

SÍNTESE DE TIAZOLIDINONAS DERIVADAS DA PRIMAQUINA, POTENCIAIS AGENTES ANTIMALÁRICOS.

DRAWANZ, Bruna Bento¹; NEUENFELDT, Patricia² Devantier; CUNICO, Wilson³

¹ IC, UFPEL; Licenciatura em Química; email: brunabentodrawanz@hotmail.com

² Doutoranda, UFSC PPGQ-UFSC, email: pattypell@gmail.com

³ Orientador, UFPEL, Centro de Ciências Químicas Farmacêuticas e de Alimentos; email: wilson.cunico@ufpel.edu.br

1 INTRODUÇÃO

A síntese orgânica é uma importante subárea de pesquisa da química orgânica e abrange além da obtenção de novos compostos, metodologias de transformação e modificação de compostos orgânicos. A aplicação desse conhecimento na área da química gera estudos sobre rotas sintéticas que visam a obtenção de novas moléculas com ação farmacológica. Neste sentido, este trabalho tem como objetivo obter moléculas sintéticas inéditas que serão candidatas a fármacos para o tratamento da malária.

Uma grande parte da população mundial sofre com doenças parasitárias que, na sua maioria, ocorrem através de protozoários. Entre elas esta a malária que ocorre em praticamente todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo, ou seja, regiões em que a maioria dos países são pobres, subdesenvolvidos e por tais fatores a malária é considerada uma doença negligenciada. Assim países acometidos pela malária não possuem uma boa qualidade de vida para a população [1]. Os protozoários que causam a malária ao ser humano somam quatro espécies diferentes do gênero *Plasmodium*, são eles: o *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malarie*, sendo o *P. falciparum* o mais agressivo [2].

Os sintomas da moléstia aparecem como intensos calafrios seguidos de elevação rápida da temperatura corpórea, acompanhada de náuseas e/ou vômitos, dor de cabeça, dores musculares e abdominais, em casos mais graves pode levar a morte. A malária é considerada uma das mais graves doenças parasitárias. Anualmente, são registrados aproximadamente 300 a 500 milhões de casos, sendo que destes, 1 a 3 milhões são letais [2,3]. No Brasil, a doença é anualmente registrada em cerca de 500 mil casos não letais por ano, concentrados na região amazônica [3]. Esses números são tão grandiosos, devido aos protozoários tornarem-se resistentes aos fármacos. A resistência do mosquito aos inseticidas e, ainda, o surgimento do HIV como fatores que contribuíram para o ressurgimento da doença.

São muitos os fármacos para o tratamento da malária, um deles é a cloroquina, que até hoje é o fármaco de primeira escolha, por ser de baixo custo e com poucos efeitos colaterais. Entretanto, o último fármaco antimalarial lançado na literatura foi na década de 60, o que justifica o desenvolvimento de novos agentes antimaláricos, tanto para alvos terapêuticos conhecidos, como para novos alvos terapêuticos. Outro fármaco de tratamento é a Primaquina que é eficaz contra os gametócitos de todas as espécies que causam a malária humana, além disso é o único antimalarial disponível que é ativo contra a reincidência das malárias causadas pelo *P. vivax* e *P. ovale*, [4]. A primaquina é metabolizada pelo organismo produzindo metabólitos tóxicos, porém tem sido usada na profilaxia da malária nas regiões endêmicas do *P. falciparum*.

Motivados pelo trabalho de Solomon e colaboradores [6] que em 2007 propôs tiazolidinonas análogas a cloroquina como agentes antimalaricais onde foi observado que alguns compostos apresentaram atividades contra o *P. falciparum* superiores a cloroquina, nosso grupo vem desenvolvendo a síntese das tiazolidinonas partindo da primaquina. Portanto, propomos unir a estrutura quinolílica da primaquina com a tiazolidinona que é um importante heterociclo de cinco membros que possui várias atividades biológicas como, antitumoral, anticonvulsivante, antimicrobiana, tuberculostática antimalarial [5,7].

