



SÍNTESE DE N-ACILHIDRAZONAS DERIVADAS DA SALICIL-HIDRAZIDA POTENCIALMENTE ATIVAS CONTRA TUBERCULOSE

Francielli Cavalcante Candido¹ – candidofran18@gmail.com
Orientador - Vanessa Guimarães Alves Olher¹ – vanessa.olher@ifpr.edu.br

1 – Instituto Federal do Paraná – IFPR Paranavaí

Resumo: Mesmo com o desenvolvimento de novos medicamentos nas últimas décadas, a resistência aos antimicrobianos propagou-se rapidamente, ocasionada principalmente pelo uso incorreto de antibióticos, como por exemplo a tuberculose. Dessa forma, microrganismos outrora sensíveis a certos medicamentos, agora provocam doenças reemergentes e difícil tratamento. As *N*-acilhidrazonas, constituem classes de compostos com amplas atividades biológicas, incluindo atividade anticâncer, antifúngica, antibacterianas e controladora de crescimento vegetal. Desta forma, este trabalho tem como objetivos sintetizar, e determinar rendimentos desses compostos, assim como caracterizar os precursores desses produtos, que posteriormente podem ser candidatos a fármacos melhores. Sintetizou-se quatro *N*-acilhidrazonas derivadas da salicilhidrazida com os aldeídos: cinamaldeído, 4-metoxibenzaldeído, 4-hidroxibenzaldeído, e vanilina. A salicilhidrazida foi sintetizada reagindo o salicilato de metila sintetizado com hidrato de hidrazina. As *N*-acilhidrazonas foram sintetizadas através da condensação dos aldeídos com a salicilhidrazida, utilizando-se etanol, catálise ácida e agitação magnética. Os sólidos formados, foram lavados com água e secos a temperatura ambiente apresentando os seguintes rendimentos: 100%, 50,85%, 75%, e 100% para os compostos derivados do cinamaldeído, 4-metoxibenzaldeído, 4-hidroxibenzaldeído, e vanilina respectivamente. Todos os compostos foram submetidos a análises de cromatografia em camada delgada para verificação da pureza. Os rendimentos obtidos a partir dessas sínteses, tem relação direta com sua estrutura molecular, pois alguns grupos presentes no anel benzênico diminuem a eletrofilicidade da carbonila, deixando-o estável e não favorecendo a formação dos produtos. Os precursores das *N*-acilhidrazonas (salicilato de metila e salicilhidrazida), foram caracterizados por meio de dados de infravermelho, RMN de hidrogênio e carbono-13, no qual comprovaram a real formação do produto esperado.

Palavras-chave: Síntese; *N*-acilhidrazonas; Atividade antituberculose; RMN;

1. Introdução

Como uma das principais doenças negligenciadas, a Tuberculose é uma doença

infecto-contagiosa causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* ou Bacilo de Koch, que na maioria dos casos, se manifestam 12 meses após a infecção inicial (BRASIL, 2011). Ela apresenta algumas características específicas e determinantes como: um longo período de latência entre a infecção inicial e a apresentação (resposta) clínica da doença; geralmente é detectada nos pulmões, mas pode ocorrer em outros órgãos do corpo como ossos, rins e meninges. (ISEMAN, 2005).

O Ministério da Saúde, afirma que a doença é um sério problema da saúde pública, com profundas raízes sociais, sendo que, a cada ano, são notificados aproximadamente 70 mil novos casos e ocorrem cerca de 4,5 mil mortes em decorrência da tuberculose. Segundo pesquisas publicadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de 6,6 milhões de pessoas foram notificadas com tuberculose à OMS em 2016, e cerca de 6,3 milhões de pessoas contraíram novamente a doença. (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016). Se for comparado ao ano de 2013, houve uma diminuição significativa no número de pessoas que foram contaminadas com a tuberculose, chegando a 8,6 milhões de pessoas, mas ainda são valores altos, principalmente em relação as pessoas que se contaminam pela segunda vez. (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2013).

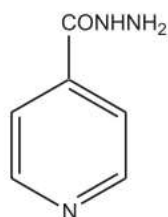
A transmissão da tuberculose ocorre pelo ar, no qual, pode atingir todos os órgãos do corpo, mas a espécie contaminante (o bacilo Koch), se desenvolve melhor e mais rapidamente, quando estão em partes do corpo que possuem muito oxigênio, no caso, o pulmão é o principal local onde a doença se

aloja. (MENDONÇA, 2011 apud ARAUJO. *et.al.*,2017).

