

## SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTILEISHMANIA DE HÍBRIDOS N-ACILIDRAZONA-PIRAZOLOPIRIDAZINONAS 1,3,6- E 1,4,7-TRISSUBSTITUÍDOS

Julia Namy Araújo Futata (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Julia Poletto (PG),  
Fernanda Andreia Rosa (Orientador), e-mail: farosa@uem.br

Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências Exatas/Maringá, PR.

**Ciências Exatas e da Terra / Química / Síntese Orgânica**

**Palavras-chave:** N-acilidrazona, pirazolopiridazinonas, antileishmania

### Resumo:

A leishmaniose representa um grave problema de saúde pública, apresentando-se como causa significativa de morbidade e mortalidade no mundo. O tratamento da leishmaniose é difícil, em virtude do limitado número de medicamentos, os quais apresentam longo tempo de tratamento e elevada toxicidade. Assim, o desenvolvimento de novos fármacos mais eficientes e com baixos efeitos colaterais é de extrema importância. Dessa forma, neste trabalho foram sintetizadas 8 novas pirazolopiridazinonas 1,3,6- e 1,4,7 substituídas com moderados a bons rendimentos (63 - 96%). Os compostos sintetizados são promissores agentes antileishmania, contudo, devido a pandemia da COVID-19, a avaliação da atividade antileishmania não foi possível de ser realizada.

### Introdução

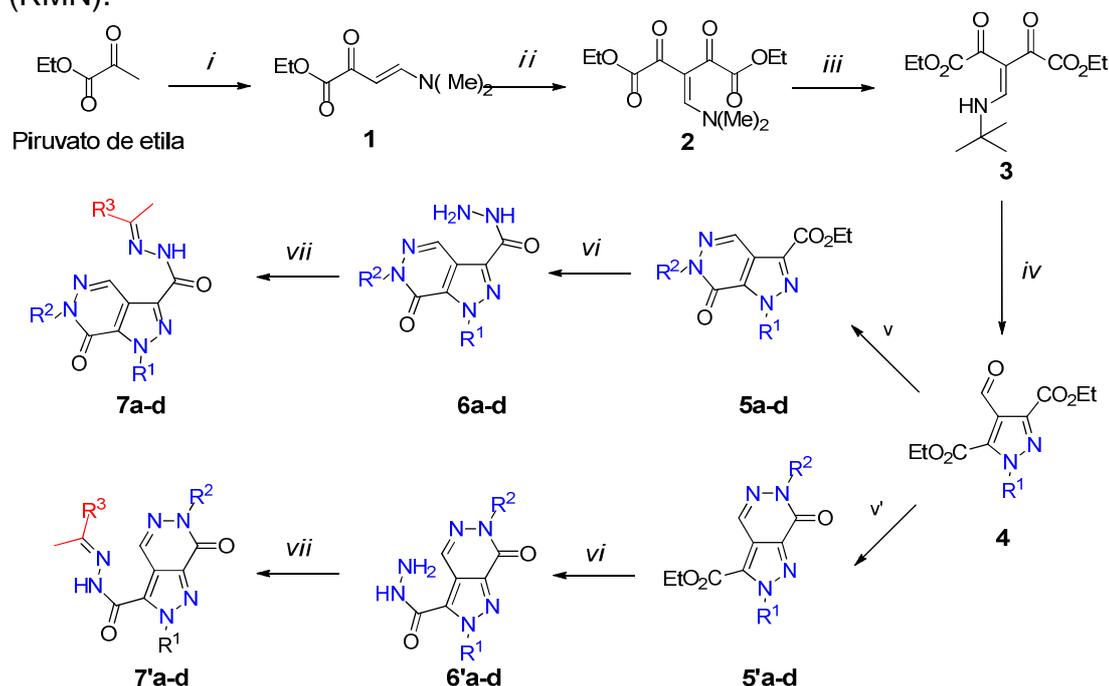
A leishmaniose é uma doença negligenciada e, por este motivo, é uma das doenças que representam grave problema de saúde pública, apresentando uma grande taxa de morbidade e mortalidade, especialmente em regiões mais pobres de países em desenvolvimento, como o Brasil. Esta doença é encontrada desde regiões próximas aos rios e lagos, até em grandes centros, detectada em quase todos os estados do país. Essa doença é causada pelos parasitas protozoários de mais de 20 espécies do gênero *Leishmania*, cujo vetor de transmissão da doença é o mosquito palha que apresenta mais de 30 espécies do gênero *Phlebotomus*. No Brasil, a leishmaniose é causada, principalmente, pela *Leishmania amazonensis*, transmitida ao hospedeiro vertebrado através de picada do mosquito Flebotomíneo. O protozoário se apresenta na forma promastigota, que possui estrutura extracelular com flagelo, sendo encontrada no mosquito; e na forma amastigota, que é a forma intracelular e sem movimento, sendo esta a responsável por causar a doença nos seres humanos. A manifestação da doença ocorre como cutânea, muco cutânea e a leishmaniose visceral ou Kala-azar. Um agravante desta doença é o fato dela ser ocasionada por uma

