Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
Centro de Biociências e Biotecnologia

Efeito in vivo Anti-*Plasmodium chabaudi* do Metalocomplexo FeBS

Amanda Mello da Silva Oliveira

Fevereiro de 2026

Efeito in vivo Anti-*Plasmodium chabaudi* do Metalocomplexo FeBS

AMANDA MELLO DA SILVA OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Biociências e Biotecnologia sob a orientação do Prof. Dr. Sergio Henrique Seabra.

Orientador: Sérgio Henrique Seabra

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
2026

FICHA CATALOGRÁFICA
UENF - Bibliotecas
Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

O48 Oliveira, Amanda Mello da Silva.

"Efeito in vivo Anti-*Plasmodium chabaudi* do Metalocomplexo FeBS". / Amanda Mello da Silva Oliveira. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2026.

54 f. : il.
Inclui bibliografia.

Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Biociências e Biotecnologia, 2026.
Orientador: Sergio Henrique Seabra.

1. Quimioterapia . 2. Malária . 3. Metalocomplexo. 4. *Plasmodium*. 5. Protozoário. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 570

Efeito in vivo Anti-*Plasmodium chabaudi* do Metalocomplexo FeBS

AMANDA MELLO DA SILVA OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Biociências e Biotecnologia sob a orientação do Prof. Dr. Sergio Henrique Seabra.

Aprovada em 11 de Fevereiro de 2026:

gov.br Documento assinado digitalmente
VALDIRENE MOREIRA GOMES
Data: 13/07/2026 09:37:06-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profª Drª Valdirene Moreira Gomes (Examinador)

gov.br Documento assinado digitalmente
FELIPE FIGUEIROA MOREIRA
Data: 13/07/2026 09:51:47-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Dr. Felipe Figueiroa Moreira (Examinador)

gov.br Documento assinado digitalmente
JULIANA DE ARAUJO PORTES
Data: 13/07/2026 08:53:20-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Drª. Juliana Portes (Examinador)

gov.br Documento assinado digitalmente
SERGIO HENRIQUE SEABRA
Data: 14/07/2026 16:46:57-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Sergio Henrique Seabra (Orientador)

À minha mãe, *in memoriam*.

AGRADECIMENTOS

Á toda força superior que me rege e guia.

À minha mãe, *in memorian*, sei que está orgulhosa de mim de onde descansa.

Ao meu pai, Marcos, e irmãos, Débora, Thiago e Raissa que sempre confiaram em mim.

À minha avó Regina, por todo cuidado e carinho, pelas palavras de conforto, por estar presente em minha vida.

Aos meus amigos Kaio, Lucas e Letícia, o grupo “KALL” é a nossa conexão e minha ponte para deixar a vida mais leve, com mais risos e alegria.

Á Nicolly, obrigada por todo apoio e carinho.

À minha psicóloga Francielly, por me guiar no caminho de uma mentalidade estável e realista.

Aos amigos que a UENF presenteou-me ao longo do mestrado: Marcos, Taymara, Lícia, Ana Beatriz, Giullia, Renata e Lucas. Ter vocês comigo foi necessário para deixar tudo mais leve, saibam que é daqui para vida.

As técnicas Bia e Adriana, obrigada por toda paciência e aprendizagem.

Ao grupo Seabra por toda troca científica e pessoal, por cada conhecimento compartilhado, sugestões dadas e apoio. Estendo o agradecimento ao grupo Da Matta.

Ao professor Sérgio Henrique Seabra, eu agradeço de todo meu coração a confiança depositada em mim, toda palavra de incentivo e por acreditar em meu potencial quando até eu desacreditava.

Ao Pedro e Felipe, eu não tenho nem palavras para descrever o quanto vocês foram importantes durante meu mestrado e o quanto todo aprendizado e conselhos que

vocês me passaram foram essenciais para eu chegar até aqui, e tenho certeza que irão me ajudar ainda mais na minha nova fase acadêmica.

Á todos os colaboradores que fizeram possível a pesquisa.

À UENF, PGBB e órgãos de foment

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001”

RESUMO

A malária, causada por protozoários do gênero *Plasmodium*, permanece como um importante problema de saúde pública mundial, agravado pelo surgimento de cepas resistentes aos antimaláricos disponíveis. O metalocomplexo FeBS já demonstrou atividade antiparasitária contra *Toxoplasma gondii*, o que motivou a investigação de seu potencial antimalárico. Neste estudo, avaliou-se o efeito do FeBS em um modelo experimental de infecção por *Plasmodium chabaudi* (cepa *AJ*) em camundongos Balb/c. Os animais foram tratados por via intraperitoneal com FeBS nas doses de 500 e 750 µg/kg, sendo comparados aos grupos controle negativo (PBS) e controle positivo (cloroquina). Foram avaliadas a parasitemia, a sobrevivência e as alterações histopatológicas no fígado e no baço. Na análise de sobrevivência, todos os animais do grupo controle morreram até 216 h pós-infecção, enquanto a cloroquina prolongou a sobrevivência até 312 h. O tratamento com FeBS aumentou o tempo de sobrevida, com mortalidade final observada em 288 h, sendo a dose de 750 µg/kg a que apresentou melhor desempenho. Em relação à parasitemia, o grupo controle apresentou progressão contínua até 264 h, enquanto a cloroquina retardou o crescimento parasitário até 336 h. O FeBS reduziu a progressão da parasitemia a partir de 120 h em ambas as doses avaliadas. As análises histopatológicas demonstraram preservação mais evidente da arquitetura hepática e esplênica nos grupos tratados com FeBS, especialmente na dose de 750 µg/kg, associada à redução de infiltrado inflamatório e de estruturas compatíveis com pigmento malárico. Os resultados indicam que o FeBS apresenta efeito antimalárico parcial, retardando a progressão da infecção, preservando estruturas hepáticas e esplênicas e prolongando a sobrevida dos animais, evidenciando seu potencial para investigações futuras.

Palavras-chave: Quimioterapia; Metalocomplexo; *Plasmodium*.

ABSTRACT

Malaria, caused by protozoa of the genus *Plasmodium*, remains a major global public health problem, exacerbated by the emergence of strains resistant to available antimalarial drugs. The metal complex FeBS has previously demonstrated antiparasitic activity against *Toxoplasma gondii*, prompting an investigation into its antimalarial potential. In this study, the effect of FeBS was evaluated in an experimental model of *Plasmodium chabaudi* (strain AJ) infection in BALB/c mice. Animals were treated intraperitoneally with FeBS at doses of 500 and 750 µg/kg and compared with negative control (PBS) and positive control (chloroquine) groups. Parasitemia, survival, and histopathological changes in the liver and spleen were assessed. Survival analysis showed that all animals in the control group died within 216 hours post-infection, whereas chloroquine extended survival to 312 hours. FeBS treatment increased survival time, with final mortality observed at 288 hours; the 750 µg/kg dose showed the best performance. Regarding parasitemia, the control group exhibited continuous progression up to 264 hours, while chloroquine delayed parasite growth until 336 hours. FeBS reduced the progression of parasitemia starting at 120 hours at both doses tested. Histopathological analyses revealed better preservation of hepatic and splenic architecture in the FeBS-treated groups—particularly at the 750 µg/kg dose—associated with reduced inflammatory infiltration and fewer structures consistent with malarial pigment. These results indicate that FeBS exhibits a partial antimalarial effect by delaying infection progression, preserving hepatic and splenic structures, and extending animal survival, highlighting its potential for future research.

Keywords: Chemotherapy; Metallocomplex; *Plasmodium*.

Lista de Figuras e Tabelas

Figura 1 – Diagrama da ultraestrutura do merozoíto de *Plasmodium*.

Figura 2 – Ciclo de vida do *Plasmodium*.

Figura 3 – Número estimado de casos de malária mundial em 2022, segundo a Organização Mundial da Saúde.

Figura 4 – Situação da malária nas Américas.

Figura 5 – Representações estruturais do complexo [Fe(HL1)Cl_3] obtidas por diferentes abordagens.

Figura 6 – Avaliação da sobrevivência de camundongos machos *Balb/c* infectados com *Plasmodium chabaudi* durante quinze dias em quatro grupos experimentais.

Figura 7 – Avaliação comparativa da sobrevivência de camundongos machos *Balb/c i*nfectados com *Plasmodium chabaudi*.

Figura 8 – Níveis de parasitemia no sangue de camundongos machos *Balb/c* infectados com *Plasmodium chabaudi* submetidos a diferentes tratamentos.

Figura 9 – Cortes histológicos do baço de camundongos *Balb/c* infectados com *Plasmodium chabaudi*, obtidos por microscopia óptica de campo claro.

Figura 10 – Cortes histológicos do fígado de camundongos *Balb/c* infectados com *Plasmodium chabaudi*, obtidos por microscopia óptica de campo claro.

Figura 11 – Micrografias de microscopia de contraste de interferência diferencial (DIC) do fígado de camundongos Balb/c infectados com *Plasmodium chabaudi*.

Tabela 1 – Principais fármacos antimaláricos.

Tabela 1: Preparação das soluções e volumes administrados aos camundongos nos diferentes grupos experimentais.

Tabela 3 – Manifestações clínicas apresentadas por camundongos machos Balb/c infectados com *Plasmodium chabaudi* em quatro grupos experimentais, dentro de 144 horas após a infecção.

Lista de Abreviações

- **ACTs –** Terapias Combinadas com Artemisinina (*Artemisinin-based Combination Therapies*)
- **AJ –** Cepa AJ de *Plasmodium chabaudi*
- **Balb/c –** Linhagem de camundongos *Mus musculus*
- **CA –** Califórnia
- **CDC –** *Centers for Disease Control and Prevention*
- **DIC –** *Differential Interference Contrast* (Contraste de Interferência Diferencial)
- **ESI(+)-MS –** Espectrometria de Massas por Ionização por Electrospray em modo positivo
- **EUA –** Estados Unidos da América
- **FeBS –** Metalocomplexo [Fe(HL1)Cl_3]
- **HL1 –** Ligante N-2[(piridin-2-ilmetil)amino]etanol
- **OMS –** Organização Mundial da Saúde
- **OPAS –** Organização Pan-Americana da Saúde
- **PAHO –** *Pan American Health Organization*
- **PBS –** *Phosphate Buffered Saline* (Solução Salina Tamponada com Fosfato)
- **PEM –** Plano de Eliminação da Malária
- **RBM –** *Roll Back Malaria*
- **UV-Vis –** Ultravioleta-Visível
- **UENF –** Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
- **WHO –** *World Health Organization*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO..... 1
2 REVISÃO DE LITERATURA..... 2
2.1 Malária..... 2
2.2 Classificação Taxonômica..... 3
2.2.1 Plasmodium chabaudi como modelo experimental murino..... 4
2.3 Ciclo Biológico..... 5
2.4 Morfologia do Plasmodium..... 7
2.5 Meios de transmissão e sintomatologia..... 7
2.6 Epidemiologia..... 8
2.7 Estratégias atuais de tratamento contra malária..... 10
2.8 Metalocomplexos..... 12
2.8.1 Possíveis mecanismos de ação de compostos antimaláricos e metalocomplexos de ferro..... 13
2.8.2 Resistência do Plasmodium aos antimaláricos..... 15
2.8.3 Potencial antiparasitário do metalocomplexo FeBS..... 16
3. OBJETIVOS..... 18
3.1 Objetivo Geral..... 18
3.2 Objetivos Específicos..... 18
4 METODOLOGIA..... 19
4.1 Preparação do fármaco..... 19
4.2 Experimentação in vivo..... 19
4.3 Análise de Sobrevivência..... 20
4.4 Avaliação da parasitemia e parâmetros clínicos..... 20
4.5 Análise histológica dos órgãos..... 21
4.6 Microscopia de Contraste de Interferência Diferencial (DIC)..... 21
5 RESULTADOS..... 21
5.1 Curva de Sobrevivência (Kaplan–Meier)..... 21
5.2 Parasitemia..... 24
5.3 Manifestações clínicas..... 25
5.4 Histologia do fígado e baço..... 26
5.5 Microscopia DIC de fígado de camundongo Balb/c infectado com P. chabaudi..... 29
6 DISCUSSÃO..... 31
7 CONCLUSÃO..... 35
8 REFERÊNCIAS..... 36

1 INTRODUÇÃO

A malária é uma doença infecciosa parasitária com grande impacto global, provocada por protozoários do gênero *Plasmodium* e transmitida principalmente pela picada da fêmea contaminada do mosquito *Anopheles* (WHO, 2023) . Embora haja progressos no diagnóstico, tratamento e prevenção, a doença continua sendo um dos maiores desafios de saúde pública em áreas tropicais e subtropicais, impactando principalmente grupos vulneráveis em países de média e baixa renda (WHO, 2024). De acordo com informações da Organização Mundial da Saúde, são registrados anualmente centenas de milhões de casos, com alta taxa de morbimortalidade, principalmente entre crianças com menos de cinco anos (WHO, 2023).

O surgimento e a propagação da resistência do *Plasmodium* aos medicamentos antimaláricos disponíveis têm prejudicado consideravelmente os esforços globais no combate à malária (Guiguemde *et al.*, 2012). A diminuição da eficácia da cloroquina e, mais recentemente, a resistência parcial aos derivados da artemisinina constituem um desafio terapêutico significativo, colocando em risco os progressos alcançados nas últimas décadas (Witkowsi *et al.*, 2017). Esse contexto destaca a limitação das abordagens terapêuticas tradicionais e enfatiza a necessidade urgente de novos compostos com mecanismos de ação inovadores e maior eficácia contra cepas resistentes (Guiguemde *et al.,* 2012).

