



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



ANÁLISE DO EFEITO CITOTÓXICO DE COMPOSTOS DE USNATO DE SÓDIO COMPLEXADOS A ÍONS LANTANÍDEOS

PEDRO HENRIQUE NANTES SIMAL

CAMPO GRANDE - MS

2025

PEDRO HENRIQUE NANTES SIMAL

**ANÁLISE DO EFEITO CITOTÓXICO DE COMPOSTOS DE USNATO DE SÓDIO
COMPLEXADOS A ÍONS LANTANÍDEOS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado para graduação no curso de
Ciência Biológicas Bacharelado, da
Universidade Federal de Mato Grosso do
Sul - UFMS.

Orientadora: Profa. Dra. Alda Maria
Teixeira Ferreira.

CAMPO GRANDE

2025

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer à minha família, principalmente à minha mãe, Sabrina, e ao meu padrasto, Lauro, por todo incentivo e apoio durante minha graduação. Aos meus avós, por sempre apoiarem minhas escolhas e torcerem por mim — sou muito grato por eles compartilharem dessa conquista comigo. Também queria homenagear meus tios, que infelizmente não estão mais presentes na minha vida, mas sempre me incentivaram e apoiaram, e foram como pais para mim. Apesar de terem partido recentemente, sei que estariam orgulhosos desse momento e dessa minha conquista.

À minha namorada, futura noiva e melhor amiga, Maria Gabriella Marques Zacarias, que sempre esteve ao meu lado e me ajudou em todos os momentos difíceis durante esse período de graduação e escrita científica, sempre torcendo e acreditando em mim — meu porto seguro.

À minha orientadora, Profa. Dra. Alda Maria Teixeira Ferreira, só tenho a agradecer, não só por acreditar e confiar em mim, mas por toda oportunidade que me proporcionou e pelo profissional que me fez ser. Sou eternamente grato por tudo que ela fez por mim e pelo carinho e paciência em momentos difíceis.

À um grande professor, no qual fui monitor de parasitologia, Prof. Dr. Vagner Ricardo da Silva Fiuza, que me passou grandes ensinamentos e lições durante esse período de monitoria, assim como me orientou e auxiliou durante o período de finalização da graduação. Meus sinceros agradecimentos e admiração.

Ao LabImunoBio, pelo acolhimento desde o início e por proporcionarem os recursos para a realização deste trabalho. Em especial às professoras Inês Aparecida Tozetti e Cacilda Tezelli Junqueira Padovani, pelo carinho e oportunidades de aprendizado. À técnica Carla Braga Leite, Carlos Miguel de Freitas Simões, Anny Beatriz da Silva e Kenia Maria Rezende Silva, por toda parceria e amizade durante esse tempo de estágio. Ao Daniel Camilo Fonseca Cavalcanti, que não só foi meu coorientador durante todo seu período de mestrado, mas também me ensinou quase tudo que sei hoje em dia, além de ter se tornado um grande amigo.

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), pelo fomento e infraestrutura.

Agradeço a todos os professores, servidores, colegas, amigos e pessoas que participaram dessa trajetória, me apoiaram e contribuíram de algum modo

durante esses anos. Principalmente aos amigos que fiz durante esse período de graduação: Eduardo dos Santos Nascimento, Bruno Rosa Sorrilha e Pedro Henrique Soares Santini, meus sinceros agradecimentos; e aqueles que levo desde minha infância: Daniel Sant'ana; Gabriel Muelas; João Vitor Mombrum; Lucas Bulhões Pereira Jara; Luís Felipe Ferreira Marques; Maria Eduarda Marcondes; Matheus Martinez; Nicolas dos Santos Wagner.

RESUMO

A doença de Chagas, patologia causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, é endêmica em 21 países americanos. No entanto, benznidazol e nifurtimox são os únicos fármacos disponíveis para o tratamento etiológico desta enfermidade. Diante disso, a pesquisa por novos fármacos vem sendo intensificada, visando a busca por alternativas terapêuticas menos tóxicas. Nesse contexto, os objetivos deste trabalho foram avaliar o efeito citotóxico e as alterações morfológicas em células Vero submetidas ao tratamento com os referidos compostos, com vistas a encontrar potenciais candidatos anti-*T.cruzi* menos tóxicos ao homem. Assim sendo, sete compostos obtidos pela complexação do usnato de sódio aos íons lantanídeos foram selecionados para este estudo. As células foram expostas à diferentes concentrações por 24 horas. A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio MTT, e o valor de $CC_{50}/24h$ foi obtido por análise de regressão não linear, com o auxílio do software GraphPad Prism 7.04. As alterações morfológicas celulares foram observadas por microscopia óptica, sob coloração de Giemsa. Como resultado, a $CC_{50}/24h$ dos complexos variam de 18,23 até 55,42 μ M. A partir da análise das lâminas das células tratadas com a CC_{50} de cada composto, foi possível observar alteração morfológica nos compostos C3, C4, C6 e C7. Os resultados obtidos neste estudo demonstram que todos os sete compostos possuem um potencial efeito citotóxico. No entanto, a avaliação de seu efeito sobre *T. cruzi* e do índice de seletividade sobre células Vero poderão direcionar as potencialidades para ensaios posteriores.

Palavras-chave: Células Vero, citotoxicidade, Doença de Chagas, MTT.

ABSTRACT

Chagas disease, a pathology caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, is endemic in 21 American countries. However, benznidazole and nifurtimox remain the only drugs available for its etiological treatment. Consequently, the search for new drugs has intensified, aiming to identify less toxic therapeutic alternatives. In this context, the objective of this study was to evaluate the cytotoxic effects and morphological alterations in Vero cells treated with these compounds, with the goal of identifying potential anti-*T. cruzi* candidates that are less toxic to humans. Seven compounds obtained by complexation of sodium usnate with lanthanide ions were selected. The cells were exposed to different concentrations for 24 hours, and cell viability was assessed using the MTT assay. The 24-hour CC₅₀ values were determined by nonlinear regression analysis using GraphPad Prism 7.04. Morphological changes were assessed by optical microscopy after Giemsa staining. The CC₅₀/24h values of the complexes ranged from 18.23 to 55.42 µM, and morphological alterations were observed in cells treated with compounds C3, C4, C6, and C7. The results show that all seven compounds exhibit potential cytotoxic effects; however, further evaluation of their activity against *T. cruzi* and determination of their selectivity index in Vero cells may help guide their potential for future studies.

Key-Words: Chagas disease, cytotoxic effect, MTT, Vero cells.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Forma evolutiva, tripomastigota, de Trypanosoma cruzi.....	12
Figura 02 - Forma evolutiva, epimastigota, de Trypanosoma cruzi.....	13
Figura 03 - Forma evolutiva, amastigota, de Trypanosoma cruzi.....	14
Figura 04 - Ciclo evolutivo de Trypanosoma cruzi.....	16
Figura 05 - Fármacos utilizados no tratamento da doença de Chagas.....	20
Figura 06 - Síntese do usnato de sódio e seus complexados.....	22
Figura 07 - Células não tratadas com os compostos (Controle).....	32
Figura 08 - Células tratadas com o composto 1 ($\text{NaL}_2 \cdot 2,5 \text{H}_2\text{O}$) e composto 2 ($\text{SmL}_3(\text{H}_2\text{O})_4$).....	33
Figura 09 - Células tratadas com o composto 3 ($\text{GdL}_3(\text{H}_2\text{O})_2$).....	34
Figura 10 - Células tratadas com o composto 4 ($\text{EuL}_3(\text{H}_2\text{O})_3$).....	35
Figura 11 - Células tratadas com o composto 5 ($\text{NdL}_3(\text{H}_2\text{O})_3$).....	36
Figura 12 - Células tratadas com o composto 6 ($\text{TbL}_3(\text{H}_2\text{O})_2$).....	37
Figura 13 - Células tratadas com o composto 7 ($\text{LaL}_3(\text{H}_2\text{O})_3$).....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentração Citotóxica de 50% dos fármacos sobre células Vero.....	29
--	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Compostos selecionados para teste sobre células Vero.....	26
Quadro 2 - Concentração dos compostos selecionados para teste sobre células Vero.....	27

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	11
2.1 Trypanosoma cruzi.....	11
2.2 Doença de Chagas.....	16
2.3 Epidemiologia.....	18
2.4 Tratamento.....	19
2.5 Usnato de sódio e complexados.....	21
3. OBJETIVOS.....	24
4. METODOLOGIA.....	25
4.1 Tipo de estudo:.....	25
4.2 Fármacos Seleccionados.....	25
4.3 Cultivos de Células Vero.....	26
4.4 Ensaio de Citotoxicidade.....	26
4.5 Montagem de Lâminas e Análise da Alteração Morfológica das Células Vero.....	27
4.6 Análise Estatística.....	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5.1 Determinação de CC ₅₀ /24h.....	29
5.2 Análise da morfologia das células Vero tratadas com os sete compostos.....	31
6. CONCLUSÃO.....	39
7. REFERÊNCIAS.....	40

1. INTRODUÇÃO

As doenças tropicais negligenciadas (DTNs), reconhecidas pela Organização Mundial da Saúde (OMS), acometem quase 2 bilhões de pessoas no mundo, com ocorrência de 200 mil óbitos anualmente. Diante do apresentado, essas doenças são consideradas as principais causadoras de problemas de saúde, sociais e econômicos, principalmente para países em desenvolvimento (Brasil, 2024a; OMS, 2025).

Entre as DTNs, a doença de Chagas (DC) ou Tripanossomíase Americana é uma das enfermidades de maior distribuição no continente americano, tendo como agente etiológico o protozoário *Trypanosoma cruzi*, membro da família Trypanosomatidae, ordem Kinetoplastida (Vinhaes e Dias, 2000; Dias *et al.*, 2016).

Para o tratamento dessa enfermidade, estão disponíveis dois fármacos: benznidazol e o nifurtimox. No Brasil, o fármaco de primeira escolha é o benznidazol, sendo o outro recomendado em casos de intolerância e, ou resistência ao primeiro (Dias *et al.*, 2016). No entanto, ambos possuem diversos efeitos adversos e eficácia de 80% na fase aguda desta doença, sendo pouco eficazes no tratamento da fase crônica dessa doença. Dessa forma, a busca por novos fármacos vem sendo intensificada, visando alternativas terapêuticas (Brindha; Balamurali; Chanda, 2021).

Diante disso, uma série de moléculas complexadas foram desenvolvidas pelo Grupo de Pesquisa do Laboratório de Química de superfície e moléculas bioativas do Instituto de Química da UFMS, sendo elas constituídas de usnato de sódio e associadas à íons lantanídeos, com a fórmula geral: $\text{Ln}(\text{Usn})_3(\text{H}_2\text{O})_n$ (Nunes *et al.*, 2020). Estes complexos demonstraram alta atividade *in vitro* contra as formas amastigota e promastigota de *Leishmania amazonensis* (Silva *et al.*, 2024).

