



## SÍNTESE E AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DE DERIVADOS DA FTALIMIDA

Vanessa Maria da Silva Alves Gomes; Shalom Porto de Oliveira Assis

*Universidade Católica de Pernambuco; shalomporto@yahoo.com.br; vanessa.alvesg@outlook.com*

### INTRODUÇÃO

A necessidade do desenvolvimento de novos fármacos, que sejam efetivos contra algumas patologias ainda sem tratamento adequado, e que possam substituir os existentes, porém a custos menores e dotados de menores efeitos adversos, tem impulsionado a comunidade científica a novas e incessantes pesquisas nesta área. A síntese orgânica tem contribuído significativamente neste aspecto, sendo responsável por cerca de 75% dos fármacos existentes no mercado farmacêutico (CECHINEL FILHO *et al.*, 2003).

Devido à necessidade de novos fármacos para o tratamento das mais variadas patologias, as imidas cíclicas aparecem como prováveis líderes para o desenvolvimento de novos e eficientes fármacos. No entanto, muito há de se progredir, principalmente em relação à eficácia destes compostos em estudos clínicos, a determinação do perfil toxicológico, bem como a necessidade de elucidação dos mecanismos moleculares de ação envolvidos nas ações biológicas dos compostos estudados.

Considerando a importância químico-medicinal das imidas cíclicas, como as ftalimidas, e seus derivados, bem como excelentes resultados e publicados até o presente momento (PIERWOCHA; WALCZAK, 2008), pretende-se sintetizar *N*-arilftalimidas, compostos já relatados pela literatura, e que apresentaram excelentes atividades hipolipidêmicas e anti-inflamatórias (ASSIS *et al.*, 2013), no intuito de agora testar suas prováveis atividades antimicrobianas. Pois, os antibióticos estão entre os fármacos mais prescritos de forma indiscriminada, contribuindo assim para um problema internacional de resistência bacteriana e fúngica (PAGE *et al.*, 1999). Por isso, são necessárias continuas investigações, a fim de serem encontrados fármacos antimicrobianos cada vez mais eficazes e menos tóxicos contra microorganismos resistentes.

O objetivo geral do estudo consiste em sintetizar e avaliar a ação antimicrobiana dos compostos *N*-fenilftalimida, *N*-(nitrofenil)ftalimida e *N*-(fluorfenil)ftalimida.



## METODOLOGIA

### *Síntese das N-arilftalimidas*

O método A foi usado para sintetizar os derivados *N*-(2-nitrofenil)ftalimida (4a), *N*-(3-nitrofenil)ftalimida (4b), *N*-(4-nitrofenil)ftalimida (4c), *N*-(2-fluorfenil)ftalimida (4d), *N*-(3-fluorfenil)ftalimida (4e) e a *N*-(4-fluorfenil)ftalimida (4f). Esses derivados partiram de quantidades equimolares de anidrido ftálico com amina aromática, sendo a reação processada sob-refluxo de nitrobenzeno ou ácido acético, por 45 a 60 minutos. Depois o ácido acético foi evaporado e o produto foi cristalizado utilizando como solvente o etanol, acetato de etila ou acetona. Já o método B foi utilizado para os compostos *N*-fenilftalimida (4g), sendo através do aquecimento à 200°C de quantidades equimolares de anidrido ftálico com aminas aromáticas também. Tais compostos foram cristalizados empregando os solventes acetato de etila e metanol.

### *Análises Químicas das N-arilftalimidas*

O ponto de fusão de cada composto sintetizado foi determinado através de tubo capilar aberto no aparelho PFMII BioSan. A análise elementar foi realizada através do equipamento EA1110 CHNS-O para determinar o percentual de C, H, N, S e O das moléculas em questão. A análise do infravermelho foi registrada em espectrofotômetro IFS66 Bruker, utilizando pastilhas de KBr. Os espectro de RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C foram obtidos em espectrofotômetro Varian Unity Plus-300, 400MHz, utilizando clorofórmio deuterado (CDCl<sub>3</sub>) ou dimetil sulfoxido (DMSO-d<sub>6</sub>). As frações sintetizadas foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD) em coluna de sílica gel 60 Merk, porosidade 70-230, utilizando como sistema de eluição hexano:acetato de etila (1:1). Todos os compostos sintetizados tiveram suas estruturas determinadas pelos métodos espectroscópicos.

### *Separação dos Microrganismos*

Para o respectivo estudo foram utilizadas cepas de bactérias e de fungo leveduriforme. As bactérias gram positivas foram: *Bacillus subtilis* (1594), *Enterococcus faecalis* (1575 ATCC) e *Staphylococcus aureus* (1576). As bactérias Gram negativas foram: *Escherichia coli* (1578 ATCC), *Klebsiella pneumoniae* (1573 ATCC) e *Salmonella enterica* (1595 ATCC). A cepa de levedura foi a *Candida albicans* (993). Todos os microrganismos utilizados neste estudo foram cedidos pela Coleção de Culturas da Universidade Católica de Pernambuco, registrada no *World Federation Culture for Collection* - WFCC. O antibiótico vancomicina,

utilizado como controle positivo para as bactérias nos ensaios biológicos, foi obtido da Sigma Aldrich. O antifúngico utilizado como controle positivo para levedura foi o Nitrato de Miconazol, onde o mesmo foi produzido no laboratório Multilab. As drogas e reagentes foram adquiridos da Reagen e Vetec. Os meios de cultura foram adquiridos da Difco e Oxoid.

