

Síntese de moléculas híbridas poli-funcionalizadas usando imidazo[1,2]piridinas e 3-pirazolonas

Palavras-chave: Imidazopiridinas, Pirazolonas, Morita-Baylis-Hillman

Christian de Lima - FEQ - UNICAMP

Fernando A. Coelho - IQ - UNICAMP

INTRODUÇÃO

A pesquisa teve como finalidade a síntese de moléculas envolvendo unidades 3-pirazolonas e imidazo[1,2]piridinas através da reação MBH (Morita-Baylis-Hillman) a fim de avaliar propriedades químicas como ponto de fusão, ebulição, análise espectroscópicas e cromatográficas das moléculas obtidas. Como perspectiva de continuidade do trabalho, analisar a estrutura e atividade das moléculas e possíveis efeitos ativos em organismos biológicos, visando o desenvolvimento de novos fármacos.

Os efeitos das imidazopiridinas são relatadas na literatura científica possuindo efeitos antiparasitários^[1-5], antitumorais^[6], no SNC (Sistema Nervoso Central)^[7], anti-inflamatória^[2], entre outros, pois é similar a purina encontrado no DNA de sistemas biológicos. Já as pirazolonas possuem efeitos semelhantes e poderiam ser potencializados pela combinação e funcionalização das moléculas^[8].

Em virtude da pandemia de Covid-19, nenhum experimento prático pôde ser realizado devido a restrição de acesso aos laboratórios. Portanto, o projeto se desenvolveu de forma essencialmente teórica e focou nos potenciais resultados biológicos das moléculas híbridas.

METODOLOGIA DA PESQUISA

A metodologia utilizada no desenvolvimento da pesquisa seguiu três etapas. Na primeira etapa do projeto foi desenvolvida a síntese das imidazo[1,2]piridinas combinando moléculas α – halocetonas e 2 – piridinas, com vários padrões de substituição a uma temperatura de 60 °C sem a presença de catalizador e solvente, conforme apresentado na equação abaixo, no qual é esperado um rendimento de 65-75%^[9-10].

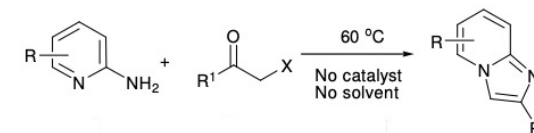
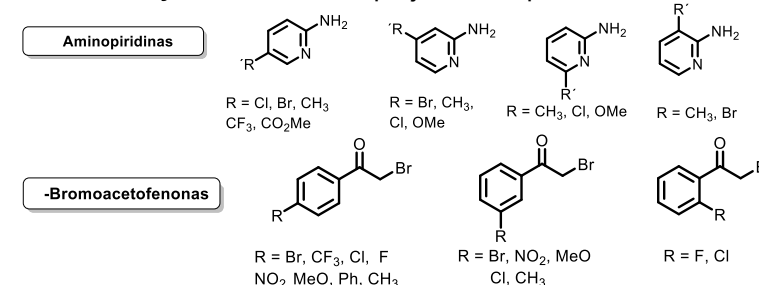


Figura 1 – Reação da piridina com as halocetonas

Os padrões de substituição estudados no projeto são apresentados abaixo



Em seguida, foram feitas reações para a formação dos adutos MBH, reagindo benzaldeídos e etanal com acrilatos, sob aquecimento e presença de DABCO como catalisador, visando formar adutos com diferentes radicais^[11].



R	EWG	time	yield (%)
Me	CO ₂ Me	7 days	88
Me	CN	40 h	76
Ph	CO ₂ Me	4 days	92
Ph	CN	40 h	79

Figura 2 – Reação de formação do aduto com a cinética e rendimento

Após a obtenção do aduto, ele foi colocado para reagir com as imidazo[1,2-a]piridinas obtidas na primeira etapa, sob presença do IBX (Ácido 2-iodoxibenzeno) e ACN (Acetonitrila) sob refluxo obtendo uma molécula intermediária para a síntese da pirazolona. A cinética da reação descrita na literatura é de 6 – 12 horas e é esperado um rendimento por volta de 75 – 82%, entretanto, pode ser reduzido devido ao impedimento estérico do grupo fenil.^[12]

