

SÍNTESE DE PIRAZOL-CARBOXAMIDAS-N-SUBSTITUIDAS PARA INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-*TRYPANOSOMA CRUZI*

Raul Lemes Braga¹ (IC), Mauricio Silva dos Santos (PQ)¹

¹Universidade Federal de Itajubá - UNIFEI.

Palavras-chave: Heterocíclicos. Química medicinal. Síntese orgânica.

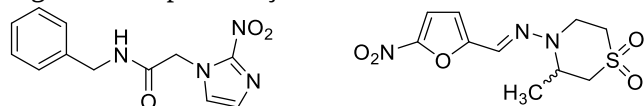
Introdução

A Doença de Chagas (DC), ou tripanossomíase americana, é uma doença tropical negligenciada endêmica da América Latina causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a DC afeta de 6 a 7 milhões de pessoas no mundo todo (WHO, 2023; Gómez-Uchoa, 2022). A DC se manifesta em duas fases: uma fase aguda, que é definida por sintomas como febre, cefaleia, edemas nas pálpebras e distúrbios cardíacos, que em crianças pode ser fatal; uma fase crônica, que ocorre se a doença não for tratada adequadamente durante a fase aguda (FIOCRUZ, 2023). Durante a fase crônica, pode não ocorrer manifestações clínicas por décadas, tornando sua detecção mais difícil, principalmente em regiões carentes (Ministério da Saúde, 2024).

O *T. cruzi* pode ser transmitido pelo contato com fezes e urina de insetos que possuem formas infectantes do protozoário, principalmente do inseto *Triatoma infestans*, congenitamente e por ingestão de alimentos (FIOCRUZ, 2023).

A quimioterapia para o tratamento da tripanossomíase é realizada por apenas dois fármacos, o benznidazol (BZ) e o nifurtimox (NFX) (Figura 1), ambos com boa atividade em combater a infecção do *T. cruzi*. No entanto, também apresentam efeitos colaterais severos que podem afetar o tratamento, além de causar descontinuação pelos pacientes (Porta et al. 2023). Esses fatos reforçam a necessidade de novas formas de tratamento para a DC.

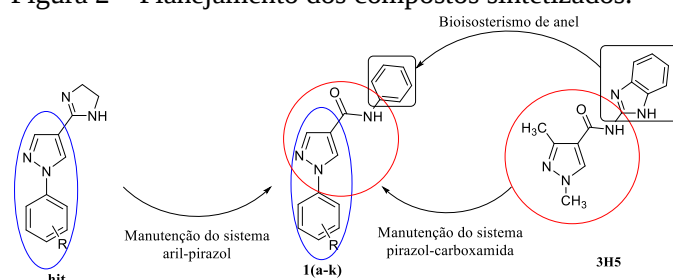
Figura 1 – Representações estruturais do BZ e do NFX.



Nosso grupo de pesquisa, no esforço para desenvolver novas possíveis substâncias para o tratamento dessa doença, desenvolveu e sintetizou diversos derivados pirazólicos com potencial atividade tripanocida. Como destaque, um desses compostos, publicado na revista *Molecules* em 2021, apresentou excelentes resultados em relação à sua atividade tripanocida, além de não apresentar citotoxicidade (Orlando et al. 2021). Baseado nisso, novos compostos vêm sendo desenvolvidos para melhorar atividade biológica, incluindo os compostos sintetizados nesse trabalho que foram planejados baseado

no *hit* previamente publicado, e o 3H5, que atua como um inibidor da cruzipaina, uma enzima importante do protozoário (Figura 2) (Tochowicz et al. 2023).

Figura 2 – Planejamento dos compostos sintetizados.

