

Planejamento, síntese e avaliação biológica de derivados de 1,4-dihidropiridinas promovidas por um catalisador híbrido de líquido iônico

Hudieyllen Alves Moreira^{1*} (IC, bolsista CNPq), Luciana Machado Ramos¹ (PQ)

*hudieyllen@gmail.com

¹UEG-CCET, Anápolis-Goiás, Brasil

Resumo: As reações multicomponentes se constituem como poderosas ferramentas para a criação de novas entidades químicas na descoberta de novos fármacos. As 1,4-dihidropiridinas, por exemplo, amplamente conhecidas por eficientes agentes anti-hipertensivos podem ser acessadas pela reação multicomponente de Hantzsch que representou um protocolo extremamente eficaz na síntese desses compostos. O presente trabalho visou à síntese de derivados de 1,4-DHP pelo emprego de uma nova adaptação no método tradicional de Hantzsch que foi alcançado por reações conduzidas em um meio ausente de solvente na presença de um catalisador híbrido de líquido iônico que conferiu bons rendimentos à esses derivados (20-92%). A avaliação toxicológica frente ao microcrustáceo *Artemia salina* permitiu classificar quatro derivados como possíveis agentes tripanomissidas e um derivado como possível antitumoral.

Palavras-chave: 1,4-dihidropiridinas, Hantzsch, heteropoliácido, líquido iônico.

Introdução

A alarmante busca por inovação e pesquisa de maior produtividade para o suprimento da indústria farmacêutica permitiu que a química medicinal alinhasse síntese orgânica à síntese paralela de alta velocidade na descoberta e otimização de uma nova geração de estruturas químicas. Tal contexto resultou na introdução das reações multicomponentes (RMCs) por se constituírem como processos simples e convergentes, responsáveis pela construção de bibliotecas direcionadas e diversificadas de moléculas orgânicas para o desenvolvimento de novos fármacos (WEBER, 2002).

As dihidropiridinas (DHPs) representam um grupo de pequenos compostos orgânicos, derivados do anel pirimidínico. Dentre as cinco possíveis estruturas isoméricas de DHP, as 1,4-dihidropiridinas (1,4-DHPs), obtidas pela reação multicomponente de Hantzsch, são as mais estudadas por apresentarem um vasto espectro de atividades farmacológicas. Além da atividade anti-hipertensiva, o núcleo

da 1,4-DHP ainda é reportado por apresentar atividades anti-inflamatória, antidiabética, hepatoprotetora, antitumoral, antimicrobiana, anticonvulsivante, analgésica, antioxidante, entre outras (EDRAKI et al., 2009).

O método desenvolvido por Arthur Hantzsch representou um protocolo extremamente eficaz na obtenção de derivados de 1,4-DHPs funcionalizados, entretanto, alguns fatores envolvidos durante o processo reacional, como drásticas condições, longos tempos de reação e baixos rendimentos despertaram a busca incessante em diversos pesquisadores pelo desenvolvimento de novas metodologias e adaptações no protocolo tradicional de Hantzsch (NASR-ESFAHANI et al., 2014).

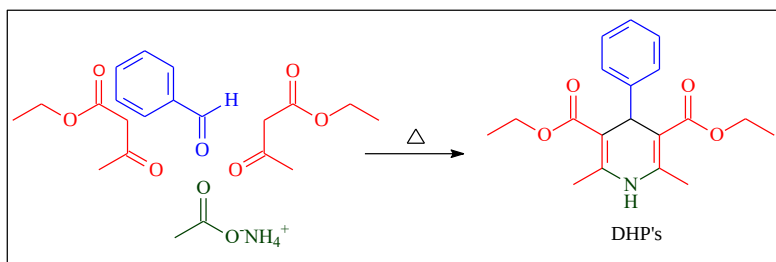
Atualmente, a literatura reporta diversas metodologias, sob melhores condições para obtenção das 1,4-DHPs via reação de Hantzsch como reações sem solvente ou utilizando água, irradiação por micro-ondas e ultrassom, catálise com nanopartículas de óxidos metálicos e enzimas, organocatalisadores, ácido *p*-toluenossulfônico, líquidos iônicos, heteropoliácidos e até mesmo híbridos de líquidos iônicos e heteropoliácidos (NASR-ESFAHANI et al., 2014; ALVIM et al., 2014).