Sendo assim, o principal objetivo deste trabalho foi avaliar a citotoxicidade e as alterações morfológicas em células Vero submetidas ao tratamento com compostos de usnato de sódio complexados a íons lantanídeos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

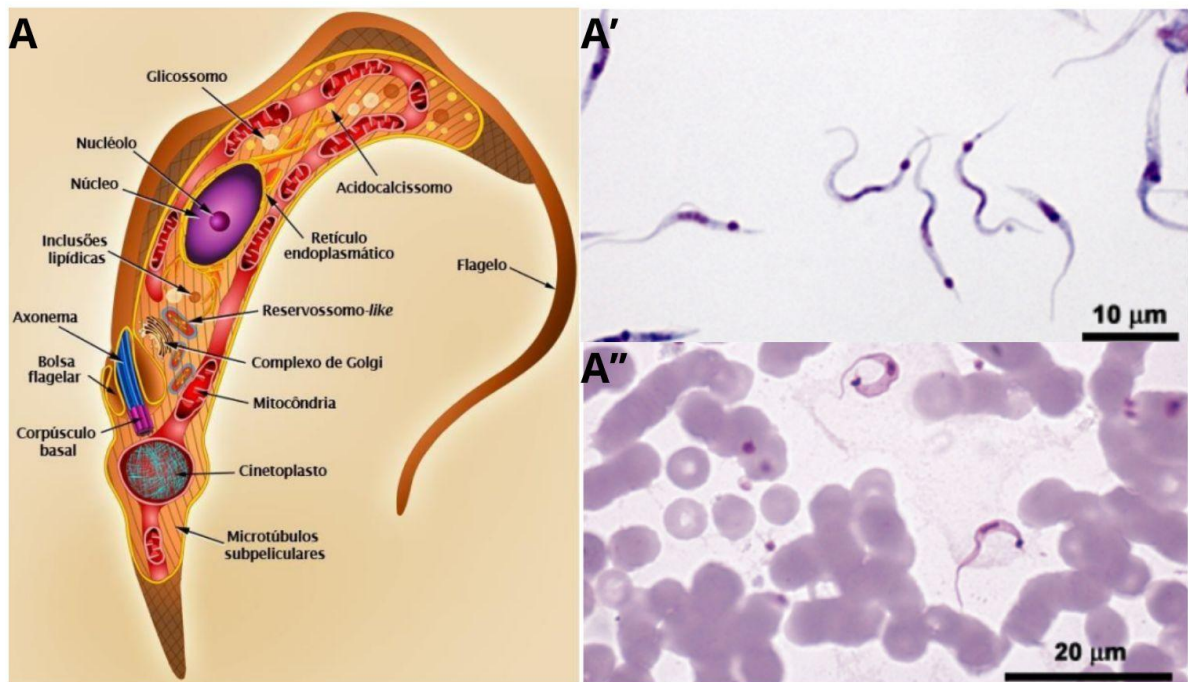
2.1 *Trypanosoma cruzi*

O *Trypanosoma cruzi* é um protozoário flagelado pertencente à ordem Kinetoplastida, membro da família Trypanosomatidae, no qual observa-se como principais características dessa ordem a presença do cinetoplasto, região específica da mitocôndria onde se concentra o DNA mitocondrial (cDNA - DNA do cinetoplasto), e flagelo único. Além disso, *T. cruzi* é marcado por 3 formas evolutivas, e reprodução por fissão binária (De Souza, 2002; Zuma; Barrias; Souza, 2021).

Essas formas podem ser diferenciadas, principalmente, pela posição do cinetoplasto em relação ao núcleo, o que indica em qual fase do ciclo de vida o parasito se encontra (De Souza, 2002). Sendo a forma tripomastigota, com potencial infectivo, presente no hospedeiro invertebrado e vertebrado; as formas epimastigotas e amastigotas, presentes no hospedeiro invertebrado e vertebrado respectivamente, com potencial de replicação (De Souza, 2002; Fiocruz, 2017a).

Sendo assim, a forma tripomastigota pode ser encontrada nas fezes e urina (dejetos) do vetor, denominada tripomastigota metacíclica, e, também, presente na corrente sanguínea do hospedeiro vertebrado, considerada tripomastigota sanguínea. Ambas marcadas pelo cinetoplasto posterior ao núcleo, formato alongado, flagelo visível e acompanhado de uma membrana ondulante, como visto na figura 01 (De Souza, 2002; Fiocruz, 2017a). De acordo com a literatura, dependendo da fase do ciclo de vida em que se encontram, os parasitas podem apresentar pequenas variações morfológicas adicionais às características principais, o que auxilia na identificação do estágio e do tipo de hospedeiro envolvido (De Souza, 2008).

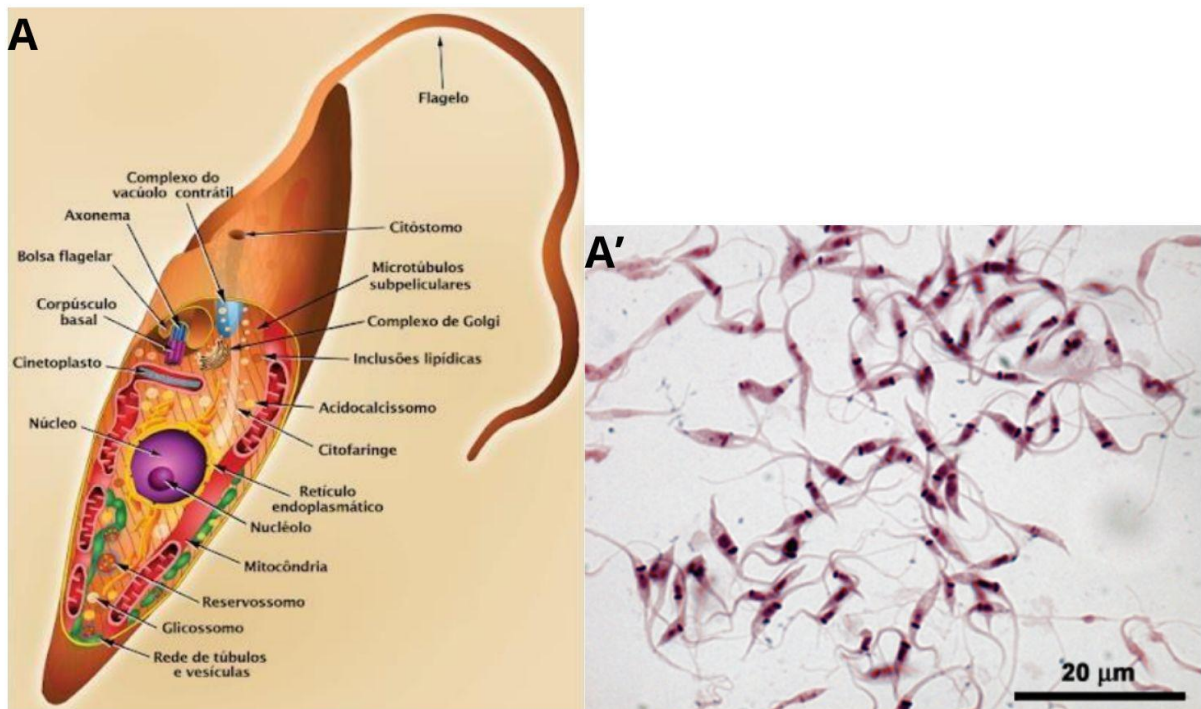
Figura 01 - Forma evolutiva, tripomastigota, de *Trypanosoma cruzi*.



Legenda: Em (A) representação da forma infectante do parasito. (A') Tripomastigotas metacíclicos, corados com Giemsa, em aumento de 1.000x. (A'') Tripomastigotas sanguíneos observados por microscopia óptica, corados com Giemsa, em aumento de 1.000x.
 Fonte: Teixeira *et al* (2012); Fiocruz (2017a).

A forma epimastigota, vista na figura 02, apresenta formato elíptico, flagelo visível e cinetoplasto anterior ao núcleo, essas formas são replicativas, presentes no intestino médio e posterior do hospedeiro invertebrado e em culturas axênicas (*in vitro*) (De Souza, 2002; Fiocruz, 2017a).

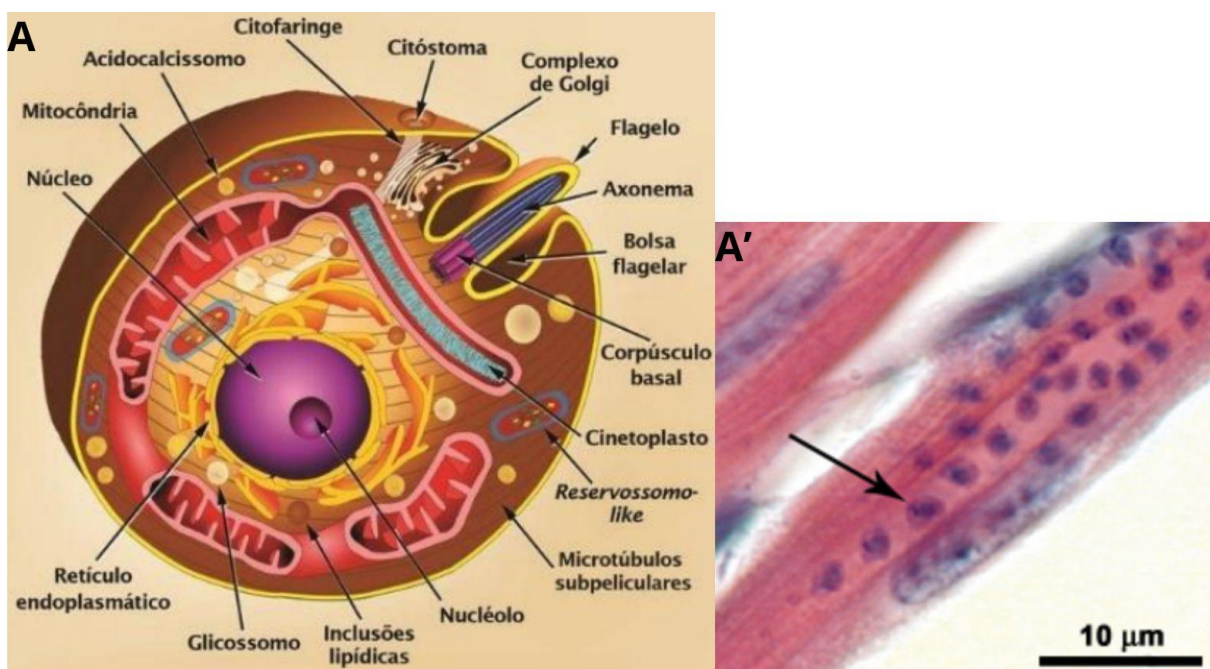
Figura 02 - Forma evolutiva, epimastigota, de *Trypanosoma cruzi*.



Legenda: Em (A) representação da forma replicativa do parasito. (A') Parasitos observados por microscopia óptica, corados com Giemsa, em aumento de 1.000x.
Fonte: Teixeira *et al* (2012); Fiocruz (2017a).

A forma amastigota, presente no interior das células do hospedeiro vertebrado, e capaz de realizar fissão binária. Caracterizada por um formato arredondado, flagelo diminuto e cinetoplasto localizado na região anterior ao núcleo, assim como evidenciado na figura 03(De Souza, 2002; Fiocruz, 2017a).

Figura 03 - Forma evolutiva, amastigota, de *Trypanosoma cruzi*.



Legenda: Em (A) representação da forma replicativa do parasito no hospedeiro. (A') Parasito apontado pela seta, localizadas em célula muscular de camundongo, observadas por microscopia óptica, corados com Giemsa, em aumento de 1.000x.

Fonte: Teixeira *et al* (2012); Fiocruz (2017a).

Tendo como ponto de origem o primeiro contato do hospedeiro vertebrado com o parasito e levando em consideração este sendo um ciclo de vida complexo e heteroxeno, isto é, com dois hospedeiros diferentes, sendo um invertebrado (triatomíneo) e outro um vertebrado - podendo ser o homem (Zuma; Barrias; Souza, 2021). Observa-se as formas tripomastigotas metacíclicas eliminadas pelo hospedeiro invertebrado, popularmente conhecido como barbeiro, sendo o início desse ciclo.

