AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE TIOSSEMICARBAZONAS DERIVADAS DA ISONIAZIDA EM LINHAGENS CELULARES

Lorrana Giovana de Souza Almeida (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Leticia Julia Faria, Beatriz Ramos Cordeiro, Camilla de Lima Ruffini, Katiany Rizzieri Caleffi Ferracioli, Fabio Vandresen, Regiane Bertin de Lima Scodro (Orientadora). E-mail: rblscodro@uem.br

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas, Microbiologia

Palavras-chave: *Mycobacterium tuberculosis;* citotoxicidade; hemólise.

RESUMO

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa transmitida por bactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) e se destaca por sua alta capacidade de transmissão, resultando em impactos significativos na saúde global. As tiossemicarbazonas são compostos de considerável interesse científico, uma vez que possuem relevantes propriedades biológicas e químicas, tais como potencial antibacteriano, antiviral, antiprotozoário, dentre outros. O objetivo do trabalho foi avaliar a citotoxicidade de cinco tiossemicarbazonas em macrófagos da linhagem J774A.1 e efeitos hemolíticos em eritrócitos de carneiro com intuito de verificar a segurança desses compostos como possíveis alternativas para o tratamento da tuberculose. O composto TSC5 se destacou pelo menor valor da MIC (3,90 mg/mL) e maior IS (7,41) e baixa atividade hemolítica. Dessa forma, o TSC5 constitui um candidato de interesse para estudos posteriores, incluindo a investigação de sua atividade frente a *Mtb*, mecanismos de ação e avaliação de segurança em modelos experimentais mais abrangentes.

INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa, causada por bactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, que afeta principalmente os pulmões, mas pode atingir outros órgãos e/ou sistemas, sendo os sintomas mais presentes a tosse por três semanas ou mais, febre vespertina, suor noturno e emagrecimento (BRASIL, 2021). O cenário atual da doença representa um grande problema de saúde pública pois é uma das doenças infecciosas mais letais do mundo, causando mais de 1,2 milhão de mortes e afetando cerca de 10,7 milhões de pessoas no último ano, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) (OPAS, 2025).

O tratamento da tuberculose revela certos desafios, tem duração de no mínimo 6 meses, é poliquimioterápico, combinando 4 principais fármacos: rifampicina, isoniazida pirazinamida e etambutol (BRASIL, 2021). O tratamento

prolongado da TB e os efeitos colaterais que acometem o paciente agravam o problema da adesão aos medicamentos devido aos efeitos colaterais causados por eles, levando ao abandono do tratamento, o que acarreta na resistência do bacilo. Além disso, as micobactérias apresentam uma parede celular rica em lipídios, o que lhe confere baixa permeabilidade, assim reduzindo a efetividade da maioria dos antibióticos disponíveis atualmente (BRASIL, 2019).

Tendo em vista o crescente número de casos e dificuldade do tratamento, é necessária a pesquisa por novas substâncias que apresentam atividade antituberculose e que sejam seguras para uso, por isso esta pesquisa tem como objetivo avaliar a citotoxicidade de tiossemicarbazonas derivadas da isoniazida em macrófagos de linhagens J774A.1 e em hemácias de carneiro.

MATERIAIS E MÉTODOS

Inicialmente, foi determinada a concentração inibitória mínima (CIM) dos compostos pelo método *Resazurin Microtiter Assay Plate* (REMA). As placas foram incubadas a 37 °C por três dias, após os quais foram adicionados 30 µL de solução de resazurina a 0,01%. Em seguida, as placas foram reincubadas por mais 24 horas. A CIM foi definida como a menor concentração do composto capaz de inibir a mudança de coloração da resazurina, indicando ausência de crescimento bacteriano (CASTILHO *et al*., 2015).

Para o ensaio de citotoxicidade em macrófagos J774A.1 foi preparado uma suspensão celular na concentração de 5×10^5 células/mL que foi adicionada na placa de 96 poços e incubada por 24 horas. Após esse período, foram adicionadas diferentes concentrações dos compostos avaliados e as placas foram reincubadas por mais 24 horas. Em seguida, foi adicionado o 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT). A viabilidade celular foi determinada com base na capacidade das células viáveis de metabolizar o MTT, formando cristais de formazan. Após a solubilização dos cristais com dimetilsulfóxido (DMSO), foi realizada a leitura em fluorímetro a 550 nm.

