermediates by Cercariae and Schistosomules. **Experimental Parasitology**, v. 40, p. 29–40, 1969.
- CHAUURASIA, M.; PAWAR, V. K.; JAISWAL, A. K.; DUBE, A.; PALIWAL, S. K.; CHOURASIA, M. K. Chondroitin nanocapsules enhanced doxorubicin induced apoptosis against leishmaniasis via Th1 immune response. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 79, p. 27–36, 2015.
- CHEEPSATTAYAKORN, A.; CHEEPSATTAYAKORN, R. Parasitic Pneumonia and Lung Involvement. **Biomedical Research International**, v. 2014, 2014.
- CHEN, H.; ZHANG, H.; ZHANG, Z.; CAO, Y.; TANG, W. Network-Based Inference Methods for Drug Repositioning. **Computational and Mathematical Methods in Medicine**, v. 2015, p. 1–7, 2015.
- CHOI, M.; YU, J. Who Neglects Neglected Tropical Diseases ? – Korean Perspective.

**Neglected tropical diseases**, v. 30, p. 122–130, 2015.

CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L.; BASSO, A.; GUIDI, A. Schistosomiasis control: Praziquantel forever? **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 195, n. 1, p. 23–29, 2014.

CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L. Praziquantel. **Parasitology research**, v. 90, p. S3–S9, 2003.

CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L.; ARCHER, S. Antischistosomal drugs: Past, present and future? **Pharmacology and Therapeutics**, 1995.

COLES, G. C. A comparison of some isoenzymes of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium*. **Comparative biochemistry and physiology**, v. 33, p. 549–558, 1970.

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

CORBIN, J. D.; FRANCIS, S. H. Cyclic GMP phosphodiesterase-5 target of sildenafil. **Journal of Biological Chemistry**, v. 274, n. 20, p. 13729–13732, 1999.

DAI, J. R.; COLES, G. C.; WANG, W.; LIANG, Y. S. Toxicity of a novel suspension concentrate of niclosamide against *Biomphalaria glabrata*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 104, n. 4, p. 304–306, 2010.

DE OLIVEIRA, F. M. B.; DE ABREU DA SILVA, I. C.; RUMJANEK, F. D.; DIAS-NETO, E.; GUIMARÃES, P. E. M.; VERJOVSKI-ALMEIDA, S.; ŠTROS, M.; FANTAPPIÉ, M. R. Cloning the genes and DNA binding properties of High Mobility Group B1 (HMGB1) proteins from the human blood flukes *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum*. **Gene**, v. 377, n. 1-2, p. 33–45, 2006.

DETERDING, A.; DUNGEY, F. A.; THOMPSON, K. A.; STEVERDING, D. Anti-trypansomal activities of DNA topoisomerase inhibitors. **Acta Tropica**, v. 93, n. 3, p. 311–316, 2005.

DEWEESE, J. E.; OSHEROFF, N. The Use of Divalent metal Ions by Type II Topoisomerases. **Metallomics**, v. 2, n. 7, p. 450–459, 2010.

DOENHOFF, J.; CIOLI, D.; UTZINGER, J. Praziquantel: mechanisms of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis. **Wolters Kluwer Health**, v. 21, p. 659–667, 2008.

DONNELLY, A.; BLAGG, B. S. J. Novobiocin and Additional Inhibitor of the Hsp90 C-Terminal Nucleotide-binding Pocket. **Current medicinal chemistry**, v. 15, n. 26, p. 2702–2717, 2008.

DUDLEY, J. T.; DESHPANDE, T.; BUTTE, A. J. Exploiting drug-disease relationships for computational drug repositioning. **Briefings in Bioinformatics**, v. 12, n. 4, p. 303–311, 2011.

DUVAUX-MIRET, O.; BARATTE, B.; DISSOUS, C.; CAPRON, A. Molecular cloning and sequencing of the  $\alpha$ -tubulin gene from *Schistosoma mansoni*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 49, p. 337–340, 1991.

EISSA, M. M.; EL BARDICY, S.; TADROS, M. Bioactivity of miltefosine against aquatic stages of *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium* and their snail hosts, supported by scanning electron microscopy. **Parasites & vectors**, v. 4, n. 1, p. 73, 2011.

EL KOUNI, M. H.; MESSIER, N. J.; CHA, S. Treatment of schistosomiasis by purine nucleoside analogues in combination with nucleoside transport inhibitors. **Biochemical pharmacology**, v. 36, n. 22, p. 3815–3821, 1987.

EL RIDI, R. A F.; TALLIMA, H. A M. Novel Therapeutic and Prevention Approaches for Schistosomiasis: Review. **Journal of Advanced Research**, v. 4, n. 5, p. 467–478, 2013.

FALLON, P. G.; STURROCK, R. F.; CAPRON, A.; NIAN, M.; DOENHOFF, M. J. Short report: Diminished susceptibility to praziquantel in a Senegal isolate of *Schistosoma mansoni*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 53, n. 1, p. 61–62, 1995.

FALLON, P. G.; DOENHOFF, M. J. Drug-resistant schistosomiasis: Resistance to praziquantel and oxamniquine induced in *Schistosoma mansoni* in mice is drug specific. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 51, n. 1, p. 83–88, 1994.

FENWICK, A. The global burden of neglected tropical diseases. **Public Health**, v. 126, n. 3, p. 233–236, 2012.

FETTERER, R. H.; PAX, R. A.; BENNETT, J. L.  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  transport, motility and tegumental membrane potential in adult male *Schistosoma mansoni*. **Parasitology**, v. 82, n. 1, p. 97–109, 1981.

FOSTER, R. A review of clinical experience with oxamniquine. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 81, n. 1, p. 55–59, 1987.

FRIPP, P. J.; ARMSTRONG, F. I. The efficacy of a hexachlorophene skin cleanser as a cercaria repellent. **South African medical journal**, v. 47, n. 12, p. 526–527, 1974.

GAUDET, R.; JERUZALMI, D.; PULLIAM, B. L.; SAMUELS, M. Structural Biology of the Aldo-Keto Reductase Family of Enzymes. **Cell Biochemistry and Biophysics**, v. 38, p. 0–3, 2003.

GAZE, S.; DRIGUEZ, P.; PEARSON, M. S.; MENDES, T.; DOOLAN, D. L.; TRIEU, A.; MCMANUS, D. P.; GOBERT, G. N.; PERIAGO, M. V.; CORREA, R. O.; CARDOSO, F. C.; OLIVEIRA, G.; NAKAJIMA, R.; JASINSKAS, A.; HUNG, C.; LIANG, L.; PABLO, J.; BETHONY, J. M.; FELGNER, P. L.; LOUKAS, A. An Immunomics Approach to Schistosome Antigen Discovery: Antibody Signatures of Naturally Resistant and Chronically Infected Individuals from Endemic Areas. **PLoS Pathogens**, v. 10, n. 3, 2014.

GRAY, D. J.; ROSS, A. G.; LI, Y.; MCMANUS, D. P. Diagnosis and management of schistosomiasis. v. 342, 2011.

GRIMES, J. E. T.; CROLL, D.; HARRISON, W. E.; UTZINGER, J.; FREEMAN, M. C.; TEMPLETON, M. R. The Relationship between Water, Sanitation and Schistosomiasis: A Systematic Review and Meta-analysis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 12, 2014.

GRYSEELS, B.; MBAYE, A.; DE VLAS, S. J.; STELMA, F. F.; GUISSÉ, F.V.; LIESHOUT, L.; FAYE, D.; DIOP, M.; LY, A.; TCHUEM-TCHUENTÉ, 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. **Tropical Medicine and International Health**, 2001.

GRYSEELS, B.; POLMAN, K.; CLERINX, J.; KESTENS, L. Human schistosomiasis. **Lancet Infectious Diseases**, v. 368, p. 1106–1118, 2006.

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

GUILLOU, F.; ROGER, E.; MONÉ, Y.; ROGNON, A.; GRUNAU, C.; THÉRON, A.; MITTA, G.; COUSTAU, C.; GOURBAL, B. E. F. Excretory-secretory proteome of larval *Schistosoma mansoni* and *Echinostoma caproni*, two parasites of *Biomphalaria glabrata*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 155, n. 1, p. 45–56, 2007.

GUNER, O. F.; BOWEN, J. P. Pharmacophore modeling for ADME. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 13, n. 11, p. 1327–42, 2013.

HAMILTON, J. V; KLINKERT, M.; DOENHOFF, M. J. Diagnosis of schistosomiasis: antibody detection, with notes on parasitological and antigen detection methods. **Parasitology**, v. 117, p. S41–S57, 1998.

HE, X.; XIANG, N.; ZHANG, J.; ZHOU, J.; FU, Y.; GONG, T.; ZHANG, Z. Encapsulation of teniposide into albumin nanoparticles with greatly lowered toxicity and enhanced antitumor activity. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 487, n. 1-2, p. 250–259, 2015.

HEIDE, L. New aminocoumarin antibiotics as gyrase inhibitors. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 304, n. 1, p. 31–36, 2014.

HOLMGREN, G.; SYNNERGREN, J.; BOGESTAL, Y.; AMÉEN, C.; AKESSON, K.; HOLMGREN, S.; LINDAHL, A.; SARTIPY, P. Identification of novel biomarkers for doxorubicin-induced toxicity in human cardiomyocytes derived from pluripotent stem cells. **Toxicology**, v. 328, p. 102–111, 2015.

HUANG, Y. X.; XU, Y. L.; YU, C. X.; LI, H. J.; YIN, X. R.; WANG, T. S.; WANG, W.; LIANG, Y. S. Effect of praziquantel prolonged administration on granuloma formation around *Schistosoma japonicum* eggs in lung of sensitized mice. **Parasitology Research**, v. 109, n. 5, p. 1453–1459, 2011.

ISMAIL, M.; BOTROS, S.; METWALLY, A.; WILLIAM, S.; FARGHALLY, A.; TAO, L. F.; DAY, TIM A.; BENNETT, J. L. Resistance to praziquantel: Direct evidence from *Schistosoma mansoni* isolated from egyptian villagers. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 60, n. 6, p. 932–935, 1999.

JONSSON, B. Bringing in health technology assessment and cost-effectiveness considerations at an early stage of drug development. **Molecular Oncology**, v. 9, n. 5, p. 1025–1033, 2015.

KAKKAR, A. K.; DAHIYA, N. The evolving drug development landscape: From blockbusters to niche busters in the orphan drug space. **Drug Development Research**, v. 75, n. 4, p. 231–234, 2014.

KAMAL, A.; ALI HUSSAINI, S. M.; RAHIM, A.; RIYAZ, S. Podophyllotoxin derivatives: a patent review (2012-2014). **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 25, n. 9, p. 1025–1034, 2015.

KARAMAN, R.; FATTASH, B.; QTAIT, A. The future of prodrugs-design by quantum mechanics methods. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 10, n. 5, p. 713–729, 2013.

KATZ, N.; ROCHA, R. S.; CHAVES, A. Preliminary trials with praziquantel in human infections due to *Schistosoma mansoni*. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 57, n. 5, p. 781–785, 1979.

KAWAMOTO, F.; SHOZAWA, A.; KUMADA, N.; KOJIMA, K. Possible roles of cAMP and Ca<sup>2+</sup> in the regulation of miracidial transformation in *Schistosoma mansoni*. **Parasitology Research**, v. 75, p. 368–374, 1989.

KEISER, M. J.; SETOLA, V.; IRWIN, JOHN J.; LAGGNER, C.; ABBAS, A. I.; HUFEISEN, S. J.; JENSEN, N. H.; KUIJER, M. B.; MATOS, R. C.; TRAN, T. B.; WHALEY, R.; GLENNON, R. A.; HERT, J.; THOMAS, K. L. H.; EDWARDS, D. D.; SHOICHET, B. K.; ROTH, B. L. Predicting new molecular targets for known drugs. **Nature**, v. 462, n. 7270, p. 175–181, 2009.

