

Investigação Química e avaliação biológica de derivados Tiazolo[3,4-d]piridinas frente à *Artemia salina* Leach

Raíssa Kelly Corrêa de Paiva^{1*}(PG), Luciana Machado Ramos¹ (PQ)

*raissakcpaiva@gmail.com

¹ UEG-CCET, Anápolis-Goiás, Brasil

Resumo: Nos últimos anos compostos derivados do núcleo 3,4-diidropirimidin-2-(1H)ona (DHPMs) vem sendo amplamente explorados no campo da pesquisa medicinal por suas distintas propriedades farmacológicas tais como: bloqueador do canal de cálcio, antibacteriana, anti-inflamatória, antifúngica, antiviral, anticancerígena, antioxidante, anti-hipertensiva entre outras. As DHPMs podem ser obtidas a partir da reação multicomponente de Biginelli. Essa reação é bastante versátil e permite que qualquer um dos componentes envolvidos possa ser modificado ou variado, gerando diferentes compostos com potencial biológico. Nesse sentido a inserção de núcleos como o da tiazolidina-2,4-diona (TZD) contribui para a elaboração de novas moléculas com propriedades terapêuticas. Nesse sentido o presente trabalho objetivou sintetizar diferentes derivados de DHPMs fundidos ao núcleo da TZD via reação de Biginelli e posteriormente avaliar sua toxicidade frente a *Artemia Salina* Leach (TAS) e assim correlacionar as possíveis atividades biológicas desses derivados. A partir de metodologia já estabelecida foram sintetizados 16 diferentes compostos derivados de DHPMs-TZD os quais foram submetidos a ensaio frente a TAS e 4 dos compostos sintetizados apresentaram potencial biológico.

Palavras-chave: Tiazolidina-2,4-diona, Reação multicomponente, Bioatividade.

Introdução

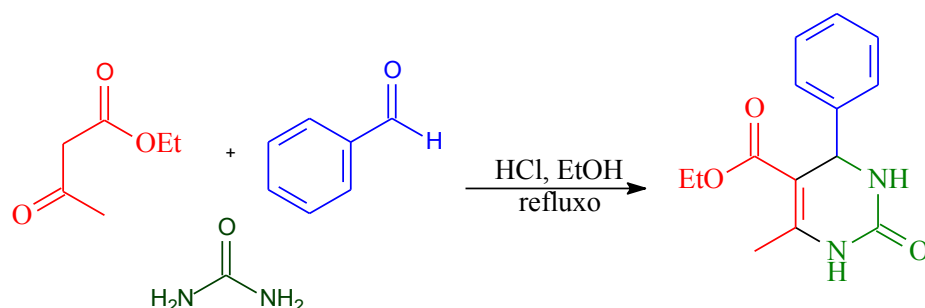
O processo de desenvolvimento de novos fármacos em escala industrial é longo e carece de grande investimento financeiro, além disso as rotas sintéticas envolvidas nesse processo muitas vezes não estão de acordo com o desenvolvimento químico sustentável, sendo então necessários o emprego de novos métodos que venham de encontro aos princípios de uma química limpa (SANGI et al., 2016). Nesse contexto, as reações multicomponentes (RMCs) surgem como uma alternativa sintética, que devido sua alta convergência e menor geração de resíduos adequam aos princípios da química verde.

Nas RMCs são combinados três ou mais reagentes em um único sistema reacional obtendo um único produto final que contem todos ou a maior parte dos átomos

envolvidos na sua formação, esta reação apresenta inúmeras vantagens destacando-se: economia atômica e única etapa reacional (DOMLING, 2005).

Dentre as RMCs encontra-se a reação de Biginelli (Esquema 1) uma das mais úteis na obtenção das 3,4-diidropirimidin-2-(1H) onas (DHPMs), heterociclos conhecidos por apresentarem distintas propriedades farmacológicas: bloqueador do canal de cálcio, antibacteriana, anti-inflamatória, antifúngica, antiviral, anticancerígena, antioxidante, anti-hipertensiva entre outras (RAMOS et al., 2013; TARUNKUMAR et al., 2011).

Esquema 1: Reação de Biginelli.



Fonte: Adaptado de KAPPE 2000.

Diferentes moléculas bioativas obtidas a partir da fusão do núcleo da DHPM com outros núcleos vem sendo reportados na literatura. Um núcleo que recentemente foi incorporado a reação de Biginelli é a 2,4-tiazolidinadiona (TZD) (SINGH et al., 2012).