O presente trabalho objetivou o estudo e planejamento de uma nova adaptação da metodologia de Hantzsch, bem como a avaliação toxicológica dos derivados de 1,4-DHPs obtidos frente à *Artemia salina* Leach.

Material e Métodos

Em sistema adaptado com refluxo e constante agitação foram adicionados 1 mmol de benzaldeído, 1 mmol de acetato de amônio e 2 mmol de acetoacetato de etila durante um tempo reacional de duas horas à 80°C, inicialmente em um meio sem solvente e sem catalisador (Esquema 1).

Esquema 1. Esquema geral para a síntese de 1,4-Dihidropiridina.



A avaliação da cinética reacional foi realizada por uma sequência de reações, onde foram avaliados: 1) o efeito do catalisador, a partir do emprego de catalisadores de diferentes natureza na quantidade fixa de 50 mg; 2) análise da quantidade do catalisador; 3) o efeito do solvente; 4) a avaliação da temperatura reacional; e 5) análise da influência da quantidade de cada reagente empregado no meio reacional. Após a escolha das melhores condições reacionais, diferentes derivados foram sintetizados a partir do emprego de diferentes grupos aldeído e amino.

Todas as reações finalizadas foram mantidas em geladeira até a precipitação. Os produtos formados foram filtrados à vácuo, lavados com etanol gelado, recristalizados e medido o ponto de fusão. Os compostos foram elucidados por espectroscopia infravermelha (IV) e RMN de ^1H e ^{13}C .

Seis dos derivados sintetizados foram submetidos à avaliação toxicológica frente à *Artemia salina*. As soluções-estoque foram preparadas utilizando água salina à 3% de DMSO e 0,02% de Tween 80. Alíquotas foram retiradas para obtenção das concentrações de 50 $\mu\text{g/mL}$, 25 $\mu\text{g/mL}$ e 12,5 $\mu\text{g/mL}$ dos compostos sintetizados. O teste foi realizado em triplicatas para cada concentração. Foram utilizadas larvas com 48 horas de eclosão (eclodidas sob iluminação artificial e pH da solução salina adequados – entre 8 e 9) e cada tubo continha 10 larvas. Utilizou-se um controle do solvente à 3% de DMSO e 0,002% de Tween 80. Também foi utilizado um controle da solução salina sem os compostos e como controle de técnica, dicromato de potássio a 0,1%. A contagem dos microcrustáceos vivos em cada tubo foi realizada após 24 horas de contato do composto em análise com a *A. salina*. Os dados obtidos à partir do bioensaio em questão foram lançados no programa Biostat na análise de probitos para obtenção de suas respectivas dosagens letais (DL50).

Resultados e Discussão

No estudo do efeito do catalisador foram avaliados diferentes catalisadores, sendo que o diácido HPW (1,3-bis(carboximetil)- 1H-imidazólio com HPW) foi a espécie que conferiu o melhor rendimento à síntese (53%) conforme evidenciado na Tabela 1.

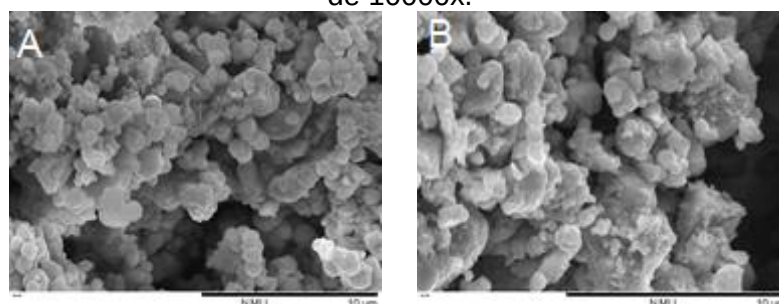
Tabela 1. Estudo do efeito do catalisador na promoção da reação de Hantzsch*.

Entrada	Catalisador	Rendimento(%)
1	-	-
2	PEI + LI	-
3	CuCl ₂	2
4	FeCl ₃	7
5	1,3-bis(carboximetil)-1 <i>H</i> -imidazólio	13
6	(carboximetil)-1 <i>H</i> -imidazólio	13
7	HPW	44
8	HPW ativado	49
9	1,3-bis(carboximetil)- 1 <i>H</i> -imidazólio com HPW	53

*80°C por 2 horas em um meio ausente de solvente com 50 mg do catalisador selecionado.

