

Novos derivados pirazol-imidazolínicos com potencial ação anti-*Trypanosoma cruzi*

Pedro H.M. Fernandes (PG)^{1*}, Maurício S. dos Santos (PQ)¹, Ana Carolina Mazzochi (PG)¹, Mirian Claudia S. Pereira (PQ)², Edinaldo C. de Oliveira (PG)², Leonardo S. Lara (PQ)², Lorraine M. R. Orlando (PG)², Sarah C. Lanera (PG)², Thamyras P. de Souza (PG)², Nathália S. Figueiredo (PG)², Vitoria B. Paes (PG)².

¹ Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI), Instituto de Física e Química (IFQ), Itajubá-MG, 37500-903

²Laboratório de Ultraestrutura Celular (LUC), Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro-RJ, 21040-900

*d2020009400@unifei.edu.br

RESUMO

A Doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, é um problema de saúde pública que afeta grande parte da América-latina e possui tratamentos quimioterápicos escassos. Neste trabalho, 13 derivados inéditos pirazol-imidazolínicos **1(a-m)** foram sintetizados e avaliados quanto à ação anti-*T. cruzi*. O composto **1k** apresentou alta atividade contra a forma amastigota ($IC_{50} = 3,3 \pm 0,2 \mu M$) e um alto índice de seletividade (73,9). Ademais, mostrou baixo risco de cardiotoxicidade, elevada redução da carga parasitária em microtecidos cardíacos e alta eficácia na reversibilidade da infecção.

Palavras-chave: Doença de Chagas, pirazol, imidazolina, *Trypanosoma cruzi*

Introdução

A Doença de Chagas (DC) é uma parasitose causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* que afeta em torno de 7 milhões de pessoas a nível global (1). A Organização Mundial da Saúde (OMS) classificou a DC como uma Doença Tropical Negligenciada (DTN) com regiões endêmicas em 21 países da América latina com ocorrências na Ásia, Austrália, Europa e América do Norte (2).

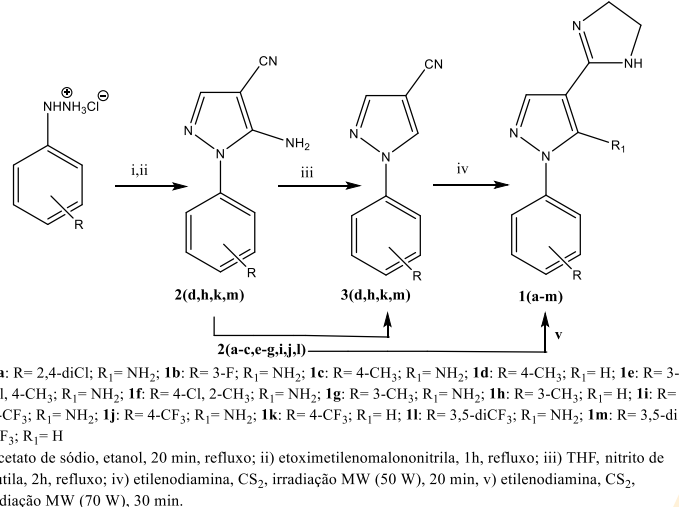
O protozoário no hospedeiro existe em duas formas evolutivas: tripomastigota, não replicante e extracelular, e amastigota, intracelular e replicante (3). Atualmente existem dois quimioterápicos utilizados para o tratamento da DC, o Benznidazol (Bz) e o Nifurtimox (Nif), porém ambos os fármacos possuem eficácia limitada no tratamento referente a fase crônica da doença, além de possuírem diversos efeitos colaterais (3). Logo, se torna necessária a investigação para a síntese de novos fármacos.

Nosso grupo de pesquisa tem investido na síntese de compostos que possuem o núcleo pirazol, para investigar a atividade contra formas do protozoário *T. cruzi* (4-6). Dando continuidade aos projetos do grupo, neste trabalho foram sintetizados 13 derivados para avaliação da atividade anti-*T. cruzi*.

