

Síntese do fármaco pioglitazona

| **Paula Almeida Meira**

Universidade de São Paulo - USP

| **Renan Rodrigues de Oliveira Silva**

Universidade de São Paulo - USP

| **Mauri Sergio Alves Palma**

Universidade de São Paulo - USP

RESUMO

Objetivo: O presente trabalho teve como objetivo a realização de todas as etapas da síntese do fármaco Pioglitazona em batelada e a transposição de uma das etapas para fluxo contínuo em microrreatores. **Métodos:** A síntese foi feita em batelada e ao final de cada etapa foram coletadas amostras que posteriormente foram analisadas em HPLC-MS. A síntese do intermediário 2P foi realizada em fluxo contínuo com o uso de microrreator capilar, as amostras foram analisadas em HPLC-UV. **Resultados:** As análises comprovaram a identidade dos produtos com m/z 229,95 (M+) para o intermediário 2P, m/z 256,00 (M+) para o intermediário 3P, m/z 357,03 (M+) para a intermediário 4P e m/z 357,12 (M+) para o produto Pioglitazona. **Conclusão:** Verificou-se que a síntese do fármaco em batelada é possível para a metodologia testada e o uso de microrreatores se mostrou vantajoso ao processo em batelada na síntese do intermediário 2P.

Palavras-chave: Pioglitazona, Síntese de Fármacos, HPLC-MS, Microrreatores.

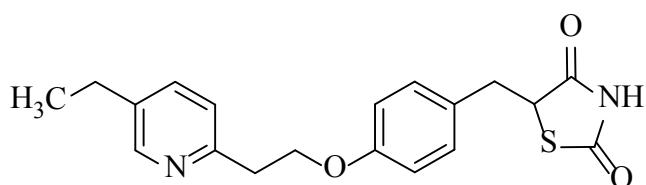
■ INTRODUÇÃO

Microrreatores de fluxo contínuo são dispositivos tubulares que possibilitam a reação química, bem como os reatores convencionais, mas com dimensões menores. Apresentam dimensões micrométricas, ou seja, volumes de microlitros e diâmetros de micrometros. Suas pequenas dimensões internas possibilitam um grande controle das condições reacionais, as quais são difíceis de obter em reatores batelada, devido à segurança do processo como, dentre outras, condições extremas de temperatura e pressão. Podem ser fabricados de diversos materiais que tenham características de resistência química e mecânica adequadas, como, por exemplo, vidro, cerâmica, polímeros, metais, etc. Os microrreatores são utilizados na intensificação de processos e vêm sendo aplicados em laboratórios de pesquisa em todo o mundo devido às melhorias que proporcionam às transformações químicas. Estes dispositivos podem operar de forma contínua e têm potencial para elevar a produtividade nas indústrias químico-farmacêuticas. O aumento de escala ou “scale-up” não afeta significativamente a mistura do fluido e, consequentemente, o rendimento das reações. Suas vantagens em relação aos reatores batelada são: excelente controle de troca térmica devido à alta relação superfície/volume; homogeneização mais eficiente em razão das pequenas distâncias para difusão dos reagentes, aumento da velocidade da reação química, conversão, rendimento, seletividade, segurança, redução da geração de resíduos e aumento da pureza do produto (BAXENDALE *et al.*, 2017; HAMIDOVIC *et al.*, 2020; SILVA JR. *et al.*, 2022; TONHAUSER *et al.* 2012; WIRTH, 2013; PORTA *et al.*, 2016).

As glitazonas, particularmente a Pioglitazona, é usada no tratamento de diabetes *mellitus* tipo 2. A diabetes *mellitus* tipo 2, que é um distúrbio metabólico crônico caracterizado pelo excesso de glicose no sangue devido à falta de secreção de insulina, hormônio que atua como transportador da glicose do sangue para a célula (MISHRA *et al.* 2015; ROY *et al.* 2013). As complicações a longo prazo da diabetes *mellitus* tipo 2 incluem retinopatia, nefropatia e neuropatia. Além disso, ela está associada ao aumento do risco de doenças cardiovasculares (RICHTER *et al.* 2007).

