

PRIMAQUINA-TIAZOLIDINONAS COMO AGENTES ANTIMALÁRICOS.

**DIFABIO, Roberta¹; DRAWANZ, Bruna Bento²; KRETTLI U. Antoniana³;
CUNICO, Wilson⁴**

¹ IC, UFPel; Farmácia Bacharelado; e-mail:beta_difabio@hotmail.com

² Mestranda, PPGQ-UFPel; email:brunabentodrawanz@hotmail.com

³ Pós-Doutora, National Institute Of Health email: akrettli@cpqrr.fiocruz.br

⁴ Orientador, UFPel, Centro de Ciências Químicas Farmacêuticas e de Alimentos; e-mail: wjcunico@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Embora seja uma moléstia milenar, a malária, continua a ser a doença infecciosa humana mundialmente devastadora, com 300 a 500 milhões de casos clínicos e cerca de 3 milhões de mortes por ano (FRANÇA C.C.T. *et al*) Esta doença é causada por um protozoário do gênero *Plasmodium*, e quatro dentre outras espécies tem recebido destaque devido a incidência em humanos: *P. falciparum*, *P. ovale*, *P. vivax* e *P. malarie*. Dentre estas, a malária causada pelo *P. falciparum* normalmente se manifesta com maior gravidade por causar desordens neurológicas além dos sintomas comuns podendo levar à morte.

Atualmente, 40% da população mundial, principalmente aquelas que vivem nos países mais pobres, regiões tropicais e subtropicais do mundo, estão sob o risco de contrair malária (SILVA, T.H.A. *et al*).

Durante a colonização espanhola do Peru, em 1630, os jesuítas tomaram conhecimento da utilização pelos índios das cascas secas de espécies de *Cinchona* para tratamento de alguns tipos de febre. Em 1820, Pelletier e Caventou isolaram a quinina, que durante quase trezentos anos foi o único princípio ativo eficaz contra a malária. Esta substância é considerada a responsável pelo desenvolvimento, após a II Grande Guerra, dos antimaláricos sintéticos do grupo dos 4- e 8-aminoquinolínicos, do qual fazem parte a cloroquina e a primaquina (Barreiro *et al*).

O surgimento de resistência aos antimaláricos dentre as cepas de *plasmodium* (GAMA, B. E. *et al*) e a alta toxicidade de algumas moléculas tem inviabilizado o tratamento e/ou profilaxia com os fármacos disponíveis (SILVA, M. C. M., *et al*), sendo um dos principais motivos dos dados alarmantes que têm sido registrados. O último fármaco antimalárico lançado na literatura foi na década de 60, o que também justifica o desenvolvimento de novos agentes antimaláricos, tanto para alvos terapêuticos conhecidos, como para novos alvos terapêuticos.

A busca por soluções contra a malária tem sido constante, por um grande número de pesquisadores. Tais pesquisas têm dado indícios de que um grupo de moléculas, as tiazolidinonas (CUNICO, W. *et al*), vem apresentando grande potencial a fármaco, não apenas como antimaláricas, mas contra um vasto número de microrganismos e com outras atividades farmacológicas.

Deste modo, o presente trabalho tem como objetivo dar continuidade a síntese da classe das tiazolidinonas, tendo como precursor a primaquina, fármaco mais utilizado contra o *P. vivax* que é responsável pela grande maioria dos casos de malária no Brasil (GAMA *et al*). Por seu efeito tóxico aos eritrócitos e devido ao aparecimento de cepas resistentes a primaquina, o presente estudo motiva-se a

prosseguir o trabalho e dar continuidade aos testes da ação antimalárica das primaquina-tiazolidinonas, figura 1.

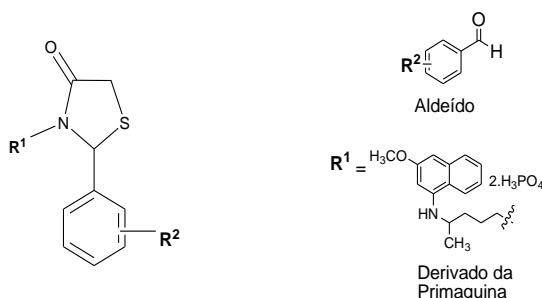


Figura 1: formula geral das primaquinas-tiazolidinonas.

2. METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

A metodologia de síntese de tiazolidinonas (derivadas da primaquina) consiste na reação da primaquina com diferentes benzaldeídos, ácido mercaptoacético e carbonato de potássio. Em um balão de duas bocas de 50 mL, foram adicionados 0,455 g (1 mmol) de primaquina na sua forma de sal difosfato, um benzaldeído, 0,276 g de carbonato de potássio (K₂CO₃) e 35 mL de tolueno. O balão foi colocado sob aquecimento e refluxo com auxílio de um *Dean-Stark* e após o início do refluxo contou-se duas horas para, então adicionar o ácido mercaptoacético que reagiu por mais duas horas. Em seguida, a reação de extração foi feita em um funil de separação com acetato de etila e solução saturada de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) lavando a reação com a solução por três vezes. A fase orgânica foi separada e seca com sulfato de magnésio a (MgSO₄) anidro. Por fim, o filtrado foi colocado em um balão de 50 mL e levado ao evaporador rotativo para se retirar o solvente.

O controle do processo reacional ocorreu realizando-se cromatografia em camada fina (CCF), em sílica e suporte de alumínio, utilizou-se como eluente uma mistura de hexano e acetato de etila na proporção de 3:1. A revelação foi feita em câmara de iodo e/ou lâmpada UV.

Após o isolamento do produto, o mesmo foi purificado através da técnica de cromatografia em coluna, com sílica gel 60 (0,2 à 0,5 mm) como fase estacionária e os eluentes hexano, acetato de etila em diferentes proporções com polaridade crescente até a obtenção das frações de produto puro.

Os ensaios biológicos antimaláricos foram realizados no Departamento de Malária do Centro de Pesquisa René Rachou da FIOCRUZ, sob a coordenação da pós-doutora Antoniana U. Krettli.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após modificações no método reacional, de (DRAWANZ, B. B. *et al*), sintetizou-se sete moléculas. Estas obtiveram melhores resultados de qualidade e no rendimento na síntese de tiazolidinonas. Essas mudanças ocorreram no tempo das reações onde se optou por adicionar o ácido mercaptoacético após duas horas do início do refluxo, diferente de anteriormente que era adicionado no início da reação. Outra variação foi a substituição da base diisopropiletilamina (DIPEA) para carbonato de potássio K₂CO₃. Comparando-se as duas bases, o carbonato de potássio possui algumas vantagens em relação a DIPEA. Por exemplo, maior

solubilidade em água, que por isso é mais facilmente removida da fase orgânica tendo-se menor interferência na pureza dos produtos de acordo com o observado após a realização de CCF. Com isso, o processo de purificação se tornou mais simples, podendo-se empregar menos solvente. Posteriormente a realização de CCF, notou-se alterações na coloração do sinal de tiazolidinona na placa cromatográfica, que deixaram de ter um tom esverdeado e passaram a produzir um amarelo mais uniforme, podendo ser este um índice de maior pureza do produto.

A nova metodologia mostrou que em alguns casos os rendimentos tiveram acréscimo acentuado, quando comparados com os rendimentos anteriores, como pode ser observado na tabela 1. Apesar dos avanços observados ainda verifica-se a necessidade de se realizar a purificação por cromatografia em coluna.

Tabela 1: Obtenção das tiazolidinonas derivadas da primaquina.

| Composto | Substituinte | Rendimento ¹ (%) | Rendimento ² (%) |
|-----------|--------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 3a | 2-NO ₂ | 59 | 63,69 |
| 3b | 3-NO ₂ | 37 | 97,08 |
| 3c | 4-NO ₂ | 37 | 88,37 |
| 3d | 2-F | 44 | 89,11 |
| 3e | 3-F | 89 | 97,39 |
| 3f | 3-OCH ₃ | 88 | 66,15 |
| 3g | 4-CH ₃ | - | 88,93 |

1: rendimento utilizando a metodologia, produto purificado em coluna;

2: rendimento após modificações na metodologia, produto sem purificação.

Novos resultados biológicos apresentados na Tabela 2 mostram que todas as moléculas testadas apresentaram menor toxicidade que a primaquina, pois maiores quantidades de moléculas foram necessárias para causar a morte das células (HepG2). Nos ensaios *in vivo* frente ao *P. berghei*, 3 das 8 moléculas testadas apresentaram resultados promissores na redução da carga parasitária, eliminando em torno de 50% dos protozoários – análise após a picada em ratos com a posterior dissecação dos mosquitos e contagem parasitária - , 3 podem ser consideradas ativas e 3 apresentaram maiores índices de seletividade do que a primaquina.

