

SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE DERIVADOS DE DIARILPIRIMIDINONAS OBTIDOS VIA REAÇÃO DE BIGINELLI-LIKE

Lalessa Lustosa da costa (IC)*, Luciana Machado Ramos (PQ), Felipe Bruno Lourenço (PG).

Raíssa Kelly Corrêa de Paiva (PG). lalessa_lustosa@hotmail.com

Universidade Estadual de Goiás (CCET).

Resumo: O interesse por novas metodologias para obtenção de compostos bioativos surgiu como uma alternativa na síntese orgânica. Neste contexto destacam-se as Diarilpirimidinonas (DAPM's) obtidas via reação de Biginelli-like, cujo estudo vem crescendo devido à similaridade de sua estrutura com as Dihidropirimidinonas (DHPM's). Portanto o presente trabalho teve como objetivo sintetizar uma série de derivados DAPM's. Com a análise metodológica, foi possível determinar as melhores condições reacionais: 80°C, 2 horas de refluxo, sem uso de solvente e utilizando como catalisador Diácido Imidazol. Assim foi possível sintetizar 7 diferentes compostos (**4a- 4h**), os quais obtiveram rendimentos entre 15 a 76%. Posteriormente os derivados solúveis em DMSO foram submetidos à avaliação de toxicidade frente à *Artemias salina*. Dos compostos, observou-se que **4c**, **4d**, **4g** e **4h** exibiram potencial para atividade antitumoral com valor de $DL_{50} < 80 \mu\text{g/mL}$, o produto **4b** apresentou potencial para atividade tripanomissida ($DL_{50} 182,78 \mu\text{g/mL}$) e **4a** exibiu $DL_{50} 762, 46 \mu\text{g/mL}$, apresentando baixa toxicidade.

Palavras-chave: Biginelli-Like. Diarilpirimidinonas. *Artemia salina*.

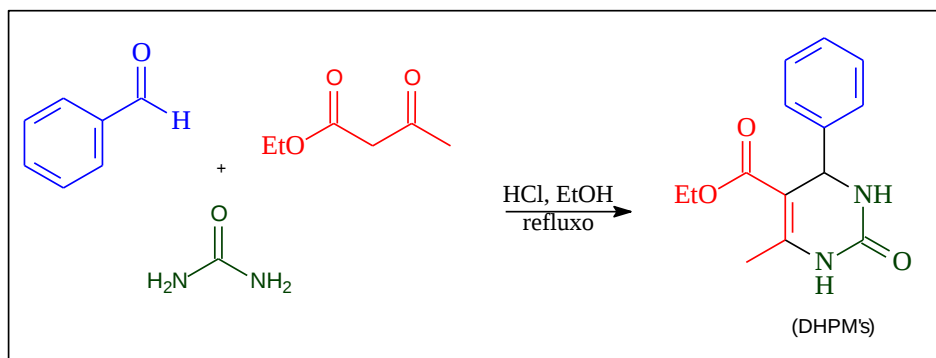
Introdução

Reações de multicomponentes (RMC's) são processos em que se utilizam três ou mais reagentes ao mesmo tempo, ou seja, todos os reagentes utilizados são incorporados ao produto final (SHAABANI; BAZGIR; BIJANZADEH, 2004).

O fator que diferencia as reações de RMC's, quando comparados a algumas reações Lineares é o número de etapas. Em sínteses lineares o número de etapas assim com o uso de solventes é maior, acarretando assim em uma maior quantidade de resíduos gerados. Já em RMC's são reações convergentes, o que possibilita a formação do produto desejado em somente uma etapa, otimizando assim o processo (RAMOS, 2012).

Dentre as RMC's o presente trabalho irá destacar as reações de Pietro Biginelli descoberta em 1893. A síntese de Biginelli ocorreu sob catalise ácida, uso de solvente e com a utilização de três componentes sendo eles: benzaldeído, ureia e acetoacetato de etila (esquema1) (NANDI et al., 2010; KAPPE, 2000).

Esquema 1. Reação proposta por Pietro.



Através da síntese realizada por Pietro, foi possível obter um heterociclo conhecido como Dihidropirimidinona (DHPM's), cujo seus derivados apresentaram varias atividades biológicas, tais como: antiviral, antibacteriana, analgésica, anti-inflamatória, anti-hipertensivo e antitumoral (NANDI et al., 2010).

