

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

TAYNARA GABRIELE RIBEIRO PIANO

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE COMPOSTOS SELENADOS E TELURADOS EM
MODELO *IN VITRO* CONTRA *Haemonchus* spp. DE BOVINOS E OVINOS

CURITIBA

2025

TAYNARA GABRIELE RIBEIRO PIANO

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE COMPOSTOS SELENADOS E TELURADOS EM
MODELO *IN VITRO* CONTRA *Haemonchus* spp. DE BOVINOS E OVINOS

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Beltrão Molento

Coorientador: Dr. Irineu Romero Neto

CURITIBA

2025

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Piano, Taynara Gabriele Ribeiro

Avaliação da eficácia de compostos selenados e telurados em modelo *in vitro* contra *Haemonchus spp.* de bovinos e ovinos / Taynara Gabriele Ribeiro Piano. – Curitiba, 2025.

1 recurso online: PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Beltrão Molento

Coorientador: Dr. Irineu Romero Neto

1. Bovino. 2. Ovino. 3. Parasitos. 4. Antiparasitários. I. Molento, Marcelo Beltrão. II. Romero Neto, Irineu. III. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. IV. Título.



TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIAS VETERINÁRIAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **TAYNARA GABRIELE RIBEIRO PIANO**, intitulada: **Avaliação da eficácia de compostos selenados e telurados e m modelo in vitro contra Haemonchus spp . de bovinos e ovinos**, sob orientação do Prof. Dr. MARCELO BELTRÃO MOLENTO, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 26 de Fevereiro de 2025.

Assinatura Eletrônica

27/02/2025 14:15:43.0

MARCELO BELTRÃO MOLENTO

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

27/02/2025 15:12:25.0

ALDA LUCIA GOMES MONTEIRO

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - ZOOTECNIA)

Assinatura Eletrônica

06/03/2025 10:40:01.0

ANDRESSA RADTKE BAUNGRATZ

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e a Nossa Senhora Aparecida por me guiarem durante todos os momentos dessa jornada, me dando forças e discernimento para encarar os obstáculos durante estes dois anos de mestrado.

Aos meus pais, Ilto Piano e Nívia Piano, por serem meu alicerce e sempre me apoiarem, além de nunca medirem esforços para que eu alcançasse meus sonhos, sem eles nada seria possível. Às minhas irmãs Iasmin e Eluane Piano, por todo amor e incentivo durante essa caminhada, sou imensamente grata por tê-las na minha vida, minhas pequenininhas. À vó Lídia, vô Juca e tia Marci, obrigada por terem segurado minha mão em todos os momentos difíceis.

Ao meu namorado, Allan Spiess, por sempre me apoiar e me dar forças em momentos que eu não achei que seria capaz. Obrigada por ser o meu melhor amigo, companheiro e incentivador. E a sua família, por todo amor e apoio durante este processo, em especial, a nossa amada GitteOma (em memória).

A minha família Curitibana, Larissa Tavares, Maria Gimenez, Edwin Buriticaes, Stephane Santos e principalmente Mayara Silvestri, obrigada por todos os momentos compartilhados, sem vocês eu não teria me adaptado em Curitiba.

Ao meu orientador, Prof^o. Dr. Marcelo Beltrão Molento, por sua orientação, paciência e dedicação ao longo deste projeto. Seu conhecimento e incentivo foram essenciais nesta pesquisa. Agradeço também pela confiança depositada em mim e pelos valiosos conselhos e ensinamentos. Sou extremamente grata pelas oportunidades que me proporcionou.

Ao meu coorientador, Dr. Irineu Romero Neto, agradeço por todo auxílio durante a realização dos experimentos, pelo apoio, atenção e disponibilidade. Lembrarei sempre de seus ensinamentos e do exemplo de profissional e grande pessoa que é.

Aos professores doutores Alda Lúcia Gomes Monteiro (Laboratório de Pesquisa em Ovinos e Caprinos/ LAPOC UFPR), Leandro Oliveira (Núcleo de Inovação Tecnológica em Agropecuária/ NITA UFPR), Leandro Piovan (Laboratório de Síntese Química e Enzimática/UFPR) e Wanderson Duarte da Rocha (Laboratório de Genômica Funcional de Parasitos/UFPR). Muito obrigada por toda colaboração e pelas valiosas orientações.

Aos meus amigos do LPCV, Júlia, Eduarda, Maria Alice, Douglas, Thayany, Janaélia, Luciana, Desiree, Leonardo e Maurício. Sem vocês o caminho teria sido ainda mais difícil. Agradeço a nossa querida técnica, Úrsula (Ursinha), pelo seu carinho e paciência ao ensinar realizar os exames e pela ajuda nos experimentos.

Aos meus amigos do NITA, Bruna Vacelik, Ana Paula Corteze, Marco Antônio Mayer, Camila Crestani e estagiários. A amizade e ajuda de vocês foi muito importante para mim, sem contar os incontáveis momentos maravilhosos que me proporcionaram (menos a Bruna, essa só me colocou em furada). Agradeço a todos os pós-graduandos que me auxiliaram durante esta pesquisa, em especial aos meus colegas dos vários laboratórios em que pude sempre contar: Laryssa Rudek, Juliana Severo Miranda e Rafael Uhlik Veiga e Tay Zugman.

Por fim, porém não menos importante, agradeço a Universidade Federal do Paraná (UFPR), por toda a estrutura que possibilitou este projeto, além de toda a equipe de funcionários terceirizados da Universidade. Um carinho especial pelo pessoal do RU e motoristas do Intercampi. Ao programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV) e CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

EPIGRAFE

"Entrega teu caminho ao Senhor, confia nele e ele tudo fará."

Salmos 37:5

RESUMO

Infecções parasitárias causadas por nematódeos gastrintestinais (NGI) são responsáveis por um grande impacto na saúde de ruminantes. Os anti-helmínticos são utilizados para o controle das verminoses, mas seu uso indiscriminado tem aumentado a seleção de parasitos resistentes. Formulações com derivados de selênio (Se) e telúrio (Te) representam uma alternativa terapêutica. O objetivo desta pesquisa foi determinar o efeito do disseleneto de difenila (PhSe)₂, cloreto de fenilselenila (4-Cl-PhSe)₂ e telurato de trico (dioxietileno O,O') de amônia (AS-101) contra larvas de terceiro estágio (L3) e ovos de helmintos coletados de bovinos e ovinos. Foram realizados testes de inibição da migração larval (TIML) e de eclodibilidade de ovos (TEO) em concentrações de 0,10 a 16,00 mmol L⁻¹, além da avaliação da citotoxicidade em células LLC-MK2 (Lilly Laboratory Culture–Monkey kidney–second lineage). Ivermectina (IVM) foi usada como controle positivo e para combinação de medicamentos. Entre os helmintos identificados, *Haemonchus* spp. foi o mais prevalente, representando 76% nas amostras de ovinos e 64% nas de bovinos, seguido por *Trichostrongylus* spp. (16% e 24%, respectivamente). Já *Oesophagostomum* spp. e *Cooperia* spp. foram menos frequentes, correspondendo a 6 e 2% nos ovinos, e 9 e 3% nos bovinos. Os dados revelaram a efetiva interferência concentração-dependente de PhSe)₂, 4 Cl-PhSe)₂ e AS-101. AS-101 alcançou a maior atividade larvicida, com concentração inibitória de 50% (CI₅₀) de 0,976 mmol L⁻¹ e 1,035 mmol L⁻¹ para ovinos e bovinos, respectivamente. PhSe)₂ apresentou o melhor desempenho ovicida, com o menor CI₅₀ para ovinos (1,801 mmol L⁻¹) e bovinos (1,845 mmol L⁻¹). Adicionalmente, o composto 4-CL-PhSe)₂ também exibiu atividade inibitória significativa sobre a migração de L3 e a eclodibilidade de ovos, embora necessitasse de concentrações mais elevadas em comparação aos demais. As combinações de (PhSe)₂ e AS-101 com IVM tiveram um efeito aditivo de até 13,33% contra L3 do parasito no ensaio de combinação de medicamentos. As diluições foram realizadas fixando [(PhSe)₂] na CI₅₀ e variando [IVM] em CI₁₀, CI₃₀ e CI₅₀, e vice-versa, o mesmo ocorrendo para AS-101. Quanto à citotoxicidade, PhSe)₂ apresentou o menor efeito sobre células LLC-MK2. Os resultados indicam potencial terapêutico dos compostos, representando inovação farmacológica promissora.

Palavras-chave: Resistência anti-helmíntica; organoselênio; calcogênios; interação droga-droga; antiparasitários.

ABSTRACT

Parasitic infections caused by gastrointestinal nematodes (GIN) have a significant impact on the health of ruminants. Anthelmintics are used to control helminth infections, but their indiscriminate use has led to an increase in the selection of resistant parasites. Formulations containing selenium (Se) and tellurium (Te) derivatives represent a therapeutic alternative. The aim of this research was to determine the effect of diphenyl diselenide ((PhSe)₂), 4-chlorophenylselenenyl chloride ((4-Cl-PhSe)₂), and ammonium trichotellurate (dioxydiethylene O,O') (AS-101) against third-stage larvae (L3) and helminth eggs collected from cattle and sheep. Larval migration inhibition tests (LMIT) and egg hatch assays (EHA) were performed at concentrations ranging from 0.10 to 16.00 mmol L⁻¹, in addition to cytotoxicity evaluation in LLC-MK2 cells (Lilly Laboratory Culture–Monkey kidney–second lineage). Ivermectin (IVM) was used as a positive control and in drug combination assays. Among the identified helminths, *Haemonchus* spp. was the most prevalent, accounting for 76% of the samples from sheep and 64% from cattle, followed by *Trichostrongylus* spp. (16% and 24%, respectively). *Oesophagostomum* spp. and *Cooperia* spp. were less frequent, representing 6% and 2% in sheep, and 9% and 3% in cattle. The data revealed a concentration-dependent effect of (PhSe)₂, (4-Cl-PhSe)₂, and AS-101. AS-101 showed the highest larvicidal activity, with a 50% inhibitory concentration (IC₅₀) of 0.976 mmol L⁻¹ for sheep and 1.035 mmol L⁻¹ for cattle. (PhSe)₂ demonstrated the best ovicidal performance, with the lowest IC₅₀ for sheep (1.801 mmol L⁻¹) and cattle (1.845 mmol L⁻¹). Additionally, the compound (4-Cl-PhSe)₂ also exhibited significant inhibitory activity on L3 migration and egg hatchability, although it required higher concentrations compared to the others. Combinations of (PhSe)₂ and AS-101 with IVM showed an additive effect of up to 13.33% against L3 in the drug combination assay. Dilutions were performed by fixing [(PhSe)₂] at the IC₅₀ and varying [IVM] at IC₁₀, IC₃₀, and IC₅₀, and vice versa, the same approach being applied for AS-101. Regarding cytotoxicity, (PhSe)₂ showed the lowest effect on LLC-MK2 cells. The results indicate the therapeutic potential of these compounds, representing a promising pharmacological innovation.

Keywords: Anthelmintic resistance; organoselenium; chalcogens; drug-drug interaction; antiparasiticides.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

TABELA 1- Concentração inibitória (CI) de AS-101, PhSe_2 , 4-CL-PhSe_2 e ivermectina (IVM) contra larvas de terceiro estágio composto de *Haemonchus* spp, *Trichostrongylus* spp, *Oesophagostomum* spp. e *Cooperia* spp. de ovinos e bovinos.....53

TABELA 2- Atividade larvicida (%) e efeito aditivo (%) das combinações de diferentes concentrações (IC) de ivermectina (IVM), disseleneto de difenila (PhSe_2) e telurato de trico (dioxietileno O,O') de amonia (AS-101) em larvas de terceiro estágio composto de *Haemonchus* spp, *Trichostrongylus* spp, *Oesophagostomum* spp. e *Cooperia* spp.....55

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

NGI- nematódeos gastrintestinais

Se- selênio

Te- telúrio

PhSe)₂ - disseleneto de difenila

4-Cl-PhSe)₂- cloreto de fenilselenila

AS-101- Telurato de trico (dioxietileno O,O') de amonia

L3- larvas de terceiro estágio

TIML- testes de inibição da migração larval

TEO- teste de eclodibilidade de ovos

DMSO- dimetil-sulfóxido

Cl₅₀ - concentração inibitória de 50%

IVM- Ivermectina

LLC-MK2 - Lilly Laboratory Culture- Monkey kidney- second lineage

NTX- nitroxinil

MOL⁻¹- Mol por litro

UFPR- Universidade Federal do Paraná

S- enxofre

O- oxigênio

Se- selênio

Po- polônio

Lv- livermório

μmol L⁻¹ - micromol

GPx -enzimas Glutathione Peroxidases

DNA- ácido desoxirribonucleico

mmol L⁻¹ – milimol

CC₅₀ - concentração citotóxica

CEUA- Comitê de Ética no Uso de Animais

SFB- Soro bovino fetal

DAPI - 4,6-*di*-diamidino-2- fenilindol

RMN- Ressonância Magnética Nuclear

¹H- Hidrogênio

MHz - megahertz

TMS- tetrametilsilano

g- grama

mL- mililitro

μL - microlitro

mg- miligramas

TeCl₄- tetracloreto de telúrio

CH₃CN- acetonitrílio

FTIR- Espectroscopia de Infravermelho transformada de Fourier, do inglês, Fourier Transform Infrared Spectroscopy

NH₄⁺- amônio

CO- monóxido de carbono

DMSO-d₆- sulfóxido de dimetila deuterado

BOD- Biochemical Oxygen Demand

OPG- ovos por grama

Rpm- rotações por minuto

CO₂ dióxido de carbono

PBS- solução salina tamponada com fosfato, do inglês, Phosphate Buffered Saline

Nm- nanômetro

DP- desvio padrão

Ca²⁺ - íons de cálcio

NAD⁺ - nicotinamida adenina dinucleotídeo

MDR- resistência a múltiplas drogas (Multidrug Resistance)

P-gp- glicoproteína P

V79 - células derivadas de fibroblastos do pulmão de hamster chinês

HeG2 - linhagem celular de um carcinoma hepatocelular humano

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

FIGURA 1- Fórmula estrutural de disseleneto de difenila (PhSe)₂ e cloreto de fenilselenila (4-Cl-PhSe)₂ e telurato de trico (dioxietileno O,O') de amonia (AS-101).45

FIGURA 2- Migração de larvas de terceiro estágio (média ± desvio padrão, DP) de *Haemonchus* spp, *Trichostrongylus* spp, *Oesophagostomum* spp. e *Cooperia* spp. de ovinos, expostas a (A) 4-Cl-PhSe)₂, (B) PhSe)₂, (C) AS-101 e (D) IVM.....51

FIGURA 3- Migração de larvas de terceiro estágio (média ± desvio padrão, DP) de *Haemonchus* spp, *Trichostrongylus* spp, *Oesophagostomum* spp. e *Cooperia* spp. de bovinos após exposição aos compostos: (A) 4-Cl-(PhSe)₂, (B) (PhSe)₂, (C) AS-101 e (D) IVM.....52

FIGURA 4- Porcentagem de eclosão dos ovos (média ± desvio padrão, DP) de *Haemonchus* spp, *Trichostrongylus* spp, *Oesophagostomum* spp. e *Cooperia* spp. de bovinos, após exposição aos compostos 4 Cl-PhSe)₂ (A), PhSe)₂ (B) e AS-101 (C).....54

FIGURA 5- Eclosão de ovos (média ± desvio padrão, DP) de *Haemonchus* spp, *Trichostrongylus* spp, *Oesophagostomum* spp. e *Cooperia* spp. de ovinos, expostos a 4 Cl-Phse)₂ (A), Phse)₂ (B) e AS-101 (C).....54

FIGURA 6- Citotoxicidade em células epiteliais de rim de macaco Rhesus-LLC-MK2 (Lilly Laboratory Culture- Monkey kidney- second lineage)LLC-MK2 após tratamento com disseleneto de difenila (PhSe)₂ e telurato de trico (dioxietileno O,O') de amonia (AS-101) por 24 e 48 h.....57

ANEXO 1

FIGURAS 7, 8, 9 E 10 -Teste de Inibição da Migração Larval (TIML). A: Coprocultura para obtenção de L3. B: Placas de 24 poços com aparatos com malha de 25µm para avaliação da motilidade de L3 C: Microscópio invertido para contagem de larvas. D: Larva de *Haemonchus* spp.....70

FIGURAS 11 E 12- Aparato para o teste de inibição da migração larval (TIML). A: Consiste em uma seringa de 5ml cortada no tamanho aproximado de 2cm, com outra seringa de 2ml cortada no mesmo tamanho com uma malha de 25 micrômetros a sua volta. B: Aparato pronto.....	71
FIGURA 13 - Larva de <i>Haemonchus</i> spp. com presença de bainha.....	72
FIGURAS 14 E 15- Ovos de estrongilídeos extraídos de ovinos para o teste de eclodibilidade de ovos (TEO) no aumento de 10x e 40x	72
FIGURA 16- Células epiteliais de rim de macaco Rhesus (Lilly Laboratory Culture-Monkey kidney second lineage-LLC-MK2) durante a avaliação da citotoxicidade em células.....	74
FIGURA 17- Contagem de larvas migradas do controle negativo com água destilada no microscópio invertido.....	75
ANEXO 2	
Figura 18- Ofício de Aprovação na Comissão de Ética de Uso em Animais – Agrárias/UFPR.....	76

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
1.1 HIPÓTESE.....	19
1.2 OBJETIVO GERAL.....	19
1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
1.4 REFERÊNCIAS.....	20
2 CAPÍTULO 1- REVISÃO DE LITERATURA.....	23
2.1 ENDOPARASIToses GASTRINTESTINAIS EM RUMINANTES (BOVINOS E OVINOS).....	23
2.2 RESISTÊNCIA PARASITÁRIA.....	24
2.4 PROPRIEDADES DOS COMPOSTOS SELENADOS E TELURADOS.....	26
2.4.1 Telúrio.....	26
2.4.2 Selênio.....	27
2.5 MODELOS IN VITRO NO ESTUDO DE ANTI-HELMÍNTICOS.....	27
2.5.1 Teste de inibição da migração larval in vitro (TIML).....	28
2.5.2 Teste de eclodibilidade de ovos (TEO).....	28
2.6 PERSPECTIVAS FUTURAS DAS PESQUISAS COM CALCOGÊNIOS.....	29
2.6.1 Avanços e desafios da pesquisa.....	29
2.6.2 Perspectivas futuras.....	31
2.7 REFERÊNCIAS.....	31
3 CAPÍTULO 2: EFICÁCIA DE DISSELENETO DE DIFENILA (PhSe)₂), CLORETO DE FENILSELENILA (4-CI- PhSe)₂) E TELURATO DE TRICO (DIOXIETILENO O,O') DE AMONIA (AS101) EM MODELO IN VITRO CONTRA <i>Haemonchus</i> spp. DE BOVINOS E OVINOS.....	42
3.1 RESUMO.....	42
3.2 INTRODUÇÃO.....	44
3.3 MATERIAL E MÉTODOS.....	45
3.3.1. Comitê de Ética.....	45
3.3.2 Produtos químicos.....	45

3.3.3 Recuperação de ovos e L3.....	46
3.3.4 Teste de inibição da migração larval (TIML).....	46
3.3.5 Teste de eclodibilidade de ovos (TEO).....	47
3.3.6 Ensaio de combinação de medicamentos.....	48
3.3.7 Avaliação da citotoxicidade em LLC -MK2(Lilly Laboratory Culture-Monkey kidney-second lineage).....	48
3.3.8 Análise estatística.....	49
3.4 RESULTADOS.....	49
3.4.1 Identificação larval.....	49
3.4.2 Teste de inibição da migração larval (TIML).....	50
3.4.3 Teste de eclodibilidade de ovos (TEO).....	53
3.4.4 Ensaio de combinação de medicamentos.....	54
3.4.5 Avaliação da citotoxicidade em células de linhagem LLC-MK2 (Lilly Laboratory Culture- Monkey kidney- second lineage).....	56
3.5 DISCUSSÃO.....	57
3.6 CONCLUSÃO.....	62
3.7 Agradecimentos.....	62
3.8 Conflitos de interesse.....	63
REFERÊNCIAS.....	63
ANEXO 1- FOTOS EXTRAS.....	70
ANEXO 2 - COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	76

1 INTRODUÇÃO

A Infecção por parasitos gastrintestinais, compromete o bem-estar de bovinos e ovinos. Os efeitos das endoparasitoses se manifestam pela diminuição do consumo de alimento e, conseqüente, baixo índice de crescimento e mortes de animais jovens, além de predispor a outras doenças (Charlier et al., 2015; Roeber et al., 2017).