A Pioglitazona, cuja estrutura molecular está esquematizada na Figura 1, atua como agente antihiperglicêmico de uso oral que combate a diabetes *mellitus* tipo 2. Sua função é reduzir os níveis de glicose no sangue, a partir da interação com o Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxisoma gama (PPAR γ), receptor presente dentro do núcleo da célula que atua na resistência da insulina (PABLOS-VELASCO, 2010; LI, *et al.* 2017). Este fármaco foi aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) na década de 1990 e hoje é comercializado com o nome de ACTOS® (MALIK; PRASAD, 2012).

Figura 1. Estrutura molecular da Pioglitazona (ACTOS®).

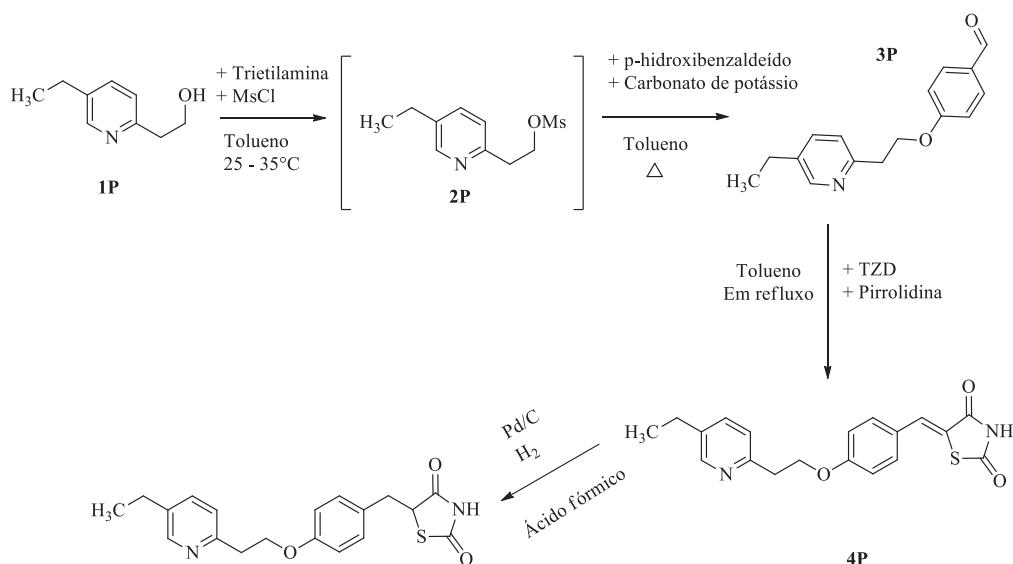


Fonte: Khanduri *et al* (2007).

Neste trabalho, foram estudadas todas as etapas da síntese da Pioglitazona em batelada e uma etapa em microrreator capilar. O trabalho visa a futura transposição de todas as etapas do processo em batelada para o processo em fluxo contínuo com o uso de microrreatores capilares.

A rota de síntese proposta para obtenção do fármaco foi adaptada de Silva *et al.* (2019); Madivada *et al.* (2009); Gowda e Gowda, (2000). A Figura 2 mostra a rota de síntese da Pioglitazona.

Figura 2. Rota de síntese da Pioglitazona.



Pioglitazona

Fonte: Adaptado de Silva *et al.* (2019); Madivada *et al.* (2009); Gowda e Gowda, (2000).

■ MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Tecnologia de Microrreatores (MRT-Lab), localizado no Departamento de Tecnologia BioquímicoFarmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FBT/FCF/USP). As reações em processo batelada e posteriores purificações foram realizadas com o uso de equipamentos tais como manta aquecedora, rotoevaporador, banho termostatizado, bomba de vácuo, etc. Além de vidrarias comuns de laboratório como balões de fundo redondo, funis de separação, etc.

As amostras coletadas foram analisadas por HPLC-MS (HPLC UFCP Prominence 20AD, Shimadzu, Tokio, JP; MS Bruker Amazon Speed, fonte eletrospray, analisador ion trap, Massachussets, EUA) para identificar os produtos intermediários.