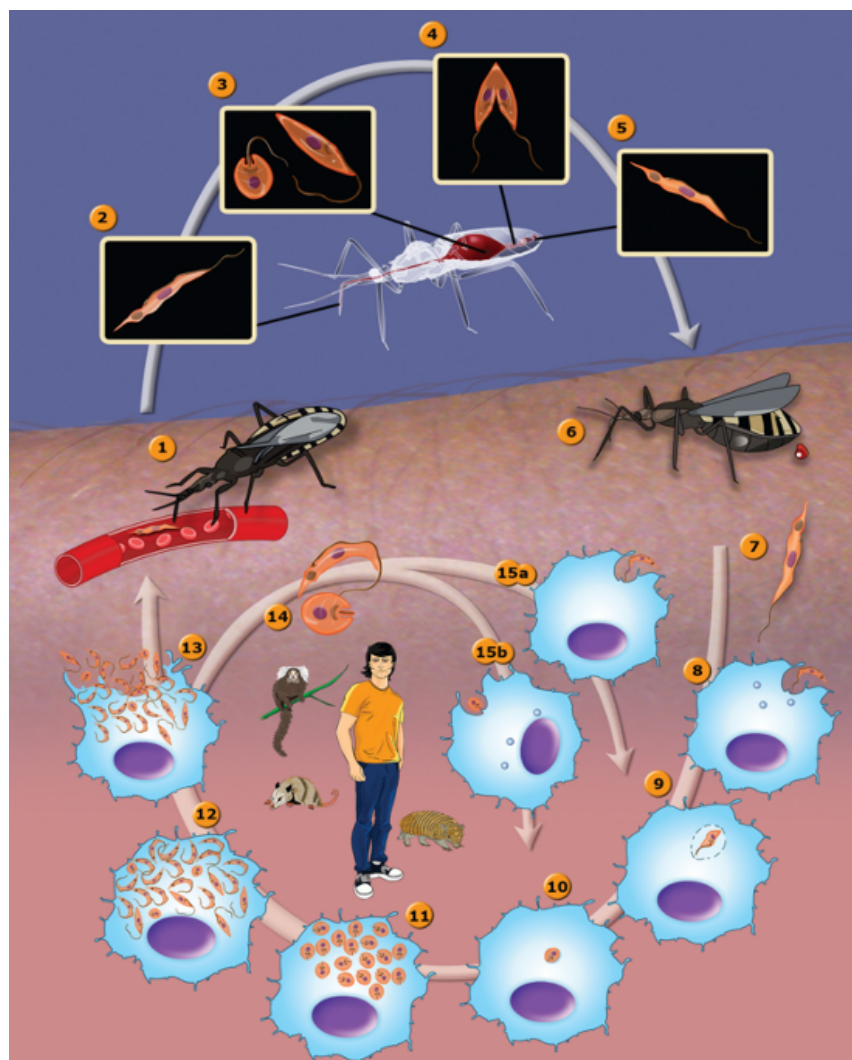
Sendo assim, ao entrarem em contato com mucosas ou regiões lesionadas da pele desses hospedeiros vertebrados, como microfissuras - ocasionadas pelo ato de coçar devido a uma reação comum acometida por causa do prurido decorrente do repasto sanguíneo do vetor-, essas formas podem invadir os primeiros tipos celulares que encontram, como macrófagos, fibroblastos ou células epiteliais, entre outros (Zuma; Barrias; Souza, 2021).

Após essa invasão, ocorre diferenciação intracelular para sua forma amastigota, onde realizam replicação por fissão binária. Quando há uma grande

quantidade de amastigotas ocorre outra diferenciação para formas tripomastigotas sanguíneas, no qual o movimento intenso do seu flagelo e a secreção de enzimas que atuam na membrana plasmática das células hospedeiras, levam ao rompimento destas células infectadas. Essas formas podem invadir novas células no local da infecção, mas também podem atingir a corrente sanguínea e alcançar todos os tecidos do hospedeiro, onde irão invadir os mais diversos tipos celulares (Zuma; Barrias; Souza, 2021).

O ciclo prossegue quando o triatomíneo, ao se alimentar do sangue de um hospedeiro infectado, ingere formas tripomastigotas presentes na corrente sanguínea, bem como algumas amastigotas. No interior do vetor, essas formas sofrem diferenciações importantes, resultando na forma epimastigota. Posteriormente, ao atingirem o reto, aderem à membrana do hospedeiro pelo flagelo e se transformam em tripomastigotas metacíclicas, formas infectantes que serão eliminadas junto às fezes do vetor, reiniciando assim o ciclo de transmissão (Zuma; Barrias; Souza, 2021).

Figura 04 - Ciclo evolutivo de *Trypanosoma cruzi*.



Legenda: Números de (1) a (6) – representam os acontecimentos no vetor; Números de (7) a (15) ocorrem no hospedeiro vertebrado. (1) Vetor durante o repasto sanguíneo ingerindo formas tripomastigotas sanguíneas. (2) Forma tripomastigota sanguínea. (3) Diferenciação de formas epimastigotas e esferomastigotas. (4) Multiplicação por fissão binária. (5) Transformação em tripomastigota metacíclica. (6) Vetor durante o repasto sanguíneo e excreção das formas infectantes. (7) Infecção do parasito em macrófagos. (8) Dentro da célula hospedeira. (9) Formação do vacúolo parasitóforo e diferenciação para forma amastigota. (10) Forma amastigota no citoplasma livre do vacúolo. (11) Processo de multiplicação. (12) Diferenciação de amastigota para tripomastigota. (13) Rompimento da célula. (14) Formas amastigotas e tripomastigotas. (15a) Forma infectante infectando macrófago, (15b) Forma amastigota infectando macrófago.

Fonte: Teixeira *et al* (2012).

2.2 Doença de Chagas

A DC é endêmica em 21 países do continente americano e estima-se que na América Latina mais de 6 milhões de indivíduos estejam infectados. Além disso, países não endêmicos passaram a registrar casos de infecção por *T. cruzi*, visto que

com a evolução da globalização e da tecnologia, movimentos migratórios tornam-se cada vez mais comuns (OPAS, 2023).

Essa enfermidade é definida por duas fases: aguda e crônica. A primeira, pode ser sintomática ou assintomática, e marcada, principalmente, pela alta parasitemia, além de poder ser marcada por manifestações específicas como o sinal de Romanã e o Chagoma de inoculação (Costa *et al.*, 2013). Já a fase crônica, evidente pela baixa parasitemia, é dividida em forma assintomática (indeterminada) - ausência de sintomas clínicos evidentes, mas sorologia positiva - e forma sintomática, no qual há sinais bem característicos por afetar os sistemas cardiovascular e digestivo, de forma isolada ou simultânea (denominada como forma mista neste caso) (Moncayo & Silveira, 2009; Nunes *et al.*, 2013).

No Brasil, quanto à transmissão do agente etiológico, a via vetorial já representou o mecanismo de transmissão de maior relevância epidemiológica no período de 1970 à 1980, correspondendo a 80% dos casos (Costa *et al.*, 2013; Fiocruz, 2017b). Os vetores do agente etiológico da doença de Chagas são insetos hematófagos pertencentes à ordem Hemiptera, subfamília Triatominae, denominados triatomíneos, conhecidos popularmente como barbeiro (Galvão, 2014; Lent & Wygodzinsky, 1979). No Brasil, existem três gêneros de maior relevância: *Triatoma* sp., *Panstrongylus* sp. e *Rhodnius* sp., sendo *Triatoma infestans* a espécie historicamente mais significativa. Isso se deve ao fato de que essa espécie possui um sistema digestório curto, o que favorece o hábito de se alimentar e defecar em um intervalo de tempo reduzido; maior prevalência desses barbeiros estarem infectados por *T. cruzi*; demonstra predileção pelo repasto sanguíneo em seres humanos. Esses fatores contribuíram para uma taxa mais elevada de transmissão vetorial, consolidando *T. infestans* como o principal vetor da doença. Portanto, isso favoreceu uma maior taxa de transmissão vetorial por parte dessa espécie, ligando ela como principal vetor da doença (Dias, 2007; Gürtler, 2009).

Posteriormente, mediante ao combate do vetor *Triatoma infestans*, a via transfusional, no Brasil e em muitos países da América Latina, foi considerada a principal via de transmissão em áreas urbanas nas décadas entre 1980 e 1990 (Costa *et al.*, 2013; Fiocruz, 2017b). No entanto, a partir de 2006, o Brasil recebeu o Certificado Internacional de interrupção à transmissão por vias vetorial (Eliminação

da transmissão pelo *Triatoma infestans*) e transfusional da doença de Chagas, isto devido a programas de controle muito bem sucedidos implantados no país a partir da década de 1980. Perante o exposto, atualmente a via oral responde pela quase totalidade dos novos casos ocorridos, concentrando principalmente na região amazônica e em especial no estado do Pará. Sendo esta, decorrente da ingestão de alimentos contendo dejetos de triatomíneos infectados, além de estar associada a casos de surtos de doença de Chagas Aguda (DCA) (Costa *et al.*, 2013; Fiocruz, 2017b).

Além disso, outras vias de infecção são consideradas, sendo elas: transplantar, vertical (ou congênita) e acidental, sendo vistas mais raras se observadas no Brasil. Quanto à transmissão vertical, ocorre primordialmente pela via transplacentária, tanto na fase aguda quanto na fase crônica da doença e pode ocorrer em qualquer período da gestação, sendo mais provável no último trimestre. Porém, também pode ocorrer no canal do parto, através do contato de mucosas do feto com o sangue da mãe contaminado por *T. cruzi* (Costa *et al.*, 2013; Fiocruz, 2017b; Brasil, 2020).

2.3 Epidemiologia

De acordo com a OMS, essa enfermidade causa cerca de 10.000 mortes por ano no mundo todo. Além disso, também em um caráter global, observa-se um número superior a 6 milhões de pessoas infectadas, com mais de 100 milhões sob situação de risco (OMS, 2025).

No Brasil, 2603 casos de DCA foram registrados entre 2013 e 2023, principalmente na região Norte (95,5%), onde a principal via de transmissão é a oral, a qual está diretamente relacionada ao consumo de alimentos contaminados com o protozoário (CFF, 2024).

Estima-se que no Brasil cerca de 1,9 a 4,6 milhões de pessoas vivam com doença de Chagas Crônica (DCC), valor que corresponde de 2,0 à 2,4% da população brasileira. Além disso, vale ressaltar que a notificação de DCC tornou-se obrigatória a partir de 2020 e recebeu um formulário específico em 2023 (Brasil, 2024b). Entre 2012 e 2022, a maior concentração de internações devido a DCC

foram registradas na região sudeste (Souza *et al.*, 2024). Diante disso, como a doença de Chagas segue sendo um importante desafio de saúde pública no Brasil, o governo federal lançou o programa "Brasil Saudável", visando eliminar a doença como problema de saúde pública até 2030 (Brasil, 2024c).

2.4 Tratamento

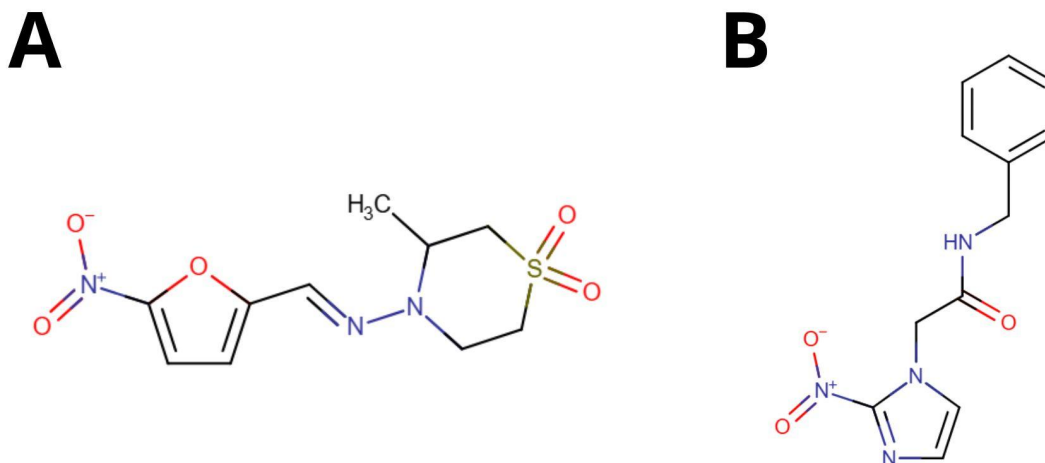
Existem dois fármacos para o tratamento dessa doença: o nifurtimox (Lampit®) e benznidazol (Rochagan), sendo este o fármaco de referência utilizado no Brasil. No entanto, o primeiro pode ser utilizado como alternativa em casos não satisfatórios como intolerância ao benznidazol. Contudo, ambos apresentam inúmeros efeitos colaterais e eficácia reduzida na fase crônica da doença com taxa de cura entre 8 a 30% (Oliveira *et al.*, 2008; Brindha; Balamurali; Chanda, 2021).