O controle de helmintos é comumente realizado com o uso supressivo de antiparasitários (Andrade et al., 2014). Esta conduta facilitou a seleção de populações parasitárias resistentes aos principais grupos de anti-helmínticos (benzimidazóis, imidazotiazóis e as lactonas macrocíclicas) (Fortes e Molento, 2013). Além de gerar grande deposição de resíduos farmacológicos no meio ambiente e altos custos para a produção de novos medicamentos (Molento, 2004). Considerando esta situação, é necessário estabelecer novas estratégias sanitárias, visando prolongar a eficácia dos anti-helmínticos, explorando o uso de diferentes compostos em novas formulações terapêuticas. Bortoluzzi e colaboradores (2021) encontraram efeitos importantes utilizando a concentração inibitória de 50% (IC₅₀) de nitroxinil (NTX) em combinação com o óleo essencial de *Mentha villosa* e uma nanoemulsão de *Mentha piperita*. Os autores relataram um efeito sinérgico da associação contra a *Haemonchus* spp. e *Trichostrongylus* spp., mostrando um aumento de mais de 70% na eficácia do NTX e dos óleos essenciais.

Dentre as tecnologias, os compostos organoselenados e compostos telurados podem ser uma alternativa promissora para o tratamento de infecções gastrintestinais em ruminantes. O selênio (Se) é um micromineral, classificado como um micronutriente essencial (Roman et al., 2014), possuindo funções estruturais e enzimáticas fundamentais para o funcionamento do sistema imunológico (Fahmy et al., 2021). Os compostos organoselenados, como o disseleneto de difenila (PhSe)₂ e cloreto de fenilselenila (4-Cl-PhSe)₂, são caracterizados pela presença do selênio ligado a átomos de carbono em sua estrutura molecular, auxiliando na síntese de moléculas bioativas. A quantidade de selênio varia de acordo com a formulação de

cada composto, sendo que em uma molécula de PhSe_2 e de 4-Cl-PhSe_2 há aproximadamente 157,94g/mol de selênio. Suas propriedades estão relacionadas com atividades anti-inflamatória, antimicrobianas, antioxidante e antitumoral (Nogueira et al., 2004; Avila et al., 2012; Cordeiro et al., 2022). E é por meio da incorporação em selenoproteínas, incluindo resíduos de selenocisteína, que o Se direciona suas funções biológicas, além de diminuir seus efeitos citotóxicos (Bartolini et al., 2017). O telúrio (Te) é um semimetal, levemente tóxico e raro, com pouca abundância no planeta (Robert, 1988). O elemento possui compostos derivados inorgânicos e orgânicos, com potencial para aplicações terapêuticas, principalmente relacionadas com atividades antitumorais e antimicrobianas (Medina-Cruz et al., 2020; Sato et al. 2019; Wang et al. 2020).

Dessa forma, devido às diferentes propriedades químicas dessas moléculas, surge a possibilidade de desenvolvimento de novas terapias para o controle de parasitos gastrintestinais. Esses compostos podem ser avaliados para aplicação individual ou em combinação com antiparasitários comerciais, como a ivermectina (IVM), por ser membro do grupo antiparasitário de lactonas macrocíclicas de amplo espectro, possuir um mecanismo de ação diverso e praticamente sem efeitos colaterais para o animal, quando usada em sua dose terapêutica (Molento, 2021).

O capítulo I apresenta a revisão de literatura e o capítulo II, o manuscrito intitulado: Eficácia de disseleneto de difenila (PhSe_2), cloreto de feliselenila (4-Cl-PhSe_2) e telurato de trico (dioxietileno O,O') de amônia (AS-101) em modelo *in vitro* contra *Haemonchus* spp. de bovinos e ovinos. Neste trabalho foi avaliado o potencial anti-helmíntico dos três compostos em testes individuais e em combinação com a IVM. Foi realizado o teste de inibição da migração larval *in vitro* (TIML). O teste avalia o efeito do composto na motilidade/paralisia do parasito (Demeler et al., 2010). Outras técnicas *in vitro* também foram desenvolvidas para determinar a eficácia do medicamento, como o teste de eclosão de ovos (TEO), ensaio de combinação de medicamentos e avaliação da citotoxicidade em células de linhagem LLC-MK2 (Fortes e Molento, 2013). Os testes *in vitro* se encaixam muito bem com os princípios da experimentação animal, sendo utilizados como experimentos

pré-clínicos no desenvolvimento de novas formulações e medicamentos (Beken et al., 2016).

O objetivo da presente pesquisa foi avaliar a atividade antiparasitária dos compostos organoselenados, $(\text{PhSe})_2$ e $4\text{-Cl-PhSe})_2$ e do composto telurado AS-101 individualmente e em combinação com a IVM, como uma estratégia terapêutica para o tratamento de infecção por parasitos gastrintestinais.

1.1 HIPÓTESE

Compostos organoselenados e telúrio, isolados e em associação com ivermectina, são eficazes contra *Haemonchus* spp. e *Trichostrongylus* spp. em testes *in vitro* de ruminantes.

1.2 OBJETIVO GERAL

Avaliar a eficácia anti-helmíntica de selênio e telúrio, contribuindo para o controle de helmintos gastrintestinais (*Haemonchus* spp. e *Trichostrongylus* spp.) em ruminantes.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar o efeito dos compostos sobre a eclodibilidade por meio do teste de eclodibilidade de ovos (TEO).
2. Avaliar a toxicidade de compostos de selênio *in vitro* em células de linhagem LLC-MK2 (Lilly Laboratory Culture Monkey kidney second lineage)
3. Mensurar o efeito dos compostos isolados e em associação sobre larvas de *Haemonchus* spp. e *Trichostrongylus* spp. em testes de inibição de migração larval (TIML).

1.4 REFERÊNCIAS

- Andrade, F. D., Ribeiro, A. R. C., Medeiros, M. C., Fonseca, S. S., Athayde, A. C. R., Ferreira, A. F., Rodrigues, O. G., & Silva, W. W., 2014. Ação anti-helmíntica do extrato hidroalcolólico da raiz da *Tarenaya spinosa* (Jacq.) Raf. no controle de *Haemonchus contortus* em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 34(10), 942–946. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014001000003>
- Avila, D. S., Benedetto, A., Au, C., Manarin, F., Erikson, K., Soares, F. A., Rocha, J. B. T., & Aschner, M., 2012. Organotellurium and organoselenium compounds attenuate Mn-induced toxicity in *Caenorhabditis elegans* by preventing oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 52(9), 1903–1910. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.02.044>
- Bartolini, D., Sancineto, L., Fabro de Bem, A., Tew, K. D., Santi, C., Radi, R., Toquato, P., & Galli, F., 2017. *Selenocompounds in Cancer Therapy: An Overview* (pp. 259–302). <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2017.07.007>
- Beken, S., Kasper, P., & van der Laan, J.-W., 2016. *Regulatory Acceptance of Alternative Methods in the Development and Approval of Pharmaceuticals* (pp. 33–64). https://doi.org/10.1007/978-3-319-33826-2_3
- Bortoluzzi, B. B., Buzatti, A., Chaaban, A., Pritsch, I. C., dos Anjos, A., Cipriano, R. R., Deschamps, C., & Molento, M. B., 2021. *Mentha villosa* Hubs., *M. x piperita* and their bioactives against gastrointestinal nematodes of ruminants and the potential as drug enhancers. *Veterinary Parasitology*, 289, 109317. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109317>
- Charlier, J., Velde, F. vande, van der Voort, M., van Meensel, J., Lauwers, L., Cauberghe, V., Vercruysse, J., & Claerebout, E., 2015. ECONOHEALTH: Placing helminth infections of livestock in an economic and social context. *Veterinary Parasitology*, 212(1–2), 62–67. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.06.018>
- Cordeiro, P., Chipoline, I., Ribeiro, R., Pinho, D., Ferreira, V., da Silva, F., Forezi, L., & Nascimento, V., 2022. Seleno- and Telluro-Functionalization of Quinones: Molecules with Relevant Biological Application. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20210148>
- Demeler, J., Küttler, U., & von Samson-Himmelstjerna, G., 2010. Adaptation and evaluation of three different *in vitro* tests for the detection of resistance to anthelmintics in gastrointestinal nematodes of cattle. *Veterinary Parasitology*, 170(1–2), 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.01.032>

Fahmy, M.-E. A., Abdelaal, A. A., Hassan, S. I., Shalaby, M. A., Ismail, M. A. M., Khairy, R. A., Badawi, M. A., Afife, A. A., & Fadl, H. O., 2021. Antiparasitic and immunomodulating effects of nitazoxanide, ivermectin and selenium on *Cryptosporidium* infection in diabetic mice. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 30(4). <https://doi.org/10.1590/s1984-29612021087>

Fortes, F. S., & Molento, M. B., 2013. Resistência anti-helmíntica em nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes: avanços e limitações para seu diagnóstico. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(12), 1391–1402. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013001200001>

Medina-Cruz, D., Tien-Street, W., Vernet-Crua, A., Zhang, B., Huang, X., Murali, A., Chen, J., Liu, Y., Garcia-Martin, J. M., Cholula-Díaz, J. L., & Webster, T., 2020. Tellurium, the Forgotten Element: A Review of the Properties, Processes, and Biomedical Applications of the Bulk and Nanoscale Metalloid. In: *Racing for the Surface* (pp. 723–783). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-34471-9_26

Molento, M. B., 2021. Ivermectin against COVID-19: The unprecedented consequences in Latin America. *One Health*, 13, 100250. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2021.100250>

Molento, M. B. Resistência de helmintos em ovinos e caprinos. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 13, n. 1, p. 82-87, 2004.

Nogueira, C. W., Zeni, G., & Rocha, J. B. T., 2004. Organoselenium and Organotellurium Compounds: Toxicology and Pharmacology. *Chemical Reviews*, 104(12), 6255–6286. <https://doi.org/10.1021/cr0406559>

Robert W. Handbook of Chemistry and Physics. 1^a ed. Abingdon: CRC Press, 1988.
Roeber, F., Hassan, E. B., Skuce, P., Morrison, A., Claerebout, E., Casaert, S., Homer, D. R., Firestone, S., Stevenson, M., Smith, L., & Larsen, J., 2017. An automated, multiplex-tandem PCR platform for the diagnosis of gastrointestinal nematode infections in cattle: An Australian-European validation study. *Veterinary Parasitology*, 239, 62–75. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.04.011>

Roman, M., Jitaru, P., & Barbante, C., 2014. Selenium biochemistry and its role for human health. *Metallomics*, 6(1), 25–54. <https://doi.org/10.1039/C3MT00185G>

Sato, R. H., Kosaka, P. M., Omori, Á. T., Ferreira, E. A., Petri, D. F. S., Malvar, Ó., Domínguez, C. M., Pini, V., Ahumada, Ó., Tamayo, J., Calleja, M., Cunha, R. L. O.

R., & Fiorito, P. A., 2019. Development of a methodology for reversible chemical modification of silicon surfaces with application in nanomechanical biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, 137, 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.04.028>

Wang, H., Chai, L., Xie, Z., & Zhang, H., 2020. Recent Advance of Tellurium for Biomedical Applications. *Chemical Research in Chinese Universities*, 36(4), 551–559. <https://doi.org/10.1007/s40242-020-0193-0>

2 CAPÍTULO 1- REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ENDOPARASIToses GASTRINTESTINAIS EM RUMINANTES (BOVINOS E OVINOS)

As endoparasitoses são uma das principais enfermidades que acometem ruminantes criados em pastagens, representando um grande desafio para a saúde animal (Martins et al., 2022). Essas infecções causam anemia, hipoproteinemia, comprometimento da função reprodutiva, redução do ganho de peso e conseqüentemente, significativos impactos econômicos para a pecuária (Sprenger et al., 2016; Velde et al., 2018; Craig, 2018; Katiki et al., 2019; Williams et al., 2021).

Os animais podem ser parasitados simultaneamente por várias espécies de NGI e os gêneros primários associados a essas infecções são *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Oesophagostomum* e *Cooperia* (López-Rodríguez et al., 2023). Sendo o *Haemonchus contortus* a espécie de nematoda mais patogênica em pequenos ruminantes (Flay et al., 2022). Além disso, a capacidade de produção de ovos de uma fêmea de *Haemonchus* spp. (aproximadamente 5.000 ovos/dia) é muito superior à de *Trichostrongylus* spp., que produz cerca de 200 ovos diários (Bassetto et al., 2024).

Fatores como estado nutricional, estágio de lactação e métodos de manejo estão relacionados a resposta do hospedeiro ao parasito, uma vez que, os animais jovens são mais suscetíveis (Tachack et al., 2022). Entretanto, a sua epidemiologia e real importância são determinadas pela diversidade de clima de cada região, condições ambientais, suscetibilidade dos hospedeiros e sistemas de produção que caracterizam a produção nacional e internacional (Charlier et al., 2020).

O controle dos helmintos é comumente realizado com o uso de medicamentos antiparasitários de amplo espectro, incluindo benzimidazóis, imidazotiazóis, lactonas macrocíclicas. Dentre esses medicamentos, a IVM possui um mecanismo de ação relacionado à alteração da motilidade das larvas, atuando como agonista de canais de cloro ativados pelo glutamato (Laing et al., 2017). A

β -tubulina tem sido identificada como o principal alvo de pesquisas que envolvem os benzimidazóis. No caso das lactonas macrocíclicas, as interações mais descritas ocorrem com proteínas transmembrana, como os transportadores ABC (cassete de ligação de ATP), seguidas pelos canais de cloro controlados por ligantes (LGCCs), considerados alvos potenciais. Em menor frequência, outros mecanismos relacionados à expressão gênica também foram investigados nessa classe, incluindo UDP-glicosiltransferase (UGT), glutathione S-transferase (GST), citocromo P450 (CYP), proteína de preenchimento de corante (DyF), genes associados à regulação transcricional (TR), receptores hormonais nucleares (NHR) (Rodrigues et al., 2025). No entanto, o uso prolongado desses medicamentos desencadeou a seleção e o desenvolvimento de parasitos resistentes, bem como da deposição de resíduos dos fármacos no meio ambiente (Fortes e Molento, 2013; Gives et al., 2023).

O uso crescente de antiparasitários por vias tópicas, orais e injetáveis, levam à eliminação de seus componentes no ambiente por meio das fezes e urina de animais e lavagem pelas chuvas. Consequentemente, esses componentes são encontrados em áreas aquáticas devido às chuvas ou na agricultura por meio do uso de esterco como fertilizante (Goessens et al., 2021).

2.2 RESISTÊNCIA PARASITÁRIA

A resistência parasitária é a redução hereditária da sensibilidade de uma população de parasitas a um anti-helmíntico ao qual anteriormente eram suscetíveis. Ou seja, capacidade de parasitos sobreviverem na presença de um composto químico que deveria exterminá-lo (Prichard et al., 1980). O primeiro relato de resistência parasitária na literatura foi descrito por Drudge et al. (1964), que verificou a resistência de *H. contortus* contra tiabendazole em um rebanho importado de cabras nos Estados Unidos da América. Desde então, tem-se observado o crescimento do número de parasitos resistentes em diferentes regiões do mundo (Belecke et al., 2021; Hou et al., 2022).

No Brasil, a situação da resistência anti-helmíntica também é preocupante, conforme demonstrado na literatura pela resistência múltipla a diferentes os compostos disponíveis comercialmente (Albuquerque et al., 2017; Silva et al., 2018; Nagata et al., 2019). Uma pesquisa realizada no estado de São Paulo avaliou que o monepantel foi o único anti-helmíntico que apresentou eficácia em cinco fazendas de ovinos, devido ao seu baixo uso na região. O levamisol apresentou 81 e 89% de eficácia em duas fazendas, já o albendazol e ivermectina mostraram menores resultados (Gainza et al., 2021). Entretanto, Oliveira et al. (2017) investigaram a resistência anti-helmíntica em rebanhos de ovinos no Sul do Brasil, onde monepantel mostrou-se ineficaz em 18% dos rebanhos testados. Todas as propriedades avaliadas apresentaram resistência a pelo menos três fármacos, evidenciando que a resistência pode ocorrer rapidamente após a introdução de novos medicamentos.

O processo de desenvolvimento de resistência depende de muitos fatores, como espécies de parasitos, o hospedeiro, fatores epidemiológicos, o tipo de fármaco e a frequência dos tratamentos (Rodrigues et al., 2025). Ela ocorre devido à pressão de seleção das moléculas em populações de parasitos, a qual pode ser dividida em três tipos: resistência lateral, resistência cruzada e resistência múltipla (Molento et al., 2011). De acordo com Almeida et al. (2013), quando a resistência ocorre contra os princípios ativos de um mesmo grupo químico, é denominada resistência lateral. Caso se estenda a diferentes grupos químicos, é chamado de resistência cruzada (Anziani et al., 2004), e quando envolve três ou mais grupos, recebe a denominação de resistência múltipla (Souza et al., 2008).

Como forma de atrasar o desenvolvimento da resistência parasitária, novas estratégias para controle de helmintos são necessárias, como uso de anti-helmínticos combinados (Fissiha e Kinde., 2021). Dentre essas tecnologias, os compostos organoselenados e compostos telurados podem ser uma alternativa promissora, demonstrando atividades antiparasitárias em diferentes modelos de pesquisa (Doleski et al., 2017; Nunes et al., 2020).

2.4 PROPRIEDADES DOS COMPOSTOS SELENADOS E TELURADOS

2.4.1 Telúrio

O telúrio (Te) foi descoberto em 1782 pelo austríaco Franz-Joseph Müller von Reichenstein. Enquanto trabalhava com uma amostra de minério de ouro, extraiu um componente distinto e após muito estudo, constatou se tratar de um novo elemento químico. Com a colaboração com o químico alemão Klaproth, o novo elemento foi isolado e apresentado em 1798 com o nome “telúrio” (do latim *Tellus*, “Terra”) (Chasteen et al., 2009; Cunha et al., 2009).

O elemento pertence ao grupo químico denominado calcogênios, estando acima dele o enxofre (S), oxigênio (O) e o selênio (Se), e abaixo o polônio (Po) e o livermório (Lv). O Te é comumente encontrado na natureza em seu estado fundamental, como também em compostos inorgânicos ou como organotelureto. Ainda que não seja considerado um elemento essencial, o Te é encontrado em bactérias, fungos e plantas como telurocisteína, telurocistina e telurometionina (Ba et al., 2010).

Os seus efeitos relacionados à toxicidade podem ser considerados dose-dependentes, haja visto que em pequenas concentrações observa-se efeitos biológicos protetivos (Borges et al., 2005; Stangherlin et al., 2009). Comparsi (2015) relata que avaliou os efeitos da N-acetilcisteína sobre a toxicidade do ditelureto de difenila no encéfalo de camundongos e o composto não induziu estresse oxidativo mitocondrial, mas mostrou um efeito protetor contra o dano oxidativo. Em concentrações moderadas, é possível encontrar um efeito citotóxico seletivo, induzindo apoptose somente em células tumorais (Brindha et al., 2021).

O Te tem se destacado por apresentar propriedades biológicas e possíveis aplicações para o desenvolvimento de novos medicamentos. Estudos como de Bandeira et al. (2019) descrevem atividade *in vitro* de diteluretos de diaril contra *Leishmania amazonensis*, mostrando sua capacidade leishmanicida em promastigotas e amastigotas em baixas concentrações ($CI_{50} = 0,9$ e $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$,

respectivamente). Também foram descritas propriedades antitumorais (Brown et al., 2018), antibacteriana (Pugin et al., 2014) e antioxidantes (Pinheiro et al., 2018).

