LINHAS DE PESQUISA NO COMBATE À MALÁRIA

Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ

LASFAR

Laboratório de Síntese de Fármacos

Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos

Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

farmanguinhos
Instituto de Tecnologia em Fármacos

Derivados quinolinil-1*H*-1,2,3-triazol

Na busca por novos derivados para combater a malária, **nosso grupo desenvolveu novos derivados quinolínicos** contendo o núcleo 1*H*-1,2,3-triazol (em amarelo). A literatura descreve inúmeras substâncias com atividade anti-*P. falciparum* contendo este heterociclo. Alguns compostos 1,2,3-triazólicos com atividade contra o *Mycobacterium tuberculosis* e a *Leishmania amazonenses* já foram desenvolvidos por nós, e desta vez, este anel foi conectado ao núcleo 7-cloroquinolina (em azul) presente na cloroquina (CQ), amodiaquina (AQ) e em outras substâncias com atividade contra o *P. falciparum* (Figura 1).

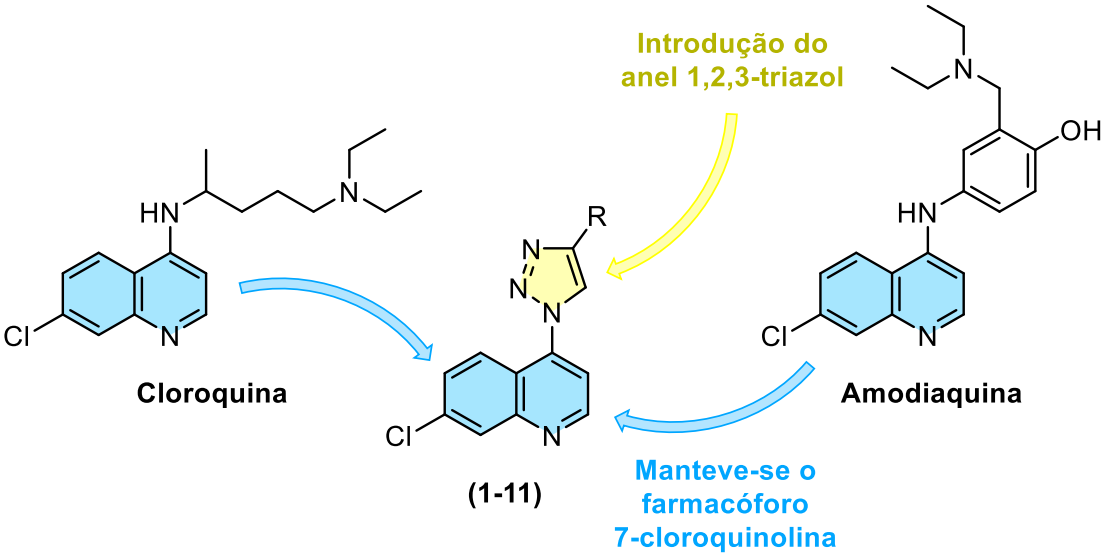
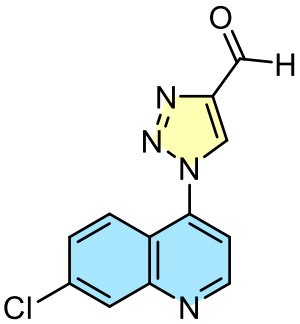


Figura 1. Planejamento molecular dos derivados **1-11**.

Foram sintetizados 11 novos híbridos 7-cloro-4-(1*H*-1,2,3-triazol-1-il)quinolinas **(1-11)**. **Seis derivados demonstraram atividade** *in vitro* contra *P. falciparum* W2 CQR, com valores de **IC_{50} entre 1,4 a 46 µM**.

Essas substâncias **não foram tóxicas** às células HepG2. **O derivado 1 foi o mais potente** com IC_{50} = 1,4 µM e índice de seletividade (IS) de 351 (Figura 2).



(1)

IC_{50} = 1,4 µM

Figura 2. Estrutura química do derivado **1**.