KING, C. H.; BERTINO, A. M. Asymmetries of poverty: Why global burden of disease valuations underestimate the burden of neglected tropical diseases. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 2, n. 3, 2008.

KLOTZ, U. Clinical Pharmacokinetics of Sulphasalazine, Its Metabolites and Other Prodrugs of 5-Aminosalicylic Acid. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 10, n. 4, p. 285–302, 1985.

KOCH, U.; HAMACHER, M.; NUSSBAUMER, P. Cheminformatics at the interface of medicinal chemistry and proteomics. **Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics**, v. 1844, p. 156–161, 2014.

KRUNGKRAI, J.; SCOZZAFAVA, A.; REUNGPRAPAVUT, S.; KRUNGKRAI, S. R.; RATTANAJAK, R.; KAMCHONWONGPAISAN, S.; SUPURAN, C. T. Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of *Plasmodium falciparum* carbonic anhydrase with

aromatic sulfonamides: Towards antimalarials with a novel mechanism of action? **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 2, p. 483–489, 2005.

KUMAR, B. S.; RAGHUVANSHI, D. S.; HASANAIN, M.; ALAM, S.; SARKAR, J.; MITRA, K.; KHAN, F.; NEGI, ARVIND S. Recent Advances in chemistry and pharmacology of 2-methoxyestradiol: An anticancer investigational drug. **Steroids**, 2016.

KUMAR, S.; GUHA, M.; CHOUBEY, V.; MAITY, P.; BANDYOPADHYAY, U. Antimalarial drugs inhibiting hemozoin ( $\beta$ -hematin) formation: A mechanistic update. **Life Sciences**, v. 80, n. 9, p. 813–828, 2007.

LAMBERTUCCI, J. R. Revisiting the concept of hepatosplenic schistosomiasis and its challenges using traditional and new tools. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 2, p. 130–136, 2014.

LANGEDIJK, J.; MANTEL-TEEUWISSE, A. K.; SLIJKERMAN, D. S. Drug repositioning and repurposing : terminology and definitions in literature. **Drug Discovery Today**, 2015.

LIESE, B. H.; HOUGHTON, N.; TEPLITSKAYA, L. Development assistance for neglected tropical diseases: progress since 2009. **International Health**, v. 6, n. 3, p. 162–171, 2014.

LIMA, C. M. B.; FREITAS, I. S.; CAVALCANTI, M. G. S.; FERREIRA DA SILVA, L.; PADILHA, R. J. R.; BARBOSA, C. G. S; BRAYNER DOS SANTOS, F. A.; ALVES, L. C.; DINIZ, M. F. F. M. Ultrastructural study on the morphological changes to male worms of *Schistosoma mansoni* after *in vitro* exposure to allicin. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 3, p. 327–330, 2011.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 4–17, 2012.

LIU, F.; JOUANNETAUD, M.; ZUNINO, F. Superelectrophilic Activation in Superacid HF / SbF<sub>5</sub> and Synthesis of Benzofused Sultams. **Organic Letters**, v. 12, n.4, p. 868–871, 2010.

LOMBARDINO, J. G.; LOWE, J. A. The role of the medicinal chemist in drug discovery-then and now. **Nature reviews. Drug discovery**, v. 3, n. 10, p. 853–62, 2004.

MACKEY, T. K.; LIANG, B. A.; CUOMO, R.; HAFEN, R.; BROUWER, K. C.; LEE, D. E. Emerging and reemerging neglected tropical diseases: a review of key characteristics, risk factors, and the policy and innovation environment. **Clinical microbiology reviews**, v. 27, n. 4, p. 949–79, 2014.

MARTINEZ, A.; GIL, C. cAMP-specific phosphodiesterase inhibitors: promising drugs for inflammatory and neurological diseases. **Expert opinion on therapeutic patents**, v. 24, n. 12, p. 1311–21, 2014.

MEYER, T.; SEKLJIC, H.; FUCHS, S.; BOTHE, H.; SCHOLLMEYER, D.; MICULKA, C. Taste, a new incentive to switch to (*R*)-praziquantel in schistosomiasis treatment.

**PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 3, n. 1, p. 3–7, 2009.

MIGNANI, S.; HUBER, S.; TOMÁS, H.; RODRIGUES, J.; MAJORAL, J. Compound high-quality criteria: A new vision to guide the development of drugs, current situation. **Drug Discovery Today**, p. 1–13, 2016.

MOHAMED, A. H.; EZZ EL-DIN, N.; FAHMY, Z. H.; EL-SHENNAWY, A. M.; HASSAN, E. Parasitological, hematological and ultrastructural study of the effect of COX-2 inhibitor, pyocyanin pigment and praziquantel, on *S. mansoni* infected mice. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, v. 36, n. 1, p. 197–220, 2006.

MOLEHIN, A. J.; ROJO, J. U.; SIDDIQUI, S. Z.; GRAY, S. A.; CARTER, D.; SIDDIQUI, A. A. Development of a Schistosomiasis Vaccine. **Expert Review of Vaccines**, 2015.

MOURÃO, M. M.; GRUNAU, C.; LOVERDE, P. T.; JONES, M. K.; OLIVEIRA, G. Recent advances in *Schistosoma* genomics. **Parasite Immunology**, v. 34, n. 2-3, p. 151–162, 2012.

NASCIMENTO-CARVALHO, C. M.; MORENO-CARVALHO, O. A. Neuroschistosomiasis due to *Schistosoma mansoni*: A review of pathogenesis, clinical syndromes and diagnostic approaches. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 47, n. 4, p. 179–184, 2005.

NEVES, B. J.; BRAGA, R. C.; BEZERRA, J. C. B.; CRAVO, PEDRO V. L.; ANDRADE, C. H. In Silico Repositioning-Chemogenomics Strategy Identifies New Drugs with Potential Activity against Multiple Life Stages of *Schistosoma mansoni*. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 1, p. e3435, 2015.

OGATA, H.; GOTO, S.; SATO, K.; FUJIBUCHI, W.; BONO, H.; KANEHISA, M. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. **Nucleic Acids Research**, v. 27, n. 1, p. 29–34, 2000.

OMS. Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases: second WHO report on neglected tropical diseases. **Geneva**, p. xii; 140, 2013.

PADHY, M.; GUPTA, Y. K. Drug repositioning: Re-investigating existing drugs for new therapeutic indications. **Journal of Postgraduate Medicine**, v. 57, p. 153–160, 2011.

PAN, T.; ZHONG, M.; ZHONG, X.; ZHANG, Y.; ZHU, D. Levothyroxine replacement therapy with vitamin e supplementation prevents oxidative stress and cognitive deficit in experimental hypothyroidism. **Endocrine**, v. 43, n. 2, p. 434–439, 2013.

PANIC, G.; VARGAS, M.; SCANDALE, I.; KEISER, J. Activity Profile of an FDA-Approved Compound Library against *Schistosoma mansoni*. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 7, p. e0003962, 2015.

PEREIRA, A S. A; CAVALCANTI, N. L.; NASCIMENTO, G. A. F.; NASCIMENTO-SILVA, J. L. G.; PADILHA, R. J. R.; VIEGAS, L. F. W.; ALVES, L. C.; LIMA-FILHO, J. L.; CHAVES, M. E. C. Morphological and morphometric study of cercariae and adult

worms of *Schistosoma mansoni* (SLM strain) isolated from infected mice. **Parasitology research**, v. 112, n. 3, p. 1087–96, 2013.

PÉREZ DEL VILLAR, L.; BURGUILLO, F. J.; LÓPEZ-ABÁN, J.; MURO, A. Systematic Review and Meta-Analysis of Artemisinin Based Therapies for the Treatment and Prevention of Schistosomiasis. **PLoS ONE**, v. 7, n. 9, 2012.

PICA-MATTOCCIA, L.; CIOLI, D. Studies on the mode of action of oxamniquine and related schistosomicidal drugs. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 34, n. 1, p. 112–118, 1985.

PICA-MATTOCCIA, L.; CIOLI, D. Sex- and stage-related sensitivity of *Schistosoma mansoni* to *in vivo* and *in vitro* praziquantel treatment. **International Journal for Parasitology**, v. 34, n. 4, p. 527–533, 2004.

PONTES, L. A.; DIAS-NETO, E.; RABELLO, A. Detection by polymerase chain reaction of *Schistosoma mansoni* DNA in human serum and feces. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 66, n. 2, p. 157–162, 2002.

RABELLO, A. L. T. Parasitological diagnosis of schistosomiasis: Fecal examination and rectal biopsy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, n. 4, p. 325–331, 1992.

RASK-ANDERSEN, M.; ALMÉN, M. S.; SCHIÖTH, H. B. Trends in the exploitation of novel drug targets. **Nature reviews. Drug discovery**, v. 10, n. 8, p. 579–90, 2011.

REY L. Parasitologia. In: *Schistosoma mansoni e esquistossomose: a doença*, Rio de Janeiro, pp. 413–443, 2001.

RIM, H. J.; CHANG, Y. S.; LEE, J. S. Clinical evaluation of praziquantel in the treatment of *Paragonimus westermani*. **Korean Journal of Parasitology**, v. 19, n. 1, p. 27–37, 1981.

ROCHA, M. O. C. et al. Pulmonary manifestations in the initial phase of schistosomiasis mansoni. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 37, n. 4, p. 311–318, 1995.

ROGNAN, D. Chemogenomic approaches to rational drug design. **British journal of pharmacology**, v. 152, p. 38–52, 2007.

SACK, D. M.; PEPPERCORN, M. A. Drug Therapy of Inflammatory Bowel Disease. **Pharmacotherapy**, v. 3, n. 3, p. 158–176, 1983.

SATOSKAR, A. R.; SIMON, G. L. **Medical Parasitology**. Texas, USA: Landes Bioscience, 2009.

SCHOLTE, R. G. C.; GOSONI, L.; MALONE, J. B.; CHAMMARTIN, F.; UTZINGER, J.; VOUNATSOU, P. Predictive risk mapping of schistosomiasis in Brazil using Bayesian geostatistical models. **Acta Tropica**, v. 132, n. 1, p. 57–63, 2014.

SERRA, E. C.; LARDANS, V.; DISSOUS, C. Identification of NF-AT-like transcription

factor in *Schistosoma mansoni*: Its possible involvement in the antiparasitic action of cyclosporin A. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 101, n. 1-2, p. 33–41, 1999.

SEUBERT, J.; POHLKE, R.; LOEBICH, F. Synthesis and properties of praziquantel, a novel broad spectrum anthelmintic with excellent activity against Schistosomes and Cestodes. **Pharmazeologisch-chemische Forschungslaboratorien**, v. 15, n. 8, p. 1036–1037, 1977.

SHARMA, V.; ICHIKAWA, M.; FREEZE, H. H. Mannose metabolism: more than meets the eye. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 453, n. 2, p. 220–228, 2014.

SHEN, C.; CHOI, M. H.; YOUNG, M. B.; YU, G.; WANG, S.; HONG, S. T. A case of anaphylactic reaction to praziquantel treatment. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 76, n. 3, p. 603–605, 2007.

SKELLY, P. J.; DA'DARA, A. A.; LI, X. H.; CASTRO-BORGES, W.; WILSON, R. A. Schistosome feeding and regurgitation. **PLoS pathogens**, v. 10, n. 8, p. e1004246, 2014.

SKELLY, P. J.; WILSON, R. A. Making Sense of the Schistosome Surface. **Advances in parasitology**, v. 63, p. 185–284, 2006.

SPECK-PLANCHE, A.; CORDEIRO, M. N. D. S. Multitasking models for quantitative structure-biological effect relationships: current status and future perspectives to speed up drug discovery. **Expert opinion on drug discovery**, v. 10, n. 3, p. 245–56, 2015.