Segundo Souza *et. al*, (2005) os fármacos utilizados no combate à tuberculose, podem ser diretamente relacionados com o primeiro antibiótico manipulado pelo homem, que é a penicilina. Porém, mesmo esse fármaco apresentando atividades contra doenças infectocontagiosas, ela não apresentou resultados positivos contra a tuberculose. A partir dessa descoberta, foi possível chegar a uma nova descoberta de antibiótico, a estreptomicina (SM), sendo eficaz no combate à tuberculose.

Após a descoberta da SM, novos fármacos foram utilizados com sucesso, destacando-se a isoniazida (INH); a rifampicina (RPM); o etambutol (EMB), e a pirazinamida (PZA) (FRIEDEN, 2003 apud SOUZA, 2005). Esses fármacos são utilizados no tratamento da tuberculose, sendo classificados como agentes de primeira escolha (alto nível de eficácia e grau aceitável de toxicidade). Já os agentes de segunda escolha são utilizados em casos de resistência aos medicamentos de primeira escolha administrando-se a SM e a etionamida, empregando-se também diferentes tipos de canamicinas, isoladas de *Streptomyces kanamyceticus*, cicloserina, ácido p-aminosalicílico (PAS), amicacina, etionamida, tioacetazona, clorofazimina e terizidona (GILMAN *et al.*, 2005; SCHELLACK, 2006). A figura 1 a seguir apresenta a estrutura química do principal medicamento utilizado no tratamento contra a tuberculose (INH):

Figura 1 - Estrutura molecular da isoniazida (INH), principal composto utilizado no tratamento contra a tuberculose.



Isoniazida

Fonte: Souza, (2005).

Os fármacos de primeira escolha do tratamento contra a tuberculose, (INH, RMP, PZA e EMB) são de baixo custo, porém, o período de tratamento é longo, sendo de seis a doze meses, além dos efeitos colaterais que causam ao paciente, como, náuseas, vômitos, icterícia, perda de equilíbrio, asma, alterações visuais, diminuição da audição, neuropatia periférica e até cegueira, levando muitas vezes o abandono do tratamento, e consequentemente, o paciente se torna na maioria das vezes portador de bacilos multirresistentes (SOUZA, 2005).

Devido a estes e outros problemas, há a necessidade de buscar novos fármacos, sendo mais eficazes, com menos efeitos colaterais e capazes de serem administrados por períodos de tempo menores.

Os compostos contendo nitrogênio vem se destacando no desenvolvimento de novas entidades químicas farmacologicamente ativas. Na década de 90, os compostos cíclicos contendo heteroátomos já correspondiam aproximadamente a metade dos fármacos comercializados, sendo que 90% deles continham no mínimo um átomo de nitrogênio (BARREIRO, 1991). As N-acilhidrazonas representam um grupamento versátil, que exibe uma ampla variedade de efeitos biológicos – estrutura genérica apresentada na imagem 2 a seguir - (BALA *et al.*, 2013).

Figura 2- Estrutura molecular geral das acilhidrazonas.



Fonte: Autoria própria.

Portanto, as N-acilhidrazonas e seus derivados constituem uma classe de compostos com grande importância no que se

diz respeito ao aspecto farmacológico. Na literatura, tem sido relatado uma grande diversidade de efeitos biológicos para esses compostos, podendo-se destacar os efeitos, antileishmania (CARDONA, et. al. 2005), antimalárica (MELNYK, et. al., 2006), antibacteriana (OLIVEIRA, et. al., 2012), antiviral e antimitótica (TIAN, et. al., 2011; SALUM, 2011) antitumoral, antidepressiva, dentre muitas outras (KHANMOHAMMADI, et.al., 2008 apud ARAUJO. et.al., 2017).

A síntese e desenvolvimento de novos compostos que possam atuar contra o *M. tuberculosis*, tem ocorrido de forma organizada e planejada, onde se utiliza estruturas químicas conhecidas, para que seja precursora de novas moléculas, sendo que a maioria desses novos compostos, utilizam como base a INH, apresentando resultados bastante promissores contra a tuberculose. (FERRARESI-CUROTTO et al., 2017; HU et al., 2017).

Os medicamentos utilizados no tratamento da doença descrita anteriormente, possuem diversos efeitos colaterais, e com teores consideráveis de toxicidade ao organismo. Pensando nessas condições e nas propriedades biológicas dos compostos *N*-acilhidrazônicos, o presente trabalho busca sintetizar compostos *N*-acilhidrazônicos ativados biologicamente antituberculose com menores teores de toxicidade e períodos de tratamento menores e mais eficazes. Considerando a importância sintética e biológica que compostos *N*-acilhidrazônicos possuem, este trabalho tem como objetivos sintetizar, purificar e calcular rendimentos dos compostos sintetizados, assim como, caracterizar os reagentes precursores desses compostos com técnicas de RMN ^{13}C e ^1H .