Nosso grupo desenvolveu **outra série de híbridos contendo o anel quinolínico com atorvastatina (AVA)**. A hibridação molecular dos derivados **12-14** foi realizada conectando o grupamento farmacofórico 7-cloroquinolina (em azul), presente na CQ, ao pirrol pentasubstituido da AVA (em verde), utilizando 2-4 unidades de carbonos metilênicos como espaçadores. Também foi obtido o derivado híbrido **15** que possui a primaquina (PQ) (em lilás) ligada diretamente ao pirrol pentasubstituído da AVA (Figura 3).

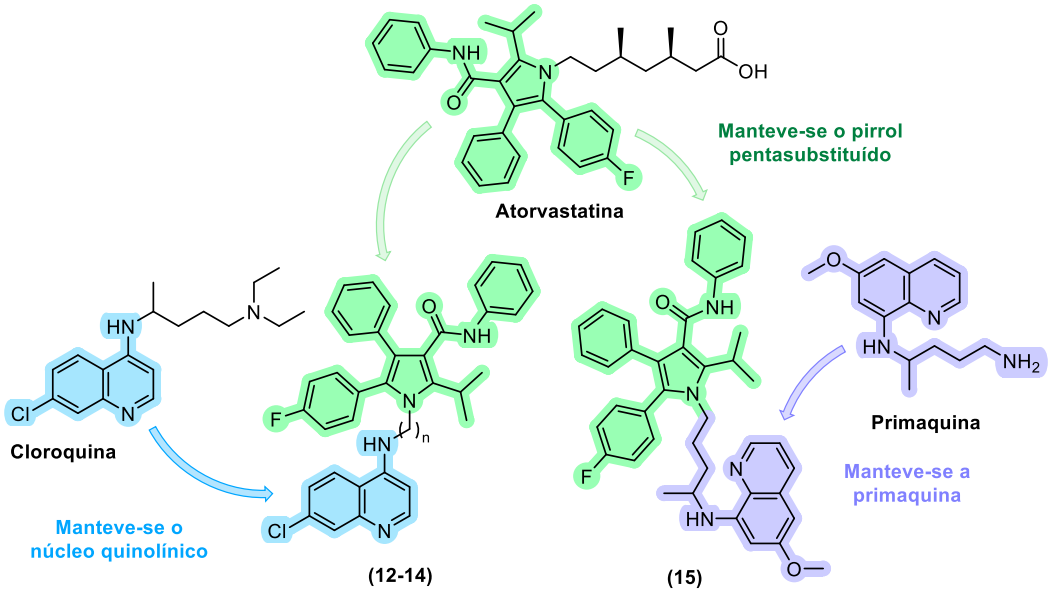
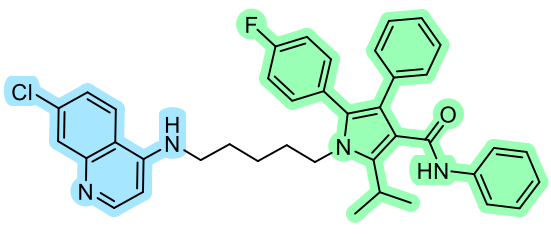


Figura 3. Planejamento molecular dos derivados **12-15**.

Os derivados **12-14** demonstraram atividade *in vitro* contra *P. falciparum* W2 clone com IC_{50} entre 0,40 e 0,99 µM, tendo **potências similares a da CQ** (IC_{50} = 1,4 µM) e **melhor do que a PQ** (IC_{50} = 1,89 µM) e a AVA (IC_{50} = 10,3 µM).



(14)
IC_{50} = 0,84 µM

Figura 4. Estrutura química do derivado **14**.

Os derivados **não apresentaram toxicidade significativa contra células BGM**. O derivado **14** foi o mais potente com IC_{50} = 0,40 µM, sendo **cerca de 5 e 26 vezes mais potente do que a PQ e AVA, respectivamente** (Figura 4).

O derivado **15** (IC_{50} = 1,41 µM) foi o menos potente da série, entretanto, foi **menos citotóxico do que a PQ** (IS = 239), apresentando um IS > 1107.