Para as sínteses do intermediário **2P**, em batelada e em fluxo contínuo, foram realizadas análises em HPLC-UV. Foram coletadas amostras ao longo do tempo reacional e diluídas em uma solução inibidora da reação para a determinação da conversão do reagente **1P** e rendimento do produto **2P**.

Os procedimentos descritos a seguir foram adaptados de Silva *et al.* (2019) e Madivada *et al.* (2009).

Síntese em batelada dos intermediários **2P, **3P**, **4P** e do produto Pioglitazona.**

Síntese do intermediário **2P**: 2-(5-etylpiridina-2-il)etanol (**1P**) (1 mmol) foi agitado com trietilamina (1,25 mmol) em tolueno (1,8 mL) à temperatura ambiente. Em seguida adicionou-se cloreto de metanosulfonil (1,12 mmol). O tempo de reação foi de 3h. Para a purificação do produto, foi realizada uma filtração a vácuo para retirar o sólido formado, seguida por lavagem com tolueno e solução de 4% de bicarbonato de sódio. A solução bifásica formada foi separada, sendo a fase aquosa lavada com tolueno e água. A fase orgânica contendo o intermediário **2P** foi reservada.

Síntese do intermediário **3P**: Na fase orgânica contendo 1 mmol do intermediário **2P** foi adicionado p-hidroxibenzaldeído (1,06 mmol) e carbonato de potássio (1,74 mmol), em 2 ml de tolueno. Em seguida, a temperatura do meio reacional foi levada a 90°C e mantida sob agitação por 24h. Após o término da reação, a mistura reacional foi levada a 50°C e adicionou-se 20 mL de água destilada sob agitação. A solução bifásica formada foi separada, sendo a fase aquosa extraída com tolueno e a fase orgânica lavada com uma solução de hidróxido de sódio 5%. A fase orgânica contendo o intermediário **3P** foi reservada.

Síntese do intermediário **4P**: Adicionou-se tiazolidina-2,4-diona (1,50 mmol) a mistura do intermediário **3P** em 20 mL de tolueno. A mistura reacional foi aquecida a 100°C e em seguida, foi adicionado pirrolidina (0,83 mmol) que atua como base promotora da reação. Foi mantida agitação por 4 h. Ao final da reação, o meio reacional foi levado ao freezer para a formação de sólido e, em seguida, foi filtrado a vácuo obtendo o produto bruto.

Síntese do produto Pioglitazona: Adicionou-se a um reator batelada: **4P** (1,00 eq., 1,36 mmol, 483,3 mg), paládio sobre carbono (Pd/C) (0,20 eq., 0,272 mmol, 578 mg, 5% em massa) e 25 mL de ácido fórmico. O meio reacional foi purgado com hidrogênio, mantido sob temperatura ambiente, agitação constante por 24 h sob atmosfera de hidrogênio (aproximadamente 5 atm). Ao final da reação o meio reacional foi filtrado a vácuo para retirada

do Pd/C e o líquido contendo o produto de interesse foi rotaevaporado para obtenção do produto Pioglitazona.

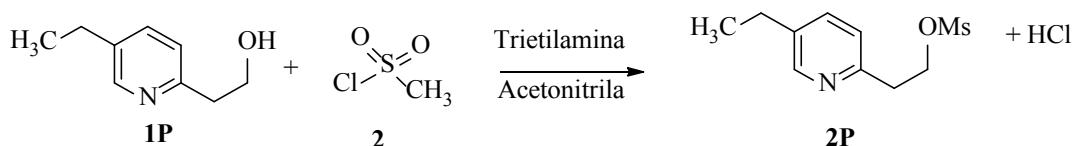
Estudo de solventes da síntese do intermediário **2P** em batelada.

A síntese do intermediário **2P** foi feita conforme descrito no item anterior. Além do solvente descrito, foram testados os solventes metanol, etanol, THF e acetonitrila.

Síntese do intermediário **2P** em acetonitrila.

