

ANÁLOGOS DE CHALCONAS HIBRIDIZADOS COM AMINAS CÍCLICAS COM ATIVIDADE CONTRA AS FORMAS TRIPOMASTIGOTAS DE *Trypanosoma cruzi*

Jefferson Rodrigues da Silva Oliveira^{1*}, Alda Maria Teixeira Ferreira², Adriano Cesar de Moraes Baroni³

1. Aluno de Doutorado em Química, Instituto de Química, UFMS

2. Docente, INBio, UFMS

3. Docente, FACFAN, UFMS, Orientador

Resumo

No mundo, 10.000 mil pessoas morrem diariamente devido à doença de Chagas. Estima-se que 8 milhões de indivíduos estão infectados pelo *Trypanosoma cruzi* e 25 milhões estão sujeitos a contrair a doença. O tratamento dessa enfermidade é realizado com apenas um fármaco, benznidazol, desenvolvido há mais de meio século e que apenas atua na fase aguda da doença, exibindo severos efeitos adversos. Portanto, é imperativo identificar novos candidatos a fármacos antichagásicos. Com esse propósito, o grupo de pesquisa Lasquim-UFMS avaliou a atividade biológica contra as formas tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi* de 21 análogos estruturais de chalconas hibridizados com aminas cíclicas, compostos **3a-u**, uma vez que as chalconas são compostos naturais e sintéticos com amplo potencial biológico, inclusive contra *T. cruzi*. Elas foram obtidas através de condensação aldólica entre um aldeído (2a-c) e uma cetona (1a-g) com rendimentos entre 40 e 95%. Dentre os compostos avaliados frente às formas tripomastigotas 8 foram ativos. A série de compostos isômeros de posição **3j**, **3k** e **3l** que apresentam a amina cíclica metil-piperazina em sua estrutura exibiram excelentes resultados de atividade contra formas tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi* com CI_{50} de 13,99 μ M, 13,01 μ M e 12,69 μ M, respectivamente. O composto **3s** se destacou apresentando o melhor resultado com concentração inibitória mínima (CI_{50}) de 0,80 μ M. Esses ensaios sinalizam o potencial farmacológico dessas chalconas em relação à fase aguda da doença de Chagas, ou seja, possíveis agentes antichagásicos.

Palavras-chave: Doença de Chagas, Agentes Antichagásicos, Benznidazol.

Apoio financeiro: CAPES, CNPq, FUNDECT-MS, PROPP-UFMS.

Introdução

A doença de Chagas, ou Tripanossomíase americana, é infecção parasitária causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. Ela é uma antropozoonose de elevada prevalência e expressiva morbidade e mortalidade. Apresenta curso clínico bifásico, composto por uma fase aguda (cl clinicamente aparente ou não) e uma fase crônica, que pode se manifestar nas formas indeterminada, cardíaca, digestiva ou cardiodigestiva (MS 2019). Estima-se que 8 milhões de pessoas estão infectadas pelo *T. cruzi* e, aproximadamente, 25 milhões de indivíduos correm o risco de contrair essa doença. No mundo, pelo menos 10 mil vidas são ceifadas diariamente por essa enfermidade (WHO, 2049; DNDi, 2019).

O protozoário *T. cruzi* se apresenta em três diferentes formas ao longo do seu ciclo biológico: **epimastigota**, localizada no vetor da doença – o inseto barbeiro; **tripomastigota**, forma livre na circulação sanguínea humana e infectante presente na fase aguda da doença; e **amastigota**, forma de multiplicação no interior da célula do hospedeiro presente na fase crônica da doença (CDC 2019).

A fase aguda é caracterizada por sinais e sintomas como febre prolongada (mais de 7 dias); dor de cabeça; fraqueza intensa; inchaço no rosto e pernas. A fase crônica é caracterizada por, na maioria dos casos não apresentar sintomas, porém algumas pessoas podem apresentar, problemas cardíacos, como insuficiência cardíaca; problemas digestivos, como megacolon e megaesôfago (MS 2019).

O tratamento da doença de Chagas no Brasil consiste no emprego de apenas dois fármacos, benznidazol (primeira linha) ou nifurtimox (MS 2019). Esses medicamentos são ativos somente na fase aguda da doença e apresentam severos efeitos adversos. Já para fase crônica da doença ainda não existe nenhum tratamento disponível, apesar da doença de Chagas ter sido identificada há aproximadamente 110 anos (Sueth-Santiago *et. al.*, 2017).