STEINER, K.; GARBE, A.; DIEKMANN, H. W.; NOWAK, H. The fate of praziquantel in the organism I. Pharmacokinetics in animals. **European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 1, n. 2, p. 85–95, 1976.

TALLIMA, H.; EL RIDI, R. Praziquantel binds *Schistosoma mansoni* adult worm actin. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 29, n. 5, p. 570–575, 2007.

TAMIMI, N.; ELLIS, P. Drug development: from concept to marketing! **Nephron. Clinical practice**, v. 113, n. 3, p. c125–31, 2009.

THÉTIOT-LAURENT, S. A. L.; BOISSIER, J.; ROBERT, A.; MEUNIER, B. Schistosomiasis chemotherapy. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 52, n. 31, p. 7936–7956, 2013.

TIELENS, A. G.; HOREMANS, A. M.; DUNNEWIJK, R.; VAN DER MEER, P.; VAN DEN BERGH, S. G. The facultative anaerobic energy metabolism of *Schistosoma mansoni* sporocysts. **Molecular and biochemical parasitology**, v. 56, n. 1, p. 49–57, nov. 1992.

TIELENS, A. G. Energy generation in parasitic helminths. **Parasitology today**, v. 10, n. 9, p. 346–52, 1994.

TORGERSON, P. R.; HAGAN, J. E.; COSTA, F.; CALCAGNO, J.; KANE, M.; MARTINEZ-SILVEIRA, M. S.; GORIS, M. G. A.; STEIN, C.; KO, A. I.; ABELA-

RIDDER, B. Global Burden of Leptospirosis: Estimated in Terms of Disability Adjusted Life Years. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 10, p. e0004122, 2015.

UTZINGER, J.; SHUHUA, X.; GORAN, N. K. E.; BERGQUIST, R.; TANNER, M. The potential of artemether for the control of schistosomiasis. **International Journal for Parasitology**, v. 31, n. 14, p. 1549–1562, 2001.

UTZINGER, J.; BECKER, S. L.; VAN LIESHOU, L.; VAN DAM, G. J.; KNOPP, S. New diagnostic tools in schistosomiasis. **Clinical microbiology and infection**, 2015.

VAN HELLEMOND, J. J.; RETRA, K.; BROUWERS, J. F. H. M.; VAN BALKOM, B. W. M.; YAZDANBAKHSI, M.; SHOEMAKER, C. B.; TIELENS, A. G. M. Functions of the tegument of schistosomes: Clues from the proteome and lipidome. **International Journal for Parasitology**, v. 36, n. 6, p. 691–699, 2006.

VERLI, H. **Bioinformática da Biologia à Flexibilidade Molecular**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, v. 53, n. 9, p. 1689-1699, 2014.

WEERAKOON, K. G. A. D.; GOBERT, G. N.; CAI, P.; MCMANUS, D. P. Advances in the Diagnosis of Human Schistosomiasis. **Clinical microbiology reviews**, v. 28, n. 4, p. 939–967, 2015.

WEN, J.; WU, L.; PU, X. X.; HE, F. Z.; LIU, M. Z.; ZHOU, H. H.; ZHANG, W. Pharmacogenomics research : a potential strategy for drug development. **Pharmazie**, p. 437–445, 2015.

WHO. Accelerating Work to Overcome the Global Impact of Neglected Tropical Diseases: A Roadmap for Implementation. **World Health Organization**, p. 1–42, 2012.

WILSON, R. A. The cell biology of schistosomes: A window on the evolution of the early metazoa. **Protoplasma**, v. 249, n. 3, p. 503–518, 2012.

WILSON, S.; JONES, F. M.; MWATHA, J. K.; KIMANI, G.; BOOTH, M.; KARIUKI, H. C.; VENNERVALD, B. J.; OUMA, J. H.; MUCHIRI, E.; DUNNE, D. W. Hepatosplenomegaly associated with chronic malaria exposure: Evidence for a pro-inflammatory mechanism exacerbated by schistosomiasis. **Parasite Immunology**, v. 31, n. 2, p. 64–71, 2009.

WU, W.; WANG, W.; HUANG, Y. X. New insight into praziquantel against various developmental stages of schistosomes. **Parasitology Research**, v. 109, n. 6, p. 1501–1507, 2011.

WU, Z.; WANG, Y.; CHEN, L. Network-based drug repositioning. **Molecular Biosystems**, v. 9, n. 6, p. 1268–81, 2013.

XIAO, S.; CATTO, B. A.; WEBSTER, L. T. Effects of Praziquantel on Different Developmental Stages of *Schistosoma mansoni* *in vitro* and *in vivo*. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 151, n. 6, p. 1130–1137, 1985.

XIAO, S. H.; CATTO, B. A. *In vitro* and *in vivo* studies of the effect of artemether on

*Schistosoma mansoni*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 33, n. 9, p. 1557–1562, 1989.

YEPES, E. VARELA-M, R. E.; LÓPEZ-ABÁN, J.; DAKIR, E. L. H.; MOLLINEDO, F.; MURO, A. In Vitro and In Vivo Anti-Schistosomal Activity of the Alkylphospholipid Analog Edelfosine. **PLoS ONE**, v. 9, n. 10, p. e109431, 2014.

ZAWAIRA, A.; SHIBAYAMA, Y. A simple recipe for the non-expert bioinformaticist for building experimentally-testable hypotheses for proteins with no known homologs. **Journal of Structural and Functional Genomics**, v. 13, n. 4, p. 185–200, 2012.

ZHAI, Z. L.; ZHANG, Y.; LIU, H. X.; FENG, T.; XIAO, S. H. Effect of artemether on enzymes involved in carbohydrate metabolism of *Schistosoma japonicum*. **Journal of parasitology & parasitic diseases**, v. 18, n. 3, p. 162–164, 2000.

ZHANEL, G. G.; WALKTY, A.; VERCAIGNE, L.; KARLOWSKY, J. A.; EMBIL, J.; GIN, A. S.; HOBAN, D. J. The New Fluoroquinolones: A Critical Review. **The Canadian Journal of Infectious Diseases**, v. 10, n. 3, p. 207–38, 1999.

ZHANG, Y. L.; LI, Y. Y.; ZHAO, B. P.; YUAN, C. X.; YANG, J. M.; LIN, J. J.; FENG, X. G. Molecular characterization and identification of Th1 epitopes of a *Schistosoma japonicum* protein similar to prosaposin. **Parasitology Research**, v. 113, p. 983–992, 2014.

ZHU, F.; HAN, B.; KUMAR, P.; LIU, X.; MA, X.; WEI, X.; HUANG, L. U.; GUO, Y.; HAN, L.; ZHENG, C.; CHEN, Y. Update of TTD: Therapeutic Target Database. **Nucleic Acids Research**, v. 38, p. 787–791, 2009.

## ANEXO 1

**Tabela 3-** Lista com os 102 fármacos com 60% ou mais da sua região funcional conservada.

| Alvo do <i>S. mansoni</i>              | ID do <i>S. mansoni</i> | Alvo do fármaco                        | ID do alvo do fármaco | <i>BLAST</i> | <i>TTD</i> | <i>Drugbank</i> | Fármaco           | Classe do fármaco | Fase do fármaco | <i>Over-lap</i> | <i>Iden-tity</i> | Região funcional |
|----------------------------------------|-------------------------|----------------------------------------|-----------------------|--------------|------------|-----------------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|
| Calmodulina                            | Smp_026560              | Calmodulina                            | CALM1                 | 289,7        |            | 3,23E-103       | Cichocaína        | Anestésico        | Aprovada        | 100%            | 99%              | 100%             |
| Calcineurina b                         | Smp_064950              | Calcineurina b                         | PPP3R2                | 260,8        |            | 3,89E-91        | Ciclosporina      | Imunossupressivo  | Aprovada        | 100%            | 76%              | 100%             |
| Tubulina beta                          | Smp_078040              | Tubulina beta                          | TTDS00308             | 355,0        | 3,00E-99   |                 | 2-Metoxiestradiol | Antineoplásico    | Fase II         | 100%            | 97%              | 100%             |
| Transportador de sódio-potássio ATPase | Smp_015020              | Transportador de sódio-potássio ATPase | ATP1A1                | 1475,7       |            | 0,00E+00        | Acetildigitoxina  | Cardiotônico      | Aprovada        | 98%             | 74%              | 99%              |
| Transportador de sódio-potássio ATPase | Smp_015020              | Transportador de sódio-potássio ATPase | TTDS00045             | 1475,0       | 0,00E+00   |                 | Almitrina         | Anti-inflamatório | Aprovada        | 98%             | 74%              | 99%              |
| Transportador de sódio-potássio ATPase | Smp_015020              | Transportador de sódio-potássio ATPase | TTDS00045             | 1475,0       | 0,00E+00   |                 | Artemeter         | Antimalárico      | Aprovada        | 98%             | 74%              | 99%              |
| Transportador de sódio-potássio ATPase | Smp_015020              | Transportador de sódio-potássio ATPase | TTDS00045             | 1475,0       | 0,00E+00   |                 | Ciclopirox        | Antifúngico       | Aprovada        | 98%             | 74%              | 99%              |

| <b>Alvo do <i>S. mansonii</i></b>      | <b>ID do <i>S. mansonii</i></b> | <b>Alvo do fármaco</b>                 | <b>ID do alvo do fármaco</b> | <b>BLAST</b> | <b>TTD</b> | <b>Drugbank</b> | <b>Fármaco</b>      | <b>Classe do fármaco</b> | <b>Fase do fármaco</b> | <b>Over-lap</b> | <b>Iden-tity</b> | <b>Região funcio-nal</b> |
|----------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------------|------------------------------|--------------|------------|-----------------|---------------------|--------------------------|------------------------|-----------------|------------------|--------------------------|
| Transportador de sódio-potássio ATPase | Smp_015020                      | Transportador de sódio-potássio ATPase | TTDS00045                    | 1475,0       | 0,00E+00   |                 | Deslanosídeo        | Antiarritmia             | Aprovada               | 98%             | 74%              | 99%                      |
| Transportador de sódio-potássio ATPase | Smp_015020                      | Transportador de sódio-potássio ATPase | ATP1A1                       | 1475,7       |            | 0,00E+00        | Digoxina            | Antiarritmia             | Aprovada               | 98%             | 74%              | 99%                      |
| Transportador de sódio-potássio ATPase | Smp_015020                      | Transportador de sódio-potássio ATPase | ATP1A1                       | 1475,7       |            | 0,00E+00        | Ácido etacrínico    | Diurético                | Aprovada               | 98%             | 74%              | 99%                      |
| Transportador de sódio-potássio ATPase | Smp_015020                      | Transportador de sódio-potássio ATPase | TTDS00045                    | 1475,0       | 0,00E+00   |                 | Lumefantrina        | Antimalárico             | Aprovada               | 98%             | 74%              | 99%                      |
| Transportador de sódio-potássio ATPase | Smp_015020                      | Transportador de sódio-potássio ATPase | TTDS00045                    | 1475,0       | 0,00E+00   |                 | Ouabaína            | Cardiotônico             | Aprovada               | 98%             | 74%              | 99%                      |
| Anidrase carbônica II                  | Smp_028670                      | Anidrase carbônica II                  | CA2                          | 196,4        |            | 4,08E-63        | Bendroflume-tiazida | Anti-hipertensivo        | Aprovada               | 98%             | 40%              | 98%                      |

