

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMAS AZÓLICOS COM POTENCIAL ATIVIDADE TRIPANOCIDA

Larissa Lauer Lopes Micheleto¹ (IC), Maurício Silva dos Santos (PQ)¹

¹Universidade Federal de Itajubá.

Palavras-chave: Doença de Chagas. Heterociclos. Imidazolina. Síntese Orgânica.

Introdução

Heterociclos são uma classe de compostos orgânicos que contêm um ou mais anéis compostos por átomos de pelo menos um elemento químico diferente de carbono. O termo "heterociclo" é derivado das palavras gregas "heteros", que significa diferente, e "kyklos", que significa anel ou círculo¹.

Os heteroátomos mais comuns encontrados em heterociclos são nitrogênio (N), oxigênio (O) e enxofre (S), em que os heterociclos nitrogenados desempenham um papel crucial no avanço da indústria farmacêutica atual, uma vez que, cerca de 70% dos medicamentos disponíveis no mercado incorporam um ou mais desses compostos, destacando, assim, a relevância dessas estruturas na criação de novos fármacos²⁻³. Diante disso, a modificação de estruturas moleculares existentes ou a criação de novos compostos contendo heterociclos podem ser utilizadas para investigações medicinais em relação à atividade de um composto frente à alvos específicos, como enzimas ou receptores no corpo humano. Isto é crucial no desenvolvimento de medicamentos mais eficazes e com menos efeitos colaterais⁴.

A Doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, figura entre as 20 Doenças Tropicais Negligenciadas que a Organização Mundial da Saúde (OMS) se empenha em combater. Ela mantém sua endemicidade em 21 países da América Latina, porém, devido à globalização, propiciou o movimento de pessoas infectadas para diversas partes do mundo⁵. A infecção aguda por *T. cruzi* muitas vezes passa despercebida, pois geralmente é assintomática, embora sintomas leves como febre, dores de cabeça, anorexia, aumento do fígado (hepatomegalia), aumento do baço (esplenomegalia) e taquicardia podem eventualmente se manifestar. Em contraste, a fase crônica pode seguir um curso clínico silencioso que eventualmente leva a complicações cardíacas ou gastrointestinais graves. Infelizmente, o tratamento atual da Doença de Chagas ainda depende de dois compostos heterocíclicos nitroaromáticos: o benznidazol (Bz) e o nifurtimox. Esses medicamentos foram identificados há mais de 60 anos e demonstraram

eficácia parcial durante a fase aguda devido à presença de cepas de *T. cruzi* naturalmente resistentes. Além disso, apresentam eficácia limitada na fase crônica e estão associados aos efeitos colaterais graves. Até o momento os esforços para a descoberta e o desenvolvimento de fármacos tiveram um sucesso limitado, marcado pela reprovação de potenciais candidatos à base de azóis e de terapias combinadas⁶⁻⁷.

Assim, o nosso grupo de pesquisa, o Laboratório de Síntese de Sistemas Heterociclos (LaSSH), tem desenvolvido substâncias contendo o grupo farmacofórico imidazolina e investigado biologicamente sua atividade contra o *Trypanosoma cruzi*, buscando potenciais fármacos para o tratamento da Doença de Chagas. As imidazolinas, em particular a 2-imidazolina (um derivado do composto imidazol), quando associada a fármacos que incluem este anel em sua estrutura molecular, tem grande importância biológica, devido a suas propriedades particulares em relação ao combate a diversas doenças, como hiperglicemia, hipertensão e câncer⁸⁻⁹. Entre as aplicações biológicas dos compostos 2-imidazolínicos, merece destaque a nafazolina, um medicamento de relevância que está disponível no mercado há mais de sete décadas. A nafazolina exerce um efeito eficaz contra a congestão nasal, sendo extremamente útil no tratamento da rinite. Este fármaco é capaz de proporcionar alívio dos sintomas associados a alergias e irritações, como vermelhidões, inchaço e coceira nos olhos¹⁰.

Portanto, pode-se afirmar que a pesquisa e o desenvolvimento de compostos heterocíclicos nitrogenados, com ênfase especial em compostos que contêm 2-imidazolina, representam uma contribuição significativa no contexto da síntese orgânica no campo da química medicinal, especialmente como potenciais agentes farmacêuticos no tratamento da Doença de Chagas.