2.4.2 Selênio

O Selênio foi descoberto em 1817 pelo químico Jöns Jacob Berzelius e seu nome (do grego Selene, "Lua") é devido a semelhança com o Te e por apresentar propriedades intermediárias entre este e o S (Papp et al., 2007). O elemento ocorre naturalmente em seis diferentes isótopos e é encontrado como impurezas em minerais na forma de sais inorgânicos (Boyd, 2011). Considerado como micronutriente essencial, o Se está presente no sítio ativo das enzimas Glutathione Peroxidases (GPx), iodotironina desiodase (realiza a conversão dos hormônios tireoidianos) e na tioredoxina redutase, a qual é responsável pela síntese do DNA (Tiekink, 2012).

Os compostos selenados estão envolvidos em uma variedade de processos biológicos complexos, com dados da sua atividade biológica mais aprofundados do que a de compostos contendo Te. Sua capacidade biológica envolve aplicações anti-inflamatórias, antimicrobianas, antileishmania e antitumor (Doering et al., 2012; Tiekink, 2012; Borges et al., 2021; Pereira et al., 2022; Rashidi et al., 2022).

2.5 MODELOS IN VITRO NO ESTUDO DE ANTI-HELMÍNTICOS

Os testes *in vitro* são importantes para os princípios da experimentação animal, devendo ser usados para experimentos pré-clínicos de avaliação de novas moléculas (Beken et al., 2016). Inicialmente, desenvolveu-se os testes *in vitro* para avaliar a resistência parasitária em populações de NGI e, posteriormente, foram adaptados para determinar a atividade anti-helmínticas de compostos bioativos, sendo realizados rapidamente (Oliveira et al., 2011). Estudos com o objetivo de

avaliar a atividade anti-helmíntica de determinados compostos tem como base inicial os testes *in vitro*, os quais são realizados a partir de ovos e larvas de nematódeos.

O teste de inibição da migração larval *in vitro* (TIML) é usado para avaliar o efeito de um composto candidato na motilidade/paralisia do parasita (Demeler et al., 2010). Outras técnicas *in vitro* também foram desenvolvidas para determinar a eficácia do medicamento, como o teste de eclodibilidade de ovos (TEO). Contudo, não há nenhuma técnica *in vitro* que permita o desenvolvimento de nematódeos do estágio de ovo a adulto, como observado para o nematoide de vida livre *C. elegans* (Marie-Magdeleine, 2014).

2.5.1 Teste de inibição da migração larval *in vitro* (TIML)

O teste avalia a eficácia de anti-helmínticos que atuam na musculatura somática das larvas de nematódeos, interagindo com vias estimuladoras ou inibitórias (Fortes; Molento, 2013). Para sua realização, são utilizadas larvas de terceiro estágio (L3), obtidas a partir de culturas de larvas. Durante o ensaio, analisa-se a capacidade migratória dessas larvas após um período de incubação com a solução de tratamento, permitindo a separação das larvas móveis, das imóveis, por meio da migração através das peneiras. Trata-se de um teste simples e acessível à maioria dos laboratórios. (Demeler et al., 2010). A aplicabilidade do teste no campo, onde é comum a ocorrência de infecções mistas de parasitos, ainda precisa ser bem estudada, para que possibilitem a diferenciação das espécies (Kotze et al., 2006).

2.5.2 Teste de eclodibilidade de ovos (TEO)

O Teste de eclodibilidade de ovos (TEO) foi descrito inicialmente por Le Jambre (1979), e a Associação Mundial para o Avanço da Parasitologia Veterinária (WAAVP), adotou um protocolo padronizado para sua execução, conforme Coles et

al. (1992). Esse ensaio é amplamente utilizado para avaliar a eficácia de anti-helmínticos contra NGI, permitindo medir a capacidade de um composto em inibir a eclosão, sendo considerado um método sensível e confiável (Fortes; Molento, 2013).

O TEO baseia-se na avaliação da capacidade de determinadas moléculas para impedir a liberação de larvas a partir dos ovos expostos ao tratamento. Entre os mecanismos estudados de alguns compostos bioativos, observa-se a interrupção do desenvolvimento embrionário do nematódeo, ou até mesmo interferência em vias enzimáticas associadas à eclosão (Nery et al., 2009). Diversos fatores podem influenciar o resultado do TEO, incluindo presença de sujidades nos ovos, método de dissolução dos extratos e a qualidade da água utilizada no ensaio (Coles et al., 2006).

2.6 PERSPECTIVAS FUTURAS DAS PESQUISAS COM CALCOGÊNIOS

2.6.1 Avanços e desafios da pesquisa

Elementos do grupo calcogênios, como oxigênio (O), enxofre (S), selênio (Se), telúrio (Te) e polônio (Po), desempenham papéis importantes na biomedicina, apresentando aplicações biológicas. Compostos organotelurados foram estudados como inibidores potentes de proteases de cisteína e seu efeito em sistemas associados à atividade dessas enzimas (Cunha et al., 2005, 2009). O selênio, por exemplo, atua como cofator essencial em enzimas antioxidantes, como a glutathione peroxidase (GPx), auxiliando na redução do estresse oxidativo e na proteção contra doenças (Nogueira et al., 2004; Tiekink, 2012). Além disso, compostos contendo selênio e telúrio demonstraram efeitos citotóxicos seletivos contra células tumorais, sugerindo um potencial significativo para o desenvolvimento de novos quimioterápicos (Jamier et al., 2010; Silberman et al., 2016)

Os compostos calcogênios possuem propriedades antioxidantes, anticancerígenas e imunomoduladoras (Comparsi, 2015; Brown et al., 2018;

Bandeira, et al., 2019, Henriquez-Figueroa et al., 2023; Fermiano et al., 2024). Zare et al., (2012), relataram a atividade antimicrobiana de nanopartículas de compostos telúricos sobre *Bacillus* spp., além do efeito bactericida sobre *Salmonella typhi* e *Pseudomonas aeruginosa*. No entanto, seus mecanismos de ação ainda não são completamente compreendidos, o que dificulta a aplicação terapêutica desses compostos (Zugman, 2022).

Apesar do potencial promissor como agentes biológicos, estudos adicionais são necessários para determinar níveis seguros de administração e viabilizar seu uso na prática (Kavlak e Graedel, 2013). A segurança no uso dessas substâncias requer atenção especial, uma vez que os elementos calcogênicos apresentam perfis toxicológicos variados (Nogueira et al., 2004). O efeito terapêutico desses compostos é próximo de sua toxicidade, podendo causar efeitos adversos severos em doses elevadas, como danos hepáticos e renais (Schiari et al., 2013; Medina-Cruz et al., 2020; Fahmy et al., 2021; Hartwig et al., 2022).

Os compostos calcogênicos apresentam desafios como baixa solubilidade em água, biodisponibilidade limitada e instabilidade química, o que compromete sua eficácia terapêutica (Xiao et al., 2017; Zugman, 2022). Para contornar essas limitações estratégias como nanopartículas e nanocápsulas vêm sendo estudadas, pois oferecem benefícios como liberação controlada, proteção contra degradação, menor toxicidade e maior tempo de circulação do fármaco, potencializando seus efeitos terapêuticos (Ferreira et al., 2020; Cervi et al., 2021).

No campo da nanotecnologia, nanopartículas de selênio e telúrio vêm sendo investigadas para melhorar a entrega de fármacos. A viabilidade da aplicação está relacionada com o potencial de direcionamento seletivo e liberação controlada dos princípios ativos, aumentando a eficácia e reduzindo efeitos adversos (Prasanna et al., 2021). No estudo conduzido por Brown et al. (2018), nanobastões de telúrio (Te), produzidos por métodos hidrotérmicos e recobertos por polivinilpirrolidona (PVP), demonstraram atividade anticancerígena em experimento *in vitro*. Os compostos foram avaliados em células de melanoma, exibindo baixa toxicidade para células fibroblásticas dérmicas humanas. Embora esses compostos apresentem desafios relacionados à toxicidade e estabilidade química, sua versatilidade estrutural abre

caminho para o desenvolvimento de novos fármacos e terapias inovadoras (Barreiro et al., 2011; Bandeira et al., 2019; Romero-Neto et al., 2024). A continuidade das pesquisas na área será essencial para transformar seu potencial teórico em aplicações seguras e eficazes.

Dessa forma, apesar do potencial dos compostos calcogênios para aplicações biológicas, há ainda diversos obstáculos a serem superados para sua implementação segura e eficaz na prática. A continuidade dos estudos nessa área será essencial para ampliar o conhecimento sobre seus mecanismos de ação, otimizar sua formulação e minimizar seus riscos toxicológicos (Huang et al., 2017).

2.6.2 Perspectivas futuras

O avanço das pesquisas sobre os compostos calcogênios tem ampliado as possibilidades para o desenvolvimento de novos fármacos (Nunes et al., 2020). Embora o telúrio seja menos estudado em comparação ao selênio, suas propriedades promissoras indicam um grande potencial terapêutico, tornando necessária uma investigação mais profunda (Medina-Cruz et al., 2020).

A síntese de moléculas estruturalmente modificadas pode contribuir para o aumento da especificidade de ação, a redução de efeitos colaterais e a melhora da estabilidade química desses compostos. Além disso, a combinação com terapias convencionais pode gerar efeitos sinérgicos, potencializando a resposta terapêutica ao associar compostos calcogênios a medicamentos tradicionais (Ferraz et al., 2022, Romero-Neto et al., 2024).

2.7 REFERÊNCIAS

Albuquerque, A. C. A., Bassetto, C. C., de Almeida, F. A., & Amarante, A. F. T., 2017. Development of *Haemonchus contortus* resistance in sheep under suppressive or targeted selective treatment with monepantel. *Veterinary Parasitology*, 246, 112–117. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.09.010>

Almeida, G. D., Feliz, D. C., Heckler, R. P., Borges, D. G. L., Onizuka, M. K. V., Tavares, L. E. R., Paiva, F., & Borges, F. A., 2013. Ivermectin and moxidectin resistance characterization by larval migration inhibition test in field isolates of *Cooperia* spp. in beef cattle, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 191(1–2), 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.08.012>

Anziani, O. S., Suarez, V., Guglielmone, A. A., Warnke, O., Grande, H., & Coles, G. C., 2004. Resistance to benzimidazole and macrocyclic lactone anthelmintics in cattle nematodes in Argentina. *Veterinary Parasitology*, 122(4), 303–306. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.05.018>

Ba, L. A., Döring, M., Jamier, V., & Jacob, C., 2010. Tellurium: an element with great biological potency and potential. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 8(19), 4203. <https://doi.org/10.1039/c0ob00086h>

Bandeira, P. T., Souza, J. P. A., Scariot, D. B., Garcia, F. P., Nakamura, C. v., de Oliveira, A. R. M., & Piovan, L., 2019. Diacetal Ditellurides as highly active and selective antiparasitic agents toward *Leishmania amazonensis*. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 10(5), 806–810. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.9b00060>

Barreiro, E. J., Kümmerle, A. E., & Fraga, C. A. M., 2011. The Methylation Effect in Medicinal Chemistry. *Chemical Reviews*, 111(9), 5215–5246. <https://doi.org/10.1021/cr200060g>

Bassetto, C. C., Albuquerque, A. C. A., Lins, J. G. G., Marinho-Silva, N. M., Chocobar, M. L. E., Bello, H. J. S., Mena, M. O., Niciura, S. C. M., Amarante, A. F. T., & Chagas, A. C. S., 2024. Revisiting anthelmintic resistance in sheep flocks from São Paulo State, Brazil. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 24, 100527. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2024.100527>

Beken, S., Kasper, P., & van der Laan, J.-W., 2016. *Regulatory Acceptance of Alternative Methods in the Development and Approval of Pharmaceuticals* (pp. 33–64). https://doi.org/10.1007/978-3-319-33826-2_3

Belecké, A., Kupčinskas, T., Stadalienė, I., Höglund, J., Thamsborg, S. M., Stuen, S., & Petkevičius, S., 2021. Anthelmintic resistance in small ruminants in the Nordic-Baltic region. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 63(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s13028-021-00583-1>

Borges, F., Zugman, T., Bandeira, P., Dalmolin, M., Scariot, D., Garcia, F., de Oliveira, A., Nakamura, C., & Piovan, L., 2021. Complementary Performance of

Organoselenides and Organotellurides as Antimicrobials Agents. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20200201>

Borges, V. C., Rocha, J. B. T., & Nogueira, C. W., 2005. Effect of diphenyl diselenide, diphenyl ditelluride and ebselen on cerebral Na⁺, K⁺-ATPase activity in rats. *Toxicology*, 215(3), 191–197. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2005.07.002>

Boyd, R., 2011. Selenium stories. *Nature Chemistry*, 3(7), 570–570. <https://doi.org/10.1038/nchem.1076>

Brown, C. D., Cruz, D. M., Roy, A. K., & Webster, T. J., 2018. Synthesis and characterization of PVP-coated tellurium nanorods and their antibacterial and anticancer properties. *Journal of Nanoparticle Research*, 20(9), 254. <https://doi.org/10.1007/s11051-018-4354-8>

Cervi, V. F., Parcianello Saccol, C., Henrique Marcondes Sari, M., Cristóvão Martins, C., Saldanha da Rosa, L., Dias Ilha, B., Zovico Soares, F., Luchese, C., Antunes Wilhelm, E., & Cruz, L., 2021. Pullulan film incorporated with nanocapsules improves pomegranate seed oil anti-inflammatory and antioxidant effects in the treatment of atopic dermatitis in mice. *International Journal of Pharmaceutics*, 609, 121144. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.121144>

Charlier, J., Höglund, J., Morgan, E. R., Geldhof, P., Vercruyse, J., & Claerebout, E., 2020. Biology and Epidemiology of Gastrointestinal Nematodes in Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 36(1), 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.11.001>

Chasteen, T. G., Fuentes, D. E., Tantaleán, J. C., & Vásquez, C. C., 2009. Tellurite: history, oxidative stress, and molecular mechanisms of resistance. *FEMS Microbiology Reviews*, 33(4), 820–832. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00177.x>

Coles, G. C., Bauer, C., Borgsteede, F. H. M., Geerts, S., Klei, T. R., Taylor, M. A., & Waller, P. J., 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 44(1–2), 35–44. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(92\)90141-U](https://doi.org/10.1016/0304-4017(92)90141-U)

Coles, G. C., Jackson, F., Pomroy, W. E., Prichard, R. K., von Samson-Himmelstjerna, G., Silvestre, A., Taylor, M. A., & Vercruyse, J., 2006. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance.

Veterinary Parasitology, 136(3–4), 167–185.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.11.019>

Comparsi, B. Efeitos da N-acetilcisteína sobre a toxicidade do ditelureto de difenila no encéfalo de camundongos. 2015. 112 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil.

Craig, T. M., 2018. Gastrointestinal Nematodes, Diagnosis and Control. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 34(1), 185–199.
<https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2017.10.008>

Cunha, R. L. O. R., Gouvea, I. E., & Juliano, L., 2009. A glimpse on biological activities of tellurium compounds. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 81(3), 393–407. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652009000300006>

Cunha, R. L. O. R., Urano, M. E., Chagas, J. R., Almeida, P. C., Bincoletto, C., Tersariol, I. L. S., & Comasseto, J. V., 2005. Tellurium-based cysteine protease inhibitors: evaluation of novel organotellurium(IV) compounds as inhibitors of human cathepsin B. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 15(3), 755–760.
<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.11.012>

Demeler, J., Küttler, U., & von Samson-Himmelstjerna, G., 2010. Adaptation and evaluation of three different in vitro tests for the detection of resistance to anthelmintics in gastro intestinal nematodes of cattle. *Veterinary Parasitology*, 170(1–2), 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.01.032>

Doering, M., Diesel, B., Gruhlke, M. C. H., Viswanathan, U. M., Mániková, D., Chovanec, M., Burkholz, T., Slusarenko, A. J., Kiemer, A. K., & Jacob, C., 2012. Selenium- and tellurium-containing redox modulators with distinct activity against macrophages: possible implications for the treatment of inflammatory diseases. *Tetrahedron*, 68(51), 10577–10585. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2012.09.021>

Doleski, P. H., ten Caten, M. v., Passos, D. F., Castilhos, L. G., Leal, D. B. R., Machado, V. S., Bottari, N. B., Vogel, F. F., Mendes, R. E., & da Silva, A. S., 2017. Toxoplasmosis treatment with diphenyl diselenide in infected mice modulates the activity of purinergic enzymes and reduces inflammation in spleen. *Experimental Parasitology*, 181. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2017.07.001>

Drudge, J.H., Szanto, J., Wyant, Z.N., Elam, G., 1964. Field studies on parasite control in sheep: comparison of thiabendazole, ruelene, and phenothiazine. *Am. J. Vet. Res.* 25, 1512–1518.

Fahmy, M.-E. A., Abdelaal, A. A., Hassan, S. I., Shalaby, M. A., Ismail, M. A. M., Khairy, R. A., Badawi, M. A., Afife, A. A., & Fadl, H. O., 2021. Antiparasitic and immunomodulating effects of nitazoxanide, ivermectin and selenium on *Cryptosporidium* infection in diabetic mice. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 30(4). <https://doi.org/10.1590/s1984-29612021087>

Fissiha, W., & Kinde, M. Z., 2021. Anthelmintic Resistance and Its Mechanism: A Review. *Infection and Drug Resistance*, Volume 14, 5403–5410. <https://doi.org/10.2147/IDR.S332378>

Flávia da Silva, F., Bezerra, H. M. F. F., Feitosa, T. F., & Vilela, V. L. R., 2018. Nematode resistance to five anthelmintic classes in naturally infected sheep herds in Northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 27(4), 423–429. <https://doi.org/10.1590/s1984-296120180071>

Flay, K. J., Hill, F. I., & Muguiro, D. H., 2022. A Review: *Haemonchus contortus* Infection in Pasture-Based Sheep Production Systems, with a Focus on the Pathogenesis of Anaemia and Changes in Haematological Parameters. *Animals*, 12(10), 1238. <https://doi.org/10.3390/ani12101238>

Fermiano, M. H., das Neves, A. R., da Silva, F., Barros, M. S. A., Vieira, C. B., Stein, A. L., Frizon, T. E. A., Braga, A. L., de Arruda, C. C. P., Parisotto, E. B., Saba, S., Rafique, J., & Riul, T. B., 2024. Selenium-Containing (Hetero)Aryl Hybrids as Potential Antileishmanial Drug Candidates: In Vitro Screening against *L. amazonensis*. *Biomedicines*, 12(1), 213. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12010213>

Ferreira, L. M., Sari, M. H. M., Azambuja, J. H., da Silveira, E. F., Cervi, V. F., Marchiori, M. C. L., Maria-Engler, S. S., Wink, M. R., Azevedo, J. G., Nogueira, C. W., Braganhol, E., & Cruz, L., 2020. Xanthan gum-based hydrogel containing nanocapsules for cutaneous diphenyl diselenide delivery in melanoma therapy. *Investigational New Drugs*, 38(3), 662–674. <https://doi.org/10.1007/s10637-019-00823-2>

Fortes, F. S., Kloster, F. S., Schafer, A. S., Bier, D., Buzatti, A., Yoshitani, U. Y., & Molento, M. B., 2013. Evaluation of resistance in a selected field strain of *Haemonchus contortus* to ivermectin and moxidectin using the Larval Migration on Agar Test. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(2), 183–187. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013000200008>

Fortes, F. S., & Molento, M. B., 2013. Resistência anti-helmíntica em nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes: avanços e limitações para seu diagnóstico.