2. Metodologia

2.1 Reação de Esterificação do ácido salicílico

Para a esterificação do ácido salicílico, adicionou-se em um balão de 50 mL, 1,4 g (0,033 mol) de ácido salicílico e 4 mL de metanol em meio ácido (1 mL de ácido

sulfúrico). A mistura reacional permaneceu sob agitação magnética e refluxo por 2 horas. Purificou-se o éster produzido por meio de extração em funil de separação, na qual utilizou-se solvente orgânico (diclorometano) e em seguida, lavou-se a fase orgânica com água destilada e carbonato de sódio e logo, secou-se com sulfato de sódio anidro.

2.2 Síntese da salicil-hidrazida

Para a obtenção da salicil-hidrazida, adicionou-se em um balão de 20 mL 1 g de salicilato de metila $6,57 \times 10^{-3}$ mol (produto obtido da reação de esterificação do ácido salicílico) e 0,33 g de hidrato de hidrazina 80% ($6,57 \times 10^{-3}$ mol). Manteve-se a mistura reacional sob agitação magnética e temperatura ambiente por 5 horas. Em seguida, lavou-se o sólido produzido (salicil-hidrazida) com hexano gelado.

2.3 Síntese de salicil-hidrazonas a partir de aldeídos

Obteve-se as salicil-hidrazonas por meio da condensação dos aldeídos: vanilina e 4-hidroxibenzaldeído, 4-metoxibenzaldeído e cinamalaldeído com a salicil-hidrazida. Em um balão de 20 mL adicionou-se 10 mL de etanol absoluto e os aldeídos mencionados acima (1 mol). Após a completa solubilização sob agitação magnética e a temperatura ambiente, adicionou-se 1 gota de HCl concentrado e em seguida, adicionou-se a salicil-hidrazida (1 mol). A reação permaneceu sob agitação magnética por aproximadamente 40 minutos. Após esse tempo, lavou-se os compostos sintetizados com água destilada gelada e deixou-se secar, calculando os rendimentos posteriormente.

2.4 Determinação da pureza dos compostos sintetizados

Os compostos sintetizados, foram submetidos a análises de cromatografia em camada delgada, afim de determinar-se a pureza deles. Em uma placa cromatográfica de sílica, aplicou-se as amostras previamente solubilizadas em clorofórmio. Colocou-se a

placa com as amostras aplicadas em uma cuba saturada por uma mistura de clorofórmio/metanol 15% e esperou-se, aproximadamente 30 min de corrida e em seguida, revelada em vapor de iodo.

2.5 Caracterização dos reagentes precursores das n-acilhidrazonas

A obtenção dos produtos será confirmada através de técnicas de RMN de ^1H , ^{13}C , no departamento de química da Universidade Estadual de Maringá.

3. Resultados e discussão

A condensação de um álcool e um ácido carboxílico em meio ácido, dá origem a um éster e água, esse processo também é conhecido como esterificação de Fischer. Essa reação ocorre em equilíbrio, e na maioria das vezes o equilíbrio se desloca ligeiramente para os produtos (CAREY, 2011).

O rendimento do produto obtido a partir dessa reação de esterificação derivada da do ácido salicílico e metanol, foi de 90,25%, podendo ser considerado um excelente rendimento, devido à dificuldade de sintetizá-lo, pois como já foi apresentado, essa reação ocorre em equilíbrio.

Para se obter um bom rendimento, o ideal é que o equilíbrio esteja deslocado para os produtos a formação dos produtos, e existem algumas maneiras de fazer isso, como por exemplo o uso de excesso do álcool ou do ácido carboxílico.

Outra maneira de se obter um bom rendimento, é remover a água formada nessa reação (CAREY, 2011).

Além do que foi discutido sobre o deslocamento, o ácido salicílico possui em sua estrutura, um grupo hidroxila, que diminui a eletrofilicidade do composto, fazendo com que fique mais difícil o ataque nucleofílico na carbonila, dificultando a formação dos produtos.

Após a síntese do salicilato de metila, realizou-se análise de cromatografia em camada delgada para verificar sua pureza. Em

seguida o composto foi submetido a análise de RMN para a confirmação da síntese.

