

SÍNTESE E AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA DE TIAZOLIDINONAS DERIVADAS 2-AMINOETILPIPERIDINA

**ROBERTA DIFABIO¹; ALICE KUNZLER²; PATRICIA DA SILVA NASCENTE
WILSON JOÃO CUNICO FILHO⁴**

¹ *Universidade Federal de Pelotas - UFPel – beta_difabio@hotmail.com*

² *Universidade Federal de Pelotas - UFPel – alice.bio@hotmail.com*

³ *Universidade Federal de Pelotas – UFPel – patasn@bol.com.br*

⁴ *Universidade Federal de Pelotas - UFPel – wjcunico@yahoo.com.br*

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a incidência de infecções fúngicas, especialmente micoses oportunistas, tem aumentado devido à expansão da população em condições médicas específicas, como cirurgias, transplante de medula óssea e órgãos, terapia imunossupressiva, nascimento prematuro, idade avançada, e doenças como AIDS e câncer NUCCI (2010).

O número de agentes disponíveis para o tratamento de fungos aumentou nos últimos anos mas ainda assim poucos agentes estão atualmente aprovados para uso clínico. Sendo assim, a disponibilidade de antifúngicos ainda é relativamente pequena e algumas vezes parte desses são ineficientes e apresentam considerável toxicidade TOBUDIC (2012).

Somando-se outro fator agravante, o uso indiscriminado dos já limitados medicamentos antifúngicos tem selecionado cepas que vem apresentando resistência a esses fármacos tornando cada vez mais ineficiente o arsenal terapêutico disponível para o tratamento de doenças fúngicas PFALLER (2012). Além de resistência, o uso indiscriminado dos fármacos antifúngicos torna ainda mais evidente o poder de causar efeitos adversos, tais como, desencadeantes de danos hepáticos, renais, hematológicos como neutropenia, relacionados a perfusão sanguínea e ainda anormalidades nos níveis de eletrólitos (hipocalemia e hipomagnesemia) ASHLEY (2006).

Desse modo, torna-se evidente a necessidade de novas pesquisas para a descoberta de novos fármacos antifúngicos que sejam mais eficazes e menos tóxicos. Sendo assim, as tiazolidinonas vem sendo objeto de vários estudos por apresentarem diversas atividades biológicas como antiviral, tuberculostática anti-inflamatória, anticâncer e por ultimo, a que desperta maior interesse do presente estudo, a atividade antifúngica, de acordo com JAIN (2012).

Dando continuidade aos estudos realizados por nosso grupo de pesquisa NEUENFELDT (2011) e KUNZLER (2013) como proposta, neste trabalho apresenta-se a reação entre 2-aminoetilpiperidina, benzaldeído substituído e o ácido mercaptoacético para obtenção das tiazolidinonas.

2. METODOLOGIA

Procedimento experimental

2.1. Síntese das tiazolidinonas

Utilizando um balão reacional de 50 mL, conectado a um *Dean-Stark*, adicionou-se 35 mL de tolueno, 1mmol de 2-aminoetilpiperidina **1**, 1mmol de um benzaldeído substituído **2 a-p**. A mistura foi aquecida em refluxo de tolueno por duas horas, após adicionou-se 3 mmol de ácido mercaptoacético **4** permanecendo sob refluxo por mais três horas. Em seguida, após o resfriamento lavou-se a mistura reacional com solução saturada de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) ocorrendo a formação de duas fases, uma aquosa e outra orgânica. A fase orgânica foi seca e filtrada e posteriormente o solvente foi removido em um evaporador rotativo. Por fim, os produtos brutos foram purificados com hexano, à quente, realizando-se uma lavagem.