Conforme esquema mostrado na Figura 3, 2-(5-etilpiridina-2-il)etanol (**1P**) (75,6 mg, 0,5 mmol, 1,00 eq.,) foi agitado com trietilamina (41,3 µL, 0,56 mmol, 1,12 mmol) em 5 mL de acetonitrila (99,32%) à temperatura ambiente. Foi retirado 30 µL do meio reacional e diluído 1 mL de solução inibidora da reação para preparação do padrão para a curva de calibração. Em seguida adicionou-se cloreto de metanosulfonila (MsCl) (87,1 µL, 0,625 mmol, 1,25 eq.) e manteve-se a reação por 1 h sob atmosfera de N₂. Após o término da reação, foi realizada uma lavagem com 10 mL de solução de 4% de bicarbonato de sódio, extraído com acetato de etila (2 x 15 mL), lavado com solução aquosa de 50% de NaCl (2 x 20 mL) e seca com Na₂SO₄. A fase orgânica foi rotaevaporada e o produto bruto foi purificado em coluna cromatográfica (acetato de etila/hexano 2:1; *Rf* = 0,47).

Figura 3. Esquema de síntese do produto intermediário **2P** em acetonitrila no processo batelada.

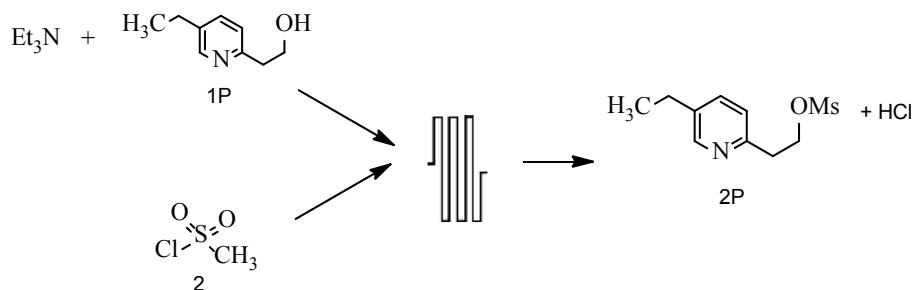


Fonte: Adaptado de Madivada *et al.* (2009).

Síntese do intermediário **2P** em fluxo contínuo no microrreator capilar.

A Figura 4 mostra o esquema de síntese do intermediário **2P** em fluxo contínuo em microrreator capilar. Para a síntese do intermediário **2P**, foram preparadas duas soluções: **(A)** 2-(5-etilpiridina-2-il)etanol (**1P**) (302,4 mg, 2,00 mmol, 1,00 eq.,) e trietilamina (165,2 µL, 2,24 mmol, 1,12 eq.) em 10 mL de acetonitrila; **(B)** cloreto de metanosulfonila (MsCl) (350,8 µL, 2,5 mmol, 1,25 eq.) em 10 mL de acetonitrila. As duas soluções foram alimentadas separadamente ao microrreator, em temperatura ambiente. A concentração total do meio reacional dentro do microrreator foi de 0,1 M. Foram estudados os tempos médios de residência 1, 2, 4, 8, 12, 16 e 20 min. À saída do microrreator foram coletadas amostras e diluídas na solução inibidora da reação para posterior análise em HPLC-UV para determinação da conversão do reagente **1P** e rendimento do produto intermediário **2P**.

Figura 4. Esquema de síntese do produto intermediário **2P** no processo em fluxo contínuo no microrreator capilar.



Fonte: Adaptado de Madivada *et al.* (2009).

■ RESULTADOS

Síntese em batelada dos intermediários **2P**, **3P** e **4P** e do produto Pioglitazona.

A identidade dos intermediários **2P**, **3P**, **4P** e do produto Pioglitazona foi confirmada via HPLC-MS. A Tabela 1 mostra a relação massa/carga (*m/z*) para cada intermediário e para o produto.

Tabela 1. Identidade dos produtos intermediários **2P**, **3P**, **4P** e do produto Pioglitazona.