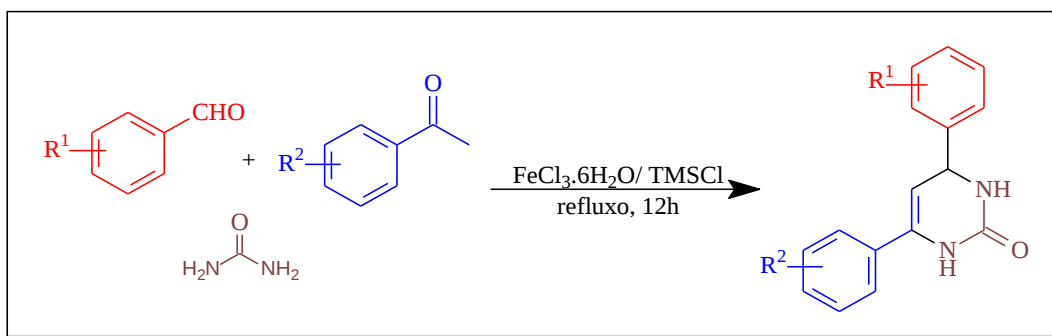
Devido os derivados de DHPM's apresentarem potenciais para novos fármacos, cresceu-se a busca por condições reacionais melhores . A literatura reporta utilização de diferentes tipos de catalisadores ácidos e bases, entre eles estão: FeCl_3 , CuCl_2 , $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, LaCl_3 , $\text{La}(\text{OTf})_3$, $\text{Yb}(\text{OTf})_3$, InX ($\text{X} = \text{Cl}, \text{Br}$), ZrCl_4 , BiCl_3 , LiClO_4 , etc (WANG et al., 2004).

Contudo a catalise tradicional apresenta algumas desvantagens sendo estas: longo tempo de refluxo, baixos rendimentos alcançados, utilização de solventes tóxicos, impurezas dos produtos, uso de catalisadores muito caros, catalise fortemente acida (PHUKAN; KALITA; BORAH, 2010).

Com isso além de modificações dos meios catalíticos, surgiu uma variação da reação de Biginelli clássica chamada reação de "Biginelli-Like". Nesta reação são empregados compostos carbonilados como acetofenona, cetonas cíclicas entre outros reagentes carbonilados (PHUKAN; KALITA; BORAH, 2010).

Em 2004 foi reportada a primeira reação de Biginelli-Like por Wang e colaboradores. Na síntese foi utilizado benzaldeído, acetofenona e ureia, usando como catalisador $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em TMSCl por 12 horas sob refluxo (esquema 2), o que possibilitou a formação das Diarilpirimidinas (DAPM's) com 82% de rendimento.

Esquema 2: Reação de Biginelli-Like.



FONTE: Adaptado de WANG et al., 2004.

Reações de Biginelli clássica foram e ainda estão sendo aprimorada até o presente momento, devido a facilidade de obter uma biblioteca de compostos ativos, logo tornou-se muito interessante estudar as atividades biológicas presentes nos derivados de Diidropirimidinonas obtidos via reação de Biginelli-Like (WANG et al., 2004; PHUKAN; KALITA; BORAH, 2010).

Um foco especial é dado para a avaliação biológica, destacando nesse contexto, o teste preliminar com *Artemia salina* (TAS). O TAS é um teste rápido e de fácil manuseio para se descobrir compostos com potenciais para novos fármacos, e posteriormente os testes mais específicos realizados: antifúngico, antitumoral, entre outros (CAVALCANTE et al., 2000; COSTA, 2009).

O teste com o microcrustáceo de água salgada, *A. salina*, tem como principal objetivo a identificação da toxicidade dos compostos através de cálculos de dose letal (DL₅₀) (COSTA, 2009; MEYER et al., 1982).

Dolabela (1997) estabeleceu critérios de toxicidade baseando nos cálculos de DL₅₀: DL₅₀ superior a 1000 µg/mL os produtos analisados não possuem atividade toxicológica, DL₅₀ 80 µg/mL a 250 µg/mL moderadamente tóxico e DL₅₀ < 80 µg/mL, altamente tóxicos (DOLABELA, 1997).

O presente trabalho objetiva aprimorar a catálise das reações de Biginelli-like empregando uma metodologia que empregue catalisadores recicláveis, solventes

menos tóxicos e melhores rendimentos, além da avaliação toxicológica dos derivados sintetizados.

