



**LÍVIA ABREU SANTOS**

**SÍNTESE DE N-ACILHIDRAZONAS BASEADOS NO FÁRMACO  
ISONIAZIDA**

**Rio de Janeiro**

**2017**

**LÍVIA ABREU SANTOS**

**SÍNTESE DE N-ACILHIDRAZONAS BASEADOS NO FÁRMACO  
ISONIAZIDA**

**Monografia apresentada ao Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* como requisito para obtenção do título de Especialista em Tecnologias Industriais Farmacêuticas.**

**Orientador: Marcus Vinícius Nora de Souza,  
Doutor\***

\*Doutor em Química Orgânica e Biorgânica pela Université Paris-Sud 11, França.

**Rio de Janeiro**

**2017**

Ficha catalográfica elaborada pela

Biblioteca de Medicamentos e Fitomedicamentos/ Farmanguinhos / FIOCRUZ-RJ

S237s Santos, Livia Abreu

Síntese de N-acilhidrazonas baseados no fármaco Isoniazida. /  
Livia Abreu Santos. – Rio de Janeiro, 2017.

ix, 15 f. ; 30 cm.

Orientadora: Dr. Marcus Vinícius Nora de Souza.

Monografia (Especialização) – Instituto de Tecnologia em Fármacos-  
Farmanguinhos, Pós-graduação em Tecnologia Industriais  
Farmacêuticas, 2017.

Bibliografia: f. 13-15

1. N-acilhidrazonas. 2. Quelantes de Ferro. 3. Síntese Química. I.  
Título.

CDD 615.1

## LÍVIA ABREU SANTOS

**Monografia apresentada junto ao Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* do Instituto de Tecnologia de Fármacos – Farmanguinhos/FIOCRUZ, como requisito final à obtenção do título de Especialista em Tecnologias Industriais Farmacêuticas.**

**Orientador: Marcus Vinícius Nora de Souza, Doutor.**

### BANCA EXAMINADORA

---

Marcus Vinícius Nora de Souza, Doutor em Química Orgânica, Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Farmanguinhos. **Orientador.**

---

Alessandra Campbell Pinheiro, Doutor em Química Orgânica, Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Farmanguinhos.

---

Cristiane França da Costa, Doutor em Química Orgânica, Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Farmanguinhos.

---

Thaís Cristina Mendonça Nogueira, Doutor em Química Orgânica, Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Farmanguinhos.

**“Aos outros eu dou o direito de ser como são, a mim dou o dever de ser cada dia melhor.”**

**(Chico Xavier)**

## RESUMO

A química medicinal estuda os aspectos relacionados à descoberta ou invenção dos fármacos, aspectos moleculares envolvidos em seu mecanismo de ação e aqueles que governam a absorção, distribuição, metabolismo, eliminação e toxicidade, incluindo a compreensão da relação entre a estrutura química e a atividade terapêutica. A química Bioinorgânica Medicinal estuda as funções, metabolismo e aplicações de íons inorgânicos e seus complexos em sistemas biológicos, correlacionando a atividade biológica apresentada por um sistema inorgânico com suas características estruturais e eletrônicas. O ferro é um elemento envolvido em numerosos processos metabólicos e é, portanto, indispensável à vida. Diversas classes de compostos vêm sendo estudadas com ação quelante de ferro para o excesso de ferro nos tecidos (Hemocromatose), talassemia, câncer, inflamações, doenças neurodegenerativas, dentre outras.

No âmbito de uma linha de pesquisa que visa o planejamento, a síntese e a avaliação farmacológica de novos padrões moleculares úteis na terapia farmacoterapêutica, esse trabalho é parte integrante de um projeto que visa a identificação de novos derivados da isoniazida, candidatos a protótipos de fármacos com atividade quelante de ferro. A Isoniazida ou hidrazida do ácido isonicotínico (INH) é o mais antigo fármaco sintético efetivo contra a tuberculose (TB).

Neste trabalho foi sintetizado o *N*-(2-hidroxibenzilideno) isonicotinohidrazida. A rota sintética utilizada para a síntese deste composto mostrou-se ser simples e eficaz, sendo alcançado um rendimento de 73%. A estrutura química foi elucidada por meio de espectrometria de RMN  $H^1$  e  $C^{13}$ , IV e CG/EM. A partir desta molécula pode-se iniciar o estudo de suas propriedades farmacológicas, principalmente como quelante de ferro, explorar a versatilidade dos compostos *N*-acilhidrazônicos na obtenção de outros núcleos heterocíclicos biologicamente importantes, fazer estudos de toxicidade *in vitro* e realizar modificações estruturais a fim de identificar protótipos com atividade farmacológica.