Outra linha de pesquisa de nosso grupo é o **desenvolvimento de derivados quinolínicos análogos da mefloquina (MQ)**. Os derivados **16-31** foram planejados conectando-se a subunidade 2,8-bis-(trifluormetil)quinolina, presente na MQ, com uma variedade de aminas alifáticas, aromáticas e heteroaromáticas. O derivado **32** foi planejado para comparar a influência do núcleo 7-cloroquinolina e 2,8-bis-(trifluormetil)quinolina na atividade anti-*P. falciparum* (Figura 5).

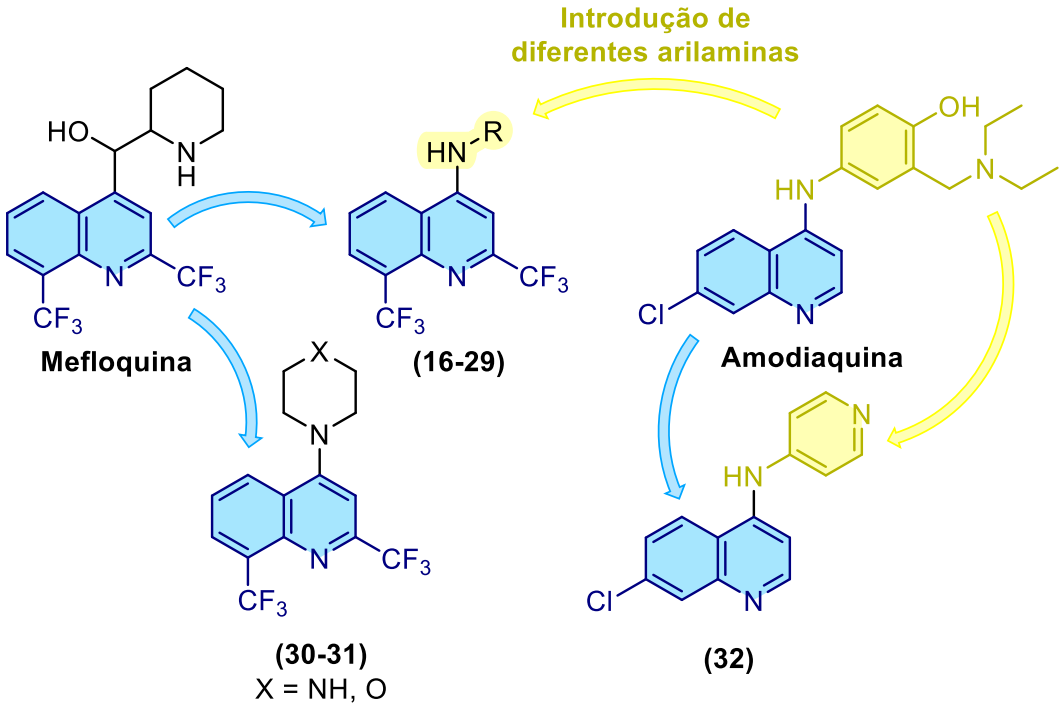
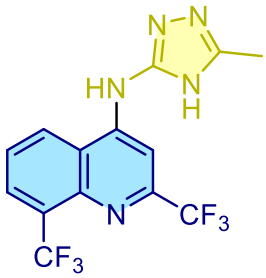


Figura 5. Planejamento molecular dos derivados **16-32**.

Os derivados **17** (IC_{50} = 8,4 ± 1,7 µM) e **32** (IC_{50} = 11,7 ± 3 µM) foram equipotentes, demonstrando, que neste caso, ambos os núcleos quinolínicos tem a mesma influência na atividade anti-*P. falciparum*.



O derivado 16 (Figura 6) foi o mais potente da série, com IC_{50} = 0,083 µM sendo **cerca de 3 vezes mais potente do a CQ** (IC_{50} = 0,25 µM). Entretanto foi menos potente do que a MQ (IC_{50} = 0,019 µM).

