

SÍNTESE DE DERIVADOS DA 1,4-NAFTOQUINONA E ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA EM FORMAS EPIMASTIGOTAS DO *T. cruzi*

Aline Alves dos Santos Naujorks^{1*}, Adriano Olímpio da Silva², Rosane Dias Cezar¹, Rosângela da Silva Lopes³, Celso Vataru Nakamura⁴, Dênis Pires de Lima⁵

1. Doutoranda do Instituto de Química da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (INQUI-UFMS)
2. Professor da Universidade Federal do Oeste do Pará (CJUR-UFOPA)
3. Pesquisadora do Laboratório de Síntese e Transformações de Moléculas Orgânicas (LP4-UFMS)
4. Professor/Pesquisador do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá (UEM)
5. Professor/Pesquisador do Instituto de Química – Laboratório LP4/Orientador

Resumo

As naftoquinonas apresentam múltiplas atividades biológicas, dentre elas a atividade tripanocida. Doenças infecciosas como a doença de Chagas permanecem sem um tratamento adequado, tornando necessária a busca de novos medicamentos. No presente trabalho, investigamos a atividade antiproliferativa frente a formas epimastigotas do *Trypanosoma cruzi* e a avaliação de toxicidade *in vitro*, com células de linhagem LLCMK2. Observamos que o derivado 1,4-naftoquinônico **4c** apresentou a melhor atividade anti *T. cruzi* com valor de IC₅₀ de 0,71 ± 0,32 µM.

Palavras-chave: Chagas; Núcleo naftoquinônico; Acoplamento.

Apoio financeiro: Fundect-MS, CNPq e CAPES.

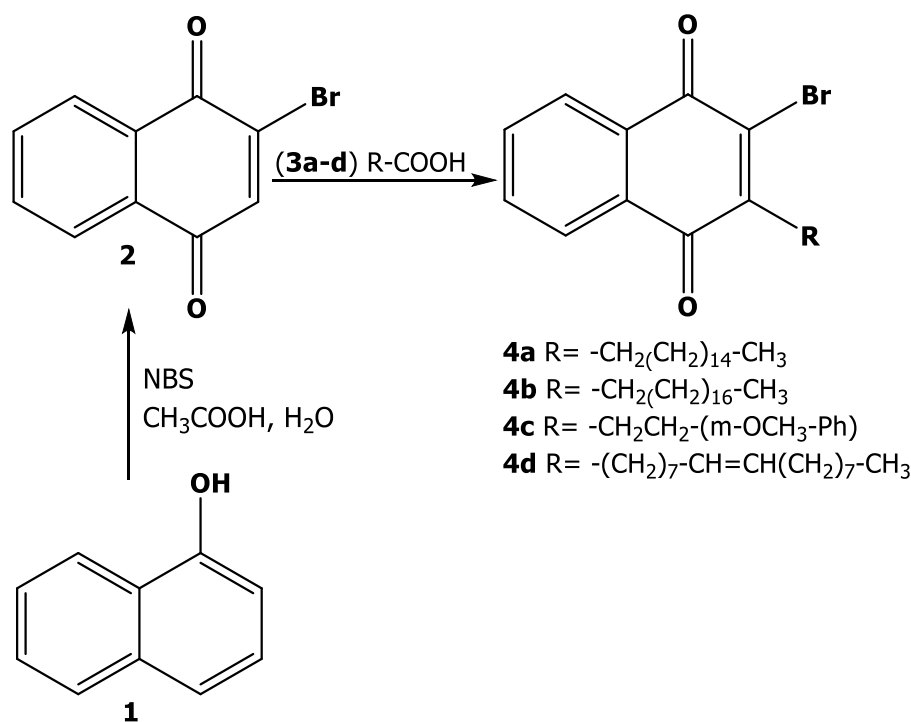
Introdução

As naftoquinonas são substâncias do tipo α,β -enedionas cíclicas com um esqueleto básico aromático, derivadas de um esqueleto naftalênico. As 1,4-Naftoquinonas (1,4-NQ) representam uma larga classe de compostos naturais que são amplamente distribuídas em plantas, invertebrados marinhos, fungos e bactérias (SABUTSKII et al., 2018) e possuem amplas atividades biológicas, descritas na literatura como antibacteriana, anti-inflamatória, antitumoral, tripanocida e anticancerígena (RIFFEL et al., 2002; CLAESSENS et al., 2006; CUI et al., 2008).

A síntese de naftoquinonas é de grande significância porque a ocorrência generalizada de núcleos 1,4-naftoquinônicos em inúmeros compostos naturais e biológicos são de interesse industrial e biológico (BARCIA et al., 2017). Muitos investigadores incluindo nosso grupo de pesquisa tem apresentado que as naftoquinonas apresentaram resultados promissores como antiparasitários (SILVA et al., 2013; NAUJORKS et al., 2015). Os derivados da 1,4-naftoquinona têm sido investigados há muitos anos devido a plenitude dos produtos naturais que contêm esse grupo funcional e a importância desses compostos na pesquisa medicinal (LAMOUREUX et al., 2008). Partindo desses pressupostos, estamos na busca de compostos sintéticos, e na diversidade de compostos bioativos contendo o núcleo naftoquinônico. Assim, este trabalho tem como objetivo a síntese e o ensaio biológico de derivados da 1,4-NQ contra formas epimastigotas do *T. cruzi*.