Diferentes ensaios biológicos são empregados na avaliação do potencial biológico de novas moléculas, dentre esses pode-se destacar o ensaio de letalidade com o microcrustáceo *Artemia salina* Leach (TAS) que é um crustáceo marinho. Este ensaio de letalidade é uma ferramenta útil na avaliação preliminar de toxicidade de substâncias, e também é empregado para detectar compostos bioativos, permitindo correlacionar a toxicidade aguda de compostos contra tumores e também contra o *Trypanosoma cruzi* protozoário causador da doença de chagas (ALVES et al., 2000).

Dolabella e colaboradores 1997 determinaram o grau de toxicidade de substâncias frente ao bioensaio com TAS a partir do cálculo de dose média letal DL_{50} sendo considerados altamente tóxicos aqueles que apresentam $DL_{50} < 80 \mu\text{g} / \text{mL}$, já aqueles com $DL_{50} 80 \mu\text{g}/\text{mL}$ e $250 \mu\text{g}/\text{mL}$, moderadamente tóxico; e $DL_{50} > 250 \mu\text{g} / \text{mL}$, com

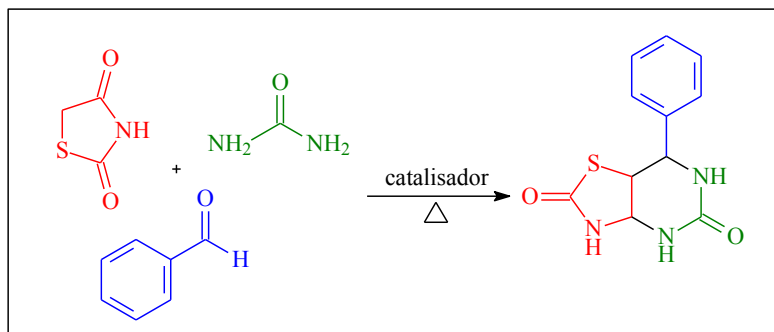
baixa toxicidade ou nenhuma toxicidade, e assim estabeleceu o potencial biológico de substâncias para atividades antitumorais e tripanomicida (DOLABELA, 1997).

Diante do exposto o trabalho objetivou sintetizar e purificar derivados de TZD acoplados a núcleos de DHPMs e submete-los a avaliação toxicológica frente a TAS.

Material e Métodos

Para a obtenção dos compostos de interesse inicialmente procedeu-se a otimização das condições reacionais (esquema 2), as quais foram: em balão de 25 mL de fundo redondo adaptado para refluxo foram adicionados 1,45 mmol de Imidazol, 2 equivalentes de TZD, 1 equivalentes de ureia\tiureia e aldeido 1mLTHF, a mistura reacional foi mantida sob agitação constante durante o tempo de 2h a temperatura de 90°C. Ao fim da reação os produtos formados recristalizados com etanol, após seco aferiu-se o ponto de fusão e posteriormente os compostos foram devidamente caracterizados por análises espectroscópicas: IV e RMN de ^1H e ^{13}C .

Esquema 2: Esquema reacional para a síntese dos derivados de TZD-DHPMs.



O ensaio de toxicidade frente a TAS foi conduzido segundo metodologia descrita por (DOLABELLA, 1997).

Para o ensaio com TAS inicialmente foi preparado a solução salina na concentração de 36g/L dissolvendo-se 36g de sal marinho para 1 L de água destilada. O pH da solução salina foi controlado através de pHmetro, mantendo-se pH entre 8-9. Parte da solução salina preparada foi adicionada em cuba de vidro, na qual despejou-se ovos de TAS para a eclosão, o sistema foi exposto a luz (fototropismo positivo) e protegido contra insetos. O sistema foi mantido a temperatura ambiente (20-25°C) e aeração continua por 48h para obtenção das larvas do tipo Naúplio.

As soluções dos compostos a serem avaliados foram preparadas em DMSO 5% e em solução salina, compostos com baixa solubilidade foram levados ao ultrassom até que os mesmos fossem completamente solubilizados, trabalhou-se com as seguintes concentrações dos compostos 50, 25 e 10 µg/mL. Em seguida foram adicionadas em tubos de ensaio 2mL de solução dos compostos nas concentrações previamente preparadas, para cada tratamento procedeu-se três repetições. Um ensaio em branco também foi preparado nas mesmas condições sem a presença das substâncias. Como controle negativo, ou seja, o controle do solvente e como controle positivo de toxicidade foi usado K₂Cr₂O₇.

Os tubos de ensaio foram mantidos por 24h em temperatura, iluminação, ambiente propício a sobrevivência dos náuplio de TAS, após esse tempo foi realizada a leitura dos tubos, sendo considerados mortos as larvas que não se moviam durante a leitura mesmo diante da agitação do tubo de ensaio.