No espectro de RMN de ^1H (imagem A em anexo) para a substância Salicilato de metila, foram observados sinais característicos do grupo metóxi, sendo um singlete em δ 3,90 referentes aos hidrogênios do grupo metoxilíco. Quatro dupletos e tripletos, aparecem entre δ 6,80 e δ 8,00, atribuídos aos hidrogênios do sistema aromático. Além desses sinais, é possível verificar também a presença do sinal correspondente ao solvente utilizado para a análise (clorofórmio), na região de δ 7,30.

No espectro de RMN ^{13}C (imagem B em anexo) para o salicilato de metila, foram observados sinais de carbono do grupo metoxila em δ 55,5 característicos de ésteres. O carbono carbonílico apareceu em δ 170,8, correspondente ao sinal da literatura a esse composto. Os sinais entre δ 112,6 e δ 161,8 correspondem aos carbonos do sistema aromático, além do sinal em δ 78,0 correspondente ao solvente utilizado na análise.

Após a confirmação do éster e sua pureza, sintetizou-se a salicilhidrazida, obtendo um rendimento de 90%. A reação de síntese da salicilhidrazida não ocorre em equilíbrio, ou seja, o equilíbrio está deslocado para a formação dos produtos, o que justifica o bom rendimento obtido.

A adição nucleofílica no átomo de carbono da carbonila, ocorre facilmente, pois há uma abertura estérica relativa desse átomo, assim como a capacidade do átomo de oxigênio (da carbonila) comportar um par de elétrons da dupla ligação entre carbono e oxigênio. (SOLOMONS, 2012).

Para a verificação da pureza da salicilhidrazida foi verificada pela análise de cromatografia em camada delgada, e através dos espectros, pode-se concluir a formação desse compostos por sinais característicos.

No espectro de RMN ^1H da salicilhidrazida (imagem C em anexo), observou-se a ausência do grupo metoxi, onde o sinal correspondente aparecia em δ 3,90. Os

sinais que aparecem na região entre δ 6,80 e δ 7,90, correspondem aos hidrogênios do sistema aromático. O sinal que aparece em δ 4,80, corresponde aos hidrogênios da água que o composto absorveu, assim como o sinal em δ 3,30, corresponde ao solvente utilizado.

No espectro de RMN de ^{13}C (imagem D em anexo) verificou-se também a ausência do sinal em δ 55,5 correspondente ao grupo metoxi. O sinal que aparece em δ 169,8, corresponde a carbonila do composto, que apresenta um deslocamento químico comparado com o sinal da carbonila do espectro do salicilato de metila (imagem B em anexo), o que indica que esse carbono, está ligado a outro elemento diferente do Oxigênio, ou seja, está ligado a um nitrogênio. Os sinais que aparecem entre δ 116,0 e δ 160,0 são correspondentes aos carbonos do sistema aromático.

A partir da salicilhidrazida sintetizou-se as *N*-acilhidrazonas, derivadas dos aldeídos citados na metodologia. O rendimento de cada uma das *N*-acilhidrazonas está relacionado com a estrutura molecular de cada aldeído, onde umas moléculas são mais eletrofílicas que outras na qual, dois produtos obtiveram rendimento máximo (100%) *N*-acil hidrazona derivada do cinamaldeído (ACCSAL) e *N*-acil hidrazona derivada da vanilina (ACVSAL), e as outras moléculas, obtiveram rendimentos menores, de aproximadamente 50,85% a *N*-acilhidrazona derivada do 4-metóxi-benzalaldeído (AC4MSAL) e 75% a *N*-acilhidrazona derivada do 4-hidroxibenzalaldeído (C4OHSAL).

4. Conclusão

O trabalho permitiu a síntese de compostos orgânicos da classe de *N*-acilhidrazonas com ótimos rendimentos, assim como a caracterização dos compostos precursores. Os métodos utilizados nesse trabalho, são simples e apresentam resultados promissores.

Os compostos *N*-acilhidrazônicos sintetizados, serão submetidos a análises biológicas, para a verificação da atividade antituberculose

5. Referencias

BERREIRO, E.; FRAGA, C.; MENEGATTI, R. **A importância da síntese de fármacos.** Caderno temático de Química Nova na Escola. N.3, p. 1-7, 2001.

ARAUJO, M.; GONSALVES, A.; ROLIM, M.; GUIMARÃES, D. **Investigação do Potencial Biológico de Hidrazonas Obtidas Sinteticamente na Última Década (2006-2016): Uma Revisão Sistemática.** Revista Virtual de Química. P. 1-42, 2017.