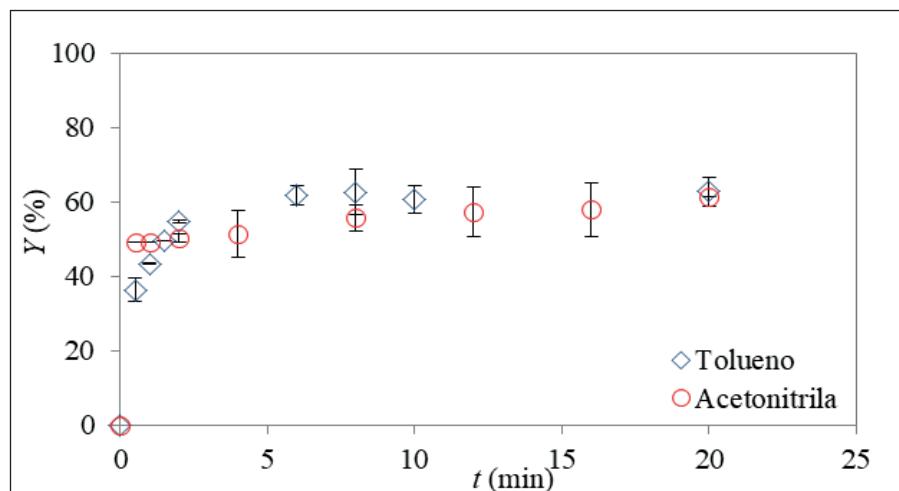
Produto	<i>m/z</i>
2P	229,95 (M+)
3P	256,00 (M+)
4P	357,03 (M+)
Pioglitazona	357,12 (M+)

Fonte: Própria (2019).

Estudo de solventes do intermediário **2P**.

Foram testados os solventes metanol, etanol, THF e acetonitrila. Todos os solventes promoveram a reação, entretanto, apenas a acetonitrila solubilizou o meio reacional. A Figura 5 apresenta a comparação do rendimento do produto intermediário **2P** nos solventes tolueno e acetonitrila no processo batelada.

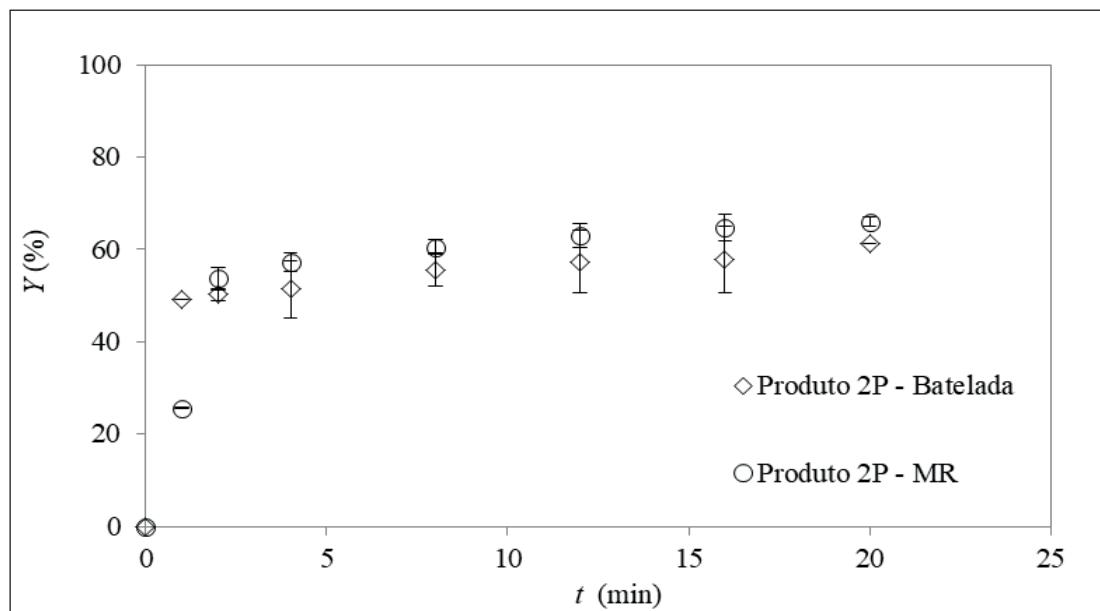
Figura 5. Comparação do rendimento do produto intermediário **2P** nos solventes tolueno e acetonitrila no processo batelada ($C = 0,1\text{ M}$). C = concentração total do meio reacional.