Vistos os danos e problemas relacionados a essa doença negligenciada e tendo a preocupação com a saúde e o bem estar social da população atingida pela malária, neste trabalho decidi intervir. O nosso estudo propõe a aplicação da síntese orgânica, buscando a preparação de uma série de heterociclos, teoricamente interessantes e promissoras no tratamento da malária.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

As moléculas de tiazolidinonas derivadas da Primaquina **3a-p** são obtidas através da reação entre a Primaquina na sua forma difosfato **1**, um benzaldeído correspondente (**2a-p**) e o ácido mercaptoacético em presença de DIPEA). As quantidades de cada reagente são apontadas partindo de uma quantidade determinada de primaquina, normalmente 2g (4,39mmol), 3g (6,58mmol) ou 4g (8,77mmol). A quantidade dos outros reagentes se dão na proporção 1:2:3. A reação acontece em um balão reacional, acoplado a um dean-stark com condensador de refluxo. O sistema fica submetido a agitação e refluxo por aproximadamente 3 h. O fim da reação é verificado através do acompanhamento por Cromatografia de Camada Fina (CCF). Após o tempo reacional a fase orgânica é isolada, lavando-a com solução saturada de NaHCO₃ (3 x 30 ml), extraída com acetato de etila, e seco com MgSO₄ anidro. A seguir é filtrada e o solvente foi evaporado em evaporador rotativo. O produto bruto isolado é purificado por cromatografia em coluna usando sílica Gel 60 (0,2-0,5 mm), em quantidade correspondente a trinta vezes o peso em massa do produto bruto. Os eluentes utilizados foram hexano e acetato de etila em crescente polaridade. O produto puro foi recolhido nas frações de hexano/acetato de etila na proporção 7:3.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

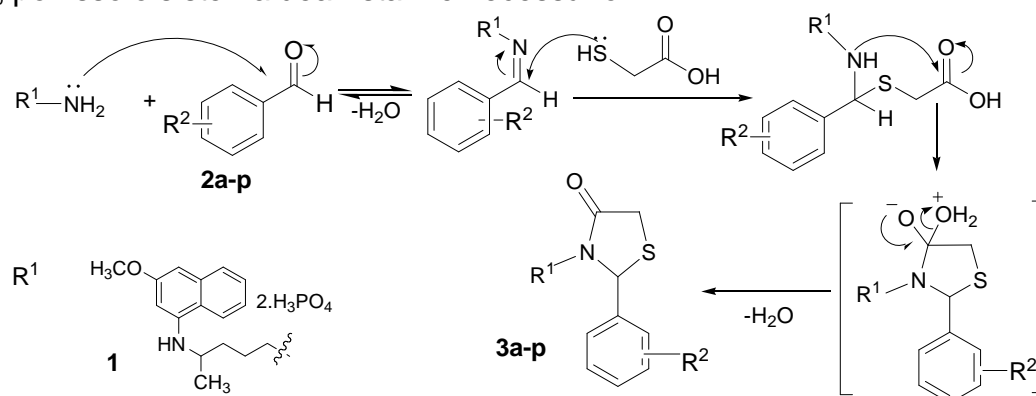
Neste trabalho foi sintetizado moléculas em quantidade de miligramas com cálculo de rendimento e caracterização estrutural. Posteriormente estas moléculas foram submetidas a testes biológicos preliminares, onde algumas moléculas mostraram grande destaque frente o *P. falciparum*. Focados nessas moléculas que se destacaram, novas reações foram executadas visando maior quantidade em massa de produto purificado (200 mg até 2g) para prosseguirem os testes biológicos. Em um primeiro momento foram realizados testes *in vitro* e *in vivo* contra o *P. falciparum*. Atualmente estão sendo realizados testes *in vivo* de inibição do cicloesporogênico contra o *P. gallinaceum*, em galináceos. A Tabela 1 mostra a relação de repetições das sínteses das tiazolidinonas **3a-p** com as quantidades desejadas para os testes. Assim, após a primeira série de reações, a preocupação era aumentar a quantidade de produtos purificados e não no valor de rendimento de reação.

Tabela 1: Obtenção das Tiazolidinonas derivadas da Primaquina

Compostos	Substituinte R ²	Primeira Síntese ^a Rend. %	Segunda Síntese ^b (mg)	Terceira Síntese ^c (g)	Quarta síntese ^d (g)
3a	2-F	44	-	-	-
3b	3-F	89	-	1,6985	2,6479
3c	4-F	89	402,0	-	-
3d	2-NO ₂	59	243,0	1,231	-
3e	3- NO ₂	37	116,2	0,5221	-
3f	4- NO ₂	37	66,3	0,7890	-
3g	2-Cl	66	-	-	-
3h	3-Cl	70	323,8	1,5652	-
3i	4-Cl	52	222,2	-	-
3j	2-OMe	72	415,8	-	-
3k	3-OMe	88	135,3	-	-
3l	4-OMe	87	142,7	0,9664	2,5855
3m	3-CN	41	160,0	0,5889	-
3n	4-CN	89	231,3	0,8077	-
3o	4-CH ₃	89	-	-	-
3p	H	86	-	-	-