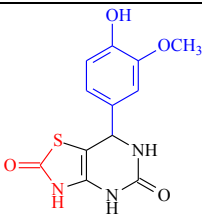
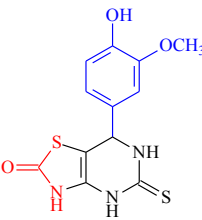
Procedeu-se o cálculo de dose letal DL₅₀ no software BioStat 2009, obtendo-se análise estatística a qual determina os valores de DL₅₀ com intervalo de confiança de 95%.

Resultados e Discussão

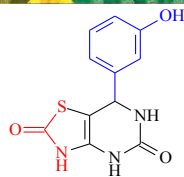
Foram sintetizados 16 diferentes compostos com rendimentos que variaram de 40 a 93%. Os compostos obtidos foram submetidos a ensaio toxicidade com TAS.

Na tabela 1 estão dispostos os resultados de DL₅₀ apresentados por 4 dos 16 compostos obtidos e avaliados frente a TAS.

Tabela 1. Valores de DL₅₀ frente a TAS.

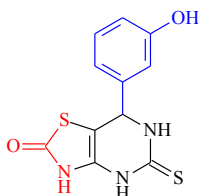
Entrada	Composto	Dose letal em 50% (µg/mL)
1		DL ₅₀ = 306,90
2		DL ₅₀ = 0,0007

3



DL₅₀= 5244,71

4



DL₅₀= 79,37

Os valores de DL₅₀ dos compostos analisados demonstraram toxicidade aguda frente a TAS, uma vez que substâncias com valores menores que DL₅₀<145 µg/mL são consideravelmente tóxicos frente a um organismo-teste, apresentando maior atividade toxicológica. Dessa forma as entradas 2 e 4 apresentam maior potencial antitumoral. Já o compostos 4 é um possível candidato a apresentar atividade tripanomicida, uma vez que substâncias cuja DL₅₀ estiverem na faixa de 80 µg/mL<DL₅₀>250 µg/mL podem apresentar essa atividade (DOLABELA, 1997).

A utilização deste bioensaio preliminar contribui a correlação e confirmação de outras atividades biológicas mais específicas.

Considerações Finais

Diante dos resultados alcançados é possível concluir que a metodologia empregada foi satisfatória para a obtenção dos compostos alvos, e dessa forma pode-se avaliar o potencial biológicos dessas moléculas. Quatro dos compostos submetidos a ensaio frentes a TAS demonstram potencial antitumoral e tripanamicida, este ensaio possibilita prever atividades específicas de um determinado composto a partir de metodologia de fácil manuseio, baixo custo e ainda permite correlacionar as respostas do ensaio com atividades biológicas de forma rápida e concisa.

Agradecimentos

CAPES - FAPEG, CNPq, UEG, Bolsa BIP e Pró-projeto pesquisa edital 026/2016

Referências

ALVES, T. M. A.; SILVA, A. F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T. S. M.; SMÂNIA, E. F. A.; SMÂNIA JR., A.; ZANI, C.L, 2000. **Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz***, v. 95, p. 367-373, 2000.

DOLABELA M. F.; Triagem in vitro para atividade antitumoral e anti Trypanossomacruzi de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas. Minas Gerais, Dissertação de Mestrado, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, ICB, Universidade Federal de Minas Gerais, p.130,1997.

DOMLING. A. Multicomponent Reactions - Superior Chemistry Technology For The New Millennium, **Organic Chemistry Highlights**, 2005.

RAMOS, L. M.; GUIDO, B.C.; NOBREGA, C. C.; CORRÊA, J.R.; SILVA, R. G.; OLIVEIRA, H. C.B.; GOMES, A.F.; GOZZO, F. C., NETO, B. A. S. The Biginelli Reaction with an Imidazolium–Tagged Recyclable Iron Catalyst: Kinetics, Mechanism, and Antitumoral Activity **Chemistry a European Journal**, v.19, n.3, p. 4156 –4168, 2013.

SANGI, D. P. Estratégia de síntese na descoberta de fármacos: o emprego da síntese orientada, **Química nova**, v. 39, n. 8, p. 995-1006, 2016.

SINGH, P.; KUMARI, K.; DUBEY, M.; VISHVAKARMA, V. K.; MEHROTRAC, G. K.; PANDEY, N. D.; CHANDRA, R. Ionic liquid catalyzed synthesis of 7-phenyl-1,4,6,7-tetrahydro-thiazolo [5,4-d]pyrimidine-2,5-diones, **Comptes Rendus Chimie**, v.15, n.6, p. 504 – 510, 2012.

TARUNKUMAR, N. A; RAVAL, J. P. 1,3-dihydro-2H-indol-2-ones derivatives: Design, Synthesis, in vitro antibacterial, antifungal and antitubercular study, **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 5573-5579, 2011.