Figura 6. Estrutura química e IC_{50} do derivado **16**.

Híbridos entre cloroquina e sulfadoxina

Continuando a linha de pesquisa de derivados quinolínicos, nosso grupo desenvolveu **híbridos entre a CQ e a sulfadoxina (SX)**. Foram sintetizados **15 derivados** contendo os farmacóforos 7-cloroquinolina (em azul) e arilsulfonamida (em verde) conectados através de um espaçador metilênico de 2-4 carbonos (Figura 7).

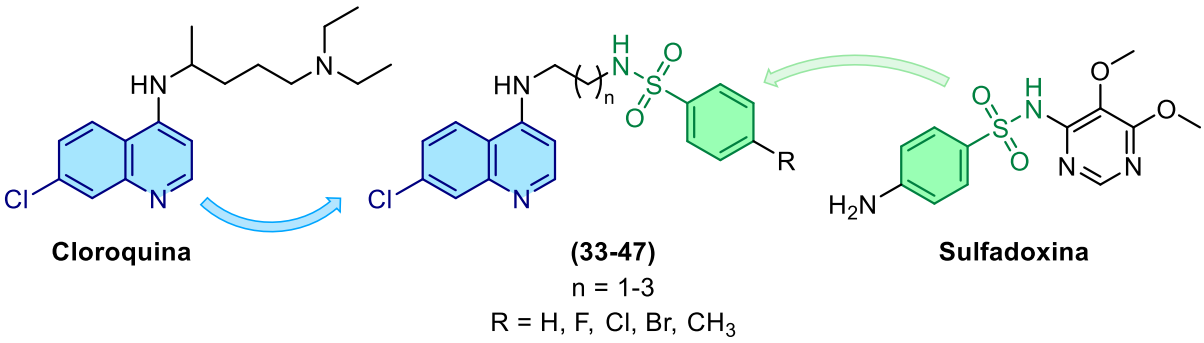
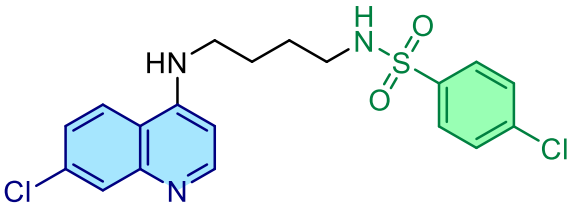


Figura 7. Planejamento molecular dos derivados **33-47**.

Todos os derivados apresentaram atividade *in vitro*, na qual 10 deles tiveram IC_{50} que variaram de 0,05 a 0,40 µM, sendo **melhores do que a CQ e SX**. Nenhum dos derivados apresentou toxicidade contra células BGM.

Foi possível observar que o **aumento do número de carbonos no espaçador promoveu um aumento na potência dos derivados. O derivado 33 foi o mais potente da série** com IC_{50} = 0,09 µM, sendo **mais potente do que a CQ**. Além disso apresentou um IS de 1102. Quando avaliado *in vivo*, o derivado **33** foi **capaz de inibir a parasitemia em 49%.**



(33) - Protótipo I
IC_{50} = 0,09 µM
in vivo 49%

Figura 8. Estrutura química do derivado **33**.

Devido aos bons resultados obtidos nessa série, **o derivado 33 foi escolhido como um protótipo** para o desenvolvimento de novos derivados contra o *P. falciparum* (Figura 8).

Na busca por novos derivados não-quinolínicos, nosso grupo desenvolveu derivados contendo os núcleos **pirazolo[3,4-*b*]piridina** (em lilás) e **pirazolo[3,4-*d*]pirimidina** (em rosa) como isósteros do anel quinolina. Esses núcleos foram conectados as **benzenossulfonamidas** (em verde) através de um espaçador de 4 carbonos, que como visto anteriormente no protótipo I apresentou melhor resultado do que espaçadores menores (Figura 9).