Brasil. Portal da Saúde. Ministério da Saúde. Tuberculose. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1527. Acesso em: Abril de 2018.

ISEMAN, M. Tuberculose. In: Goldman L & Ausiello D. Cecil: **Tratado de Medicina Interna**. 22. ed. Rio de Janeiro: Campus-Elsevier, 2005, p. 2211-2220.

BARREIRO, E.J. **A importância da síntese de fármacos na produção de medicamentos.** Química Nova, v. 14, n. 3, p. 179-88, 1991.

CARDONA, A.; TORRES, F.; ECHEVERRI, F.; et al. **Caracterización y evaluación de actividades Leishmanicida de acil hidrazona.** Actualidades Biológicas, V.27, p.58, 2005.

MELNYK, P.; LEROUX, V.; SERGHERAERT, C. et al. **Design, synthesis and in vitro antimalarial activity of na acylhydrazone library.** MedicinBioorganic and Medicin al Chemistry Letters, v. 16, p. 31 -35, 2006.

OLIVEIRA-FERREIRA, J.; LACERDA, M. V. G.; BRASIL, P. et al. Malaria in Brazil: na
ISSN 2525-94585

overview. *Malaria Journal*. v. 9, n. 1, p. 1 -15, 2012.

BALA, S. et al. **Bioactivity-therapeutic Potential in Present Scenario**. v. 18, n. 1, p.65–74, 2013.

CAREY, Francis A. **Química Orgânica**. 7. ed. Porto Alegre: AMGH, 2011. 769 p. v. 1.

CAREY, Francis A. **Química Orgânica**. 7. ed. Porto Alegre: AMGH, 2011. 769 p. v. 2.

GILMAN, A.G.; HARDMAN, J.G.; LIMBIRD L.E. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2005. 1054 p.

SCHELLACK, G. **Farmacologia: Uma abordagem didática**. 1ª ed., Fundamento: São Paulo, 2006.

SOLOMONS, T. W. Graham; FRYHLE, Cralg B. **Química orgânica**. 10 ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Tuberculosis Report 2013** . [s.l:n.].

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Tuberculosis Report 2016** . [s.l:n.].