| Alvo do <i>S. mansonii</i>                | ID do <i>S. mansonii</i> | Alvo do fármaco                           | ID do alvo do fármaco | <i>BLAST</i> | <i>TTD</i> | <i>Drugbank</i> | Fármaco          | Classe do fármaco           | Fase do fármaco | <i>Over-lap</i> | <i>Ide-ntity</i> | Região funcio-nal |
|-------------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------------|-----------------------|--------------|------------|-----------------|------------------|-----------------------------|-----------------|-----------------|------------------|-------------------|
| ATP sintase                               | Smp_147050               | ATPase V                                  | ATP6V1A               | 968,8        |            | 0,00E+00        | Ácido etidronico | Agente de Conservação Óssea | Aprovada        | 98%             | 78%              | 98%               |
| Glutamina sintetase                       | Smp_091460               | Glutamina sintetase                       | GLUL                  | 502,3        |            | 3,91E-180       | Ceftriaxona      | Antibacteria-no             | Aprovada        | 96%             | 65%              | 94%               |
| Glutamina sintetase                       | Smp_091460               | Glutamina sintetase                       | GLUL                  | 502,3        |            | 3,91E-180       | Pegvisomant      | Anabólico                   | Aprovada        | 96%             | 65%              | 94%               |
| Rac-alfa serina-treonina proteína quinase | Smp_073930               | Rac-alfa serina-treonina proteína quinase | TTDC00132             | 548,0        | 1,00E-157  |                 | Enzastaurina     | Antineoplási-co             | Fase III        | 98%             | 60%              | 92%               |
| Rac-alfa serina-treonina proteína quinase | Smp_073930               | Rac-alfa serina-treonina proteína quinase | TTDC00132             | 548,0        | 1,00E-157  |                 | Afuresertib      | Antineoplási-co             | Fase II         | 98%             | 60%              | 92%               |
| Rac-alfa serina-treonina proteína quinase | Smp_073930               | Rac-alfa serina-treonina proteína quinase | TTDC00132             | 548,0        | 1,00E-157  |                 | MK-2206          | Antineoplási-co             | Fase II         | 98%             | 60%              | 92%               |

| Alvo do <i>S. mansonii</i>                | ID do <i>S. mansonii</i> | Alvo do fármaco                           | ID do alvo do fármaco | BLAST | TTD       | Drugbank | Fármaco             | Classe do fármaco | Fase do fármaco | Overlap | Identity | Região funcional |
|-------------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------------|-----------------------|-------|-----------|----------|---------------------|-------------------|-----------------|---------|----------|------------------|
| Rac-alfa serina-treonina proteína quinase | Smp_073930               | Rac-alfa serina-treonina proteína quinase | TTDC00132             | 548,0 | 1,00E-157 |          | Perifosina          | Antineoplásico    | Fase II         | 98%     | 60%      | 92%              |
| Rac-alfa serina-treonina proteína quinase | Smp_073930               | Rac-alfa serina-treonina proteína quinase | TTDC00132             | 548,0 | 1,00E-157 |          | Rigosertib          | Antineoplásico    | Fase III        | 98%     | 60%      | 92%              |
| Rac-alfa serina-treonina proteína quinase | Smp_073930               | Rac-alfa serina-treonina proteína quinase | TTDC00132             | 548,0 | 1,00E-157 |          | Archexin            | Antineoplásico    | Fase II         | 98%     | 60%      | 92%              |
| Citocromo C                               | Smp_033400               | Citocromo C                               | CYCS                  | 170,6 |           | 1,75E-57 | Minociclina         | Antibacteriano    | Aprovada        | 97%     | 75%      | 92%              |
| Ribonucleosídeo difosfato redutase        | Smp_055890               | Ribonucleosídeo difosfato redutase M2     | RRM2                  | 521,9 |           | 0,00E+00 | Nitrato de gálio    | Antineoplásico    | Aprovada        | 83%     | 75%      | 90%              |
| Ribonucleosídeo difosfato redutase        | Smp_055890               | Ribonucleosídeo difosfato redutase M2     | TTDS00421             | 521,0 | 1,00E-149 |          | Motexafin gadolínio | Antineoplásico    | Aprovada        | 83%     | 75%      | 90%              |
| ATP sintase mitocondrial                  | Smp_082120               | ATP sintase mitocondrial                  | ATP5D                 | 141,7 |           | 2,73E-44 | Desflurano          | Anestésico        | Aprovada        | 97%     | 45%      | 89%              |
| ATP sintase mitocondrial                  | Smp_082120               | ATP sintase mitocondrial                  | ATP5D                 | 141,7 |           | 2,73E-44 | Methoxyflurano      | Anestésico        | Aprovada        | 97%     | 45%      | 89%              |

| <b>Alvo do <i>S. mansonii</i></b> | <b>ID do <i>S. mansonii</i></b> | <b>Alvo do fármaco</b>   | <b>ID do alvo do fármaco</b> | <b>BLAST</b> | <b>TTD</b> | <b>Drugbank</b> | <b>Fármaco</b> | <b>Classe do fármaco</b> | <b>Fase do fármaco</b> | <b>Over-lap</b> | <b>Iden-tity</b> | <b>Região funcional</b> |
|-----------------------------------|---------------------------------|--------------------------|------------------------------|--------------|------------|-----------------|----------------|--------------------------|------------------------|-----------------|------------------|-------------------------|
| ATP sintase mitocondrial          | Smp_082120                      | ATP sintase mitocondrial | ATP5D                        | 141,7        |            | 2,73E-44        | Sevoflurano    | Anestésico               | Aprovada               | 97%             | 45%              | 89%                     |
| DNA topoisomerase II              | Smp_065840                      | DNA topoisomerase II     | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Aclarubicin    | Antineoplásico           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |
| DNA topoisomerase II              | Smp_065840                      | DNA topoisomerase II     | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Amsacrina      | Antineoplásico           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |
| DNA topoisomerase II              | Smp_065840                      | DNA topoisomerase II     | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Besifloxacin   | Anti-infectivo           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |
| DNA topoisomerase II              | Smp_065840                      | DNA topoisomerase II     | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Cinoxacin      | Anti-infectivo           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |
| DNA topoisomerase II              | Smp_065840                      | DNA topoisomerase II     | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Ciprofloxacino | Anti-infectivo           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |
| DNA topoisomerase II              | Smp_065840                      | DNA topoisomerase II     | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Dexrazoxano    | Antineoplásico           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |
| DNA topoisomerase II              | Smp_065840                      | DNA topoisomerase II     | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Enoxacina      | Anti-infectivo           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |
| DNA topoisomerase II              | Smp_065840                      | DNA topoisomerase II     | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Epirubicina    | Antineoplásico           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |

| <b>Alvo do S.<br/>mansonii</b> | <b>ID do S.<br/>mansonii</b> | <b>Alvo do<br/>fármaco</b> | <b>ID do alvo do<br/>fármaco</b> | <b>BLAST</b> | <b>TTD</b>   | <b>Drugbank</b> | <b>Fármaco</b> | <b>Classe do<br/>fármaco</b> | <b>Fase do<br/>fármaco</b> | <b>Over-<br/>lap</b> | <b>Iden-<br/>-tity</b> | <b>Região<br/>funcio-<br/>nal</b> |
|--------------------------------|------------------------------|----------------------------|----------------------------------|--------------|--------------|-----------------|----------------|------------------------------|----------------------------|----------------------|------------------------|-----------------------------------|
| DNA<br>topoisomerase<br>II     | Smp_065840                   | DNA<br>topoisomerase II    | TTDS00080                        | 1614,0       | 0,00E<br>+00 |                 | Etoposídeo     | Antineoplási-<br>co          | Aprovada                   | 88%                  | 58%                    | 89%                               |
| DNA<br>topoisomerase<br>II     | Smp_065840                   | DNA<br>topoisomerase II    | TTDS00080                        | 1614,0       | 0,00E<br>+00 |                 | Fleroxacina    | Anti-infectivo               | Aprovada                   | 88%                  | 58%                    | 89%                               |
| DNA<br>topoisomerase<br>II     | Smp_065840                   | DNA<br>topoisomerase II    | TTDS00080                        | 1614,0       | 0,00E<br>+00 |                 | Fluorquinolona | Anti-infectivo               | Aprovada                   | 88%                  | 58%                    | 89%                               |
| DNA<br>topoisomerase<br>II     | Smp_065840                   | DNA<br>topoisomerase II    | TTDS00080                        | 1614,0       | 0,00E<br>+00 |                 | Gatifloxacina  | Anti-infectivo               | Aprovada                   | 88%                  | 58%                    | 89%                               |
| DNA<br>topoisomerase<br>II     | Smp_065840                   | DNA<br>topoisomerase II    | TTDS00080                        | 1614,0       | 0,00E<br>+00 |                 | Gemifloxacina  | Antibacterian<br>o           | Aprovada                   | 88%                  | 58%                    | 89%                               |
| DNA<br>topoisomerase<br>II     | Smp_065840                   | DNA<br>topoisomerase II    | TTDS00080                        | 1614,0       | 0,00E<br>+00 |                 | Idarrubicina   | Antineoplási-<br>co          | Aprovada                   | 88%                  | 58%                    | 89%                               |
| DNA<br>topoisomerase<br>II     | Smp_065840                   | DNA<br>topoisomerase II    | TTDS00080                        | 1614,0       | 0,00E<br>+00 |                 | Levofloxacina  | Antibacterian<br>o           | Aprovada                   | 88%                  | 58%                    | 89%                               |
| DNA<br>topoisomerase<br>II     | Smp_065840                   | DNA<br>topoisomerase II    | TTDS00080                        | 1614,0       | 0,00E<br>+00 |                 | Lomefloxacina  | Antibacteria-<br>no          | Aprovada                   | 88%                  | 58%                    | 89%                               |

| <i>Alvo do S. mansoni</i> | <i>ID do S. mansoni</i> | <i>Alvo do fármaco</i> | <i>ID do alvo do fármaco</i> | <i>BLAST</i> | <i>TTD</i> | <i>Drugbank</i> | <i>Fármaco</i>   | <i>Classe do fármaco</i> | <i>Fase do fármaco</i> | <i>Over-lap</i> | <i>Iden-tity</i> | <i>Região funcional</i> |
|---------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------------|--------------|------------|-----------------|------------------|--------------------------|------------------------|-----------------|------------------|-------------------------|
| DNA topoisomerase II      | Smp_065840              | DNA topoisomerase II   | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Lucantona        | Antineoplásico           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |
| DNA topoisomerase II      | Smp_065840              | DNA topoisomerase II   | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Mitoxantrona     | Analgésico               | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |
| DNA topoisomerase II      | Smp_065840              | DNA topoisomerase II   | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Moxifloxacina    | Antibacteriano           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |
| DNA topoisomerase II      | Smp_065840              | DNA topoisomerase II   | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Ácido Nalidíxico | Antibacteriano           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |
| DNA topoisomerase II      | Smp_065840              | DNA topoisomerase II   | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Norfloxacino     | Antibacteriano           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |
| DNA topoisomerase II      | Smp_065840              | DNA topoisomerase II   | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Novobiocina      | Antibacteriano           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |
| DNA topoisomerase II      | Smp_065840              | DNA topoisomerase II   | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Ofloxacino       | Antibacteriano           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |
| DNA topoisomerase II      | Smp_065840              | DNA topoisomerase II   | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Pefloxacina      | Anti-infectivo           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |

| <b>Alvo do <i>S. mansonii</i></b> | <b>ID do <i>S. mansonii</i></b> | <b>Alvo do fármaco</b>        | <b>ID do alvo do fármaco</b> | <b>BLAST</b> | <b>TTD</b> | <b>Drugbank</b> | <b>Fármaco</b> | <b>Classe do fármaco</b> | <b>Fase do fármaco</b> | <b>Over-lap</b> | <b>Iden-tity</b> | <b>Região funcional</b> |
|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|------------------------------|--------------|------------|-----------------|----------------|--------------------------|------------------------|-----------------|------------------|-------------------------|
| DNA topoisomerase II              | Smp_065840                      | DNA topoisomerase II          | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Rosoxacino     | Anti-infectivo           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |
| DNA topoisomerase II              | Smp_065840                      | DNA topoisomerase II          | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Voreloxin      | Antineoplásico           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |
| DNA topoisomerase II              | Smp_065840                      | DNA topoisomerase II          | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Sparfloxacino  | Antibacteriano           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |
| DNA topoisomerase II              | Smp_065840                      | DNA topoisomerase II          | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Teniposídeo    | Antineoplásico           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |
| DNA topoisomerase II              | Smp_065840                      | DNA topoisomerase II          | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Trovafoxacina  | Anti-infectivo           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |
| DNA topoisomerase II              | Smp_065840                      | DNA topoisomerase II          | TTDS00080                    | 1614,0       | 0,00E+00   |                 | Valrubicina    | Antineoplásico           | Aprovada               | 88%             | 58%              | 89%                     |
| Proteína de choque térmico        | Smp_072330                      | Proteína de choque térmico 90 | TTDC00018                    | 561,0        | 1,00E-161  |                 | Retaspimycin   | Antineoplásico           | Fase II                | 100%            | 67%              | 83%                     |
| Proteína de choque térmico        | Smp_072330                      | Proteína de choque térmico 90 | TTDC00018                    | 561,0        | 1,00E-161  |                 | Tanespimicina  | Antineoplásico           | Fase II                | 100%            | 67%              | 83%                     |

