



## Síntese e caracterização de 3,5-dinitrobenzoilhidrazonas com potencial ação antituberculose

### Synthesis and characterization of 3,5-dinitrobenzoylhydrazones with antituberculosis potential

João Pedro Carvalho Ceolis<sup>1</sup>, Fábio Vandresen<sup>2</sup>

#### RESUMO

Neste trabalho foi realizada a síntese de dez *N*-acilhidrazonas com o núcleo 3,5-dinitrobenzoil como possíveis candidatos a fármacos antituberculose. Para a síntese das moléculas foram necessárias três etapas: a síntese do éster metil-3,5-dinitrobenzoato a partir do ácido 3,5-dinitrobenzóico, a síntese da acilhidrazida 3,5-dinitrobenzohidrazida a partir do éster, e por fim, a síntese das *N*-acilhidrazonas a partir da reação da acilhidrazida com compostos carbonílicos contendo, em sua maioria, grupos heterocíclicos. Os rendimentos obtidos para essa série variaram de 22,29% a 86,67%. Todas as moléculas foram caracterizadas com ponto de fusão, espectroscopia de infravermelho (FT-IR) e RMN de <sup>1</sup>H. Os resultados obtidos confirmaram as estruturas propostas. Para essa série realizou-se também ensaios *in silico* para avaliar os parâmetros físico-químicos de absorção oral e o potencial antituberculose (Pa), onde oito dessas substâncias apresentaram Pa superior a 0,7. De maneira geral, os resultados de predição de efeitos toxicológicos se mostraram de baixo risco, mostrando grande potencial para continuidade de estudos *in vitro* com tais compostos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Antituberculose, acilhidrazida, 3,5-dinitrobenzóico, *N*-acilhidrazona.

#### ABSTRACT

In this work, the synthesis of ten *N*-acylhydrazones with the nucleus 3,5-dinitrobenzoyl was performed as possible candidates for antituberculosis drugs. For the synthesis of the molecules, three steps were necessary: the synthesis of the methyl-3,5-dinitrobenzoate ester from 3,5-dinitrobenzoic acid, the synthesis of acylhydrazide 3,5-dinitrobenzohydrazide from the ester, and finally, the synthesis of *N*-acylhydrazones from the reaction of acylhydrazide with carbonyl compounds containing, for the most part, heterocyclic groups. The yields obtained for this series ranged from 22.29% to 86.67%. All molecules were characterized with melting point, infrared spectroscopy (FT-IR) and <sup>1</sup>H NMR. The results obtained confirmed the proposed structures. For this series, *in silico* assays were also performed to evaluate the physicochemical parameters of oral absorption and the antituberculosis (Pa) potential, where eight of these substances presented Pa greater than 0.7. In general, the results of prediction of toxicological effects were of low risk, showing great potential for continuation of *in vitro* studies with such compounds.

**KEYWORDS:** Antituberculosis, acylhydrazide, 3,5-dinitrobenzoic, *N*-acylhydrazone.

#### INTRODUÇÃO

O panorama da tuberculose (TB) mostrado em boletim epidemiológico do Ministério da Saúde [1], revelou o registro de 59.735 casos de TB pulmonar no país em 2021, sendo que a maior parte (69% dos casos) acomete pessoas pretas ou pardas e a população de maior vulnerabilidade social. O tratamento da TB dura em média 6 meses [2], sendo empregado um conjunto de fármacos antibióticos (isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida). Como o tratamento é longo e os efeitos adversos agressivos são frequentes, o índice de abandono ao tratamento é alto, o que contribuiu para o surgimento

<sup>1</sup> Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil. E-mail: jceolis@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 2712653273927967.

<sup>2</sup> Docente do Departamento Acadêmico de Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil. E-mail: fabiovandresen@professores.utfpr.edu.br. ID Lattes: 8780109652880703.



de cepas resistentes de *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), bacilo causador da tuberculose, principalmente à rifampicina.