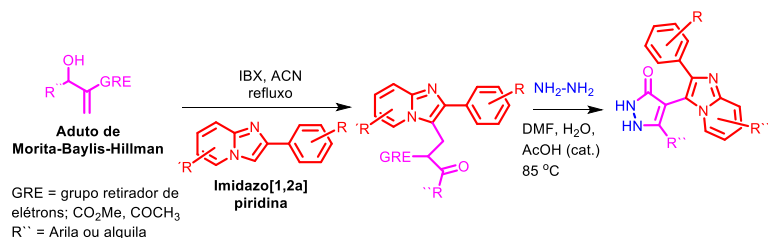


Figura 3 – Reação de formação das moléculas híbridas poli-funcionalizadas

Por fim, foi realizada a reação dessas moléculas com a hidrazina, DMF (Dimetilformamida) como solvente, água e AcOH (Ácido acético) como catalisador a uma temperatura de 85 °C, obtendo dessa forma as moléculas híbridas e poli-funcionalizadas. É esperado que a reação ocorra dentro de 30 min e possua um rendimento por volta de 42%.^[12]

Todas as moléculas finais e intermediária obtidas no processo da síntese seguiram etapas de extração, purificação e caracterização. As imidazo[1,2-a]piridinas, os adutos MBH e as moléculas intermediária e finais da última etapa foram purificadas seguindo a seguinte metodologia.

Após serem sintetizadas, foram colocadas em um funil de separação onde foi adicionado solvente, acetato de etila para a obtenção da fase orgânica e eliminação da fase aquosa da síntese. A fase orgânica foi coletada em um béquer onde foi adicionado um agente secante (Na₂SO₄) para remoção de resíduos de água. Em seguida, realizada uma filtração simples para dentro de um balão volumétrico e acoplado a um rota-evaporador para retirada do solvente.

Retirado o solvente, o balão volumétrico foi acoplado ao vácuo por 24 horas para garantir a eliminação de qualquer resíduo de acetato. Após esse período, foi realizada uma separação dos produtos através de uma coluna cromatográfica utilizando acetato de etila e hexano em uma proporção de 2:1 e coletados em um tubo de ensaio. Os compostos de interesse foram identificados nos tubos através de uma cromatografia em camada delgada, colocados em um balão volumétrico e levados ao rota-evaporador para a retirada dos solventes e, em seguida, submetidos ao vácuo. De posse dos produtos purificados, todos foram levados para a caracterização através de um aparelho de RMN (Ressonância Magnética Nuclear)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Devido a pandemia, a parte prática do experimento não pôde ser realizada. Dessa maneira, nenhuma análise química das moléculas como caracterização, cristalização, verificação da estrutura obtida pelas sínteses, pontos de fusão e ebulição pôde ser realizada. Por essa razão, optou-se por realizar uma análise teórica dos mecanismos das reações e também, avaliar a estrutura-atividade em organismos biológicos das moléculas híbridas propostas no projeto.

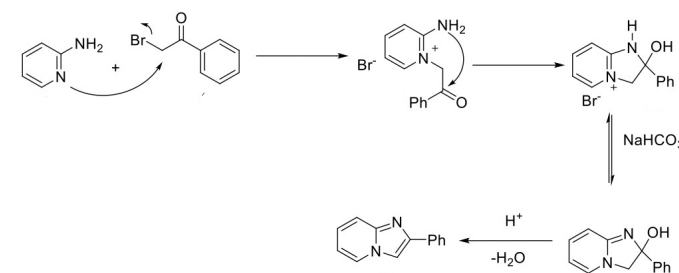


Figura 4 – Mecanismo da reação de formação das imidazo[1,2-a]piridinas

A proposta mecanística apresentada é o ataque do nitrogênio piridínico seguido pelo ataque da amina primária ao carbono da carbonila gerando um composto cíclico. Há então uma transferência de prótons e o composto cíclico sofre uma desidratação para formar a imidazo[1,2-a]piridina.^[13] O mecanismo apresentado é meramente ilustrativo ao que ocorreria na prática.

No trabalho de iniciação, as imidazopiridinas possuem radicais ligados ao anel em várias posições bem como as α -halocetofenonas. Entretanto os radicais não possuem qualquer influência no mecanismo da reação, podendo ser considerado radicais ligados aos anéis benzênico e piridínico.