Portanto, é imperativo identificar novos candidatos a fármacos antichagásicos. Com esse propósito, o grupo de pesquisa Lasquim-UFMS avaliou a atividade biológica contra as formas tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi* de 21 análogos estruturais de chalconas hibridizados com aminas cíclicas, compostos **3a-u**.

Esses compostos foram planejados e obtidos por Oliveira (2015) para serem ativos contra *Mycobacterium tuberculosis* (tuberculose). No entanto, uma vez que as chalconas são compostos naturais e sintéticos com amplo potencial biológico, inclusive contra *T. cruzi* (Lunardi *et. al.*, 2003; Aponte *et. al.*, 2008), se torna relevante avaliar a atividade biológica desses compostos frente a outros parasitas.

Metodologia

Síntese dos 21 análogos de chalconas hibridizados com aminas cíclicas 3a-u: eles foram obtidos através de **condensação aldólica** entre um aldeído (**2a-c**) e uma cetona (**1a-g**) com rendimentos entre 40 e 95%. As reações foram conduzidas em um balão de vidro sob agitação, atmosfera inerte, temperatura

ambiente na presença de etanol e hidróxido de sódio (Figura 1). Elas foram acompanhadas por placa cromatográfica. Após tempo determinado ou consumo do reagente limitante, elas foram cessadas pela adição de água. A mistura reacional foi extraída de 3 a 9 vezes com um solvente orgânico (Acetato de Etila), a fase orgânica foi lavada de 3 vezes com água. A fase aquosa da lavagem sofreu uma retro-extração. A fase orgânica foi seca em um agente secante (Sulfato de magnésio) e filtrada. O solvente orgânico foi removido por evaporação à pressão reduzida. Alguns produtos foram obtidos puros e outros necessitaram de purificação por técnicas como lavagem e/ou recristalização e/ou coluna cromatográfica. Finalmente, as chalconas foram caracterizadas por técnicas como ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C , infravermelho, ponto de fusão e espectrometria de massas (Oliveira, 2015).

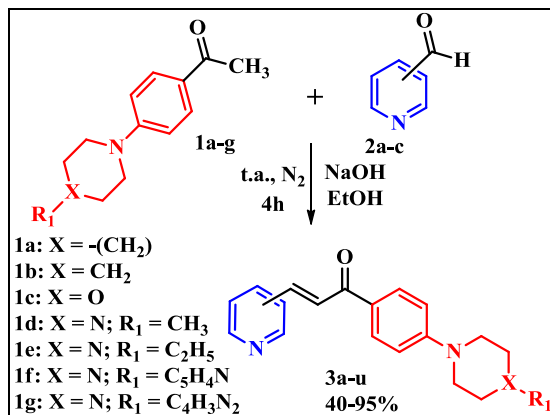


Figura 1 – Rota sintética dos compostos 3a-u

Ensaio com formas tripomastigotas: Formas tripomastigotas metacíclicas, obtidas do processo de metaciclogênese *in vitro* foram distribuídas em placas de 24 poços na concentração de 5×10^6 células/mL em meio TAU3AAG contendo diferentes concentrações dos compostos ativos ou na ausência dos mesmos (controle negativo). Após 4 horas de incubação foi avaliada a atividade dos compostos, por meio de contagem dos parasitas, em câmara de Neubauer (Ceole *et al.*, 2018). O ensaio foi realizado em triplicata. Os resultados foram expressos como a concentração de composto capaz de inibir o crescimento do parasita em 50% (CI_{50}).

Análise estatística: As análises foram realizadas com o auxílio dos softwares Microsoft Excel 2013, SPSS 17.0 e Prisma® versão 5.01 (GraphPad Software Incorporated, San Diego).

Resultados e Discussão

Dentre os 21 análogos de chalconas hibridizados com aminas cíclicas avaliados contra as formas tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi*, 8 compostos foram ativos (Figura 2).