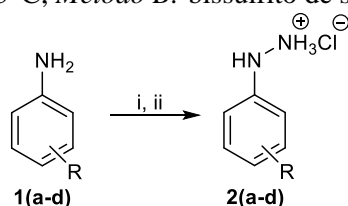
Metodologia

Os métodos empregados estão descritos a seguir, em que todos os compostos foram caracterizados mediante a técnica de Espectroscopia na Região do Infravermelho

com transformada de Fourier (FT-IR) e, apenas na metodologia **III** foram também empregadas as técnicas de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e Espectrometria de Massas de Alta Resolução (HRMS).

I. Para a síntese de cloridratos de arilhidrazina **2(a-d)**, reagiu-se anilinas **1(a-d)** em meio ácido com nitrito de sódio aquoso (1,5 mol equivalente), sob temperatura de 0 °C, por meio do gotejamento lento, para a obtenção do sal de diazônio substituído. Posteriormente, foram utilizados dois métodos distintos (A e B). *Método A:* Uma solução resfriada de cloreto estanoso (2 mols equivalentes) em meio ácido foi adicionada ao meio reacional, sob temperatura de 0°C, por meio do gotejamento lento. *Método B:* A solução de sal de diazônio resfriada foi adicionada, gota a gota, a uma solução de bissulfito de sódio aquoso (5 mols equivalentes)¹¹.

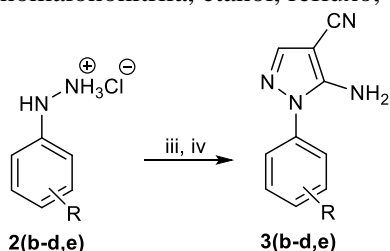
Figura 1 – Esquema para a obtenção dos compostos **2(a-d)**. Reagentes e condições: (i) nitrito de sódio, ácido clorídrico, 0-5°C; (ii) *Método A:* cloreto estanoso, ácido clorídrico, 0-5°C; *Método B:* bissulfito de sódio, 0-5°C.



(R) a: 3-CH₃; b: 2,5-diCl; c: 3-CF₃; d: 4-CF₃

II. Para a síntese de 5-amino-1-aryl-1H-pirazol-4-carbonitrila **3(b-d,e)**, reagiu-se os compostos **2(b-d,e)** com acetato de sódio tri-hidratado (2 mols equivalentes) em etanol, sob refluxo, durante 20 minutos, para ocorrer a desprotonação dos **2(b-d,e)**. Em seguida, adicionou-se etoximetilnomalononitrila (1 mol equivalente) em etanol, sob refluxo, por 1 hora, para obter os **3(b-d,e)** correspondentes⁸.

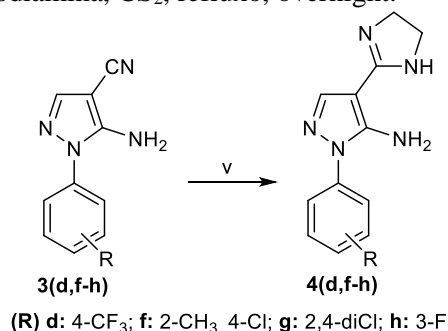
Figura 2 – Esquema para a obtenção dos compostos **3(b-d, e)**. Reagentes e condições: (iii) acetato de sódio tri-hidratado, etanol, refluxo, 20 min; (iv) etoximetilnomalononitrila, etanol, refluxo, 1 h.



(R) b: 2,5-diCl; c: 3-CF₃; d: 4-CF₃; e: 2,4,5-triCl

III. Para a síntese de 5-amino-1-aryl-4-(4,5-di-hidro-1H-imidazol-2-il)-1H-pirazol **4(d,f-h)**, foi empregado dos métodos distintos (A e B). *Método A:* reagiu-se o composto **3h** com etilenodiamina e dissulfeto de carbono (5 gotas / 1 mmol equivalente) sob condições suaves e agitação, utilizando-se a técnica de irradiação de microondas, sendo configurado à uma temperatura máxima de 200°C e potência de 70 W por 30 minutos. *Método B:* reagiu-se os compostos **3(d,f-g)** com etilenodiamina e dissulfeto de carbono (5 gotas / 1 mmol equivalente), sob refluxo, mantendo a temperatura próxima de 110°C, *overnight*⁸.

Figura 3 – Esquema para a obtenção dos compostos **4(d,f-h)**. Reagentes e condições: (v) *Método A:* etilenodiamina, CS₂, irradiação de microondas (70 W), 30 min; *Método B:* etilenodiamina, CS₂, refluxo, *overnight*.