Metodologia

A síntese dos derivados da 1,4-NQ (**4a-d**) foi conforme a rota de síntese apresentada no **Esquema 1**. Inicialmente preparou-se a 2-bromo-1,4-NQ (**2**) pela reação de 1-naftol (**1**) com NBS (*N*-bromo succinimida), ácido acético e água, de acordo com método descrito por Bachu e colaboradores (2008). Em seguida, o composto **2** foi submetido a uma reação de acoplamento com os ácidos carboxílicos, 3-(4-metóxi-fenil) propanoico (**3a**); palmítico (**3b**); esteárico (**3c**) e oleico (**3d**), na presença de persulfato de amônio, nitrato de prata em acetonitrila e água (1:1), seguindo condições previamente reportadas na literatura (LIU, GU, ZHANG, 1991 e DESSOLIN et al., 2012).



Os compostos **4a-d** foram purificados por meio de coluna cromatográfica de sílica gel Merck 60 (230-400 mesh) usando uma mistura de hexano e acetato de etila como eluente e devidamente caracterizados por meio de infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e de ^{13}C e por espectrometria de massas de baixa resolução. Posteriormente os compostos sintetizados foram testados sobre cepas Y de formas epimastigotas do *T. cruzi* e foram submetidos a avaliação de toxicidade *in vitro*, com a linhagem LLCMK2 (células epiteliais de rim de Macaca mulata), empregando o método de redução do MTT (RODRIGUES et al., 2014; ALMEIDA et al., 2014).

Resultados e Discussão

A fim de obter informação preliminar, os compostos **4a-d** foram testados *in vitro* contra formas epimastigotas do *T. cruzi*. A **tabela 1** apresenta os valores de IC_{50} da atividade tripanocida, o CC_{50} para a citotoxicidade para células LLCMK2 e o índice de seletividade (SI) para cada composto. Formas epimastigotas extracelulares são mais comumente usadas devido a fácil execução, porém, testes frente a formas amastigotas intracelular é o mais indicado (OLMO et al., 2015).

O composto **4c** foi o mais ativo frente a formas epimastigotas do *T. cruzi* com IC_{50} $0,71 \pm 0,32 \mu\text{M}$ (SI = 11,84), e 12 vezes mais ativo do que o benznidazol (IC_{50} $8,80 \pm 0,40$), e ainda, o segundo com o melhor SI, sendo o composto **4a** o que apresentou o melhor índice de seletividade (SI = 13,03).

Ao compararmos as estruturas dos compostos **4a-d**, a substituição da cadeia alquílica (por exemplo, **4a**, **4b**, **4d**) pelo anel fenil com o grupo metoxila, observa-se aumento da atividade tripanocida. É interessante notar que o aumento das cadeias alquílica reduzem a atividade, pois a cadeia alquílica contendo 17 átomos de carbono (composto **3b**) foi duas vezes menos ativa e treze vezes mais citotóxica do que o composto **3a**, que apresenta cadeia alquílica com 15 átomos de carbonos. Em contraste, comparando-se os compostos **3b** e **3d**, verifica-se que a presença de uma ligação dupla na cadeia lateral aumenta a atividade.

Tabela 1. Valores da atividade dos derivados da 1,4-naftoquinona (**4a-d**), atividade tripanocida *in vitro* (IC_{50} μM) contra formas epimastigotas de *T. cruzi*, citotoxicidade (CC_{50} μM , células LLCMK2) e índice de seletividade (SI).

R_1	R_2	CC_{50}^a (μM)	IC_{50}^b (μM)	SI ^c

4a	Br	-CH ₂ (CH ₂) ₁₄ -CH ₃	59,67 ± 18,96	4,58 ± 0,47	13,03
4b	Br	-CH ₂ (CH ₂) ₁₆ -CH ₃	10,19 ± 1,04	9,46 ± 4,75	1,08
4c	Br	-CH ₂ CH ₂ -(m-OCH ₃ -Ph)	8,41 ± 0,09	0,71 ± 0,32	11,84
4d	Br	-(CH ₂) ₇ -CH=CH(CH ₂) ₇ -CH ₃	6,96 ± 0,59	4,01 ± 1,19	1,73
		Benznidazol	ND	8,80 ± 0,40	-

^aCC₅₀: concentration that kills 50% of LLCMK₂ cells, 96 h after incubation with the compounds determined by the MTT method.