O nifurtimox (3-metil-4(5'-nitrofurfurilidenamino)-tetraidro(1,4)-tiazina-1-1-dióxido), foi o primeiro fármaco usado no tratamento de DCA (Oliveira *et al.*, 2008).

O benznidazol é uma droga nitroheterocíclica (N-benzil- 2-nitroimidazole-1-acetamida) com atividade antibacteriana e antiprotozoária, sendo considerado um fármaco mais efetivo que o nifurtimox (Oliveira *et al.*, 2008).

Quanto ao mecanismo de ação, os dois fármacos exercem seu efeito após serem ativados por uma nitrorredutase mitocondrial dependente de NADH. Essa ativação leva à formação de radicais nitroaniônicos, sendo estes os responsáveis pela ação tripanocida. A partir do fármaco ativado, ocorre a transferência de elétrons que reconverte o nitrofurano à sua forma original e promove a geração de radicais aniônicos superóxido e outras espécies reativas de oxigênio (ROS), como peróxido de hidrogênio e radical hidroxila. (Garcia, 2022).

Figura 05 - Fármacos utilizados no tratamento da doença de Chagas.



Legenda: (A) Nifurtimox; (B) Benznidazol.
Fonte: DRUGBANK (2022, 2023).

Garcia e colaboradores (2005), através de testes *in vivo*, verificaram a eficácia do benznidazol contra *T. cruzi* na fase crônica da doença. Demonstraram a diminuição da parasitemia e da miocardite do grupo tratado quando comparado ao grupo não tratado. Sendo assim, os resultados sugerem que o tratamento com esse fármaco durante a DCC, pode prevenir o desenvolvimento de cardiopatia chagásica crônica severa, mesmo sem a completa eliminação dos parasitos.

De acordo com Pérez-Molina e colaboradores (2021), as taxas de cura com o tratamento que utiliza o nifurtimox na forma crônica indeterminada são de 86% em crianças menores de 14 anos e de 8% nos adultos. Quanto ao benznidazol, as taxas de cura variam de 60 a 94% em crianças com idade até 13 anos e 2-40% em adultos. Além disso, o benznidazol, em geral, causa reações adversas em aproximadamente 50% dos pacientes – mais comumente em adultos. Desses, quase 15% interrompem o tratamento pela gravidade ou intensidade dos eventos adversos. A toxicidade é moderada e reversível em todos os casos, com reações graves sendo relatadas em apenas 3% dos casos (Molina *et al.*, 2014).

No caso do nifurtimox, a incidência de eventos adversos é ainda mais elevada do que a do benznidazol, chegando a aparecer entre 80 e 100% dos pacientes tratados. Os sintomas mais frequentes e precoces são os gastrointestinais, que geralmente são leves e controlados (Oliveira *et al.*, 2015).

Dessa forma, observa-se que o tratamento da DC é complexo, isto somado às principais características do agente etiológico, alta complexidade e diferentes formas de transmissão, dificultam ainda mais a eficácia de um possível tratamento, além de que os fármacos mencionados possuem inúmeros efeitos colaterais. Sendo assim, a pesquisa por compostos menos tóxicos e com maior eficácia é primordial.

2.5 Usnato de sódio e complexados

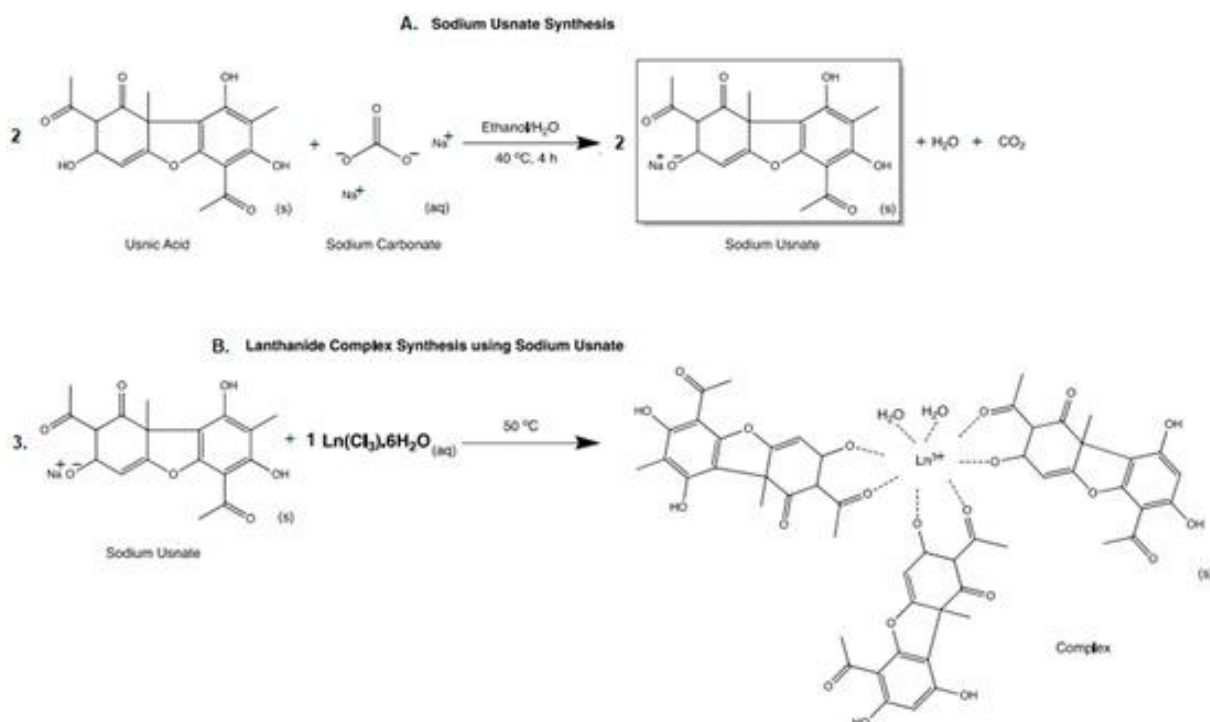
Diante disso, há diversos relatos sobre atividades biológicas associadas ao ácido úsnico, substância derivada de metabólitos secundários de líquens, com propriedades anti inflamatórias, antimicrobianas, antivirais, antiparasitárias, antitumorais, etc (Honda; Vilegas, 1998; Calcott, 2018; Geng, 2018; Nunes *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2024). No entanto, sua natureza hidrofóbica limita seu uso clínico (Araujo, 2021). Diante disso, esse composto tem sido transformado em sal de potássio (Martins, 2014) ou sódio (Ribar *et al.*, 1993) com o objetivo de aumentar a solubilidade em água e sua atividade. Assim, estudos mostram que o usnato de sódio, além de ser mais solúvel, possui maior atividade biológica que o ácido úsnico (Araujo, 2021; Geng, 2018).

Os lantanídeos (elementos que vão do lantânio, $Z = 57$, ao lutécio, $Z = 71$), são pertencentes ao sexto período da tabela periódica, conhecidos popularmente como terras raras (Leigh, 1990). Além disso, o uso de complexos de íons lantanídeos, como substâncias antibacterianas e seu uso como fármacos de nova geração no tratamento de enfermidades neoplásicas têm sido amplamente documentado e demonstrado como muito promissor, principalmente quando em combinação com compostos biologicamente ativos (Binnemans, 2005; Malgorzata *et al.*, 2018; Martins, 2025).

Nunes e colaboradores (2020) avaliaram que todos os complexos entre usnato de sódio ($L = C_{18}H_{15}O_7^-$) e íons lantanídeos mostraram maior citotoxicidade

contra células tumorais MCF-7 em comparação aos precursores orgânicos e inorgânicos utilizados isoladamente e que os complexos de lantânio ($\text{LaL}_3(\text{H}_2\text{O})_3$) e gadolínio ($\text{GdL}_3(\text{H}_2\text{O})_2$) apresentaram destaque adicional por sua seletividade, pois foram testados em células não tumorais MCF-10 (células mamárias não tumorais) e demonstraram menor toxicidade. Assim, sugerindo um perfil terapêutico mais promissor.

Figura 06 - Síntese do usnato de sódio e seus complexados.



Legenda: (A) Fórmula estrutural do ácido úsnico ($\text{R} = \text{OH}$) e usnato de sódio (B) Complexos $[\text{Ln L}_3(\text{H}_2\text{O})_x]$ ($\text{Ln} = \text{Sm(III)} 2, \text{Gd(III)} 3, \text{Eu(III)} 4, \text{Nd(III)} 5, \text{Tb(III)} 6, \text{La(III)} 7$).

Fonte: Silva *et al* (2024).

Silva e colaboradores (2024), comprovaram que os 6 compostos complexados, sintetizados por Nunes e colaboradores (2020), possuíam atividade significativa maior do que o composto livre (usnato de sódio) contra *Leishmania amazonensis*, em suas formas promastigota e amastigota. Além disso, os complexos com európio ($\text{EuL}_3(\text{H}_2\text{O})_3$) e neodímio ($\text{NdL}_3(\text{H}_2\text{O})_3$) mostraram os melhores índices de seletividade, o que indica um perfil terapêutico mais favorável. Sendo assim, foi observado que a incorporação de íons lantanídeos aumentou a atividade antiparasitária e melhorou a seletividade dos compostos, além de que potencializou os efeitos do usnato de sódio, e foi responsável por acionar mecanismos múltiplos

de ação, como disfunção mitocondrial e aumento da produção de óxido nítrico - contribuindo para a morte do parasito.

Pertencendo à mesma família, *Leishmania* sp. e *Trypanosoma cruzi* compartilham diversas características morfológicas, metabólicas e moleculares semelhantes, além de possuir uma proximidade evolutiva que faz com que apresentem vias bioquímicas e alvos celulares semelhantes (Kaufer *et al.*, 2017; Maslov *et al.*, 2013), e portanto, podendo indicar um fator que aumenta a probabilidade de que compostos ativos frente a um dos microrganismo também sejam eficazes contra outro (Espinoza-Hicks *et al.*, 2019). Assim, bons resultados obtidos em ensaios com *Leishmania* sp. podem justificar a realização de testes subsequentes contra *T. cruzi*, aproveitando a similaridade biológica para otimizar o desenvolvimento de novos fármacos e reduzir o tempo e o custo de triagem de candidatos promissores.

Ademais, Franco e colaboradores (2019), demonstraram que utilizar células Vero como modelo biológico para testes de citotoxicidade se torna promissor, devido ao fato de possuírem alta permissividade à infecção e ampla padronização dessa linhagem celular em ensaios antiparasitários com *Trypanosoma cruzi*, permitindo o posterior cálculo do índice de seletividade dos compostos com potencial ação anti-*T. cruzi*. Logo, realizar ensaios de citotoxicidade com esse modelo celular pode potencializar o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas menos tóxicas e possivelmente antiparasitárias.

3. OBJETIVOS

Objetivo geral:

Analisar o efeito citotóxico de compostos de usnato de sódio complexados a íons lantanídeos.