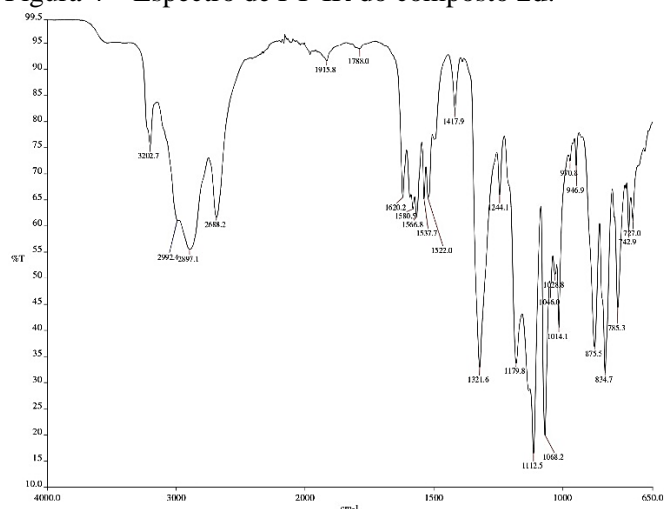


Resultados e discussão

As sínteses dos cloridratos de arilhidrazina **2(a-d)** obtiveram resultados distintos. Primeiramente, todas as soluções obtidas foram cristalizadas em água gelada/gelo. Deste modo, o composto **2a**, após a filtração à pressão reduzida, apresentou um aspecto sólido de cor marrom, que ao ser lavado com éter etílico, teve a mudança de coloração para branco, ou seja, as evidências indicaram que as possíveis impurezas solúveis em éter etílico foram removidas. Posteriormente, o sólido obtido foi neutralizado com solução de bicarbonato de sódio 10% m/V. Depois de caracterizado por FT-IR, o composto **2a** foi descartado, isto porque, os resultados da caracterização indicaram que ainda havia grande quantidade de matéria-prima **1a**. Já o composto **2b** foi sintetizado por meio dos dois métodos, A e B, em que os rendimentos foram de 16 e 39%, respectivamente. A análise de FT-IR para ambos compostos indicaram bandas características da obtenção de cloridratos de arilhidrazina. O composto **2c** foi obtido pelos dois métodos, A e B, isto porque, no primeiro método diversas etapas extras, tais como neutralização com hidróxido de sódio, concentração no rotaevaporador e lavagem com hexano, tiveram que ser realizadas a fim de obter um

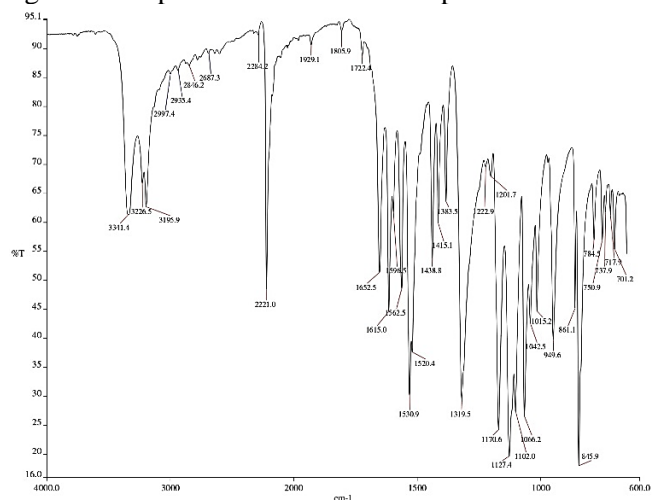
produto, cujo aspecto aparentava estar bastante úmido mesmo depois de vários dias sobre a bancada, o que foi confirmado pela técnica de FT-IR. Enquanto que, na tentativa via método B, obteve-se um sólido de cor amarela e, a análise de FT-IR mostrou resultados semelhantes ao método A. Por fim, o composto **2d** demonstrou ser o mais promissor, obtendo-se um sólido de cor bege, cujos resultados da técnica de FT-IR indicaram a banda serrilhada referente aos estiramentos das ligações N-H em 3202-2688 cm^{-1} , como também as bandas relativas aos estiramentos no plano das ligações C=C em 1620-1522 cm^{-1} e a deformação angular fora do plano das ligações C-H (carbono sp^2) em 834 cm^{-1} (Figura 4).

Figura 4 – Espectro de FT-IR do composto **2d**.



