AVALIAÇÃO DE COMPLEXOS DE ZINCO COM BASES DE SCHIFF COMO NOVAS ALTERNATIVAS TERAPÊUTICAS CONTRA A DOENÇA DE CHAGAS

Julia Gaspar de Moraes (PIC/UEM), Francielle Pelegrin Garcia (Orientador). E mail: fpgarcia@uem.br.

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

Ciências Biológicas, Parasitologia, Protozoologia de Parasitos. Palavras-chave: Doença de Chagas. *Trypanosoma cruzi*. Complexos metálicos.

RESUMO

A doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, permanece como um importante problema de saúde pública global. O tratamento atualmente disponível limita-se ao benzonidazol e nifurtimox, fármacos com eficácia reduzida na fase crônica e elevada toxicidade. Nesse contexto, dentre as moléculas sintéticas promissoras, se destaca os complexos metálicos com bases de Schiff, que têm despertado interesse devido às suas reconhecidas propriedades biológicas. Assim, o presente estudo propõe a avaliação da atividade biológica e o possível mecanismo de ação in vitro de complexos de zinco com bases de Schiff frente ao *T. cruzi*. Para isso, formas epimastigotas foram expostas aos compostos e avaliadas pelos métodos de XTT e MTT. Dentre os compostos, o YS176 apresentou melhor atividade antiproliferativa (CI_{50} = 20,3 ± 3,9 µM) e seletividade para o parasito (IS = 2,1). Adicionalmente, para investigar os mecanismos de ação in vitro do YS176, foram realizados ensaios para a avaliação de espécies reativas de oxigênio, lipoperoxidação, potencial de membrana mitocondrial e níveis de ATP, por espectrofluorimetria. Como resultado, o composto YS176 não induziu aumento significativo nos níveis de ERO em epimastigotas, mas promoveu lipoperoxidação, alteração no potencial de membrana mitocondrial e redução nos níveis de ATP. Esses achados destacam o potencial de complexos metálicos com bases de Schiff, evidenciando o YS176 como possível candidato antichagásico, apesar de ser necessário mais estudos para compreender melhor seu mecanismo de ação.

INTRODUÇÃO

A tripanossomíase americana, popularmente conhecida como Doença de Chagas, é uma doença tropical negligenciada causada por um parasita protozoário, o *Trypanosoma cruzi*, que é transmitido principalmente durante o repasto sanguíneo do inseto vetor (triatomíneo) infectado com tripomastigotas. (RIBEIRO FRANCO, 2023). A partir da infecção, a doença pode progredir para formas graves, de caráter cardíaco ou digestivo. Os fármacos atualmente disponíveis para o tratamento, benznidazol e nifurtimox, apresentam toxicidade elevada e eficácia reduzida durante a fase crônica da doença (TAYAMA, 2023). Diante da carência de medicamentos verdadeiramente eficientes, torna-se essencial a busca por novos compostos capazes de proporcionar maior qualidade de vida e possibilidade de cura aos

pacientes acometidos. Nesse cenário, destacam-se os complexos metálicos com bases de Schiff, que vêm demonstrando amplo espectro de potenciais aplicações biológicas, incluindo atividades antiviral, antibacteriana, antifúngica, anticancerígena, analgésica e antitumoral (KUMAR, 2023). Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antiprotozoária de complexos metálicos de zinco frente a formas epimastigotas de *T. cruzi*.

MATERIAIS E MÉTODOS

1.1 Compostos
Os complexos de zinco com bases de Schiff foram sintetizados pelo grupo do Prof. Dr. Davi Back (UFSM) e cedidos ao Laboratório de Inovação Tecnológica no Desenvolvimento de Fármacos e Cosméticos da UEM para os ensaios biológicos.

1.2 Cultivo de Células
Formas epimastigotas de *T. cruzi* (cepa Y) foram cultivadas em meio LIT com 10% SFB a 28 °C. Células LLC-MK2 foram mantidas em meio DMEM com 10% SFB a 37 °C, 5% CO_2 .

1.3 Determinação da Atividade Antiproliferativa e Citotoxicidade
Epimastigotas (10^7 parasitos/mL) foram expostos aos compostos por 96 h e revelados com XTT/PMS (450 nm), determinando-se CI_{50} /IC_{90} por regressão linear. Células LLCMK2 ($2{,}5\times10^5$ células/mL) foram tratadas por 96 h e reveladas com MTT (570 nm), determinando-se a CC_{50} por regressão não-linear.