Nesse cenário, a pesquisa e o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas têm focado em compostos com potencial anti-malária (Tisato *et al.*, 2018). Os metalocomplexos, particularmente os que são baseados em metais de transição, têm mostrado um alto potencial antiparasitário, sendo os complexos com ferro os mais destacados (Lobana *et al.*, 2017). Esses compostos possuem características químicas e biológicas distintas, como capacidade redox, estabilidade estrutural e interação com biomoléculas do parasita, o que pode afetar processos metabólicos fundamentais, como a detoxificação do heme e a formação da hemozoína (Komada *et al.*, 2018).

Plasmodium, em especial, tem uma grande necessidade biológica de ferro, pois o parasita depende fortemente do metabolismo do heme para digerir a hemoglobina nos eritrócitos (Costa *et al.,* 2020). Complexos de ferro têm mostrado capacidade de induzir estresse oxidativo seletivo no parasita e amplificar os efeitos tóxicos intracelulares, o que justifica seu uso como centro metálico em novas

abordagens terapêuticas (Botini *et al.,* 2021). Pesquisas recentes indicam que metalocomplexos à base de ferro podem operar por mecanismos diferentes dos antimaláricos tradicionais, diminuindo a chance de resistência cruzada (Moreira *et al.*, 2021).

A utilização de modelos experimentais bem estabelecidos é fundamental para avaliar a eficácia de novos compostos antimaláricos (Borges *et al.,* 2015). Dentro deste cenário, o *Plasmodium chabaudi* se destaca como um modelo murino frequentemente utilizado em pesquisas *in vivo*, devido à semelhança de seu ciclo eritrocítico com o de *P. falciparum,* à consistência da infecção e à capacidade de realizar uma avaliação específica da parasitemia, resposta imunológica e toxicidade do tratamento. Esse modelo possibilita a avaliação conjunta dos efeitos farmacológicos e fisiopatológicos dos compostos em teste, servindo como uma ferramenta sólida para pesquisas pré-clínicas (Stephens *et al.,* 2012).

Nesse contexto, este estudo propõe avaliar *in vivo* a atividade anti-*Plasmodium* do metalocomplexo FeBS, verificando sua capacidade de reduzir a parasitemia em camundongos infectados por *Plasmodium chabaudi*. Ao investigar um composto à base de ferro com potencial mecanismo de ação inovador, o estudo pretende ampliar o conhecimento sobre metalofármacos aplicados à malária e subsidiar o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes e sustentáveis para o enfrentamento da malária, cuja persistência reflete iniquidades estruturais e limitações no acesso a diagnóstico, prevenção e tratamento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Malária

A malária é uma doença infecciosa aguda provocada por protozoários do gênero *Plasmodium*, sendo transmitida principalmente por meio da picada da fêmea contaminada do mosquito *Anopheles*. A doença é vista como um dos maiores desafios de saúde pública nos países tropicais, particularmente na região da África Subsaariana, na Ásia e na América do Sul. A forma mais grave da infecção é causada pelo *Plasmodium falciparum*, que pode levar a complicações neurológicas, insuficiência renal e morte (WHO, 2024). Por outro lado, o *Plasmodium vivax*, que é predominante no Brasil, causa recorrências frequentes devido à formação de hipnozoítos no fígado (CDC, 2024).

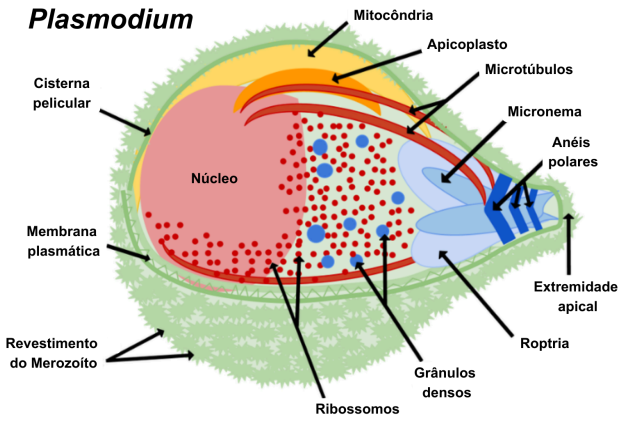
De acordo com o mais recente relatório da Organização Mundial da Saúde (OMS), publicado em 2024, estima-se que em 2022 houve cerca de 249 milhões de casos de malária e 608 mil óbitos, o que representa um aumento considerável em comparação com o ano anterior. A maior parte das mortes acontece em crianças com menos de cinco anos, sobretudo na África. Além disso, em várias áreas, a resistência aos tratamentos tradicionais, a dificuldade de acesso aos serviços de saúde e as condições ambientais propícias à multiplicação do vetor tornam o controle da doença mais desafiador (Thipubon *et al*., 2015).

A eliminação da doença ainda encontra grandes desafios, apesar dos esforços de iniciativas globais como o *Roll Back Malaria (RBM) Partnership to End Malaria*, maior plataforma global de ação coordenada contra a malária, e o *Global Fund,* fundo global de combate à AIDS, tuberculose e malária. A erradicação é dificultada pela grande variabilidade genética do parasita, sua habilidade de desenvolver resistência a medicamentos e inseticidas, além dos obstáculos logísticos em regiões endêmicas. Assim, o desenvolvimento de novas vacinas, estratégias terapêuticas e métodos de diagnóstico rápido é essencial para combater a malária nas próximas décadas (Guiguemde *et al.*, 2012; Van Rijt; Sadler, 2009)

2.2 Classificação Taxonômica

O gênero *Plasmodium*, causador da malária, faz parte do Reino Protista, Filo Apicomplexa, Classe Aconoidasida, Ordem Haemosporida, Família Plasmodiidae e Gênero *Plasmodium*. Essa classificação taxonômica possui aspectos morfológicos, genéticos e do ciclo de vida dos seres vivos. O filo Apicomplexa engloba protozoários parasitas que vivem dentro das células hospedeiras de forma obrigatória, possuindo um complexo apical (Figura 1) que auxilia na penetração dessas células (Komada *et al.*, 2018; Delpe Acharige *et al.*, 2018).

Figura 1: Diagrama da ultraestrutura do merozoíto de *Plasmodium*.



Fonte: Adaptado de Wheeler (2009) (Originalmente do CDC, domínio público).

Cinco espécies de *Plasmodium* são identificadas como responsáveis pela malária em humanos: *P. falciparum, P. vivax, P. malariae, P. ovale* e *P. knowlesi.* A espécie *P. falciparum* é a mais mortal entre elas e causa a maioria das mortes. *P. vivax*, apesar de menos agressivo, tem a habilidade de criar hipnozoítos hepáticos dormentes, que são responsáveis pelas recaídas da doença (Borges *et al.*, 2015; Thipubon *et al*., 2015). Além das espécies que infectam humanos, há aquelas que afetam aves (*P. relictum)*, répteis (*P. rhadinurum)* e roedores (*P. chabaudi).* Este último é frequentemente usado em modelos experimentais murinos por sua semelhança com o ciclo sanguíneo humano do *P. falciparum* (Stephens *et al.,* 2012).

2.2.1 *Plasmodium chabaudi* como modelo experimental murino

Plasmodium chabaudi é uma espécie de protozoário do filo Apicomplexa que infecta roedores e tem sido frequentemente usada como modelo experimental *in vivo* para pesquisas sobre malária (Stephens *et al.,* 2012). Esse parasita exibe propriedades biológicas e patológicas que imitam aspectos significativos da infecção por *Plasmodium falciparum* em humanos, incluindo a dinâmica da parasitemia e a progressão da anemia (Langhorne *et al.,* 2019). Além disso, a infecção por *P. chabaudi* possibilita a análise das respostas inflamatórias sistêmicas relacionadas à gravidade da doença, fazendo dele um modelo amplamente reconhecido para pesquisas fisiopatológicas (Lamb *et al.,* 2015).

Uma das principais vantagens do uso de *P. chabaudi* é a capacidade de monitorar de maneira controlada a evolução da infecção em camundongos imunocompetentes, o que possibilita análises detalhadas da resposta imunológica do hospedeiro e da eficácia de novos compostos antimaláricos (Biot *et al.,* 2011). Esse modelo exibe um ciclo eritrocítico bastante sincronizado, o que simplifica a análise temporal da parasitemia e a relação com os efeitos farmacológicos observados *in vivo* (Moore *et al.,* 2011). Assim, *P. chabaudi* é frequentemente empregado em estudos pré-clínicos para a triagem inicial de potenciais fármacos antimaláricos (Hunt *et al.,* 2024).

O modelo murino com *P. chabaudi* também é frequentemente utilizado em pesquisas sobre a imunopatogênese da malária, pois permite o estudo dos processos de ativação das células imunológicas e da produção de citocinas

inflamatórias relacionadas ao controle da infecção e à patologia da doença (Lamb *et al.,* 2015). Pesquisas indicam que esse modelo desempenha um papel importante na compreensão das interações entre parasito e hospedeiro, além de ajudar na identificação de alvos terapêuticos relevantes (Langhorne *et al.,* 2019).

Embora ofereça vantagens experimentais, o uso de *P. chabaudi* tem suas limitações, pois é um parasita específico de roedores e não reproduz completamente todas as manifestações clínicas vistas em infecções humanas (Stephens *et al.,* 2012). Apesar disso, esse modelo é amplamente reconhecido na literatura científica como uma ferramenta sólida e ética para estudos experimentais *in vivo*, oferecendo dados importantes sobre a eficácia terapêutica e segurança de novos compostos antimaláricos, como os metalocomplexos (Hunt *et al.,* 2024).

Camundongos da linhagem *BALB/c* são frequentemente usados como hospedeiros em pesquisas de malária murina, devido ao seu perfil imunológico bem definido e à suscetibilidade controlada à infecção por *P. chabaudi* (Langhorne *et al.,* al., 2019). Essa linhagem exibe uma resposta imune adaptativa previsível, possibilitando a avaliação consistente da evolução da parasitemia, da resposta inflamatória e dos efeitos terapêuticos de novos compostos antimaláricos (Stephens *et al.,* 2012). Além disso, o uso de camundongos *BALB/c* favorece a reprodutibilidade dos resultados *in vivo*, sendo amplamente reconhecido como modelo experimental em pesquisas pré-clínicas de eficácia e segurança farmacológica (Hunt *et al.,* 2024).

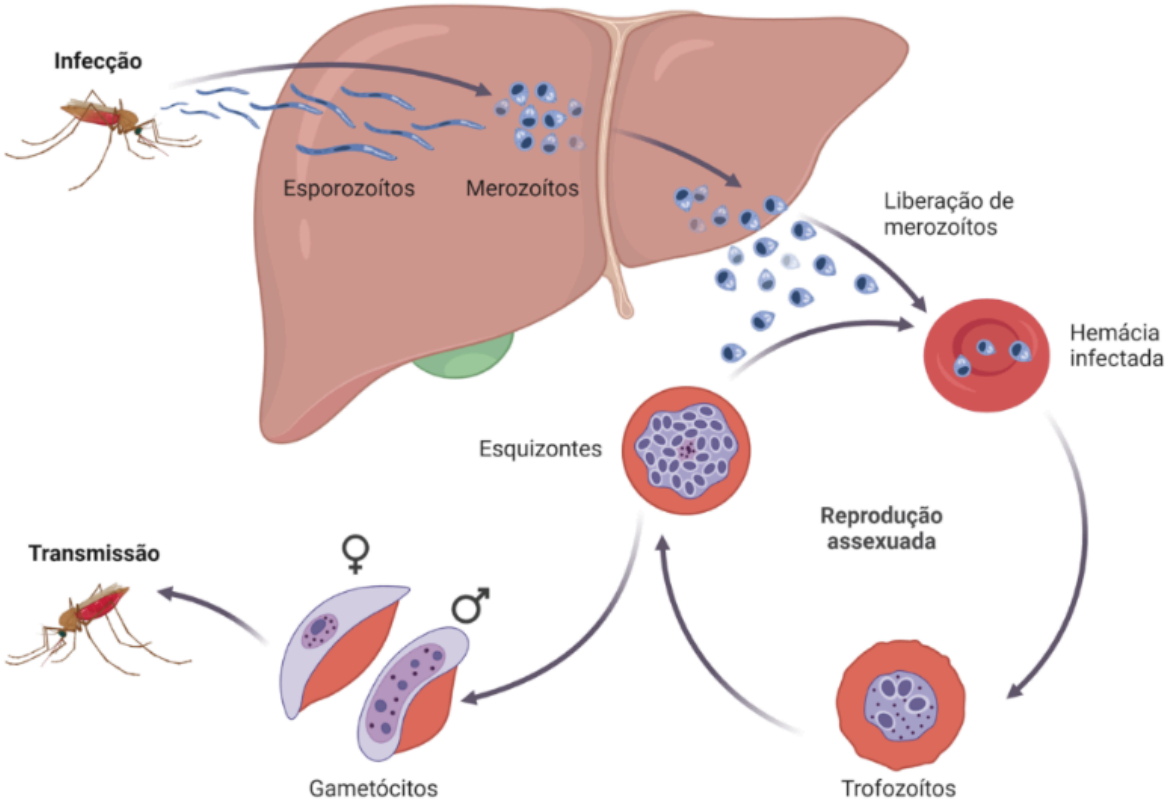
2.3 Ciclo Biológico

O ciclo biológico do *Plasmodium* é complexo e requer dois hospedeiros: humanos e fêmeas do mosquito Anopheles (Figura 2). A infecção começa quando o mosquito transfere esporozoítos para a corrente sanguínea humana durante a picada. Estes esporozoítos se deslocam rapidamente para o fígado, onde invadem os hepatócitos e se transformam em esquizontes hepáticos, um processo denominado fase exoeritrocítica. Depois de amadurecer, os esquizontes liberam milhares de merozoítos, que invadem os eritrócitos e iniciam a fase eritrocítica (CDC, 2024; Batista *et al.,* 2015).