Objetivos específicos:

- Avaliar a citotoxicidade *in vitro* de compostos de usnato de sódio complexados a íons lantanídeos sobre células Vero;
- Analisar as alterações morfológicas das células Vero após tratamento com os compostos Usnato de sódio (SAU), Samário (Sm III), Gadolínio (Gd III), Európio (Eu III), Neodímio (Nd III), Térbio (Tb III), Lantânio (La III).

4. METODOLOGIA

4.1 Tipo de estudo:

Pesquisa experimental, analítica e quantitativa. Realizada por meio de ensaios *in vitro*, utilizando células de linhagem contínua derivadas do tecido epitelial renal do macaco-verde africano (*Chlorocebus aethiops*) (Yasumura & Kawakita, 1963).

4.2 Fármacos Selecionados

Os compostos sintéticos utilizados neste trabalho foram produzidos pelo Dr. Daniel Mendes Nunes e fornecidos pela Dra. Adriana Pereira Duarte, ambos integrantes do Grupo de Pesquisa do Laboratório de Química de Superfície e Moléculas Bioativas, vinculado ao Laboratório LP6 do Instituto de Química (INQUI), da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).

Esses compostos encontram-se atualmente disponíveis no Laboratório de Imunologia, Biologia Molecular e Bioensaios (LabImunoBio), do Instituto de Biociências (INBIO) da UFMS. Todos os compostos utilizados foram obtidos a partir da complexação do usnato de sódio com íons lantanídeos — elementos químicos pertencentes ao período 6 da Tabela Periódica — resultando na fórmula geral $\text{Ln}(\text{Usn})_3(\text{H}_2\text{O})_x$, conforme descrito por Nunes e colaboradores (2020).

Dentre os compostos sintetizados, sete foram selecionados para os ensaios: Usnato de sódio (SAU), Samário (Sm III), Gadolínio (Gd III), Európio (Eu III), Neodímio (Nd III), Térbio (Tb III), Lantânio (La III).

Quadro 1 - Compostos selecionados para teste sobre células Vero.

Compostos	Nome	Fórmula molecular	Massa Molar
C1	Usnato de sódio (SAU)	NaL 2,5 H ₂ O	411,33 g/mol
C2	Usnato de sódio complexado ao íon Samário	SmL ₃ (H ₂ O) ₄	1252,32 g/mol
C3	Usnato de sódio complexado ao íon Gadolínio	GdL ₃ (H ₂ O) ₂	1223,18 g/mol
C4	Usnato de sódio complexado ao íon Európio	EuL ₃ (H ₂ O) ₃	1235,91 g/mol
C5	Usnato de sódio complexado ao íon Neodímio	NdL ₃ (H ₂ O) ₃	1228,19 g/mol
C6	Usnato de sódio complexado ao íon Térbio	TbL ₃ (H ₂ O) ₂	1224,86 g/mol
C7	Usnato de sódio complexado ao íon Lantânio	LaL ₃ (H ₂ O) ₃	1222,86 g/mol

Legenda: L= C₁₈H₁₅O₇⁻.

4.3 Cultivos de Células Vero

Para o cultivo celular, foram utilizados repiques periódicos (a cada 3–4 dias) de uma cultura de células Vero (ATCC: CCL-81), mantida com no mínimo 70% de confluência. As culturas foram mantidas em meio DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*), com pH 7,2, suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) e 2 mM de L-glutamina, em estufa a 37 °C, com atmosfera de 5% de CO₂ (De Almeida *et al.*, 2021).

4.4 Ensaios de Citotoxicidade

Para o ensaio de citotoxicidade, aproximadamente 2×10⁵ células Vero/mL foram semeadas em placas de 96 poços contendo o mesmo meio de cultivo. Após

24 horas de incubação, as células foram tratadas com diferentes concentrações como mostrado na tabela 2, por um período de 24 horas.

Quadro 2 - Concentração dos compostos selecionados para teste sobre células Vero.

Compostos	Concentrações testadas
C1	121,55; 60,77; 30,38 μ M
C2	39,92; 19,96; 9,98 μ M
C3	40,87; 20,43; 10,21 μ M
C4	40,45; 20,22; 10,11 μ M
C5	40,71; 20,35; 10,17 μ M
C6	40,82; 20,41; 10,20 μ M
C7	40,88; 20,44; 10,22 μ M

A integridade do tapete celular foi monitorada por microscopia óptica invertida, seguida pela realização do ensaio colorimétrico com MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo), visando analisar a viabilidade celular. Dessa forma, as células foram incubadas por 4 horas na presença de 50 μ L de MTT na concentração de 2mg/mL, após isso os cristais formados foram solubilizados em Dimetilsulfóxido (DMSO) 100%. Em seguida, a leitura da placa foi feita em espectrofotômetro a 570nm para determinar a absorbância da redução do Formazam (De Almeida *et al.*, 2021).

4.5 Montagem de Lâminas e Análise da Alteração Morfológica das Células Vero

Após 24 horas de incubação com a CC₅₀ dos compostos, o conteúdo dos poços foi removido, as células foram lavadas com PBS 1x, fixadas com metanol e coradas com Giemsa. Além disso, esse experimento foi realizado através de duplicatas de cada composto e foram montadas lâminas de células sem tratamento como forma de controle para se comparar com as células tratadas. As lamínulas foram então montadas em lâminas permanentes com Entellan® e analisadas ao microscópio óptico Nikon E600 com aumentos de 100x, 400x e 1000x.

4.6 Análise Estatística

A partir dos resultados obtidos, foi calculado o valor de CC_{50} (concentração citotóxica capaz de reduzir 50% da viabilidade celular), considerando-se a média de inibição da viabilidade celular em relação ao controle não tratado e levando em consideração que todos os testes foram conduzidos em triplicata técnica e todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando os *softwares* Microsoft Excel 2020 e o GraphPadPrism 7.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação de $CC_{50}/24h$

Com base nos dados obtidos, todos os sete compostos apresentaram capacidade de reduzir a viabilidade celular, sendo então considerados citotóxicos. Os valores de $CC_{50}/24h$ obtidos para cada composto sobre células Vero pelo método colorimétrico do MTT encontram-se na tabela 1.

Tabela 1 - Concentração Citotóxica de 50% dos fármacos sobre células Vero.

Fórmula do composto	Concentração citotóxica - $CC_{50}/24h$ (μM)	Intervalo de confiança (μM)	R^2
NaL 2,5 H ₂ O	55,42	49,20 - 62,45	0,9387
SmL ₃ (H ₂ O) ₄	21,68	19,48 - 24,14	0,9156
GdL ₃ (H ₂ O) ₂	24,70	23,15 - 26,37	0,9619
EuL ₃ (H ₂ O) ₃	18,23	16,09 - 20,67	0,9135
NdL ₃ (H ₂ O) ₃	26,33	22,05 - 31,46	0,8063
TbL ₃ (H ₂ O) ₂	22,63	21,64 - 23,66	0,9813
LaL ₃ (H ₂ O) ₃	25,21	19,69 - 32,30	0,6809

Legenda: 24 horas de incubação. L= C₁₈H₁₅O₇⁻. R^2 = Coeficiente de determinação.

Foi observado que o usnato de sódio e seus complexados demonstraram efeitos citotóxicos, com valores que variam de 18,23 até 55,42 μM , sendo os compostos: EuL₃(H₂O) e SmL₃(H₂O)₄ aqueles mais citotóxicos e o sal úsnico aquele com menor atividade.

Diante disso, os compostos mais promissores quando analisados apenas a citotoxicidade, sem possuir um índice de seletividade pré-definido, seriam aqueles com maior valor de concentração citotóxica (CC_{50}), sendo eles o sal sódico de ácido úsnico e os complexados com Nd (III), Gd (III) e La (III). Assim como observado em Silva e colaboradores (2024), o usnato de sódio (SAU) foi aquele considerado menos citotóxico e todos os 6 complexos foram mais citotóxicos que ele, e também

mais ativos contra *L. amazonensis*. De acordo com Silva e colaboradores (2024) o ganho em atividade antiparasitária vem acompanhado de uma maior toxicidade celular.

Agora quando analisado o trabalho de Nunes e colaboradores (2020), observa-se que o usnato de sódio em sua forma isolada, isto é, sem estar complexado, possui também uma citotoxicidade baixa, quando observado em 24h, assim como testado neste trabalho, no entanto, a atividade dele dependente do tempo, visto que ele se apresentou muito menos potente no início, mas após 72h, bastante citotóxico. Além disso, os melhores candidatos observados por eles foram o $GdL_3(H_2O)_2$ e $LaL_3(H_2O)_3$, pois combinam alta potência em MCF-7 (células tumorais) e uma citotoxicidade não tão elevada quando testado em células MCF-10A (células tumorais), garantindo um índice de seletividade >10 .

Quando observado o precursor desses compostos isoladamente, verifica-se que os lantanídeos em sua forma isolada possuem potencial atividade biológica, sendo ela antitumoral, antibacteriana ou até mesmo antiparasitária. Dessa forma, Kaczmarek e colaboradores (2018) observou que a complexação de bases de Schiff com íons Lantanídeos (III) aumentou significativamente a atividade biológica desses íons, apresentando vantagens e maior ação do que quando ligantes livres, no entanto, ainda são menos eficazes que antibióticos convencionais.

Geng e colaboradores (2018), em seu estudo com ácido úsnico, perceberam que esse composto exerce potencial ação antitumoral superior ao 5-fluorouracil - um quimioterápico clássico usado no tratamento de vários tipos de câncer - e com menos efeitos adversos, demonstrando-se um possível candidato terapêutico, embora a hepatotoxicidade do composto deva ser considerada. Os principais mecanismos de ação do ácido úsnico observado no estudo de Geng e colaboradores (2018) foi de arresto do ciclo celular, apoptose via cascata de caspases e regulação Bax/Bcl-2, e indução de autofagia.

Complexos de lantanídeos superam fármacos padrões em potência citotóxica *in vitro* na grande maioria dos testes; no entanto, enfrentam limitações de seletividade, como visto por Teo e colaboradores (2016). Além disso, esses complexos mostraram citotoxicidade muito maior que os sais simples

correspondentes, assim como visto também em Kaczmarek e colaboradores (2018). Foi observado mecanismos que incluem interação direta com DNA, indução de estresse oxidativo e bloqueio de vias metabólicas essenciais, como inibição de tioredoxina redutase.

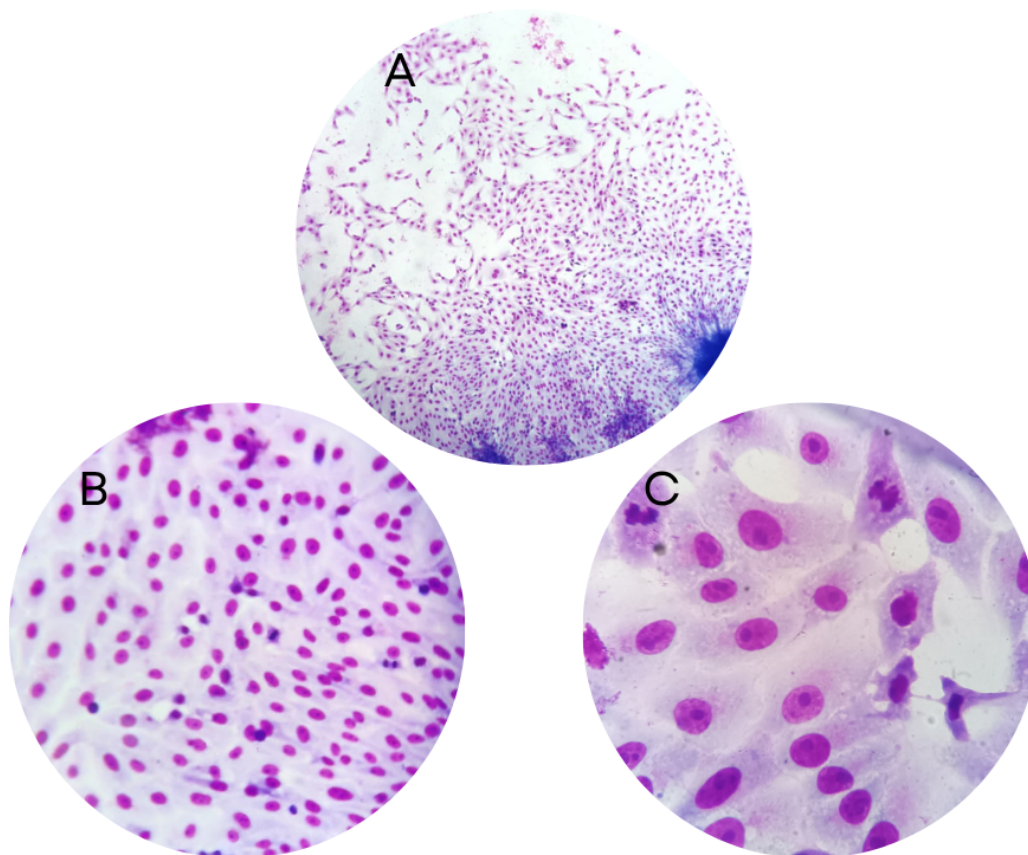
De acordo com Zuo e colaboradores (2015), através de testes realizados *in vivo*, o ácido úsnico induz morte seletiva em células tumorais por apoptose mitocondrial via ROS, mostrando eficácia superior à de um quimioterápico clássico (CTX) em modelo animal, com baixa toxicidade para células normais.