Pesquisa Veterinária Brasileira, 33(12), 1391–1402.
<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013001200001>

Gainza, Y. A., Santos, I. B. dos, Figueiredo, A., Santos, L. A. L. dos, Esteves, S. N., Barioni-Junior, W., Minho, A. P., & Chagas, A. C. de S., 2021. Anthelmintic resistance of *Haemonchus contortus* from sheep flocks in Brazil: concordance of in vivo and in vitro (RESISTA-Test©) methods. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 30(2). <https://doi.org/10.1590/s1984-296120201093>

Goessens, T., de Baere, S., Deknock, A., de Troyer, N., van Leeuwenberg, R., Martel, A., Pasmans, F., Goethals, P., Lens, L., Spanoghe, P., Vanhaecke, L., & Croubels, S., 2022. Agricultural contaminants in amphibian breeding ponds: Occurrence, risk and correlation with agricultural land use. *Science of The Total Environment*, 806, 150661. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150661>

Hartwig, D., Jacob, R. G., Lenardão, E. J., Nascimento, J. E. R., Abenante, L., Soares, L. K., & Schiesser, C. H., 2022. Semisynthetic bioactive organoselenium and organotellurium compounds. In *Organochalcogen Compounds* (pp. 253–289). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819449-2.00003-3>

Henriquez-Figueroa, A., Morán-Serradilla, C., Angulo-Elizari, E., Sanmartín, C., & Plano, D., 2023. Small molecules containing chalcogen elements (S, Se, Te) as new warhead to fight neglected tropical diseases. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 246, 115002. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.115002>

Hou, B., Yong, R., Wuen, J., Zhang, Y., Buyin, B., Subu, D., Zha, H., Li, H., & Hasi, S., 2022. Positivity rate investigation and anthelmintic resistance analysis of gastrointestinal nematodes in sheep and cattle in ordos, China. *Animals*, 12(7), 891. <https://doi.org/10.3390/ani12070891>

Huang, Y., Fan, C.-Q., Dong, H., Wang, S.-M., Yang, X.-C., & Yang, S.-M., 2017. Current applications and future prospects of nanomaterials in tumor therapy. *International Journal of Nanomedicine*, Volume 12, 1815–1825. <https://doi.org/10.2147/IJN.S127349>

Jamier, V., Ba, L. A., & Jacob, C., 2010. Selenium- and Tellurium-Containing Multifunctional Redox Agents as Biochemical Redox Modulators with Selective Cytotoxicity. *Chemistry – A European Journal*, 16(36), 10920–10928. <https://doi.org/10.1002/chem.201000884>

Katiki, L. M., Araujo, R. C., Ziegelmeier, L., Gomes, A. C. P., Gutmanis, G., Rodrigues, L., Bueno, M. S., Veríssimo, C. J., Louvandini, H., Ferreira, J. F. S., &

- Amarante, A. F. T., 2019. Evaluation of encapsulated anethole and carvone in lambs artificially- and naturally-infected with *Haemonchus contortus*. *Experimental Parasitology*, 197, 36–42. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.01.002>
- Kavлак, G., & Graedel, T. E., 2013. Global anthropogenic tellurium cycles for 1940–2010. *Resources, Conservation and Recycling*, 76, 21–26. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2013.04.007>
- Kotze, A. C., le Jambre, L. F., & O'Grady, J., 2006. A modified larval migration assay for detection of resistance to macrocyclic lactones in *Haemonchus contortus*, and drug screening with Trichostrongylidae parasites. *Veterinary Parasitology*, 137(3–4), 294–305. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.01.017>
- Laing, R., Gillan, V., & Devaney, E., 2017. Ivermectin – Old Drug, New Tricks? *Trends in Parasitology*, 33(6), 463–472. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.02.004>
- López-Rodríguez, G., Zaragoza-Bastida, A., Olmedo-Juárez, A., Rosenfeld Miranda, C., & Rivero-Perez, N., 2023. Nematodos gastrointestinales en ovinos y su resistencia antihelmíntica. *Journal of the Selva Andina Animal Science*, 10(2), 116–129. <https://doi.org/10.36610/j.jsaas.2023.100200116>
- Marie-Magdeleine, C., Udino, L., Philibert, L., Bocage, B., & Archimede, H., 2014. In vitro effects of Musa x paradisiaca extracts on four developmental stages of *Haemonchus contortus*. *Research in Veterinary Science*, 96(1), 127–132. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.12.004>
- Martin, P. J., & Jambre, L. F., 1979. Larval paralysis as an in vitro assay of levamisole and morantel tartrate resistance in *Ostertagia*. *Veterinary Science Communications*, 3(1), 159–164. <https://doi.org/10.1007/BF02268963>
- Martín-Escolano, R., Molina-Carreño, D., Plano, D., Espuelas, S., Rosales, M. J., Moreno, E., Aydillo, C., Sanmartín, C., Sánchez-Moreno, M., & Marín, C., 2021. Library of Selenocyanate and Diselenide Derivatives as In Vivo Antichagasic Compounds Targeting *Trypanosoma cruzi* Mitochondrion. *Pharmaceuticals*, 14(5), 419. <https://doi.org/10.3390/ph14050419>
- Martins, N. S., Santos, C. C. dos, Motta, S. P. da, Moreira, A. da S., Farias, N. A. da R., & Ruas, J. L., 2022. Gastrointestinal Parasites in Sheep from the Brazilian Pampa Biome: Prevalence and Associated Factors. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, 44, e001522. <https://doi.org/10.29374/2527-2179.bjvm001522>

Medina-Cruz, D., Tien-Street, W., Vernet-Crua, A., Zhang, B., Huang, X., Murali, A., Chen, J., Liu, Y., Garcia-Martin, J. M., Cholula-Díaz, J. L., & Webster, T., 2020. Tellurium, the Forgotten Element: A Review of the Properties, Processes, and Biomedical Applications of the Bulk and Nanoscale Metalloid. In *Racing for the Surface* (pp. 723–783). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-34471-9_26

Mendoza-de Gives, P., López-Arellano, M. E., Olmedo-Juárez, A., Higuera-Pierdrahita, R. I., & von Son-de Fernex, E., 2023. Recent Advances in the Control of Endoparasites in Ruminants from a Sustainable Perspective. *Pathogens*, 12(9), 1121. <https://doi.org/10.3390/pathogens12091121>

Molento, M. B., Fortes, F. S., Pondelek, D. A. S., Borges, F. de A., Chagas, A. C. de S., Torres-Acosta, J. F. de J., & Geldhof, P., 2011. Challenges of nematode control in ruminants: Focus on Latin America. *Veterinary Parasitology*, 180(1–2), 126–132. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.033>

Nagata, W. B., da Cruz Panegossi, M. F., Bresciani, K. D. S., Gomes, J. F., Kaneto, C. N., & Perri, S. H. V., 2019. Resistance of gastrointestinal nematodes to five different active principles in sheep infected naturally in São Paulo State, Brazil. *Small Ruminant Research*, 172, 48–50. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.10.001>

Nery, P. S., Duarte, E. R., & Martins, E. R., 2009. Eficácia de plantas para o controle de nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes: revisão de estudos publicados. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 11(3), 330–338. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722009000300016>

Nogueira, C. W., Zeni, G., & Rocha, J. B. T., 2004. Organoselenium and Organotellurium Compounds: Toxicology and Pharmacology. *Chemical Reviews*, 104(12), 6255–6286. <https://doi.org/10.1021/cr0406559>

Nunes, A. M. V., das Chagas Pereira de Andrade, F., Filgueiras, L. A., de Carvalho Maia, O. A., Cunha, R. L. O. R., Rodezno, S. V. A., Maia Filho, A. L. M., de Amorim Carvalho, F. A., Braz, D. C., & Mendes, A. N., 2020. preADMET analysis and clinical aspects of dogs treated with the Organotellurium compound RF07: A possible control for canine visceral leishmaniasis? *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 80, 103470. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103470>

Oliveira, L. M. B. de, Bevilaqua, C. M. L., Macedo, I. T. F., Morais, S. M. de, Monteiro, M. V. B., Campello, C. C., Ribeiro, W. L. C., & Batista, E. K. F., 2011. Effect of six tropical tanniferous plant extracts on larval exsheathment of *Haemonchus contortus*.

Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 20(2), 155–160.
<https://doi.org/10.1590/S1984-29612011000200011>

Oliveira, P. A. de, Riet-Correa, B., Estima-Silva, P., Coelho, A. C. B., Santos, B. L. dos, Costa, M. A. P., Ruas, J. L., & Schild, A. L., 2017. Multiple anthelmintic resistance in Southern Brazil sheep flocks. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 26(4), 427–432. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612017058>

Papp, L. V., Lu, J., Holmgren, A., & Khanna, K. K., 2007. From Selenium to Selenoproteins: Synthesis, Identity, and Their Role in Human Health. *Antioxidants & Redox Signaling*, 9(7), 775–806. <https://doi.org/10.1089/ars.2007.1528>

Pereira, F. S. de O., Barbosa, F. A. R., Canto, R. F. S., Lucchese, C., Pinton, S., Braga, A. L., Azeredo, J. B. de, Quines, C. B., & Ávila, D. S., 2022. Dihydropyrimidinone-derived selenoesters efficacy and safety in an in vivo model of A β aggregation. *NeuroToxicology*, 88, 14–24.
<https://doi.org/10.1016/j.neuro.2021.10.012>

Pinheiro, F., Bortolotto, V., Araujo, S., Poetini, M., Sehn, C., Neto, J. é, Zeni, G., & Prigol, M., 2018. Antimicrobial effect of 2-phenylethynyl-butyltellurium in *Escherichia coli* and its association with oxidative stress. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(7), 1209–1216. <https://doi.org/10.4014/jmb.1802.12074>

Prasanna, P., Kumar, P., Kumar, S., Rajana, V. K., Kant, V., Prasad, S. R., Mohan, U., Ravichandiran, V., & Mandal, D., 2021. Current status of nanoscale drug delivery and the future of nano-vaccine development for leishmaniasis – A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 141, 111920. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111920>

Prichard, R. K., Hall, C. A., Kelly, J. D., Martin, I. C. A., & Donald, A. D., 1980. The problem of anthelmintic resistance in nematodes. *Australian Veterinary Journal*, 56(5), 239–250. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1980.tb15983.x>

Rashidi, S., Fernández-Rubio, C., Mansouri, R., Ali-Hassanzadeh, M., Ghani, E., Karimazar, M., Manzano-Román, R., & Nguewa, P., 2022. Selenium and protozoan parasitic infections: selenocompounds and selenoproteins potential. *Parasitology Research*, 121(1), 49–62. <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07400-8>

Rodrigues, J. F. V., Monteiro, J. P., Almeida, T. M., & Molento, M. B., 2025. A systematic review of the molecular mechanisms related to anthelmintic resistance in *Haemonchus contortus*: A contemporary narrative. *Veterinary Parasitology*, 334, 110394. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2025.110394>

- Romero-Neto, I., de Almeida, T. M., Zugman, T., Piovan, L., & Molento, M. B., 2024. Ovicidal activity of diaryl dichalcogenides and ivermectin on *Fasciola hepatica*: A novel candidate for a blending-based therapeutic strategy. *Acta Tropica*, 258, 107363. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2024.107363>
- Schiar, V. P. P., dos Santos, D. B., Duarte, M. M. M. F., Vargas, F., Ribeiro, M. C. P., Nogueira, C. W., Zeni, G., Hassan, W., & da Rocha, J. B. T., 2013. An in vivo insight to the toxicological profile of various organotellurides. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 36(3), 813–818. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2013.07.001>
- Silberman, A., Kalechman, Y., Hirsch, S., Erlich, Z., Sredni, B., & Albeck, A., 2016. The Anticancer Activity of Organotelluranes: Potential Role in Integrin Inactivation. *ChemBioChem*, 17(10), 918–927. <https://doi.org/10.1002/cbic.201500614>
- Souza, A. P. de, Ramos, C. I., Bellato, V., Sartor, A. A., & Schelbauer, C. A., 2008. Resistência de helmintos gastrintestinais de bovinos a anti-helmínticos no Planalto Catarinense. *Ciência Rural*, 38(5), 1363–1367. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000500026>
- Sprenger, L. K., Maurer, J. B. B., Baggio, S. F. Z., de Magalhães, P. M., & Molento, M. B. (2016). Atividade ovicida e larvicida do extrato hidroalcoólico de *Artemisia annua* sobre *Haemonchus contortus*. *Archives of Veterinary Science*, 21(4). <https://doi.org/10.5380/avs.v21i4.44485>
- Stangherlin, E. C., Ardais, A. P., Rocha, J. B. T., & Nogueira, C. W., 2009. Exposure to diphenyl ditelluride, via maternal milk, causes oxidative stress in cerebral cortex, hippocampus and striatum of young rats. *Archives of Toxicology*, 83(5), 485–491. <https://doi.org/10.1007/s00204-008-0392-9>
- Sulik, M., Antoszczak, M., Huczyński, A., & Steverding, D., 2023. Antiparasitic activity of ivermectin: Four decades of research into a “wonder drug.” *European Journal of Medicinal Chemistry*, 261, 115838. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115838>
- Tachack, E. B., Oviedo-Socarrás, T., Pastrana, M. O., Pérez-Cogollo, L. C., Benavides, Y. H., Pinto, C. R., & Garay, O. V., 2022. Status of gastrointestinal nematode infections and associated epidemiological factors in sheep from Córdoba, Colombia. *Tropical Animal Health and Production*, 54(3), 171. <https://doi.org/10.1007/s11250-022-03170-2>
- Tiekink, E. R. T., 2012. Therapeutic potential of selenium and tellurium compounds: Opportunities yet unrealised. *Dalton Transactions*, 41(21), 6390. <https://doi.org/10.1039/c2dt12225a>

vande Velde, F., Charlier, J., & Claerebout, E., 2018. Farmer Behavior and Gastrointestinal Nematodes in Ruminant Livestock—Uptake of Sustainable Control Approaches. *Frontiers in Veterinary Science*, 5. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00255>

Williams, E. G., Brophy, P. M., Williams, H. W., Davies, N., & Jones, R. A., 2021. Gastrointestinal nematode control practices in ewes: Identification of factors associated with application of control methods known to influence anthelmintic resistance development. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 24, 100562. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100562>

Xiao, Y., Huang, Q., Zheng, Z., Guan, H., & Liu, S., 2017. Construction of a *Cordyceps sinensis* exopolysaccharide-conjugated selenium nanoparticles and enhancement of their antioxidant activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 99, 483–491. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.016>

Zare, B., Faramarzi, M. A., Sepehrizadeh, Z., Shakibaie, M., Rezaie, S., & Shahverdi, A. R., 2012. Biosynthesis and recovery of rod-shaped tellurium nanoparticles and their bactericidal activities. *Materials Research Bulletin*, 47(11), 3719–3725. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2012.06.034>

Zugman, T.T.B. Dicalcogenetos diarílicos funcionalizados: avaliação do potencial antiparasitário contra *Leishmania* spp. 2022. 126 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

3 CAPÍTULO 2: EFICÁCIA DE DISSELENETO DE DIFENILA (PhSe)₂), CLORETO DE FENILSELENILA (4-Cl- PhSe)₂) E TELURATO DE TRICO (DIOXIETILENO O,O') DE AMONIA (AS101) EM MODELO *IN VITRO* CONTRA *Haemonchus* spp. DE BOVINOS E OVINOS

EFFICACY OF DIPHENYL DISELENIDE (PhSe)₂), PHENYLSELENYL CHLORIDE (4-Cl-PhSe)₂) AND AMMONIA TRICHO (DIOXYETHYLENE O,O') TELURATE (AS101) IN *IN VITRO* MODEL AGAINST *Haemonchus* spp. FROM CATTLE AND SHEEP

3.1 RESUMO

Infecções por nematoides gastrointestinais (GIN) afetam severamente a saúde de ruminantes. O uso excessivo de anti-helmínticos tem contribuído para o desenvolvimento de resistência a medicamentos. Compostos à base de selênio (Se) e telúrio (Te) surgiram como inovações farmacológicas terapêuticas. Este estudo teve como objetivo determinar os efeitos do disseleneto de difenila (PhSe)₂, cloreto de fenilselenila (4-Cl-PhSe)₂ e triquelurato (O,O'-dietilтелurato de amônio; AS-101) em larvas de terceiro estágio (L3) e ovos de nematoides coletados de bovinos e ovinos. Os testes de inibição da migração larval (LMIT) e os testes de eclosão de ovos (EHT) foram conduzidos em concentrações variando de 0,10 a 16,00 mmol L⁻¹, além da avaliação da citotoxicidade em células de linhagem LLC-MK2 (Lilly Laboratory Culture- Monkey kidney- second lineage). Ivermectina (IVM) foi usada como controle positivo e para combinação de medicamentos. Entre os helmintos identificados, *Haemonchus* spp. foi o mais prevalente em ovinos (76%) e bovinos (64%), seguido por *Trichostrongylus* spp. (16 e 24%, respectivamente). *Oesophagostomum* spp. e *Cooperia* spp. foram menos frequentes (6 e 2% em ovinos e 9 e 3% em bovinos). Os resultados revelaram uma inibição dependente da concentração por PhSe)₂, 4-Cl-PhSe)₂ e AS-101. O AS-101 apresentou a maior atividade larvicida. O AS-101 atingiu uma concentração inibitória de 50% (CI₅₀) de 0,976 mmol L⁻¹ em ovinos e 1,035 mmol L⁻¹ em bovinos. PhSe)₂ apresentou o efeito ovicida mais forte, com IC₅₀ = 1,801 mmol L⁻¹ para GIN ovino e 1,845 mmol L⁻¹ para GIN bovino. O composto 4-Cl-PhSe)₂ também demonstrou atividade significativa, embora em concentrações mais elevadas. Diluições foram realizadas utilizando o

IC₅₀ de [(PhSe)₂] e doses variadas de IVM (IC₁₀, IC₃₀ e IC₅₀) e vice-versa. Experimentos semelhantes foram realizados com AS-101. Combinações de (PhSe)₂ e AS-101 com IVM apresentaram efeitos aditivos de até 13,33% contra L3s. Quanto à citotoxicidade, (PhSe)₂ apresentou o menor efeito sobre células LLC-MK2. Os dados destacam o efeito larvicida dessas moléculas.

Palavras-chave: Resistência anti-helmíntica, endoparasitas, calcogênios, controle parasitário, interação medicamentosa.

ABSTRACT

Gastrointestinal nematode (GIN) infections severely affect the health of ruminants. The excessive use of anthelmintics has contributed to the development of drug resistance. Selenium (Se)- and tellurium (Te)-based compounds have emerged as therapeutic pharmacological innovations. This study aimed to determine the effects of diphenyl diselenide ((PhSe)₂), phenylselenenyl chloride (4-Cl-PhSe)₂, and tritellurate (O,O'-diethylammonium tellurate; AS-101) on third-stage larvae (L3) and nematode eggs collected from cattle and sheep. Larval migration inhibition tests (LMIT) and egg hatch tests (EHT) were conducted at concentrations ranging from 0.10 to 16.00 mmol L⁻¹, in addition to cytotoxicity evaluation in LLC-MK2 cell line (Lilly Laboratory Culture – Monkey kidney – second lineage). Ivermectin (IVM) was used as a positive control and for drug combination tests. Among the identified helminths, *Haemonchus* spp. was the most prevalent in sheep (76%) and cattle (64%), followed by *Trichostrongylus* spp. (16% and 24%, respectively). *Oesophagostomum* spp. and *Cooperia* spp. were less frequent (6% and 2% in sheep and 9% and 3% in cattle, respectively). The results revealed concentration-dependent inhibition by (PhSe)₂, 4-Cl-PhSe)₂, and AS-101. AS-101 showed the highest larvicidal activity. AS-101 reached a 50% inhibitory concentration (IC₅₀) of 0.976 mmol L⁻¹ in sheep and 1.035 mmol L⁻¹ in cattle. (PhSe)₂ exhibited the strongest ovicidal effect, with an IC₅₀ of 1.801 mmol L⁻¹ for ovine GIN and 1.845 mmol L⁻¹ for bovine GIN. The compound 4-Cl-PhSe)₂ also showed significant activity, although at higher concentrations. Dilutions were made using the IC₅₀ of [(PhSe)₂] and varying doses of IVM (IC₁₀, IC₃₀, and IC₅₀), and vice versa. Similar experiments were carried out with AS-101. Combinations of (PhSe)₂ and AS-101 with IVM showed additive effects of up to 13.33% against L3s. Regarding cytotoxicity, (PhSe)₂ had the lowest effect on LLC-MK2 cells. The data highlight the larvicidal effect of these molecules.

Keywords: Anthelmintic resistance, endoparasites, chalcogens, parasitic control, drug interaction.

3.2 INTRODUÇÃO

As infecções por nematódeos gastrintestinais (NGI) são responsáveis por causarem grandes danos à saúde dos ruminantes, levando a altas taxas de morbidade e mortalidade, principalmente em áreas tropicais e subtropicais (Williams et al., 2021; Rodrigues et al., 2025). A infecção afeta o bem-estar animal, resultando em anemia, apatia e anorexia em animais infectados (Emery et al., 2016). Os gêneros que mais acometem os ruminantes são *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Teladorsagia* (*Ostertagia*) e *Oesophagostomum*, sendo *Haemonchus contortus* a espécie mais patogênica (Flay et al., 2022; López-Rodríguez et al., 2023). Conseqüentemente, o impacto econômico é considerável, com redução da produtividade animal e grandes perdas econômicas (Charlier et al., 2015; Roeber et al., 2017).

