

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTILEISHMANIA DE NOVOS DERIVADOS 3-TRIFLUOROMETILPIRAZÓIS CONTENDO O NÚCLEO TIOFÊNICO

Giovanna Amaral Filipe, Fernanda Andreia Rosa, email: farosa@uem.br
Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Química/Maringá, PR.

Ciências Exatas e da Terra/Química

Palavras-chave: *Leishmania amazonensis*, núcleo pirazolínico, núcleo tiofênico.

Resumo: A Leishmaniose é uma doença negligenciada, transmitida, principalmente, através de picada do mosquito *Flebotomíneo*. Com o aumento do número de casos e as dificuldades encontradas no tratamento desta doença, o controle e o tratamento devem ser de alta prioridade na saúde pública. Assim, torna-se importante desenvolver novos fármacos para que o tratamento da leishmaniose seja mais eficaz. Portanto, como os núcleos pirazolínicos e tiofênicos fornecem derivados extremamente úteis para a produção de novos compostos biologicamente ativos, e como o grupo trifluormetila ocasiona uma melhoria nas propriedades terapêuticas de diversos compostos, neste trabalho foram desenvolvidas metodologias de síntese regioseletiva de 3-trifluormetil-4-iminometil-5-tiofenil-*N*-arilpirazóis e 3-trifluormetil-4-formil-5-tiofenil-*N*-arilpirazóis, além da avaliação da atividade antileishmania destes compostos.

Introdução

A leishmaniose é uma doença encontrada em, aproximadamente, 88 países dos cinco continentes, principalmente em regiões tropicais que possuam condições favoráveis para proliferação dos parasitas. Os protozoários do gênero *Leishmania* apresentam duas formas durante o seu ciclo evolutivo, as amastigotas que não possuem flagelo livre e são parasitas obrigatórios intracelulares, e a forma flagelada promastigota que pode ser encontrada no trato digestivo dos hospedeiros invertebrados. O tratamento da leishmaniose é considerado difícil devido a toxicidade dos medicamentos disponíveis, o que acarreta em diversos efeitos colaterais ao paciente, fazendo com que o mesmo desista do tratamento (VENDRAMETTO, 2006).

Recentemente, a produção de fármacos a base de heterociclos nitrogenados (aza-heterociclos) têm aumentado devido às diversificadas propriedades farmacológicas apresentadas por esses compostos, com destaque para os pirazóis, compostos que apresentam um núcleo aromático de cinco membros com dois átomos de nitrogênios adjacentes no anel. Este núcleo vem sendo considerado extremamente útil na produção de compostos biologicamente ativos. Adicionalmente, o grupo trifluormetila (-CF₃) como substituinte na estrutura de heterociclos, tem recebido grande interesse, pois altera as propriedades físico químicas dos compostos podendo ocasionar melhoras farmacológicas (BISOL, 2007).

Diante disso, o nosso grupo de pesquisa, o Grupo de Síntese de Heterociclos (SINTHET), vem desenvolvendo metodologias de síntese regioseletiva de aza-heterociclos a partir da ciclocondensação de β-enaminodictonas

polifuncionalizadas. Assim, neste trabalho desenvolveu-se metodologias de síntese regioselectiva de novos pirazóis trifluormetilados contendo o núcleo tiofênico. Além disso, a atividade antileishmania dos compostos foi avaliada.

Materiais e métodos

Reagentes e solventes de alta pureza foram utilizados na síntese dos compostos. A elucidação estrutural foi realizada por ressonância magnética nuclear utilizando tetrametilsilano como padrão interno e solventes deuterados. O ensaio antiproliferativo foi baseado na metodologia descrita por ROEHM *et al.* (1991) em promastigotas de *Leishmania amazonensis*. A citotoxicidade foi avaliada utilizando o ensaio de MTT MOSSMANN (1983) em células epiteliais e macrófagos.

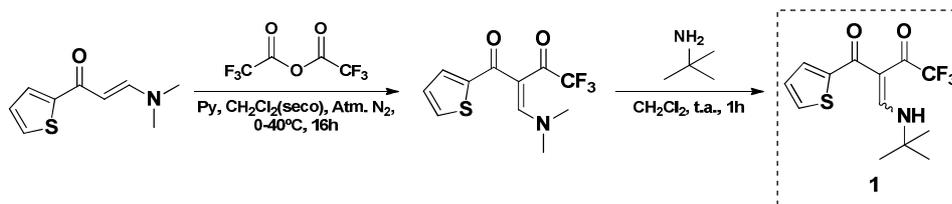
Resultados e Discussão

1. Síntese e caracterização estrutural

1.1. Síntese da β -enaminodicetona trifluormetilada

A β -enaminodicetona trifluormetilada **1** foi obtida através da C-acilação da β -enaminona com anidrido trifluoroacético e posterior troca do grupo NMe_2 por NH^tBut , conforme descrito na literatura (SILVA, 2017) (**Esquema 1**).