2.2 Teste antifúngico

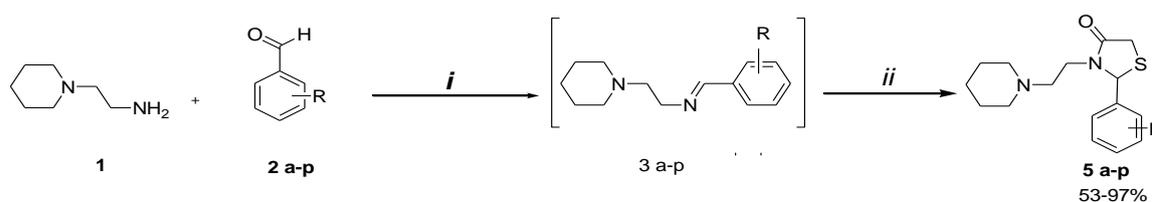
Todos os produtos obtidos foram submetidos a testes antifúngicos com leveduras - *Cryptococcus laurentii*; *Geotrichum* sp., *Candida parapsilosis*, *Candida guilliermondii*, *Trichosporum asahii*, *Rhodotorula* sp. e *Candida albicans*. As leveduras foram obtidas da micoteca do Laboratório de Micologia da UFPel. A determinação da atividade antifúngica dos compostos foi realizada segundo o método de microdiluição em caldo para leveduras, de acordo com o CLSI M27-A3 (CLSI, 2008) e expressa em Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Obtenção das tiazolidinonas

As tiazolidinonas **5 a-p**, foram obtidas através da reação “one-pot” entre a 2-aminoetilpiperidina **1** e benzaldeídos substituídos **2 a-p**, sob agitação e refluxo de tolueno, para a formação do intermediário imina e após 2 horas foi adicionado o ácido mercaptoacético **4** e a reação ocorreu por mais 3 horas (Esquema 1).

Esquema 1.



i. Tolueno, refluxo, 2h
ii. HSCH₂COOH **4**, tolueno,
refluxo, 3h.

5a: 2- F
5b: 3- F
5c: 4- F

5d: 2- Cl
5e: 3- Cl
5f: 4- Cl

5g: 2- NO₂
5h: 3- NO₂
5i: 4- NO₂

5j: 3- OH
5k: 4- OH
5l: 2- OCH₃

5m: 3- OCH₃
5n: 4- OCH₃
5o: 4- CH₃
5p: 2, 6- Cl

Como resultado da síntese proposta tiazolidinonas derivadas da 2-aminoetilpiperazina foram obtidas com rendimentos de moderados a excelente (53-97%), sendo estes valores calculados após a purificação dos mesmos. A pureza das moléculas **5 a-p**, foram analisadas por CG (Cromatografia Gasosa) e a caracterização por ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C .

Com base nesses mesmos resultados observou-se que os melhores rendimentos, de modo geral, foram obtidos quando se reagiu benzaldeídos substituídos nas posições 2 e 3 do anel por grupos retiradores de elétrons (F, Cl e NO_2) ou na posição 4 por grupos doadores de elétrons (OH, CH_3 e OCH_3).

3.2 Teste com antifúngicos

Os testes antifúngicos diferentes valores frente as sete fungos testadas.

- *Candida albicans* : CIM e CFM 45 e 100 $\mu\text{g/mL}$.
- *Rhodotorula sp*, os CIM e CFM ficaram entre 16,5 e 50 $\mu\text{g/mL}$.
- *Cryptococcus laurentii* apresentou CIM e CFM entre 66 e 100 $\mu\text{g/mL}$.
- *Geotrichum sp* apresentou CIM e CFM entre 25 e 400 $\mu\text{g/mL}$.
- *Candida parapsilosis*, apresentou CIM e CFM entre 50 e 100 $\mu\text{g/mL}$.
- *Candida guilliermondii*, apresentou CIM e CFM entre 25 e 200 $\mu\text{g/mL}$.
- *Trichosporum asahii* apresentou CIM e CFM entre 50 e 400 $\mu\text{g/mL}$.

Deve-se salientar a atividade biológica de alguns compostos frente as espécies de fungos testadas foram bastante satisfatórias, principalmente contra a levedura *Rhodotorula sp*, destacando-se as substâncias **5h** e **5i** com CIM de 16,5 $\mu\text{g/mL}$. Também deve-se constatar que a molécula **5g** apresentou os melhores resultados contra duas das sete espécies de fungos testadas, *Geotrichum sp.* e *C. guilliermondii*, apresentando baixos valores de CIM e de CFM (25 $\mu\text{g/mL}$).