Atualmente, o controle de parasitos é realizado com práticas de manejo que envolvem o uso de anti-helmínticos de amplo espectro, como benzimidazóis, imidazotiazóis, e lactonas macrocíclicas (Evans e Sargison, 2019). Entre eles, a ivermectina (IVM) que causa a morte do parasito por meio de ligação de receptores do canal de cloreto dependentes de glutamato em células neuronais e musculares (Laing et al., 2017). Entretanto, o seu uso inadequado e prolongado levou a resistência aos anti-helmínticos, destacando a necessidade de novas estratégias de controle de parasitos (Fortes; Molento, 2013).

Em razão a crescente resistência aos antiparasitários, busca-se moléculas inovadoras capazes de estabelecer novas associações químicas, quando combinadas com diferentes compostos. Neste contexto, Katiki e colaboradores (2023) avaliaram a eficácia do limoneno, um composto bioativo de origem vegetal, em associação com IVM contra uma cepa resistente de *Haemonchus contortus*. A combinação apresentou um efeito sinérgico expressivo, atingindo 96% de eficácia, o que reforça o potencial do uso de compostos naturais em terapias antiparasitárias.

Compostos contendo selênio e telúrio revelaram-se promissores em tratamentos de parasitos, demonstrando eficácia significativa em diversos modelos experimentais. Além de sua atividade antiparasitária (Bandeira et al., 2019), estudos evidenciaram que esses compostos também possuem atividade antifúngica (Munhoz et al., 2023), antimicrobiana (Borges et al., 2021) e imunomoduladora (Mishra et al., 2019), ampliando seu potencial terapêutico. O objetivo do presente trabalho foi de avaliar a eficácia dos compostos disseleneto de difenila (PhSe)₂, cloreto de

fenilselenila (4-Cl-PhSe_2) e telurato de trico (dioxietileno O,O') de amonia (AS-101) isolados e em combinação com a IVM contra helmintos de ruminantes.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Comitê de Ética

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, Brasil (UFPR, o nº 039/2021).

3.3.2 Produtos químicos

Disseleneto de difenila (PhSe_2) e cloreto de fenilselenila (4-Cl-PhSe_2) foram sintetizados conforme Paulmier (1986), e o telurato de trico (dioxietileno O,O') de amonia (AS-101) de acordo com Albeck, Tamari & Sredni (1989) (Figura 1). O dimetil-sulfóxido (DMSO) foi obtido da Hexis Científica (Jundiaí, Brasil). Padrão de referência puro de IVM (Sigma-Aldrich, San Louis, EUA).

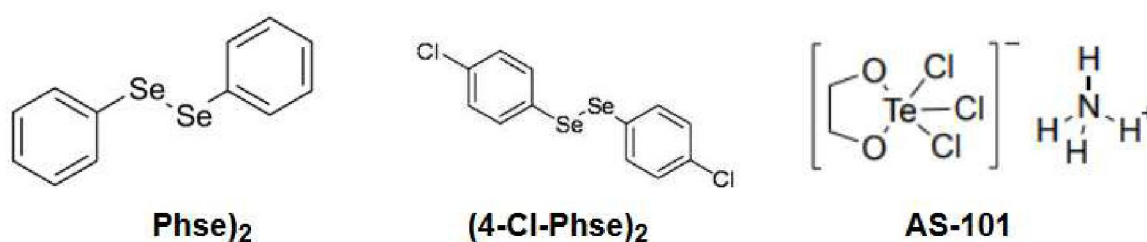


Figura 1- Fórmula estrutural de disseleneto de difenila (PhSe_2) e cloreto de fenilselenila (4-Cl-PhSe_2) e telurato de trico (dioxietileno O,O') de amonia (AS-101).

3.3.3 Recuperação de ovos e L3

Amostras fecais foram coletadas da ampola retal de fêmeas de bovino e ovino naturalmente infectados, pertencentes ao Núcleo de Inovação Tecnológica em Agropecuária -NITA (25°23'30"S e 49°07'30"W) e Laboratório de Pesquisa de Ovinos e Caprinos (LAPOC) da Universidade Federal do Paraná, em Pinhais, PR (25°38'32.29"S e 49°14'13.54"W). Os animais foram selecionados com base na contagem de ovos por grama (OPG) de fezes, superior a 600 OPG. Para contagem de OPG, foi utilizada a técnica de Gordon e Whitlock (1939) modificada. A recuperação de ovos foi realizada de acordo com Coles et al. (1992) com modificações. As fezes foram homogeneizadas e posteriormente passadas por peneiras (Bertel Ltda, Caieiras, Brasil) para filtração (250, 150, 75, 38 e 25 μm). Os ovos foram decantados e separados por centrifugação (Parsec Biotech, Penha, Brasil) (3.000 rpm por 5 min), sendo utilizada solução saturada de cloreto de sódio. Após isso, os ovos foram coletados usando uma peneira de 25 μm e lavados em água. Larvas de terceiro estágio (L3) foram recuperadas após coprocultura (Roberts e O'Sullivan, 1950). As fezes dos bovinos e ovinos naturalmente infectados foram coletadas diretamente da ampola retal dos animais, posteriormente misturadas com vermiculite, umedecidas com água destilada e colocadas em frascos de vidro para cultura. As coproculturas foram deixadas em estufa B.O.D (S.S. Santana – Tecnologia Científica, Londrina, Brasil) a $\pm 27^\circ\text{C}$ por 10 dias, com umidade relativa entre 70 a 80%. Após o período de cultura, foi acrescentado água morna ($\pm 40^\circ\text{C}$) até preencher o vidro de cultivo e bruscamente invertido sobre a placa de Petri. Acrescentou-se 12ml de água na placa de Petri e, após 12 horas, o conteúdo da placa foi coletado com auxílio de uma pipeta Paster e transferido para um tubo de ensaio. A identificação das larvas foi feita analisando a morfologia em microscópio óptico, conforme van Wyk e Mayhew (2013).

3.3.4 Teste de inibição da migração larval (TIML)

Foram realizados três experimentos conforme descrito por Demeler et al. (2010) com modificações. L3 frescas foram desembainhadas com 1% (v/v) de hipoclorito de sódio, lavadas três vezes por centrifugação (2.500 rpm por 5 min) e

quantificados em microscópio óptico (Kasvi Ltda-Motic instruments, Texas, Estados Unidos) (ampliação de 100x). Aproximadamente 100 L3/poço foram incubados em tubos Falcon (15 ml) por 24 h a 28°C e 80% de umidade relativa em incubadora BOD (Quimis Ltda, Diadema, Brasil). Foram testados três compostos, sendo dois organoselenados (PhSe_2 e 4Cl-PhSe_2) e um composto inorgânico de telúrio (AS-101) em concentrações seriadas de 0,10; 0,25; 0,50; 1,00; 2,00; 4,00; 8,00 e 16,00 mmol L⁻¹. Além disso, testou-se a IVM nas concentrações de a 0,10, 0,25, 0,50, 0,75, 1,0, 2,0 e 3,0 mmol L⁻¹. Foram incluídos controles com dimetil-sulfóxido (DMSO) a 10% e água destilada. Após esse período, todo o conteúdo de cada poço foi transferido para uma placa de 24 poços contendo um aparelho previamente preparado com malha de 25 µm, em amostras triplicatas.

As placas (formulações + L3) foram incubadas pela segunda vez nas mesmas condições descritas acima. A leitura das placas foi realizada em microscópio óptico invertido (Optiphase INV-403, Van Nuys, EUA), por meio da quantificação das L3 que migraram pela malha. O número médio de L3 migradas foi calculado de acordo com a fórmula baseada em Molento e Prichard (2001):

$$\text{Eficácia (\%)} = (B-A/B) \times 100$$

Onde B corresponde ao controle negativo (água destilada) e A, corresponde ao número médio de L3 que migraram após a incubação.

3.3.5 Teste de eclodibilidade de ovos (TEO)

Foram realizados três experimentos de acordo com Dolenga et al. (2023) com modificações. Os ovos do parasito foram distribuídos em placas de 24 poços (200 ovos/poço) em triplicata, para três compostos, sendo dois organoselenados (PhSe_2 e 4Cl-PhSe_2) e um composto inorgânico de telúrio (AS-101) em concentrações seriadas de 0,10; 0,25; 0,50; 1,00; 2,00; 4,00; 8,00 e 16,00 mmol L⁻¹. Além dos controles com água destilada e dimetil- sulfóxido (DMSO) a 50%. Todas as placas foram incubadas em câmara BOD (Quimis Ltda, Diadema, Brasil) por um período de 48 horas a 27°C. Após a incubação, foi adicionada 6 µl de solução de iodo de lugol em cada um dos poços para interromper a eclosão dos ovos. A leitura foi realizada

em microscópio invertido (Optiphase INV-403, Van Nuys, EUA). A porcentagem de eclodibilidade dos ovos foi determinada de acordo com a fórmula baseada em (Dolenga et al., 2023):

$$\text{Eclodibilidade (\%)} = L1 / (\text{ovos} + L1) \times 100$$

Onde L1 corresponde às larvas do estágio L1. A eficácia foi avaliada contando o número de ovos presentes na amostra inicial e o número de L1s após o tratamento.

3.3.6 Ensaio de combinação de medicamentos

Os valores de concentração inibitória (CI_{10} , CI_{30} e CI_{50}) foram calculados separadamente para cada composto, sendo que o valor fixo de CI_{50} foi usado para o ensaio de combinação de drogas. Assim, as diluições foram feitas por o $[PhSe)_2]$ CI_{50} fixo com o $[IVM]$ CI_{10} , CI_{30} e CI_{50} e o $[IVM]$ CI_{50} fixo com o $[PhSe)_2]$ CI_{10} , CI_{30} e CI_{50} , o mesmo ocorreu com o As101. Foi realizado o TIML e as L3 foram quantificadas em microscópio óptico invertido (Optiphase INV-403, Van Nuys, EUA).

3.3.7 Avaliação da citotoxicidade em LLC -MK2 (Lilly Laboratory Culture-Monkey kidney-second lineage)

O teste de avaliação da citotoxicidade iniciou com células epiteliais de rim de macaco Rhesus-LLC-MK2 (Lilly Laboratory Culture-Monkey kidney-second lineage), sendo plaqueadas a 5×10^4 por poço em microplacas de 96 poços por 24h a $37^\circ C$ com incubadora umidificada com 5% de CO_2 . Após isso, as células foram tratadas com compostos nas concentrações de 4,0 a 0,5 $mmol L^{-1}$ para $PhSe)_2$ e, 1,0 a 0,05 $mmol L^{-1}$ para AS-101, por 24 e 48h nas mesmas condições em meio suplementado com 0,1% de DMSO. Posteriormente, as células foram lavadas uma vez com PBS (solução salina tamponada com fosfato) e incubadas com 100 μl de AlamarBlue (Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA) a 10% por 2 horas sob as mesmas condições. A fluorescência foi medida em uma microplaca multimodo Varioskan LUX espectrofluorômetro (Thermo Fisher Scientific, Vantaa, Finlândia), usando os comprimentos de onda de 560 nm (excitação) e 590 nm (emissão) (Barreiro et al.,

2022). Células tratadas com metanol (32 mol L⁻¹) foram usadas como controle positivo. Células não tratadas foram incubadas com meio suplementado com 0,1% de DMSO e considerado como controle negativo.

3.3.8 Análise estatística

Os dados foram apresentados como a média de três experimentos independentes conduzidos em triplicatas. O CI₁₀, CI₃₀, CI₅₀, CI₇₀ e CI₉₀ foram estimados por métodos de análise de regressão não lineares (www.graphpad.com). Os resultados foram avaliados por análise de variância unidirecional (ANOVA), seguido pelo teste de comparação múltipla de Tukey. O efeito sinérgico foi determinado usando o perfilador de toxicidade sinérgica (SynToxProfiler), sugerido por Ianevski et al. 2019. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas para $P \leq 0,05$. A análise estatística foi realizada utilizando o software GraphPad Prism 8.0.2 (San Diego, EUA).

3.4 RESULTADOS

3.4.1 Identificação larval

As coproculturas foram realizadas, e em cada cultura foram identificadas 100 L3. Em média, nas amostras das coproculturas de ovinos, *Haemonchus* spp. representou 76%, enquanto *Trichostrongylus* spp. compreendeu 16%, *Oesophagostomum* spp. e *Cooperia* spp. foram menos prevalentes, respondendo por 6% e 2%, respectivamente. Já para bovinos, *Haemonchus* spp. esteve presente em média 64% das amostras, *Trichostrongylus* spp. 24%, *Oesophagostomum* spp. 9% e *Cooperia* spp. 3%.

3.4.2 Teste de inibição da migração larval (TIML)

Os dados do TIML revelaram um comportamento dependente da concentração para dos compostos, uma vez que a concentração mais elevada obteve uma eficácia de 100%. Em relação a concentração inibitória de 50% (CI_{50}) no TIML para parasitas de ovinos (Figura 2), o $PhSe)_2$ e AS-101 foram mais potentes que o $4-CL-PhSe)_2$, apresentando CI_{50} de 2,332 mmol L⁻¹ e 0,976 mmol L⁻¹, respectivamente, enquanto o $4-CL-PhSe)_2$ obteve 4,528 mmol L⁻¹. No TIML de helmintos de bovinos (Figura 3), o $PhSe)_2$ atingiu CI_{50} = 2,503 mmol L⁻¹, já o $4-CL-PhSe)_2$, CI_{50} = 4,304 mmol L⁻¹ e o composto telurado AS-101, CI_{50} = 1,035 mmol L⁻¹. A IVM apresentou o menor CI_{50} , sendo de 0,819 mmol L⁻¹ no teste com L3 provenientes de ovinos e 0,760 mmol L⁻¹ de bovinos. Os compostos tiveram eficácia semelhante para parasitas de ambos os hospedeiros. Como esperado, o controle negativo não apresentou efeito contra *Haemonchus* spp, *Trichostrongylus* spp, *Oesophagostomum* spp. e *Cooperia* spp., e Dimetil- Sulfóxido (DMS) apresentou eficácia de 100%.

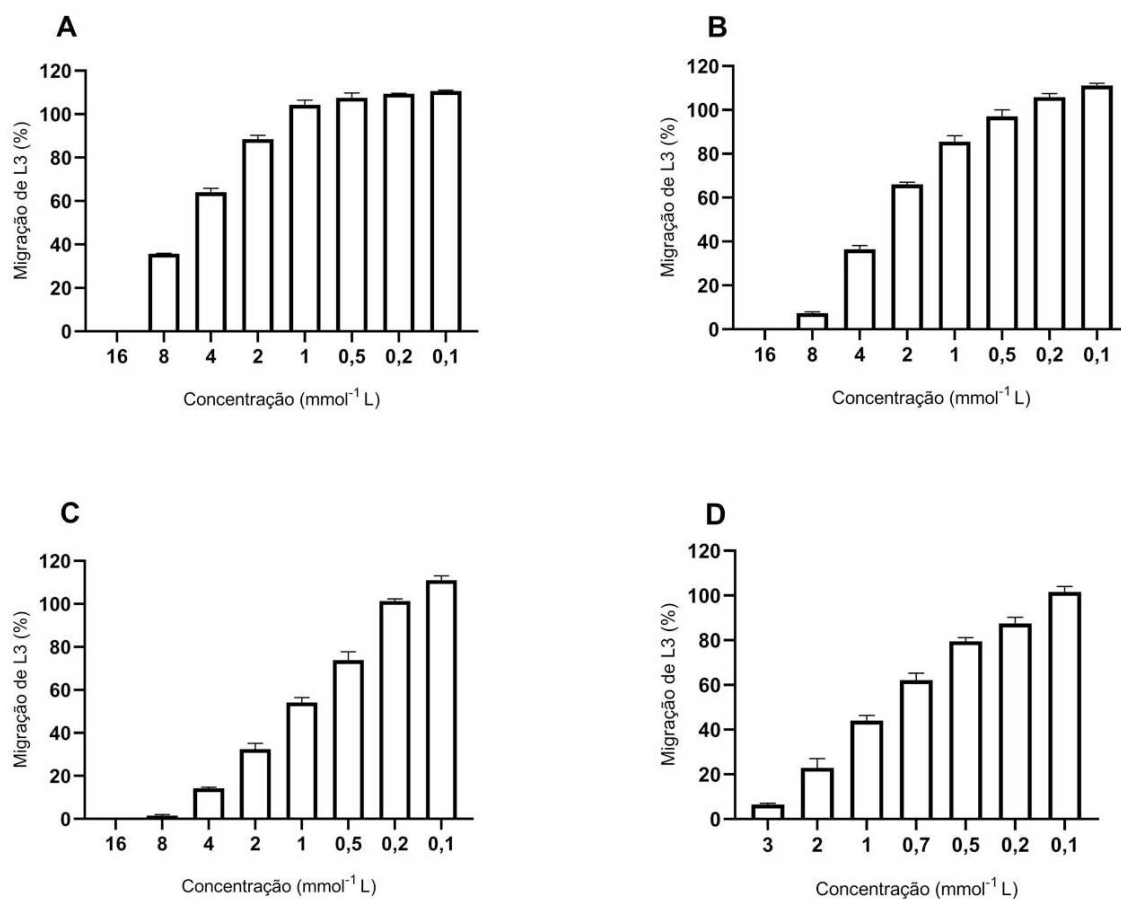


Figura 2 – Migração de larvas de terceiro estágio (média \pm desvio padrão, DP) de *Haemonchus* spp, *Trichostrongylus* spp, *Oesophagostomum* spp. e *Cooperia* spp. de ovinos, expostas a (A) 4-CI-PhSe)₂, (B) PhSe)₂, (C) AS-101 e (D) IVM.

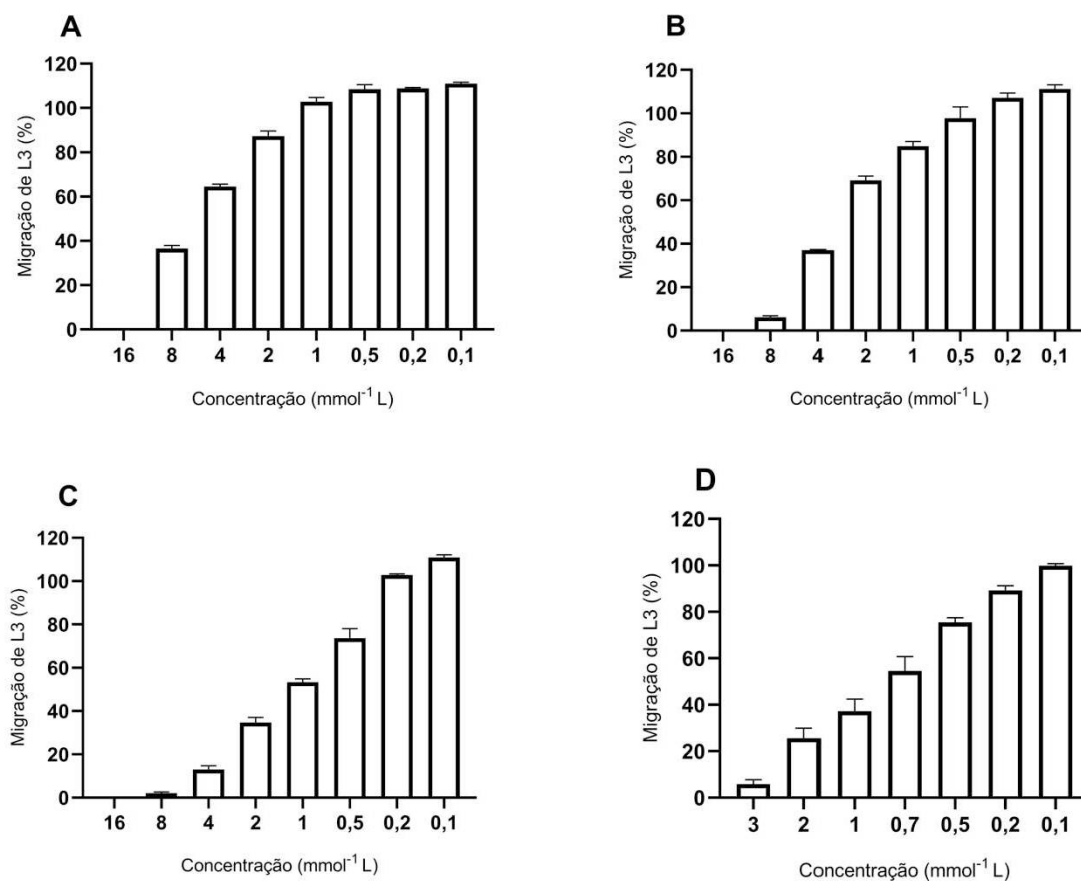


Figura 3 - Migração de larvas de terceiro estágio (média \pm desvio padrão, DP) de *Haemonchus* spp, *Trichostrongylus* spp, *Oesophagostomum* spp. e *Cooperia* spp. de bovinos após exposição aos compostos: (A) 4-Cl-(PhSe)₂, (B) (PhSe)₂, (C) AS-101 e (D) IVM.

