

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE COMPOSTOS SINTÉTICOS SOBRE FORMAS EPIMASTIGOTAS DE *Trypanosoma cruzi*

Arthur Henrique (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Luis Henrique Dalbello Yamashita
(Coorientador). E-mail: lhyamashita@hotmail.com, Celso Vataru Nakamura
(Orientador). E-mail: cvnakamura@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

Farmácia/Análise e Controle de Medicamentos

Palavras-chave: Doença de Chagas; Atividade tripanocida; Doença negligenciada

RESUMO

A Doença de Chagas (DC), causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, afeta cerca de 8 milhões de infectados mundialmente. O parasito está associado a transmissão vetorial e oral, sendo endêmico em 21 países da América Latina. A infecção pelo *T. cruzi* é marcada por duas principais fases, a aguda, de elevada parasitemia, e a crônica, com sua principal causa de morbidade, a Cardiomiopatia Chagásica Crônica. Atualmente, a única forma de tratamento da doença reside no Benzonidazol, fármaco de baixa eficácia e elevada toxicidade. Nesse sentido, faz-se necessário a busca por novas substâncias capazes de substituir a quimioterapia atual, trazendo consigo maior segurança e eficácia, visando assim à melhora na qualidade de vida dos enfermos. Dessa forma, ensaios antiproliferativos e de citotoxicidade usando compostos sintéticos são de suma importância para o estudo de novas formas de combater o protozoário, tornando assim o cenário de cura da patologia cada vez mais realista. Para tal fim, esse estudo buscou testar moléculas sintéticas com potencial antitripanosoma através de ensaios *in vitro*. Apesar do insucesso na obtenção de moléculas capazes de eliminar o protozoário, o experimento ainda contribui para um avanço na terapêutica da Doença de Chagas.

INTRODUÇÃO

O termo “Doenças Tropicais Negligenciadas” (DTN) descreve doenças que são ignoradas quando planos de Saúde e orçamentos são feitos para a pesquisa e desenvolvimento, tanto no âmbito acadêmico quanto industrial. Nesse sentido, a Organização Mundial da Saúde usa tal termo para designar 17 DTNs de maior prioridade, sendo uma delas a doença de Chagas (tripanossomíase americana), a parasitose mais prevalente no continente americano.

Nesse sentido, mesmo conhecendo o parasito desde o início do século vinte, atualmente, a única opção de combate ao *T. cruzi* reside na imunoterapia. O composto disponível para o combate do parasito é o Benzonidazol, composto nitro-heterocíclico com mecanismo de ação não bem compreendido e que apresenta limitações em diversos aspectos (WHO,2018).

Sendo assim, frente aos danos que a doença de Chagas causa ao paciente e os efeitos colaterais associados ao tratamento vigente da doença, faz-se necessário desenvolver uma nova forma de tratamento segura, de fácil adesão e eficaz, melhorando a qualidade de vida dos que sofrem por tal enfermidade.

MATERIAIS E MÉTODOS

Epimastigotas foram mantidas em meio Liver infusion tryptose (LIT) suplementado com soro fetal bovino (SFB), penicilina e estreptomicina e mantidas em estufa. A cepa Y de *T. cruzi* foi utilizada. As células LLC-MK2 foram cultivadas em DMEM suplementado com SFB, L-glutamina, penicilina e estreptomicina, sendo mantidas em estufa. As passagens foram realizadas com a formação de uma monocamada confluyente. Derivados benzodiazepínicos, 1A, 1B, 1G, 1I, 1P e 1Q, foram diluídos em DMSO, produzindo uma solução estoque, da qual foram obtidas as concentrações de interesse.

Epimastigotas foram adicionadas em placa estéril. Em seguida, foi adicionado o tratamento com os compostos sintéticos ou LIT, e a placa incubada. Após 96 h o ensaio foi avaliado pelo método de contagem na Câmara de Neubauer em microscópio óptico, e determinou-se o CI_{50} pela regressão não linear dos dados.

Células LLC-MK2 foram adicionadas em placa e incubadas por 24 h. Após, o meio foi removido e adicionado o tratamento com os compostos sintéticos, ou DMEM, e incubado. Após 96 h leu-se o ensaio pelo método colorimétrico de MTT e determinou-se o CC_{50} pela regressão não linear dos dados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como evidenciado pela Tabela 1, o composto 1B foi o único a apresentar atividade antiparasitária *in vitro*, enquanto o composto 1G foi o mais tolerado pelas células LLC-MK2.