Na fase eritrocítica, o parasita transita por diversas formas: anel, trofozoíto e esquizonte. Os sintomas clínicos da malária, como febre e calafrios cíclicos, são causados pela ruptura dos eritrócitos e liberação de novos merozoítos. Uma parte

dos parasitas se transforma em gametócitos, que representam as formas sexuais do parasita. Ao picar uma pessoa infectada, o mosquito consome os gametócitos, que se desenvolvem em seu intestino. O ciclo sexual é finalizado com a produção de esporozoítos, que se deslocam para as glândulas salivares do inseto (Menard & Djalle, 2022; Aly *et al.*, 2023).

Figura 2: Ciclo de vida do *Plasmodium.*



Fonte: NEVES, D. P. *Parasitologia humana*. 13. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2016.

Espécies como *P. vivax* e *P. ovale* têm uma característica típica: alguns esporozoítos podem ficar inativos no fígado, dando origem aos chamados hipnozoítos, que podem ser reativados semanas ou meses depois da infecção inicial, causando recaídas. Essa particularidade torna o tratamento e a gestão da transmissão mais desafiadores. Em modelos murinos, como o *P. chabaudi*, o ciclo eritrocítico é claramente estabelecido, com um pico de parasitemia entre o quinto e o sétimo dia após a infecção. Esse modelo é amplamente utilizado em experimentos *in vivo* para avaliar compostos antimaláricos (Biot *et al.*, 2011).

2.4 Morfologia do *Plasmodium*

Os estágios de desenvolvimento do parasita em seus hospedeiros são representados pelas diferentes formas morfológicas do *Plasmodium*. O parasita se encontra no interior do mosquito na forma de esporozoíto, uma estrutura alongada e móvel que é transmitida ao hospedeiro vertebrado durante a alimentação sanguínea. No fígado humano, os esporozoítos se convertem em esquizontes hepáticos, estruturas com múltiplos núcleos que liberam merozoítos, dando início à infecção no sangue (Borges *et al.,* 2015; Thipubon *et al.*, 2015).

Os merozoítos são formas pequenas e ovais que invadem os eritrócitos. Dentro das hemácias, eles se desenvolvem primeiramente em trofozoítos, que têm forma de anel. Em seguida, crescem e se transformam em esquizontes maduros. Quando esses esquizontes rompem os eritrócitos, liberam novos merozoítos. Esse ciclo se repete e está diretamente ligado aos sintomas cíclicos da doença. Algumas formas se transformam em gametócitos, as formas sexuais que o mosquito vetor ingere (França *et al.,* 2008).

Além do mais, a produção de hemozoína se destaca. Esse pigmento é formado pela biocristalização do heme tóxico, que é liberado durante a digestão da hemoglobina. Esse processo acontece principalmente em *P. falciparum* e é um dos principais alvos de tratamento. A hemozoína se apresenta como grânulos escuros no vacúolo digestivo do parasita, constituindo um relevante aspecto morfológico para o diagnóstico microscópico. Em modelos murinos, como o *P. chabaudi*, essas mesmas características são evidenciadas, o que confirma sua aplicação em pesquisas pré-clínicas (Heppner *et al.*, 1988; Stephens *et al.,* 2012).

2.5 Meios de transmissão e sintomatologia

A picada da fêmea infectada do mosquito *Anopheles* é a principal forma de transmissão da malária, que injeta esporozoítos de *Plasmodium* na corrente sanguínea do hospedeiro. Além disso, embora menos frequentes, a transmissão pode ocorrer por meio de transfusão de sangue, uso de seringas contaminadas ou da mãe para o feto durante a gestação. No Brasil, o principal vetor é a espécie *Anopheles darlingi*, particularmente na região amazônica (CDC, 2024).

Os primeiros sintomas da malária costumam aparecer de 10 a 15 dias após a infecção e incluem febre alta, calafrios, sudorese, dor de cabeça, mialgia, náuseas e vômitos. Esses sintomas são inespecíficos e podem ser confundidos com outras

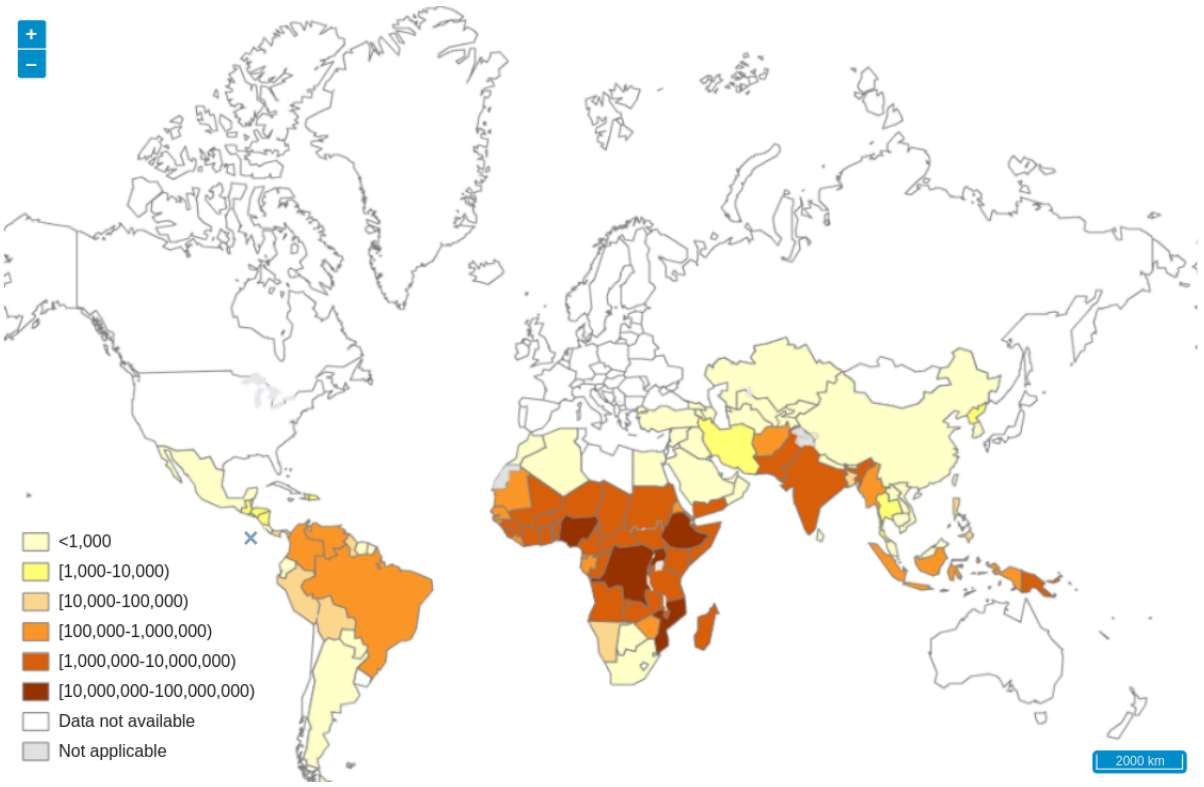
doenças infecciosas, o que torna o diagnóstico precoce mais difícil. A frequência da febre é definida pelo ciclo de multiplicação dos glóbulos vermelhos pelo parasita: 48 horas em *P. falciparum* e *P. vivax*, e 72 horas em *P. malariae* (Stephens *et al.,* 2012).

As manifestações mais graves da doença incluem malária cerebral, anemia intensa, edema pulmonar e insuficiência renal. Se não for tratada a tempo, a malária causada por *P. falciparum* pode levar à morte de forma rápida. Infecções por *P. vivax*, apesar de geralmente não serem fatais, podem levar a morbidade prolongada, recaídas e efeitos sociais consideráveis. A identificação precoce e o início imediato do tratamento são fundamentais para prevenir complicações e diminuir a transmissão (Kannan *et al.*, 2019).

2.6 Epidemiologia

A malária continua sendo uma das doenças infecciosas mais comuns e mortais do planeta. Segundo o relatório mais recente da Organização Mundial da Saúde (2024), em 2022 foram registrados cerca de 249 milhões de casos (Figura 3) e 608 mil óbitos. Aproximadamente 95% dessas mortes ocorrem na África Subsaariana, com crianças menores de cinco anos sendo o grupo mais afetado. A pobreza, a instabilidade política, o acesso restrito a cuidados de saúde e as condições ambientais propícias à multiplicação do vetor são algumas das causas (WHO, 2024).

Figura 3: Número estimado de casos de malária mundial em 2022, segundo a Organização Mundial da Saúde.



Fonte: Adaptado da Organização Mundial da Saúde (OMS). Disponível em: https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/estimated-number-of-malaria-cases. Acesso em: 08 jan. 2026.

O Brasil é o país sulamericano com o maior número de casos, sendo mais comum na região amazônica (Figura 4). *P. vivax* é responsável pela maior parte das infecções registradas, embora haja casos de *P. falciparum*, principalmente em regiões de fronteira com países como Venezuela e Guiana. Iniciativas como o Plano de Eliminação da Malária no Brasil (PEM) visam diminuir a incidência por meio de medidas de diagnóstico precoce, tratamento ágil e controle de vetores (Ministério da Saúde, 2023).

Figura 4: Situação da malária nas Américas.



Fonte: Adaptado da Organização Pan-Americana da Saúde (PAHO/OPAS). Disponível em: https://www.paho.org/pt/topicos/malaria. Acesso em:Acesso em: 08 jan. 2026.

Embora tenham ocorrido avanços consideráveis nos últimos 20 anos, o progresso no combate à malária estagnou a partir de 2015. O surgimento de resistência aos medicamentos antimaláricos, alterações climáticas, migrações populacionais e diminuição do financiamento internacional são indicados como fatores desse retrocesso. A pesquisa por novas vacinas e estratégias terapêuticas continua sendo uma prioridade global (Prenen; Van Den Steen, 2025).

2.7 Estratégias atuais de tratamento contra malária

A espécie do *Plasmodium*, a gravidade da condição clínica, a região onde a infecção foi contraída e a existência de resistência medicamentosa são fatores que determinam o tratamento da malária. No momento, a Organização Mundial da Saúde indica o uso de terapias combinadas com artemisinina (ACTs) como tratamento de primeira linha para infecções por *P. falciparum*. Essas combinações incluem arteméter-lumefantrina, artesunato-amodiaquina, artesunato-mefloquina, entre outras (WHO, 2024).

As ACTs combinam uma derivada da artemisinina, que atua de forma rápida e potente, com outro medicamento de meia-vida mais longa, que elimina os parasitas remanescentes e previne recaídas. Pesquisas indicam que esse tratamento diminui consideravelmente a mortalidade e a parasitemia em regiões endêmicas, inclusive em pacientes com formas graves da doença (Ferrer *et al.*, 2012; Castberg *et al.*, 2018).

Além das ACTs, são empregados outros medicamentos como cloroquina (ainda eficaz contra *P. vivax* em certas áreas), primaquina (para eliminar hipnozoítos hepáticos), quinina, atovaquona-proguanil e sulfadoxina-pirimetamina (Tabela 1). No Brasil, o tratamento segue as diretrizes do Ministério da Saúde, que recomenda terapias combinadas específicas para *P. vivax* e *P. falciparum*, com um esquema supervisionado para assegurar a adesão. No entanto, a crescente resistência do parasita aos medicamentos tradicionais torna urgente a necessidade de novos agentes antimaláricos com mecanismos de ação distintos (Guiguemde *et al.*, 2012; (Van Rijt; Sadler, 2009).

Tabela 1: Principais fármacos antimaláricos.

Fármaco	**Indicação**
Cloroquina	Tratamento e quimioprofilaxia da infecção por parasitas sensíveis.
Primaquina	Cura radical e profilaxia terminal das infecções por *P. vivax* e *P. ovale;* quimioprofilaxia alternativa para todas as espécies.
Quinina	Tratamento oral e intravenoso das infecções por *P. falciparum.*
Atovaquona-proguanil	Tratamento e quimioprofilaxia da infecção por *P. falciparum.*
Sulfadoxina-pirimetamina	Tratamento das infecções por algum *P. falciparum* resistentes à cloroquina, incluindo combinações com

	artesunato; terapia preventiva intermitente das regiões endêmicas.
Artemisininas (ACTs)	Tratamento das infecções por *P. falciparum;* terapias combinadas orais para a doença não complicada; artesunato intravenoso para doenças graves.

Fonte: Adaptado de KATZUNG, B. G.; TREVETHAN, P. *Farmacologia Básica e Clínica*. 12. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2014.