1.4 Estudo dos Mecanismos de ação
Os níveis de ATP intracelular foram determinados em parasitos tratados com a CI_{50} por 24 h, utilizando o reagente CellTiter-Glo, com leitura de luminescência em leitor de microplacas (VICTOR X3, PERKINELMER). O KNS (100 µM) foi utilizado como controle positivo. A detecção de ERO totais foi realizada em parasitos tratados com a CI_{50} por 24 h, incubados com H_2DCFDA (10 µg/mL) por 1 h a 25 °C, com leitura em espectrofluorímetro (488/530 nm). H_2O_2 (250 µM ou 1 mM) foi utilizado como controle positivo. Peroxidação lipídica foi avaliada em parasitos tratados com a CI_{50} por 24 h, incubados com DPPP (50 µM) por 15 min à temperatura ambiente, com leitura em espectrofluorímetro (355/460 nm). H_2O_2 (1 mM) foi utilizado como controle positivo. O potencial de membrana mitocondrial foi avaliado em parasitos tratados com a CI_{50} e 2xCI_{50} por 24 h, incubados com Rodamina 123 (5 µg mL^{-1}) por 15 min a 37 °C, com leitura em espectrofluorímetro (VICTOR X3, PERKINELMER). O CCCP (100 µM) foi utilizado como controle positivo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os compostos sintetizados e avaliados (Tab. 1), se destacou o composto YS176, que teve maior atividade e seletividade contra formas epimastigotas de *T. cruzi*. Apesar de não ter o mesmo desempenho que a substância de referência, o benzonidazol, o composto se mostrou ativo em baixas concentrações. Assim, ele foi selecionado para a investigação dos possíveis mecanismos de ação.

As formas epimastigotas de *T. cruzi* cepa Y não demonstraram ser afetadas por estresse oxidativo, ao menos em relação aos níveis de ROS totais (Fig. 1A). Em contraste, os níveis de peroxidação lipídica aumentaram de forma significativa, de maneira semelhante ao controle positivo. Esse resultado sugere que há envolvimento de estresse oxidativo no processo, porém este não parece ser mediado por espécies reativas de oxigênio (Fig. 1B). Em relação ao potencial de membrana mitocondrial, observou-se uma pequena alteração na concentração de 20,3 µM (Fig. 1C). Por fim, a avaliação da produção de ATP indicou redução significativa nas duas concentrações utilizadas, de forma dose dependente (Fig. 1D).

Tabela 1. Concentração citotóxica em células LLCMK2 e concentração inibitória em formas epimastigotas de *T. cruzi*

Compostos	CI_{50} *T. cruzi* (µM)	CC_{50} LLCMK2 (µM)	IS (CC_{50}/IC_{50})
YS175	**24.3 ± 2.4**	**45.6 ± 1.5**	**1.9**
YS176	20.3 ± 3.9	43.9 ± 3.5	2.2

SI, índice de seletividade; CC50, concentração citotóxica de 50%; IC50, concentração inibitória de 50%

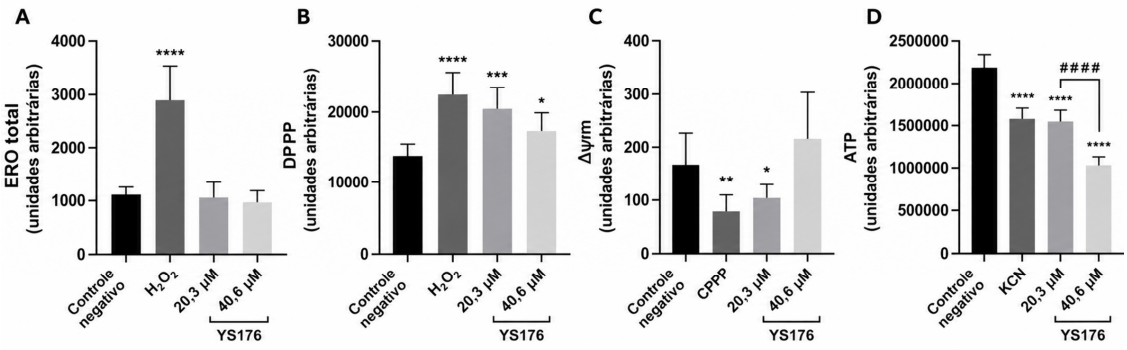


Figura 1 – Investigação dos mecanismos de ação do composto YS176 frente a epimastigotas de *T.cruzi*

CONCLUSÕES

O composto, YS176, demonstrou atividade e seletividade contra *T. cruzi*, envolvendo disfunção energética e estresse oxidativo por via não clássica, configurando-se como candidato promissor à terapia antichagásica.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Universidade Estadual de Maringá pela infraestrutura disponibilizada para a realização deste estudo.

REFERÊNCIAS

KUMAR, R. et al. Recent advances in synthesis of heterocyclic Schiff base transition metal complexes and their antimicrobial activities, especially antibacterial and antifungal. Journal of Molecular Structure, [S. l.], v. 1294, p. 136346, 2023.

RIBEIRO FRANCO, P. I. et al. Cancer and Trypanosoma cruzi: tumor induction or protection? Biochimie, Paris, v. 207, p. 113–121, abr. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biochi.2022.10.019. Acesso em: 25 maio 2025.

TAYAMA, Y. et al. Anti-Trypanosoma cruzi activity of Coptis rhizome extract and its constituents. Tropical Medicine and Health, [S. l.], v. 51, n. 1, p. 12, 1 mar. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1186/S41182-023-00502-2. Acesso em: 25 maio 2025.