O desenvolvimento de medicamentos antiparasitários permanece um grande desafio. Pesquisadores envolvidos na busca pela cura da doença de Chagas enfrentam desafios únicos, muitos deles ligados às questões ainda não resolvidas sobre a doença em si e as interações entre o parasita e o hospedeiro (KRATZ, 2019).

Nesse enfoque, é válido direcionar a síntese de novos compostos usando moléculas já conhecidas com potencial antiparasitário. Essa abordagem se baseia em encontrar novos usos terapêuticos para medicamentos já aprovados, resultando em uma significativa redução dos custos e do tempo necessário para o desenvolvimento. Além disso, pode haver informações sobre o medicamento disponível na literatura, como potenciais alvos moleculares, perfis de segurança e eficácia, e características farmacocinéticas e farmacodinâmicas (PANDEY et al., 2022).

Ademais, sabe-se que a dificuldade para o combate do *T. cruzi* vai além de barreiras bioquímicas, existem também barreiras culturais e socio-econômicas. Em um estudo norte americano, um grupo de pesquisadores questionou imigrantes latinos quanto a seus conhecimentos e sua abordagem da doença de Chagas. A grande maioria dos imigrantes não conhecia a doença e não estava motivada a fazer o teste diagnóstico para a enfermidade. A falta de seguro de saúde e a perda de tempo de trabalho foram as principais barreiras econômicas para o acesso ao atendimento médico, com os participantes só procurando atendimento médico convencional para sintomas graves (MILLS, 2020).

Para finalizar, apesar dos avanços na busca por medicamentos para Doenças Negligenciadas (DTNs), o cenário ainda é desafiador. Das 17 doenças classificadas como negligenciadas pela OMS, a maioria delas ainda carece de tratamentos quimioterápicos adequados. Dessa forma, é essencial que os governos das populações afetadas por essas DTNs intensifiquem seus investimentos nos esforços para descobrir novos medicamentos e reposicionar fármacos. Da mesma forma, as indústrias farmacêuticas precisam direcionar suas atenções para combater essas doenças que atingem aproximadamente 15% da população mundial (SANTOS et al., 2020).

Tabela 1 - Avaliação da atividade dos derivados benzodiazepínicos sobre formas epimastigotas de *T. cruzi* e células LLC-MK2. O Índice de Seletividade é calculado como CC_{50}/CI_{50} .

	Epimastigota	LLC-MK2	
Composto	$CI_{50} \mu M mL^{-1}$	$CC_{50} \mu M mL^{-1}$	Índice de seletividade (IS)
1A	>200	$252,33 \pm 20,77$	<1
1B	$144,14 \pm 60,60$	$372,3 \pm 16,64$	2,58

1G	>200	503,02±60,18	<2
1I	>200	266,37±37,65	<1
1P	>200	227,46±31,75	<1
1Q	>200	327,42±37,49	<1

CONCLUSÕES

Embora os compostos não tenham mostrado os efeitos antiparasitários e seletividade desejados, o experimento contribui para a compreensão mais ampla do desenvolvimento de medicamentos para *Trypanosoma cruzi*, ao mesmo tempo que ressalta os desafios existente no desenvolvimento de medicamentos antiparasitários.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Fundação Araucária pelo financiamento do projeto PIBIC; ao professor Dr. Celso Vataru Nakamura, ao Ms. Luis Henrique Dalbello Yamashita por todo apoio recebido.

REFERÊNCIAS

INTEGRATING NEGLECTED TROPICAL DISEASES INTO GLOBAL HEALTH AND DEVELOPMENT FOURTH WHO report on neglected tropical diseases. [s.l.: s.n.], 2017.

KRATZ, J. M. Drug discovery for chagas disease: A viewpoint. **Acta Tropica**, v. 198, p. 105107, out. 2019.

MILLS, R. M. Chagas Disease: Epidemiology and Barriers to Treatment. **The American Journal of Medicine**, v. 133, n. 11, p. 1262–1265, nov. 2020.

PANDEY, R. P. et al. Drug Repurposing in Chagas Disease: Chloroquine Potentiates Benznidazole Activity against *Trypanosoma cruzi* *In Vitro* and *In Vivo*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 66, n. 11, 15 nov. 2022.



SANTOS, S. S. et al. Searching for drugs for Chagas disease, leishmaniasis and schistosomiasis: a review. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 55, n. 4, p. 105906, abr. 2020.