



Derivados de Metronidazol com Atividade Antileishmania: Híbridos com Eugenol e Análogos Glicoconjugados

Ana Laura M. Trinca^{1*}(PG), Rayssa C. A. Iemini¹(PG), Monique D. Benedetti¹(PG), Thalles H. F. Souza²(PG), Marcos J. Marques²(PQ), Ivo S. Caldas²(PQ), Irwin R. A. de Menezes³(PQ), Henrique D. M. Coutinho³(PQ), Lucas L. Franco¹(PQ).

¹ Departamento de Alimentos e Medicamentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alfenas, Rua Gabriel Monteiro da Silva 700, Minas Gerais, 37130-001, Brasil.

² Departamento de Patologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Alfenas, Rua Gabriel Monteiro da Silva 700, Minas Gerais, 37130-001, Brasil.

³ Departamento de Química Biológica, Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular - LMBM, Universidade Regional do Cariri, Crato, Ceará, Brasil.

ana.trinca@sou.unifal-mg.edu.br^{1*}

RESUMO

RESUMO – Em estudos recentes de nosso grupo de pesquisa obtivemos resultados promissores com híbridos do tipo metronidazol-eugenol contra *Trypanosoma cruzi*. Considerando os paralelos bioquímicos entre *T. cruzi* e *Leishmania* spp., particularmente a suscetibilidade compartilhada a compostos nitro-heterocíclicos, e levando em conta que a leishmaniose e a doença de Chagas continuam sendo doenças tropicais negligenciadas desafiadoras, levantamos a hipótese que é o foco deste trabalho: esses derivados de metronidazol possuem ação leishmanicida? Nesse contexto, relatamos aqui a síntese de vinte e quatro derivados de metronidazol condensados a compostos do tipo eugenol ou a carboidratos, obtidos por acoplamento [3+2], popularmente conhecido como “química clique”, ou condensados de forma direcionada a compostos do tipo eugenol, com resultados promissores contra leishmanias e baixa citotoxicidade, resultando em compostos com interessantes índices de seletividade.

Palavras-chave: Eugenol, glico-metronidazol, metronidazol, *Leishmania* spp. química click.

Introdução

A leishmaniose é considerada um grave problema de saúde pública global, com ampla distribuição geográfica e forte impacto socioeconômico. Estima-se que aproximadamente 1 milhão de novos casos ocorram anualmente em todo o mundo, resultando em cerca de 30 mil mortes, concentradas principalmente em países do Sul Global (1). A terapia farmacológica disponível apresenta diversas limitações, como alta toxicidade, necessidade de hospitalização e tratamento prolongado. A farmacoterapia atual está associada a vários efeitos colaterais e ao aumento da resistência ao tratamento (2-3), o que reforça a urgência no desenvolvimento de novos agentes quimioterápicos.

O metronidazol é um fármaco amplamente utilizado no tratamento de infecções causadas por protozoários e bactérias anaeróbias. Sua ação ocorre principalmente por meio da bioativação do grupo nitro em ambiente anaeróbio ou microaerofílico, formando metabólitos reativos que interagem com biomoléculas do microorganismo, levando à sua morte (4-8).

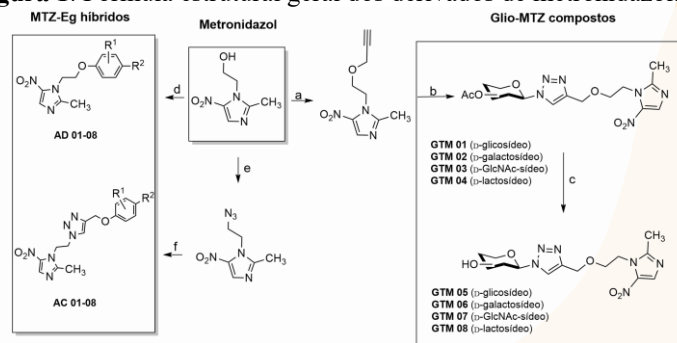
Neste estudo, apresentamos a atividade antileishmania de 24 compostos derivados do metronidazol, sendo dezesseis híbridos de metronidazol-eugenol e oito glicosídeos de metronidazol.

Experimental

Síntese dos compostos

Os 24 compostos foram sintetizados e caracterizados por meio de FTIR, RMN e LC-MS (9). O esquema sintético é mostrado na Figura 1 abaixo:

Figura 1. Fórmula estrutural geral dos derivados de metronidazol.



R¹ e R² - Eugenol, diidroeuogenol, guaiacol, fenol, nitro-eugenol e nitro-dihidroeuogenol.

Conditions: a) brometo de propargila, DMF, NaH, 0 °C; b) glicozida, CuSO₄, ascorbato de sódio, THF/H₂O, t.a.; c) KOH, MeOH, 0 °C; d) Eugenol-like fenol, DMF, Na₂CO₃; e) NaN₃, DMF, 80 °C; f) propargil Eugenol-like compostos, CuSO₄, ascorbato de sódio, THF/H₂O, t.a.