Duas séries de compostos isômeros de posição demonstraram atividade contra as formas tripomastigotas de *T. cruzi*. A série de compostos **3j**, **3k** e **3l** que apresentam a amina cíclica metil-piperazina em sua estrutura exibiram os melhores resultados com CI_{50} de $13,99\mu\text{M}$, $13,01\mu\text{M}$ e $12,69\mu\text{M}$, respectivamente. Já a série de compostos **3m**, **3n** e **3o** que apresentam a amina cíclica etil-piperazina em sua estrutura exibiram os resultados menos expressivos com CI_{50} de $37,36\mu\text{M}$, $38,92\mu\text{M}$ e $44,52\mu\text{M}$, respectivamente.

O composto **3f** também foi ativo exibindo CI_{50} de $16,76\mu\text{M}$. Os isômeros de posição (**3d** e **3e**) desse composto não foram ativos.

O composto **3s** se destacou exibindo a melhor atividade contra formas tripomastigotas de *T. cruzi* com IC_{50} de $0,80\mu\text{M}$. Seus isômeros de posição (**3t** e **3u**) não foram ativos.

O benznidazol é o fármaco de referência nesse tipo de estudo. Ele é um pró-fármaco, ou seja, necessita de ativação pelo parasita para exibir alguma atividade biológica. Nesse trabalho, a metodologia empregada avaliou a atividade dos compostos após 4h de incubação das formas tripomastigota de *T. cruzi* com os compostos **3a-u** e o benznidazol. Esse período de 4h foi insuficiente para o benznidazol exibir alguma atividade. Contudo, foi suficiente para alguns dos compostos **3a-u** demonstrarem o seu potencial e serem considerados assim mais potentes que o composto de referência *in vitro*.