| Alvo do <i>S. mansonii</i>            | ID do <i>S. mansonii</i> | Alvo do fármaco                    | ID do alvo do fármaco | <i>BLAST</i> | <i>TTD</i> | <i>Drugbank</i> | Fármaco         | Classe do fármaco | Fase do fármaco | <i>Over-lap</i> | <i>Ide-ntity</i> | Região funcional |
|---------------------------------------|--------------------------|------------------------------------|-----------------------|--------------|------------|-----------------|-----------------|-------------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|
| Proteína de choque térmico            | Smp_072330               | Proteína de choque térmico 90      | HSP90AA1              | 561,6        |            | 0,00E+00        | Nedocromil      | Oftalmológico     | Aprovada        | 100%            | 67%              | 83%              |
| Proteína de choque térmico            | Smp_072330               | Proteína de choque térmico 90      | HSP90AA1              | 561,6        |            | 0,00E+00        | Rifabutina      | Antibiótico       | Aprovada        | 100%            | 67%              | 83%              |
| Manose-6-fosfato isomerase            | Smp_089590               | Manose-6-fosfato isomerase         | TTDS00450             | 264,0        | 8,00E-72   |                 | Sulfacetamida   | Antibacteriano    | Aprovada        | 98%             | 35%              | 81%              |
| Manose-6-fosfato isomerase            | Smp_089590               | Manose-6-fosfato isomerase         | TTDS00450             | 264,0        | 8,00E-72   |                 | Sulfanilamida   | Antibacteriano    | Aprovada        | 98%             | 35%              | 81%              |
| Manose-6-fosfato isomerase            | Smp_089590               | Manose-6-fosfato isomerase         | TTDS00450             | 264,0        | 8,00E-72   |                 | Sulfoxona       | Antibacteriano    | Aprovada        | 98%             | 35%              | 81%              |
| Cdc42 proteína celular polar          | Smp_082810               | Toxina botulínica ligada ao ras C3 | RAC1                  | 231,9        |            | 3,40E-79        | Dextrometorfano | Analgésico        | Aprovada        | 84%             | 66%              | 81%              |
| Glutamato desidrogenase               | Smp_093820               | Glutamato desidrogenase 1          | GLUD1                 | 620,5        |            | 0,00E+00        | Hexaclorofeno   | Anti-infectivo    | Aprovada        | 80%             | 65%              | 80%              |
| Aldoceto redutase família 1 membro B4 | Smp_053220               | Álcool desidrogenase [NADP (+) ]   | AKR1A1                | 299,3        |            | 1,12E-101       | Doxorubicina    | Antineoplásico    | Aprovada        | 97%             | 48%              | 79%              |

| Alvo do <i>S. mansonii</i>            | ID do <i>S. mansonii</i> | Alvo do fármaco                 | ID do alvo do fármaco | BLAST | TTD      | Drugbank  | Fármaco      | Classe do fármaco           | Fase do fármaco | Over-lap | Iden-tity | Região funcional |
|---------------------------------------|--------------------------|---------------------------------|-----------------------|-------|----------|-----------|--------------|-----------------------------|-----------------|----------|-----------|------------------|
| Aldoceto redutase família 1 membro B4 | Smp_150700               | Aldose redutase                 | TTDS00115             | 285,0 | 2,00E-78 |           | Fidarestat   | Hipoglicêmico               | Fase III        | 98%      | 48%       | 77%              |
| Álcool desidrogenase                  | Smp_044440               | Álcool desidrogenase 1B         | ADH1B                 | 362,8 |          | 5,96E-125 | Fomepizole   | Antídoto                    | Aprovada        | 99%      | 52%       | 77%              |
| Transportador de cobre ATPase 1, 2    | Smp_144970               | Transportador de cobre ATPase 1 | ATP7A                 | 695,3 |          | 0,00E+00  | Carboplatina | Antineoplásico              | Aprovada        | 94%      | 38%       | 73%              |
| Transportador de cobre ATPase 1, 2    | Smp_144970               | Transportador de cobre ATPase 1 | ATP7A                 | 695,3 |          | 0,00E+00  | Oxaliplatina | Antineoplásico              | Aprovada        | 94%      | 38%       | 73%              |
| 6-fosfogluconato desidrogenase        | Smp_071840               | 6-fosfogluconato desidrogenase  | PGD                   | 470,7 |          | 9,93E-166 | Dacarbazina  | Antineoplásico              | Aprovada        | 77%      | 61%       | 73%              |
| 6-fosfogluconato desidrogenase        | Smp_071840               | 6-fosfogluconato desidrogenase  | PGD                   | 470,7 |          | 9,93E-166 | Meloxicam    | Anti-inflamatório           | Aprovada        | 77%      | 61%       | 73%              |
| 6-fosfogluconato desidrogenase        | Smp_071840               | 6-fosfogluconato desidrogenase  | PGD                   | 470,7 |          | 9,93E-166 | Ritodrina    | Simpatomimético             | Aprovada        | 77%      | 61%       | 73%              |
| Farnesil pirofosfato sintase          | Smp_070710               | Farnesil pirofosfato sintase    | TTDS00372             | 226,0 | 1,00E-60 |           | Ibandronato  | Agente de Conservação Óssea | Aprovada        | 81%      | 35%       | 70%              |

| <b>Alvo do S.<br/>mansonii</b>           | <b>ID do S.<br/>mansonii</b> | <b>Alvo do<br/>fármaco</b>         | <b>ID do alvo do<br/>fármaco</b> | <b>BLAST</b> | <b>TTD</b> | <b>Drugbank</b> | <b>Fármaco</b> | <b>Classe do<br/>fármaco</b> | <b>Fase do<br/>fármaco</b> | <b>Over-<br/>lap</b> | <b>Iden-<br/>-tity</b> | <b>Região<br/>funcio-<br/>nal</b> |
|------------------------------------------|------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|--------------|------------|-----------------|----------------|------------------------------|----------------------------|----------------------|------------------------|-----------------------------------|
| Farnesil pirofosfato sintase             | Smp_070710                   | Farnesil pirofosfato sintase       | TTDS00372                        | 226,0        | 1,00E-60   |                 | Pamidronato    | Anti-inflamatório            | Aprovada                   | 81%                  | 35%                    | 70%                               |
| Farnesil pirofosfato sintase             | Smp_070710                   | Farnesil pirofosfato sintase       | TTDS00372                        | 226,0        | 1,00E-60   |                 | Risedronato    | Agente de Conservação Óssea  | Aprovada                   | 81%                  | 35%                    | 70%                               |
| Farnesil pirofosfato sintase             | Smp_070710                   | Farnesil pirofosfato sintase       | TTDS00372                        | 226,0        | 1,00E-60   |                 | Zoledronato    | Agente de Conservação Óssea  | Aprovada                   | 81%                  | 35%                    | 70%                               |
| 3',5'- AMP e GMP cíclico fosfodiesterase | Smp_179590                   | 3',5'- GMP cíclico fosfodiesterase | TTDS00296                        | 339,0        | 3,00E-94   |                 | Dipiridamol    | Agente Vasodilatador         | Aprovada                   | 95%                  | 36%                    | 65%                               |
| 3',5'- AMP e GMP cíclico fosfodiesterase | Smp_179590                   | 3',5'- GMP cíclico fosfodiesterase | TTDS00296                        | 339,0        | 3,00E-94   |                 | Papaverina     | Agente Vasodilatador         | Aprovada                   | 95%                  | 36%                    | 65%                               |
| 3',5'- AMP e GMP cíclico fosfodiesterase | Smp_179590                   | 3',5'- GMP cíclico fosfodiesterase | TTDS00296                        | 339,0        | 3,00E-94   |                 | Pentoxifilina  | Agente Vasodilatador         | Aprovada                   | 95%                  | 36%                    | 65%                               |
| 3',5'- AMP e GMP cíclico fosfodiesterase | Smp_179590                   | 3',5'- GMP cíclico fosfodiesterase | TTDS00296                        | 339,0        | 3,00E-94   |                 | PF-00489791    | Antineoplásico               | Fase II                    | 95%                  | 36%                    | 65%                               |
| 3',5'- AMP e GMP cíclico fosfodiesterase | Smp_179590                   | 3',5'- GMP cíclico fosfodiesterase | TTDS00296                        | 339,0        | 3,00E-94   |                 | Sildenafil     | Agente Anti-impotência       | Aprovada                   | 95%                  | 36%                    | 65%                               |
| 3',5'- AMP e GMP cíclico fosfodiesterase | Smp_179590                   | 3',5'- GMP cíclico fosfodiesterase | TTDS00296                        | 339,0        | 3,00E-94   |                 | Tadalafil      | Agente Anti-impotência       | Aprovada                   | 95%                  | 36%                    | 65%                               |

| Alvo do <i>S. mansoni</i>                | ID do <i>S. mansoni</i> | Alvo do fármaco                    | ID do alvo do fármaco | <i>BLAST</i> | <i>TTD</i> | <i>Drugbank</i> | Fármaco               | Classe do fármaco      | Fase do fármaco | <i>Over-lap</i> | <i>Iden-tity</i> | Região funcional |
|------------------------------------------|-------------------------|------------------------------------|-----------------------|--------------|------------|-----------------|-----------------------|------------------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|
| 3',5'- AMP e GMP cíclico fosfodiesterase | Smp_179590              | 3',5'- GMP cíclico fosfodiesterase | TTDS00296             | 339,0        | 3,00E-94   |                 | Teofilina             | Broncodilatador        | Aprovada        | 95%             | 36%              | 65%              |
| 3',5'- AMP e GMP cíclico fosfodiesterase | Smp_179590              | 3',5'- GMP cíclico fosfodiesterase | TTDS00296             | 339,0        | 3,00E-94   |                 | Vardenafil            | Agente Anti-impotência | Aprovada        | 95%             | 36%              | 65%              |
| Acetilcolinesterase                      | Smp_136690              | Colinesterase                      | TTDS00143             | 317,0        | 2,00E-87   |                 | Iodeto de Ecotiofato  | Parasimpato-mimético   | Aprovada        | 90%             | 34%              | 64%              |
| Acetilcolinesterase                      | Smp_136690              | Colinesterase                      | TTDS00143             | 317,0        | 2,00E-87   |                 | Brometo Hexafluronium | Parasimpato-mimético   | Aprovada        | 90%             | 34%              | 64%              |
| Acetilcolinesterase                      | Smp_136690              | Colinesterase                      | BCHE                  | 317,0        |            | 6,18E-100       | Pentagastrina         | Agente Diagnóstico     | Aprovada        | 90%             | 34%              | 64%              |
| Adenosina quinase                        | Smp_008360              | Adenosina quinase                  | ADK                   | 214,5        |            | 1,30E-67        | Abacavir              | Agente Anti-HIV        | Aprovada        | 94%             | 38%              | 62%              |