Na formação dos adutos MBH, o mecanismo da reação mais aceito segue as seguintes etapas.

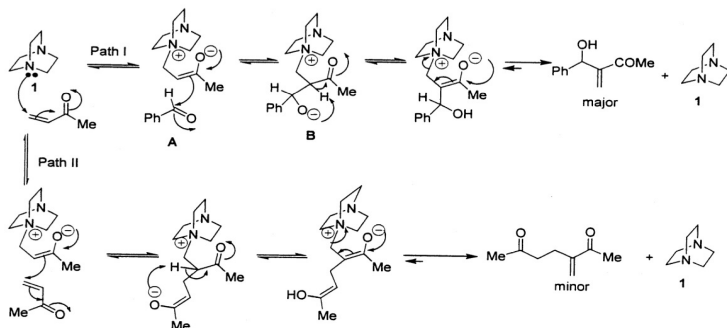


Figura 5 – Mecanismo de formação do aduto MBH

Na reação principal em que há a formação dos produtos em maior quantidade (Path I), há a adição de Michel que realiza um ataque nucleofílico da amina terciária ao alceno ativado para produzir o íon zwitteriônico enolato (A). Este íon faz um ataque nucleofílico no aldeído gerando outro íon zwitteriônico (B), após isso, há uma migração de prótons e a saída do catalisador. Uma reação que produz uma menor quantidade de produtos também ocorre, em que o enolato ataca o alceno ativado.^[14]

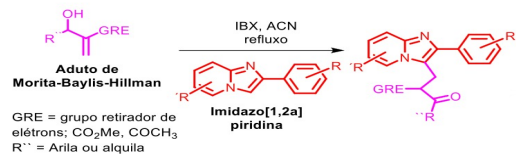


Figura 6 – Reação de formação das imidazo[1,2-a]piridinas funcionalizadas

A primeira etapa da formação dos compostos híbridos, ocorre uma reação de adição conjugada por meio da oxidação de Michael do aduto via IBX (Ácido 2-iodoxibenzeno) formando o composto conjugado.^[12] Por fim, o mecanismo de formação da pirazolona.

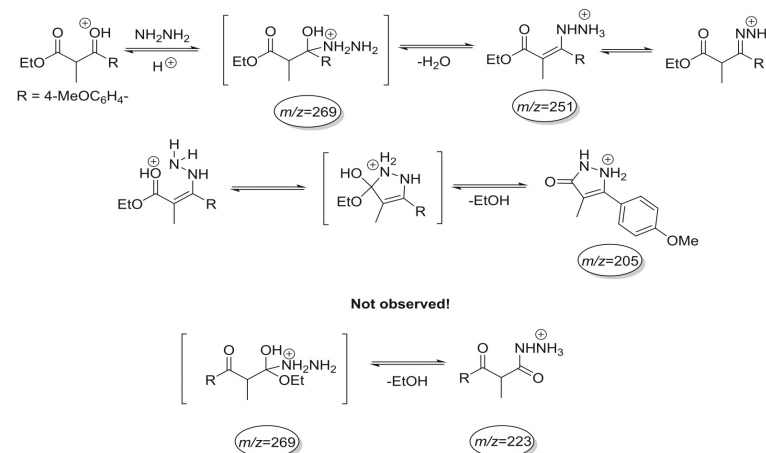
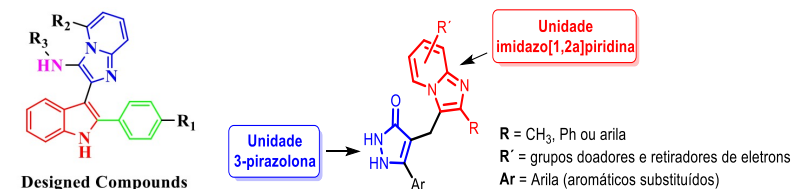


Figura 6 – Mecanismo de formação das pirazolonas

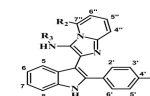
O estudo mecanístico utilizou um espectroscópio de massas para a análise (ESI-MS). Adicionando o ácido acético no meio reacional há a protonação do grupo hidroxila ocorrendo um ataque nucleofílico do nitrogênio e havendo uma eliminação de água. Há um segundo ataque nucleofílico do segundo nitrogênio da hidrazina, na outra carbonila do aduto, dessa maneira formam o ciclo das pirazolonas. Esses mecanismos foram descritos na literatura utilizando espectrômetros de massa.^[15]

ESTRUTURA – ATIVIDADE

Apesar de não ter sido possível obter as moléculas de forma prática, foram encontrados algumas moléculas na literatura muito parecidas com o que era esperado obter no projeto de iniciação e foram avaliados os possíveis efeitos biológicos que poderiam gerar em organismos biológicos.