Tabela 2: Ensaios biológicos *in vitro* e *in vivo* com tiazolidinonas derivadas da primaquina.

| Composto | Ensaios <i>in vitro</i> | | | Ensaio <i>in vivo</i> | |
|--------------------|---|-------------------------|---|---|-----------|
| | Atividade Farmacologica das Tiazolidinonas (µM) | HepG2 MDL ₅₀ | SI (MDL ₅₀ /IC ₅₀) | Parasitemia (Redução%) (média de 5 ratos) | Atividade |
| | Anti-HRP II | | | 5º dia | |
| | | | | Experimento 1 | |
| Primaquina | 1.5 | 233 ± 5 | 117 | 0 (100%) | Sim |
| 4-OCH ₃ | 11 ± 2 | ≥ 664 | ≥1328 | 1.7 (20%) | Não |
| 4-NO ₂ | 19 ± 2 | ≥ 6651 | 111 | 1.6 (27%) | Não |
| 3-F | 18 ± 4.6 | 1302 ± 108 | 72 | 1.2 (42%) | Parcial |
| 4-CH ₃ | 30 ± 4 | ≥ 6651 | ≥512 | 1.4 (36%) | Parcial |
| 2-NO ₂ | 19 ± 6 | 1463 ± 105 | 162 | 0.9 (58%) | Sim |
| | | | | Experimento 2 | |
| 3-CN | 10 ± 2 | ≥ 2242 | ≥560 | 1.9 (10%) | Não |
| 3-NO ₂ | 17 ± 2 | 536 ± 17 | 67 | 2.7 (0%) | Não |
| 3-Cl | 33 ± 4 | 641 ± 31 | 19 | 1.1 (47%) | Parcial |
| Cloroquina | 0.084±0.028 | 392 | 3.300 | Não testado | Controle |

A primaquina foi usada na concentração de 25 mg/kg (Exp. 1) e 15 mg/kg (Exp. 2)
 Critério de atividade foi baseado no IC₅₀ < 20 µM ativo; > 20 e < 50 µM parcialmente ativo; > 50 µM inativo.

4. CONCLUSÃO

O refinamento da metodologia reacional no processo de obtenção das tiazolidinonas proporcionou melhorias na qualidade das amostras como métodos de purificação mais simples e, de modo geral, os rendimentos também melhoraram. Além da geração de menos resíduos químicos, tornando a técnica mais próxima do ecologicamente correto possível.

Os resultados promissores dos estudos químicos e biológicos, até o momento, justificam a continuidade da pesquisa na síntese da classe das tiazolidinonas como prováveis moléculas precursoras de novos fármacos.

5. REFERÊNCIAS

1. FRANÇA, C.C.T.; SANTOS, G.M.; FIGUEROA-VILLAR, D.; Malária: Aspectos Históricos e Quimioterapia, **Quím. Nova**, v. 31, p.1271-1278, 2008.
2. SILVA, T.H.A.; OLIVEIRA, M.T.; SANTOS, H.F.; OLIVEIRA, A.B.; ALMEIDA, W.B.; Estudo de Modelagem Molecular de Complexos Ferriprotoporfirina-IX e Quinolinocarbinolaminas Antimaláricas: Propostas de um Farmacóforo; **Quím. Nova**, v. 28, n. 2, p. 244-249, 2005.
3. BARREIRO, E. J. ; VIEGAS C. J.; Bolzani V. S.; Os Produtos Naturais e a Química Medicinal Moderna; **Quim. Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.
4. CUNICO, W.; GOMES, C.R.B.; VELLASCO J.; Walcimar T. Chemistry and biological activities of 1,3-thiazolidin-4ones. Mini-Reviews in Organic Chemistry, n. 5, p. 336-344, 2008.
5. SILVA, M. C. M.; SANTOS E. B.; COSTA E. G.; FILHO, M. G. S.; GUERREIRO J. F.; PÓVOA M. M.; Alterações Clínicolaboratoriais em Pacientes com Malária por *Plasmodium vivax* e Deficiência de Glicose-6-fosfato Desidrogenase_Tratados com 0,50mg/kg/dia de Primaquina; **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.37 n.3 p. 215-217, 2004.
6. GAMA, B. E.; Tipagem de Marcadores Moleculares e de Genes Potencialmente Associados à Resistência a Antimaláricos em Isolados de *Plasmodium falciparum* e *P. vivax* do Brasil, 2011, Tese (Doutorado em Biologia Parasitária) – Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2011.
7. BOECHAT, N.; BASTOS M. M.; MACIEL, L. C.; MAYER, L. M. U.; GOMES, C.R. B.; MORETH, M.; CUNICO, W.; 5-Aminotiadiazol como Precursor na Síntese de 4-Tiazolidinonas; XXX REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA - Águas de Lindóia - SP, 31 de maio a 03 de junho de 2007 .