Adiante, as sínteses de 5-amino-1-aryl-1H-pirazol-4-carbonitrilas **3(b-d,e)** apresentaram resultados satisfatórios, tendo apenas o descarte do composto **3c**. Para o composto **3b**, a técnica de FT-IR apresentou resultados que indicaram as bandas em 3337-3224 (ν N-H); 3151 (ν C_{sp}^2 -H); 2229 (ν $\text{C}\equiv\text{N}$); 1644 (δ N-H) e 1572-1430 (ν C=C e C=N) cm^{-1} . Na análise do composto **3c**, foram identificadas as seguintes bandas: 3537-3260 (ν N-H); 3006 (ν C_{sp}^2 -H); 2238-2199 (ν $\text{C}\equiv\text{N}$); 1643 (δ N-H) e 1595-1426 (ν C=C e C=N) cm^{-1} . No caso do composto **3d**, as principais bandas foram: 3341-3226 (ν N-H); 3195 (ν C_{sp}^2 -H); 2221 (ν $\text{C}\equiv\text{N}$); 1652 (δ N-H) e 1615-1520 (ν C=C e C=N) cm^{-1} , exemplificado na figura 5. Por fim, para o composto **3e**, foram identificadas as bandas em 3470-3207 (ν N-H); 3103 (ν C_{sp}^2 -H); 2232 (ν $\text{C}\equiv\text{N}$); 1645 (δ N-H) e 1615-1466 (ν C=C e C=N) cm^{-1} . Os rendimentos variaram de 52-56% e apenas o composto **3d** teve seu ponto de fusão medido, resultando em 178-179°C (na literatura o valor é de 170-171°C¹²).

Figura 5 – Espectro de FT-IR do composto **3d**.



Por fim, para as sínteses de 5-amino-1-aryl-4-(4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)-1H-pirazol **4(d,f,h)**, os resultados foram bastante promissores, tendo apenas o descarte do **4g**, devido a não obtenção do produto desejado após a recristalização (foi enviado duas vezes para as análises de RMN e HRMS, obtendo-se resultados que indicaram a impureza do produto). Os demais compostos, **4(d,f,h)**, foram caracterizados por FT-IR e as análises mostraram bandas características do anel imidazolínico: 3410-3205 (ν N-H); 2942-2873 (ν C_{sp}^3 -H). Os pontos de fusão encontrados foram: 269°C para **4d**, 205-206°C para **4f** e 184-193°C para **4h**. Os rendimentos variaram de 47-73%. Os 3 produtos supracitados foram caracterizados por RMN e HRMS e os espectros obtidos foram condizentes com as estruturas propostas. Como exemplo, nas figuras 6 e 7 são mostrados os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do composto **4f**. Já o espectro de HRMS apresentou um erro relativo percentual do pico $[\text{M}+\text{H}]^+$ de 3,62 ppm (Figura 8). Em suma, os compostos **4d**, **4f** e **4h** estão atualmente em fase de testes contra o *Trypanosoma cruzi*.

Figura 6 – Espectro de ^1H -RMN do composto **4f**.

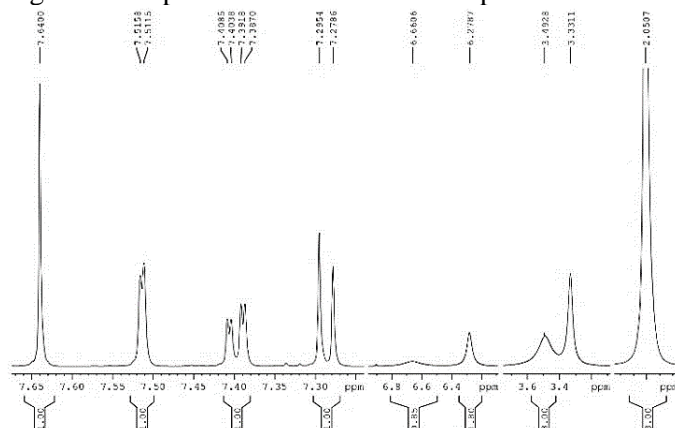


Figura 7 – Espectro de ^{13}C -RMN do composto **4f**.