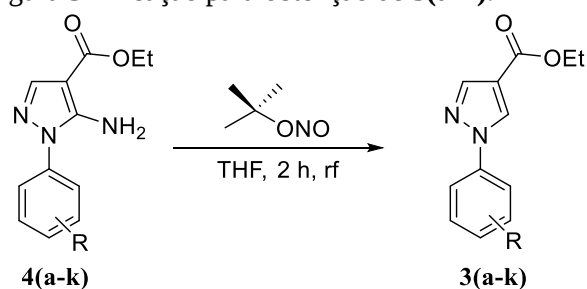


Portanto, neste trabalho foram sintetizados 11 compostos, dos quais 9 foram totalmente caracterizados e estão sendo avaliados quanto à atividade anti-*T. cruzi* e a sua citotoxicidade.

Metodologia

Os produtos **3(a-k)** foram obtidos por uma reação de desaminação aprótica, reagindo os compostos **4(a-k)** com o nitrito de *t*-butila e THF, sob refluxo, por 2 horas (Figura 3) (Silva et al 2024). Os produtos foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR).

Figura 3 – Reação para obtenção de **3(a-k)**.

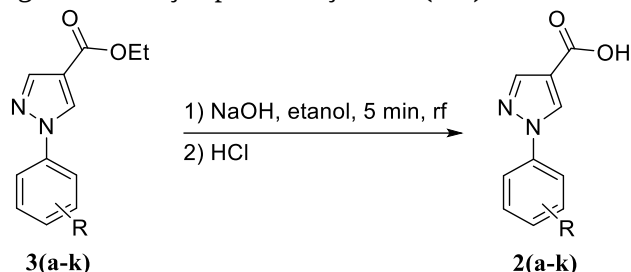


R = a: 3-Cl **b:** 2,4-diCl **c:** 3,5-diCl **d:** 3,4-diCl **e:** 4-Cl **f:** 3-F **g:** 4-Br **h:** 3-Br **i:** 4-OCH₃ **j:** 3-Cl-4-CH₃ **k:** 3-CH₃

Os produtos **2(a-k)** foram obtidos por meio de uma reação de hidrólise básica, que consiste em reagir **3(a-k)** com hidróxido de sódio aquoso em etanol por 5 minutos sob refluxo, seguido por uma acidificação para obtenção do ácido carboxílico correspondente (Figura 4) (Silva et

al. 2024). Estes foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR).

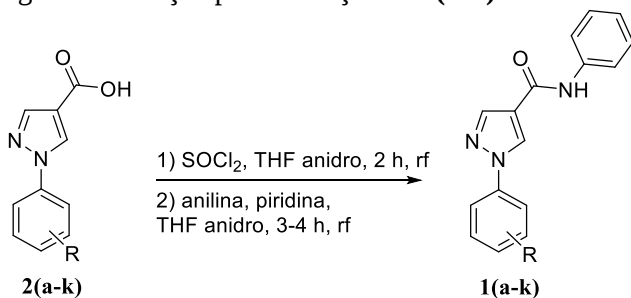
Figura 4 – Reação para obtenção de 2(a-k).



R= a: 3-Cl b: 2,4-diCl c: 3,5-diCl d: 3,4-diCl e: 4-Cl f: 3-F
g: 4-Br h: 3-Br i: 4-OCH₃ j: 3-Cl-4-CH₃ k: 3-CH₃

Os produtos finais 1(a-k) foram sintetizados reagindo 2(a-k) com cloreto de tionila em THF anidro, por 2 horas, sob refluxo, rendendo os cloretos de acila correspondentes, que reagiram com anilina, catalisado por piridina, em THF anidro por 3 a 4 horas (Figura 5) (Silva et al. 2024). Em seguida, os produtos foram purificados por recristalização e caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR), ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono e por espectrometria de massas de alta resolução (HRMS).

Figura 5 – Reação para obtenção de 1(a-k).