## ABSTRACT

Medical chemistry studies aspects related to drug discovery or invention, molecular aspects involved in its mechanism of action, and those governing absorption, distribution, metabolism, elimination and toxicity, including understanding the relationship between chemical structure and therapeutic activity. The Bioinorganic Medicinal Chemistry studies the functions, metabolism and applications of inorganic ions and their complexes in biological systems, correlating the biological activity presented by an inorganic system with its structural and electronic characteristics. Iron is an element involved in numerous metabolic processes and is therefore indispensable to life. Several classes of compounds have been studied with iron chelating action for excess iron in the tissues (hemochromatosis), thalassemia, cancer, inflammation, neurodegenerative diseases, among others.

As part of a research line aimed at the planning, synthesis and pharmacological evaluation of new molecular patterns useful in pharmacotherapeutic therapy, this work is an integral part of a project aimed at the identification of new derivatives of isoniazid, candidates for drug prototypes with iron chelating activity. Isoniazid or isonicotinic acid hydrazide (INH) is the oldest effective synthetic drug against tuberculosis (TB).

In this work N'- (2-hydroxybenzylidene) isonicotinohydrazide was synthesized. The synthetic route used for the synthesis of this compound was shown to be simple and effective, with a yield of 73% being achieved. The chemical structure was elucidated by means of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C, IR and GC / MS NMR spectroscopy. From this molecule one can begin the study of its pharmacological properties, mainly as iron chelator, to explore the versatility of the N-acylhydrazonic compounds in the obtaining of other biologically important heterocyclic nuclei, to carry out toxicity studies in vitro and to make structural modifications in order to identify prototypes with pharmacological activity.

## Lista de Figuras

Figura 1- Estrutura molecular do Heme. ....	2
Figura 2- Exemplo geral de uma complexação tridentada entre uma <i>N</i> - acilhidrazona e um metal.....	5
Figura 3- Estrutura molecular da Isoniazida. ....	5
Figura 4- Expansão de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de <sup>1</sup> H de ( <i>E</i> )- <i>N'</i> -(2-hidroxibenzilideno)isonicotinohidrazida (400MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ).....	8
Figura 5- Expansão de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de <sup>13</sup> C de ( <i>E</i> )- <i>N'</i> -(2-hidroxibenzilideno)isonicotinohidrazida (100MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ).....	9
Figura 6- Expansão de Infravermelho (IV) de ( <i>E</i> )- <i>N'</i> -(2- hidroxibenzilideno)isonicotinohidrazida em KBr. ....	9
Figura 7- Cromatograma e Espectro de Massa de baixa resolução (CG/EM) de ( <i>E</i> )- <i>N'</i> -(2-hidroxibenzilideno)isonicotinohidrazida. ....	10
Figura 8: Estrutura do composto ( <i>E</i> )- <i>N'</i> -(2- hidroxibenzilideno)isonicotinohidrazida.....	11



## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1- Atividade citotóxica do composto em linhagens celulares cancerígenas. ....</b>	<b>7</b>
---	----------

## Lista de Esquemas

Esquema 1- Reação de Fenton. ....	2
Esquema 2- Reação geral de formação de uma hidrazona. ....	4
Esquema 3- Reação geral de formação de uma acilhidrazona. ....	4
Esquema 4- Síntese da ( <i>E</i> )- <i>N'</i> -(2-hidroxibenzilideno)isonicotinohidrazida. ....	6

**LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS**

**CCF- Cromatografia em camada fina**  
**CG/EM- Cromatografia Gasosa/Espectro de Massas**  
**CTM – Complexo Tecnológico de Medicamentos**  
**d- Duplete**  
**dd- Duplo duplete**  
**ddd -Duplo duplo duplete**  
**DMSO -Dimetilsulfóxido**  
**DMSO-d<sub>6</sub>- Dimetilsulfóxido hexadeuterado**  
**dq- Duplo quarteto**  
**dt-Duplo tripleto**  
**Eq.- Equivalente(s)**  
**FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz**  
**Hz –Hertz**  
**INH- Isoniazida**  
**IUPAC- International Union of Pure and Applied Chemistry (**  
**União Internacional de Química Pura e Aplicada)**  
**IV- Infravermelho**  
**J- Constante de acoplamento**  
**m- Multiplete**  
**Me- Metil**  
**MHz- Mega-Hertz**  
**Mmol- Milimol**  
**NAH- N-acilhidrazônicos**  
**p.f.- Ponto de fusão**  
**ppm- Parte por milhão**  
**q- Quarteto**  
**quin- Quinteto**  
**RMN de <sup>13</sup>C- Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13**  
**RMN de <sup>1</sup>H- Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio**  
**ROS- Espécies Reativas de Oxigênio**  
**RR - Ribonucleótido Redutase**  
**s- Simpleto**  
**sl- Sinal largo**  
**spt- Septeto**  
**t- Tripleto**  
**t.a.- Temperatura ambiente**  
**td- Triplo duplete**  
**TIF – Tecnologias Industriais Farmacêuticas**  
**δ- Deslocamento químico**

## SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>III</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>IV</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>V</b>
<b>LISTA DE ESQUEMAS.....</b>	<b>VII</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....</b>	<b>VIII</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. DESENVOLVIMENTO.....</b>	<b>3</b>
2.1 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	6
2.2 EXPERIMENTAL.....	11
2.2.1 Materiais.....	11
2.2.2 Espectro de Massa, Infra Vermelho (IV), Ressonância Magnética Nuclear (RMN), Ponto de fusão e Cromatografia Gasosa (CG).....	11
2.2.3 Método para Síntese do Composto (E)-N'-(2-hidroxibenzilideno)isonicotinohidrazida.....	11
<b>3. CONCLUSÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>4.REFERENCIAS.....</b>	<b>13</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A Química Medicinal tem como estudo as razões moleculares da ação dos fármacos descrevendo a relação entre a estrutura química e a atividade farmacológica, diferenciando contribuições funcionais. Inclui-se o planejamento e o desenho estrutural de novas substâncias que possuam propriedades farmacoterapêuticas úteis, capazes de representarem novas entidades químicas, candidatas a protótipos de novos fármacos de uso seguro.<sup>1</sup>

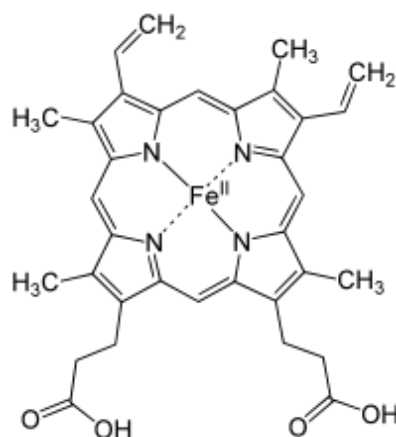
A Química Bioinorgânica Medicinal é uma área moderna que vem sendo bastante estudada, é conhecida como uma ciência caracterizada por aplicar a química inorgânica na medicina, estudando as aplicações de íons metálicos e seus complexos em sistemas biológicos.<sup>2,3</sup>

Os elementos e compostos comumente denominados inorgânicos eram considerados de pouca ou nenhuma importância para os sistemas biológicos.<sup>4</sup> No entanto, diversos metais são encontrados em proteínas, enzimas e cofatores, os quais são requeridos em vários processos biológicos.<sup>5</sup> Por exemplo, o cobalto é encontrado na coenzima B12, a qual é essencial para a transferência de grupos alquilas de uma molécula a outra em sistemas biológicos.<sup>6</sup> Metais como cobre, zinco e manganês também são incorporados em proteínas catalíticas (metaloenzimas), as quais participam de reações químicas necessárias à vida.<sup>7</sup> Dentro deste contexto vale ressaltar a importância do elemento ferro em sistemas biológicos. O ferro é um elemento envolvido em numerosos processos metabólicos e é, portanto, indispensável à vida. Ao nível biológico, encontra-se em dois estados de oxidação, ferro ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) e ferro férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ), sendo um componente essencial de muitas metaloproteínas que exploram esta propriedade de oxidação-redução, devido a sua capacidade de passar de um estado a outro. Quase todos os organismos requerem o ferro como um micronutriente, sendo necessário também para a biossíntese de macromoléculas e divisão e proliferação celular estando envolvido em uma ampla variedade de processos celulares, como a produção de energia, o transporte de oxigênio e a síntese de DNA. Como exemplo, a ribonucleótido redutase (RR), uma enzima chave na síntese de DNA que

catalisa a transformação de ribonucleótidos em desoxirribonucleótidos, tem dois átomos de ferro no seu sítio ativo.<sup>8</sup>

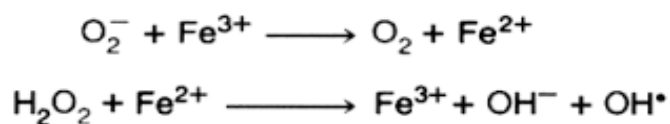
Nos seres humanos, a quantidade de ferro é mantida a um nível constante, cerca de quatro gramas. No organismo humano, o ferro encontra-se numa forma heme (como um complexo de porfirina) (Figura 1) dentro das hemoproteínas, o que representa cerca de 80% de ferro, e numa forma não heme distribuída entre armazenamento (ferritina e hemossiderina) e proteínas de transporte (transferrina). A homeostase do ferro é um processo finamente regulado e sua desregulação conduz a deficiência ou sobrecarga, que é prejudicial para o organismo devido à produção de espécies reativas de oxigênio (ROS).<sup>9</sup>

Figura 1- Estrutura molecular do Heme.



A formação de ROS, e particularmente de radicais hidroxil, que são muito reativos através da reação de Fenton (Esquema 1), provoca mutações e danos celulares graves. Como resultado dessas reações, um alto nível intracelular de ferro foi identificado como fator de risco para o desenvolvimento de cânceres.<sup>9</sup> Estudos *in vitro* têm mostrado que os quelantes de ferro, inicialmente concebidos para o tratamento de sobrecarga de ferro, apresentam propriedades antiproliferativas muito interessante.<sup>10</sup>

Esquema 1- Reação de Fenton.