Em face deste panorama, a descoberta de fármacos mais efetivos, com menor tempo de tratamento e com efeitos colaterais mitigados, poderia promover uma maior adesão ao tratamento, uma queda na mortalidade (atualmente em 2,1 mortos por cem mil habitantes) e na incidência de novos casos, uma vez que a TB é transmitida através de secreções de pessoas contaminadas. Diante disso, nosso grupo de pesquisa tem investigado a ação de moléculas sintéticas bioativas com potente ação antituberculose. Em trabalho recente, uma série de *N*-acilhidrazonas contendo o núcleo 3,5-dinitrobenzoil revelou eficaz ação contra *Mtb* e para algumas cepas de bacilo-resistente. Ainda, alguns derivados demonstraram baixo efeito citotóxico e alta seletividade [3]. Com isso, o presente trabalho busca incrementar a série de substâncias híbridas contendo os núcleos *N*-acilhidrazona e 3,5-dinitrofenil com a síntese de novos derivados possuindo, em sua maioria, grupos heterocíclicos ligados à porção imínica das *N*-acilhidrazonas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### INSTRUMENTAÇÃO

Para as reações realizadas em ultrassom, foi utilizado o banho ultrassônico da marca Cristofoli operando com frequência de 42 Hz. Os pontos de fusão dos compostos foram aferidos em um equipamento da marca Microquímica. As análises de FT-IR dos compostos foram realizadas em um espectrofotômetro IV de marca PerkinElmer, modelo UATR Two, utilizando o módulo ATR. Para a análise do RMN de <sup>1</sup>H realizados em um espectrômetro Bruker operando a 400 MHz. Para os testes *in silico* foram consultados os softwares WAY2DRUG [4] e OSIRIS Property Explorer [5], ambos disponíveis na internet.

### SÍNTESE DO ÉSTER 3,5-DINITROBENZOATO DE METILA

Em um balão de fundo redondo foi adicionado 0,0165 mol do ácido-3,5-dinitrobenzóico juntamente com 0,5302 mol de metanol e 1 mililitro de ácido sulfúrico 96% (catalisador da reação). A reação foi mantida sob refluxo e agitação magnética em torno de 70 °C por 4h. Após o término da reação, o sólido foi filtrado, lavado com água destilada e seco na estufa. O rendimento da reação foi de 89,2%.

### SÍNTESE DA ACILHIDRAZIDA: 3,5-DINITROBENZOHIDRAZIDA

Em um balão de fundo redondo, adicionou-se 0,0105 mol do éster e 30 ml de metanol. O balão foi colocado em banho de gelo até atingir o equilíbrio térmico e então adicionou-se lentamente 0,01575 mol de hidrazina. O meio reacional foi mantido sob agitação magnética em temperatura ambiente por 2 horas. O andamento da reação foi acompanhado com cromatografia em camada delgada (CCD) - eluente: hexano/acetato de etila 3:2. Após o término da reação, o sólido obtido foi filtrado, lavado com água destilada e seco na estufa. O rendimento da reação foi de 80,3%.

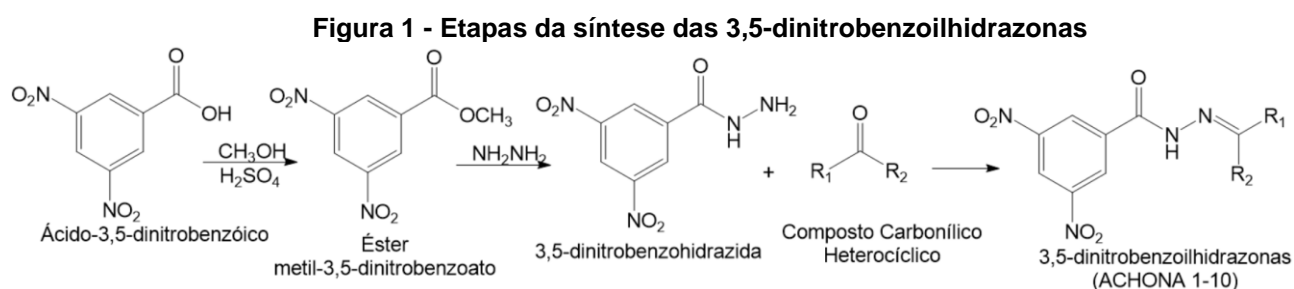
### SÍNTESE DAS 3,5-DINITROBENZOILHIDRAZONAS (ACHONA 1-10)

Em um Erlenmeyer foi adicionada a acilhidrazida e o composto carbonílico heterocíclico (4-formilpiridina, 4-acetilpiridina, 2-acetilpiridina, 2-benzoilpiridina, 2-

acetilfurano, 2-acetiltiofeno, 2-acetilpirrol, 5-nitro-2-furaldeído ou 3-piridinocarboxaldeído) ou o aldeído natural trans-cinamaldeído, em proporção estequiométrica 1:1, juntamente com 30 ml de metanol e 5 gotas de ácido acético glacial (catalisador). O Erlenmeyer foi levado ao ultrassom por no mínimo 30 minutos em temperatura ambiente (em torno de 25°C). O andamento da reação foi acompanhado com CCD. Após o término da reação, o sólido foi filtrado, lavado com água destilada e seco na estufa e recristalizado em metanol a quente quando necessário.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

A rota geral de síntese das N-Acilhidrazonas sintetizadas pode ser visualizada na figura 1 abaixo. Foi utilizado o código ACHONA 1-10 para designar cada uma das 10 acilhidrazonas sintetizadas. Na tabela 1 é possível verificar os substituintes R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> de cada derivado.