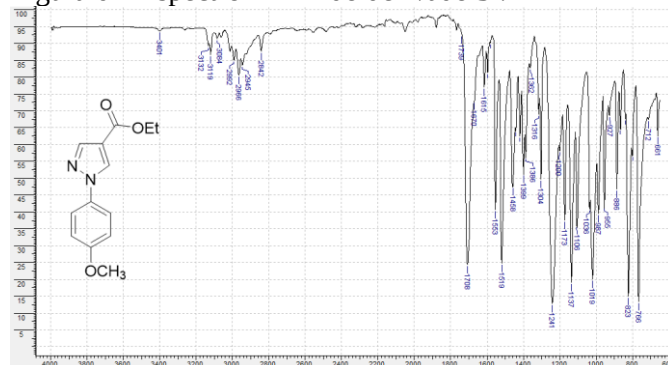


R= a: 3-Cl b: 2,4-diCl c: 3,5-diCl d: 3,4-diCl e: 4-Cl f: 3-F
g: 4-Br h: 3-Br i: 4-OCH₃ j: 3-Cl-4-CH₃ k: 3-CH₃

Resultados e discussão

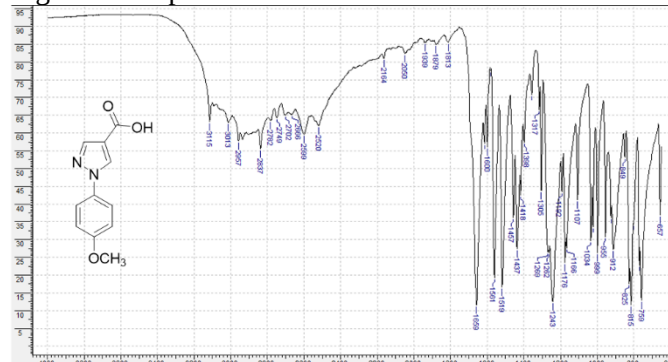
Os derivados 3(a-k) foram obtidos com rendimentos na faixa de 68-98%. Os espectros de FT-IR mostraram evidências de que as reações ocorreram, como exemplo, na figura 6 é mostrado o espectro do derivado 3i. Não foram observadas bandas referentes às ligações N-H de amins primárias como a observada nos derivados 4(a-k), e foram identificadas bandas referentes ao estiramento de carbonilas de ésteres, evidenciando a ocorrência da reação.

Figura 6 – Espectro FT-IR do derivado 3i.



Os derivados 2(a-k) foram obtidos com rendimentos na faixa de 92-99%. A caracterização por FT-IR mostraram evidências da ocorrência das reações, a figura 7 mostra o espectro FT-IR obtido para o derivado 2i. Foi observado uma banda típica da ligação O-H de ácidos carboxílicos, que é tipicamente alargada e serrilhada, além de também apresentar bandas do estiramento de carbonilas de ácido carboxílico, que evidenciou a ocorrência da reação.

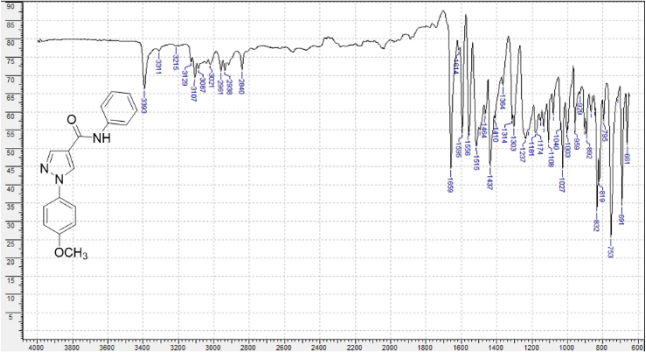
Figura 7 – Espectro FT-IR do derivado 2i.



Em relação aos produtos finais 1(a-k), estes foram obtidos com rendimentos variando de 10-94%, a ocorrência das reações foi evidenciada por FT-IR, e suas estruturas confirmadas por RMN de ¹H e ¹³C e por HRMS, além do ponto de fusão ter sido medido.