ANEXO

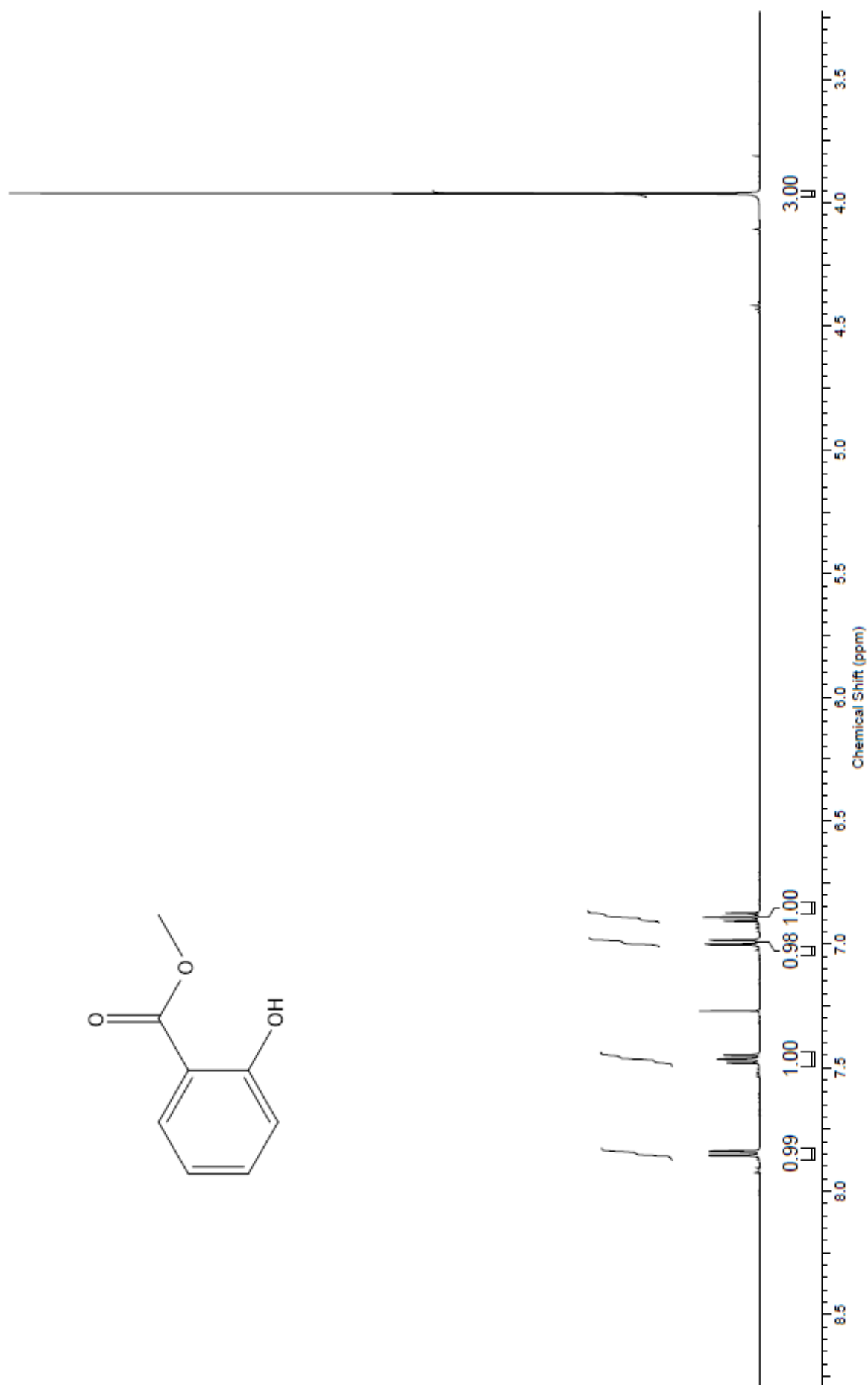


Imagem A: Espectro de RMN de H^1 do Salicilato de metila. **Fonte:** O autor.