De acordo com pesquisas^[3b], as moléculas possuem um grande potencial de apresentar efeitos contra linhagens celulares cancerígenas, em especial células cancerígenas pulmonares (A-549), do fígado (Hep-G2), de mama (MCF-7), de sublinhagem epitelial (TD-47).



Compound	R ₁	R ₂	R ₃	^a A-549	^b Hep-G2	^c T-47D	^d MCF-7
7a	H	H	Cyclohexyl	11.48 ± 3.29	66.34 ± 5.40	> 100	> 100
7b	OH	H	Cyclohexyl	> 100	> 100	> 100	> 100
7c	OMe	H	Cyclohexyl	36.57 ± 2.81	44.27 ± 4.89	> 100	> 100
7d	Cl	H	Cyclohexyl	25.67 ± 3.03	35.79 ± 2.03	> 100	> 100
7e	Br	H	Cyclohexyl	16.44 ± 4.41	43.94 ± 6.70	> 100	> 100
7f	Me	H	Cyclohexyl	10.66 ± 3.85	51.59 ± 2.92	> 100	> 100
7g	OH	Me	Cyclohexyl	21.26 ± 3.89	41.55 ± 7.42	92.92 ± 7.51	69.40 ± 4.39
7h	OMe	Me	Cyclohexyl	34.36 ± 2.97	47.97 ± 6.43	83.42 ± 8.70	65.22 ± 3.68
7i	Cl	Me	Cyclohexyl	> 100	49.85 ± 3.18	> 100	> 100
7j	Br	Me	Cyclohexyl	94.91 ± 8.70	37.37 ± 0.70	69.35 ± 13.07	49.69 ± 2.49
7k	Me	Me	Cyclohexyl	46.56 ± 4.95	45.56 ± 2.41	> 100	77.98 ± 6.44
7l	H	H	t-butyl	> 100	> 100	> 100	> 100
7m	OH	H	t-butyl	> 100	> 100	> 100	> 100
7n	OMe	H	t-butyl	35.27 ± 5.26	44.17 ± 5.23	> 100	> 100
7o	Cl	H	t-butyl	63.50 ± 7.78	60.20 ± 2.29	> 100	82.98 ± 5.31
7p	Br	H	t-butyl	32.84 ± 4.63	48.36 ± 4.85	> 100	> 100
7q	OH	Me	t-butyl	> 100	> 100	> 100	> 100
7r	Cl	Me	t-butyl	51.89 ± 1.23	> 100	> 100	> 100
7s	Br	Me	t-butyl	> 100	> 100	> 100	> 100
7t	Me	Me	t-butyl	> 100	> 100	> 100	> 100
Colchicine	–	–	–	1.76 ± 0.19	5.93 ± 0.48	7.1 ± 1.10	4.96 ± 0.97
Etoposide	–	–	–	39.18 ± 1.96	37.13 ± 1.73	33.89 ± 1.45	37.76 ± 2.18

Tabela 1 – Moléculas híbridas poli-funcionalizadas

O valor apresentado na tabela esta é descrito como IC₅₀, o que significa a menor concentração de um inibidor para que a atividade inibitória seja reduzida pela metade, dessa maneira, verifica-se os melhores inibidores devido às menores quantidade de substância adicionada aos testes. Os valores estão em μM (micromol) e também são apresentadas a (média ± desvio padrão) dos três experimentos.

O composto **7f** apresentou maior atividade contra as células cancerígenas pulmonares, o composto **7d** apresentou a maior atividade contra as células cancerígenas do fígado, o composto **7j** apresentou as maiores atividades contra as células TD-47 e MCF-7. Entretanto, todos os compostos apresentados na tabela apresentaram maiores atividades contra as células A-549 e Hep-G2 do que contra outras células. A tabela apresentada resumidamente os radicais estudados, alguns deles estão dentro do escopo do projeto.