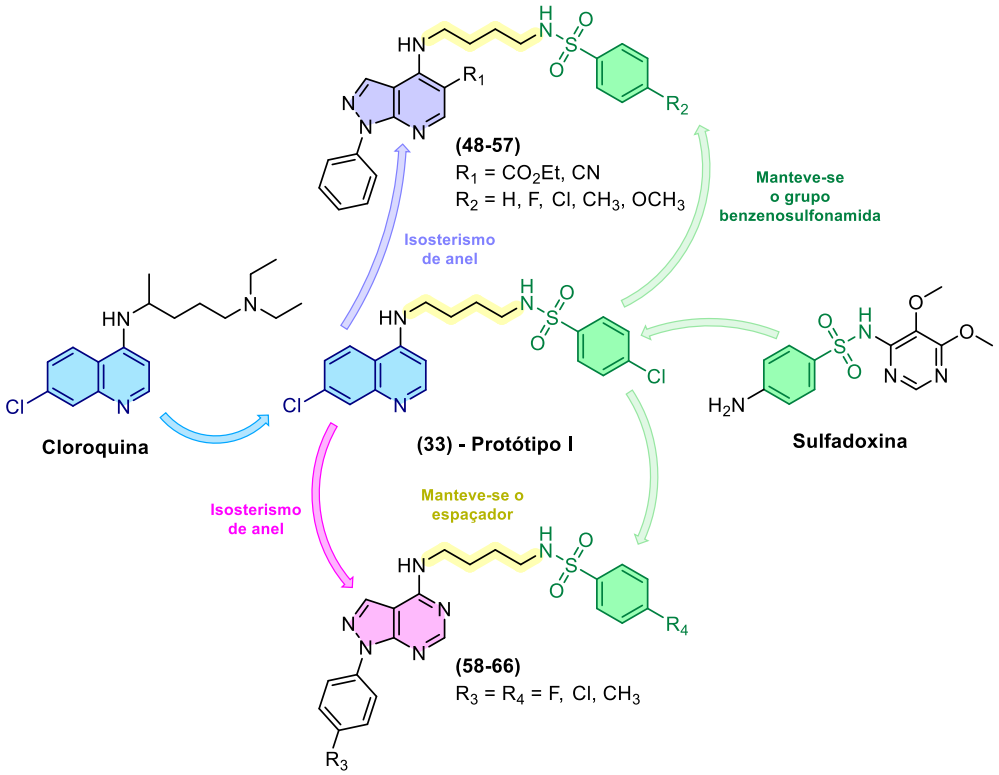


Figura 9. Planejamento molecular dos derivados **48-57** e **58-66**.

Os derivados **48-57** apresentaram potente atividade *in vitro* com **valores de IC_{50} menores do que a SX** (IC_{50} = 15,0 µM), entretanto não foram melhores do que a CQ (IC_{50} = 0,55 µM) e do que **33** (IC_{50} = 0,09 µM). Entre os derivados **58-66**, o derivado **58** (IC_{50} = 5,13 µM) **foi mais potente que a SX** (IC_{50} = 15,0 µM), mas foi menos potente do que a CQ (IC_{50} = 0,55 µM) e **33** (IC_{50} = 0,09 µM) (Figura 10).

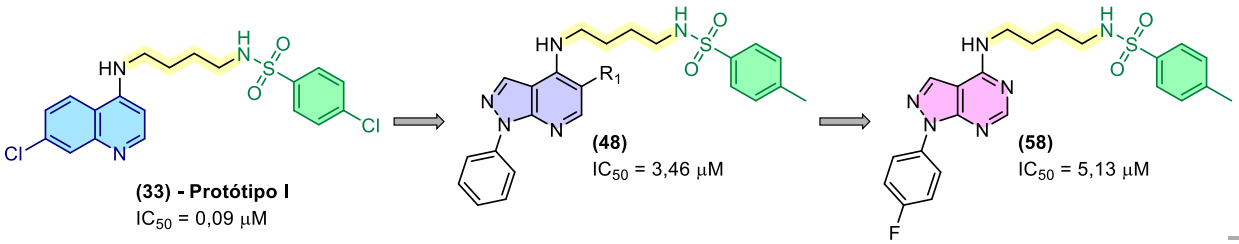


Figura 10. Estruturas químicas e comparação entre os derivados **33**, **48** e **58**.