### ***Preparação dos Meios de Cultura e Inóculos***

O meio *Brain Heart Infusion* (BHI) foi utilizado para o crescimento das bactérias e o *Sabouraud* para leveduras. Os meios líquidos foram utilizados para os inóculos dos microrganismos e os sólidos para manutenção das culturas e avaliação da atividade antimicrobiana. Ambos foram preparados segundo as instruções dos fabricantes e esterilizados em autoclave por 15 minutos a 120°C. Essas culturas foram diluídas em 5 mL de água destilada, sendo sua capacidade ajustada segundo o tubo 0,5 da escala de *MacFarland*, o que equivale a  $10^7$  UFC/mL. Os inóculos das bactérias foram preparados adicionando 0,5 mL do microorganismo (em BHI e glicerol 50% conservante) em 50mL do meio líquido BHI. O inóculo da levedura foi preparado adicionando 2,5 mL do microorganismo (em *Sabouraud* sólido) em 50mL do meio líquido *Sabouraud*. Todos os inóculos foram incubados em incubador agitador marca *New Brunswick Scientific*, 180rpm, sendo os que continham bactérias incubados a 37°C por 24h, enquanto que o inóculo de continha a levedura foi incubado em 28°C por 48h.

Para a preparação das placas foram utilizadas placas de Petri (90 mm), previamente esterilizadas em estufa a 180°C por 1 h: 50 minutos onde cada uma receberam 18 mL dos meios sólidos *BHI* ou *Sabouraud* (previamente aquecidos em microondas). Todo o procedimento foi realizado próximo ao bico de Bunsen. As placas foram colocadas em superfície plana por 24h para verificação de contaminação. Após os microrganismos padronizados foram semeados por distensão por toda a superfície das placas. O semeio foi realizado da seguinte forma: Pipetou-se 0,1 mL do inóculo no centro da superfície do meio e espalhou-se em forma de ziguezague utilizando a alça de Drigalski.

### ***Preparação das Drogas***

A droga 4g foi solubilizada em uma solução utilizando-se 10 mg da respectiva droga dissolvida em 1mL do solvente Dimetilsulfóxido (DMSO) a 90%, sendo aquecida a 60°C durante 10 minutos. Já as drogas de 4a-f foram dissolvidas utilizando-se 10 mg da droga, porém dissolvida em 1 mL de DMSO e Metanol na proporção de 1:1, sendo a mesma



aquecida em 60°C durante 10 minutos. Como controle positivo para as bactérias foi utilizado a vancomicina em uma concentração de 30 µL/mL e para a levedura foi utilizado o Miconazol na concentração de 20mg/mL.

### ***Determinação da Atividade Antimicrobiana***

A atividade antimicrobiana foi verificada pelo método de difusão em discos de papel esterilizados (6mm de diâmetro). Esses discos foram umedecidos em 100 µL das soluções contendo a droga utilizada numa concentração de 10mg/mL. Após com o auxílio de uma pinça flambada e resfriada, o monodisco foi introduzido no centro da superfície do meio inoculado. Para cada substância foi feito um teste controle negativo, onde o disco recebeu apenas DMSO. Todos os ensaios foram realizados em triplicata e a inibição dos halos foram medidos após 24h de incubação para as bactérias e 48h para os fungos. O teste foi considerado positivo quando o halo de inibição foi maior ou igual a 10 mm (LIMA, 2012).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Todos os compostos foram obtidos, em excelentes rendimentos, que variaram de 68,9% a 99%, sendo estes superiores aos rendimentos obtidos pela literatura. Foi realizada a medida em °C do ponto de fusão de cada composto sintetizado, obtendo como resultado valores aproximados daqueles estimados pela literatura, ao qual variaram de 181°C a 202°C. O tempo de reação alternou entre 50 a 60 minutos. Estes resultados indicam que as drogas sintetizadas foram realizadas em ótimas condições e são extremamente apropriadas para a realização dos ensaios antimicrobianos.

Os ensaios para determinação da atividade antimicrobiana dos compostos sintetizados, para o controle positivo e para o controle negativo, foram realizados em triplicata. Os resultados foram expressos pela média aritmética dos halos de inibição obtidos nos ensaios. Nas condições utilizadas para o teste de difusão em disco, as drogas **4a**, **4b**, **4d** e **4e** mostraram atividade antimicrobiana interessantes comparados ao grupo controle.

Dentre as drogas testadas para as bactérias gram positivas, podemos destacar a **4e**, onde a mesma teve halos superiores de 17%, 36% e 9% para *B. subtilis*, *E. faecalis* e *S. aureus* respectivamente, comparados aos da vancomicina para os mesmos microrganismos. Sena (2003) também testou a atividade antimicrobiana de compostos *N*-(fenilaminometil)ftalimidás para as bactérias para *B. subtilis*, *E. faecalis* e *S. aureus*, porém



nenhum dos compostos apresentaram atividade.