Material e métodos

Em um balão e fundo redondo pesou-se 3mmol de benzaldeído, acetofenona e ureia a 80°C por duas horas sob refluxo sem a utilização de solvente e com agitação magnética constante. A fim de se encontrar melhores condições reacionais.

Inicialmente analisou o melhor catalisador, posteriormente a melhor concentração do catalisador, temperatura e variação do solvente os quais variação entre polar e protico polar. Após escolha das condições reacionais, fez-se a variação dos aldeídos para obtenção dos derivados.

Todos os produtos sintetizados foram tratados com etanol comercial gelado.

Os compostos sintetizados foram solubilizados em DMSO e submetidos a avaliação biológica frente à *Artemia salina* (TAS). Inicialmente preparou-se o sal marinho (36,5 g/L) com pH 8,5 (O pH ideal para que as larvas de TAS sobrevivam após a eclosão é pH entre 8-9).

Os ovos foram colocados em aquário, com controle de luz e com aeração por 48h, criando-se assim um ambiente perfeito para que os ovos eclodissem.

Dos compostos sintetizados, foram preparadas concentrações de 10, 25 e 50 µg/mL apenas dos que foram solúveis em DMSO a 5%, o qual também foi usado como controle negativo e para o controle positivo usou-se K₂Cr₂O₇ com concentração 11mg/L.

Em cada tubo de ensaio adicionou-se 3m L das diferentes concentrações de cada solução (em triplicata) e colocou-se 10 larvas das *Artemia salina*. Os tubos foram deixados na presença de luz por 24 horas, e após esse período fez a contagem do número de larvas vivas.

Resultados e Discussão

A fim de se descobrir melhores condições reacionais para obtenção de DAPM's, foram montados sistemas usando acetofenona, benzaldeído e ureia variando apenas o catalisador (tabela1).

Tabela 1. Análise da variação dos catalisadores.

Entrada	Catalisador (50 mg)	Rendimento (%)
1	----	28
2	Diácido Imidazol	50
3	Imidazol	30
4	FeCl ₃	2
5	CuCl ₂	8

*3mmol de Benzaldeído, 3mmol Acetofenona, 3mmol ureia, 80°C, 2 horas.

Dentre os catalisadores usados o que mostrou melhor para obtenção do produto foi o Diácido Imidazol obtendo 50% de rendimento, a reação foi repetida algumas vezes a fim de se verificar os resultados obtidos.

Após escolher o catalisador, fez-se a variação quantidade do mesmo, sendo novamente montados sistemas de refluxos usando benzaldeído, acetofenona e ureia, porém agora variando apenas a quantidade do catalisador (tabela 2).

Tabela 2. Analisando a influência da quantidade do diácido imidazol.

Entrada	Quantidade do catalisador (mg)	Rendimento (%)
1	30	28
2	50	50
3	70	51
4	80	34

*3mmol de benzaldeído, 3 mmol acetofenona, 3 mmol ureia, 80°C, 2 horas, diácido imidazol.

Ao realizar a variação da quantidade do Diácido Imidazol observou-se um decaimento do rendimento da reação e o produto sintetizado apresentava resquícios do catalisador. Portanto optou-se por utilizar 50mg do catalisador, uma vez que o precipitado formado ficou homogêneo.

Após catalisador e concentração escolhidos viu-se necessário avaliar a temperatura reacional (tabela 3).

Tabela 3. Avaliação da temperatura empregando Diácido Imidazol

Entrada	Temperatura (°C)	Rendimento (%)
1	40	30
2	50	21
3	60	33
4	70	28

5	80	50
6	90	56
7	100	31

*3mmol de Benzaldeído, 3mmol Acetofenona, 3mmol ureia, 2 horas, diácido imidazol.

A temperatura que se mostrou melhor nas condições reacionais escolhidas foi a de 80°C, obteve 50% de rendimento. Com o aumento da temperatura observou-se que havia um retardamento da reação, ou seja, a conversação de reagentes em produtos leva mais tempo para acontecer.

Após a escolha do catalisador, da concentração e temperatura avaliou-se o comportamento do solvente no meio reacional, usando 1mL de cada solvente variado (Tabela 4).