Dando continuidade as linhas de pesquisa do grupo, foram **desenvolvidos 26 derivados** contendo o núcleo **[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]pirimidina**. Esses derivados foram planejados fazendo a troca isostérica do núcleo quinolínico (em azul) pelo triazolopirimidina (em verde) com a introdução de alquil e arilaminas (Figura 11).

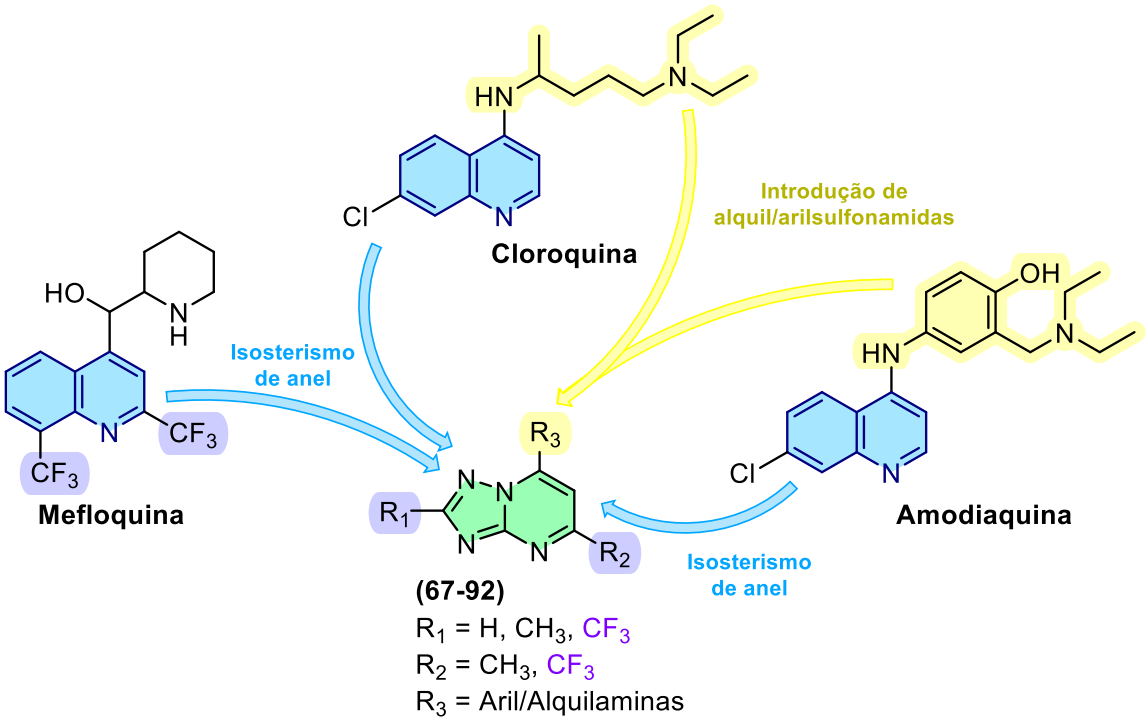
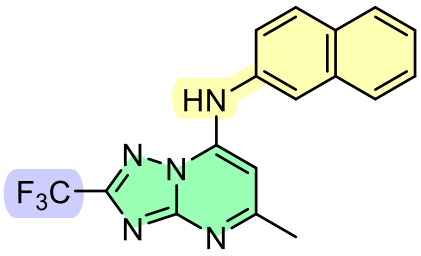


Figura 11. Planejamento molecular dos derivados **67-92**.

Os derivados **67-92** apresentaram **potente atividade *in vitro*** com valores de IC_{50} entre 0,023 a 20 µM e **não apresentaram toxicidade** às células HepG2.



(67) - Protótipo II

IC_{50} = 0,023 µM

Figura 12. Estrutura química do derivado **67**.