Existem estudos que utilizam agentes quelantes de ferro e a sua suplementação com o intuito de avaliar o efeito da modulação da disponibilidade intracelular desse elemento sobre a infecção por *Leishmania*, além de outros patógenos.<sup>11,12</sup> Dados da literatura mostraram que o tratamento com agentes quelantes de ferro são capazes de reduzir a infecção por *Leishmania*.<sup>12</sup> O acúmulo de ferro no cérebro tem sido relacionado a diferentes doenças neurodegenerativas como Doença de Parkinson<sup>13</sup> e Alzheimer.<sup>14</sup> Assim sendo, a quelação de metais parece ser uma alternativa promissora para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos originais.<sup>15,16</sup>

Estudos sistematizados sobre as funções que os metais desenvolvem em organismos vivos tornaram-se essenciais. O interesse por novas moléculas estruturalmente modeladas com características coordenantes teriam o potencial de contribuir para a ação de fármacos.

Devido à importância do átomo de ferro no organismo humano, nosso objetivo foi o desenvolvimento de compostos potencialmente ativos, buscando obter protótipos de fármacos capazes de se complexar com metais tal como ferro.

## **2. DESENVOLVIMENTO**

Diversas classes de compostos vêm sendo estudadas com ação quelante de ferro para o excesso de ferro nos tecidos (Hemocromatose), talassemia, câncer, inflamações, doenças neurodegenerativas, dentre outras. Uma promissora classe de substâncias que vem se destacando devido a sua grande versatilidade são as hidrazonas.

As hidrazonas e *N*-acilhidrazonas são classes de compostos orgânicos que possuem diversas propriedades biológicas e farmacológicas, tais como antimicrobiana, anti-inflamatória, analgésica, antifúngica, antituberculose, antiviral, anticancerígena, antiplaquetária, antimalárica, anticonvulsivante, cardioprotetora, anti-helmíntica, antiprotozoária, antitripanossoma, antiesquistossomose etc.<sup>17</sup>

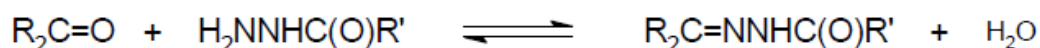
A formação de uma hidrazona passa pela condensação quimiosseletiva de aldeídos ou cetonas com hidrazinas, seguida por eliminação

de uma molécula de água (Esquema 2).<sup>18</sup> Quando essa hidrazina é uma hidrazida o composto formado é uma acilhidrazona, um composto azometino (Esquema 3).<sup>19</sup>

Esquema 2- Reação geral de formação de uma hidrazona.



Esquema 3- Reação geral de formação de uma acilhidrazona.



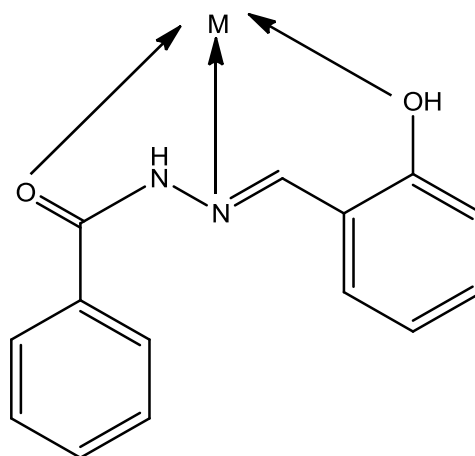
Um grupo de moléculas bastante versáteis quanto à capacidade doadora de elétrons e, portanto, bastante investigado na Química Bioinorgânica Medicinal,<sup>20,21</sup> são as hidrazonas e acilhidrazonas. Estas moléculas são reconhecidas pela sua variabilidade quanto à coordenação com metais devido a fatores como: flexibilidade ao assumir diferentes conformações, a possibilidade de tautomerismo, e podem ainda ter características diferenciadas ao atuar como ligante na forma neutra ou como um ânion.<sup>22</sup>

As *N*-acilhidrazonas derivadas de compostos acilas ou arilas apresentam um sítio doador C=O. A presença deste sítio adicional as torna mais versáteis, devido ao seu grande potencial quelante.<sup>23,24</sup> São usadas como reagentes analíticos para determinar quantidades traço de íons metálicos, devido às propriedades quelantes presente nessas moléculas.<sup>25</sup> As atividades biológicas apresentadas, na maioria dos casos, também são atribuídas a essas propriedades.<sup>26</sup> Algumas hidrazonas demonstraram ser quelantes efetivos de ferro *in vitro* e *in vivo*, com potencial emprego no tratamento de desordens genéticas como a talassemia.<sup>27</sup>

Uma grande variedade de complexos tem sido sintetizada a partir de hidrazonas e acilhidrazonas, onde se observa que a coordenação ocorre através das formas neutras ou aniônicas, como ligantes bi- ou tridentados (Figura 2).