Fonte: Autoria própria (2023).

**Tabela 1 - Substituintes R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> das 3,5-dinitrobenzoilhidrazonas sintetizadas**

Molécula	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Molécula	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
ACHONA 1		H	ACHONA 6		CH <sub>3</sub>
ACHONA 2		CH <sub>3</sub>	ACHONA 7		CH <sub>3</sub>
ACHONA 3		CH <sub>3</sub>	ACHONA 8		H
ACHONA 4			ACHONA 9		H
ACHONA 5		CH <sub>3</sub>	ACHONA 10		H

Fonte: Autoria própria (2023).

Todas as substâncias sintetizadas foram caracterizadas por ponto de fusão, espectroscopia no Infravermelho (ATR) e RMN <sup>1</sup>H. Abaixo é possível observar os dados



espectroscópicos de IV (ATR) e RMN  $^1\text{H}$  das ACHONAS sintetizadas, assim como os pontos de fusão e o rendimento destas substâncias. Os principais sinais que auxiliaram na caracterização dos derivados foram a presença de sinal de N-H entre  $\delta$  11-14 ppm e do hidrogênio imínico (ACHONA 1 a 10) entre  $\delta$  8,43 e 8,50 ppm, respectivamente. Os sinais do anel 3,5-dinitrofenil foram evidenciados em  $\delta$  9,05-9,12 e 9,00-9,03 ppm.

**ACHONA 1:** (IV, ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3470 (N-H), 3050 (C-H aromático), 1660 (C=N), 1537 e 1342 ( $\text{NO}_2$ ); RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta_{\text{H}}$  12.69 (1H, s), 9.14 (2H, d,  $J=2\text{Hz}$ ), 9.03 (1H, m), 8.71 (2H, m), 8.50 (1H, s), 7.74 (2H, m); P.F: 241-243 °C; R : 41,59%.

**ACHONA 2:** (IV, ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3322 (N-H), 3050 (C-H aromático), 1660 (C=N), 1540 e 1342 ( $\text{NO}_2$ ); RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta_{\text{H}}$  11.53 (1H, s), 9.07 (2H, d,  $J=2\text{Hz}$ ), 9.01 (1H, m), 8.67 (2H, d,  $J=2\text{Hz}$ ), 7.74 (2H, d,  $J=2\text{Hz}$ ), 2.45 (3H, d,  $J=12\text{Hz}$ ); P.F: 225-226 °C; R : 72,31%.

**ACHONA 3:** (IV, ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3460 (N-H), 3060 (C-H aromático), 1670 (C=N), 1540 e 1342 ( $\text{NO}_2$ ); RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta_{\text{H}}$  11.47 (1H, s), 9.08 (2H, d,  $J=2\text{Hz}$ ), 9.02 (1H, m), 8.65 (1H, m), 7.91 (1H, m), 7.72 (1H, m), 7.48(1H,m), 2.53 (3H, d,  $J=14\text{Hz}$ ); P.F: 179-180 °C; R : 76,49%.

**ACHONA 4:** (IV, ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3340 (N-H), 3100 (C-H aromático), 1690 (C=N), 1540 e 1342 ( $\text{NO}_2$ ); RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta_{\text{H}}$  14.74 (1H, s), 9.11 (2H, s), 9.02 (1H, s), 8.95(1H, m), 8.09 (1H, m), 7.79 (1H, m), 7.72 (2H, m), 7,54 (1H, m), 4.48 (3H, m); P.F: 187-188 °C; R : 22,69%.

**ACHONA 5:** (IV, ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3288 (N-H), 3100 (C-H aromático), 1670 (C=N), 1540 e 1342 ( $\text{NO}_2$ ); RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta_{\text{H}}$  11.31 (1H, s), 9.08 (2H, s), 9.05 (1H, m), 7.87 (1H, d,  $J=2\text{Hz}$ ), 7.08 (1H, d,  $J=2\text{Hz}$ ), 6.65 (1H, d,  $J=2\text{Hz}$ ), 2.35 (3H, s); P.F: 230-232 °C; R: 82,52%.