A eficiência do diácido HPW no meio reacional resulta da união das propriedades do ânion proveniente do ácido 12-tungstofosfórico (HPW) que apresenta uma elevada acidez de Bronsted com o cátion do diácido imidazol de acidez considerável. O híbrido em questão promoveu uma catálise seletiva e efetiva que contribuiu significativamente para o aumento no rendimento da reação. A figura 1 a seguir apresenta a análise da superfície desse catalisador via microscopia eletrônica de varredura.

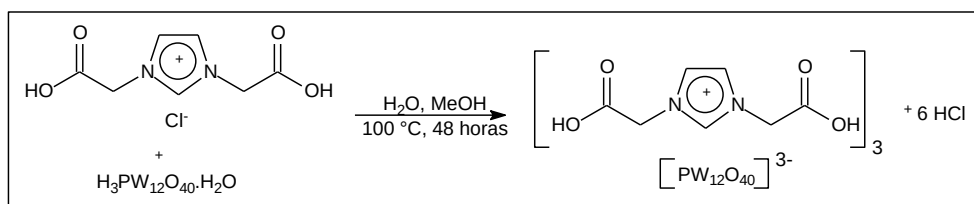
Figura 1. Análise via MEV da superfície do diácido HPW: A) aumento de 8000x; B) aumento de 10000x.



Fonte: arquivo pessoal

A síntese do diácido HPW foi realizada conforme esquema 2.

Esquema 2. Síntese do 1,3-bis (carboximetil)- 1*H*-imidazólio com HPW



A quantidade do diácido HPW foi analisada no meio reacional para avaliação do melhor rendimento (Tabela 2).

Tabela 2. Análise do rendimento em função da variação da quantidade do diácido HPW*.

Entrada	Quantidade	Rendimento (%)
1	50 mg	53
2	100 mg	49
3	200 mg	48
4	300 mg	46

* 80°C por 2 horas em um meio ausente de solvente.

Na Tabela 2, é possível notar que o melhor rendimento foi alcançado com 50 mg do diácido HPW (53%), uma vez que a literatura reporta que o excesso de líquidos iônicos no meio reacional pode promover a formação de agregados que dificultam a disponibilidade do catalisador como promotor da reação, sendo, portanto, uma possível justificativa para o decréscimo no rendimento em quantidades mais altas do líquido iônico em questão.

O efeito do solvente no meio reacional pode ser evidenciado pela Tabela 3.

Tabela 3. Análise do solvente no meio reacional*.

Entrada	Solvente	Rendimento (%)
1	-	53
2	Etanol	35
3	Água	21
4	Acetonitrila	17

* 80°C por 2 horas com 50 mg do catalisador diácido HPW.

Nota-se também na Tabela 3 que os rendimentos do produto final decaíram pelo emprego de solventes de caráter polar, os quais possivelmente solvataram o nucleófilo, deixando-o menos disponível no meio, impedindo que a reação ocorra de forma efetiva. Sendo o meio ausente de solvente, o que conferiu o melhor rendimento.

O efeito da temperatura reacional pode ser observado a partir da Tabela 4.

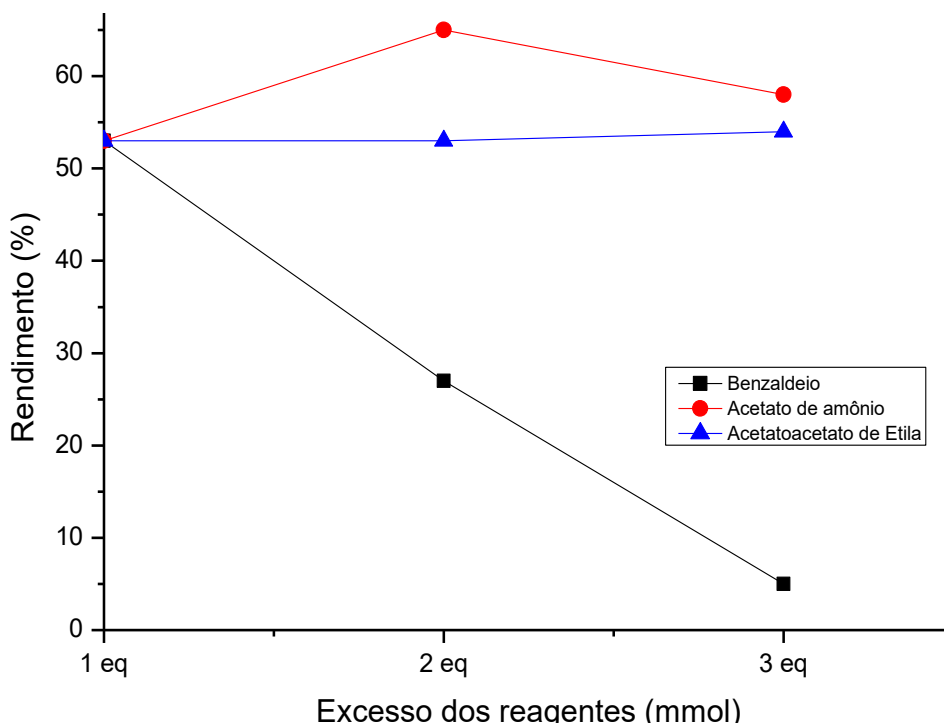
Tabela 4. Avaliação do rendimento em função da variação da temperatura*.