Os valores de CI₅₀ de IVM e compostos na migração de L3 estão resumidos na Tabela 1. Os dados obtidos dos compostos foram usados para o ensaio de combinação de medicamentos.

IC	IVM (mmol L-1)	AS-101 (mmol L-1)	PhSe) ₂ (mmol L-1)	4-CL-PhSe) ₂ (mmol L-1)
90	2,525	4,366	9,635	14,700
70	1,265	1,740	4,030	7,490
50	0,819	0,976	2,332	4,528
30	0,530	0,548	1,349	2,737
10	0,265	0,218	0,564	1,227

IC	IVM (mmol L-1)	AS-101 (mmol L-1)	PhSe) ₂ (mmol L-1)	4-CL-PhSe) ₂ (mmol L-1)
90	2,419	4,705	9,111	15,740
70	1,188	1,855	4,119	7,096
50	0,760	1,035	2,503	4,304
30	0,486	0,575	1,521	2,610
10	0,239	0,227	0,687	1,177

Tabela 1. Concentração inibitória (CI) de AS-101, PhSe)₂, 4-CL-PhSe)₂ e ivermectina (IVM) contra larvas de terceiro estágio composto de *Haemonchus* spp., *Trichostrongylus* spp, *Oesophagostomum* spp. e *Cooperia* spp. de ovinos e bovinos, respectivamente.

3.4.3 Teste de eclodibilidade de ovos (TEO)

Todos os compostos apresentaram atividade no desenvolvimento dos ovos, alcançando 100% de eficácia na maior concentração. No TEO para ovos de parasitas de ovino, PhSe)₂ apresentou o menor valor de CI₅₀, sendo 1,801 mmol L⁻¹, enquanto o composto 4 Cl-PhSe)₂ apresentou o maior valor de CI₅₀ (2,267 mmol L⁻¹) e AS-101 obteve CI₅₀ de 1,961 mmol L⁻¹. Quanto ao TEO de helmintos de bovinos, PhSe)₂ obteve CI₅₀= 1,845 mmol L⁻¹, 4 Cl-PhSe)₂) CI₅₀= 2,414 mmol L⁻¹ e AS-101 CI₅₀= 2,029 mmol L⁻¹. Os compostos tiveram eficácia semelhante para parasitas de ambos os hospedeiros (Figuras 4 e 5).

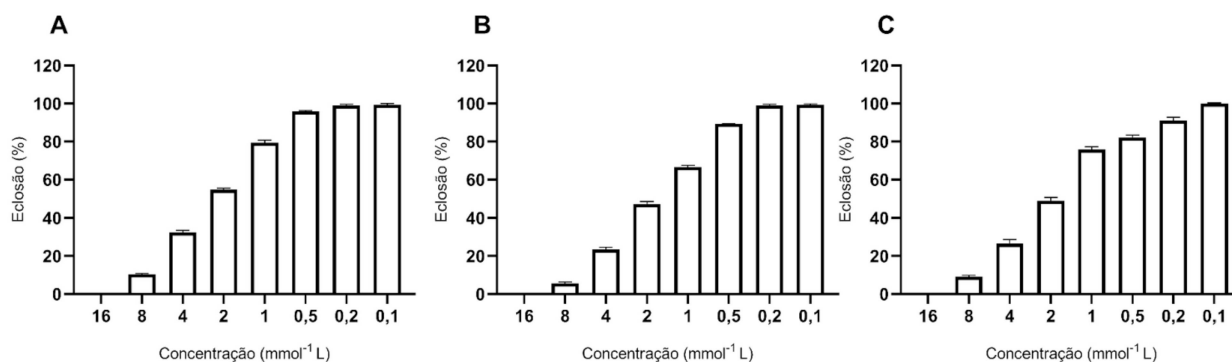


Figura 4– Porcentagem de eclosão dos ovos (média \pm desvio padrão, DP) de *Haemonchus* spp, *Trichostrongylus* spp, *Oesophagostomum* spp. e *Cooperia* spp. de bovinos, após exposição aos compostos 4 Cl-PhSe₂) (A), PhSe₂) (B) e AS-101 (C).

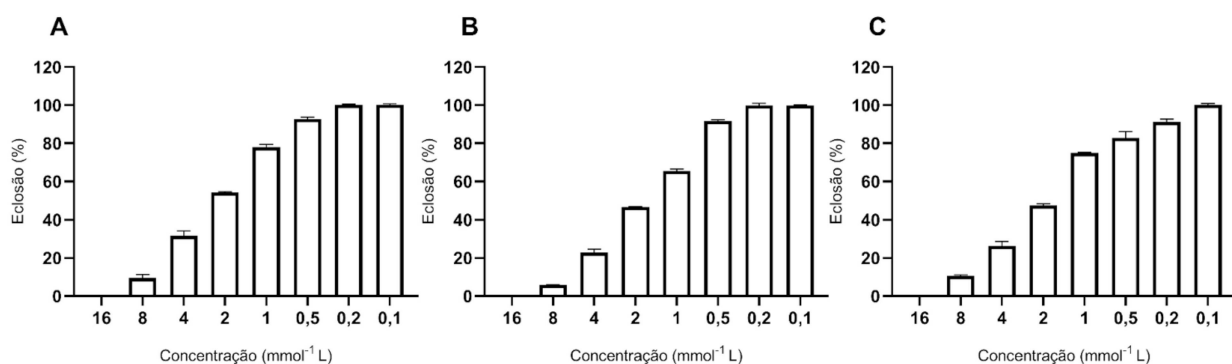


Figura 5- Eclosão de ovos (média \pm desvio padrão, DP) de *Haemonchus* spp, *Trichostrongylus* spp, *Oesophagostomum* spp. e *Cooperia* spp. de ovinos, expostos a 4 Cl-PhSe₂) (A), PhSe₂) (B) e AS-101 (C).

3.4.4 Ensaio de combinação de medicamentos

Os resultados das combinações do IC₅₀ da IVM com PhSe₂ e AS-101, apresentaram um efeito significativo na interação de moléculas em L3 de ovinos e bovinos (Tabela 2). Houve combinação de compostos como CI₅₀ de IVM e CI₁₀ de PhSe₂ que resultaram em um aumento de até 13,33% de eficácia. Desta forma, foi observado um pequeno efeito sinérgico entre algumas combinações farmacológicas.

Entretanto, algumas combinações resultaram em um efeito nulo ou antagônico em L3, como CI_{50} de IVM e CI_{50} de AS-101. Os valores de CI_{10} apresentaram os melhores valores para combinação e pequeno efeito sinérgico.

A) Combinação	Atividade Larvicida (%) (DP)	Efeito aditivo %
CONTROLE	0,00 (\pm 0,00)	
DMSO	100,00 (\pm 0,00)	
IVM50+PHSE50	92,65 (\pm 1,36)	-7,35
IVM50+PHSE30	86,38 (\pm 1,35)	+6,38
IVM50+PHSE10	73,33 (\pm 1,34)	+13,33
PHSE50+IVM50	91,25 (\pm 0,55)	-8,75
PHSE50+IVM30	85,18 (\pm 1,42)	+5,18
PHSE50+IVM10	58,67 (\pm 3,53)	-1,33
IVM50+AS10150	88,97 (\pm 2,29)	-11,03
IVM50+AS10130	82,04 (\pm 2,10)	+2,04
IVM50+AS10110	64,23 (\pm 1,66)	+4,23
AS10150+IVM50	89,73 (\pm 0,12)	-10,27
AS10150+IVM30	80,79 (\pm 1,98)	+0,79
AS10150+IVM10	66,65 (\pm 2,26)	+6,65

B) Combinação	Atividade Larvicida (%) (DP)	Efeito aditivo %
CONTROLE	0,00 (\pm 0,00)	
DMSO	100,00 (\pm 0,00)	
IVM50+PHSE50	91,55 (\pm 0,49)	-8,45
IVM50+PHSE30	86,54 (\pm 1,88)	+6,54
IVM50+PHSE10	69,08 (\pm 2,00)	+9,08
PHSE50+IVM50	92,21 (\pm 1,07)	-7,79
PHSE50+IVM30	86,55 (\pm 1,25)	+6,55
PHSE50+IVM10	68,04 (\pm 2,37)	+8,04
IVM50+AS10150	84,29 (\pm 1,33)	-15,71
IVM50+AS10130	75,56 (\pm 1,28)	-4,44
IVM50+AS10110	65,70 (\pm 1,14)	+6,70
AS10150+IVM50	89,08 (\pm 0,51)	-10,92
AS10150+IVM30	81,92 (\pm 1,34)	+1,92
AS10150+IVM10	69,05 (\pm 1,35)	+9,05

Tabela 2- Atividade larvicida (%) e efeito aditivo (%) das combinações de diferentes concentrações (CI) de ivermectina (IVM), PhSe_2 , AS-101 em larvas de terceiro estágio composto de *Haemonchus* spp, *Trichostrongylus* spp, *Oesophagostomum* spp. e *Cooperia* spp., de ovinos (A) e bovinos (B). Os dados são expressos como média e (\pm) desvio padrão (DP) com base em três experimentos independentes. Controle = L3 não tratado, DMSO = L3 incubado com 50% de DMSO em água destilada.

3.4.5 Avaliação da citotoxicidade em células de linhagem LLC-MK2 (Lilly Laboratory Culture- Monkey kidney- second lineage)

A citotoxicidade dos compostos em células epiteliais de rim de macaco Rhesus LLC-MK2 foi avaliada após 24 e 48h de tratamento para determinar o CC_{50} para células de mamíferos. Um efeito citotóxico contra células foi observado em tempo e concentração dependente. Houve uma menor citotoxicidade em concentrações mais baixas (Figura 5). Em concentrações mais altas (1mmol L^{-1} para AS-101 e 4mmol L^{-1} para PhSe_2), AS-101 alcançou uma citotoxicidade de 81,80% em 24h e 88,80% em 48h. Entretanto, o PhSe_2 mostrou-se menos tóxico, causando 25,80% de toxicidade em 24h e 36,05% em 48h. Com base nesses dados, o CC_{50} de AS-101 e PhSe_2 foram $0,363$ e $2,166\text{mmol L}^{-1}$ por 24h, e $0,307$ e $1,959\text{mmol L}^{-1}$ por 48h, respectivamente.

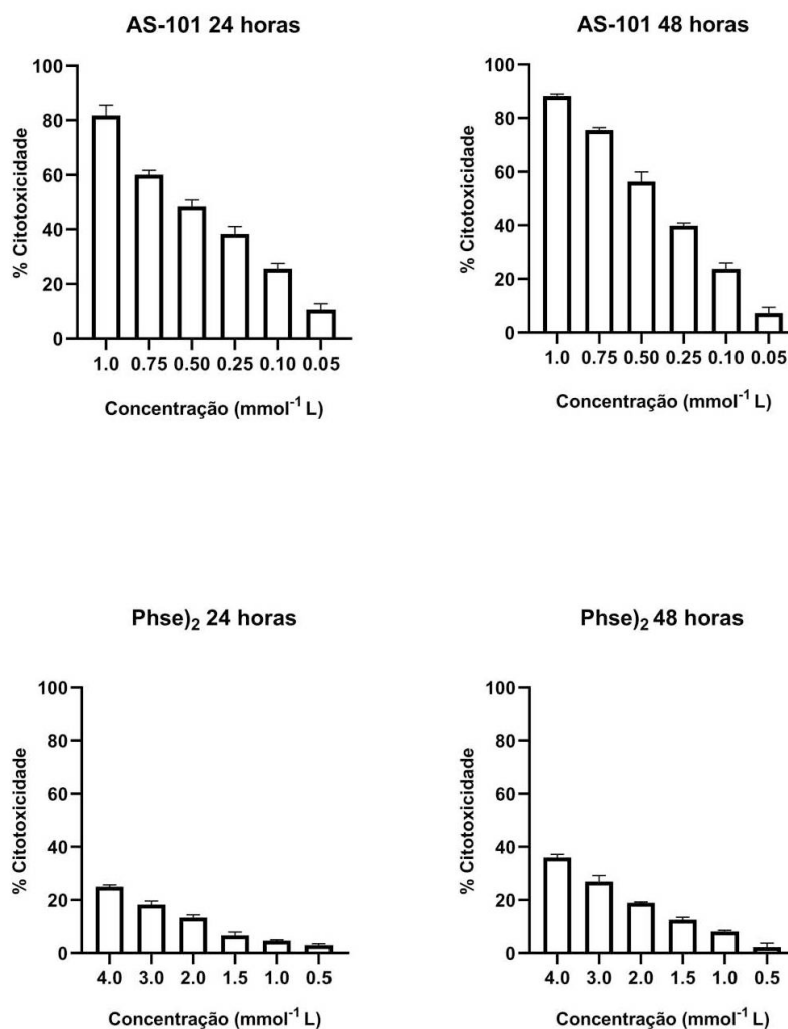


Figura 6- Citotoxicidade em células epiteliais de rim de macaco Rhesus-LLC-MK2 (Lilly Laboratory Culture- Monkey kidney- second lineage) LLC-MK2 após tratamento com disseleneto de difenila (PhSe)₂ e telurato de trico (dioxietileno O,O') de amonia (AS-101) por 24h e 48h.

3.5 DISCUSSÃO

Os resultados dos testes de inibição de migração larval (TIML) e eclodibilidade de ovos (TEO) demonstraram uma interferência efetiva e concentração-dependente dos compostos PhSe)₂, 4 Cl-PhSe)₂ e AS-101 na redução da migração de L3 e na eclodibilidade de ovos de *Haemonchus* spp. e *Trichostrongylus* spp.

No ensaio de inibição da migração larval (TIML), a IVM e o composto AS-101 apresentaram maior eficácia em concentrações mais baixas, enquanto no teste de eclosão de ovos (TEO), o PhSe_2 demonstrou superior atividade ovicida. Adicionalmente, o composto 4-CL-PhSe_2 exibiu significativa atividade inibitória sobre a migração de L3 e a eclodibilidade de ovos, mas com necessidade de concentrações mais elevadas, apresentando CI_{50} aproximadamente três a quatro vezes maior que AS-101 e PhSe_2 no TIML.

Essas diferenças de eficácia podem ser explicadas com base na estrutura química e reatividade dos compostos testados. Como demonstrado por Piovan et al. (2011), compostos telurados tendem a ser mais eletrofílicos que os organoselenados, favorecendo interações rápidas com grupos nucleofílicos das biomoléculas-alvo. A superioridade do PhSe_2 no TEO pode estar associada à sua capacidade de interagir com componentes estruturais dos ovos, possivelmente devido à maior estabilidade do Se em comparação à ligação Se-Cl, que apresenta menor eletrofilicidade e um grupo de saída menos eficiente. Dessa forma, a necessidade de concentrações mais elevadas para o 4-CL-PhSe_2 pode estar relacionada à presença do cloro, que, conforme relatado, reduz a reatividade do selênio, tornando o composto menos eficiente em interações rápidas com as biomoléculas-alvo (Piovan et al., 2011).

Os resultados indicaram que o composto telurado AS-101 apresentou maior eficácia no TIML em comparação aos compostos selenados. Esse efeito pode estar relacionado à capacidade do telúrio de inibir a catepsina B, uma protease cisteínica presente em vermes adultos de *Haemonchus contortus*. Estudos anteriores sugerem que *H. contortus* contém uma família multigênica que codifica proteases de cisteína semelhantes à catepsina B, sendo estas essenciais para a degradação de proteínas como hemoglobina e fibrogênio no organismo do helminto (Longbottom et al., 1997). Além disso, essas proteases desempenham um papel central na digestão de nutrientes pelo parasito, como demonstrado por Shompole e Jasper (2001), que relatam a expressão significativa de genes de catepsina B no intestino do nematódeo. A inibição dessa catepsina pode comprometer processos essenciais para a sobrevivência do helminto, o que pode explicar a maior eficácia do AS-101 na inibição da migração larval. Piovan (2011)

reforça essa hipótese ao demonstrar que compostos telurados atuam como potentes inibidores de catepsina B, alcançando até 95% de inibição da atividade enzimática na concentração de $1 \mu\text{mol L}^{-1}$.

A relação entre a reatividade dos compostos e os resultados obtidos nos ensaios sugere que tanto a composição química quanto a estrutura dos organocalcogênios influenciam diretamente sua eficácia biológica. Além disso, a especificidade dos mecanismos também pode interferir na ação do medicamento nos diferentes estágios de desenvolvimento dos nematódeos (Spengler et al., 2019; Rashidi et al., 2022). Um dos possíveis mecanismos envolvidos na ação dos compostos selenados, é sua capacidade de estimular a liberação de Ca^{2+} das mitocôndrias por meio de mecanismo da hidrólise de NAD^+ , levando a aceleração da respiração e o inchaço mitocondrial, indicativos de deterioração da função mitocondrial, conforme descrito por Azad et al. (2014).

Doleski et al. (2017) investigaram a ação do PhSe_2 no tratamento de alterações encontradas no baço devido à infecção crônica por *T. gondii*, observando que camundongos tratados com 5 mmol/kg de PhSe_2 por via subcutânea conseguiram reverter a esplenomegalia, além de reduzir marcadores histológicos inflamatórios, demonstrando uma possível ação anti-inflamatória e imunomoduladora.

Os dados disponíveis na literatura sobre a ação dos compostos PhSe_2 , 4-Cl-PhSe_2 e AS-101, especialmente no contexto de sua atividade anti-helmíntica contra *Haemonchus* spp. e *Trichostrongylus* spp., ainda não foram relatados, o que dificulta a comparações diretas com estudos prévios. O AS-101, inicialmente descrito como um inibidor de cisteíno proteases, foi recentemente descrita como ativo contra promastigotas ($\text{CI}_{50} = 26,9 \mu\text{mol L}^{-1}$) e amastigotas ($\text{CI}_{50} = 10,6 \mu\text{mol L}^{-1}$) de *L. donovani*, mantendo mais de 98% dos macrófagos viáveis (com $400 \mu\text{mol L}^{-1}$ por 72 h). (Vishwakarma et al., 2018). Além disso, Li et al. (2023) observaram que a combinação de AS-101 com mefloquina ($3,33 \text{ mg/kg}^{-1}$ e 10 mg/kg^{-1} , respectivamente) resultou em uma redução significativa da carga de *Pseudomonas aeruginosa* em camundongos, evidenciando um possível efeito sinérgico desse composto no combate a infecção bacteriana. No entanto, existe uma significativa lacuna no entendimento da ação biológica do composto

4-Cl-PhSe)₂, considerando que este é um derivado do PhSe)₂ e não foi submetido a tantos estudos experimentais quanto seu precursor.

A atividade ovicida dos compostos pode estar relacionada a capacidade de penetrar a estrutura dos ovos de *H. contortus*, a qual é composta por camadas de proteínas, fibrinas e quitinas, além de uma camada interna de lipídios e glicoproteínas, ligando-se às tubulinas do parasito e inibindo a expressão de proteínas necessárias para o desenvolvimento celular (Mansfield et al., 1992; Santos et al., 2013; Tang et al., 2021).