**ACHONA 6:** (IV, ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3290 (N-H), 3100 (C-H aromático), 1670 (C=N), 1540 e 1342 ( $\text{NO}_2$ ); RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta_{\text{H}}$  11.54 (1H, s), 9.05 (2H, d,  $J = 2\text{Hz}$ ), 9.00 (1H, m), 7.69 (1H, m), 7.60 (1H, m), 7.15 (1H, m), 2.40 (3H, m); P.F: 216-218 °C; R : 81,61%.

**ACHONA 7:** (IV, ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3640 (N-H Pirrol), 3432 (N-H), 3100 (C-H aromático), 1660 (C=N), 1540 e 1342 ( $\text{NO}_2$ ); RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta_{\text{H}}$  11.37 (1H, s), 11.27 (1H, s), 9.07 (2H, m), 9.00 (1H, m), 6.91 (1H, d,  $J=20\text{Hz}$ ), 6.67 (1H, d,  $J=20\text{Hz}$ ), 6.15 (1H, d,  $J=14\text{Hz}$ ), 2.31 (3H, d,  $J = 14\text{Hz}$ ); P.F: 236-237 °C; R : 33,48%.

**ACHONA 8:** (IV, ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3200 (N-H), 3096 (C-H aromático), 1670 (C=N), 1540 e 1342 ( $\text{NO}_2$ ); RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta_{\text{H}}$  12.77 (1H, s), 9.12 (2H, d,  $J = 2\text{Hz}$ ), 9.03 (1H, m), 8.43 (1H, s), 7.83, (1H, m), 7.37 (1H, m); P.F: 265-267 °C; R : 64,76%.

**ACHONA 9:** 3520 (N-H), 3050 (C-H aromático), 1660 (C=N), 1537 e 1342 ( $\text{NO}_2$ ); RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta_{\text{H}}$  12.60 (1H, s), 9.14 (2H, d,  $J = 2\text{Hz}$ ), 9.02 (1H, m), 8.91 (1H, s), 8.67 (1H, d,  $J=2\text{Hz}$ ), 8.56 (1H, s), 8.21 (1H, d,  $J = 4\text{Hz}$ ), 7.52 (1H, m); P.F: 114-116 °C; R: 86,67%.

**ACHONA 10:** (IV, ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3525 (N-H), 3100 (C-H aromático), 1670 (C=N), 1540 e 1342 ( $\text{NO}_2$ ); RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta_{\text{H}}$  12.34 (1H, s), 9.12 (2H, d,  $J=2\text{Hz}$ ), 9.01 (1H, m), 8.31 (1H, d), 7.68 (1H, d), 7.38 (1H, m), 7.42 (2H, m), 7.15 (2H, m), 7.13 (1H, m); P.F: 234-236 °C; R: 86,02%.

Todas *N*-acilhidrazonas foram obtidas com rendimentos considerados de bom a ótimos (33,48-86,67%), com exceção da ACHONA 4. O baixo rendimento da ACHONA 4, deve-se, muito provavelmente, ao maior impedimento estérico dos dois grupos volumosos (piridina e fenil) presentes no composto carbonílico. Essa acilhidrazona foi a única com



tempo de reação de 1 hora. As demais (pela análise de CCD) finalizaram a reação em 30 minutos. A *N*-acilhidrazona ACHONA 7 foi recristalizada em metanol a quente, uma vez que se constatou a presença de reagentes remanescentes.

## IN SILICO

Na tabela abaixo é possível ver a probabilidade de atividade (PA) [4] e os riscos de efeitos colaterais [5] de cada uma das ACHONAS sintetizadas e do fármaco de referência Isoniazida. A Pa varia de uma escala de 0 a 1 e quanto mais perto de 1, maiores as chances de atividade contra TB.

**Tabela 2 – Previsão *in silico* de atividade (Pa) antituberculose e efeitos toxicológicos**

Molécula	Anti TB Pa	Mutagênico	Tumorigênico	Irritante	Efeito Reprodutivo
ACHONA 1	0,928	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
ACHONA 2	0,850	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
ACHONA 3	0,754	Médio	Baixo	Baixo	Baixo
ACHONA 4	0,677	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
ACHONA 5	0,927	Elevado	Baixo	Baixo	Baixo
ACHONA 6	0,562	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
ACHONA 7	0,761	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
ACHONA 8	0,955	Elevado	Elevado	Baixo	Baixo
ACHONA 9	0,908	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
ACHONA 10	0,914	Baixo	Baixo	Baixo	Baixo
Isoniazida	0,810	Elevado	Elevado	Elevado	Elevado

Fonte: Way2drug e Osiris Property Explorer (2023).