O derivado **67** foi o **mais potente da série** com IC_{50} = 0,023 µM. Ele foi selecionado como **protótipo para o desenvolvimento de novas substâncias** (Figura 12).

Seguindo a linha dos bons resultados obtidos anteriormente pelo grupo, os derivados **93-107** foram planejados, utilizando como protótipo o derivado **67**. Foi realizada a **troca isostérica do anel triazolopirimidina** (em verde) **pelo pirazolopirimidina** (em rosa) e manteve-se as alquil/arilaminas (em amarelo) (Figura 13).

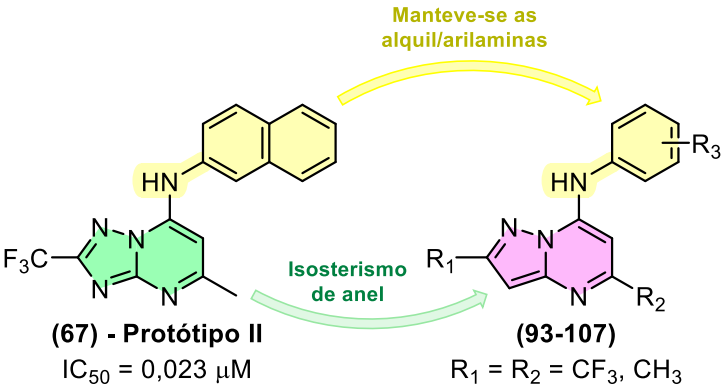
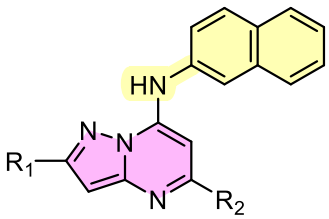


Figura 13. Planejamento molecular dos derivados **93-107**.

Como o grupo CF_3 na posição 2 do anel triazolopirimidina demonstrou importante papel na atividade, neste trabalho ele foi adicionado nas posições 2 e 5 do anel pirazolopirimidina. **Entre os 15 derivados sintetizados, 13 exibiram atividade anti-*P. falciparum*** com valores de IC_{50} que variaram de 1,2 a 92,4 µM.

Os derivados 93, 94 e 95, todos com β-naftilamina na posição 7, foram os mais potentes da série. Os derivados **93** e **94** por terem apresentado altos IS 467,8 e 79,6, respectivamente, foram selecionados para avaliação *in vivo* em ratos infectados com *P. berghei*. **Ambos os compostos conseguiram reduzir em 50% a parasitemia**. Já o composto **95** ($IC_{50\ PfDHODH}$ = 0,16 µM) foi o que apresentou **melhor resultado de inibição da enzima diidroorotato desidrogenase de *P. falciparum* (*Pf*DHODH), sendo mais potente do que o protótipo II** ($IC_{50\ PfDHODH}$ = 0,70 µM) (Figura 14).



(93) (R_1 = CF_3, R_2 = CH_3); IC_{50} = 1,2 µM; *Pf*DHODH IC_{50} = 6,0 µM
(94) (R_1 = CH_3, R_2 = CH_3); IC_{50} = 5,1 µM; *Pf*DHODH IC_{50} = 4,0 µM
(95) (R_1 = CH_3, R_2 = CF_3); IC_{50} = 10,0 µM; *Pf*DHODH IC_{50} = 0,16 µM

Figura 14. Derivados mais potentes da série e seus respectivos valores de IC_{50}.

Referências Bibliográficas

1. Boechat, N.; Pinheiro, L.C.S.; Silva, T.S.; Aguiar, A.C.C.; Carvalho, A.S.; Bastos, M.M.; Costa, C.C.P.; Pinheiro, S.; Pinto, A.C.; Mendonça, J.S.; et al. New Trifluoromethyl Triazolopyrimidines as Anti-Plasmodium falciparum Agents. Molecules **2012**, 17, 8285–8302.