^a 0,5 mmol de primaquina; ^b 4,39 mmol; ^c 6,58 mmol; ^d 8,77 mmol

Esse trabalho de pesquisa envolve duas áreas: química e biologia. Pela química tem-se o estudo da reação e obtenção das moléculas. Sabe-se que a rota sintética da reação de formação dessas moléculas tem início com a formação de uma imina intermediária pelo ataque do par de elétrons do nitrogênio da amina à carbonila do benzaldeído, ocorrendo eliminação de uma molécula de água. Uma vez a imina formada acontece o ataque do par de elétrons do enxofre do ácido mercaptoacético ao carbono parcialmente positivo da imina e por sua vez o nitrogênio da imina ataca a carbonila do ácido mercaptocarboxílico ocorrendo uma ciclocondensação intramolecular, havendo mais uma eliminação de uma molécula de água (Esquema 1). As moléculas de água formadas devem ser eliminadas do meio, por isso o sistema dean-stark é necessário.



Esquema 1: Mecanismo da formação das tiazolidinonas **3a-p**

Esse mecanismo da reação independe da quantidade em massa utilizada de reagentes. Entretanto, a variável tempo na reação em maior quantidade deveria ser estudada. Assim, fez-se o acompanhamento das reações por CCF e foi observado que o tempo reacional se manteve semelhante aos das reações em menor quantidade (2-4h). Todos os produtos sintetizados e isolados necessitaram de

purificação em coluna cromatográfica com eluentes hexano/acetato de etila. O comportamento da purificação também se manteve com o aumento da escala, pois as frações puras foram recolhidas na fração 7:3 hexano/acetato de etila.

As moléculas sintetizadas foram todas confirmadas por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , realizadas em Farmanguinhos-Fiocruz no Aparelho Bruker Avance 500MHz utilizando DMSO- d_6 como solvente.

A parte biológica ficou sob responsabilidade da Dra. Antoniana Krettlí que é colaboradora deste trabalho no Departamento de Malária do Centro de Pesquisa René Rachou da Fundação Oswaldo Cruz.

4 CONCLUSÃO

No período de execução desse projeto de pesquisa muitos dos objetivos previstos foram conquistados. Na primeira etapa realizou-se a síntese das 16 tiazolidinonas derivadas da primaquina previstas e confirmou-se suas estruturas por Ressonância Magnética Nuclear ^1H e ^{13}C . Ainda nesse período as moléculas foram submetidas a testes *in vitro* apresentando resultados promissores. Em um segundo momento buscou-se a síntese em maior escala para testes *in vivo* e de citotoxicidade, e ainda tivemos a confirmação que o comportamento da reação não muda com o aumento dos reagentes de partida. Os estudos biológicos continuarão no Departamento de Malária do Centro de Pesquisa René Rachou da FIOCRUZ, uma vez que uma doença tão comum e que leva a morte em regiões do nosso país e de outros países não pode ser ignorada.

6. AGRADECIMENTOS

CNPq (proc. 575746/2008-4 e proc. 305314/2009-2); CAPES; PIBIC-UFPEL.

5 REFERÊNCIAS

- [1] FRANÇA C.C.T., SANTOS, G.M., FIGUEROA-VILLAR, D., Malária: aspectos históricos e quimioterapia, **Quím. Nova**, 31,1271-1278, 2008.
- [2] CUNICO, W., CARVALHO, S.A., GOMES, C.R.B., MARQUES, G.H., Fármacos Antimalariais História e Perspectivas, **Rev. Bras. Farm**, 89, 49-55, 2008.
- [3] KRETTLI, A.U, Antimalarial Drug Discovery: Screening of Brazilian Medicinal Plants and Purified Compounds, **Expert Opinion**, 4, 95-108, 2009.
- [4] VALE, N., et al, Imidazolidin-4-one peptidomimetic derivatives of primaquine: Synthesis and antimalarial activity, **Bioorg. Med. Chem. Lett.**,18, 4150-4153, 2008.
- [5] CUNICO, W., GOMES, C.R.B., VELLASCO J.W.T., Chemistry and Biological Activities of 1,3-Thiazolidin-4-ones, **Mini-Reviews Org. Chem.**, 5, 336-344, 2008.
- [6] SOLOMON, V.R., Haq,W., Srivastava, K., Puri, S.K., Katti, S.B., **J. Med. Chem**, 50, 394, 2007.
- [7] NEUENFELDT, P., DUVAL, A., DRAWANZ, B., ROSALES, P., GOMES, C., PEREIRA, C., CUNICO, W., Efficient sonochemical synthesis of thiazolidinones from piperonilamine, **Ultrasonics Sonochemistry**, 18, 65-67, 2011.