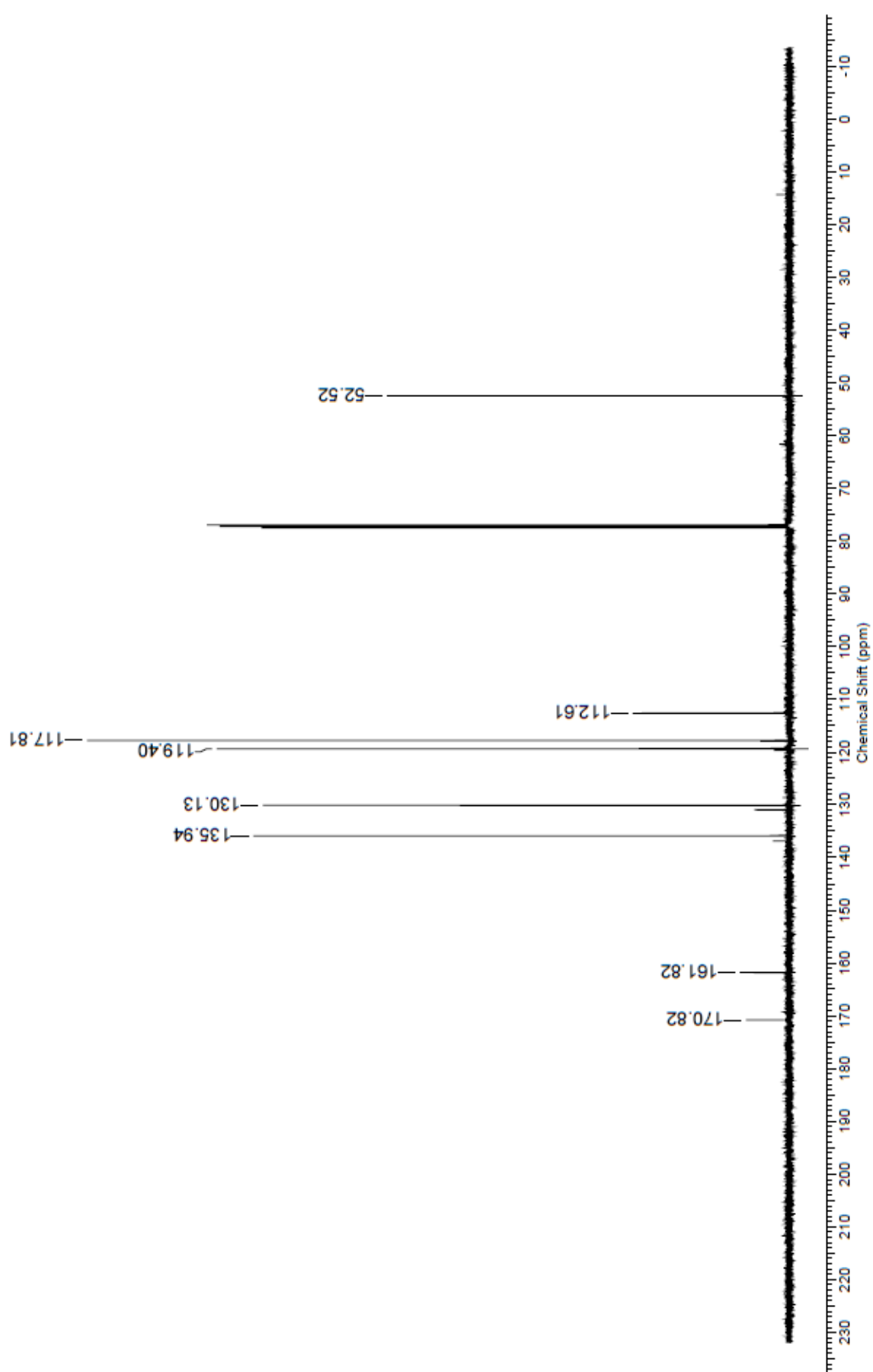


Imagem B: Espectro de RMN de C^{13} do Salicilato de metila. **Fonte:** O autor.

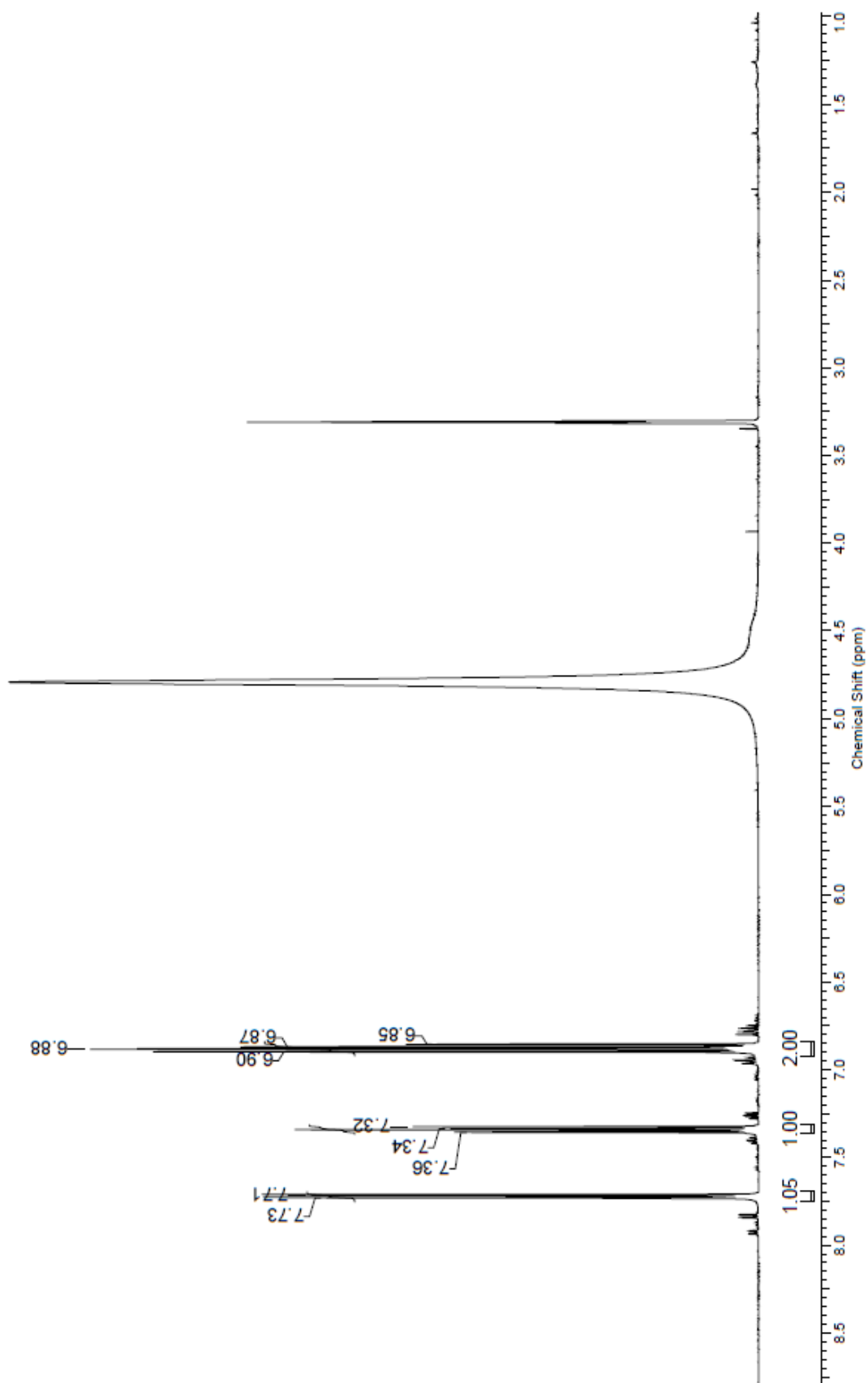


Imagem C: Espectro de RMN de H^1 do salicilhidrazida. **Fonte:** O autor.