5.2 Análise da morfologia das células Vero tratadas com os sete compostos

As alterações morfológicas em células Vero tratadas com a CC_{50} dos compostos podem ser observadas nas células tratadas com os compostos C3, C4, C6 e C7. Logo, os tratados com C1, C2 e C5 não tiveram alterações visíveis, assim como o controle.

Em células não tratadas foi observado um tapete celular confluyente, com presença de figuras mitóticas e nucléolos bem definidos, como visto na figura 07.

Figura 07 - Células não tratadas com os compostos (Controle).

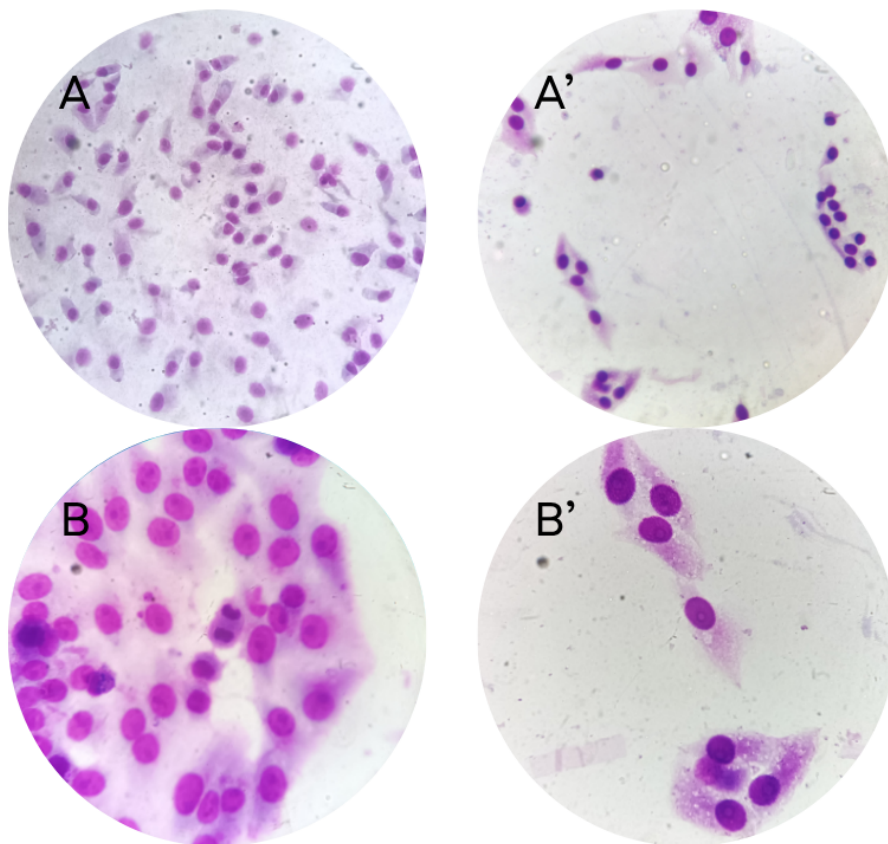


Legenda: (A) Células vista em microscopia óptica, aumento de 100x. (B) Aumento de 400x. (C) Aumento de 1000x.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Em células tratadas com C1 e C2, figura 08, foi observado presença de figuras mitóticas e nucléolos bem definidos, bem semelhante ao controle observado na figura anterior.

Figura 08 - Células tratadas com o composto 1 ($\text{NaL } 2,5 \text{ H}_2\text{O}$) e composto 2 ($\text{SmL}_3(\text{H}_2\text{O})_4$).

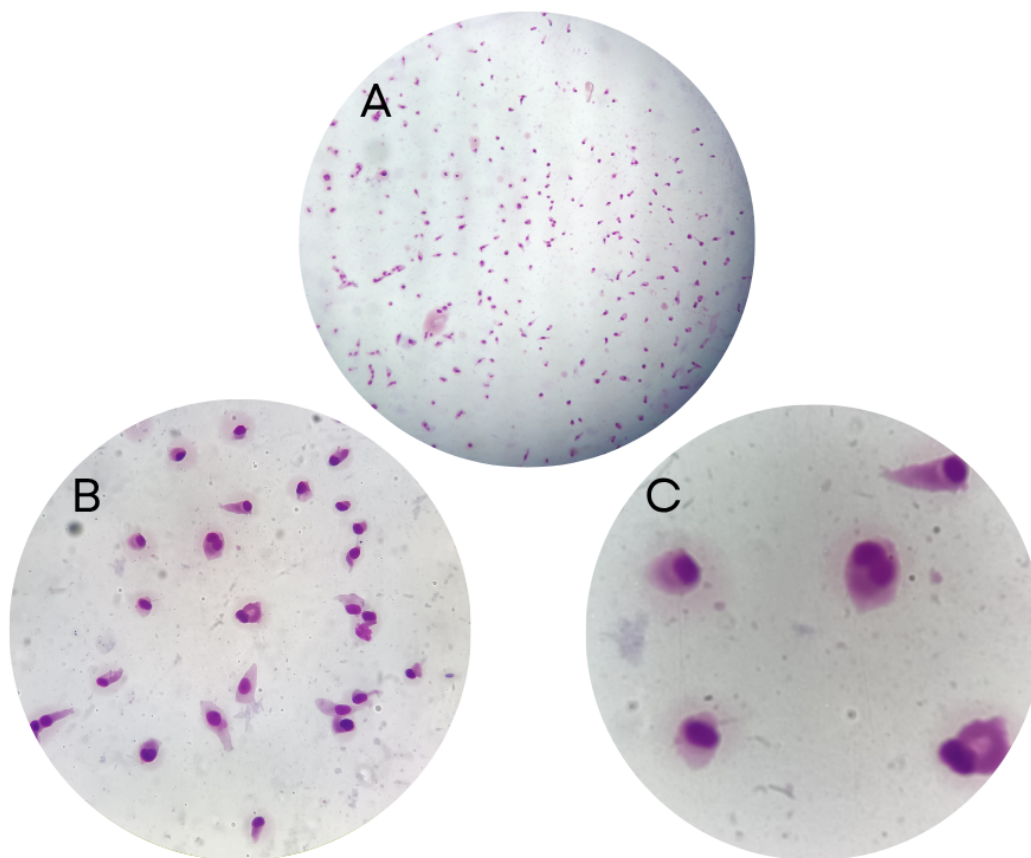


Legenda: (A) Células tratadas com C1 vistas em microscopia óptica, aumento de 400x. (B) Aumento de 1000x. (A') Células tratadas com C2 vistas em microscopia óptica, aumento de 400x. (B') Aumento de 1000x.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Em células tratadas com C3 foi observado a presença de células em um formato mais arredondado - demarcando uma menor área de aderência dessas células - o que indica que elas não estão tão aderidas como observado no controle. Além disso, demonstraram mais de um nucléolo por célula e ausência de figuras mitóticas, como visto na figura 09.

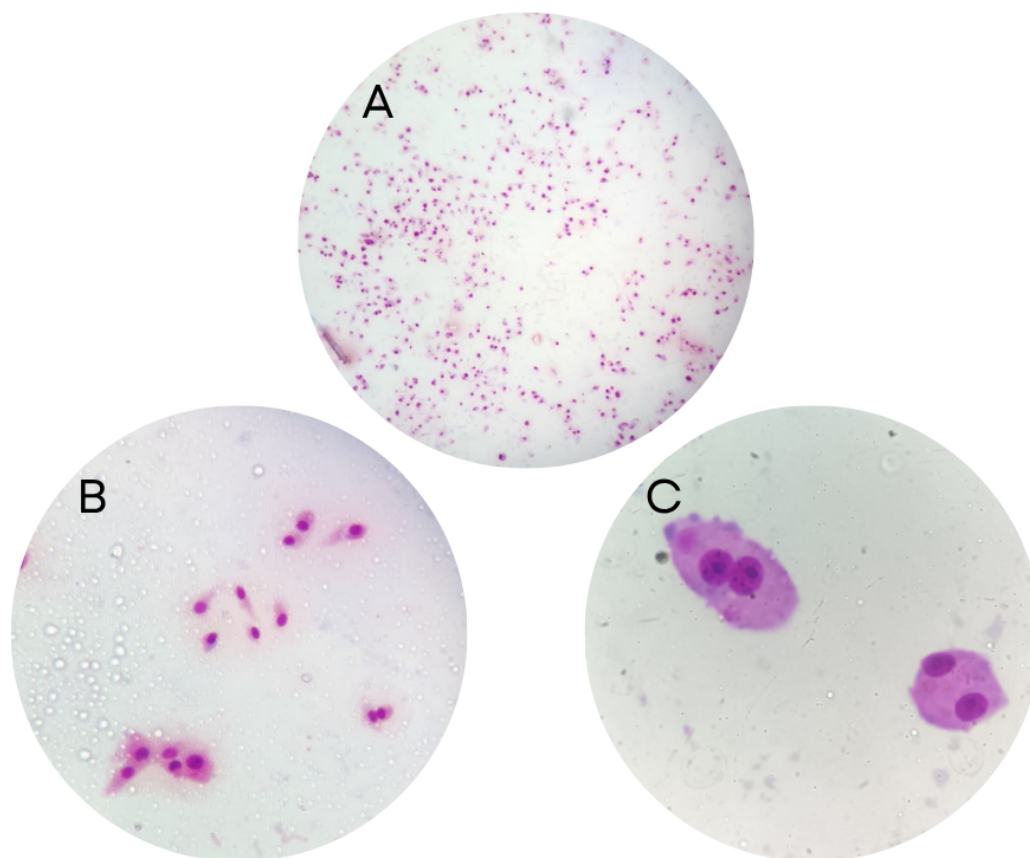
Figura 09 - Células tratadas com o composto 3 ($\text{GdL}_3(\text{H}_2\text{O})_2$).



Legenda: (A) Células vista em microscopia óptica, aumento de 100x. (B) Aumento de 400x. (C) Aumento de 1000x.
Fonte: Elaborado pelo autor

Em células tratadas com C4 foi notório a presença de células arredondadas e com mais de um nucléolo, como visualizado na figura 10.

Figura 10 - Células tratadas com o composto 4 ($\text{EuL}_3(\text{H}_2\text{O})_3$).