Atividade Leishmanicida contra Formas Amastigotas de *L. amazonensis*

Para avaliar a atividade leishmanicida em amastigotas, utilizaram-se macrófagos peritoneais murinos mantidos em meio RPMI-1640 a 37 °C e 5% de CO₂ em placas de 24 poços. Após 24 horas, os macrófagos não aderentes foram removidos e essas células foram infectadas com promastigotas de *Leishmania amazonensis* na fase estacionária da curva de proliferação, na proporção de 10:1. No dia seguinte à infecção, os parasitas não internalizados foram removidos e os compostos a serem avaliados foram adicionados nas concentrações de 40, 10, 5 e 0,1 µg·mL⁻¹, sendo então incubados por 72 horas a 37 °C e 5% de CO₂. Em seguida, as células foram fixadas com metanol e coradas com Giemsa a 10% (MERCK) para posterior análise em microscopia óptica.

Com a finalidade de avaliar o efeito dos compostos, foram analisados o número de amastigotas por macrófago e o número de macrófagos infectados. A porcentagem de células infectadas foi considerada para ilustrar os resultados, uma vez que estes são expressos como CI₅₀-amastigota (10).

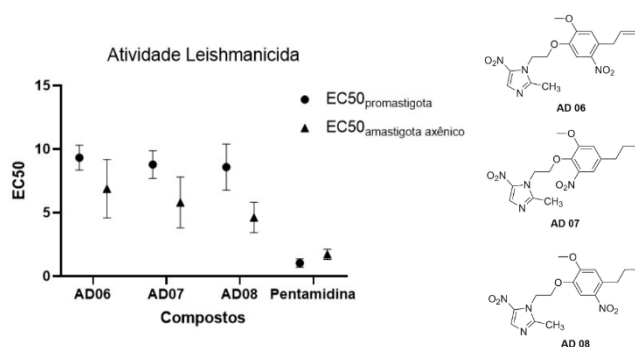
Resultados e Discussão

Dos compostos analisados, três dos mais promissores - **AD06**, **AD07** e **AD08** - foram avaliados contra as formas promastigotas e submetidos ao teste de citotoxicidade, gerando assim seus índices de seletividade, conforme apresentado na Tabela 1, que fornece a interpretação quantitativa da análise realizada na placa de 24 poços. A Figura 2 mostra a relação entre a atividade leishmanicida dos compostos contra as formas promastigotas e amastigotas, em comparação com a molécula de referência.

Tabela 1: CI₅₀, CC₅₀ e SI contra células amastigotas de *Leishmania amazonensis*.

Compostos	CI ₅₀ ±SD (µM) Amastigota axênico	CC ₅₀ /µM	SI
AD06	6,89±2,3	31,2	4,52
AD07	7,80±2,0	26,1	3,35
AD08	4,62±1,2	24,2	5,24
Pentamidina	1,72±0,4	25,1	14,59

Figura 2. CI₅₀ do ensaio com promastigotas e amastigotas axênicos de *L. amazonensis*.



Os derivados mais ativos são híbridos obtidos a partir do 6-nitro-eugenol (**AD06**), 5-nitro-di-hidroeugenol (**AD07**) e 6-nitro-di-hidroeugenol (**AD08**). Esses compostos demonstraram alto potencial como antiparasitários e também se destacaram em estudos contra *T. cruzi*, o que nos permite especular que o mecanismo de ação possa ter alguma correlação (11-12), como, por exemplo, algo relacionado ao ergosterol, proteases essenciais como a cruzaina (*T. cruzi*) ou CPB (*Leishmania*) (13-16).

Conclusão

Com base nos resultados do trabalho aqui apresentado, entendemos que os híbridos de metronidazol-eugenol, mais especificamente os derivados do tipo nitro-eugenol, são extremamente promissores como antiparasitários. Os compostos **AD06**, **AD07** e **AD08** merecem nossa atenção tanto no campo da química medicinal, como novos padrões estruturais a serem explorados como compostos bioativos, quanto no campo de estudos mais avançados nas áreas de farmacologia, parasitologia e biologia computacional, visando uma melhor compreensão da relação estrutura-atividade para a projeção desses compostos como novos bioativos.

Agradecimentos

Agradecimentos para CAPES, FAPEMIG, and UNIFAL-MG. Códigos de financiamento: APQ-00352-18, RED-00110-23.

Referências

1. Who – World Health Organization. Leishmaniasis. **2024**.
2. R. A. Lira, et al., *Rev. Soc. Brasi. Med. Trop.* **2022**, 55:e0280.
3. R. N. R. Sampaio, *Expert Opinion on Pharmacotherapy* **2023**, 24, 153–158.
4. D. I. Edwards, *British Journal of Venereal Diseases* **1980**, 56, 285–290.
5. C. W. Wright; H. C. Allison; A. T. Hudson, *Parasitology* **2018**, 145, 1337–1346.
6. M. Mishra, et al., *Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, 62, 10005–10027.
7. M. E. Olson; K. Hanson; W. Miller, *Parasitology* **2020**, 146, 1167–1178.
8. O. P. S. Patel, et al., *European Journal of Medicinal Chemistry* **2021**, 210, 112994.
9. M. F. Pelozo, et al., *Bioorganic Chemistry* **2024**, 146, 107288.
10. L. R. S. Folquitto, *Med. Chem. Res.* **2017**, 26, 1149–1159.
11. J. D. Aguirre, et al., *Frontiers in Chemistry* **2021**, 9, 816266.
12. L. A. Reis et al., *Inorganics* **2024**, 12, 133.
13. C. F. M. Silva et al., *Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, 62, 5655–5671.
14. H. Mahmoudvand et al., *BMC Research Notes* **2023**, 16, 120.
15. E. M. G. Lourenço et al., *Microorganisms* **2023**, 11, 225.
16. M. C. Morais et al., *Molecules* **2023**, 28, 2844.