grande variedade de espécies diferentes de *Leishmania*, o que faz com que os fármacos empregados tenham resultados inesperados, além de apresentarem elevado custo, tratamentos dolorosos e grande quantidade de efeitos colaterais. Por esses motivos, o desenvolvimento de novos fármacos com potencial atividade antileishmania e menores efeitos colaterais é necessário (Jacomini, 2016).

Nesse contexto, bem como devido ao amplo potencial farmacológico dos heterociclos, o nosso grupo de pesquisa (SINTHET – Síntese de Heterociclos) tem desenvolvido metodologias de síntese núcleos heterocíclicos fundidos, como a pirazolopiridazinona, a partir da reação de ciclocondensação entre a  $\beta$ -enaminodictona e dinucleófilos.

## Materiais e métodos

As metodologias de síntese da  $\beta$ -enaminodictona **3** e do 4-formilpirazol **4** foram estabelecidas com base em trabalhos relatados na literatura (Silva, 2017). As etapas de síntese subsequentes foram otimizadas durante este trabalho (**Esquema 1**). A elucidação estrutural dos compostos foi realizada através da espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN).



*i* = DMFDMA,  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (cat), 30min., t.a.

*ii* = Cloreto de etiloxalila, Py(cat), 15min, 0°C,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$

*iii* = *t*-BuNH<sub>2</sub>, Etanol, Refluxo, 1h

*iv* = Ar-NHNH<sub>2</sub>,  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ , Etanol, Refluxo, 1h

*v* = Ar-NHNH<sub>2</sub> (otimizar)

*v'* = Ar-NHNH<sub>2</sub> (otimizar)

*vi* =  $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , Etanol/Acetonitrila (1:1), Refluxo, 24h

*vii* =  $\text{R}_3\text{C}(\text{O})\text{Me}$ , DMSO, HCl(cat), 1h, t.a.

$\text{R}^1$  = Ph, 4Cl-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>

$\text{R}^2$  = Ph, 4Cl-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>

$\text{R}^3$  = 2-tienil, 2-piridinil

**Esquema 1.** Rota sintética para obtenção das moléculas alvo **7a-d** e **7'a-d**.

## Resultados e Discussão

A rota sintética teve início com a síntese do substrato  $\beta$ -enaminodicetona **3** seguindo metodologia previamente descrita na literatura. Posteriormente, o aza-heterociclo 4-formilpirazol **4** foi obtido a partir da reação de ciclocondesação do bloco precursor **3** com aril hidrazinas e catálise do ácido de Lewis  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ . A metodologia de síntese da mistura das 1,3,6- e 1,4,7- pirazolopiridazinonas (PP) foi otimizada utilizando o 4-formilpirazol **4a** como substrato e a fenilhidrazina, empregando as condições reacionais testadas apresentadas na tabela 1.

**Tabela 1.** Otimização da metodologia de síntese regioseletiva das pirazolopiridazinonas (PP) **5(a-d)** e **5'(a-d)**.

