



Atividade anti-*Trypanosoma cruzi* de composto híbrido metronidazol-5-nitro-diidroeugenol: eficácia aprimorada, menor risco cardíaco e potencialização da eficácia do benznidazol

Monique D. Benedetti^{*1,2} (PG); Mônica F. Pelozo² (PG); Tamires P. Camargo¹ (G); Elda G. S. e Leite¹ (PQ); Lívia de F. D. Castro¹ (PQ); Rômulo D. Novaes¹ (PQ); Sérgio Caldas³ (PQ); Diogo T. Carvalho² (PQ); Lucas L. Franco² (PQ); Ivo S. Caldas¹ (PQ)

*monique.benedetti@sou.unifal-mg.edu.br

¹Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, Brasil

²Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, Brasil

³Fundação Ezequiel Dias (FUNED), Belo Horizonte, MG, Brasil.

RESUMO (Times New Roman, tam 12)

Testou-se o híbrido CEF05 *in vitro*, quanto a citotoxicidade com célula H9c2 e ação tripanocida contra todas as formas evolutivas, para obtenção do índice de seletividade. Para os modelos *in vivo*, utilizou-se o benznidazol (Bz) como fármaco de referência, grupos de controle infectados e não tratados e não infectados. Avaliou-se ação parasitológica, imunológica, histopatológica e alterações comportamentais. Os encontrados desta, pesquisa revelam que o híbrido CEF05 possui ação contra o *T. cruzi*, reduziu mortalidade, efeitos tóxicos, miocardite e citocinas pró-inflamatórias. Apesar do híbrido não induzir a cura terapêutica, permitiu a sobrevivência de todos os animais, preveniu infiltrados inflamatórios e danos ao coração, induziu produção reduzida de citocina pró-inflamatórias e potencializou o efeito tripanocida do Bz. Os dados obtidos indicam que CEF05 é um candidato potencial relevante para novos regimes quimioterápicos eficazes e seguros para o tratamento contra infecções por *T. cruzi*.

Palavras-chave: Benznidazol, Eugenol, Hibridação molecular, Terapia combinada.

Introdução

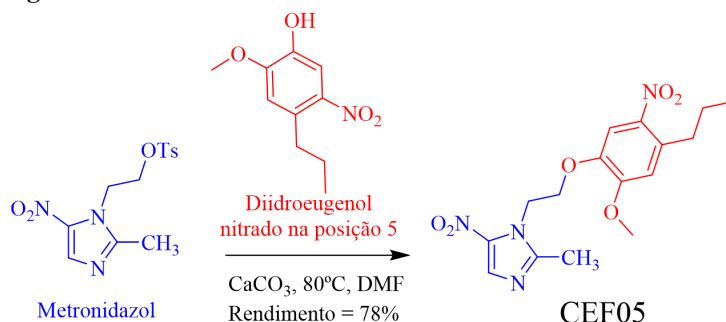
Por mais de 40 anos, os únicos medicamentos aprovados para o tratamento contra o *Trypanosoma cruzi* foram o benznidazol (Bz) e a nifurtimox, e ambos têm eficácia diretamente relacionada ao tempo de infecção, o que significa que seu uso apresenta baixas chances de cura em estágios mais avançados da doença (fase crônica) ou contra cepas resistentes (1). Os tratamentos atuais para pacientes com Doença de Chagas (DC) são desafiadores porque causam baixa tolerância devido à alta toxicidade, o que frequentemente resulta na descontinuação da terapia. Isso destaca a urgência no desenvolvimento de novas opções terapêuticas com menor toxicidade e maior eficácia, abrangendo tanto a fase crônica quanto cepas resistentes (2). Dentre as diferentes abordagens para o problema, está o planejamento e desenvolvimento de novos compostos bioativos, sendo que uma das estratégias da química medicinal que vem sendo cada vez mais explorada é a hibridação molecular, que basicamente consiste na junção de duas unidades farmacofóricas bioativas seja parte ou a totalidade de um composto ou fármaco em um único composto chamado de híbrido. Através dessa estratégia, busca-se aumentar a afinidade e a eficácia dos compostos, quando comparados ao uso isolado de ambas as estruturas não hibridadas (3). Foram sintetizados uma série de híbridos do tipo metronidazol-eugenol, essas unidades foram escolhidas porque o metronidazol é um fármaco de referência para outras doenças parasitárias causadas por protozoários, e o eugenol e seus análogos possuem ação antiparasitária. Embora sejam compostos promissores, seu uso isolado não supera o fármaco de referência: o benznidazol. No entanto, a hibridação molecular pode gerar compostos menos tóxicos, com seletividade aprimorada e com atividade antiparasitária relevante. O melhor composto foi

selecionado para os testes *in vivo* neste estudo.

Experimental

Neste trabalho, foi selecionado um derivado de uma série de dezesseis híbridos previamente relatados em um estudo de síntese e avaliação de suas propriedades tripanocidas contra as formas evolutivas epimastigota e tripomastigota (4). O melhor resultado obtido neste estudo foi do derivado CEF05, um híbrido que contém metronidazol acoplado ao núcleo 5-nitro-diidroeugenol.

Figura 1. Plano de síntese resumido



Testes biológicos: Cepa Y (DTU II)

In vitro: Epimastigotas, tripomastigotas, citotoxicidade (células H9c2) e amastigotas.