Esquema 1.



A β -enaminodicetona trifluormetilada **1** foi purificada via recristalização em etanol, sendo obtida como um sólido de coloração esbranquiçada, com rendimento de 88 % e faixa de fusão de 81,9 – 83,4° C. A caracterização estrutural foi realizada via RMN unidimensional (^1H e ^{13}C) e bidimensional (HSQC e HMBC), apresentando sinais característicos para a estrutura sugerida, sendo que nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foi possível observar a duplicação dos sinais referente à mistura de isômeros *E/Z*, com proporção de, aproximadamente, 77/23% da mistura.

1.2. Síntese dos pirazóis trifluormetilados

A metodologia de síntese dos 4-(alquil/aril)iminometil pirazóis **2-3** e 4-formil pirazol **4** foi desenvolvida pelo nosso grupo de pesquisa. Assim, a uma solução de β -enaminodicetona trifluormetiladas **1**, foi adicionado o ácido de Lewis BF_3OEt_2 e fenilidrazina, cuja reação foi mantida em refluxo de acetonitrila por 7 horas (**Esquema 2 – Rota A**).

Para os 4-ariliminometil pirazóis **3a-f** a reação foi mantida em refluxo por 7 horas e deixada voltar a temperatura ambiente. Em seguida, foram adicionadas as respectivas arilaminas substituídas (3,0 eq.) e a mistura foi deixada em agitação por 30 minutos (**Esquema 2 – Rota A**).

Para o 4-formil pirazol **4** a reação foi mantida em refluxo por 7 horas e deixada voltar a temperatura ambiente. Após, 5,0 mL de água foi adicionada à mistura e deixada sob agitação por 30 minutos (**Esquema 2 – Rota B**).

Esquema 2.