Experimental

Para a obtenção dos produtos finais **1(a-m)** foi planejada uma rota sintética ilustrada no esquema 1. Primeiramente, cloridratos de arilhidrazina foram submetidos a uma reação ácido-base utilizando acetato de sódio e etanol como solvente, sob refluxo. Após, etoximetilenomalononitrila foi adicionado promovendo uma reação de condensação, seguida pela ciclização, formando os intermediários **2(a-m)**. No próximo passo ocorre uma desaminação aprótica utilizando nitrito de *t*-butila e tetra-hidrofurano sob refluxo. Para a obtenção dos produtos finais **1(a-m)** foi utilizado dissulfeto de carbono e etilenodiamina sob irradiação por micro-ondas (7).

Esquema 1: Rota sintética para a obtenção dos produtos **1(a-m)**.



Todos os intermediários foram caracterizados por Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR), e os produtos finais, além desta técnica, foram caracterizados por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e Espectrometria de Massas de Alta Resolução (HRMS).

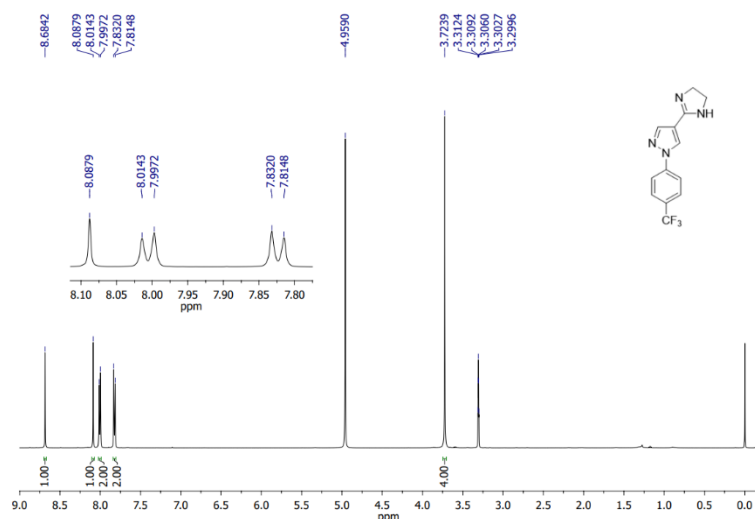
Resultados e Discussão

As análises de (FT-IR) dos produtos **1(a-m)** mostraram bandas típicas do anel imidazolina, em aproximadamente 1620 cm⁻¹ e na faixa de 2980-2840 cm⁻¹, referentes aos estiramentos das ligações C=N e Csp³-H, respectivamente. As bandas características de anéis aromáticos foram identificadas em 3115-3064 cm⁻¹ e 1583-1414 cm⁻¹, relativas aos estiramentos das ligações Csp²-H e C=C/C=N, nesta ordem.



Todos os produtos **1(a-m)** foram analisados por RMN de ^1H e de ^{13}C . Os espectros estão condizentes com as estruturas propostas. Um exemplo de espectro de RMN de ^1H é mostrado na figura 1, relativo ao composto **1k**. Quanto às análises de HRMS, as razões massa/carga (m/z) experimentais para as moléculas protonadas, $[\text{M}+\text{H}]^+$, foram muito próximas dos valores calculados, com erros variando de 0,72 a 3,62 ppm.

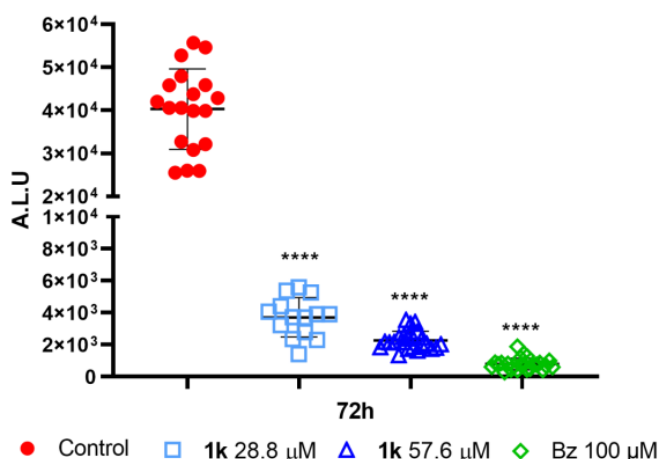
Figura 1: Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, metanol- d_4).