2.8 Metalocomplexos

O uso de metalocomplexos na terapia antimalárica tem se destacado como uma abordagem promissora diante do aumento da resistência às drogas tradicionais. Esses compostos, que incluem metais de transição coordenados a ligantes bioativos, apresentam propriedades distintas, como atividade redox ajustável, estabilidade estrutural e habilidade para interagir com biomoléculas do parasita. Vários estudos mostram que complexos com ferro, cobre, rutênio, ouro e zinco exibem uma atividade antiplasmódica considerável, até mesmo contra cepas resistentes (Komada *et al.*, 2018; Delpe Acharige *et al.,* 2018).

Um dos exemplos mais estudado é a ferroquina, um composto de ferroceno originado da cloroquina, que demonstra eficácia contra cepas resistentes de *P. falciparum.* A incorporação do núcleo metálico eleva a lipofilicidade, aprimora a penetração nas membranas celulares e facilita a produção de espécies reativas de oxigênio, as quais prejudicam as estruturas intracelulares do parasita. Ademais, a formação da hemozoína pode ser diretamente afetada pelo ferro, o que intensifica a toxicidade do heme acumulado nas hemácias contaminadas (Fricker, 2007).

Além da atividade antiparasitária, os metalocomplexos apresentam uma ampla variedade de efeitos biológicos que despertam interesse farmacológico. A presença de um centro metálico coordenado a ligantes orgânicos pode modificar propriedades como lipofilicidade, estabilidade química, biodisponibilidade e interação com biomoléculas celulares. Essas características permitem que os metalocomplexos atuem em diferentes alvos biológicos, incluindo proteínas, enzimas, membranas celulares e ácidos nucleicos. Em consequência, diversos compostos metálicos têm sido investigados quanto às suas atividades

antimicrobiana, antifúngica, antiviral, antitumoral e antiparasitária (Ndagi *et al.,* 2017; Frei, 2020).

No contexto das doenças parasitárias, os metalocomplexos apresentam potencial para interferir em processos metabólicos essenciais dos protozoários, incluindo mecanismos relacionados ao estresse oxidativo, metabolismo energético e manutenção da homeostase celular. Estudos demonstram que a coordenação de moléculas bioativas a metais de transição pode aumentar a eficácia antiparasitária quando comparada aos ligantes livres, além de favorecer a superação de mecanismos de resistência observados para alguns fármacos convencionais (Gasser; Metzler-Nolte, 2012; Navarro *et al.*, 2017).

Diversos metalocomplexos vêm sendo avaliados especificamente contra espécies de Plasmodium. Complexos contendo ferro, rutênio, cobre, ouro e zinco demonstraram atividade antiplasmódica significativa em modelos *in vitro* e *in vivo*, incluindo cepas resistentes aos tratamentos convencionais (Biot *et al.*, 2011). Entre esses compostos, destacam-se os derivados ferrocênicos, como a ferroquina, que apresentaram elevada eficácia contra *Plasmodium falciparum* resistente à cloroquina (Chibale *et al.,* 2003). Os resultados sugerem que a incorporação de centros metálicos pode potencializar a atividade antimalárica por meio da interferência no metabolismo do heme, geração de espécies reativas de oxigênio e alterações na homeostase redox do parasito (Delhaes *et al.,* 2022).

Nesse trabalho, o complexo FeBS se apresenta como um possível candidato a medicamento antimalárico, devido à presença de ferro em sua estrutura central e um ligante com potencial atividade bioativa. Pesquisas in vivo utilizando modelos murinos infectados por *P. chabaudi* podem possibilitar a análise de sua eficácia na diminuição da parasitemia, além de sua toxicidade e seletividade (Adepoju *et al.*, 2022). Estudos anteriores sugerem que complexos de ferro semelhantes apresentam forte atividade antiplasmódica e baixa toxicidade em mamíferos, destacando a relevância de investigar de forma sistemática compostos como o FeBS (Chuljerm *et al.*, 2022).

2.8.1 Possíveis mecanismos de ação de compostos antimaláricos e metalocomplexos de ferro

Os fármacos atualmente utilizados no tratamento da malária atuam por diferentes mecanismos sobre o parasito. A cloroquina, por exemplo, acumula-se no

vacúolo digestivo do *Plasmodium* e interfere na conversão do heme livre em hemozoína. Como o heme liberado durante a digestão da hemoglobina é altamente tóxico, sua acumulação provoca danos celulares e leva à morte do parasito. Já os derivados da artemisinina atuam principalmente por meio da geração de espécies reativas de oxigênio após interação com ferro proveniente do metabolismo da hemoglobina, causando danos oxidativos a proteínas, membranas e outros componentes celulares essenciais do parasito (Wellems; Plowe, 2001; Tu, 2011).

Outros antimaláricos, como atovaquona-proguanil e primaquina, atuam em alvos distintos. A atovaquona interfere na cadeia respiratória mitocondrial do parasito, enquanto a primaquina apresenta atividade sobre formas hepáticas e gametócitos, contribuindo para a interrupção da transmissão e prevenção de recaídas associadas a espécies formadoras de hipnozoítos. A diversidade de mecanismos de ação demonstra a complexidade biológica do parasito e evidencia a necessidade contínua do desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas capazes de contornar os fenômenos de resistência farmacológica (Goodman; Gilman, 2018; WHO, 2024).

Embora o mecanismo de ação do FeBS não tenha sido investigado diretamente no presente estudo, a literatura sugere que complexos de ferro podem exercer atividade antiplasmódica por diferentes vias. Entre os mecanismos propostos destacam-se a geração de espécies reativas de oxigênio, a interferência na detoxificação do heme, alterações no equilíbrio redox intracelular e possíveis interações com biomoléculas essenciais ao metabolismo do parasito. A presença do centro metálico pode favorecer reações de oxidação-redução capazes de intensificar o estresse oxidativo, levando a danos celulares incompatíveis com a sobrevivência do Plasmodium (Fricker, 2007; Chuljerm *et al.,* 2022).

Além disso, complexos de ferro podem apresentar propriedades físico-químicas que favorecem sua internalização celular e interação com compartimentos intracelulares do parasito. Estudos envolvendo compostos ferrocênicos demonstram que a incorporação do metal pode aumentar a lipofilicidade molecular e potencializar a atividade antiparasitária quando comparada aos compostos orgânicos correspondentes. Dessa forma, os efeitos observados para o FeBS neste estudo podem estar relacionados a mecanismos semelhantes, hipótese que deverá ser investigada em estudos futuros voltados à elucidação de seus alvos moleculares e vias de ação.

2.8.2 Resistência do *Plasmodium* aos antimaláricos

A resistência aos antimaláricos representa atualmente um dos principais desafios para o controle global da malária, comprometendo a eficácia dos tratamentos disponíveis e dificultando os esforços de eliminação da doença (Ashley *et al*., 2014). Esse fenômeno resulta da capacidade adaptativa do parasito frente à pressão seletiva exercida pelo uso contínuo dos fármacos, favorecendo a sobrevivência e a disseminação de linhagens resistentes (Wellems; Plowe, 2001).

A cloroquina foi um dos primeiros antimaláricos amplamente afetados por esse processo (Wellems; Plowe, 2001). A resistência de *Plasmodium falciparum* à cloroquina está associada principalmente a mutações no gene *pfcrt* (*Plasmodium falciparum chloroquine resistance transporter*), responsável por codificar uma proteína transportadora localizada na membrana do vacúolo digestivo do parasito (Fidock *et al.*, 2000). Essas alterações reduzem o acúmulo intracelular do fármaco no local onde exerce sua atividade, diminuindo sua eficácia terapêutica (Fidock *et al.*, 2000).

Além da cloroquina, casos de resistência também foram descritos para outros antimaláricos, incluindo sulfadoxina-pirimetamina, mefloquina e atovaquona (White, 2004). Em muitos casos, a resistência está relacionada a mutações em proteínas-alvo ou em sistemas de transporte que reduzem a concentração intracelular dos fármacos, permitindo a sobrevivência do parasito mesmo durante o tratamento (White, 2004).

Nas últimas décadas, a introdução das terapias combinadas à base de artemisinina (ACTs) representou um importante avanço no tratamento da malária (WHO, 2024). Entretanto, relatos de atraso na depuração parasitária após o tratamento com derivados da artemisinina foram inicialmente observados no Sudeste Asiático, levantando preocupações quanto ao surgimento de resistência parcial a essa classe de medicamentos (Ashley *et al.*, 2014). Estudos demonstraram associação entre esse fenômeno e mutações no gene *kelch13*, atualmente considerado um importante marcador molecular de resistência à artemisinina (Ariey *et al*., 2014).

Embora a resistência completa às ACTs ainda não esteja amplamente disseminada, a expansão geográfica de cepas com sensibilidade reduzida representa uma ameaça significativa à saúde pública mundial (WHO, 2024). Nesse contexto, o desenvolvimento de novos compostos com mecanismos de ação

distintos torna-se fundamental para ampliar o arsenal terapêutico disponível e reduzir o impacto da resistência farmacológica sobre o controle da malária (Guiguemde *et al.*, 2012).

Os metalocomplexos surgem como uma alternativa promissora nesse cenário, uma vez que frequentemente apresentam múltiplos alvos celulares e mecanismos de ação distintos daqueles observados nos antimaláricos convencionais (Gasser; Metzler-Nolte, 2012). Essa característica pode dificultar o estabelecimento de mecanismos de resistência pelo parasito, além de possibilitar atividade contra linhagens resistentes aos tratamentos atualmente disponíveis (Biot *et al.*, 2011; Delpech-Acharige *et al.*, 2018). Dessa forma, a investigação de novos metalocomplexos, incluindo compostos à base de ferro, representa uma estratégia relevante para o desenvolvimento de futuras abordagens terapêuticas contra a malária.

2.8.3 Potencial antiparasitário do metalocomplexo FeBS

Entre os metalocomplexos de ferro investigados pelo grupo de pesquisa, destaca-se o FeBS, um complexo de Fe(III) coordenado ao ligante HL1, cuja caracterização estrutural, espectroscópica e química foi previamente descrita por Cardoso *et al.* (2022).

O metalocomplexo [Fe(HL1)Cl_3], denominado FeBS, foi criado como parte de uma abordagem para investigar compostos de coordenação com possível atividade antiparasitária. O complexo é constituído pela coordenação do ligante tridentado HL1 (N-2[(piridin-2-ilmetil)amino]etanol) ao íon Fe(III), em combinação com três íons cloreto, o que leva a uma estrutura de coordenação hexacoordenada (Figura 5 - A). A síntese foi realizada pela reação do HL1 com $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ em metanol (Figura 5 - B), sob refluxo, resultando em cristais amarelos claros com rendimento de 26% (Cardoso *et al.*, 2022).

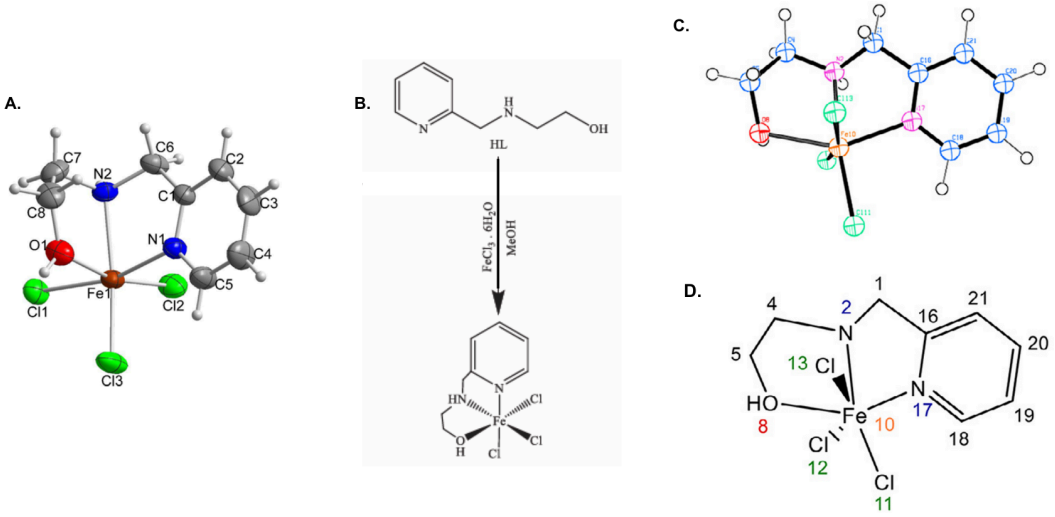
A difração de raios X de monocristal confirmou a caracterização estrutural do FeBS (Figura 5 - C, D), mostrando uma geometria octaédrica distorcida ao redor do íon Fe(III). O ferro central se coordena ao nitrogênio piridínico (N1), ao nitrogênio da amina secundária (N2) e ao grupo hidroxila (O1) do HL1, bem como a três íons cloreto (Cl1, Cl2 e Cl3). As distâncias entre Fe e ligantes variaram de 2,149 Å (Fe–N1) a 2,349 Å (Fe–Cl1), e os ângulos internos confirmaram a distorção da geometria ideal (CARDOSO *et al.,* 2022). A espectroscopia de Mössbauer confirmou

esses dados, revelando um duplo paramagnético com leve desdobramento quadrupolar, o que é compatível com um complexo de Fe(III) em estado de alto spin.