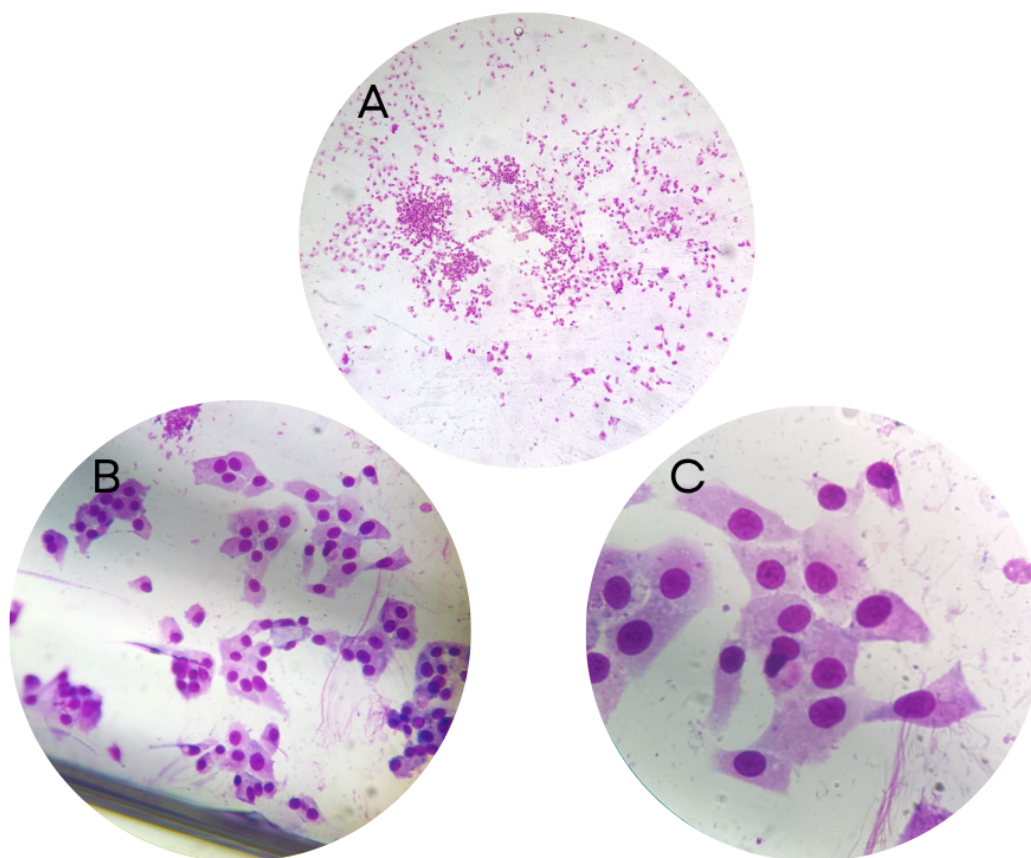


Legenda: (A) Células vista em microscopia óptica, aumento de 100x. (B) Aumento de 400x. (C) Aumento de 1000x.

Fonte: Elaborado pelo autor

Em células tratadas com C5 foi observado presença de figuras mitóticas, nucléolos bem definidos e células bem aderidas, semelhante ao controle e aos tratamentos com C1 e C2, como visto na figura 11.

Figura 11 - Células tratadas com o composto 5 ($\text{NdL}_3(\text{H}_2\text{O})_3$).

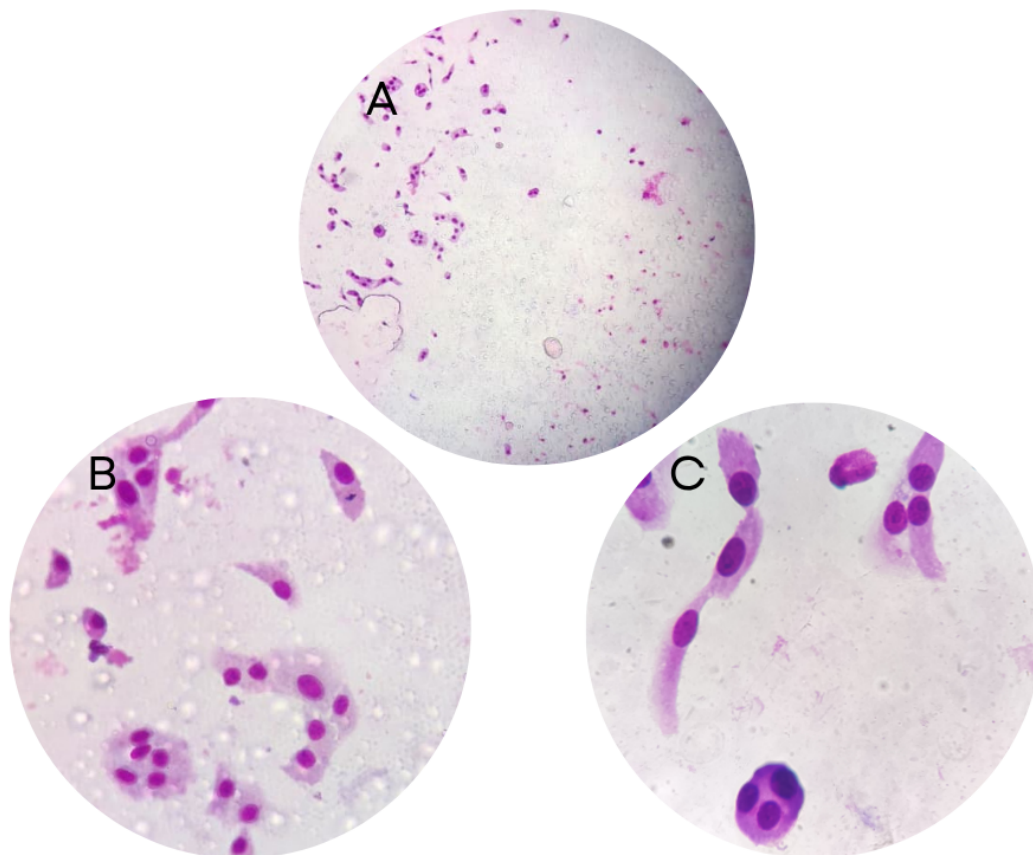


Legenda: (A) Células vista em microscopia óptica, aumento de 100x. (B) Aumento de 400x. (C) Aumento de 1000x.

Fonte: Elaborado pelo autor

Em células tratadas com C6 foi observado células arredondadas e com mais de um nucléolo, além de uma menor área de aderência visível e ausência de figuras mitóticas, como visto na figura 12.

Figura 12 - Células tratadas com o composto 6 ($\text{TbL}_3(\text{H}_2\text{O})_2$).

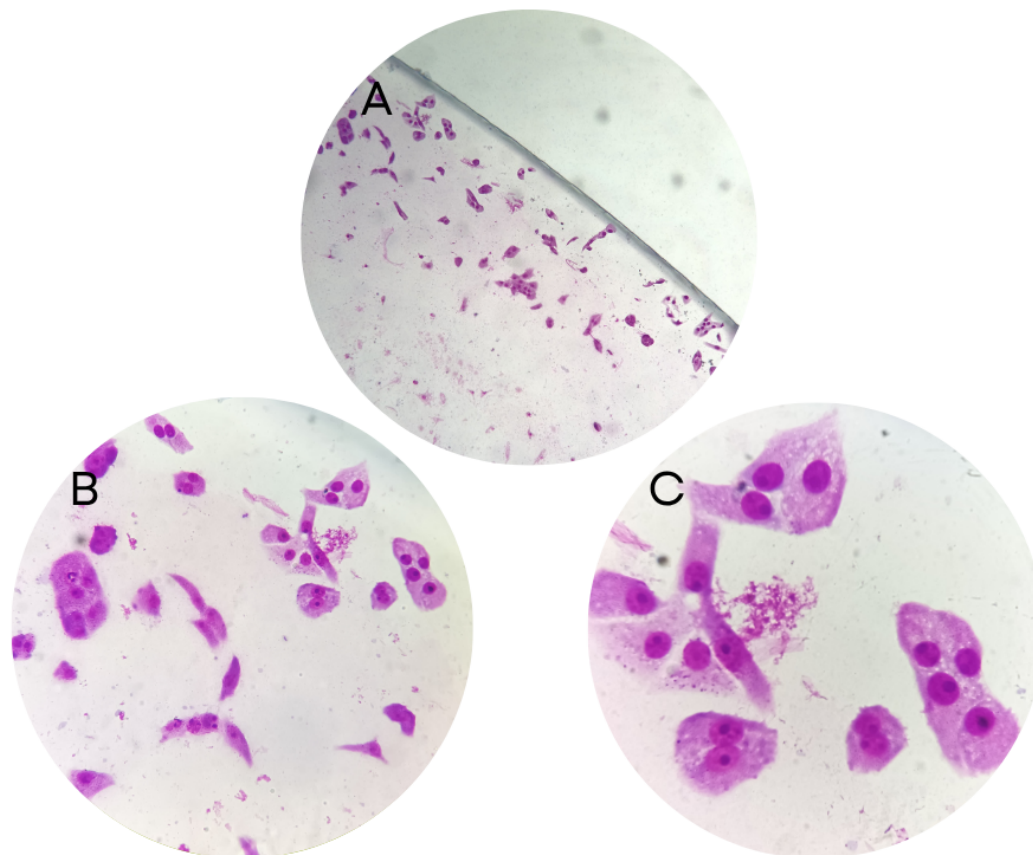


Legenda: (A) Células vista em microscopia óptica, aumento de 100x. (B) Aumento de 400x. (C) Aumento de 1000x.

Fonte: Elaborado pelo autor

Em células tratadas com C7, figura 13, foi observado a presença de células com formato mais arredondado, mais de um nucléolo, além de uma menor área de aderência visível e ausência de figuras mitóticas, semelhante aos tratados com C3, C4, C6.

Figura 13 - Células tratadas com o composto 7 ($\text{LaL}_3(\text{H}_2\text{O})_3$).



Legenda: (A) Células vista em microscopia óptica, aumento de 100x. (B) Aumento de 400x. (C) Aumento de 1000x.

Fonte: Elaborado pelo autor

Diante dos resultados pode-se observar que a citotoxicidade observada em todos os compostos não necessariamente está ligada a uma possível alteração morfológica, visto que nem todos ocasionaram essa alteração, como evidenciado por Bhatia e Yetter (2008), que encontraram uma correlação limitada entre as avaliações visuais de citotoxicidade e as medições quantitativas de viabilidade celular, sendo que neste estudo foram realizados ensaios de citotoxicidade utilizando células fibroblásticas 3T3 de camundongos. Ainda assim, de acordo com Andiappan e colaboradores (2018), que testou complexos de Schiff base com lantanídeos (Pr, Er) em células Vero, observou-se que, em concentrações elevadas, as células Vero ficaram arredondadas, retraídas e perderam contato entre si, evidenciando alterações morfológicas típicas de citotoxicidade, algo semelhante ao observado com alguns dos complexados testados.

6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que todos os sete compostos avaliados possuem um potencial efeito citotóxico e que nem todos ocasionaram alteração morfológica, apenas os complexos C3, C4, C6 e C7, demonstrando que apesar da citotoxicidade ele não necessita obrigatoriamente causar alterações morfológicas nas células.

7. REFERÊNCIAS

ARAÚJO, H. D. A.; SILVA, H. A. M. F.; SILVA Jr., J. G.; ALBUQUERQUE, M. C. P. d. A.; COELHO, L. C. B. B.; AIRES, A. d. L. The natural compound hydrophobic usnic acid and hydrophilic potassium usnate derivative: applications and comparisons. *Molecules*, Basel, v. 26, n. 19, p. 5995, 2021. DOI:10.3390/molecules26195995.