Com relação ao efeito antiparasitário, os derivados que mostraram melhores resultados contra a forma amastigota (intracelular) do protozoário foram: **1a** ($\text{IC}_{50} = 40,8 \pm 3,0 \mu\text{M}$); **1d** ($\text{IC}_{50} = 33,9 \pm 0,8 \mu\text{M}$); **1h** ($\text{IC}_{50} = 26,1 \pm 3,4 \mu\text{M}$); **1k** ($\text{IC}_{50} = 3,3 \pm 0,2 \mu\text{M}$); **1l** ($\text{IC}_{50} = 27,7 \pm 2,0 \mu\text{M}$). Dentre os derivados citados, o **1k** se mostrou promissor, possuindo IC_{50} próximo ao do Bz ($\text{IC}_{50} = 2,2 \pm 0,4 \mu\text{M}$) e um alto índice de seletividade (IS): 73,9.

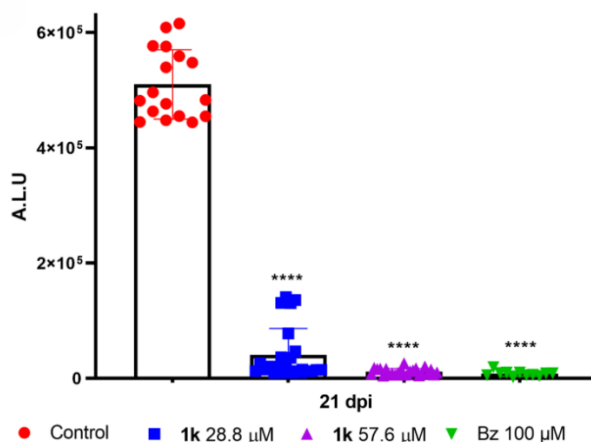
A eficácia antiparasitária do derivado **1k** foi avaliada em microtecidos cardíacos tridimensionais (3D). O valor de CC_{50} foi $173,1 \pm 6,8 \mu\text{M}$, o que indica baixo risco de cardiotoxicidade. A carga parasitária sofreu uma redução alta, alcançando 90% e 94% nas concentrações de $28,8 \mu\text{M}$ e $57,6 \mu\text{M}$, respectivamente (Figura 2).

Figura 2: Eficácia do derivado **1k** em microtecidos cardíacos 3D infectados por *T. cruzi*.



O derivado **1k** foi submetido ao teste de *washout*, que avalia a recrudescência parasitária após a retirada do composto avaliado. Os resultados mostraram uma alta redução da carga parasitária, principalmente na concentração de $57,6 \mu\text{M}$, cuja eficácia foi similar ao Bz (Figura 3).

Figura 3: Efeito de **1k** e Bz na reversibilidade da infecção. Perfil em monocamada celular após 21 dias de infecção.



Conclusões

Todos os produtos **1(a-m)** foram obtidos com rendimentos na faixa de 27-95%. O derivado **1k** mostrou potencial para prosseguir para testes *in vivo*, pois apresentou baixo IC_{50} ($3,3 \pm 0,2 \mu\text{M}$), alto IS (73,9), baixo perfil de toxicidade e alta redução da carga parasitária em microtecidos cardíacos, além de alta eficácia na reversibilidade da infecção.

Agradecimentos



Referências

- Brasil, Territorialização e vulnerabilidade para Doença de Chagas. Boletim epidemiológico, 2022
- Organização Mundial da Saúde. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypansomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypansomiasis))
- C. Oliveira; et al., *Experimental Parasitology* **2023**, 247, 108478.
- T.P. Souza; et al., *Molecules* **2024** 29, 3544-3568.
- L.M.R. Orlando; et al., *Molecules*, **2021** 26, 6742-6770.
- C.N. Pereira; et al., *Current Organic Synthesis* **2023**, 20, 707-715.
- G.S. Rosa; et al. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2019**, 56, 1825-1830.