Além da caracterização estrutural, o FeBS passou por análises espectroscópicas e eletroquímicas, como espectros UV-Vis, espectroscopia de massa ESI(+)-MS e voltametria cíclica. Os dados coletados confirmam a estabilidade do complexo em solução e sugerem uma interação relevante entre o centro metálico e o ligante HL1. A combinação do ferro com o HL1 proporciona ao complexo características vantajosas, como maior lipofilicidade, estabilidade química e capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio. Essas propriedades justificam sua análise como composto modelo nesta dissertação, com o objetivo de verificar sua eficácia *in vivo* contra *Plasmodium chabaudi* (CARDOSO *et al.,* 2022). Devido a sua estabilidade química e propriedades estruturais favoráveis, esse composto apresentou atividade biológica promissora frente ao protozoário *Toxoplasma gondii*, reduzindo significativamente a proliferação do parasito e demonstrando baixa citotoxicidade em células hospedeiras, o que reforçou seu potencial como candidato para o desenvolvimento de novos agentes antiparasitários (Cardoso *et al.*, 2022).

Embora, até o momento, não existam estudos descrevendo a atividade do FeBS contra espécies do gênero *Plasmodium*, as evidências disponíveis para esse composto, associadas aos resultados obtidos para outros metalocomplexos de ferro com atividade antiplasmódica, sustentam a hipótese de que o FeBS possa atuar sobre alvos celulares importantes para a sobrevivência do parasito. Dessa forma, considerando o potencial biológico previamente demonstrado contra *T. gondii* e o crescente interesse na aplicação de metalocomplexos como agentes antimaláricos, o presente estudo buscou investigar, pela primeira vez, o efeito do FeBS em um modelo experimental de infecção por *Plasmodium chabaudi*.

Figura 5: Representações estruturais do complexo [Fe(HL1)Cl_3] obtidas por diferentes abordagens. (A) Estrutura cristalográfica do complexo, evidenciando o ambiente de coordenação do átomo central de ferro. (B) Esquema reacional de síntese do complexo [Fe(HL1)Cl_3] a partir do ligante HL1. (C) Modelo estrutural tridimensional do complexo, destacando a geometria de coordenação e a disposição espacial dos átomos. (D) Representação esquemática do complexo com numeração dos átomos para fins de identificação estrutural.



Fonte: Adaptado de Journal of Molecular Biology, v. 435, p. 167783, 2022, “Structural and mechanistic insights into coordination of Fe(III) by HL1: synthesis, crystal structure, spectroscopy and biological evaluation”, *ScienceDirect*, ELSEVIER.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito *in vivo* do metalocomplexo FeBS sobre a infecção por *Plasmodium chabaudi* em camundongos *Balb/c*, considerando aspectos parasitológicos, de sobrevivência, manifestações clínicas e mudanças histopatológicas no fígado.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito do tratamento com FeBS sobre a parasitemia em camundongos Balb/c infectados por *Plasmodium chabaudi*.
- Comparar a sobrevivência dos animais tratados com FeBS aos grupos controle negativo (PBS) e controle positivo (cloroquina).
- Avaliar o efeito do tratamento com FeBS sobre as manifestações clínicas da infecção.
- Avaliar as alterações histopatológicas e a deposição de pigmento malárico nos tecidos dos animais experimentais.
- Comparar os efeitos observados entre os tratamentos com FeBS e cloroquina.

4 METODOLOGIA

4.1 Preparação do fármaco

O metalocomplexo FeBS foi sintetizado e caracterizado pelo grupo de química analítica da Universidade Federal de Santa Catarina, coordenado pelos professores Dr. Adolfo Horn Jr e Dra. Christiane Fernandes que observaram a possível aplicação biológica do composto. No laboratório, o fármaco solúvel em água foi solubilizado em PBS na concentração de 1g/1mL, filtrado com filtro de 0,22 micrômetros e armazenado a -20 ºC (Moreira *et al*., 2021).

4.2 Experimentação *in vivo*

A pesquisa foi realizada com camundongos *Mus musculus* da linhagem *BALB/c*, machos adultos (8 a 10 semanas), pesando aproximadamente 20–30 g, provenientes do Biotério da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura, umidade e ciclo claro/escuro (12 h/12 h) controlados, com acesso irrestrito à ração e água. A infecção experimental foi realizada por inoculação intraperitoneal de *Plasmodium chabaudi* (cepa AJ – letal). Após 48 h de infecção, iniciou-se o tratamento, com os animais distribuídos em quatro grupos (n = 10 por grupo). Os grupos tratados receberam o fármaco FeBS por via intraperitoneal, em volume final de 100 µL, com soluções preparadas na concentração de 1 mg/mL, sendo o volume ajustado de acordo com o peso corporal dos animais para obtenção das doses finais de 500 e 750 µg/kg, administradas a cada 12 h, nos horários de 7:00 e 19:00. O grupo controle (PBS) e o grupo cloroquina, na concentração de 1 mg/mL com dose final de 500 µg/kg, também receberam tratamento pelo mesmo esquema de administração, volume e horários. A sobrevivência dos camundongos foi monitorada por um período de até 15 dias após a infecção. As condições de saúde foram avaliadas diariamente por meio da observação de sinais clínicos, aspectos físicos e mobilidade dos animais durante o período experimental (Hunt *et al.*, 2024; Moore *et al*., 2011). Apesar da ampla utilização das terapias combinadas à base de artemisinina (ACTs) na prática clínica, a cloroquina permanece como um dos antimaláricos mais estudados experimentalmente, devido ao seu mecanismo de ação bem caracterizado, ampla disponibilidade e histórico consolidado de uso em modelos experimentais de infecção por *Plasmodium*. Em estudos pré-clínicos, a cloroquina é frequentemente empregada como controle positivo para comparação

da atividade de novos compostos candidatos, permitindo a avaliação do potencial antimalárico relativo das moléculas investigadas. Além disso, sua ação sobre o metabolismo do heme constitui um importante parâmetro de referência para a investigação de compostos que possam atuar por mecanismos semelhantes ou complementares (Wellems; Plowe, 2001; Biot *et al.,* 2011).

Tabela 2: Preparação das soluções e volumes administrados aos camundongos nos diferentes grupos experimentais

GRUPO	**Composição da solução administrada (100 µL)**
Controle (PBS)	100 µL de PBS
Cloroquina 500 µg/kg	1,95 µL de Cloroquina 1mg/1mL 98,04 de PBS
T 500 µg/kg FeBS	12,5 µL de FeBs 1mg/1mL 87,5 µL de PBS
T 750 µg/kg FeBs	18,7 µL de FeBs 1mg/1mL 81,3 µL de PBS

Fonte: autor.

4.3 Análise de Sobrevivência

O método de Kaplan-Meier foi empregado na análise de sobrevivência, visando comparar o tempo de vida dos diversos grupos experimentais de camundongos infectados com *P. chabaudi.* As curvas de sobrevivência foram elaboradas com o auxílio do software *GraphPad Prism*, versão 9.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). Esse mesmo software foi utilizado para a análise estatística dos dados, empregando os testes Log-rank (Mantel–Cox) e Gehan–Breslow–Wilcoxon, levando em conta o nível de significância previamente determinado (Kaplan e Meier, 1958).

4.4 Avaliação da parasitemia e parâmetros clínicos

A parasitemia foi determinada em esfregaços sanguíneos finos corados por Panótico Rápido, mediante a contagem de 200 eritrócitos por lâmina, considerando-se como infectados aqueles que apresentavam qualquer forma intraeritrocitária do *Plasmodium*. A parasitemia foi expressa em porcentagem e classificada como baixa (<1%), moderada (1–10%) ou alta (>10%), conforme as diretrizes do Manual de Diagnóstico Laboratorial da Malária do Ministério da Saúde (BRASIL, 2019).Também foram considerados parâmetros clínicos, como peso corporal, temperatura, hematócrito e sobrevivência dos animais até o 15º dia após a infecção (OMS, 2020).

4.5 Análise histológica dos órgãos

Camundongos que vieram a óbito durante o experimento foram separados para coleta de coração, baço e fígado que foram fixados em solução de formalina 10% em tampão fosfato 0,1 M. Após 24 horas de fixação, as amostras foram desidratadas em solução seriada de etanol (40% - 50% - 60% - 70% - 80% - 90% - 100% - 100%) em tempos de 3 horas e em solução de etanol com xileno (2:1, 1:1, 1:2 e 100%) em tempos de 2 horas. Posteriormente, as amostras foram incluídas em parafina líquida (60oC) e em xilol (2:1, 1:1, 1:2 e 100%) em tempos de 12 horas cada. Amostras emblocadas em parafina foram cortadas em micrótomo, hidratadas, coradas com hematoxilina e eosina e montadas em lâminas contendo bálsamo do Canadá. As lâminas prontas foram observadas e analisadas por contagem direta no microscópio óptico Axioplan - ZEISS. (BEM *et al.,* 2010).

4.6 Microscopia de Contraste de Interferência Diferencial (DIC)

Cortes histológicos do fígado dos camundongos *Balb/c* foram analisadas por Microscopia de Contraste de Interferência Diferencial (*Differential Interference Contrast* – DIC), utilizando objetiva de 100×, com o objetivo de avaliar a presença de pigmento malárico (Sullivan *et al.*, 1996).

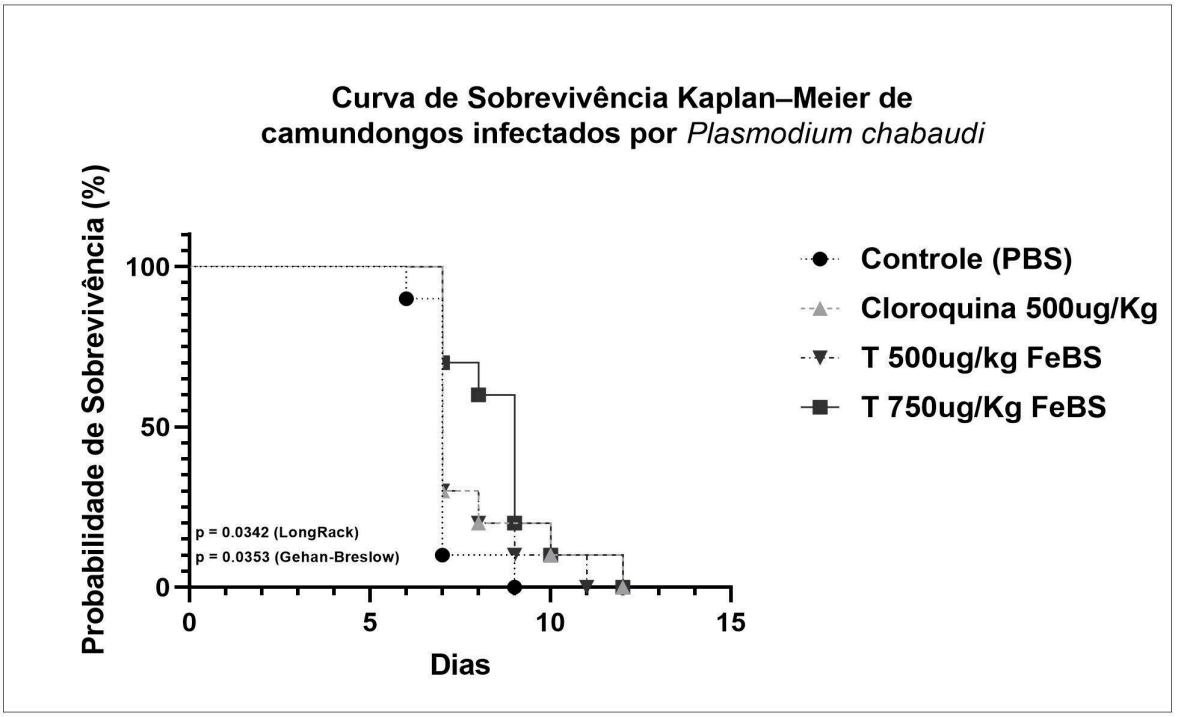
5 RESULTADOS

5.1 Curva de Sobrevivência (*Kaplan–Meier*)

A análise de Kaplan-Meier mostrou que o grupo controle que recebeu PBS apresentou uma redução significativa na taxa de sobrevivência, com mortalidade

começando precocemente e alcançando 0% antes do décimo dia após a infecção (Fig. 6). Em comparação ao grupo controle, o grupo tratado com cloroquina 500 µg/kg apresentou um leve aumento na sobrevivência, com mortes ocorrendo de maneira gradual até cerca do 12º dia (Fig. 6). Os animais tratados com metalocomplexo FeBS nas doses de 500 µg/kg e 750 µg/kg demonstraram maior taxa de sobrevivência em comparação ao grupo controle, com um efeito mais evidenciado na dose de 750 µg/kg, que preservou uma maior quantidade de animais vivos por um período maior (Fig. 6). A análise estatística das curvas de sobrevivência mostrou diferenças relevantes entre os grupos experimentais, como evidenciado pelos testes de Log-rank (p = 0,0342) e Gehan–Breslow (p = 0,0353).

Figura 6: Avaliação da sobrevivência de camundongos machos Balb/c infectados com *Plasmodium chabaudi* por quinze dias em 4 grupos experimentais (n = 10 animais por grupo). Curva de sobrevivência entre os 4 grupos experimentais, mostrando os valores estatísticos de p = 0,0342 (LongRack) e p = 0,0353 (Gehan-Breslow).