O resultado da droga **4d** para a bactéria *E. coli*, onde foi observado um halo de 45mm, foi o melhor resultado obtido para as bactérias gram negativas, frente aos resultados dos outros compostos e da vancomicina. Resultados semelhantes a esse foi evidenciado por Bezerra (2011), onde foi avaliado a atividade antimicrobiana de plantas da Caatinga e observou-se que, para a bactéria *E. coli*, o extrato de jurema-preta apresentou maior eficácia que o antibiótico vancomicina, sendo este usado como controle positivo.

Em relação a *C. albicans*, além da **4a**, **4b**, **4d** e **4e** apresentarem atividade antimicrobiana, com halos de inibição de 32, 39, 40 e 45 respectivamente, os resultados dos compostos foram considerados melhores do que o miconazol, que teve halo de apenas 10mm. Esses resultados também foram superiores ao de Sena (2003), onde se avaliou a atividade antimicrobiana da droga 4-nitro-ditio-fenilftamida para a *C. albicans*, obtendo-se como resultado um halo inibição de 10mm.

De forma geral, o composto **4g** não apresentou efeitos antimicrobianos no presente trabalho. Porém, percebeu-se que ao adicionar o grupo flúor ou o nitro na posição 2 ou 3 do anel fenílico, obteve-se resultados significantes. Outro dado experimental observado foi que quando o grupo substituinte flúor ou nitro ocupou a posição 4 do anel, todos os compostos tornou-se inativos. Comparando os resultados da atividade antimicrobiana dos compostos sintetizados, observou-se que quando o composto tinha um grupo substituinte na posição 3 do anel, a atividade antimicrobiana é mais evidenciada do que na posição 2.

## CONCLUSÃO

Foram preparados sete compostos derivados das ftalimidas, tendo o grau de pureza analisado, além dos seus rendimentos obtidos com excelência. Os compostos **4a**, **4b**, **4d** e **4e** apresentaram resultados comparáveis a droga comercial vancomicina e ao miconazol, sendo fortes candidatos a antimicrobianos por atuarem contra espécies de microrganismos que comumente causam problemas a saúde de muitos indivíduos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRICOPULO, A. D.; MÜLLER, L. A.; CECHINEL FILHO, V.; CANI, G. S.; ROOS, J. F. Analgesic activity of cyclic imides: 1,8-naphthalimide and 1,4,5,8-naphthalenediimide



derivatives. **II Farmaco**, 55, 319-321, 2000.

ANDRICOPULO, A. D.; YUNES, R. A.; NUNES, R.J.; CORRÊA, R.; SAVI, A. O. S.; CRUZ, A. B.; CECHINEL FILHO, V. Síntese e atividade antibacteriana de Imidas Cíclicas: 3, 4-dicloromaleimidias e 3-Cloro-4-Substituída-Maleimidias. **QUÍMICA NOVA**, v. 21, n. 5, p. 573, 1998. APA.

ASSIS, S. P. O.; ARAÚJO, T. G.; SENA, V. L. M.; CATANHO, M. T. J. A.; RAMOS, M. N.; SRIVASTAVA, R. M.; LIMA, V. L. M. Synthesis, Hypolipidemic and Anti-inflammatory Activities of Arylphthalimides. **Medicinal Chemistry Research** (Print), v. 22, p. 1-8, 2013.

BEZERRA, D. A. C.; RODRIGUES, F. F. G.; COSTA, J. G. M.; PEREIRA, A. V.; SOUSA, E. O. DE.; RODRIGUES, O. G.. Abordagem fitoquímica, composição bromatológica e atividade antibacteriana de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret E *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke-doi: 10.4025/actascibiolsoci. v33i1. 5366.**Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 33, n. 1, p. 99-106, 2011.

CHECHINEL FILHO, V.; CORRÊA, R.; CAMPOS, F.; YUNES, R. A. NUNES, R. J. Chemical aspects and therapeutic potencial of cyclic imides: a reiew. **Química Nova**, 26, 230-241, 2003.

PAGE, C. P.; CURTIS, M. J.; SUTTER, M. C.; WALKER, M. J. A.; HOFFMAN, B. B. **Farmacologia integrada**. São Paulo: Malone, 1999.

PIERWOCHA, Anna W.; WALCZAK, Krzysztof. The use of tri-O-acetyl-D-glucal and-D-galactal in the synthesis of  $\omega$ -aminoalkyl 2-deoxy-and 2, 3-dideoxy-D-hexopyranosides. **Carbohydrate research**, v. 343, n. 15, p. 2680-2686, 2008.

SENA, V. L. M. de. **Síntese e atividade biológica de ftalimidias N-substituídas**. 2003. 188 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.

SENA, V. L.; SRIVASTAVA, R. M.; SILVA, R. O.; LIMA, V. L. Synthesis and hypolipidemic activity of N-substituted phthalimides. Part V. **II Farmaco**, 58, 1283-1288, 2003