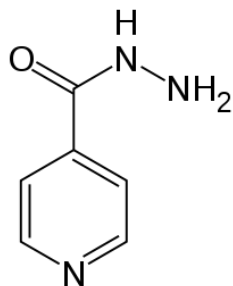


Figura 2- Exemplo geral de uma complexação tridentada entre uma *N*-acilhidrazona e um metal.



A Isoniazida (Figura 3) ou hidrazida do ácido isonicotínico (INH) é o mais antigo fármaco sintético efetivo contra a tuberculose (TB) e um dos principais quimioterápicos de primeira linha no tratamento desta doença, sendo reconhecida, já em 1952, como potente agente contra o *Mycobacterium tuberculosis*.<sup>28</sup>

Figura 3- Estrutura molecular da Isoniazida.



Apesar do tratamento da tuberculose ser eficaz e barato, custando entre US\$ 10 e 20 por um período de 6 meses, a taxa de abandono ao tratamento é muito elevada. Este abandono é devido a sua duração, efeitos colaterais como náuseas, vômitos, icterícia, perda de equilíbrio, asma, alterações visuais, diminuição da audição, neuropatia periférica e até cegueira, bem como a falta de informação e de acompanhamento dos pacientes.<sup>29</sup> Como consequência, tem-se o desenvolvimento de bactérias multirresistentes aos fármacos comumente empregados, necessitando-se assim da utilização de fármacos de

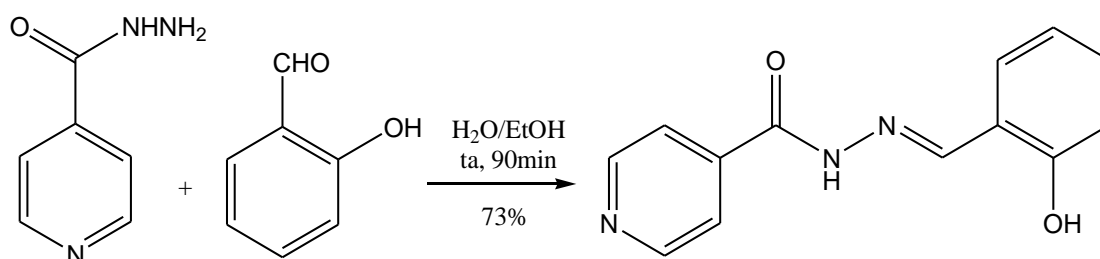
segunda escolha, bem como a busca por novos compostos com atividade antituberlostática.

Foi verificado que derivados aromáticos condensados a isoniazida (INH) apresentaram potentes atividades *in vitro* contra tal doença e não se demonstraram citotóxicos à células hospedeiras, podendo auxiliar no planejamento e síntese de novos fármacos bioativos.<sup>30</sup> Assim sendo, foi sintetizado um derivado aromático *N*-acilhidrazônico baseado no fármaco isoniazida, que será apresentado na próxima seção.

## 2.1 Resultados e Discussão

O composto *N*-acilhidrazônico (NAH) (*E*)-*N*-(2-hidroxibenzilideno)isonicotinohidrazida (Esquema 4) utilizado neste trabalho, pertence à classe de compostos azometínicos que apresentam amplo interesse por parte dos cientistas em virtude dos mesmos apresentarem importantes propriedades químicas, amplo espectro de aplicações farmacológicas<sup>17</sup> e por serem bastante versáteis para a síntese de inúmeros compostos contendo nitrogênio.<sup>19</sup>

Esquema 4- Síntese da (*E*)-*N*-(2-hidroxibenzilideno)isonicotinohidrazida.



O composto foi obtido por meio da reação entre o salicilaldeído e isonicotinohidrazida (isoniazida), obtendo-se um sólido branco com bom rendimento (73%).

A avaliação prévia do perfil tuberculostático deste composto indicou que este produto não se mostra ativo contra cepas susceptíveis ou resistentes ao *M. tuberculosis*.<sup>31</sup>

Este composto também foi selecionado, após uma triagem inicial, para ser testado *in vitro* contra 4 linhagens de células cancerígenas humanas: HCT-

116 (colon), OVCAR-8 (ovário humano), HL-60 (leucemia), e SF-295 (glioblastoma (National Cancer Institute, Bethesda, MD) utilizando o método MTT (Tabela 1).

As concentrações obtidas, expressas sob a forma de IC<sub>50</sub>, são reportadas na tabela 1.

Tabela 1- Atividade citotóxica do composto em linhagens celulares cancerígenas.

<b>Composto</b>	<b>HCT-116 IC<sub>50</sub> DP</b>	<b>OVCAR-8 IC<sub>50</sub> DP</b>	<b>HL-60 IC<sub>50</sub> DP</b>	<b>SF-295 IC<sub>50</sub> DP</b>
	2,025 1,427 a 2,873	2,021 1,857 a 2,199	2,452 2,174 a 2,766	3,366 1,814 a 6,245
<b>Doxorrubicina</b>	0,125 (0,09–0,17)	0,265 (0,17–0,305)	0,02 0,01–0,02	0,23 0,19–0,25

Pode-se concluir a partir dos resultados apresentados que o composto apresenta-se ativo, e de forma não seletiva, contra todas as linhagens testadas comparando.