Síntese do intermediário **2P** em fluxo contínuo com microrreator capilar.

Após definidas as condições no processo batelada que permitiriam a transposição da reação para o processo em fluxo contínuo em microrreator capilar, foram realizados ensaios em duplicata variando o tempo médio de residência (τ) em temperatura ambiente (22°C). A Figura 6 mostra a comparação do rendimento do produto intermediário **2P** nos processos batelada e em fluxo contínuo em microrreator capilar.

Figura 6. Comparação dos resultados da síntese do produto intermediário **2P** em batelada e fluxo contínuo.



■ DISCUSSÃO

Foi possível confirmar a identidade dos intermediários **2P**, **3P** e **4P** e do produto Pioglitazona a partir dos cromatogramas segundo as relações *m/z*. Sendo assim, para as condições testadas, a síntese do fármaco Pioglitazona em batelada se mostrou possível.

Com objetivo de transpor a síntese para o processo contínuo em microrreator capilar, foi realizado um estudo de solventes para a síntese do intermediário **2P**. A síntese do produto intermediário **2P** é descrita na literatura (Madivada, *et al.*, 2009) utilizando o tolueno como solvente reacional, entretanto foi verificada a presença de sólidos no meio reacional, o que impediria a transposição da síntese em batelada para o processo em fluxo contínuo, em microrreator capilar, pois haveria obstrução dos microcanais. Por esse motivo, buscou-se por um solvente que solubilizasse o meio reacional completamente e, principalmente, que promovesse a reação de formação do produto de interesse. Foram testados os solventes: metanol, etanol, THF e acetonitrila. Todos os solventes promoveram a reação, entretanto, apenas a acetonitrila solubilizou o meio reacional.

Conforme mostra a Figura 5, os rendimentos finais aos 6 min de reação são próximos, a vantagem da substituição do solvente tolueno, por acetonitrila está na maior velocidade inicial da reação. Em 20 min de reação o rendimento do produto intermediário **2P** no solvente tolueno foi de 60%, enquanto em acetonitrila foi de 61%.

O rendimento no processo em fluxo contínuo é maior que em batelada, possivelmente por esta reação ser uma reação rápida (com tempo de meia vida $1s < t_{1/2} < 10\text{min}$) (ROBERGE *et al.*, 2005). O uso do microrreator capilar favorece o contato entre as moléculas, elevando o rendimento do produto. O rendimento do intermediário **2P** em batelada foi de 61%, enquanto no microrreator capilar o rendimento foi de 66%.

■ CONCLUSÃO

Foram realizadas todas etapas da síntese em batelada do fármaco Pioglitazona. A caracterização do produto foi feita a partir da análise com HPLC-MS, onde foi comprovada a identidade dos intermediários.

Além disso, foi realizado um estudo de solventes para a síntese do intermediário **2P**, visando a transposição da síntese para fluxo contínuo com uso de microrreatores. O melhor solvente para as condições testadas, foi acetonitrila. o rendimento do produto intermediário **2P** no solvente acetonitrila foi de 61%.

Definidas tais condições, a síntese do intermediário **2P**, foi transposta para fluxo contínuo em microrreator capilar. O rendimento da síntese do intermediário **2P** em fluxo contínuo foi de 66%.

Sendo assim, verificou-se que a síntese do fármaco é possível para a metodologia testada. A utilização do solvente acetonitrila, como alternativa ao tolueno, indicado na literatura, se mostrou vantajosa nas condições testadas, e a síntese de um intermediário do fármaco Pioglitazona, **2P**, foi transposta para fluxo contínuo, apresentando rendimento superior ao processo em batelada.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro da FAPESP, auxílio 2017/12830-9 e bolsas FAPESP.