Entrada	Solvente	Temperatura	Tempo (h)	Catalisador	Conversão	Proporção 5:5' <sup>a</sup>
1	MeCN	Refluxo	24	-	96% hidrazona 4% mistura PP	87:13
2	HAc	Refluxo	24	-	100% mistura PP	86:14
3	Tolueno	Refluxo	24	-	100% mistura PP	82:18
4	Tolueno	Refluxo	24	0,3 eq. $\text{Yb}(\text{OTf})_3$	72% hidrazona 28% mistura PP	39:61

<sup>a</sup> Análise feita por RMN <sup>1</sup>H após *work up*.

De acordo com a tabela 1, verificou-se que a melhor condição reacional, isto é, aquela que proporciona maior regioseletividade para uma das pirazolopiridazinonas, as **5(a-d)**, foi aquela utilizando acetonitrila como solvente sob refluxo durante 24 horas sem a presença de catalisadores (Entrada 1, tabela 1). Portanto, essa foi a condição reacional empregada para a síntese das demais pirazolopiridazinonas (**5(b-d)**), cujos rendimentos estão apresentados na tabela 2.

**Tabela 2.** Síntese das pirazolopiridazinonas (PP) **5(a-d)**.

Composto	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Proporção 5:5' <sup>a</sup>	Rendimento (%) 5 <sup>b</sup>
5a	Ph	Ph	86:14	63
5b	Ph	4Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	91:9	87
5c	4Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	Ph	92:8	80
5d	4Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	4Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	91:9	82

<sup>a</sup> Análise feita por RMN <sup>1</sup>H após *work up*;

<sup>b</sup> Após purificação em coluna cromatográfica de sílica gel.

Em seguida, a síntese das hidrazidas **6(a-d)** se deu através de reações de substituição nucleofílica acíclica das pirazolopiridazinonas **5(a-d)** com monidrato de hidrazina, em refluxo da mistura EtOH:H<sub>2</sub>O, por 24 horas. Os rendimentos dos produtos obtidos são apresentados na tabela 3.

**Tabela 3.** Rendimento da formação das hidrazinas

Composto	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Rendimento (%)
6a	Ph	Ph	92
6b	Ph	4Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	90
6c	4Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	Ph	92
6d	4Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	4Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	96

As hidrazinas **6(a-d)** foram obtidas em excelentes rendimentos (90 – 96%). A etapa final deste trabalho consistia em finalizar a etapa de síntese e obter os derivados *N*-acilidrazona (**7(a-d)**) e realizar a avaliação *in vitro* da atividade antileishmania dos compostos sintetizados frente a forma promastigota da *Leishmania amazonensis*. Contudo, à pandemia de COVID-19 impossibilitou finalizar os estudos.

## Conclusões

A metodologia de síntese da mistura das 1,3,6- e 1,4,7-pirazolopiridazinonas foi otimizada e as pirazolopiridazinonas **5(a-d)** foram obtidas em moderado à excelentes rendimentos (63-87%). Através da substituição nucleofílica acíclica, as hidrazinas **6(a-d)** foram obtidas em excelentes rendimentos (90-96%). Esperava-se obter as moléculas alvo *N*-acilidrazona-pirazolopiridazinonas 1,3,6- e 1,4,7- trissubstituídas **7(a-d)** e **7'(a-d)** a partir de cetona derivadas do tiofeno e piridina. Ainda, a avaliação *in vitro* da atividade antileishmania dos compostos sintetizados frente a forma promastigota da *Leishmania amazonensis* também deveria ser realizada. Porém, não foi possível concluir essas etapas do projeto devido a pandemia de COVID-19.

## Agradecimentos

CNPq, Fundação Araucária, Universidade Estadual de Maringá.

## Referências

JACOMINI, A. P. et al. Synthesis and evaluation against *Leishmania amazonensis* of novel pyrazolo[3,4-d]pyridazinone-*N*-acylhydrazone-(bi)thiophene hybrids. **Eur. J. Med. Chem.** v. 124, p. 340-349, 2016.

SILVA, M. J. V. et al. Unconventional Method for Synthesis of 3-Carboxyethyl-4-formyl(hydroxy)-5-aryl-*N*-arylpyrazoles. **J. Org. Chem.** v. 82, p. 12590-12602, 2017.