É importante mencionar que, como grupamentos hidroxila localizados na posição orto em sistemas hidrazônicos são bons ligantes em complexos metálicos, o mecanismo de ação desta classe pode ser baseado na formação de complexos que são capazes de inativar enzimas envolvidas na divisão celular anormal.<sup>32</sup>

Nas análises dos espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de H<sup>1</sup>(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) (Figura 4), do composto foi possível observar a presença do grupamento hidroxila (OH) em (11,11) ppm, podemos observar um padrão de deslocamento químico do hidrogênio imínico (-CH=N-) em (8,71) ppm e o deslocamento de hidrogênio amídico (-NH-) em (12,32) ppm.

O espectro de RMN de <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) (Figura 5) mostrou os 11 sinais referentes aos carbonos da molécula, o que colaborou na caracterização deste composto, sendo que a molécula possui simetria o que justifica não mostrar os 13 sinais dos 13 carbonos. O espectro de IV em pastilha de KBr (Figura 6) as principais bandas de absorções neste composto

que podem ser observadas são em  $3002\text{ cm}^{-1}$  para hidroxila (OH), em  $1683\text{ cm}^{-1}$  referente a carbonila (C=O) e  $1567\text{ cm}^{-1}$  para ligação C=N do grupo imínico. Podemos observar o pico  $281,1\text{ m/Z}$  como resultado da análise em aparelho de cromatografia gasosa e espectro de massa.(Figura 7), características que confirmam a obtenção do composto baseado em dados analíticos espectrais.

Figura 4- Expansão de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  de (*E*)-*N*-(2-hidroxibenzilideno)isonicotinohidrazida (400MHz, DMSO- $d_6$ ).

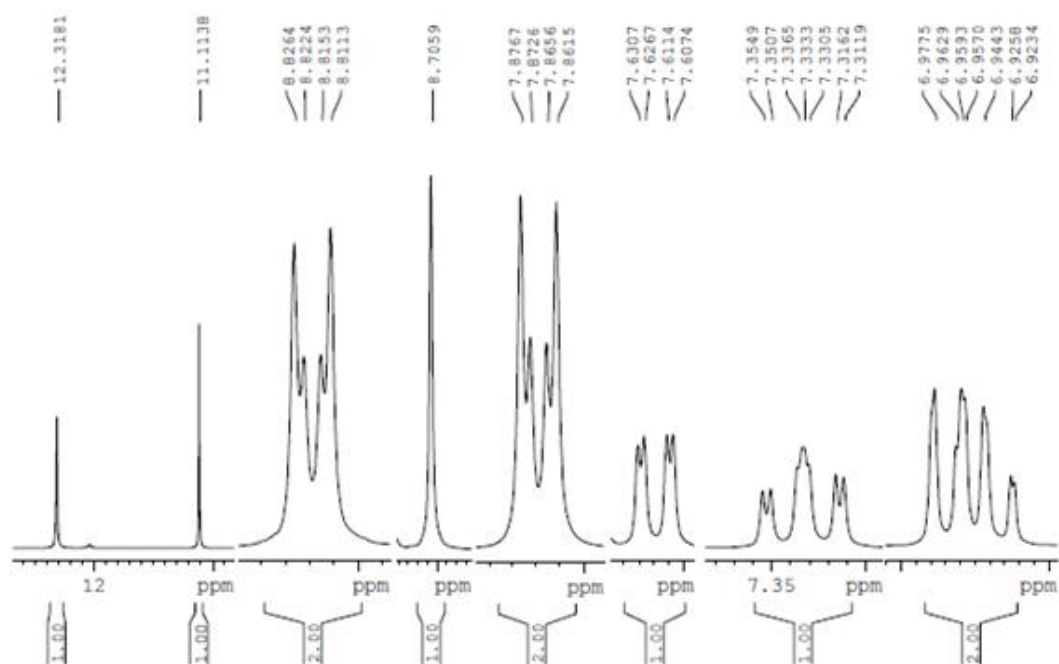


Figura 5- Expansão de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de  $^{13}\text{C}$  de (*E*)-*N*-(2-hidroxibenzilideno)isonicotinohidrazida (100MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ).