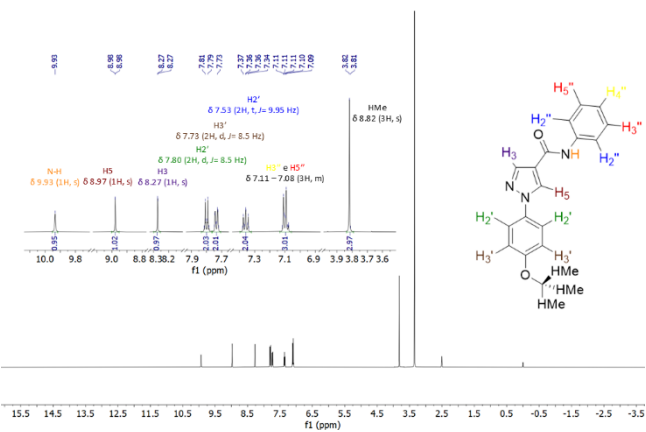
Por FT-IR, a ocorrência das reações foi observada pela presença da banda referente ao estiramento da ligação N-H de amidas primárias e pela presença da banda relativa à carbonila de amidas. Como exemplo, segue o espectro de FT-IR do derivado 1i (Figura 8).

Figura 8 – Espectro FT-IR do derivado **1i**.



Por RMN de ¹H, foram observados sinais referentes aos prótons dos anéis benzênicos, do pirazol e do próton ligado ao nitrogênio da amida. Como exemplo, segue o espectro de RMN de ¹H do derivado **1i** (Figura 9).

Figura 9 – Espectro RMN ¹H do derivado **1i**.



Conclusões

Neste trabalho, foram sintetizados 11 produtos finais **1(a-k)**, com rendimentos de 10 a 94% com alto grau de pureza, e 22 intermediários **2-3(a-k)**. 9 produtos finais estão sendo avaliados quanto à ação anti-*T. cruzi*.

Agradecimentos

Agradeço a UNIFEI, tanto pela bolsa quanto pela oportunidade de realizar esse trabalho, a FIOCRUZ pelas análises de RMN e HRMS e ao Laboratório de Ultraestrutura Celular (LUC) da FIOCRUZ/RJ pelos ensaios biológicos, a FAPEMIG e ao CNPq por materiais de consumo e de capital, ao meu orientador Prof. Dr. Maurício Silva dos Santos pela excelente orientação.

Referências

FIOCRUZ. **Doença de Chagas: sintomas, transmissão e prevenção.** Disponível em: <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/doenca-de-chagas-sintomas-transmissao-e-prevencao>. Acesso em: 2 de setembro de 2024.

GÓMEZ-OCHOA, S. A. et al. Global, Regional, and National Trends of Chagas Disease from 1990 to 2019: Comprehensive Analysis of the Global Burden of Disease Study. **Global Heart**, v. 17, n. 1, p. 59, 24 ago. 2022.

Ministério da Saúde. **Doença de Chagas.** Disponível em: <https://bvsmis.saude.gov.br/doenca-de-chagas-10>. Acesso em: 2 de setembro de 2024.

OMS. **Control of neglected tropical diseases.** Disponível em: <https://www.who.int/teams/control-of-neglected-tropical-diseases>. Acesso em: 2 de setembro de 2024.

ORLANDO, L. M. R.; et al. Structural Optimization and Biological Activity of Pyrazole Derivatives: Virtual Computational Analysis, Recovery Assay and 3D Culture Model as Potential Predictive Tools of Effectiveness against *Trypanosoma cruzi*. **Molecules**, v. 26, n. 21, p. 6742-6742, 2021.

PORTA, J.; KALESH, K. A.; STEEL, P. G. Navigating drug repurposing for Chagas disease: advances, challenges, and opportunities. **Frontiers in Pharmacology**, v. 14, p. 1233253-1233523, 27 jul. 2023.

RAFAELA CORRÊA SILVA et al. Exploring novel pyrazole-nitroimidazole hybrids: Synthesis and antiprotozoal activity against the human pathogen *trichomonas vaginalis*. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 102, p. 117679–117679, 1 mar. 2024.

WHO. **Chagas disease (American trypanosomiasis).** Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/chagas-disease>. Acesso em: 2 de setembro de 2024.

A. TOCHOWICZ; MCKERROW, J. H.; CRAIK, C. S. Crystal structure analysis of cruzain with Fragment 1 (N-(1H-benzimidazol-2-yl)-1,3-dimethyl-pyrazole-4-carboxamide). 27 de set. 2023.