A partir desse estudo, é possível supor que as moléculas híbridas combinadas com unidades imidazo[1,2-a]piridinas e 3-pirazolonas provavelmente apresentem efeitos anti-tumorais.

Outro estudo reforça essa tese pela similaridade da molécula obtida no estudo biológico realizado.^[16]

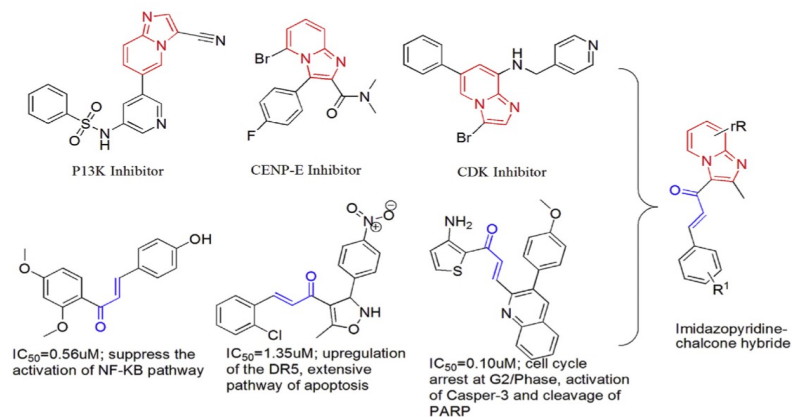


Figura 7 – Moléculas com diversos efeitos biológico e molécula estudada no artigo ^[16]

Foi constatado que a molécula híbrida de imidazopiridina contendo pirazolina em sua estrutura possuía efeitos ativos em células. A molécula apresentou efeitos contra células cancerígenas, principalmente de linhagem pulmonar (A-549) conforme apresentado no estudo.

É razoável supor que as moléculas híbridas polifuncionalizadas, alvo de estudo desse projeto, podem ter efeitos positivos contra células cancerígenas quando forem obtidas e estudadas na prática, devido a similaridade com que essas moléculas possuem com outras já relatadas na literatura.

CONCLUSÕES

Apesar da parte experimental não poder ser realizado na prática, a pesquisa pôde ser realizada através de uma revisão da teoria química sobre o desenvolvimento das reações e as relações estrutura-atividade esperadas para o composto final. Muitas das moléculas propostas no projeto possuem cinética lenta, principalmente as reações envolvendo os adutos, entretanto, dependendo do reagente, um bom grau de rendimento que pode ser obtido.

As caracterizações das moléculas propostas no projeto de iniciação não puderam ser realizadas, no entanto, alguns artigos apresentam caracterizações de moléculas similares podendo-se ter uma idéia sobre o resultado esperado.

Além disso, as imidazo[1,2-a]piridinas junto com pirazolonas apresentaram futuros promissores devido sua relação estrutura-atividade possuir efeitos inibitórios. Já as moléculas híbridas e poli-funcionalizadas propostas podem apresentar boa atividade anti-cancerígena principalmente contra células tumorais do pulmão, fígado e pele, podendo ser alvo de continuidade do projeto e estudado outros padrões de ramificação para que possam gerar moléculas com melhores efeitos.

Os efeitos ativos em sistemas biológicos devem ser constatados na prática.