2. Azeredo, L.F.S.P.; Coutinho, J.P.; Jabor, V.A.P.; Feliciano, P.R.; Nonato, M.C.; Kaiser, C.R.; Menezes, C.M.S.; Hammes, A.S.O.; Ca_arena, E.R.; Hoelz, L.V.B.; et al. Evaluation of 7-arylaminopyrazolo[1,5-a]pyrimidines as anti-Plasmodium falciparum, antimalarial, and Pf -dihydroorotate dehydrogenase inhibitors. Eur. J. Med. Chem. **2017**, 126, 72–83.

3. de Pilla Varotti, F.; Botelho, A.C.C.; Andrade, A.A.; de Paula, R.C.; Fagundes, E.M.; Valverde, A.; Mayer, L.M.; Mendonça, J.S.; de Souza, M.V.; Boechat, N.; et al. Synthesis, antimalarial activity, and intracellular targets of Mefas, a new hybrid compound derived from mefloquine and artesunate. Antimicrob. Agents Chemother. **2008**, 52, 3868–3874.

4. Penna-Coutinho, J.; Almela, M.J.; Miguel-Blanco, C.; Herreros, E.; Sá, P.M.; Boechat, N.; Krettli, A.U. Transmission-blocking potential of MEFAS, a hybrid compound derived fromartesunate and mefloquine. Antimicrob. Agents Chemother. **2016**, 60, 3145–3147.

5. Pinheiro, L.C.S.; Boechat, N.; Ferreira, M.L.G.; Junior, C.C.S.; Jesus, A.M.L.; Leite, M.M.M.; Souza, N.; Krettli, A.U. Anti-Plasmodium falciparum activity of quinoline-sulfonamide hybrids. Bioorg. Med. Chem. **2015**, 23, 5979–5984.

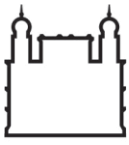
6. Carvalho, R.C.C.; Martins, W.A.; Silva, T.P.; Kaiser, C.R.; Bastos, M.M.; Pinheiro, L.C.S.; Krettli, A.U.; Boechat, N. New pentasubstituted pyrrole hybrid atorvastatin–quinoline derivatives with antiplasmodial activity. Bioorg. Med. Chem. Lett. **2016**, 26, 1881–1884.

7. Silva, T.B.; Bernardino, A.M.R.; Ferreira, M.L.G.; Rogerio, K.R.; Carvalho, L.J.M.; Boechat, N.; Pinheiro, L.C.S. Design, synthesis and anti-P. falciparum activity of pyrazolopyridine-sulfonamide derivatives. Bioorg. Med. Chem. **2016**, 24, 4492–4498.

8. Silveira, F.F.; Feitosa, L.M.; Mafra, J.C.M.; Ferreira, M.L.G.; Rogerio, K.R.; Carvalho, L.J.M.; Boechat, N.; Pinheiro, L.C.S. Synthesis and anti-Plasmodium falciparum evaluation of novel pyrazolopyrimidine derivatives. Med. Chem. Res. **2018**, 27, 1876–1884.

9. da Silva, R.M.R.J.; Gandi, M.O.; Mendonça, J.S.; Carvalho, A.S.; Coutinho, J.P.; Aguiar, A.C.C.; Krettli, A.U.; Boechat, N. New hybrid trifluoromethylquinolines as antiplasmodium agents. Bioorg. Med. Chem. **2019**, 27, 1002–1008.

10. Pinheiro, L.C.S.; Feitosa, L.M.; Gandi, M.O.; Silveira, F.F.; Boechat, N. The Development of Novel Compounds Against Malaria: Quinolines, Triazolpyridines, Pyrazolopyridines and Pyrazolopyrimidines. Molecules **2019**, 24, 4095.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

farmanguinhos
Instituto de Tecnologia em Fármacos

Nubia Boechat
Vice diretora de Educação, Pesquisa e Inovação - VDEPI
Laboratório de Síntese de Fármacos - LASFAR
Líder do Grupo de Pesquisa
Farmanguinhos-Fiocruz

http://lattes.cnpq.br/9152983185617827

https://orcid.org/0000-0003-0146-2218