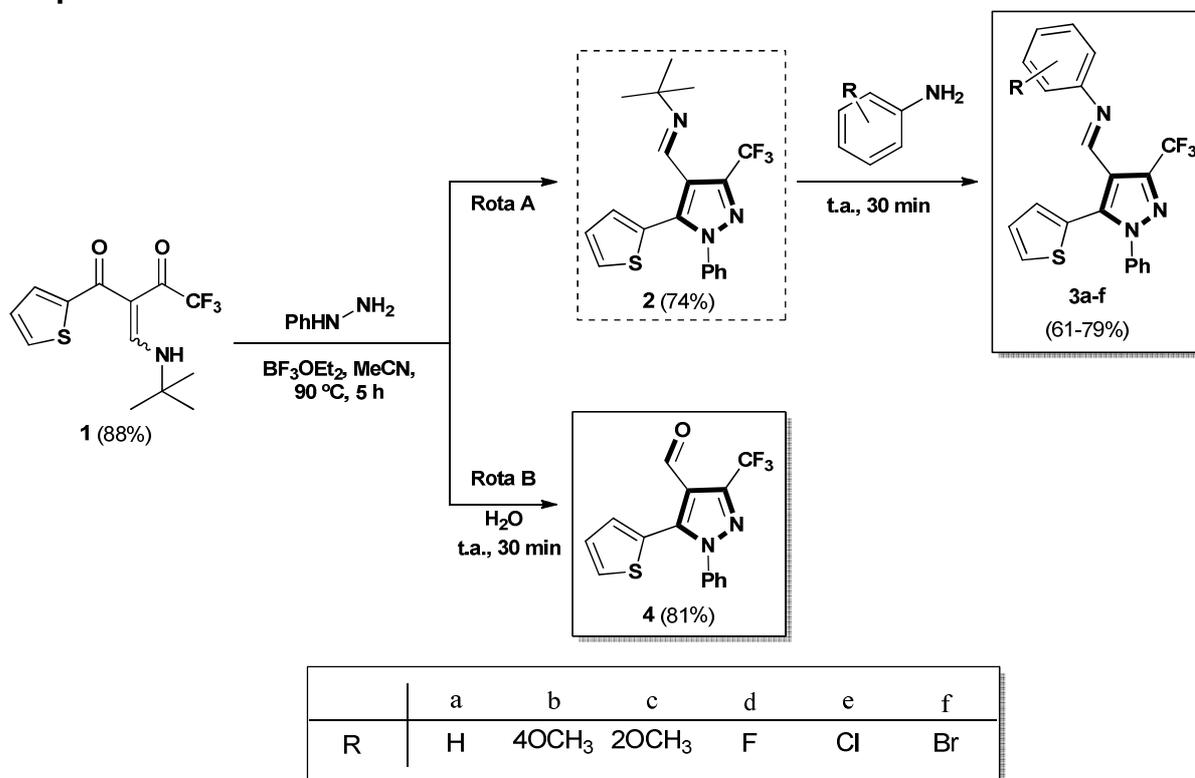


Tabela 1 – Características dos compostos sintetizados

Composto	Característica da amostra	Ponto de Fusão (°C)	Rendimento (%) ^a
2	Sólido branco	88,3 – 91,2	74
3a	Sólido branco	164,6 – 165,1	74
3b	Sólido amarelo	157,6 – 158,2	77
3c	Sólido marrom	166,7 – 178,4	79
3d	Sólido cristalino	168,0 – 168,9	70
3e	Sólido branco	171,2 – 173,0	61
3f	Sólido branco	183,9 – 185,4	69
4	Sólido amarelo	106,1 – 108,6	81 ^b

^aPurificado por recristalização em EtOH. ^bPurificado por coluna cromatográfica em sílica gel, utilizando hexano/acetato de etila (95:5).

As características físicas dos compostos e os respectivos rendimentos estão apresentados na tabela 1. A caracterização estrutural dos compostos foi realizada por RMN unidimensional (¹H, ¹³C) e bidimensional (HSQC e HMBC), apresentando sinais característicos para as estruturas sugeridas.

2. Avaliação da atividade antileishmania

A atividade antileishmania dos compostos sintetizados foi avaliada sobre a forma promastigota da *Leishmania amazonensis*, e a citotoxicidade foi avaliada em macrófagos e células epiteliais. Os resultados de IC₅₀ > 200 µM foram considerados como inativos (tabela 2).

Tabela 2. Atividade antileishmania e citotoxicidade dos compostos sintetizados.

Composto	<i>L. amazonensis</i> (promastigotas) IC ₅₀ (µM)	Cels. epiteliais LLCMK ₂ CC ₅₀ (µM)	Macrófagos J774A1 CC ₅₀ (µM)
2	98,5 ± 5,1	309,3 ± 2,8	296,0 ± 2,6
3a	52,0 ± 4,9	218,5 ± 4,6	154,1 ± 1,7
3b	29,6 ± 1,9	203,1 ± 4,1	167,3 ± 4,9
3c	31,5 ± 4,1	190,0 ± 2,8	98,0 ± 3,1
3d	42,3 ± 1,1	197,4 ± 2,0	114,3 ± 5,2
3e	38,4 ± 2,1	185,4 ± 5,7	109,4 ± 1,3
3f	27,5 ± 3,6	202,4 ± 3,1	183,2 ± 4,6
4	79,1 ± 3,8	387,0 ± 5,6	291,2 ± 5,0

Todos os compostos sintetizados foram considerados ativos com valores de IC₅₀ entre 27,5 a 98,5µM. Os compostos mais ativos foram os compostos **3b** e **3f**, enquanto o composto **2** apresentou menor atividade antileishmania. Em geral, os compostos apresentaram bons valores de CC₅₀, sendo que os compostos mais ativos **3b** e **3f** apresentaram índice de seletividade > 5 (tabela 2).

Conclusões

A metodologia desenvolvida possibilitou a síntese de novos 3-trifluormetil-4-(Iminomentil/formil)-pirazóis, os quais apresentaram atividade antileishmania e baixa citotoxicidade. Estudos posteriores são necessários para a investigação do mecanismo de ação dessa classe de compostos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, CAPES, Fundação Araucária e UEM.

Referências

- BISOL, T. B. & Sá, M. M. Recentes avanços na preparação de aziridinas. Aplicações sintéticas e implicações mecanísticas. **Quim. Nova**, Florianópolis, v.30, n.1, p.106-115.,2007.
- SILVA, M. J. V. da et al. Unconventional Method for Synthesis of 3-Carboxyethyl-4-formyl(hydroxy)-5-aryl-N-arylpyrazoles. **J. Org. Chem.** 82, 12590–12602, 2017.
- VENDRAMETTO.M.C. Atividade antileishmania do eupomatenóide-5, substância isolada de folhas de piper regnellii var. Pallescens. **Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas**. Maringá, p.1-88, 2006.
- MOSMANN T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J Immunol Methods**. V. 65(1-2), p. 55-63, 1983.
- ROEHM, N. W et al. An improved colorimetric assay for cell proliferation and viability utilizing the tetrazolium salt XTT. **J. Immunol. Methods**. P.142:257-265, 1991.