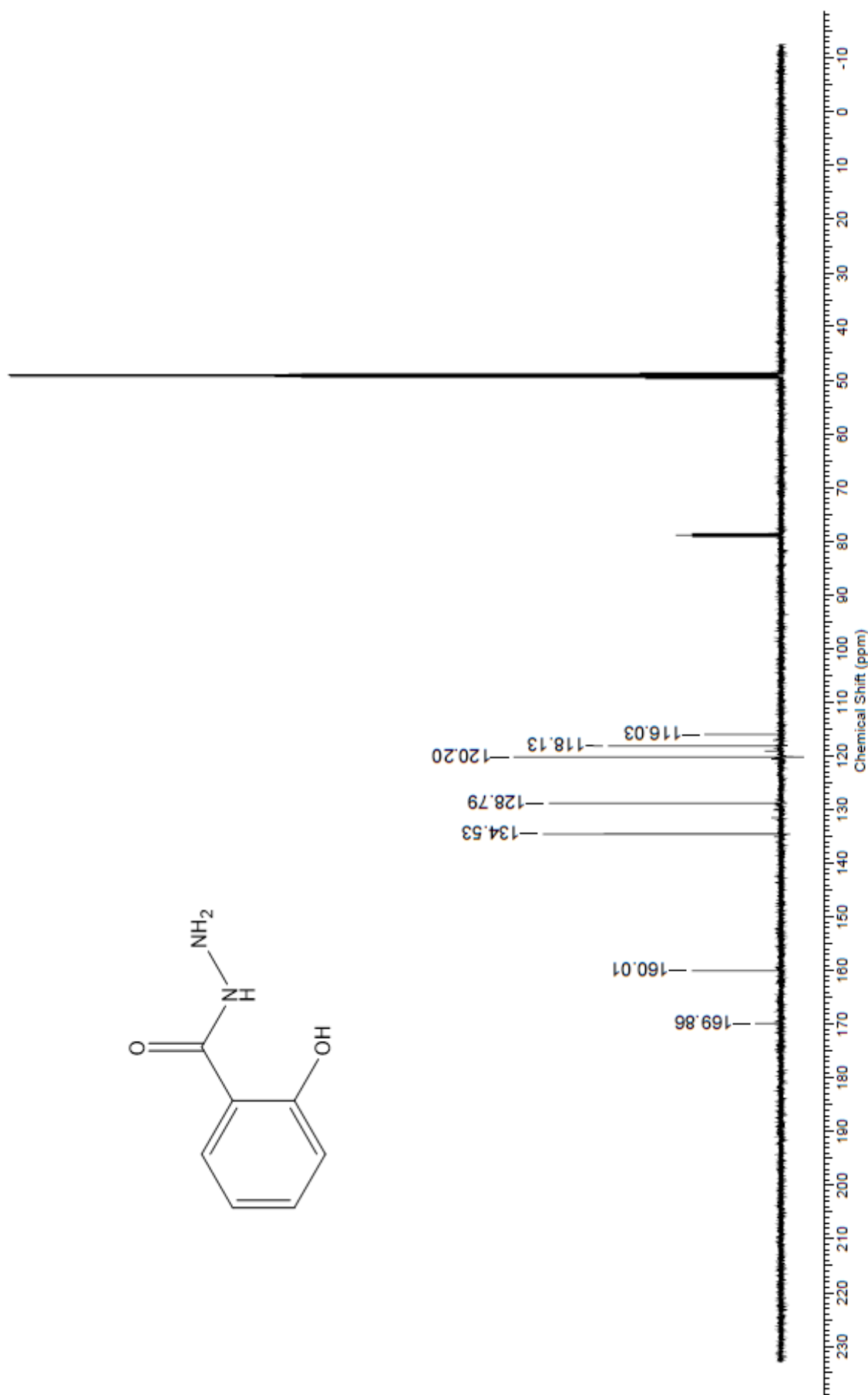


Imagem D: Espectro de RMN de C¹³ do salicilhidrazida. **Fonte:** O autor.