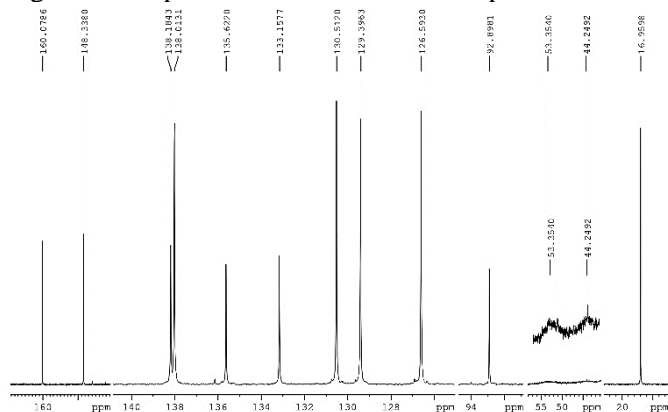
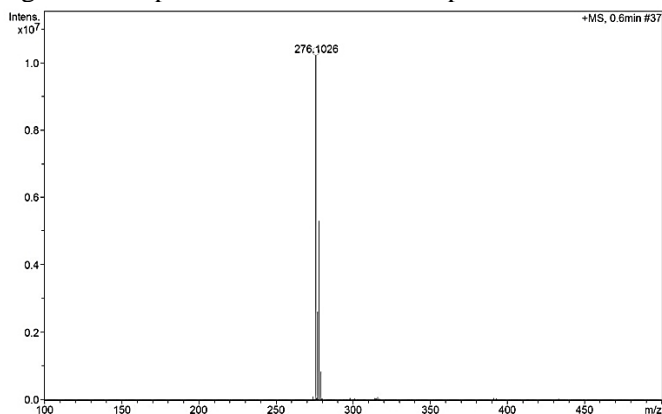


Figura 8 – Espectro de HRMS do composto **4f**.



Conclusões

Durante a jornada científica foi possível aplicar os conhecimentos teóricos aprendidos nas disciplinas teóricas e práticas enquanto as metodologias eram executadas, obtendo-se um avanço prático em laboratório, além de aprofundar nas técnicas de FT-IR e interpretação dos espectros de RMN e HRMS. Deste modo, foram obtidos 4 intermediários cloridratos de arilhidrazina e 4 intermediários 5-amino-1-aryl-1H-pirazol-4-carbonitrilas. Os produtos finais **4d**, **4f** e **4h** são inéditos e foram enviados para testes preliminares de atividade tripanocida.

Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador Maurício Silva dos Santos por ter acreditado e apoiado minha jornada científica, tendo o discernimento de ensinar e apresentar os melhores caminhos para a obtenção dos resultados ao longo deste ano. Como também, agradeço à Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI) e ao órgão financiador da bolsa FAPEMIG por todo o apoio para continuar com a iniciação científica. Ao Instituto de Física e Química

(IFQ) pelos materiais permanentes e de consumo. A Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) pela parceria com a análises de RMN e HRMS. E por fim, ao Laboratório de Síntese de Sistemas Heterociclos (LaSSH) e aos companheiros de laboratório.

Referências

1. RAM, V. J.; et al. **The chemistry of heterocycles: nomenclature and chemistry of three-to-five membered heterocycles**. Elsevier, 2019.
2. QUIN, L. D.; TYRREL, J. A. **Fundamentals of heterocyclic chemistry: importance in nature and in the synthesis of pharmaceuticals**. John Wiley & Sons, 2010.
3. MAO, L. L.; et al. Nitrogen heterocycle construction in aqueous mediums: A sustainable tool for molecular diversity. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**. v. 40, p. 100756, 2023.
4. LIU, Dr. Y. F.; et al. Synthesis of heterocycles from 2-acylbenzoic acids. **European Journal of Organic Chemistry**. v. 26, n. 27, p. e202300452, 2023.
5. ORLANDO, L. M. R.; et al. Structural optimization and biological activity of pyrazole derivatives: virtual computational analysis, recovery assay and 3D culture model as potential predictive tools of effectiveness against *Trypanosoma cruzi*. **Molecules**. v. 26, p. 6742, 2021.
6. REYES, C. D. C. Síntese de dipeptidil-nitrilas como inibidores da enzima cruzafina. São Carlos: 2014.
7. MONTEIRO, M. E.; et al. Synthesis, structure-activity relationship and trypanocidal activity of pyrazole-imidazoline and new pyrazole-tetrahydropyrimidine hybrids as promising chemotherapeutic agents for Chagas disease. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 182, p. 111610, 2019.
8. ROSA, G. de S.; et al. A convenient synthesis of pyrazole-imidazoline derivatives by microwave irradiation. **Journal of Heterocyclic Chemistry**. v. 56, n. 6, p. 1825-1830, 2019.
9. KRASAVIN, M. Biologically active compounds based on the privileged 2-imidazoline scaffold: The world beyond adrenergic/imidazoline receptor modulators. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 97, p. 525-537, 2015.
10. KUZMINOV, B.; et al. Rationale for naphazoline effects in-depth study. **Sciendo**. v. 31, n. 1, p. 29-33, 2017.
11. MAKHIJA, M. T.; et al. De novo design and synthesis of HIV-1 integrase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v. 12, p. 2317-2333, 2004.
12. GUPTA, S. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 43, n. 4, p. 771-780, 2008.