| Alvo do <i>S. mansonii</i>            | ID do <i>S. mansonii</i> | Alvo do fármaco                  | ID do alvo do fármaco | <i>BLAST</i> | <i>TTD</i> | <i>Drugbank</i> | Fármaco        | Classe do fármaco | Fase do fármaco | <i>Over-lap</i> | <i>Iden-tity</i> | Região funcional |
|---------------------------------------|--------------------------|----------------------------------|-----------------------|--------------|------------|-----------------|----------------|-------------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|
| Anexina                               | Smp_045550               | Anexina A1                       | ANXA1                 | 246,5        |            | 2,02E-78        | Amcinonida     | Anti-inflamatório | Aprovada        | 94%             | 44%              | 62%              |
| Anexina                               | Smp_045550               | Anexina A1                       | ANXA1                 | 246,5        |            | 2,02E-78        | Dexametasona   | Anti-inflamatório | Aprovada        | 94%             | 44%              | 62%              |
| Anexina                               | Smp_045550               | Anexina A1                       | ANXA1                 | 246,5        |            | 2,02E-78        | Hidrocortisona | Anti-inflamatório | Aprovada        | 94%             | 44%              | 62%              |
| Transportador de aminoácido catiônico | Smp_083990               | Transportador cisteína/glutamato | SLC7A11               | 287,0        |            | 8,10E-92        | Riluzol        | Anticonvulsante   | Aprovada        | 94%             | 40%              | 61%              |
| Transportador de aminoácido catiônico | Smp_083990               | Transportador cisteína/glutamato | SLC7A11               | 287,0        |            | 8,10E-92        | Sulfassalazina | Anti-inflamatório | Aprovada        | 94%             | 40%              | 61%              |
| Adenilato quinase 1                   | Smp_061940               | UMP-CMP quinase                  | CMPK1                 | 85,1         |            | 5,25E-21        | Gemcitabina    | Antineoplásico    | Aprovada        | 94%             | 28%              | 60%              |
| Adenilato quinase 1                   | Smp_061940               | UMP-CMP quinase                  | CMPK1                 | 85,1         |            | 5,25E-21        | Lamivudina     | Agente Anti-HIV   | Aprovada        | 94%             | 28%              | 60%              |

| <b>Alvo do <i>S. mansoni</i></b>  | <b>ID do <i>S. mansoni</i></b> | <b>Alvo do fármaco</b>                    | <b>ID do alvo do fármaco</b> | <b><i>BLAST</i></b> | <b><i>TTD</i></b> | <b><i>Drugbank</i></b> | <b>Fármaco</b>  | <b>Classe do fármaco</b> | <b>Fase do fármaco</b> | <b><i>Over-lap</i></b> | <b><i>Ide</i><br/><i>n</i>-<i>ti</i><br/><i>ty</i></b> | <b>Região funcional</b> |
|-----------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------------|------------------------------|---------------------|-------------------|------------------------|-----------------|--------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------------------------------------|-------------------------|
| Transportador de aminoácido y+1 2 | Smp_150990                     | Transportador de aminoácido neutro grande | SLC7A5                       | 317,8               |                   | 1,71E-104              | Dextrotireoxina | Antihiperlipidêmico      | Aprovada               | 88%                    | 39%                                                    | 60%                     |
| Transportador de aminoácido y+1 2 | Smp_150990                     | Transportador de aminoácido neutro grande | SLC7A5                       | 317,8               |                   | 1,71E-104              | Levotiroxina    | Hormônio                 | Aprovada               | 88%                    | 39%                                                    | 60%                     |
| Transportador de aminoácido y+1 2 | Smp_150990                     | Transportador de aminoácido neutro grande | SLC7A5                       | 317,8               |                   | 1,71E-104              | Liotironina     | Hormônio                 | Aprovada               | 88%                    | 39%                                                    | 60%                     |
| Transportador de aminoácido y+1 2 | Smp_150990                     | Transportador de aminoácido neutro grande | SLC7A5                       | 317,8               |                   | 1,71E-104              | Melfalano       | Antineoplásico           | Aprovada               | 88%                    | 39%                                                    | 60%                     |

## ANEXO 2

### *In silico repositioning of new drugs against Schistosoma mansoni*

Arantes, M.E.<sup>1</sup>; Andrade, C.H.<sup>2</sup>; Neves, B.J.<sup>2</sup>; Bezerra, J.C.B.<sup>1</sup>

#### ABSTRACT

Schistosomiasis is a neglected tropical disease caused by parasites of the genus *Schistosoma*. In Brazil only *Schistosoma mansoni* transmits this disease. The World Health Organization estimated in 2012 approximately 249 million people at risk of acquiring this disease around the world. The main strategy to control this disease is the treatment of individuals living in endemic areas with Praziquantel. The drug praziquantel is used on a large scale in the treatment of schistosomiasis and currently there are reported cases of resistance, indicating the need to discover new drugs. In silico drug repositioning is a strategy that reduces the time and cost in the search of anti-schistosoma agents. This work used bioinformatics tools and methodology based on previous studies, as a means to identify potential new *S. mansoni* targets and drug homologs, consequently identifying potential new *Schistosoma* drugs. A list was compiled with *S. mansoni* potential targets that are part of essential processes in the database TDR and the targets that are part of the tegument were obtained in the scientific literature. The file with *S. mansoni* targets contained 1376 targets, and of these only 61 targets associated with 399 drugs had homology with drug targets. After removal of duplicate drugs, drugs found in previous studies and after the analysis of the conservation of the active site only 28 *S. mansoni* targets associated with 102 drugs had 60% or more of the active site conserved. Some of the drugs had activity and are interesting to validate this study such as: artemether, lumefantrine, meloxicam. Among the drugs found 18 drugs were selected to be tested using the following criteria: low toxicity in vivo, expired patent and a value of log P interesting for oral administration.

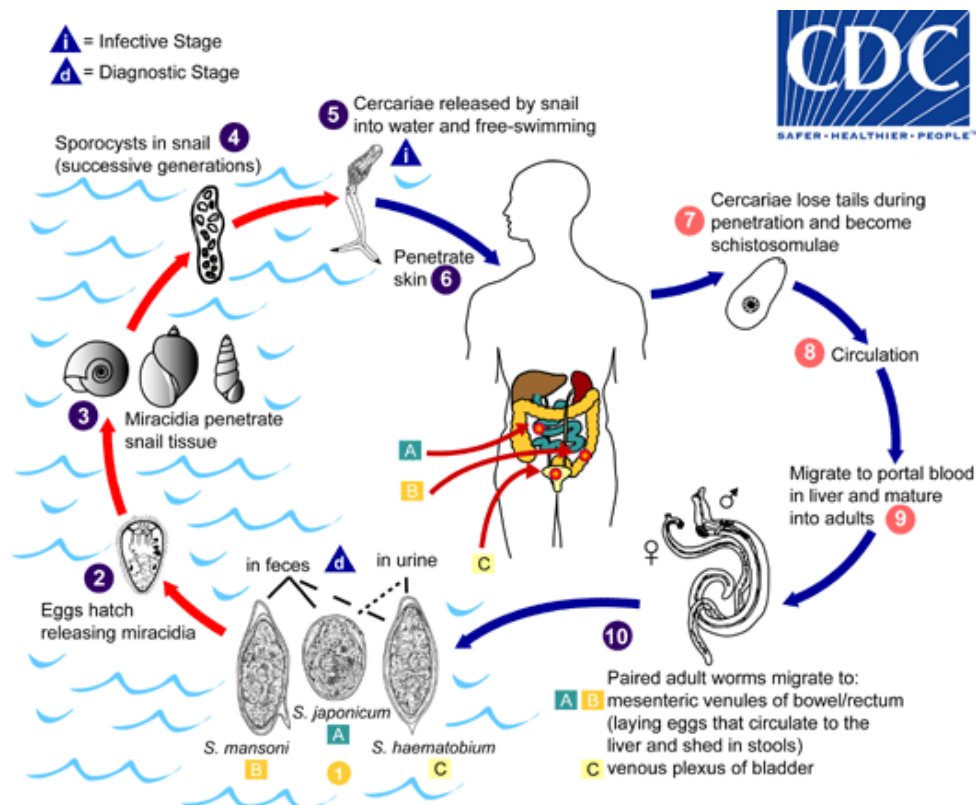
**Keywords:** Control, *Schistosoma mansoni*, drug repositioning, bioinformatics

#### INTRODUCTION

According to the world health organization there are 17 neglected tropical diseases (NTDs) caused by protozoans, helminths, virus and bacteria that impacts especially poor populations living in tropical and subtropical regions of the world (MACKEY et al., 2014; WHO, 2015). NTDs affect 1 billion people around the world in 149 countries, and certain factors can aggravate the impact of this diseases, for example: unemployment, bad nutrition, political instability, lack of basic sanitation among other factors (WHO, 2015). In an attempt to reduce the impact of this diseases globally, WHO elaborated the 2012 Declaration of London, whose goal was to control and eliminate this diseases by 2020

(WHO, 2013). The strategies implemented by WHO had some results for example, reduction in 90% of the cases of African trypanosomiasis, and a reduction in visceral leishmaniasis in Bangladesh (WHO, 2015).

Schistosomiasis is considered a NTD caused by trematodes of the genus *Schistosoma* sp., there are six species that infect human being, and three species are broadly distributed (*S. mansoni*, *S. haematobium*, and *S. japonicum*) that affects around 240 million people in 78 countries (GRYSEELS, 2012; WEERAKOON et al., 2015). In Brazil the only specie that causes schistosomiasis is *S. mansoni*, and it is estimated that between 2.5 and 8 million people are infected in 19 states plus the Federal District (AMORIM et al., 2014). The life cycle of *S. mansoni* is heteroxenic, the definitive host are vertebrate and the intermediate host are aquatic mollusks of the genus *Biomphalaria* sp. that inhabit defined fresh waterbodies (standing water or a river with a weak current) and feed on green algae and decaying organic matter (BARBOSA, 1995; GRYSEELS, 2012). The life cycle of *S. mansoni*, *S. haematobium* and *S. japonicum* can be found in Figure 1.



**Figure 1-** *S. mansoni*, *S. haematobium*, and *S. japonicum* life cycle. Centers for Disease Control (CDC).

Schistosomiasis is a debilitating disease and some of the clinical manifestations of this disease are: Katayama fever, bronchopneumonia, swimmers itch, hepatomegaly, ascites and neuroschistosomiasis (NASCIMENTO-CARVALHO; MORENO-CARVALHO, 2005; BARSOUM; ESMAT; EL-BAZ, 2013; LAMBERTUCCI, 2014). The Katayama fever is the result of the hosts reaction to the migration of the parasite in the beginning of the infection, whereas the hepatomegaly is a result of a granuloma due to the presence of the eggs in the tissue later on in the infection. This disease is diagnosed by parasitological techniques that detect the presence of the eggs in the feces (RABELLO, 1992). This disease can be controlled through diverse methods, for example: water treatment, basic sanitation, use of molluscicides like niclosamide, and preventive treatment with praziquantel (DAI et al., 2010; CHOI; YU, 2015; MOLEHIN et al., 2015).

In the past some other drugs were used in the treatment of schistosomiasis, but they proved to be of low efficiency or toxic (THÉTIOT-LAURENT et al., 2013). These drugs are: antimonial tartarate, emetine, niridazole, and oltipraz. Since then praziquantel has been the drug of choice in the treatment of schistosomiasis. Praziquantel is highly effective and safe, with very little adverse reaction, and is active against five species that cause schistosomiasis (CIOLI et al., 2014). This drug is a racemic mixture, but only the “dextro” isomer is active (ANDREWS, 1985).