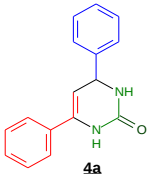
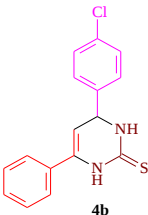
Tabela 4. Variação do solvente usando diácido imidazol

Entrada	Solventes	Rendimento (%)
1	Sem solvente	50
2	MeOH	53
3	THF	-
4	H ₂ O	-
5	C ₂ H ₅ N	43

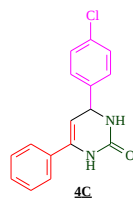
*3mmol de Benzaldeído, 3mmol Acetofenona, 3mmol ureia, 80°C, 2 horas, diácido imidazol.

Como um dos objetivos do presente trabalho era utilizar processos mais verdes, ou seja, com menor geração de resíduos e sem usar solventes muito tóxicos, optou por fazer a variação dos aldeídos sem solvente uma vez que o rendimento da reação com o metanol deu muito próximo da reação sem solvente.

Tabela 5: Derivados de Biginelli-like sintetizados

Entrada	Produto	Rendimento
1	 4a	50%
2	 4b	20%

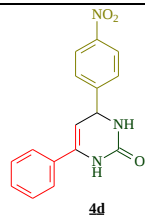
3



76%

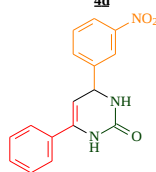
Continuação da **Tabela 5**: Derivados de Biginelli-like sintetizados

4



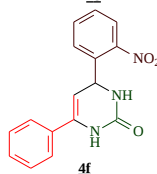
37%

5



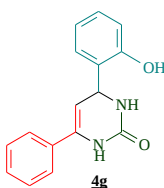
64%

6



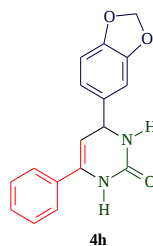
17%

7



15%

8



29%

Posteriormente foi feito a análise dos derivados frente à *Artemia salina*, e através dos valores de DL_{50} encontrados foi possível correlacionar os dados experimentais com os valores da literatura (Tabela 6).

Tabela 6. Valores de DL_{50} dos derivados sintetizados.

Entrada	Composto	DL_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Toxicidade
1	4a	762,46	Baixa Toxicidade
2	4b	182,78	Moderadamente tóxico
3	4c	71,99	Altamente tóxico
4	4d	41,43	Altamente tóxico

Comparados com os valores estabelecidos por Dolabela em 1997 os compostos da entrada 2 apresenta potencial para atividade tripanomissida e os compostos da entrada 3,4, 5 e 6 apresentam potencial para atividade antitumoral.

Considerações Finais

Foi possível avaliar as melhores condições de reação de Biginelli-like utilizando um catalisador de Líquido Iônico, empregando conceitos de química verde.

Os dados obtidos com o ensaio biológico frente a *A. salina* demonstraram possíveis atividades biológicas dos compostos sintetizados.

Agradecimentos

À UEG pela bolsa CNPQ concedida

Referências Bibliográficas

COSTA, S.S.; DOLABELA, M. F.; OLIVEIRA, D. J.; MULLER, A.H. Estudos farmacognósticos, fitoquímicos, atividade antiplasmódica e toxicidade em Artemia salinade extrato etanólico de folhas de Montrichardia linifera(Arruda) Schott, Araceae, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n. 4, p. 834-838, 2009.

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

KAPPE, C.O. Biologically active dihydropyrimidones of the Biginelli-type — a literature survey. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.35, n.12, p. 1043 – 1052, 2000.

MEYER, B.N.; FERRIGINI, N.R.; PUTNAN, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS DE, MCLAUGHLIN, J.L.; Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plants constituents. **Journal of medicinal Plant research**, v.45, p.31-34, 1982.

NANDI, G. C.; S. SAMAI, S.; Singh, M. S. Biginelli and Hantzsch-Type Reactions Leading to Highly Functionalized Dihydropyrimidinone, Thiocoumarin, and Pyridopyrimidinone Frameworks via Ring Annulation with β -Oxodithioesters. **Journal Organic Chemistry**, v.75, n.22, p.7785-7795, 2010.

PHUKAN, M.; KALITA, M. K.; BORAH, R. A new protocol for Biginelli (or like) reaction under solvent-free grinding method using $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ as catalyst. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v.3, n.4, p. 329-334, 2010.

RAMOS, L.M. Tese de Doutorado: Reações de Biginelli promovidas por um novo catalisador de Ferro ionicamente marcado. **Instituto de química da universidade de Brasília**, p. 1-198, 2012.