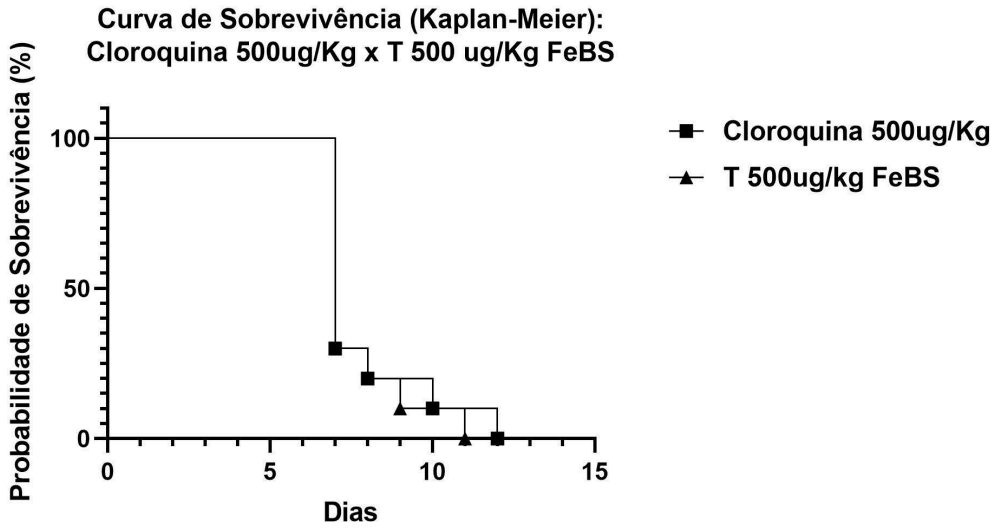


Fonte: autor.

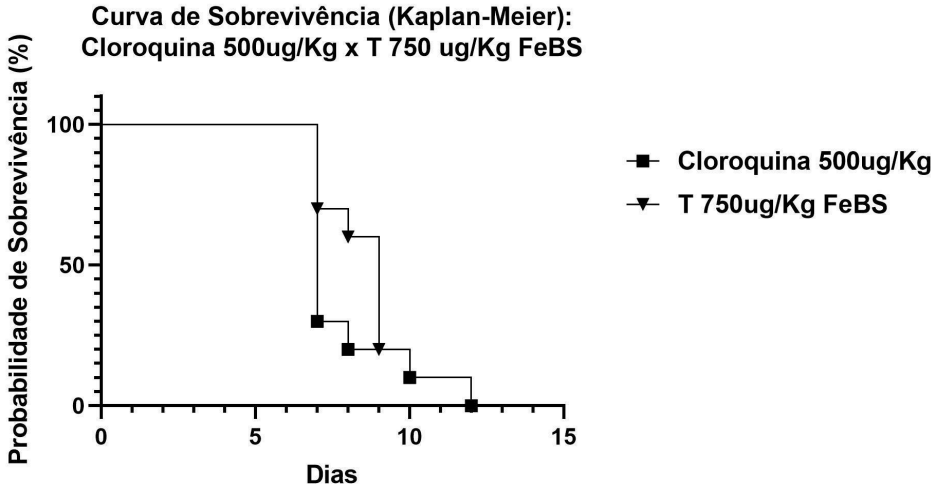
Ao comparar cloroquina 500 µg/kg e FeBS 500 µg/kg (Fig. 7A), notou-se um perfil de sobrevivência semelhante entre os grupos, com uma diminuição

progressiva na probabilidade de sobrevivência a partir do 7º dia pós-infecção, sendo que a mortalidade total ocorreu aproximadamente no 11º–12º dia. Na comparação entre cloroquina 500 µg/kg e FeBS 750 µg/kg (Fig. 7B), o grupo que recebeu a maior dose de FeBS mostrou uma maior quantidade de animais sobreviventes nos primeiros dias após o início da mortalidade. Isso indica um aumento no tempo de sobrevivência em comparação com o grupo tratado com cloroquina, mesmo que ambos os grupos tenham alcançado mortalidade total ao final do experimento.

Figura 7 - Avaliação da sobrevivência de camundongos machos Balb/c infectados com *Plasmodium chabaudi* durante quinze dias em 4 grupos experimentais (n = 10 animais por grupo). (A) Avaliação da sobrevida entre os grupos tratados com cloroquina e com 500 µg/kg de FeBS. (B) Avaliação da sobrevida entre os grupos tratados com cloroquina e com 750 µg/kg de FeBS.



a.



b.

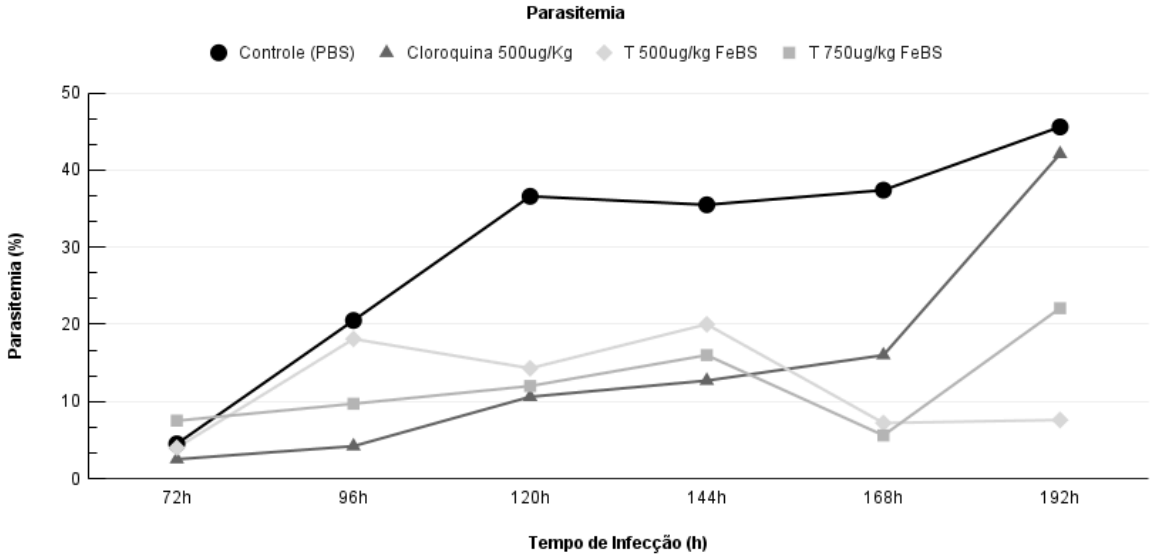
Fonte: autor.

5.2 Parasitemia

Ao avaliar o desenvolvimento da parasitemia foi notado que o grupo controle tratado com PBS mostrou um aumento gradual da parasitemia a partir de 72 horas após a infecção, alcançando níveis elevados nos momentos finais analisados (Fig. 8). O grupo que recebeu cloroquina 500 µg/kg mostrou níveis de parasitemia mais baixos do que o grupo controle nos estágios iniciais (Fig. 8). No entanto, houve um aumento significativo nos níveis de parasitemia nos estágios mais avançados, especialmente após 168 horas (Fig. 8). Os animais tratados com metalocomplexo FeBS na dose de 500 µg/kg apresentaram níveis de parasitemia mais baixos durante todo o experimento, mantendo esses valores reduzidos até os momentos finais analisados (Fig. 8). De maneira similar, o tratamento com FeBS na dose de 750 µg/kg levou à contenção do crescimento parasitário em comparação com o grupo controle, embora os valores tenham sido superiores aos registrados para a dose de 500 µg/kg em determinados momentos (Fig. 8).

Figura 8 - Níveis de parasitemia no sangue de camundongos machos Balb/c infectados com *P. chabaudi* em diferentes momentos da infecção em grupos experimentais (n=10 por grupo) tratados com 500ug/kg e 750ug/kg de FeBS, grupo controle negativo (PBS) e grupo controle positivo (500ug/kg de cloroquina).

Parasitemia (%) = (Eritrócitos infectados / Eritrócitos totais) x 100.



Fonte: autor.

5.3 Manifestações clínicas

Durante o experimento, foi observado que o grupo controle tratado com PBS, apresentou de forma precoce os primeiros sinais clínicos da doença, com a presença de hematúria iniciando após 72 horas, seguida por apatia, pelos arrepiados e letargia a partir de 96 horas (Tabela 3). O grupo que recebeu cloroquina 500 µg/kg mostrou um atraso no aparecimento de apatia, hematúria e letargia, que começaram a ser notadas a partir de 120 horas (Tabela 3). Por outro lado, a presença de pelos arrepiados foi observada 96 horas após a infecção. Em animais tratados com o metalocomplexo FeBS na dose de 500 µg/kg, a hematúria foi identificada após 96 horas, enquanto apatia e letargia foram registradas após 120 horas. A manifestação de pelos arrepiados permaneceu constante por 96 horas (Tabela 3). Da mesma forma, o tratamento com FeBS na dose de 750 µg/kg levou a um atraso na manifestação da maioria dos sinais clínicos avaliados, sendo notável que a letargia ocorreu apenas 144 horas após a infecção (Tabela 3).

Tabela 3: Manifestações clínicas apresentadas por camundongos machos Balb/c infectados com *P. chabaudi* em quatro grupos experimentais (n=10), dentro de 144 horas após a infecção.

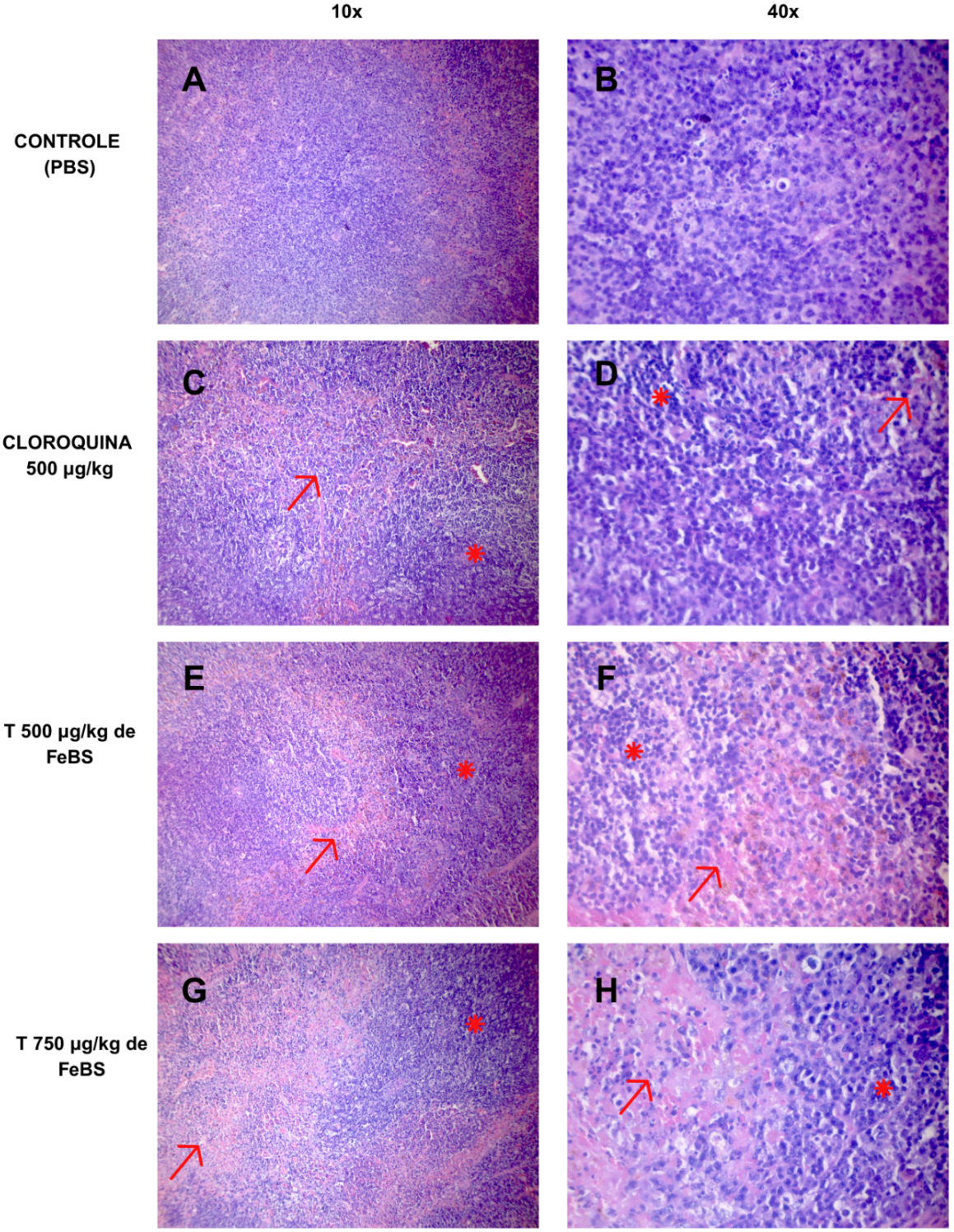
Grupos / Sintomas	Controle (PBS)	Cloroquina 500 µg/kg	T 500 µg/kg FeBS	T 750 µg/kg FeBS
Apatia	96h	120h	120h	120h
Pelos arrepiados	96h	96h	96h	96h
Hematúria	72h	120h	96h	96h
Letargia	96h	120h	120h	144h

Fonte: autor.