In vivo: Foi realizado um estudo com modelo murino do CEF05, comparado ao Bz como fármaco de referência, bem como em terapia combinada em diferentes concentrações (CEF05 + Bz), utilizando grupos controle positivos (infectados e não tratados) e negativos (não infectados). Foram avaliadas alterações parasitológicas, imunológicas, histopatológicas e comportamentais.

Resultados e Discussão

Tabela 1. Resultado experimentos *in vitro*

Compounds/ Drug	IC ₅₀ µg/mL±DP Epi	IC ₅₀ µg/mL±DP Trypo	CC ₅₀ µg/mL±DP	IS Epi	IS Trypo
CEI05	20,79 ± 2,75	29,79 ± 1,36	64,75 ± 13,95	3,11	2,17
Metronidazole	32,81 ± 1,33	30,83 ± 5,42	133,95 ± 10,25	4,08	84,8
CEF05	9,6 ± 1,65	2,29 ± 0,16	128 ± 7,29	13,35	55,98

Figura 2. Curvas de parasitemia

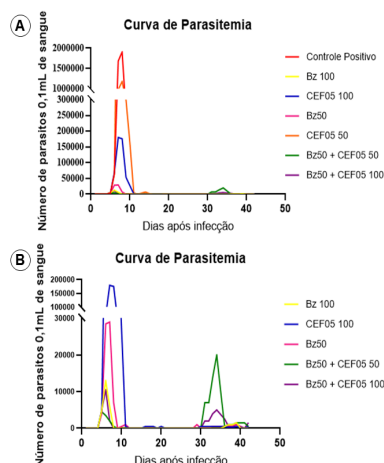


Figura 3. Porcentagem de sobrevivência dos animais

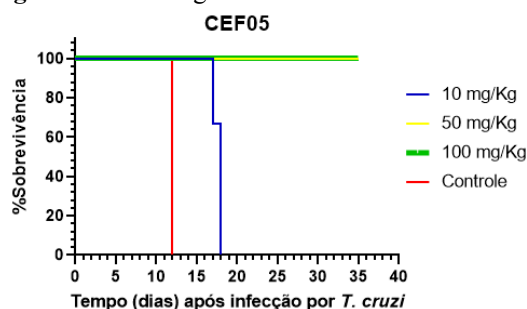


Figura 4. Ganho e perda de peso dos animais

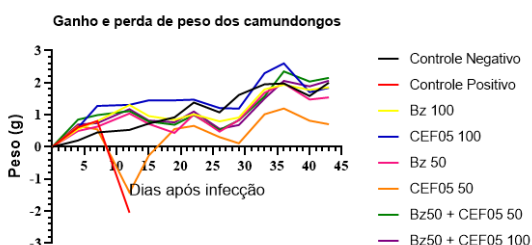


Figura 5. Dosagem de IgG Total e subclasse IgG 1

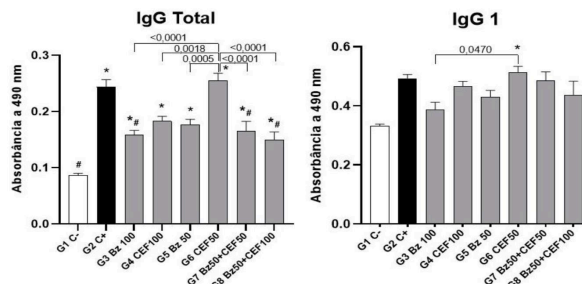


Figura 6. Dosagem de citocinas IFN-γ e TNF-α

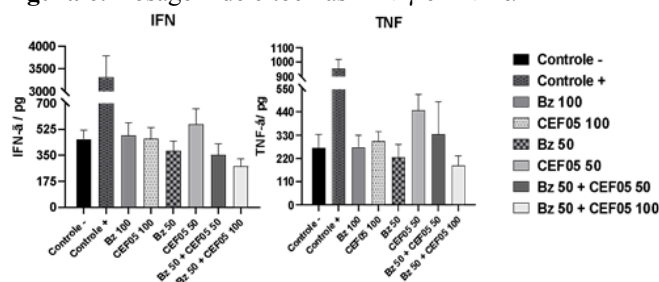
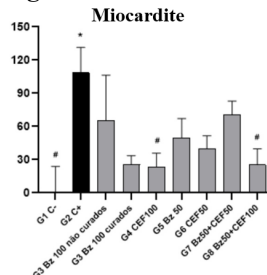


Figura 7. Miocardite dos animais estudados



Conclusões

O híbrido CEF05 foi o melhor entre os 16 sintetizados, apresentando efeitos antiparasitários significativos, atenuando a parasitemia, a perda de peso, os cardiomiócitos infectados e a miocardite. Além disso, normalizou a produção de citocinas pró-inflamatórias. Quando administrado em terapia combinada com o benzonidazol (Bz), potencializou os efeitos tripanocidas e reduziu a produção total de anticorpos IgG. O CEF05 apresentou resultados mais eficazes contra as formas amastigotas do que o medicamento de referência, o benzonidazol.

Agradecimentos



Referências

1. I.S. Caldas; E.G. Santos; R.D. Novaes. *Expert Opin Pharmacother*, **2019**, 20, 15, 1797-1807.
2. Y. Jackson; B. Wyssa; F. Chappuis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **2020**, 75, 3, 690-696.
3. C.R.M. Araújo *et al.* *Química Nova*, **2015**, 38, 868-873.
4. M.F. Pelozo *et al.* *J. Pharm. Pharm. Sci.*, **2021**, 24, 421-434.