É possível sugerir que os efeitos do selênio e telúrio estejam associados com a habilidade de interagir com estruturas biológicas essenciais do parasito, interferindo no sistema enzimático vital do metabolismo. Estudos demonstraram a capacidade dos compostos contendo Se e Te de inibirem enzimas proteolíticas, como proteases de cisteína, as quais contribuem para a embriogênese, muda de cutícula, eclosão de ovos, migração e desenvolvimento das larvas (Piovan et al., 2010; Capper et al., 2018; Grote et al., 2018; Bakshi et al., 2021). Piovan et al. (2011) avaliaram a capacidade inibitória de compostos organotelurados e organoselenados contra proteases de cisteína catépsina V e S. Os resultados mostraram que os compostos telurados apresentaram uma inibição em torno de 90%, enquanto os compostos organoselenados demonstraram atividades inibitórias entre 70 e 80% nas mesmas condições experimentais (ensaio enzimático fluorimétrico em condições reacionais para cada enzima e dipeptídeo fluorogênico com uma concentração de 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$).

Além dos efeitos individuais, este estudo introduziu uma nova abordagem de utilização dos compostos PhSe)₂ e AS-101 em combinação com a IVM, possibilitando estratégias terapêuticas para controle de nematódeos. Quando testada isoladamente, a IVM demonstrou a maior atividade larvicida contra L3 de NGI. Além disso, a IVM também se destaca por atuar como inibidor de glicoproteína (P-gp) e agente reversor de resistência a múltiplas drogas (MDR) (Molento e Prichard, 1999; Sulik et al., 2023).

Para investigar possíveis efeitos sinérgicos, os compostos foram combinados com diferentes concentrações de IVM. Tanto a combinação de PhSe)₂ e IVM, e AS-101 e IVM mostraram sinergismo em algumas concentrações. O efeito aditivo

observado em nossos experimentos variou de 0,79 a 13,33%, dificultando a migração de L3 (AS-101+IVM; PhSe)₂ + IVM). Esses achados estão alinhados com estudos que indicam interações sinérgicas contra diversos patógenos (Bortoluzzi et al., 2021; Gnat et al., 2022). Munhoz et al. (2023) relataram o efeito do PhSe)₂ em atividade antifúngica contra o fungo *Sporothrix brasiliensis* em camundongos no Brasil, que reduziu significativamente a carga fúngica quando administrado isoladamente (1 mg/kg, via subcutânea). No entanto, a combinação de itraconazol e PhSe)₂ foi ainda mais eficaz ($P < 0,001$).

Além disso, foi avaliado o potencial de citotoxicidade dos compostos contra células de linhagem LLC-MK2. Os resultados indicaram que o disseleneto de difenila (PhSe)₂ alcançou um CI_{50} de 2,166 mmol L⁻¹, cerca de seis vezes maior que o AS-101 em 24h, sugerindo ser menos tóxico para células de mamíferos que o telúrio. Presume-se que a toxicidade do Se e Te esteja associada à inibição de enzimas contendo tiol e/ou selenol, aumentando a peroxidação lipídica e os danos ao DNA (Barbosa et al., 1998; Comparsi et al., 2012). Além disso, o telúrio pode estimular a superprodução de espécies reativas ao oxigênio, levando à disfunção mitocondrial e, conseqüentemente, à morte por apoptose (Brenneisen e Reichert 2018). De maneira semelhante, compostos organosselênicos como o ebselen também demonstram toxicidade celular. Azad et al. (2014) relataram que o ebselen é tóxico acima de 10 µM em células V79 e induz a apoptose em células HeG2 por meio de uma rápida depleção de tiois intracelulares.

Ainda que nossos dados demonstrem que o PhSe)₂, AS-101 e a IVM não atingiram a inibição completa da migração das larvas quando testados em associação, os compostos alcançaram 100% inibição da eclosão dos ovos e da migração das larvas quando testados individualmente, indicando potencial terapêutico promissor. Entretanto, novos estudos são necessários para elucidar seus mecanismos de ação e avaliar sua segurança em modelos *in vivo*.

Nesse contexto, o avanço da nanotecnologia e o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada surgem como alternativas viáveis para aumentar a eficácia dos tratamentos e reduzir a toxicidade (Xiao et al., 2017; Cervi et al., 2021). A incorporação de compostos bioativos, incluindo derivados de calcogênios, em

nanopartículas ou nanocápsulas pode melhorar a biodisponibilidade dos princípios ativos e prolongar sua ação no organismo, além de promover mais saúde e bem-estar aos animais. Além disso, nanopartículas ecologicamente benéficas obtidas a partir de biomoléculas naturais como plantas, fungos e leveduras, estão sendo desenvolvidas para reduzir a geração de materiais nocivos. Essas biomoléculas contêm aminoácidos, enzimas, lipídios, carboidratos e metabólitos (Ferreira et al., 2020; Senthamarai et al., 2024).

3.6 CONCLUSÃO

Os dados do presente trabalho demonstram a eficácia de PhSe_2 , 4-Cl-PhSe_2 e AS-101 contra L3 e ovos de *Haemonchus* spp. e *Trichostrongylus* spp. *in vitro*. Os compostos apresentaram atividade concentração-dependente sobre os parasitos. A combinação de IVM e PhSe_2 , assim como IVM e AS-101 demonstraram efeito sinérgico em determinadas concentrações. Esses resultados podem ser o início de uma inovação farmacológica promissora, beneficiando o tratamento das parasitoses gastrintestinais de ruminantes.

3.7 Agradecimentos

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil, pela bolsa de mestrado concedida a Taynara Gabriele Ribeiro Piano. Reconhecemos o apoio da Universidade Federal do Paraná, UFPR, do Laboratório de Pesquisa e Produção de Ovinos e Caprinos, LAPOC da UFPR e do Núcleo de Inovação Tecnológica em Agropecuária, NITA da UFPR.

3.8 Conflitos de interesse

Os autores declaram que não há interesses financeiros ou interesses pessoais que podem ter influenciado os resultados deste artigo.

REFERÊNCIAS

- Albeck, M., Tamari, T., & Sredni, B., 1989. Synthesis and Properties of Ammonium Trichloro(dioxyethylene- O , O 't)ellurate (AS-101). A New Immunomodulating Compound. *Synthesis*, 1989(08), 635–636. <https://doi.org/10.1055/s-1989-27344>
- Azad, G. K., Singh, V., Mandal, P., Singh, P., Golla, U., Baranwal, S., Chauhan, S., & Tomar, R. S., 2014. Ebselen induces reactive oxygen species (ROS)-mediated cytotoxicity in *Saccharomyces cerevisiae* with inhibition of glutamate dehydrogenase being a target. *FEBS Open Bio*, 4(1), 77–89. <https://doi.org/10.1016/j.fob.2014.01.002>
- Bakshi, M., Tuo, W., Aroian, R. v., & Zarlenga, D., 2021. Immune reactivity and host modulatory roles of two novel *Haemonchus contortus* cathepsin B-like proteases. *Parasites & Vectors*, 14(1), 580. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-05010-y>
- Bandeira, P. T., Souza, J. P. A., Scariot, D. B., Garcia, F. P., Nakamura, C. v., de Oliveira, A. R. M., & Piovan, L., 2019. Diacetal Ditellurides as Highly Active and Selective Antiparasitic Agents toward *Leishmania amazonensis*. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 10(5), 806–810. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.9b00060>
- Barbosa, N. B. V., Rocha, J. B. T., Zeni, G., Emanuelli, T., Beque, M. MC., & Braga, A. L., 1998. Effect of Organic Forms of Selenium on δ -Aminolevulinatase Dehydratase from Liver, Kidney, and Brain of Adult Rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 149(2), 243–253. <https://doi.org/10.1006/taap.1998.8373>
- Barreiro, S., Silva, B., Long, S., Pinto, M., Remião, F., Sousa, E., & Silva, R., 2022. Fiscalin Derivatives as Potential Neuroprotective Agents. *Pharmaceutics*, 14(7), 1456. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14071456>
- Borges, F., Zugman, T., Bandeira, P., Dalmolin, M., Scariot, D., Garcia, F., de Oliveira, A., Nakamura, C., & Piovan, L., 2021. Complementary Performance of Organoselenides and Organotellurides as Antimicrobials Agents. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20200201>
- Bortoluzzi, B. B., Buzatti, A., Chaaban, A., Pritsch, I. C., dos Anjos, A., Cipriano, R. R., Deschamps, C., & Molento, M. B., 2021. Mentha villosa Hubs., M. x piperita and their bioactives against gastrointestinal nematodes of ruminants and the potential as drug enhancers. *Veterinary Parasitology*, 289, 109317. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109317>

Brenneisen, P., & Reichert, A., 2018. Nanotherapy and Reactive Oxygen Species (ROS) in Cancer: A Novel Perspective. *Antioxidants*, 7(2), 31. <https://doi.org/10.3390/antiox7020031>

Capper, M. J., Wright, G. S. A., Barbieri, L., Luchinat, E., Mercatelli, E., McAlary, L., Yerbury, J. J., O'Neill, P. M., Antonyuk, S. v., Banci, L., & Hasnain, S. S., 2018. The cysteine-reactive small molecule ebselen facilitates effective SOD1 maturation. *Nature Communications*, 9(1), 1693. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04114-x>

Cervi, V. F., Parcianello Saccol, C., Henrique Marcondes Sari, M., Cristóvão Martins, C., Saldanha da Rosa, L., Dias Ilha, B., Zovico Soares, F., Luchese, C., Antunes Wilhelm, E., & Cruz, L., 2021. Pullulan film incorporated with nanocapsules improves pomegranate seed oil anti-inflammatory and antioxidant effects in the treatment of atopic dermatitis in mice. *International Journal of Pharmaceutics*, 609, 121144. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.121144>

Charlier, J., Velde, F. vande, van der Voort, M., van Meensel, J., Lauwers, L., Cauberghe, V., Vercruyse, J., & Claerebout, E., 2015. ECONOHEALTH: Placing helminth infections of livestock in an economic and social context. *Veterinary Parasitology*, 212(1–2), 62–67. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.06.018>

Coles, G. C., Bauer, C., Borgsteede, F. H. M., Geerts, S., Klei, T. R., Taylor, M. A., & Waller, P. J., 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 44(1–2), 35–44. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(92\)90141-U](https://doi.org/10.1016/0304-4017(92)90141-U)

Comparsi, B., Meinerz, D. F., Franco, J. L., Posser, T., de Souza Prestes, A., Stefanello, S. T., dos Santos, D. B., Wagner, C., Farina, M., Aschner, M., Dafre, A. L., & Rocha, J. B. T., 2012. Diphenyl ditelluride targets brain selenoproteins in vivo: inhibition of cerebral thioredoxin reductase and glutathione peroxidase in mice after acute exposure. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 370(1–2), 173–182. <https://doi.org/10.1007/s11010-012-1408-6>

Demeler, J., Küttler, U., & von Samson-Himmelstjerna, G., 2010. Adaptation and evaluation of three different in vitro tests for the detection of resistance to anthelmintics in gastro intestinal nematodes of cattle. *Veterinary Parasitology*, 170(1–2), 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.01.032>

Doleski, P. H., ten Caten, M. v., Passos, D. F., Castilhos, L. G., Leal, D. B. R., Machado, V. S., Bottari, N. B., Vogel, F. F., Mendes, R. E., & da Silva, A. S., 2017. Toxoplasmosis treatment with diphenyl diselenide in infected mice modulates the

activity of purinergic enzymes and reduces inflammation in spleen. *Experimental Parasitology*, 181. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2017.07.001>

Emery, D. L., Hunt, P. W., & le Jambre, L. F., 2016. *Haemonchus contortus*: the then and now, and where to from here? *International Journal for Parasitology*, 46(12), 755–769. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2016.07.001>

Evans, M., & Sargison, N., 2019. Planning anthelmintic treatments to control gastrointestinal nematode infections in sheep. *Livestock*, 24(Sup2), 4–8. <https://doi.org/10.12968/live.2019.24.Sup2.4>

Ferreira, L. M., Sari, M. H. M., Azambuja, J. H., da Silveira, E. F., Cervi, V. F., Marchiori, M. C. L., Maria-Engler, S. S., Wink, M. R., Azevedo, J. G., Nogueira, C. W., Braganhol, E., & Cruz, L., 2020. Xanthan gum-based hydrogel containing nanocapsules for cutaneous diphenyl diselenide delivery in melanoma therapy. *Investigational New Drugs*, 38(3), 662–674. <https://doi.org/10.1007/s10637-019-00823-2>

Flay, K. J., Hill, F. I., & Muguiro, D. H., 2022. A Review: *Haemonchus contortus* Infection in Pasture-Based Sheep Production Systems, with a Focus on the Pathogenesis of Anaemia and Changes in Haematological Parameters. *Animals*, 12(10), 1238. <https://doi.org/10.3390/ani12101238>

Fortes, F. S., & Molento, M. B., 2013. Resistência anti-helmíntica em nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes: avanços e limitações para seu diagnóstico. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(12), 1391–1402. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013001200001>

Gnat, S., Łagowski, D., Dyląg, M., Józwiak, G., Trościańczyk, A., & Nowakiewicz, A., 2022. In Vitro Activity of Ebselen and Diphenyl Diselenide Alone and in Combination with Drugs against *Trichophyton mentagrophytes* Strains. *Pharmaceutics*, 14(6), 1158. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061158>

Gordon, H. McL.; Whitlock, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *Journal Council Science Industry Research*, v.12, n.1, p. 50-52, 1939. ¶

Grote, A., Caffrey, C. R., Rebello, K. M., Smith, D., Dalton, J. P., & Lustigman, S., 2018. Cysteine proteases during larval migration and development of helminths in their final host. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 12(8), e0005919. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005919>

Juliana Ribeiro Dolenga, C., dos Anjos, A., José Arruda, E., & Beltrão Molento, M., 2023. Copper chloride and copper sulphate in combination with nitroxynil against gastrointestinal nematodes of ruminants: A possible hitchhiking synergic effect at low concentrations. *International Journal for Parasitology*, 53(3), 177–183.

<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2022.12.003>

Katiki, L. M., Giglioti, R., Ferreira, J. F. S., Pacheco, P. A., Barbosa, H. Z., Rodrigues, L., Veríssimo, C. J., Braga, P. A. C., Amarante, A. F. T., & Louvandini, H., 2023. Combined effects of Limonene and Ivermectin on P-glycoprotein-9 gene expression of lambs Infected with *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 324, 110069.

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2023.110069>

Laing, R., Gillan, V., & Devaney, E., 2017. Ivermectin – Old Drug, New Tricks? *Trends in Parasitology*, 33(6), 463–472. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.02.004>

Li, R., Shen, X., Li, Z., Shen, J., Tang, H., Xu, H., Shen, J., & Xu, Y., 2023. Combination of AS101 and Mefloquine Inhibits Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in vivo. *Infection and Drug Resistance*, Volume 16, 7271–7288. <https://doi.org/10.2147/IDR.S427232>

Longbottom, D., Redmond, D. L., Russell, M., Liddell, S., Smith, W. D., & Knox, D. P., 1997. Molecular cloning and characterisation of a putative aspartate proteinase associated with a gut membrane protein complex from adult *Haemonchus contortus*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 88(1–2), 63–72.

[https://doi.org/10.1016/S0166-6851\(97\)00074-1](https://doi.org/10.1016/S0166-6851(97)00074-1)

López-Rodríguez, G., Zaragoza-Bastida, A., Olmedo-Juárez, A., Rosenfeld Miranda, C., & Rivero-Perez, N., 2023. Nematodos gastrointestinales en ovinos y su resistencia antihelmíntica. Un tema en discusión de México. *Journal of the Selva Andina Animal Science*, 10(2), 116–129.

<https://doi.org/10.36610/j.jsaas.2023.100200116>

Mansfield, L. S., Gamble, H. R., & Fetterer, R. H., 1992. Characterization of the eggshell of *Haemonchus Contortus*—I. Structural components. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 103(3), 681–686.

[https://doi.org/10.1016/0305-0491\(92\)90390-D](https://doi.org/10.1016/0305-0491(92)90390-D)

Mishra, R. K., Kumar, V. B., Monteran, L., Sredni, B., & Gedanken, A., 2019. AS101-Loaded PLGA–PEG Nanoparticles for Autoimmune Regulation and Chemosensitization. *ACS Applied Bio Materials*, 2(5), 2246–2251.

<https://doi.org/10.1021/acsabm.9b00200>

Molento, M. B., & Prichard, R. K., 1999. Effects of the multidrug-resistance-reversing agents verapamil and CL 347,099 on the efficacy of ivermectin or moxidectin against unselected and drug-selected strains of *Haemonchus contortus* in jirds (*Meriones unguiculatus*). *Parasitology Research*, 85(12), 1007–1011.

<https://doi.org/10.1007/s004360050673>

Molento, M. B., & Prichard, R. K., 2001. Effect of multidrug resistance modulators on the activity of ivermectin and moxidectin against selected strains of *Haemonchus contortus* infective larvae. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 21(3), 117–121.

<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2001000300004>

Munhoz, L. S., Poester, V. R., Benelli, J. L., Melo, A. M., Trápaga, M. R., Nogueira, C. W., Zeni, G., Flores, M. M., Stevens, D. A., & Xavier, M. O., 2023. Effectiveness of diphenyl diselenide against experimental sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis*. *Medical Mycology*, 61(4). <https://doi.org/10.1093/mmy/myad035>

Paulmier C. Selenium reagents and intermediates in organic synthesis. Pergamon Books, 1986.