De modo geral, não foi possível estabelecer nenhuma relação entre os substituintes das tiazolidinonas e a atividade antifúngica frente as espécies de fungos testadas. Dessa forma, os grupos retiradores ou doadores de elétrons para o anel benzênico das tiazolidinonas **5 a-p** bem como a posição de ambos não foram conclusivas para que se estabelece uma relação de estrutura-atividade.

4. CONCLUSÕES

O presente trabalho resultou na síntese de 16 tiazolidinonas **5a-p** derivadas da 2-aminoetilpiperidina, inéditas na literatura, com rendimentos de moderados a excelentes, alto grau de pureza e caracterizados por meio das análises de CG-MS e RMN de ^1H e ^{13}C ;

De acordo com os resultados dos testes antifúngicos, observou-se que os melhores resultados foram obtidos quando as tiazolidinonas **5 a-p** foram testadas contra a levedura *Rhodotorula sp*. Destaque para as substâncias **5h** e **5i** que apresentaram valores de CIM (16,5 $\mu\text{g/mL}$) inferiores ao CIM do fármaco padrão fluconazol, sendo então mais potentes que o padrão.

Quanto aos resultados da toxicidade, pode-se constatar que a maioria das tiazolidinonas não mostraram citotoxicidade na concentração de 98 $\mu\text{g/mL}$. Os melhores resultados foram obtidos para a molécula **5g** (787 $\mu\text{g/mL}$) e **5j** (394 $\mu\text{g/mL}$), as quais

A substância mais promissora foi a tiazolidinona **5g** que apresentou bons valores de CIM e CFM (25 µg/mL) contra os fungos *Rhodotorula* sp., *Geotrichum* sp. e *C. guilliermondii*;

A avaliação antifúngica das tiazolidinonas **5a-p** reforçam que este núcleo possui atividade antimicrobiana, comprovando mais uma vez o que tem sido relatado na literatura e provendo argumentos para dar continuidade as pesquisas voltadas a obtenção de novos compostos com atividade antimicrobiana candidatos a novos fármacos como o composto **5g**.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASHLEY, E.S.D.; LEWIS, R.; LEWIS, J.S.; MARTIN, C.; ANDES, D. Pharmacology of Systemic Antifungal Agents. **Oxford Journals**. Durham, v.43, n.1, p.S28-S39, 2006.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Reference Method of Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Approved Standard, NCCLS Document M27-A3, Wayne, USA, 2008.

JAIN, A. K.; VAIDYA, A.; RAVICHANDRAN, V.; KASHAW, S. K., AGRAWAL, R.K. Recent developments and biological activities of thiazolidinone derivatives: A review. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.20, p.3378-3395, 2012.

KUNZLER, A.; NEUENFELDT., P.D., PEREIRA, C.M.P.; MARQUES, G. H.; NASCENTE, P.S.; FERNANDES, M.H.V.; HUBNER, S.O.; CUNICO, W. Synthesis, antifungal and citotoxic activities of 2-aryl-3((piperidin-1-yl)ethyl thiazolidinones. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Brasil, v.64, p.74-80; 2013.

NEUENFELDT P.D., DRAWANZ B.B., AGUIAR A.C.C, FIGUEIREDO F.J., KRETTLI A.U., CUNICO W. Multicomponent Synthesis of New Primaquine Thiazolidinone, **Synthesis**, Brasil, v.23, p.3866-3870, 2011.

NUCCI, M.; QUEIROZ-TELLES, F.; TOBON, A.M.; RESTREPO, A.; COLOMBO, A.L. Epidemiology of opportunistic fungal infections in Latin America. **Clinical Infectious Disease**, v.51, p. 561–570, 2010.

PFALLER, M. Antifungal Drug Resistance: Mechanisms, Epidemiology, and Consequences for Treatment. **The American Journal of Medicine**. Iowa, v.125, n.1, p.S3-S13, 2012.

THOMPSON III G.R., CADENA, J., PATTERSON, T.F. Overview of Antifungals Agents. **Clinics in Chest Medicine**, Texas, v.30, n.2, p. 203 - 215, 2009.

TOBUDIC, S.; KRATZER, C.; PRESTERL, E. Azole-resistant *Candida* spp. – emerging pathogens? **Mycoses**, v. 55, p. 24–32, 2012.