BIBLIOGRAFIA

1. a) Fisher, M. H.; Lusi, A. *J. Med. Chem.* **1972**, *15*, 982-985 (DOI: 10.1021/jm00279a026); b) Rival, Y.; Grassy, G.; Taudou, A.; Ecalle, R. *Eur. J. Med. Chem.* **1991**, *26*, 13-18 (DOI: 10.1016/0223-5234(91)90208-5).
2. a) Rupert, K. C.; Henry, J. R.; Dodd, J. H.; Wadsworth, S. A.; Cavender, D. E.; Colini, G.; Fahmy, B.; Siekierka, J. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 347-350 (DOI: 10.1016/S0960-894X(02)01020-X); b) Penning, T. D.; Chandrakumar, N. S.; Desai, B. N.; Djuric, S. W.; Gasiacki, A. F.; Malecha, J. W.; Miyashiro, J. M.; Russell, M. A.; Askonas, L. J.; Gierse, J. K.; Harding, E. I.; Highkin, M. K.; Kachur, J. F.; Kim, S. H.; Villani-Price, D.; Pyla, E. Y.; Ghoreishi-Haack, N. S.; Smith, V. G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 1137-1139 (DOI: 10.1016/S0960-894X(03)00039-8)
3. a) Hranjec, M.; Kralj, M.; Piantanida, I.; Sedić, M.; Šuman, L.; Pavelić, K.; Karminski-Zamola, G. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 5996-5711 (DOI: 10.1021/jm070876h); b) Bakherad, Z.; Safavi, M.; Sepehri, S.; Fassihi, A.; Sadeghi-Aliabadi, H.; Bakherad, M.; Rastegar, H.; Larijani, B.; Saghaie, L.; Mahdavi, M. *Res. Chem. Intermed.* **2019**, *45*, 5261-5290 (DOI: 10.1007/s11164-019-03915-z).
4. a) Hamdouchi, C.; de Blas, J.; del Prado, M.; Griber, J.; Heinz, B. A.; Vance, L. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 50-59 (DOI: 10.1021/jm9810405); b) Lhassani, M.; Chavignon, O.; Chezal, J. -M.; Teulade, J. -C.; Chapat, J. -P.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Balzarini, J.; De Clercq, F.; Gueiffer, A. *Eur. J. Med. Chem.* **1999**, *34*, 271-274 (DOI: 10.1016/S0223-5234(99)80061-0).
5. Rival, Y.; Grassy, G.; Michel, G. *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, *40*, 1170-1176 (DOI: 10.1248/cpb.40.1170).
6. Martins, P.; Jesus, J.; Santos, S.; Raposo, L. R.; Roma-Rodrigues, C.; Baptista, P. V.; Fernandes, A. R. *Molecules* **2015**, *20* (9), 16852–16891 (DOI: 10.3390/molecules200916852)
7. Rival, Y.; Grassy, G.; Taudou, A.; Ecalle, R. *Eur. J. Med. Chem.* **1991**, *26*, 13-18 (DOI: 10.1016/0223-5234(91)90208-5).
8. Zhao, Z.; Dai, X.; Li, C.; Wang, X.; Tian, J.; Feng, Y.; Xie, J.; Ma, C.; Nie, Z.; Fan, P.; Qian, M.; He, X.; Wu, S.; Zhang, Y.; Zheng, X. *Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *186*, 111893 (DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.111893).
9. Bagdi, A. K.; Santra, S.; Monir, K.; Hajra, A. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 1555-1575 (DOI: 10.1039/c4cc08495k)
10. D.-J. Zhu, J.-X. Chen, M.-C. Liu, J.-C. Dinga and H.-Y. Wu, *J. Braz. Chem. Soc.*, **2009**, *20*, 482.
11. Shi, M, Wang, J. F., Zhao, M., Wei, Y. The Chemistry of the Morita-Baylis-Hillman Reaction., **2012**. (DOI: 10.1039/9781849732659-FP001)
12. Silva, T. S.; Zeoly, L. A.; Coelho, F. *J. Org. Chem.* **2020**, *85*, 5438-5448 (DOI: 10.1021/acs.joc.0c00189).
13. Silva, S. C., Aplicação de reagentes organometálicos na funcionalização de imidazo[1,2-a]piridinas e estudo de RMN dinâmica da 4-formil-aminoantipirina., **2016**., Tese de Doutorado.
14. Basavaiah, D.; Jaganmohan, A.; Satyanarayana, T. (**2002**) Recent Advances in MBH Reaction and Applications, *University of Hyderabad*. (DOI: 10.1021/cr010043d)
15. Barcelos, R. C.; Zeoly, L. A.; Rodrigues, Jr., M. T.; Ferreira, B. R. V.; Eberlin, M. N.; Coelho, F. *Monatsh. Chem.* **2015**, *146*, 1557-1570 (DOI: 10.1007/s00706-015-1427-6).
16. Kuthyala, S., Hanumanthappa, M., Kumar, M. S., Sheik, S., Gundibasappa, N., Prabhu. A., Anticancer study of some newly synthesized imidazopyridine containing pyrazoline derivatives, **2019**.