Entrada	Temperatura (°C)	Rendimento (%)
1	30	-
2	50	-
3	60	4
4	80	53
5	90	40
6	100	39
7	120	50
8	130	20

A Tabela 4 permite observar que a reação em questão requer temperatura para a formação do produto desejado, uma vez que a reação à temperatura ambiente não ocorreu. O aumento da temperatura promove o aumento da energia cinética média das partículas envolvidas na reação, contribuindo para um maior número de colisões entre elas, permitindo que os reagentes atinjam o complexo ativado de maneira mais rápida. Dessa forma o produto é formado em uma maior velocidade, contribuindo para o aumento do rendimento reacional.

Para verificar a influência da quantidade dos reagentes adicionados no meio reacional, foram realizadas uma série de reações em que a quantidade de um reagente foi alterada, fixando a quantidade dos demais (acetoacetato de etila, benzaldeído e acetato de amônio), sendo que a reação inicial foi realizada na proporção 2:1:1 conforme figura 2:

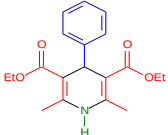
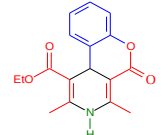
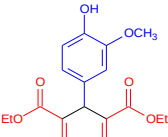
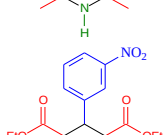
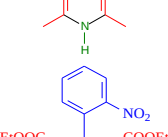
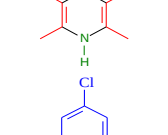
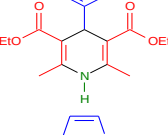
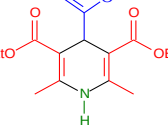
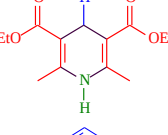
Figura 2. Gráfico Rendimento x quantidade de reagente no meio



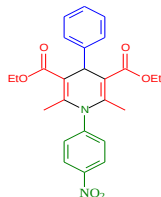
A partir da figura acima foi possível observar que o excesso de acetato de amônio no meio contribui para um maior rendimento (65%), alcançado com 2 mmol do acetato de amônio (Entrada 6). A partir de então todas as condições reacionais

analisadas foram fixadas para a síntese de diferentes derivados de 1,4-DHP conforme apresentado na Tabela 5 a seguir.

Tabela 5. Derivados de 1,4-DHP's sintetizados.

Entrada	Produto	Rendimento (%)*	Faixa de fusão (°C)
1		53	158-159
2		20	218-219
3		26	180-181
4		55	164-165
5		20	171-172
6		33	151-153
7		92	166-167
8		72	190-192
9		21	94-95

10



31

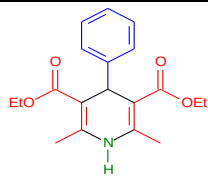
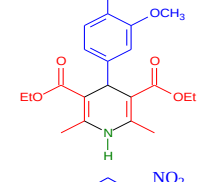
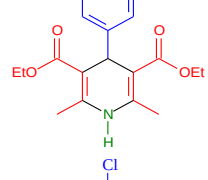
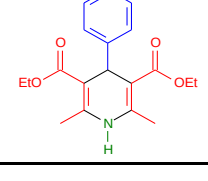
121-122

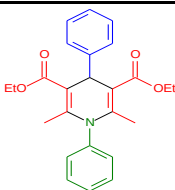
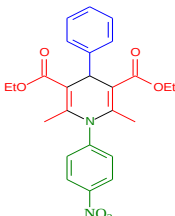
*2 horas reacionais, 80°C com 50 mg do diácido HPW em um meio sem solvente com 2mmol do grupo amino, 1mmol do grupo aldeído e 1 mmol do acetoacetato de etila.