The mechanism of action of this drug has not been completely elucidated, but it is believed that this drug acts on the calcium channels, causing an increase in the motor activity, muscular contractions, and formation of vesicles in the tegument (DOENHOFF; CIOLI; UTZINGER, 2008). Some of the disadvantages of this drug are: lack of efficiency in young adults, it can be toxic due to the “levoro” isomer and it can cause allergy reactions (SHEN et al., 2007; DOENHOFF; CIOLI; UTZINGER, 2008). A study of selection of resistance in vivo indicated that parasites can become resistant to this drug, also there are studies that indicate a reduction of sensibility of the parasite to this drug in endemic areas (FALLON; DOENHOFF, 1994; SHEN et al., 2007; DOENHOFF; CIOLI; UTZINGER, 2008).

The discovery of new drugs is a long (10 to 15 years) and expensive process (1,5 billion) due to the phases of the process (TAMIMI; ELLIS, 2009). In silico repositioning of drugs is an alternative strategy to the traditional drug development process, this strategy involves finding new therapeutic uses to the drugs already being used in humans

(ASHBURN; THOR, 2004). The main advantage of this process is a reduction in the time and cost of the process. Some drugs were successfully repositioned: sildenafil, thalidomide, and minoxidil (WU; WANG; CHEN, 2013). The following drugs were successfully repositioned to treat schistosomiasis, artemeter, lumefantrine, etc (KUMAR et al., 2007).

The objective of this study is to reposition new compounds against *S. mansoni*, using essential targets as potential new therapeutic targets. This work uses computational tools to screen drug databases for drug targets homologs to *S. mansoni* targets. Identifying with this strategy potential new active drugs. The methodology of this work is based on a previous study on repositioning (NEVES et al., 2015).

## **METHODS**

### **Compilation of a list with *S. mansoni* targets**

A list was compiled with potentially new *S. mansoni* therapeutic targets that were part of the following essential routes found in the Therapeutic Drug Research (TDR) database: growth defect, larval/adult lethal arrest, morphology defect, and energy metabolism. The *S. mansoni* targets that were part of the tegument were obtained in scientific articles using the following key terms: “proteome” OR/AND “Schistosoma mansoni” OR/AND “tegument”. The information of the *S. mansoni* targets and the aminoacid sequence in the FASTA format were obtained in the GeneDB database.

### **Identification of drug targets homologs to *S. mansoni* targets**

The following databases, Therapeutic Target Database and Drugbank, containing drugs and their corresponding targets were screened with the list of *S. mansoni* targets using the technique of sequence similarity search. Only the drug targets that had an E-value equal to or inferior do  $10^{-20}$  were considered, also nutraceutical and antibodies were not included in this study. Also only drug targets of drugs that were approved or in clinical phases II and III were considered in this study. All the repeated targets and targets described in another study were excluded (NEVES et al., 2015).

### **Confirmation of homology and comparison of the functional region of the targets**

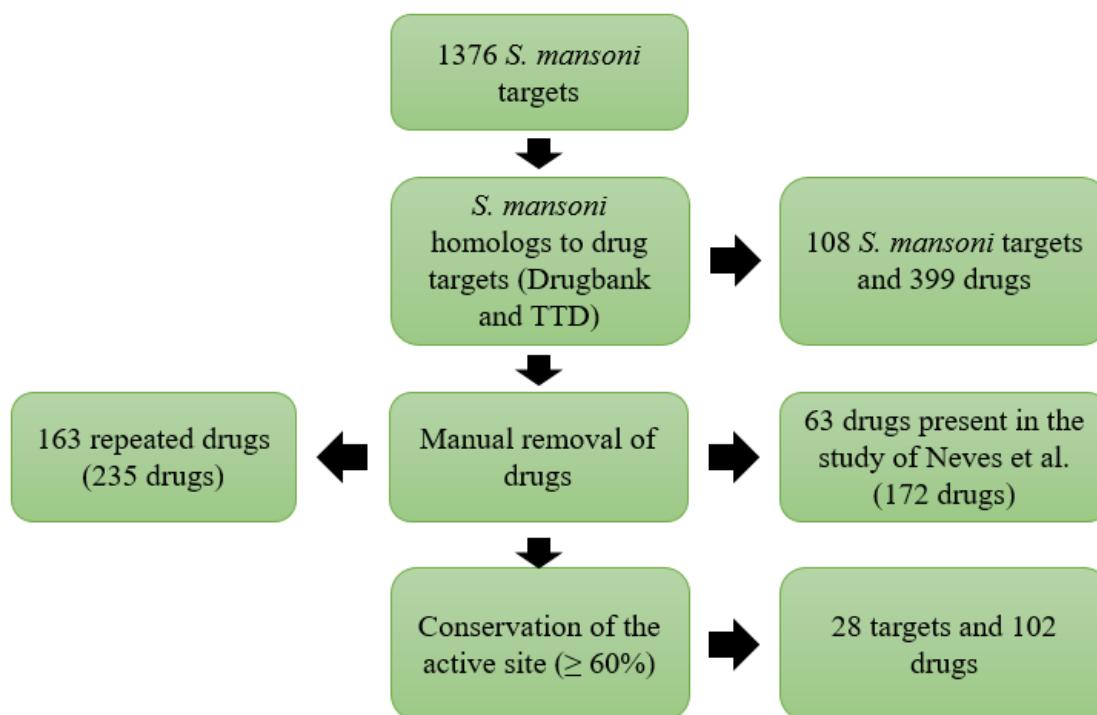
The homology between the targets was confirmed using the tool BLAST in the NCBI database. The next step was the analyses of the degree of conservation of the active site between the targets. The server Consurf determined the functional aminoacid in the

drug target and through manual comparison the degree of conservation of the active site of the *S. mansoni* target was determined. The results were considered satisfactory when the degree of conservation of active site was equal to or superior to 60%.

#### Selection of the drugs to test in assays in vitro

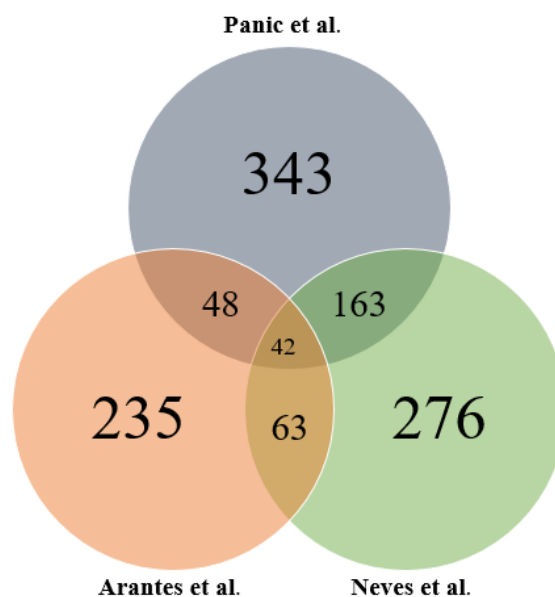
Some of the drugs found showed to be active against *S. mansoni* validating this study. After the removal of the drugs with proven activity the following criteria was used to select the drugs to be tested: patent expired, low toxicity in vivo and a good value of log P for an oral drug. The patent of the drugs was verified in the following databases: Google patent, WIPO and Scifinder. The value of log P was obtained in Drugbank and the values of toxicity in vivo in the scientific literature.

## RESULTS AND DISCUSSION



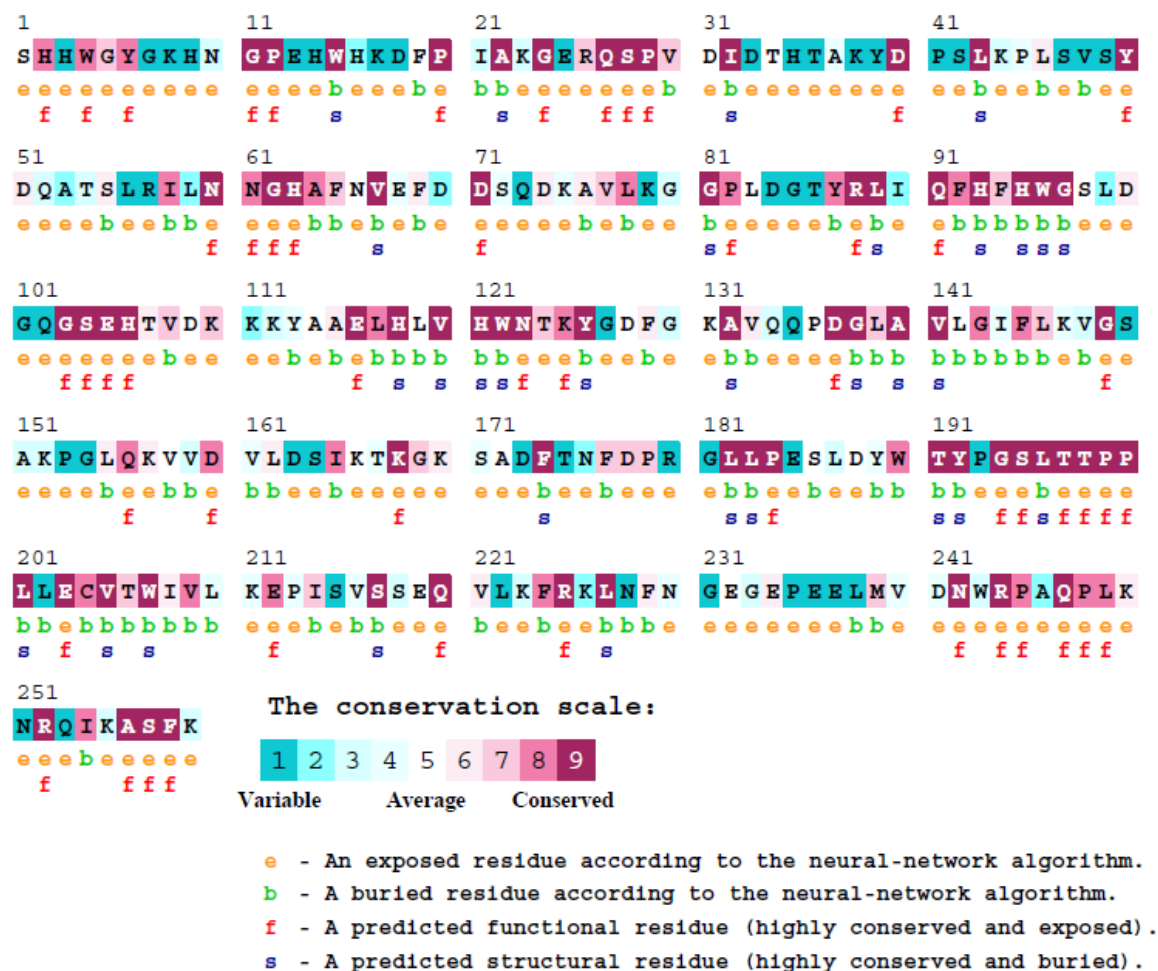
**Figure 2-** Flowchart resuming the search for drug targets homologs to *S. mansoni* targets and conservation of the active site.

In the TDR database and in the scientific literature it was found 1376 potential new therapeutic targets, in the TTD and Drugbank databases only 108 *S. mansoni* targets associated with 399 drugs had homology with drug targets. After the manual removal of 163 drugs only 235 of the 399 drugs remained. This 235 drugs were then compared to other studies.



**Figure 3-** This graph shows the drugs found to be potentially active in *S. mansoni* in the adult and young adult in this study and in repositioning studies (NEVES et al., 2015; PANIC et al., 2015).