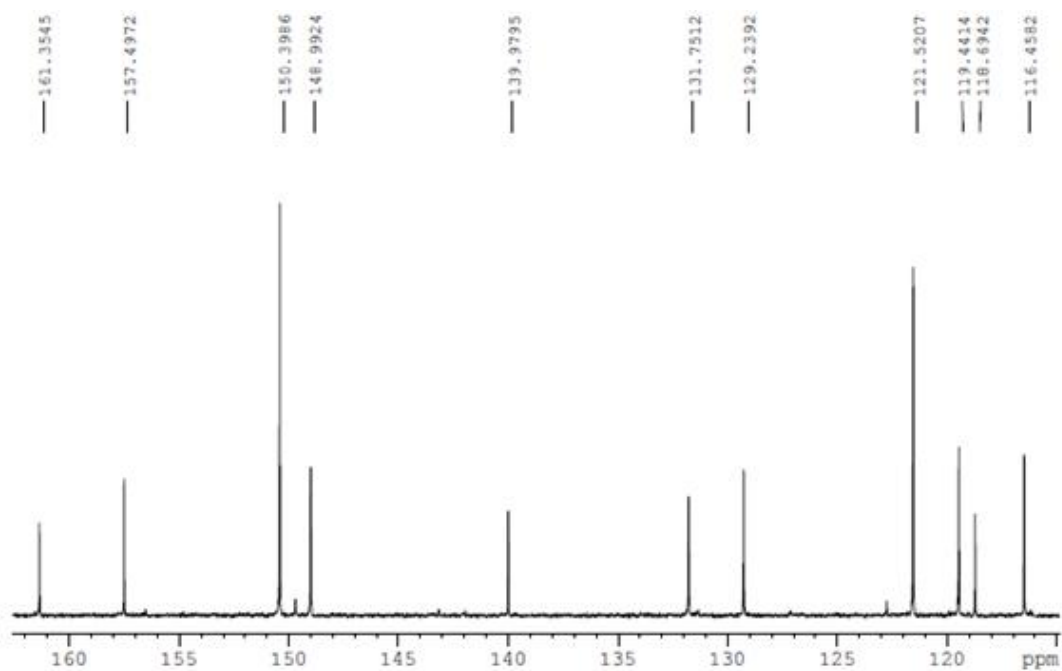


Figura 6- Expansão de Infravermelho (IV) de (*E*)-*N*-(2-hidroxibenzilideno)isonicotinohidrazida em KBr.