Já na Tabela 3, observa-se os parâmetros de Lipinski e Veber, que são filtros para tentar selecionar moléculas que são boas candidatas a fármacos. Os parâmetros de Lipinski são:  $nHB \leq 5$  (número de doadores de ligações de hidrogênio),  $nHA \leq 10$  (número de aceptores de ligações de hidrogênio),  $cLogP < 5$  (parâmetro que diz respeito à absorção do fármaco pela membrana celular – quanto menor o valor, maior a absorção) e  $MM \leq 500$  g/mol (massa molar da molécula). Já os parâmetros de Veber são:  $RB < 10$  (número de ligações rotáveis) e  $TPSA < 190$  (área de superfície polar total).

**Tabela 3 – Dados *in silico*: parâmetros de Lipinski e Veber**

Molécula	MM (g/mol)	nHB	nHA	cLogP	Violações Lipinski	RB	TPSA	Violações Veber
ACHONA 1	315,24	1	10	0,35	0	5	145,99	0
ACHONA 2	329,27	1	10	0,61	0	5	145,99	0
ACHONA 3	329,27	1	10	0,61	0	5	145,99	0
ACHONA 4	391,34	1	10	1,62	0	6	145,99	0
ACHONA 5	318,24	1	10	0,38	0	5	146,24	0
ACHONA 6	334,31	1	9	1,15	0	5	161,34	0
ACHONA 7	317,26	2	10	0,38	0	5	148,89	0
ACHONA 8	349,21	1	13	0,14	1	6	192,06	1
ACHONA 9	315,24	1	10	0,36	0	5	145,99	0
ACHONA 10	340,29	1	9	1,38	0	6	133,10	0
Isoniazida	137,14	2	4	-1,02	0	1	68,01	0

Fonte: Osiris Property Explorer (2023).



Observa-se, portanto, que apenas a ACHONA 8 teve uma violação de Lipinski e de Veber. Quanto ao potencial de atividade antituberculose, observa-se que apenas as ACHONAS 4 e 6 tiveram  $PA < 0,7$ , sendo que 6 tiveram  $Pa$  superior ao do fármaco padrão isoniazida. Em relação aos efeitos toxicológicos, de maneira geral, os riscos se mostraram baixos, exceto em alguns cenários em que as ACHONAS 3, 5 e 8 mostraram algum grau toxicidade maior.

## CONCLUSÃO

Todas as moléculas foram sintetizadas e devidamente caracterizadas. O método de síntese se mostrou eficaz e de simples realização. As moléculas apresentam ainda, em testes *in silico*, um bom potencial antituberculose. Após a purificação necessária das Acilhidrazonas mencionadas, os derivados serão enviados para testes *in vitro* de atividade antituberculose.

## Agradecimentos

O autor agradece ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa. Agradece também ao orientador pela paciência e ensinamentos.

## Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.

## REFERÊNCIAS

[1] BRASIL. Ministério da Saúde. Boletim epidemiológico de tuberculose. Brasília, DF, 2022.

[2] SECRETARIA DE SAÚDE DO PARANÁ. **Tuberculose**. [S. l.], 2021. Disponível em: <https://www.saude.pr.gov.br/Pagina/Tuberculose>. Acesso em: 30 ago. 2023.

[3] VALVERDE, Tamires; SAMPIRON, Eloísa; MANTAHOLI, Débora; BALDIN, Vanessa; INSAURRALDE, Diego; ALVES-OLHER, Vanessa; SIQUEIRA, Vera; CELEFFI-FERRACIOLI, Katiany; CARDOSO, Rosilene; VANDRESEN, Fábio; SCODRO, Regiane. 3,5-dinitrobenzoylhydrazone derivatives as a scaffold for antituberculosis drug development. **Future Microbiology**, [s. l.], Março 2022.

[4] WAY2DRUG. Disponível em: <https://www.way2drug.com/PassOnline/index.php>. Acesso em: 10 de Março de 2023.

[5] OSIRIS Property Explorer. Disponível em: [https://www.cheminfo.org/Chemistry/Cheminformatics/Property\\_explorer/index.html](https://www.cheminfo.org/Chemistry/Cheminformatics/Property_explorer/index.html). Acesso em: 10 de Março de 2023.