Nota-se que o rendimento dos derivados obtidos foi influenciado de acordo com os efeitos estérico, nucleofílico e também de ressonância do anel dos substituintes em questão, sendo que melhores rendimentos foram obtidos com grupamentos menores e em posições mais afastadas do ataque à carbonila do aldeído (como aldeídos em posições *para* por exemplo).

Seis dos compostos sintetizados foram avaliados em ensaio toxicológico frente à *Artemia salina* Leach. O cálculo da dose letal (DL₅₀) foi realizado com auxílio do programa Probitos com intervalo de confiança de 99% (Tabela 6).

Tabela 6. Valores de DL₅₀ dos derivados obtidos frente a TAS.

Entrada	Produto	DL ₅₀ (µg/mL)	Toxicidade (DOLABELLA, 1997)
1		DL ₅₀ 524,93	Baixa toxicidade
2		DL ₅₀ 162,51	Toxicidade moderada
3		DL ₅₀ 116,156	Toxicidade moderada
4		DL ₅₀ 323,75	Baixa toxicidade

5		DL ₅₀ 169,39	Toxicidade moderada
6		DL ₅₀ 234,15	Toxicidade moderada

Dolabella (1997) em seus estudos correlacionou os valores de DL₅₀ com algumas atividades biológicas, determinando que substâncias que apresentem DL₅₀ na faixa de $80\mu\text{g/mL} < \text{DL}_{50} < 250\mu\text{g/mL}$ podem apresentar atividade tripanomissida e substâncias que apresentem $\text{DL}_{50} < 145\mu\text{g/mL}$ são possíveis candidatos antitumorais. A partir dessa correlação foi possível classificar os compostos das entradas 2, 3, 5 e 6 como possíveis candidatos à atividade tripanomissida e o composto da entrada 3 como possível candidato antitumoral.

Considerações Finais

O presente trabalho permitiu uma nova adaptação da metodologia desenvolvida por Hantzsch na obtenção de derivados de 1,4-DHPs pela síntese promovida por um catalisador reciclável híbrido de líquido iônico e heteropoliácido em um meio ausente de solvente, permitindo assim a adequação do método aos parâmetros da Química Verde e principalmente bons rendimentos aos derivados sintetizados (20-92%). O bioensaio frente à *Artemia salina* se mostrou como um teste simples e eficaz, permitindo avaliar a toxicidade dos derivados de Hantzsch e correlacionar os mesmos com atividades tripanomissida e antitumoral.

Agradecimentos

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

Referências

ALVIM, H. G. O.; BATAGLION, G. A.; RAMOS, L. M.; OLIVEIRA, A. L.; OLIVEIRA, H. C. B.; EBERLIN, M. N.; MACEDO, J. L.; SILVA, W. A.; NETO, B. A. D. Task-specific ionic liquid incorporating anionic heteropolyacid-catalyzed Hantzsch and Mannich multicomponent reactions. Ionic liquid effect probed by ESI-MS(/MS), **Tetrahedron**, V. 70, n. 20, p. 3306-3313, 2014.

BOSSERT, F.; MEYER, H.; WEHINGER, E. 4-Aryldihydropyridines, a new class of highly active calcium antagonists. **Angewandte Chemie**, V. 20, n. 09, p.762-769, 1981.

DOLABELA M. F.; Triagem in vitro para atividade antitumoral e anti Trypanossoma cruzi 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.

EDRAKI, N.; MEHDIPOUR, A. R.; KHOSHNEVISZADEH, M.; MIRI, R. Dihydropyridines: evaluation of their current and future pharmacological applications. **Drug Discovery Today**, V. 14, n. 21, p. 1058-1066, 2009.

NASR-ESFAHANI, M.; MONTAZEROZOHORI, M.; RAEATIKIA, R. An efficient Hantzsch synthesis of 1,4-Dihydropyridines using p-toluenesulfonic acid under solvent-free condition, **Maejo International Journal of Science and Technology**, V. 08, n. 01, p.23-40, 2014.

WEBER, L. The application of multi-component reactions in drug discovery. **Current Medicinal Chemistry**, V. 09, n.23, p. 2085-2093, 2002.