ANDIAPPAN, K.; SANMUGAM, A.; DEIVANAYAGAM, E.; KARUPPASAMY, K.; KIM, H. S.; VIKRAMAN, D. In vitro cytotoxicity activity of novel Schiff base ligand-lanthanide complexes. *Scientific Reports*, v. 8, n. 1, p. 3054, 14 fev. 2018. DOI: 10.1038/s41598-018-21366-1.

BINNEMANS, K. *Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths*. 1. ed. Amsterdã: Elsevier, 2005. p. 163–166.

BHATIA, S. K.; YETTER, A. B. Correlation of visual in vitro cytotoxicity ratings of biomaterials with quantitative in vitro cell viability measurements. *Cell Biology and Toxicology*, v. 24, p. 315–319, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Boletim Epidemiológico: doenças negligenciadas no Brasil*. Brasília, 2024a. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2024/janeiro/ministerio-da-saude-di-vulga-boletim-epidemiologico-doencas-negligenciadas-no-brasil>. Acesso em: 7 ago. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Boletim Epidemiológico*, v. 55, n. 8, 2024b. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2024/boletim-epidemiologico-volume-55-no-08.pdf>. Acesso em: 7 ago. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Brasil investe em pesquisa e luta pela sua eliminação como problema de saúde pública*. Brasília, 2024c. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2024/abril/brasil-investe-em-pesquisa-e-luta-pela-sua-eliminacao-como-problema-de-saude-publica>. Acesso em: 7 ago. 2025.

BRASIL. Secretaria de Estado da Saúde. *Doença de Chagas (DC) ou tripanossomíase americana*. Curitiba: SESA, 2020. Disponível em: <https://www.saude.pr.gov.br/Pagina/Doenca-de-Chagas>. Acesso em: 7 ago. 2025.

BRINDHA, J.; BALAMURALI, M.; CHANDA, K. An overview on the therapeutics of neglected infectious diseases—leishmaniasis and Chagas diseases. *Frontiers in Chemistry*, v. 9, 622286, 2021.

CALCOTT, M. J.; et al. Secondary metabolism in the lichen symbiosis. *Chemical Society Reviews*, v. 47, p. 1730–1760, 2018.

CFF – CONSELHO FEDERAL DE FARMÁCIA. *Farmacêuticos analisam epidemiologia da doença de Chagas aguda no Brasil*. Brasília, 2024. Disponível em: <https://site.cff.org.br/noticia/noticias-do-cff/10/10/2024/farmacuticos-analisam-epidemiologia-da-doenca-de-chagas-aguda-no-brasil>. Acesso em: 7 ago. 2025.

COSTA, M.; TAVARES, V. R.; AQUINO, M. V. M.; MOREIRA, D. B. Doença de Chagas: uma revisão bibliográfica. *Revista Eletrônica da Faculdade de Ceres*, v. 2, n. 1, p. 1–13, 2013. Disponível em: <https://periodicos.unievangelica.edu.br/index.php/refacer/article/view/3376>. Acesso em: 7 ago. 2025.

DE ALMEIDA, J. M.; et al. Synergistic effect and ultrastructural changes in *Trypanosoma cruzi* caused by isobutyl lactone A in short exposure of time. *PLoS ONE*, v. 16, n. 1, p. e0245882, 2021.

DE SOUZA, W. Basic Cell Biology of *Trypanosoma cruzi*. *Current Pharmaceutical Design*, v. 8, n. 4, p. 269–285, 2002.

DIAS, J. C. P. Southern Cone Initiative for the elimination of domestic populations of *Triatoma infestans* and interruption of transfusional Chagas disease: historical overview. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 102, supl. 1, p. 11–18, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/PpdCBLSC3PgzhcYrCNBF9jz/?lang=en>. Acesso em: 14 nov. 2025.

DIAS, J. C. P.; et al. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, 2015. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 25, n. 21, p. 1–10, jun. 2016.

DRUGBANK. Benznidazole. 2022. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB11989>. Acesso em: 12 jan. 2024.

DRUGBANK. Nifurtimox. 2023. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB11820>. Acesso em: 12 jan. 2024.

ESPINOZA-HICKS, J. C.; et al. Novel prenyloxy chalcones as potential leishmanicidal and trypanocidal agents: design, synthesis and evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 167, p. 402–413, 1 abr. 2019. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.02.028.

FIOCRUZ. *Organização Estrutural – Portal da Doença de Chagas*, 2017a. Disponível em: <https://chagas.fiocruz.br/parasita/organizacao-estrutural>. Acesso em: 21 set. 2025.

FIOCRUZ. *Transmissão – Portal da Doença de Chagas*, 2017b. Disponível em: <https://chagas.fiocruz.br/doenca/transmissao>. Acesso em: 21 set. 2025.

FRANCO, C. H.; ALCÂNTARA, L. M.; CHATELAIN, E.; FREITAS-JUNIOR, L.; MORAES, C. B. *Drug discovery for Chagas disease: impact of different host cell lines on assay performance and hit compound selection*. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, Basel, v. 4, n. 2, p. 82, 2019. DOI: [10.3390/tropicalmed4020082](https://doi.org/10.3390/tropicalmed4020082)

GALVÃO, C. *Vetores da doença de Chagas no Brasil*. Curitiba: Sociedade Brasileira de Zoologia, 2014.

GARCIA, C. S. Estudo de reposicionamento de fármacos com potencial atividade contra enzimas do metabolismo de *Trypanosoma cruzi*. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Biologia Molecular) - Instituto de Biociências, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2022.

GARCIA, S.; RAMOS, C. O.; SENRA, J. F. V.; VILAS-BOAS, F.; RODRIGUES, M. M.; CAMPOS-DE-CARVALHO, A. C.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, R.; SOARES, M. B. P. Treatment with benznidazole during the chronic phase of experimental Chagas' disease decreases cardiac alterations. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 49, n. 4, p. 1521–1528, 2005.

GENG, X.; et al. Usnic acid induces cycle arrest, apoptosis, and autophagy in gastric cancer cells in vitro and in vivo. *Medical Science Monitor*, v. 24, p. 556–566, 2018. DOI: <https://doi.org/10.12659/msm.908568>.

GÜRTLER, R. E. Sustainability of vector-control strategies in the Gran Chaco Region. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 104, supl. 1, p. 52–60, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/z4phfRxTZfT9HghCzzmSLYQ/?lang=en>. Acesso em: 14 nov. 2025.

HONDA, N. K.; VILEGAS. A química dos líquens. *Química Nova*, v. 21, p. 110–125, 1998.

KACZMAREK, M. T.; et al. Lanthanides: Schiff base complexes, applications in cancer diagnosis, therapy, and antibacterial activity *Coordination Chemistry Reviews*, v. 370, p. 42–54, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0010854518300948?via%3DiHub>. Acesso em: 14 nov. 2025.

KAUFER, A.; et al. The evolution of trypanosomatid taxonomy. *Parasites & Vectors*, v. 10, p. 287, 2017. DOI: 10.1186/s13071-017-2204-7.

LEIGH, G. J. (ed.). *IUPAC Nomenclature of Inorganic Chemistry: Recommendations 1990*. Oxford: Blackwell Scientific, 1990. p. 43.

LENT, H.; WYGODZINSKY, P. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, v. 163, p. 123–520, 1979.

MARTINS, M.C.B. et al. Usnic Acid Potassium Salt: An Alternative for the Control of *Biomphalaria glabrata*. *Plos One*, v.9, p.1-6, 2014.

MARTINS, T. S. Terras raras: aplicações industriais e biológicas. *Química Nova*, São Paulo, v. 28, n. 6, p. 1022–1031, 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/xh6SRfJ68HwKGvgQYTy8cnf/?lang=pt>. Acesso em: 15 nov. 2025.

MASLOV, D. A.; et al. Diversity and phylogeny of insect trypanosomatids: all that is hidden shall be revealed. *Trends in Parasitology*, v. 29, n. 1, p. 43–52, jan. 2013. DOI: 10.1016/j.pt.2012.11.001.

MONCAYO, A.; SILVEIRA, A. C. Current epidemiological trends for Chagas disease in Latin America and future challenges in epidemiology, surveillance and health policy. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 104, supl. 1, p. 17–30, 2009.

NUNES, D. M.; et al. New complexes of usnate with lanthanides ions: La(III), Nd(III), Tb(III), Gd(III), synthesis, characterization, and investigation of cytotoxic properties in MCF-7 cells. *Inorganica Chimica Acta*, v. 506, p. 119546, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ica.2020.119546>.

NUNES, M. C. P.; DONES, W.; MORILLO, C. A.; ENCINA, J. J.; RIBEIRO, A. L. Chagas disease: an overview of clinical and epidemiological aspects. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 62, n. 9, p. 767–776, 2013.

OLIVEIRA, M. de F.; et al. Tratamento etiológico da doença de Chagas no Brasil. *Revista de Patologia Tropical / Journal of Tropical Pathology*, Goiânia, v. 37, n. 3, p. 209–228, 2008. DOI: <https://doi.org/10.5216/rpt.v37i3.5063>.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *Neglected Tropical Diseases – GLOBAL*, 2025a. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/neglected-tropical-diseases>. Acesso em: 8 set. 2025.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *World Chagas Disease Day*, 2025b. Disponível em: <https://www.who.int/campaigns/world-chagas-disease-day/2025>. Acesso em: 8 set. 2025.

OPAS. *Doença de Chagas*. Washington, D.C.: Organização Pan-Americana da Saúde, 2023. Disponível em: <https://www.paho.org/en/topics/chagas-disease>. Acesso em: 5 out. 2025.

PÉREZ-MOLINA, J. A.; MOLINA, I.; SALVADOR, F.; et al. Trypanocidal treatment of Chagas disease. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, v. 38, n. 8, p. 540–548, 2021.

RIBAR, B. et al. Crystal structure of usnic acid sodium salt 21/2 hydrate. *Journal of Crystallographic and Spectroscopic Research*, v.23, p. 107-111, 1993

SILVA, F.; et al. Antileishmanial activity, toxicity and mechanism of action of complexes of sodium usnate with lanthanide ions: Eu(III), Sm(III), Gd(III), Nd(III), La(III) and Tb(III). *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, p. 413, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25010413>.

SOUZA, E. A.; CRUZ, M. M.; FERREIRA, A. F.; LUIZ, R. R.; LUQUETTI, A. O.; HEUKELBACH, J. et al. Hospital case fatality and mortality related to Chagas disease in Brazil over two decades. *BMC Public Health*, v. 24, art. n. 2282, 2024. DOI: 10.1186/s12889-024-19618-z.

TEIXEIRA, D. E.; et al. Interactive multimedia to teach the life cycle of *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas disease. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 6, n. 8, p. e1749, 28 ago. 2012.

TEO, R. D.; TERMINE, D. J.; FRANKS, A. T.; GROSS, Z.; RICHTER, S.; BREWER, G. J.; FISCHER, J.; FRANK, H. A.; SESSLER, J. L. Lanthanides: Applications in cancer diagnosis and therapy. *Chemical Reviews*, v. 116, n. 5, p. 3031–3089, 2016. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b01975.

VINHAES, M. C.; DIAS, J. C. P. Doença de Chagas: aspectos epidemiológicos e de controle. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 16, supl. 2, p. 27–31, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2000000800002>.

YASUMURA, Y.; KAWAKITA, Y. Studies on SV40 in tissue culture — preliminary step for cancer research in vitro. *Experimental Animal*, v. 12, n. 1, p. 1–5, 1963.

ZUO, Z.; et al. Usnic acid induces apoptosis via an ROS-dependent mitochondrial pathway in human breast cancer cells in vitro and in vivo. *RSC Advances*, v. 5, n. 96, p. 78868–78878, 2015. DOI: 10.1039/C4RA12340A.

ZUMA, A.; BARRIAS, E.; SOUZA, W. Basic Biology of *Trypanosoma cruzi*. *Current Pharmaceutical Design*, v. 26, 3 dez. 2020.