A atividade hemolítica dos compostos também foi avaliada utilizando eritrócitos de carneiro. As hemácias foram distribuídas em placas de 96 poços e expostas a diferentes concentrações dos compostos, sendo posteriormente incubadas a 37 °C por quatro horas. Após a incubação, as placas foram centrifugadas e o sobrenadante foi coletado para determinação da hemólise por leitura espectrofotométrica a 550 nm. A porcentagem de hemólise foi calculada em relação aos controles utilizados no ensaio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A CIM foi avaliada frente à cepa $H_{37}Rv$ de *Mtb*. Os compostos TSC1, TSC2 e TSC3 apresentaram CIM de 62,5 µg/mL, enquanto a TSC4 apresentou CIM de 15 µg/mL. A TSC5 destacou-se entre os compostos avaliados por apresentar a maior atividade antimicobacteriana frente à cepa $H_{37}Rv$, com CIM de 3,9 µg/mL.

Para a avaliação da citotoxicidade, foram determinados os valores da concentração citotóxica 50% (CC_{50}), correspondente à concentração do composto capaz de promover efeito citotóxico em 50% das células avaliadas. A partir desses valores e das respectivas CIMs, foi calculado o índice de seletividade (IS) dos compostos frente à cepa *M. tuberculosis* $H_{37}Rv$. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Avaliação citotóxica de derivados de isoniazida frente a linhagem celular J774A.1

Substância	CIM para cepa padrão *M. tuberculosis* $H_{37}R_v$ µg/mL	Média CC_{50} µg/mL	IS
TSC-1	62,5	57,14	0,91
TSC-2	62,5	83,48	2,67
TSC-3	62,5	84,42	0,13
TSC-4	15	94,25	6,28
TSC-5	3,90	28,92	7,41

CIM: Concentração inibitória mínima; CC_{50}: Concentração Citotóxica 50%; IS: Índice de Seletividade

Em relação à citotoxicidade, valores elevados de CC_{50} indicam que são necessárias maiores concentrações do composto para promover efeito citotóxico em 50% das células, sugerindo menor citotoxicidade. Nesse sentido, a TSC-4 apresentou o maior valor de CC_{50}, enquanto a TSC-5 apresentou o menor. O índice de seletividade (IS) permite relacionar a atividade antimicobacteriana à citotoxicidade dos compostos, sendo valores mais elevados indicativos de maior seletividade. Os compostos TSC-1, TSC-2 e TSC-3 apresentaram IS de 0,91, 2,67 e 0,13, respectivamente, indicando baixa seletividade. Em contrapartida, a TSC-4 apresentou IS de 6,28, enquanto a TSC-5 apresentou o maior índice de seletividade (7,41). Dessa forma, TSC-4 e TSC-5 apresentaram os perfis mais promissores entre os compostos avaliados, com destaque para a TSC-5, que associou a menor CIM (3,9 µg/mL) ao maior IS. Esses resultados indicam que a TSC-5 apresenta maior potencial antimicobacteriano e uma relação mais favorável entre atividade frente ao *M. tuberculosis* $H_{37}Rv$ e citotoxicidade em células J774A.1.

Quanto à atividade hemolítica, todos os compostos avaliados apresentaram ausência de hemólise nas concentrações iguais ou inferiores a 64 µg/mL. A TSC-2 apresentou a maior atividade hemolítica entre os compostos, com 16,18% de hemólise a 128 µg/mL e 23,23% a 256 µg/mL. As TSC-3 e TSC-5 apresentaram baixa atividade hemolítica, observada apenas nas maiores concentrações avaliadas, correspondendo a 7,92% e 8,74%, respectivamente. Esses resultados indicam baixa atividade hemolítica dos compostos, sendo observado que, na maior dose testada, não houve hemólise de 50%.

CONCLUSÕES

A TSC-5 destacou-se por apresentar os melhores resultados, demonstrando uma relação favorável entre atividade antimicobacteriana e a citotoxicidade. Esses achados ressaltam o potencial da TSC-5 como candidato para estudos futuros direcionados ao desenvolvimento de novos agentes terapêuticos contra a tuberculose.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Secretaria da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior (SETI) e ao apoio do Laboratório de Bacteriologia Médica do LEPAC, da Universidade Estadual de Maringá.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. **Tuberculose**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, [s.d.]. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/t/tuberculose. Acesso em: 27 ago. 2026.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil**. 2. ed. atual. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2019. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/tuberculose/manual-de-recomendacoes-e-controle-da-tuberculose-no-brasil-2a-ed.pdf. Acesso em: 27 ago. 2026.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Avanços globais na resposta à tuberculose estão ameaçados por desafios no financiamento**. Brasília, DF: OPAS, 12 nov. 2025. Disponível em: https://www.paho.org/pt/noticias/12-11-2025-avancos-globais-na-resposta-tuberculose-estao-ameacados-por-desafios-no. Acesso em: 27 ago. 2026.

CASTILHO, A. L. *et al*. Detection of drug susceptibility in rapidly growing mycobacteria by resazurin broth microdilution assay. **Journal of microbiological methods**, v. 111, 119-121, 2015. DOI: 10.1016/j.mimet.2015.02.007. Disponível https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167701215000615?via%3Dihub. Acesso em: 29 abr. 2026.