5.4 Histologia do fígado e baço

Ao analisar o baço do grupo controle tratado com PBS, notou-se uma desorganização na estrutura esplênica, evidenciada pela expansão da polpa vermelha e pela diminuição da delimitação da polpa branca (Fig. 9 A e B). Em comparação ao grupo controle, o grupo tratado com cloroquina 500 µg/kg exibiu uma leve preservação estrutural do tecido esplênico, apesar de ainda ser notável a mudança na distribuição entre as regiões da polpa branca e vermelha (Fig. 9 C e D). Em animais tratados com o metalocomplexo FeBS na dose de 500 µg/kg, notou-se uma polpa branca mais bem definida e com menor desorganização tecidual em comparação aos grupos controle e cloroquina (Fig. 9 E e F). De maneira similar, o tratamento com FeBS na dose de 750 µg/kg levou a uma preservação mais significativa da arquitetura esplênica, como demonstrado por uma organização mais uniforme da polpa branca e da polpa vermelha, particularmente nas imagens obtidas com maior aumento (Fig. 9 G e H).

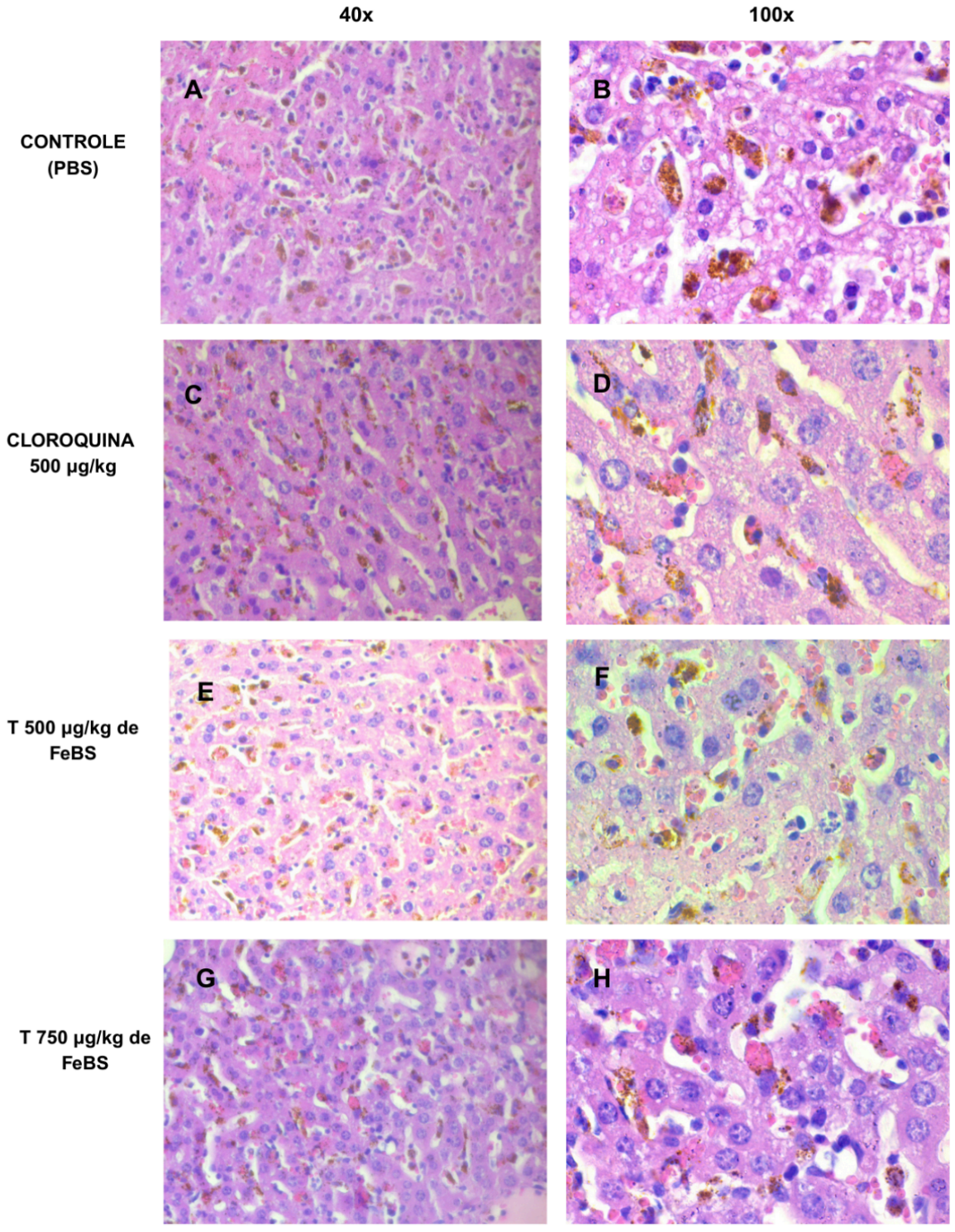
Figura 9: Cortes histológicos do baço de camundongos Balb/c infectados com *P. chabaudi.* Imagens obtidas por microscopia óptica de campo claro com aumentos de 10x e 40x. Seta: Polpa vermelha. Asterisco: Polpa branca.



Fonte: autor.

Na avaliação a histologia do fígado, o grupo controle tratado com PBS, notou-se uma desorganização significativa do parênquima hepático, caracterizada pela presença de infiltrado celular inflamatório difuso e mudanças na morfologia dos hepatócitos, particularmente visíveis nas imagens de maior aumento (Fig. 10 A e B). Em comparação ao grupo controle, o grupo tratado com cloroquina 500 µg/kg exibiu uma redução parcial dessas mudanças, embora ainda fossem observáveis áreas com infiltração inflamatória e desorganização celular (Fig. 10 C e D). Em animais tratados com o metalocomplexo FeBS na dose de 500 µg/kg, notou-se uma redução na gravidade das alterações histológicas, com uma preservação mais eficaz da arquitetura hepática e diminuição do infiltrado inflamatório (Fig. 10 E e F). Da mesma forma, o tratamento com FeBS na dose de 750 µg/kg levou a uma preservação mais significativa do parênquima hepático, como demonstrado pela organização mais uniforme dos hepatócitos e menor comprometimento estrutural, particularmente nas imagens obtidas com maior aumento (Fig. 10 G e H).

Figura 10: Cortes histológicos do fígado de camundongos *Balb/c* infectados com *P. chabaudi.* Imagens obtidas por microscopia óptica de campo claro com objetivas de 40x e 100x.

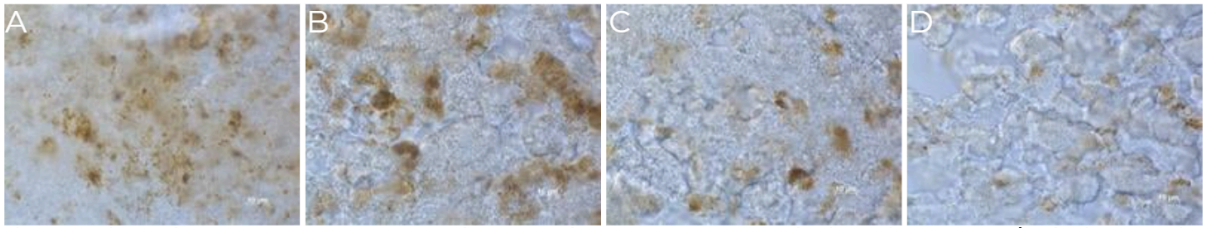


Fonte: autor.

5.5 Microscopia DIC de fígado de camundongo *Balb/c* infectado com *P. chabaudi.*

Na análise do fígado utilizando a microscopia de contraste de interferência diferencial (DIC) com objetiva de 100x, foi observado uma alta quantidade de estruturas compatíveis com pigmentos maláricos dispersos no parênquima hepático no grupo controle (Fig. 11A). Igualmente, o grupo cloroquina (Fig. 11B) exibiu acúmulo de pigmentos, embora com uma distribuição aparentemente menor em comparação ao controle. Em animais tratados com o metalocomplexo FeBS na dose de 500 µg/kg (Fig. 11C), notou-se uma diminuição na quantidade dessas estruturas, o que indica uma menor deposição de pigmentos no tecido hepático. De forma consistente, o tratamento com FeBS na dose de 750 µg/kg (Fig. 11D) levou a uma redução ainda mais significativa dessas estruturas, indicando uma melhor preservação tecidual em comparação com os grupos controle.

Figura 11- Micrografias de microscopia de contraste de interferência diferencial (DIC) com objetiva de 100x do fígado de camundongos *balb/c* infectados com *P. chabaudi.* (A) Controle negativo - PBS. (B) Controle positivo - cloroquina. (C) Tratado com 500 µg/kg de FeBS. (D) Tratado com 750 µg/kg de FeBS.



Fonte: autor.

6 DISCUSSÃO

A infecção induzida por *Plasmodium chabaudi* em camundongos da linhagem *Balb/c* resultou em alta taxa de mortalidade e avanço da doença no grupo de controle, o que comprova a eficácia desse modelo animal para investigar a malária em sua fase sanguínea (Lamb *et al.,* 2015). Esse fenômeno é amplamente documentado na literatura, onde a evolução da infecção por *P. chabaudi* está ligada ao rápido aumento da parasitemia, à ativação significativa da resposta imunológica e ao surgimento de alterações sistêmicas que podem levar à morte na ausência de um tratamento eficaz (Langhorne *et al.,* 2019). Nesse cenário, a avaliação das curvas de sobrevivência revelou diferenças consideráveis entre os grupos experimentais, sugerindo que os tratamentos aplicados influenciaram diretamente no desenvolvimento da infecção.

Os grupos que receberam o metalocomplexo FeBS mostraram um aumento na taxa de sobrevivência em comparação ao grupo controle, especialmente na dosagem de 750 µg/kg, que garantiu uma maior porcentagem de animais vivos por um tempo mais extenso. Esse efeito pode estar associado à diminuição da carga de parasitas e à modulação da resposta inflamatória, ambos considerados fatores cruciais para a sobrevivência em modelos murinos de malária (Haque *et al.,* 2018; Gowda & Wu, 2018). Apesar de a cloroquina ser um medicamento tradicional no combate à malária, investigações recentes indicam que sua eficácia pode variar de acordo com o modelo experimental e as características imunológicas do hospedeiro, o que pode justificar o desempenho semelhante ou inferior em certos parâmetros quando comparado ao FeBS (Wicht *et al.,* 2020).

Os resultados de sobrevivência observados neste estudo são compatíveis com aqueles descritos para outros metalocomplexos com atividade antiplasmódica. A ferroquina, derivado ferrocênico da cloroquina, demonstrou elevada atividade contra cepas resistentes de *Plasmodium falciparum* e aumento da sobrevida em modelos experimentais, sendo considerada um dos exemplos mais promissores da aplicação de compostos organometálicos na terapia antimalárica (Biot *et al.,* 2011). De forma semelhante, complexos de ferro descritos por Chuljerm *et al.* (2022) apresentaram redução da progressão da infecção e melhora dos parâmetros clínicos em modelos experimentais, sugerindo que compostos contendo ferro podem contribuir para o controle da doença por mecanismos distintos daqueles observados nos antimaláricos convencionais.

A avaliação da parasitemia corroborou esses resultados, pois os animais que receberam o tratamento com FeBS, especialmente a dose de 500 µg/kg, apresentaram uma redução nos níveis de parasitemia durante todo o experimento. Estudos anteriores indicam que o controle da parasitemia em infecções por *P. chabaudi* não depende apenas dos efeitos diretos dos antiparasitários, mas também da eficácia da resposta imunológica mediada por células do baço e do fígado, que desempenham um papel fundamental na eliminação de eritrócitos infectados e na contenção da proliferação do parasita (Langhorne *et al.,* 2017; Perez-Mazliah & Langhorne, 2015). Portanto, a redução do crescimento parasitário observada nos grupos tratados com FeBS pode estar relacionada à manutenção da função desses órgãos.

A redução da parasitemia observada nos grupos tratados com FeBS também encontra suporte em estudos envolvendo outros metalocomplexos antimaláricos. Compostos contendo ferro, rutênio e cobre têm demonstrado capacidade de reduzir a multiplicação de formas eritrocíticas do parasito, tanto em ensaios in vitro quanto em modelos in vivo, frequentemente associada à interferência no metabolismo do heme e à indução de estresse oxidativo intracelular (Delpech-Acharige *et al.*, 2018; Komada *et al.*, 2018). Embora os mecanismos envolvidos não tenham sido investigados diretamente neste trabalho, a diminuição da parasitemia observada sugere que o FeBS possa atuar por vias semelhantes às descritas para outros metalocomplexos bioativos.

Os sinais clínicos identificados confirmam as informações sobre a sobrevivência e a parasitemia. O fato de os grupos que receberam tratamento apresentarem um atraso na manifestação de sintomas como apatia, letargia e hematúria sugere um impacto sistêmico reduzido da infecção. Em estudos com modelos de malária em roedores, o desenvolvimento desses sintomas está intimamente ligado ao nível de parasitemia, à anemia hemolítica e à liberação de substâncias inflamatórias, como as citocinas (Haque *et al., 2015;* Stevenson & Riley, 2017). Assim, o atraso dos sinais clínicos nos grupos tratados com FeBS indica um curso da doença menos agressivo.