The results found in figure 3 shows the comparison of drugs found in this study and in other studies of repositioning. Some of the drugs found in all three studies are: vinblastine, alendronate, cisplatin mefloquine, and others. After the removal of the 63 drugs found in the study of Neves and collaborators, remained 172 drugs. Of the 172 drugs only 102 drugs associated with 28 targets were found to have 60% or more of the active site conserved. An example of the analyses of the active site is in Figure 4. The 28 targets found most were part of the morphology or tegument of the parasite. This result is interesting, since most of the schistosome drugs in the market act on the tegument, like praziquantel, or on the morphology (DOENHOFF; CIOLI; UTZINGER, 2008). Some of the targets found were: DNA topoisomerase II, calmodulin, aminoacid transporters, enzymes in the energetic metabolism. Among the drugs found in this study some drugs proved to already be active against *S. mansoni*: artemeter, cyclosporine, meloxicam, and others. Cyclosporine is an immunosuppressor that promotes alteration in the schistosome tegument and digestive system. Artemeter inhibits the process of production of hemozoin important in the detoxification of the heme group a result of the parasites digestion of blood. Meloxicam interferes with the production of eggs in this parasite, and promotes a reduction in number of parasites.



| Carbonic Anidrase II |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |      |      |     |     |     |   |     |     |     |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |   |    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |   |   |   |   |   |   |   |    |   |   |     |    |     |   |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |    |
|----------------------|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|------|------|-----|-----|-----|---|-----|-----|-----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|---|----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|---|---|---|---|---|---|---|----|---|---|-----|----|-----|---|-----|-----|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|----|
| Drug Target          | 4   | WG | YG | KH | NG | PE | HW | KD | FP | IA | KGER | QSPV | DID | THT | AKY | D | PSL | KPL | SVS | Y | Q | A | T | S | L | R | I | L | N | N  | G  | H | 63 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |   |   |   |   |   |   |   |    |   |   |     |    |     |   |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |    |
| Schisto Target       | 3   | YD | Y  | GE | K  | N  | G  | P  | H  | T  | W    | V    | L   | R   | F   | P | N   | A   | G   | G | T | K | O | S | P | I | N | L | N | T  | M  | S | M  | R | L | D | E | S | L | T | P | I | N | V | D | E  | N | L | Q | N | Q | T | L | H  | V | K | D   | H  | 62  |   |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |    |
| Drug Target          | 64  | A  | F  | N  | V  | E  | F  | D  | S  | Q  | D    | K    | A   | V   | L   | K | G   | G   | P   | L | D | G | T | Y | R | L | I | O | F | H  | F  | H | W  | G | S | L | D | G | G | S | E | H | I | V | D | K  | K | Y | A | A | E | L | H | V  | H | N | 123 |    |     |   |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |    |
| Schisto Target       | 63  | N  | F  | S  | V  | E  | V  | -- | -- | K  | G    | N    | A   | V   | L   | S | G   | G   | P   | L | T | S | E | Y | K | L | T | O | F | H  | L  | H | W  | G | S | G | N | N | W | G | S | E | H | I | M | I  | N | G | I | S | C | P | A | E  | L | H | C   | V  | F   | I | N   | 119 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |    |
| Drug Target          | 124 | T  | K  | Y  | G  | D  | F  | G  | K  | A  | V    | Q    | Q   | P   | D   | G | L   | A   | V   | L | G | I | F | L | K | V | G | S | A | -- | -- | K | P  | G | L | Q | K | V | V | D | V | L | S | I | K | T  | K | G | S | A | D | F | T | -- | N | F | D   | P  | 179 |   |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |    |
| Schisto Target       | 120 | T  | K  | Y  | A  | T  | M  | E  | T  | A  | I    | T    | Y   | S   | D   | G | L   | S   | V   | V | G | I | F | F | Q | L | G | K | S | S  | N  | N | N  | N | A | L | K | R | L | T | L | K | S | T | K | -- | K | G | S | K | D | I | Q | P  | M | L | D   | L  | 178 |   |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |    |
| Drug Target          | 180 | R  | G  | L  | P  | E  | S  | L  | D  | -- | Y    | W    | T   | Y   | P   | G | S   | L   | T   | T | P | P | L | L | E | C | V | T | W | I  | V  | L | K  | E | P | I | S | V | S | S | E | Q | V | L | K | F  | R | K | L | N | F | N | G | E  | G | E | P   | E  | E   | L | 238 |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |    |
| Schisto Target       | 179 | N  | T  | L  | P  | E  | N  | D  | L  | S  | R    | Y    | T   | Y   | T   | S | G   | S   | L   | T | T | P | P | C | N | E | C | V | T | W  | I  | V | L  | D | E | P | V | V | M | T | I | D | L | E | T | L  | R | Q | M | H | A | N | C | V  | T | C | G   | -- | 236 |   |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |    |
| Drug Target          | 239 | M  | V  | D  | N  | W  | R  | P  | A  | Q  | P    | L    | K   | N   | R   | Q | I   | K   | A   | S | F | K |   |   |   |   |   |   |   |    |    |   |    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |   |   |   |   |   |   |   |    |   |   |     |    |     |   |     |     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  | </ |

**Figure 3** – Example of the conservation of the active site of carbonic anhydrase II. The Consurf shows the functional aminoacids of carbonic anhydrase II of *Homo sapiens* (CA2).

The comparison between the drug target and the *S. mansoni* target shows that 77% of the active site is conserved and 23% is not conserved.

Of the 102 drugs, 18 drugs were selected to be tested in activity assays using the following criteria: patent expired, low cost, a good value of log P and low toxicity in vivo. Among the drugs selected some members of the fluorquinolones class was selected: levofloxacin, sparfloxacin, moxifloxacin. The fluorquinolones are antibiotics used in the treatment of infections by gram-negative bacteria. These compounds enter the cell and inhibit DNA topoisomerase II, inhibiting DNA synthesis (ZHANEL et al., 1999). Another interesting compound selected is 2-methoxyestradiol, this compound is an anti-cancer agent that acts by inhibiting tubulin and microtubule formation, also it can induce apoptosis by activating the p53 transduction pathway (KUMAR et al., 2016). Levothyroxine was also selected, it's a hormone that is used in the treatment of hypothyroidism, and is important in the regulation and production of reactive oxygen species (ROS). The excessive ROS leads to oxidation of essential macromolecules (BELLERA et al., 2014). The next approach is the continuation of this project, by testing the selected compounds and identifying potentially new active schistosome drugs.

## REFERENCES

- ANDREWS, P. Praziquantel: mechanisms of anti-schistosomal activity. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 29, p. 129–156, 1985.
- ASHBURN, T. T.; THOR, K. B. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. **Nature reviews. Drug discovery**, v. 3, n. 8, p. 673–683, 2004.
- BARBOSA, F. S. **Tópicos em malacologia médica**. Fiocruz, 1995.
- BARSOUM, R. S.; ESMAT, G.; EL-BAZ, T. Human Schistosomiasis: Clinical Perspective: Review. **Journal of Advanced Research**, v. 4, n. 5, p. 433–444, 2013.
- BELLERA, C. L.; BALCAZAR, D. E.; ALBERCA, L.; LABRIOLA, C. A.; TALEVI, A.; CARRILLO, C. Identification of Levothyroxine Antischagasic Activity through Computer-Aided Drug Repurposing. **The Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1–9, 2014.
- CHOI, M.; YU, J. Who Neglects Neglected Tropical Diseases ? – Korean Perspective. **Neglected tropical diseases**, v. 30, p. 122–130, 2015.
- CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L.; BASSO, A.; GUIDI, A. Schistosomiasis control: Praziquantel forever? **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 195, n. 1, p. 23–29, 2014.
- DAI, J. R.; COLES, G. C.; WANG, W.; LIANG, Y. S. Toxicity of a novel suspension concentrate of niclosamide against *Biomphalaria glabrata*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 104, n. 4, p. 304–306, 2010.

DOENHOFF, J.; CIOLI, D.; UTZINGER, J. Praziquantel: mechanisms of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis. **Wolters Kluwer Health**, v. 21, p. 659–667, 2008.

DUDLEY, J. T.; DESHPANDE, T.; BUTTE, A. J. Exploiting drug-disease relationships for computational drug repositioning. **Briefings in Bioinformatics**, v. 12, n. 4, p. 303–311, 2011.

FALLON, P. G.; DOENHOFF, M. J. Drug-resistant schistosomiasis: Resistance to praziquantel and oxamniquine induced in *Schistosoma mansoni* in mice is drug specific. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 51, n. 1, p. 83–88, 1994.

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

KUMAR, B. S.; RAGHUVANSHI, D. S.; HASANAIN, M.; ALAM, S.; SARKAR, J.; MITRA, K.; KHAN, F.; NEGI, ARVIND S. Recent Advances in chemistry and pharmacology of 2-methoxyestradiol: An anticancer investigational drug. **Steroids**, 2016.

KUMAR, S.; GUHA, M.; CHOUBEY, V.; MAITY, P.; BANDYOPADHYAY, U. Antimalarial drugs inhibiting hemozoin ( $\beta$ -hematin) formation: A mechanistic update. **Life Sciences**, v. 80, n. 9, p. 813–828, 2007.

LAMBERTUCCI, J. R. Revisiting the concept of hepatosplenic schistosomiasis and its challenges using traditional and new tools. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 2, p. 130–136, 2014.

MACKEY, T. K.; LIANG, B. A.; CUOMO, R.; HAFEN, R.; BROUWER, K. C.; LEE, D. E. Emerging and reemerging neglected tropical diseases: a review of key characteristics, risk factors, and the policy and innovation environment. **Clinical microbiology reviews**, v. 27, n. 4, p. 949–79, 2014.

MOLEHIN, A. J.; ROJO, J. U.; SIDDIQUI, S. Z.; GRAY, S. A.; CARTER, D.; SIDDIQUI, A. A. Development of a Schistosomiasis Vaccine. **Expert Review of Vaccines**, 2015.

NASCIMENTO-CARVALHO, C. M.; MORENO-CARVALHO, O. A. Neuroschistosomiasis due to *Schistosoma mansoni*: A review of pathogenesis, clinical syndromes and diagnostic approaches. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 47, n. 4, p. 179–184, 2005.

NEVES, B. J.; BRAGA, R. C.; BEZERRA, J. C. B.; CRAVO, PEDRO V. L.; ANDRADE, C. H. In Silico Repositioning-Chemogenomics Strategy Identifies New Drugs with Potential Activity against Multiple Life Stages of *Schistosoma mansoni*. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 1, p. e3435, 2015.

PANIC, G.; VARGAS, M.; SCANDALE, I.; KEISER, J. Activity Profile of an FDA-Approved Compound Library against *Schistosoma mansoni*. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 7, p. e0003962, 2015.

RABELLO, A. L. T. Parasitological diagnosis of schistosomiasis: Fecal examination and rectal biopsy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, n. 4, p. 325–331, 1992.

SHEN, C.; CHOI, M. H.; YOUNG, M. B.; YU, G.; WANG, S.; HONG, S. T. A case of anaphylactic reaction to praziquantel treatment. **American Journal of Tropical Medicine and**

**Hygiene**, v. 76, n. 3, p. 603–605, 2007.

TAMIMI, N.; ELLIS, P. Drug development: from concept to marketing! **Nephron. Clinical practice**, v. 113, n. 3, p. c125–31, 2009.

THÉTIOT-LAURENT, S. A L.; BOISSIER, J.; ROBERT, A.; MEUNIER, B. Schistosomiasis chemotherapy. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 52, n. 31, p. 7936–7956, 2013.

WEERAKOON, K. G. A. D.; GOBERT, G. N.; CAI, P.; MCMANUS, D. P. Advances in the Diagnosis of Human Schistosomiasis. **Clinical microbiology reviews**, v. 28, n. 4, p. 939–967, 2015.

WHO. Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases: second WHO report on neglected tropical diseases. **Geneva**, p. xii; 140, 2013.

WHO. Investing to overcome the Global Impact of Neglected Tropical Diseases. 2015.

WU, Z.; WANG, Y.; CHEN, L. Network-based drug repositioning. **Molecular bioSystems**, v. 9, n. 6, p. 1268–81, 2013.

ZHANEL, G. G.; WALKTY, A.; VERCAIGNE, L.; KARLOWSKY, J. A.; EMBIL, J.; GIN, A. S.; HOBAN, D. J. The New Fluoroquinolones: A Critical Review. **The Canadian Journal of Infectious Diseases**, v. 10, n. 3, p. 207–38, 1999.