■ REFERÊNCIAS

1. BAXENDALE, I. R. The integration of flow reactors into synthetic organic chemistry. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v. 88, n. 4, p. 519–552, 2013.
2. BRITTON, J.; RASTON, C. L. Multi-step continuous-flow synthesis. *Chem. Soc. Rev.*, v.46, p. 1250–1271, 2017.
3. GOWDA, C. D.; GOWDA, S. Formic acid with 10% palladium on carbon: A reagent for selective reduction of aromatic nitro compounds. *Indian Journal of Chemistry - Section B Organic and Medicinal Chemistry*, v. 39, n. 9, p. 709–711, 2000.
4. HAMIDOVIC, M.; ENDER, F.; SPRINGER, A. A Novel Enzymatic Microreactor: Towards Transforming the Pharmaceutical Industry. *IFMBE Proceedings*, v. 73, p. 303–308, 2020.
5. KHANDURI *et al.* Process for the preparation of pioglitazone (2007). *United States Patent Application Publication*, US 2007/0078170 A1.
6. LI, X.; CHENG, C.; CONG, Y.; DU, C.; ZHAO, H. Preferential solvation of pioglitazone hydrochloride in some binary co-solvent mixtures according to the inverse Kirkwood–Buff integrals method. *J. Chem. Thermodyn.*, v.110, p.218-226. 2017.
7. MADIVADA, L.R.; ANUMALA, R.R.; GILLA, G.; ALLA, S.; CHARAGONDLA, K.; KAGGA, M.; BHATTACHARYA, A.; BANDICHHOR, R. An Improved Process for Pioglitazone and Its Pharmaceutically Acceptable Salt. *Org. Process Res. Dev.*, v.13, p.1190–1194. 2009.
8. MALIK, N.; PRASAD, D. N. Synthesis and Antimicrobial Evaluation of N-Substituted-5-Benzylidene-2,4-Thiazolidinedione Derivatives. *Iran J. Pharm. Res.*, v.8, n.3, p.209–214, 2012.
9. MISHRA, G.; SACHAN, N.; CHAWLA, P. Synthesis and Evaluation of Thiazolidinedione-Coumarin Adducts as Antidiabetic, Anti-Inflammatory and Antioxidant Agents. *Lett. Journal of Organic Chemistry*, v.12, n.6, p.429–445, 2015.

10. PABLOS-VELASCO, P. Pioglitazone: beyond glucose control. **Expert Rev. Cardiovasc. Ther.**, v.8, n. 8, p.1057-1067. 2010.
11. PORTA, R.; BENAGLIA, M.; PUGLISI, A. Flow Chemistry: Recent Developments in the Synthesis of Pharmaceutical Products. **Org. Process Res. Dev**, v.20, n.1, p.2–25, 2016.
12. RICHTER, B. *et al.* Rosiglitazone for type 2 diabetes mellitus. **Cochrane Database Syst. Rev.**, n.3, p.CD006063, 18 jul. 2007.
13. ROBERGE, D. M. et al. Microreactor technology: A revolution for the fine chemical and pharmaceutical industries? **Chemical Engineering and Technology**, v. 28, n. 3, p. 318–323, 2005.
14. ROY, A.; DUMBARE, M. R.; PATIL, T. D.; BHANWASE, A. S.; DESHMUKH, R. D. Synthesis, Biological Evaluation and Molecular Modeling Studies of 5-[4-(substituted) benzylidene or benzyl] thiazolidine-2,4- dione with Oral Antihyperglycemic Activity. **International Journal of Pharm. Tech. Research**, v.53, p.1882–1895, 2013.
15. SILVA JR, J. L.; SANTANA, H. S. Residence time distribution in reactive and non-reactive flow systems in micro and millidevices. **Chemical Engineering Science**, v.248, 2022.
16. SILVA, R. R. DE O. *et al.* Flow Synthesis of a Thiazolidine Drug Intermediate in Capillary Microreactors. **Chemical Engineering and Technology**, v. 42, n. 2, p. 465–473, 2019
17. TONHAUSER, C.; NATALELLO, A.; LÖWE, H.; FREY, H. Micro flow Technology in Polymer Synthesis. **Macromolecules**, v.45, p.9551–9570, 2012.
18. WIRTH, T. Microreactors in Organic Chemistry Catalysis. **Wiley-VCH Verlag GmbH**, 2013.