^bIC₅₀: concentration that inhibits 50% of the parasite growth in relation to control cultures with no drugs. ^cSI: Selectivity Index $\frac{1}{4} \text{CC}_{50}/\text{IC}_{50}$. ND: not determined.

Conclusões

Neste trabalho, quatro derivados da 1,4-NQ foram sintetizados e testados biologicamente contra a forma epimastigota de *T. cruzi*, permitindo que se fizesse uma análise da estrutura-atividade dos compostos. Os resultados obtidos nesta fase da pesquisa indicam que esses compostos são promissores na busca de novos fármacos para o tratamento da doença de Chagas.

Referências bibliográficas

ALMEIDA, T. L.; MONTEIRO, J. A.; LOPES, G. K.; CHIAVELLI, L. U. R.; SANTIN, S. M. O.; SILVA, C. C.; KAPLUM, V.; SCARIOT, D. B.; NAKAMURA, C. V.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E.; FARIA, R. T.; POMINI, A. M. **Estudo químico e atividades antiproliferativa, tripanocida e leishmanicida de *Maxillaria picta***. Química Nova, v. 37, n. 7, 1151-1157, 2014.

BACHU, P.; SPERRY, J.; BRIMBLE, M. A. **Chemoenzymatic synthesis of deoxy analogues of the DNA topoisomerase II inhibitor eleutherin and the 3C-protease inhibitor thysanone**. Tetrahedron, v. 64, p. 4827-4834, 2008.

BARCIA, J. C.; CRUCES, J.; SALAS, C. O.; ESTÉVEZ, J. C.; CUELLAR, M. A.; TAPIA, R. A.; ESTÉVEZ, R. J. **A new Approach to the Synthesis of Benzo[b]naphtho[2,30b]furan-6,11-diones and 2-Benzyl-3-hydroxynaphthalene-1,4-diones**. SynOpen, 1, 156-165, 2017.

CLAESSENS, S.; KESTELEYN, B.; VAN, T. N.; DE KIMPE, N. **Synthesis of mollugin**. Tetrahedron, v. 62, p. 8419-8424, 2006.

CUI, X. R.; TSUKADA, M.; SUZUKI, N.; SHIMAMURA, T.; GAO, L.; KOYANAGI, J.; KOMADA, F.; SAITO, S. **Comparison of the cytotoxic activities of naturally occurring hydroxyanthraquinones and hydroxynaphthoquinones**. European Journal of Medicinal Chemistry, v. 43, n. 6, p. 1206-1215, 2008.

LAMOUREUX, G.; PEREZ, A. L.; ARAYA, M.; AGU, C. **Reactivity and structure of derivatives of 2-hydroxy-1, 4-naphthoquinone (lawsone)**. J. Phys. Org. Chem., v. 21, 1022-1028, 2008.

LIU, B.; GU, L.; ZHANG, J. **Synthesis of vitamin-K derivatives with different lengths of the alkyl side chain**. Journal of the Royal Netherlands Chemical Society, v. 110, p. 99-103, 1991.

NAUJORKS, A. A. S.; SILVA, A. O.; LOPES, R. S.; ALBUQUERQUE, S.; BEATRIZ, A.; MARQUES, M. R.; LIMA, D. P. **Novel naphthoquinone derivatives and evaluation of their trypanocidal and leishmanicidal activities**. Organic & Biomolecular Chemistry, v. 13, 428-437, 2015.

OLMO, F.; GÓMEZ-CONTRERAS, F.; NAVARRO, P.; MARÍN, C.; YUNT, M. J. R.; CANO, C.; CAMPAYO, L.; MARTÍN-OLIVA, D.; ROSALES, M. J.; SÁNCHEZ-MORENO, M. **Synthesis and Evaluation of In Vitro and In Vivo Trypanocidal Properties of a New Imidazole-Containing Nitrophenalazine Derivative**. European Journal of Medicinal Chemistry, v.106, p. 106-119, 2015.

RODRIGUES, J. H. S.; UEDA-NAKAMURA, T.; CORRÊA, A. G.; SANGI, D. P.; NAKAMURA, C. V. **A quinoxaline derivative as potent chemotherapeutic agent, alone or in combination with benznidazole, against *Trypanosoma cruzi***. PLoS One, n. 9, 2014.

SABUTSKII, Y. E.; DENISENKO, V. A.; POLONIK, S. G. **The Acid-Catalyzed 2-O-Alkylation of Substitute 2-Hydroxy-1,4-naphthoquinones by Alcohols: Versatile Preparative Synthesis of Spinochrome D and Its 6-Alkoxy Derivatives.** *Synthesis*, 50, 3738-3748, 2018.

SILVA, A. O.; LOPES, R. S.; LIMA, R. V.; TOZATTI, C. S. S.; MARQUES, M. R.; ALBUQUERQUE, S.; BEATRIZ, A.; LIMA, D. P. **Synthesis and biological activity against Trypanosoma cruzi of substituted 1,4-naphthoquinones.** *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 60, p. 51-56, 2013.