Piovan, L. Síntese e avaliação de compostos de selênio (IV) e telúrio (IV) como inibidores de cisteína e treonina proteases. 2011. 218 p. Tese (Doutorado em Química) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

Piovan, L., Alves, M. F. M., Juliano, L., Brömme, D., Cunha, R. L. O. R., & Andrade, L. H., 2010. Chemoenzymatic synthesis of organoselenium(IV) compounds and their evaluation as cysteine protease inhibitors. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 21(11), 2108–2118. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532010001100012>

Piovan, L., Alves, M. F. M., Juliano, L., Brömme, D., Cunha, R. L. O. R., & Andrade, L. H., 2011. Structure–activity relationships of hypervalent organochalcogenanes as inhibitors of cysteine cathepsins V and S. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19(6), 2009–2014. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.01.054>

Rashidi, S., Fernández-Rubio, C., Mansouri, R., Ali-Hassanzadeh, M., Ghani, E., Karimazar, M., Manzano-Román, R., & Nguewa, P., 2022. Selenium and protozoan parasitic infections: selenocompounds and selenoproteins potential. *Parasitology Research*, 121(1), 49–62. <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07400-8>

Roberts, F., & O'Sullivan, P., 1950. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastro-intestinal tract of cattle. *Australian Journal of Agricultural Research*, 1(1), 99. <https://doi.org/10.1071/AR9500099>

Rodrigues, J. F. V., Monteiro, J. P., Almeida, T. M., & Molento, M. B., 2025. A systematic review of the molecular mechanisms related to anthelmintic resistance in *Haemonchus contortus*: A contemporary narrative. *Veterinary Parasitology*, 334, 110394. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2025.110394>

Roeber, F., Hassan, E. B., Skuce, P., Morrison, A., Claerebout, E., Casaert, S., Homer, D. R., Firestone, S., Stevenson, M., Smith, L., & Larsen, J., 2017. An automated, multiplex-tandem PCR platform for the diagnosis of gastrointestinal nematode infections in cattle: An Australian-European validation study. *Veterinary Parasitology*, 239, 62–75. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.04.011>

Santos, E. dos A., Hamel, E., Bai, R., Burnett, J. C., Tozatti, C. S. S., Bogo, D., Perdomo, R. T., Antunes, A. M. M., Marques, M. M., Matos, M. de F. C., & de Lima, D. P., 2013. Synthesis and evaluation of diaryl sulfides and diaryl selenide compounds for antitubulin and cytotoxic activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23(16), 4669–4673. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.06.009>

Senthamarai, M. D., Hillary, V. E., Rajan, M. R., & Ceasar, S. A., 2024. Biosynthesis of selenium nanoparticles and its biological applications: A systematic review. *Nano-Structures & Nano-Objects*, 39, 101261. <https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2024.101261>

Shompole, S., & Jasmer, D. P., 2001. Cathepsin B-like Cysteine Proteases Confer Intestinal Cysteine Protease Activity in *Haemonchus contortus*. *Journal of Biological Chemistry*, 276(4), 2928–2934. <https://doi.org/10.1074/jbc.M007321200>

Spengler, G., Gajdács, M., Marć, M. A., Domínguez-Álvarez, E., & Sanmartín, C., 2019. Organoselenium Compounds as Novel Adjuvants of Chemotherapy Drugs—A Promising Approach to Fight Cancer Drug Resistance. *Molecules*, 24(2), 336. <https://doi.org/10.3390/molecules24020336>

Sulik, M., Antoszczak, M., Huczyński, A., & Steverding, D., (2023). Antiparasitic activity of ivermectin: Four decades of research into a “wonder drug.” *European Journal of Medicinal Chemistry*, 261, 115838. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115838>

Tang, H., Liang, Y., Cheng, J., Ding, K., & Wang, Y., 2021. Bifunctional chiral selenium-containing 1,4-diarylazetidines with potent antitumor activities by disrupting tubulin polymerization and inducing reactive oxygen species production. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 221, 113531. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113531>

van Wyk, J. A., & Mayhew, E., 2013. Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: A practical lab guide. *Onderstepoort J Vet Res*, 80(1). <https://doi.org/10.4102/ojvr.v80i1.539>

Vishwakarma, P., Parmar, N., Chandrakar, P., Sharma, T., Kathuria, M., Agnihotri, P. K., Siddiqi, M. I., Mitra, K., & Kar, S., 2018. Ammonium trichloro [1,2-ethanediolato-O,O']-tellurate cures experimental visceral leishmaniasis by redox modulation of *Leishmania donovani* trypanothione reductase and inhibiting host integrin linked PI3K/Akt pathway. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 75(3), 563–588. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2653-3>

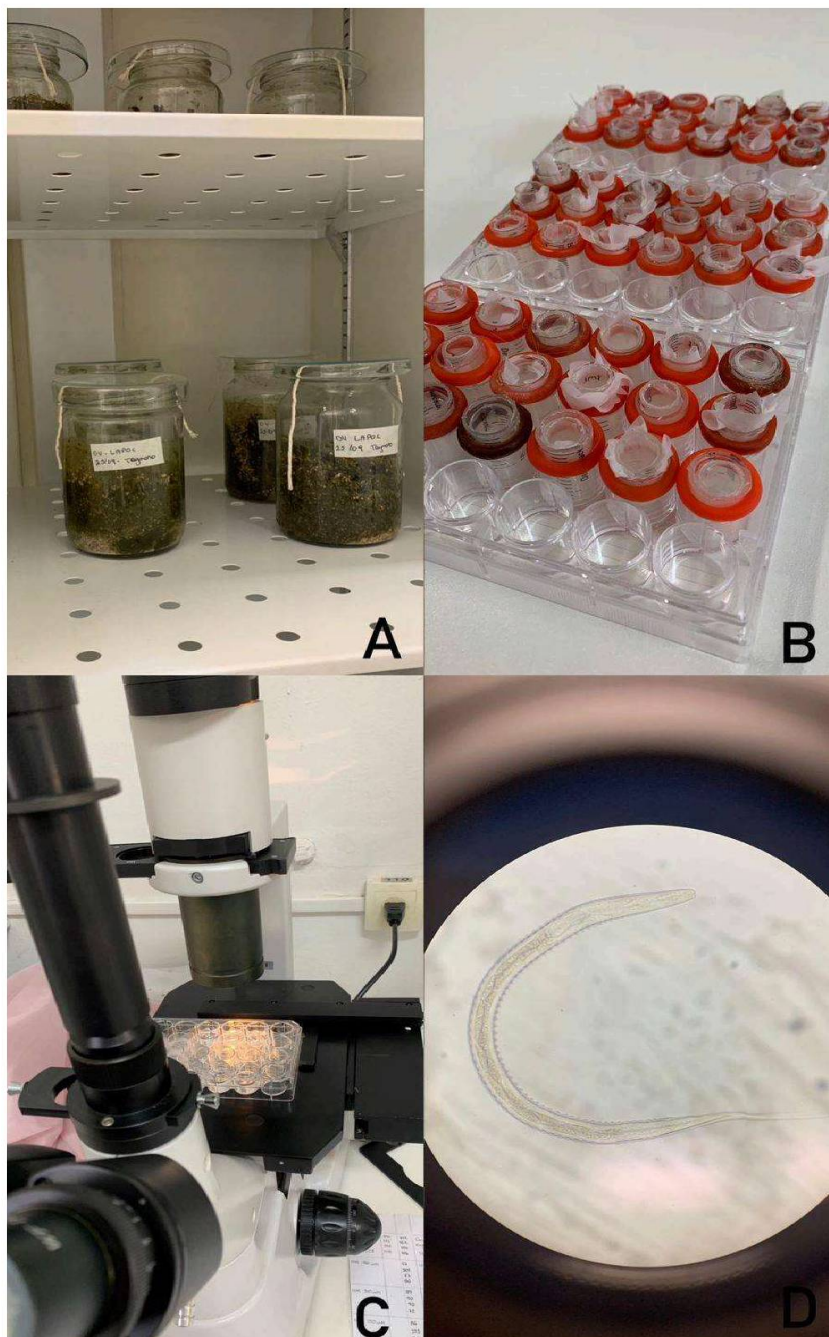
Williams, E. G., Brophy, P. M., Williams, H. W., Davies, N., & Jones, R. A., 2021. Gastrointestinal nematode control practices in ewes: Identification of factors associated with application of control methods known to influence anthelmintic resistance development. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 24, 100562. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100562>

Xiao, Y., Huang, Q., Zheng, Z., Guan, H., & Liu, S., 2017. Construction of a *Cordyceps sinensis* exopolysaccharide-conjugated selenium nanoparticles and enhancement of their antioxidant activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 99, 483–491. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.016>

Zugman, T.T.B. Dicalcogenetos diarílicos funcionalizados: avaliação do potencial antiparasitário contra *Leishmania* spp. 2022. 126 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

ANEXO 1- FOTOS EXTRAS

Figuras 7, 8, 9 e 10 - Teste de Inibição da Migração Larval (TIML). A: Coprocultura para obtenção de L3. B: Placas de 24 poços com aparatos com malha de 25 μ m para avaliação da motilidade de L3. C: Microscópio invertido para contagem de larvas. D: Larva de *Haemonchus* spp.



Figuras 11 e 12- Aparato para o teste de inibição da migração larval (TIML). A: Consiste em uma seringa de 5ml cortada no tamanho aproximado de 2cm, com outra seringa de 2ml cortada no mesmo tamanho com uma malha de 25 micrômetros a sua volta. B: Aparato pronto.

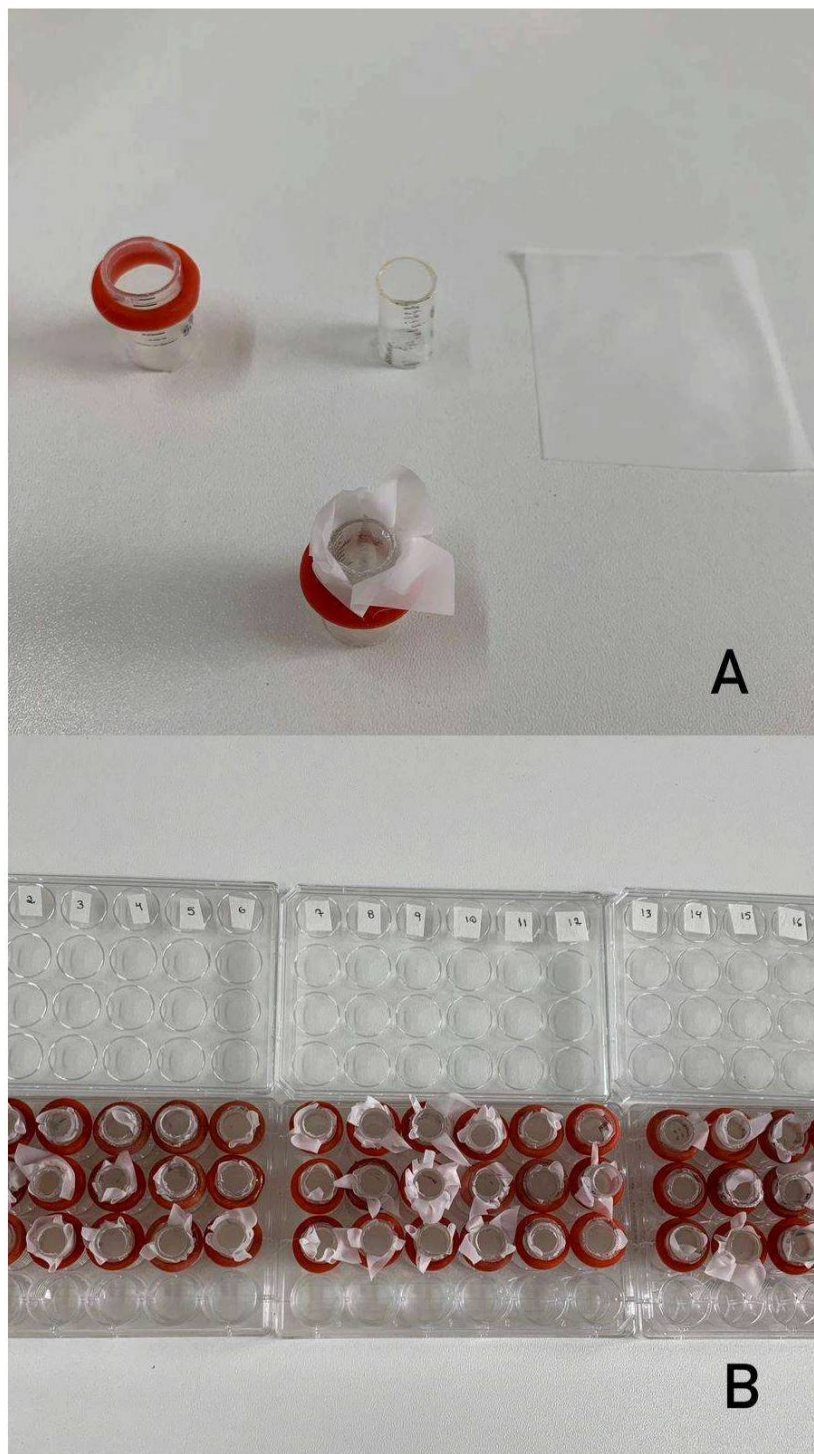


Figura 13- Larva de *Haemonchus* spp. com presença de bainha.



Figuras 14 e 15- Ovos de estrongilídeos extraídos de ovinos para o teste de eclodibilidade de ovos (TEO) no aumento de 10x e 40x.

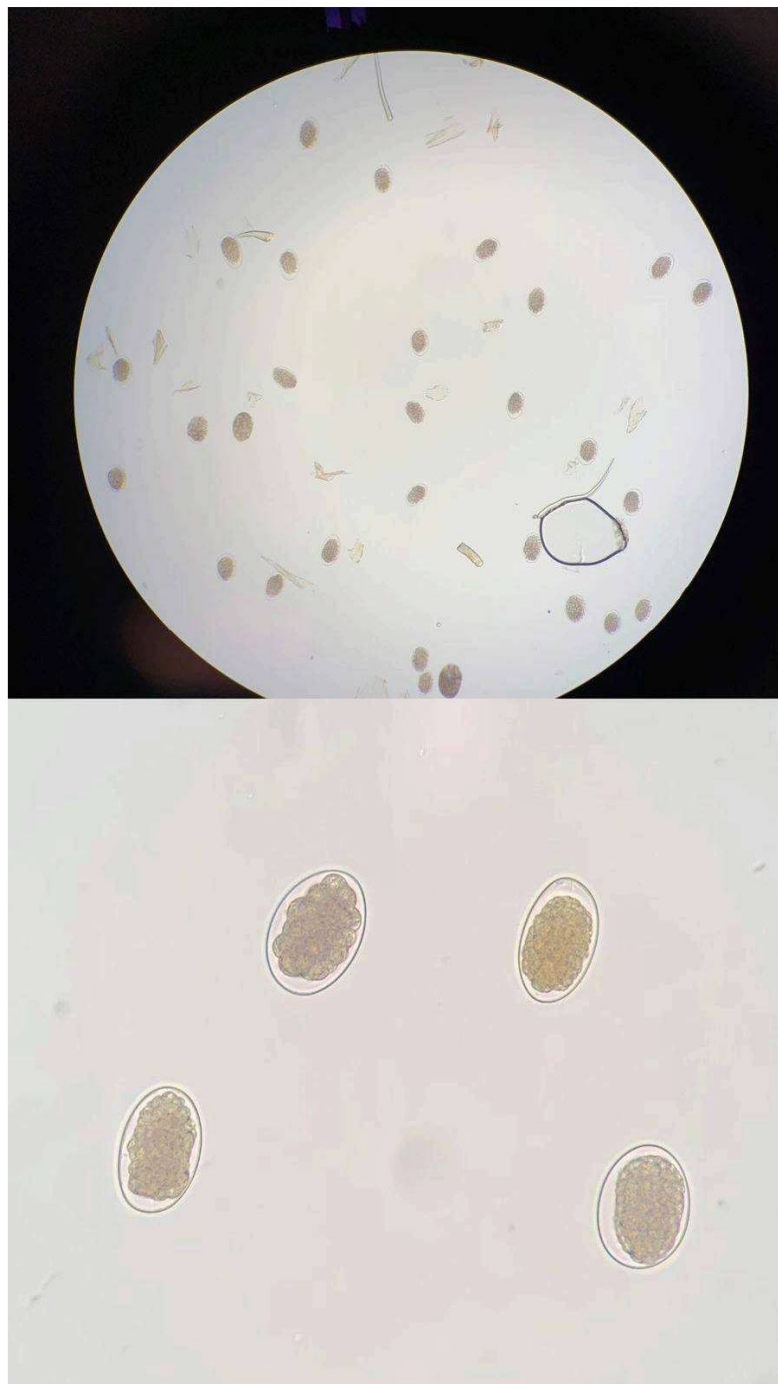


Figura 16- Células epiteliais de rim de macaco Rhesus (Lilly Laboratory Culture- Monkey kidney second lineage-LLC-MK2) durante a avaliação da citotoxicidade em células.

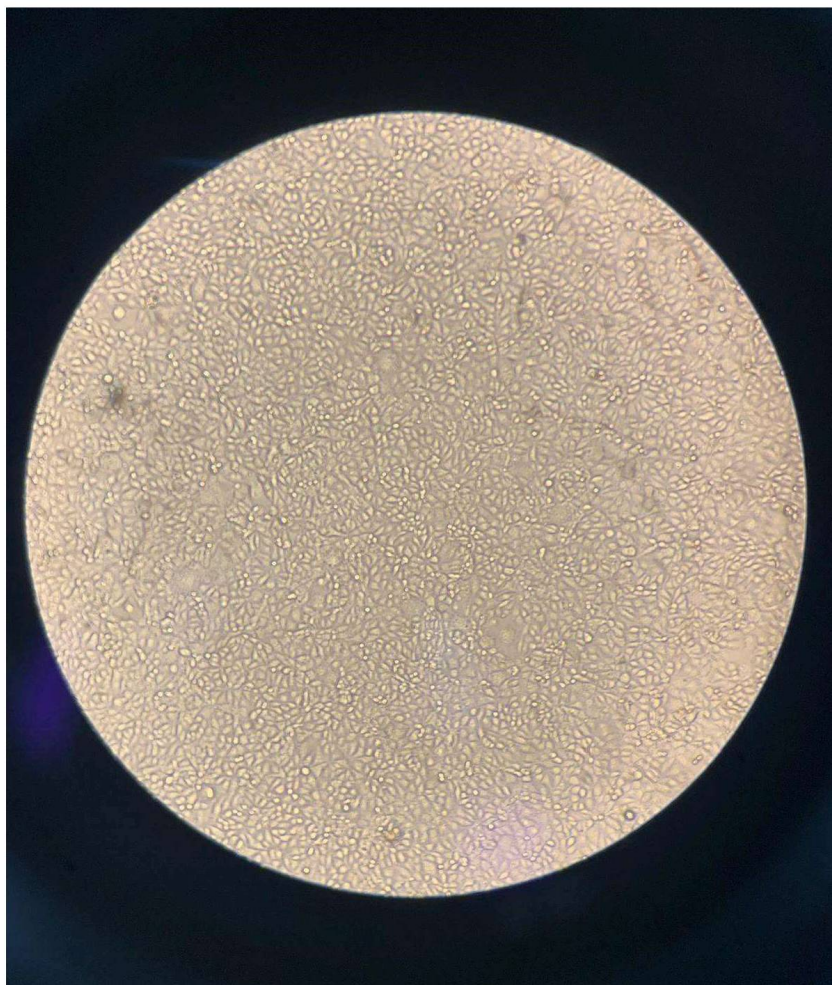
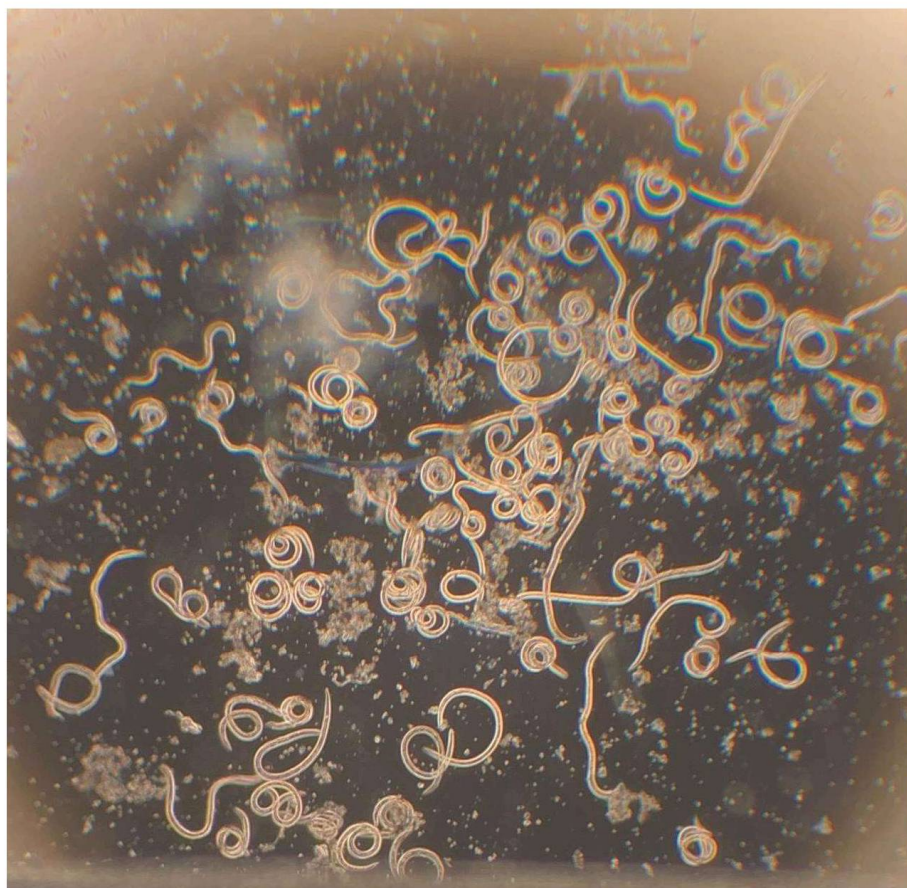


Figura 17- Contagem de larvas migradas do controle negativo com água destilada no microscópio invertido.



ANEXO 2 - COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Figura 18- Ofício de Aprovação na Comissão de Ética de Uso em Animais – Agrárias/UFPR



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS


OFÍCIO Nº 031/2023

Para: Marcelo Beltrão Molento
Assunto: Protocolo 039/2021

Prezado(a) pesquisador(a),

Após avaliação do pedido sobre o projeto/aula sob sua responsabilidade, de protocolo número 039/2021 intitulado “**Desempenho de compostos organotelurados como anti-helmínticos e acaricidas em ruminantes**”, a Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias – UFPR manifesta concordância ao pedido de inclusão da colaboradora Taynara Gabriele Ribeiro Piano ao projeto.

Curitiba, 03 de Julho de 2023.

Documento assinado digitalmente:
 ALEX MAIORKA
Data: 04/07/2023 16:28:13-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Alex Maiorka
Coordenador
Comissão de Ética no Uso de Animais
AG - UFPR