A análise histopatológica do baço mostrou uma maior preservação na estrutura esplênica nos grupos tratados com FeBS, particularmente na dose de 750 µg/kg. O baço desempenha um papel fundamental na resposta imunológica contra o *Plasmodium*, pois é responsável pela filtragem de eritrócitos infectados e pela

coordenação das respostas imunes celulares (Buffet *et al.,* 2018). Pesquisas indicam que a desorganização da polpa branca e da polpa vermelha está relacionada à severidade da malária e à dificuldade do hospedeiro em controlar a infecção, corroborando a importância dos resultados encontrados neste estudo (Safeukui *et al.,* 2015).

O mesmo foi observado na histopatologia hepática, onde o órgão revelou uma desorganização reduzida do parênquima hepático e uma diminuição do infiltrado inflamatório nos grupos tratados com FeBS. Durante a fase sanguínea da malária, o fígado tem um papel fundamental na imunidade inata, contribuindo para a fagocitose de eritrócitos infectados e na modulação da inflamação sistêmica (Protezer *et al.,* 2019). Em estados mais graves da doença, o fígado apresenta alterações significativas, o que ressalta a importância da preservação estrutural vista nos grupos tratados.

Resultados semelhantes foram descritos para outros metalocomplexos contendo ferro avaliados em doenças parasitárias. Estudos demonstram que esses compostos podem promover redução do infiltrado inflamatório e menor grau de lesão tecidual, mesmo quando a eliminação completa do parasito não é observada (Adepoju *et al.*, 2022; Chuljerm *et al.*, 2022). Esse perfil sugere que parte do efeito biológico dos complexos metálicos pode estar relacionada não apenas à atividade antiparasitária direta, mas também à modulação dos processos inflamatórios associados à infecção. Nesse contexto, a preservação hepática observada nos grupos tratados com FeBS reforça o potencial biológico desse composto como candidato para futuras investigações antimaláricas.

Ainda na análise hepática, a microscopia de contraste de interferência diferencial (DIC) mostrou um aumento no acúmulo de estruturas semelhantes a pigmentos maláricos nos grupos controle e cloroquina, enquanto que os grupos tratados com FeBS exibiram uma redução significativa dessas estruturas. O acúmulo de hemozoína é amplamente considerado um indicador da atividade parasitária, estando relacionado à ativação intensificada de macrófagos e ao dano tecidual em órgãos como fígado e baço (Gowda *et al.,* 2021; Tyberghein *et al.*, 2022). Logo, a redução dessas estruturas nos grupos tratados indica uma menor carga parasitária nos tecidos.

No geral, os resultados desta pesquisa indicam que o tratamento com o metalocomplexo FeBS promoveu redução da parasitemia, atraso das manifestações

clínicas, preservação da arquitetura hepática e esplênica e aumento da sobrevida dos animais infectados por P. chabaudi. Esses achados são consistentes com resultados previamente descritos para outros metalocomplexos com atividade antiplasmódica, especialmente compostos contendo ferro, que têm demonstrado potencial para atuar tanto no controle do crescimento parasitário quanto na redução dos danos teciduais associados à infecção (Biot *et al.*, 2011; Chuljerm *et a*l., 2022). Embora os mecanismos de ação do FeBS ainda necessitem de investigação adicional, os resultados obtidos reforçam o potencial desse composto como candidato promissor para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas contra a malária.

7 CONCLUSÃO

O tratamento com o metalocomplexo FeBS reduziu a progressão da parasitemia em camundongos BALB/c infectados por *Plasmodium chabaudi*.

O FeBS retardou o aparecimento das manifestações clínicas associadas à infecção malárica, indicando um efeito benéfico sobre a evolução da doença.

Os animais tratados com FeBS apresentaram aumento da sobrevida em comparação ao grupo controle, com destaque para a dose de 750 µg/kg.

O tratamento promoveu maior preservação da arquitetura histológica do baço, sugerindo manutenção da integridade estrutural desse órgão durante a infecção.

O FeBS contribuiu para a preservação do tecido hepático e para a redução do acúmulo de estruturas compatíveis com pigmento malárico.

Os resultados obtidos sugerem que o FeBS exerce efeitos associados ao controle da carga parasitária e à redução dos danos teciduais decorrentes da infecção.

Em conjunto, os achados deste estudo indicam que o metalocomplexo FeBS apresenta potencial como candidato para futuras investigações voltadas ao desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas contra a malária.

8 REFERÊNCIAS

ADEPOJU, A. A. *et al.* Antiplasmodial activity of iron-based metal complexes: *in vivo* and mechanistic insights. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 180, p. 24–32, 2018.

ADEPOJU, A. A. *et al*. Iron coordination compounds as promising antimalarial agents: biological evaluation and mechanistic perspectives. **Bioinorganic Chemistry and Applications**, v. 2022, p. 1–12, 2022.

ALY, A. S. I. *et al*. Malaria parasite development in the mosquito and liver stages. **Nature Reviews Microbiology**, v. 21, n. 2, p. 83–96, 2023.

ARIEY, F. *et al*. A molecular marker of artemisinin-resistant Plasmodium falciparum malaria. **Nature,** v. 505, n. 7481, p. 50–55, 2014.

BATISTA, P. R. *et al*. Experimental models for malaria research: applications and limitations. **Parasitology Research**, v. 114, n. 3, p. 827–836, 2015.

BEM, A. F. *et al.* Histological techniques applied to experimental pathology. **Journal of Histotechnology,** v. 33, n. 4, p. 189–198, 2010.

BIOT, C. *et al*. *Plasmodium chabaudi* as a murine model for antimalarial drug evaluation. **Experimental Parasitology**, v. 128, n. 2, p. 118–125, 2011.

BORGES, M. C. *et al.* Experimental malaria: advances using murine models. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 6, p. 724–735, 2015.

BOTINI, R. *et al*. Iron metabolism and oxidative stress in *Plasmodium* infections. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 11, p. 1–10, 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de diagnóstico laboratorial da malária**. Brasília: Ministério da Saúde, 2019.

BUFFET, P. A. *et al.* The pathogenesis of Plasmodium falciparum malaria in humans: insights from splenic physiology. **Blood**, v. 131, n. 4, p. 363–372, 2018.

CARDOSO, A. L. *et al*. Structural and mechanistic insights into coordination of Fe(III) by HL1: synthesis, crystal structure, spectroscopy and biological evaluation. **Journal of Molecular Biology**, v. 435, p. 167783, 2022.

CASTBERG, F. C. *et al*. Artemisinin-based combination therapies for malaria: efficacy and resistance. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 4, p. 436–446, 2018.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Malaria: biology and epidemiology**. Atlanta, 2024.

CHULJERM, H. *et al*. Bioinorganic metal complexes with antiplasmodial activity. **Inorganica Chimica Acta**, v. 530, p. 120673, 2022.

COSTA, F. T. M. *et al*. Iron acquisition and heme metabolism in malaria parasites. **Trends in Parasitology**, v. 36, n. 8, p. 646–659, 2020.

DELPE ACHARIGE, M. T. *et al.* Apicomplexan parasites: cell invasion and molecular interactions. **International Journal for Parasitology**, v. 48, n. 5, p. 341–351, 2018.

FERRER, M. *et al*. Clinical outcomes of artemisinin-based therapies. **Malaria Journal**, v. *11*, p. 1–9, 2012.

FIDOCK, D. A. *et al*. Mutations in the Plasmodium falciparum digestive vacuole transmembrane protein PfCRT and evidence for their role in chloroquine resistance. **Molecular Cell,** v. 6, n. 4, p. 861–871, 2000.

FRANÇA, T. C. C. *et al.* Morphological aspects of *Plasmodium* species. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 3, p. 153–160, 2008.

FRICKER, S. P. Metal based drugs: from serendipity to design. **Dalton Transactions**, v. 43, p. 4903–4917, 2007.

GASSER, G.; METZLER-NOLTE, N. The potential of organometallic complexes in medicinal chemistry. **Current Opinion in Chemical Biology,** v. 16, n. 1–2, p. 84–91, 2012.

GOWDA, D. C.; WU, X. Parasite recognition and signaling mechanisms in innate immune responses to malaria. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 3006, 2018.

GOWDA, D. C. *et al.* Hemozoin-mediated immune modulation in malaria. **Frontiers in Immunology**, v. 12, p. 715726, 2021.

GUIGUEMDE, W. A. *et al.* Global approaches to antimalarial drug discovery. **Nature**, v. 465, p. 311–315, 2012.

HAQUE, A. *et al.* Pathogenesis of severe malaria: the roles of parasite biomass and host immunity. **Nature Reviews Immunology**, v. 18, n. 6, p. 373–387, 2018.

HAQUE, A. *et al.* Granzyme B expression by $CD8^+$ T cells is required for the development of experimental cerebral malaria. **PLoS Pathogens**, v. 11, n. 2, e1004724, 2015.

HEPPNER, D. G. *et al.* Hemozoin formation and malaria pathology. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 38, n. 1, p. 48–56, 1988.

HUNT, P. *et al.* Experimental rodent malaria models: applications in drug testing. **Parasitology**, v. 151, n. 2, p. 201–212, 2024.

KANNAN, P. *et al*. Clinical manifestations of malaria and diagnostic challenges. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 32, n. 1, e00043-18, 2019.

KAPLAN, E. L.; MEIER, P. Nonparametric estimation from incomplete observations. **Journal of the American Statistical Association**, v. 53, n. 282, p. 457–481, 1958.

KATZUNG, B. G.; TREVETHAN, P. **Farmacologia básica e clínica**. 12. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2014.

KOMADA, T. *et al*. Metal complexes targeting heme detoxification in malaria parasites. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 23, n. 5, p. 755–765, 2018.

LAMB, T. J. *et al.* Immunopathology of experimental malaria. **Nature Reviews Immunology**, v. 15, p. 409–421, 2015.

LANGHORNE, J. *et al*. Host immunity to malaria: lessons from mouse models. **Nature Reviews Immunology**, v. 19, p. 655–667, 2019.

LOBANA, T. S. *et al*. Bioactive metal complexes in parasitic diseases. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 353, p. 38–55, 2017.

MENARD, R.; DJALLE, D. Liver stage malaria: biology and therapeutic perspectives. **Annual Review of Microbiology**, v. 76, p. 321–344, 2022.

MOORE, J. M. *et al.* Experimental malaria: pathology and survival analysis. **Infection and Immunity**, v. 79, n. 6, p. 2202–2210, 2011.

MOREIRA, F. F. *et al*. Iron-based metal complexes with antiparasitic activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 219, p. 111434, 2021.

NDAGI, U.; MHLONGO, N.; SOLIMAN, M. E. Metal complexes in cancer therapy – an update from drug design perspective. Drug Design, **Development and Therapy,** v. 11, p. 599–616, 2017.

NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 13. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2016.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **World malaria report 2023**. Geneva: WHO, 2023.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **World malaria report 2024**. Geneva: WHO, 2024.

PEREZ-MAZLIAH, D.; LANGHORNE, J. CD4 T-cell subsets in malaria: TH1/TH2 revisited. **Frontiers in Immunology**, v. 5, p. 671, 2015.

PRENEN, H.; VAN DEN STEEN, P. E. Global challenges in malaria elimination. **Trends in Parasitology**, v. 41, n. 2, p. 115–124, 2025.

PROTZER, U.; MAINI, M. K.; KNOLLE, P. A. Living in the liver: hepatic infections. **Nature Reviews Immunology**, v. 19, n. 2, p. 115–130, 2019.

SAFEUKUI, I. *et al.* Malaria induces anemia through $CD8^+$ T cell-dependent parasite clearance and erythrocyte destruction in the spleen. **Blood**, v. 125, n. 19, p. 2936–2946, 2015.

STEPHENS, R. *et al*. Malaria immunology and the use of *Plasmodium chabaudi* model. **Trends in Parasitology**, v. 28, n. 9, p. 386–394, 2012.

STEVENSON, M. M.; RILEY, E. M. Innate immunity to malaria. **Nature Reviews Immunology**, v. 17, n. 9, p. 558–571, 2017.

SULLIVAN, D. J. *et al.* Hemozoin formation and detection by DIC microscopy. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, n. 32, p. 19107–19113, 1996.

TU, Y. The discovery of artemisinin (qinghaosu) and gifts from Chinese medicine. Nature Medicine, v. 17, n. 10, p. 1217–1220, 2011.

THIPUBON, P. *et al*. Drug resistance in *Plasmodium* species. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 5, n. 2, p. 82–91, 2015.

TYBERGHEIN, M. *et al.* Hemozoin and its impact on innate and adaptive immunity during malaria infection. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 12, p. 1011123, 2022.

VAN RIJT, S. H.; SADLER, P. J. Current applications and future potential for bioinorganic chemistry in antimalarial therapy. **Drug Discovery Today**, v. 14, n. 21–22, p. 1089–1097, 2009.

WELLEMS, T. E.; PLOWE, C. V. Chloroquine-resistant malaria. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 184, n. 6, p. 770–776, 2001.

WHEELER, R. J. Ultrastructure of apicomplexan parasites. **Trends in Parasitology**, v. 25, n. 11, p. 511–519, 2009.

WHITE, N. J. Antimalarial drug resistance. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 113, n. 8, p. 1084–1092, 2004.

WICHT, K. J. *et al.* Activity of antimalarial drugs against Plasmodium liver stages. **Trends in Parasitology**, v. 36, n. 3, p. 193–205, 2020.

WITKOWSKI, B. *et al*. Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum*. **The New England Journal of Medicine**, v. 376, p. 158–168, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Malaria**. Geneva, 2024.