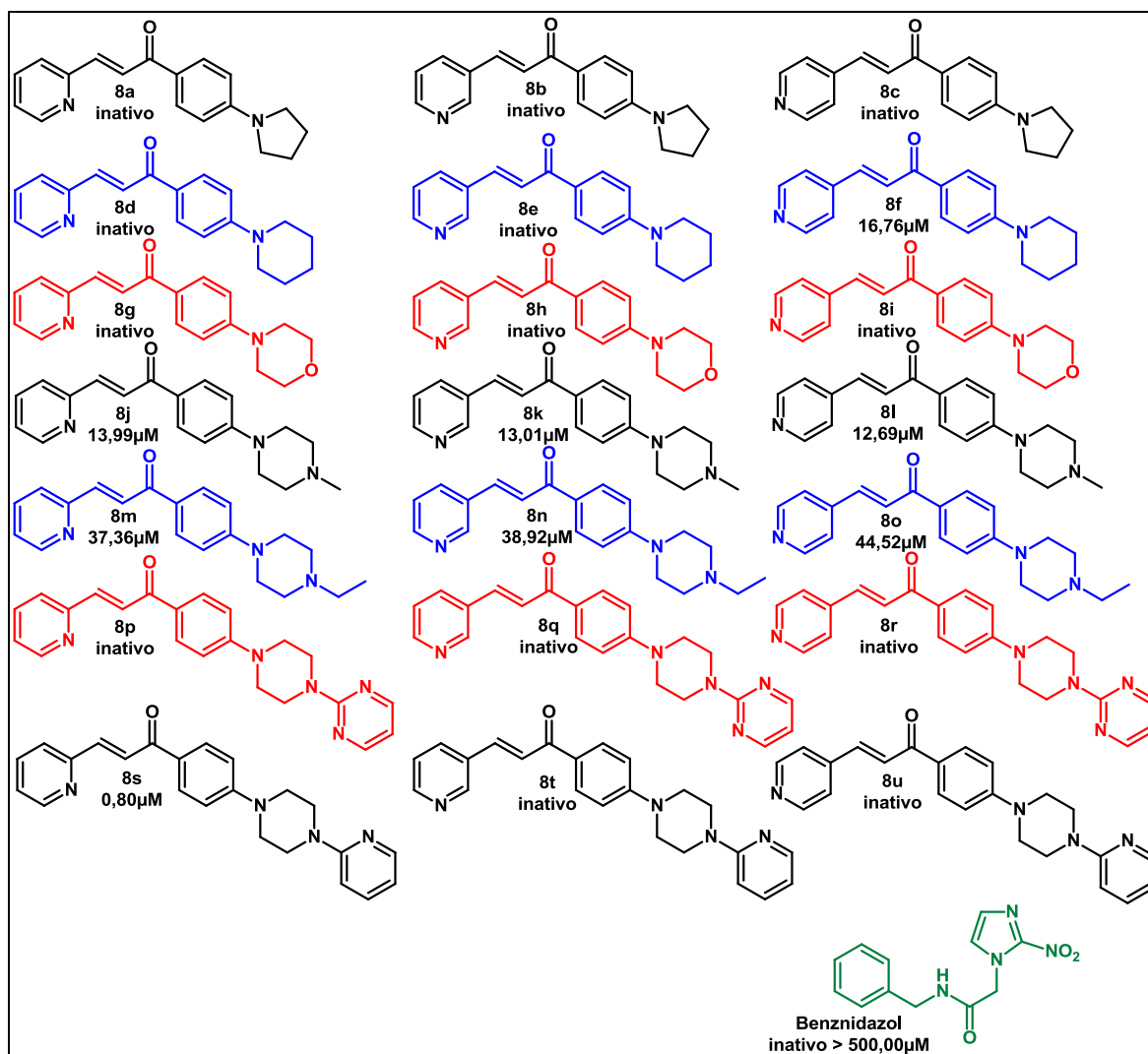


Figura 2 – Resultados da avaliação da atividade biológica contra as formas tripomastigotas de *T. cruzi*

Não é possível discutir os resultados encontrados neste trabalho com os dados disponíveis na literatura, pois a avaliação da atividade biológica de chalconas hibridadas com aminas cíclicas e contendo um anel piridínico em sua estrutura contra *Trypanosoma cruzi* é inédita na literatura. Não foram encontrados compostos similares para se comparar os resultados.

Conclusões

Dentre os 21 análogos de chalconas hibridadas com aminas cíclicas avaliados contra as formas tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi*, 8 compostos foram ativos. A série de compostos isômeros de posição **3j**, **3k** e **3l** que apresentam a amina cíclica metil-piperazina em sua estrutura exibiram excelentes resultados de atividade contra formas tripomastigotas de *T. cruzi* com CI_{50} de 13,99µM, 13,01µM e 12,69µM, respectivamente. O composto **3s** se destacou apresentando o melhor resultado com CI_{50} de 0,80µM. Esses ensaios sinalizam o potencial dessas chalconas em relação à essa forma do parasita, ou seja, possíveis agentes antichagásicos na fase aguda da doença.

Referências bibliográficas

1. Ministério da Saúde (MS). Doença de Chagas: o que é, causas, sintomas, tratamento e prevenção. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/doenca-de-chagas>. Acessado em 14/02/2019.
2. World Health Organization (WHO). "What is Chagas disease?" Disponível em: <https://www.who.int/chagas/disease/en/>. Acessado em 14/02/2019.
3. Drugs for Neglected Diseases initiative (DNDi). O que é doença de Chagas? Disponível em: <https://www.dndial.org/doencas/doenca-chagas/>. Acessado em 14/02/2019.
4. Center for Disease control and Prevention (CDC). Parasites - American Trypanosomiasis (also known as Chagas Disease): Biology. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html>. Acessado em 14/02/2019.
5. Sueth-Santiago, V., Decote-Ricardo, D., Morrot, A., Freire-de-Lima, C. G., Lima, M. E. Challenges in the chemotherapy of Chagas disease: Looking for possibilities related to the differences and similarities between the parasite and host. World journal of biological chemistry. vol. 8. n.1. pp. 57-80. 2017.

6. Oliveira, R. S. O. Síntese de Novas Chalconas com Potencial atividade contra Tuberculose. Dissertação (Mestrado). 144 p. 2015.
7. Lunardi, F., Guzela, M., Rodrigues, A. T., Corrêa, R., Eger-Mangrich, I., Steindel, M., Grisard, E. C., Assreuy, J., Calixto, J. B.. Trypanocidal and leishmanicidal properties of substitution-containing chalcones. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. vol. 47. n. 4. pp. 1449-1451. 2003.
8. Aponte, J. C., Verástegui, M., Málaga, E., Zimic, M., Quiliano M, Vaisberg, A. J., Gilman, R. H., Hammond, G. B. Synthesis, cytotoxicity, and anti-*Trypanosoma cruzi* activity of new chalcones. vol. 51. n. 19. pp. 6230-6234. 2008
9. Ceole, L. F., Gandhi, H., Villamizar, L. H., Soares, M. J., O'Sullivan, T. P. Synthesis of novel quinine analogs and evaluation of their effects on *Trypanosoma cruzi*. vol. 10. n. 4. pp. 391-408. 2018.