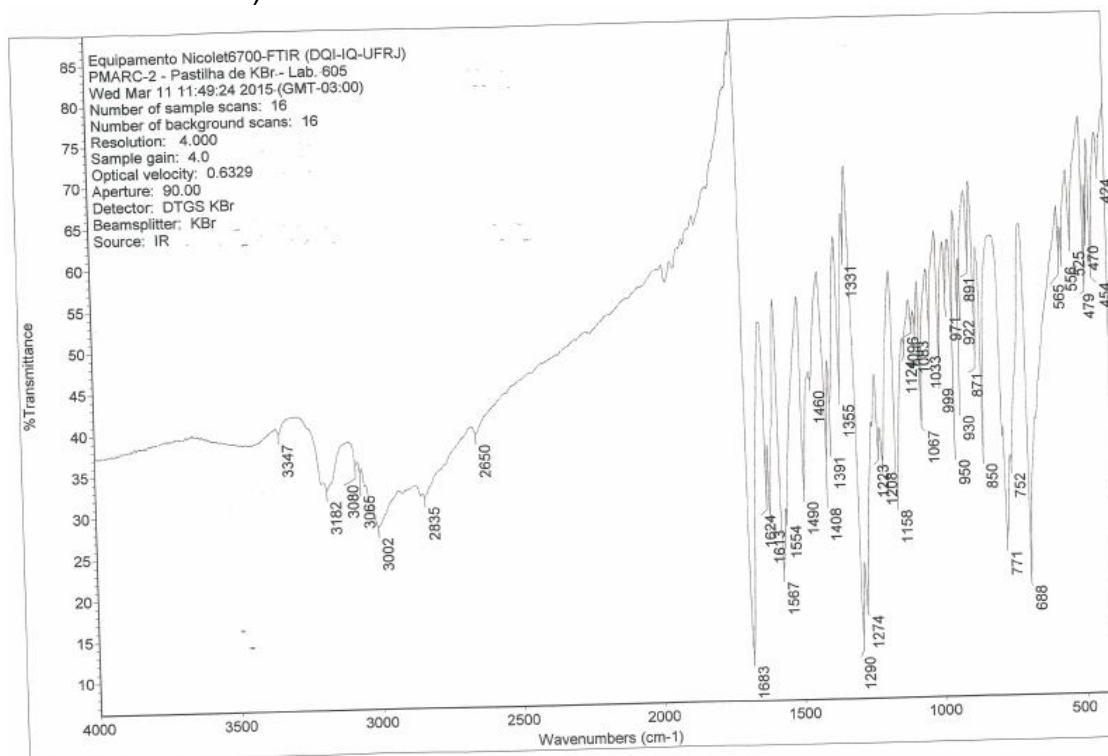
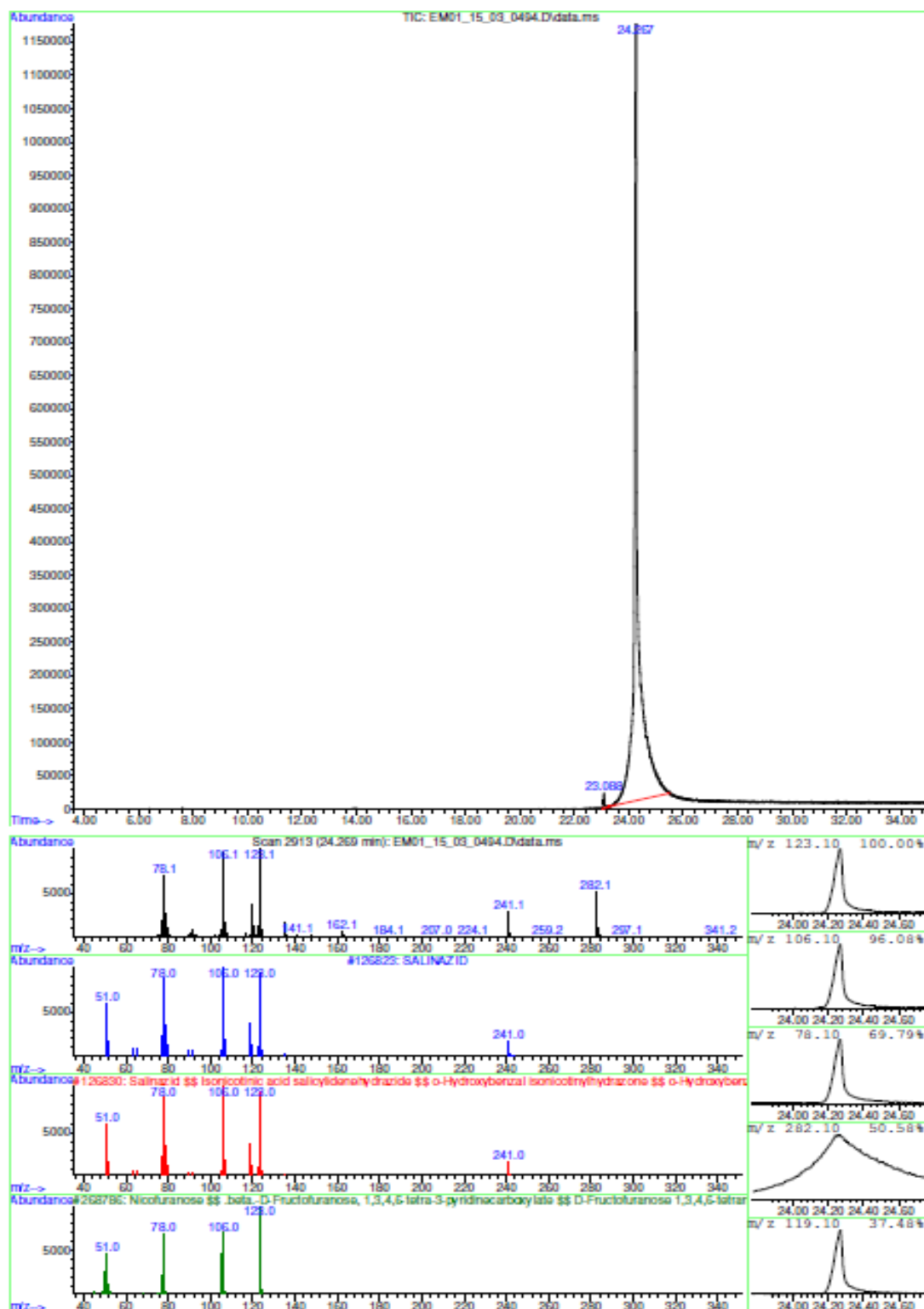


Figura 7- Cromatograma e Espectro de Massa de baixa resolução (CG/EM) de (E)-N-(2-hidroxibenzilideno)isonicotinohidrazida.



## 2.2 Experimental

### 2.2.1 Materiais

Os solventes e reagentes utilizados continham grau PA ou espectrométrico, foram cedidos pelo Laboratório de Síntese II Farmanguinhos-FIOCRUZ.

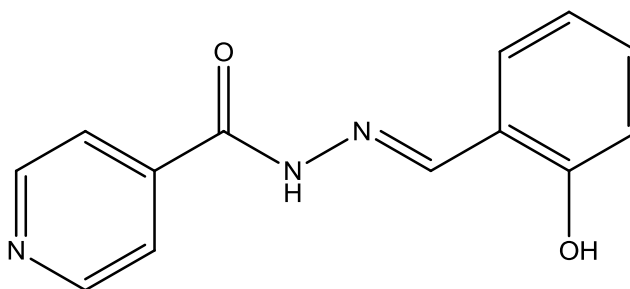
### 2.2.2 Espectro de Massa, Infravermelho (IV), Ressonância Magnética Nuclear (RMN), Ponto de fusão e Cromatografia Gasosa (CG)

O Espectro de Massa, Infra Vermelho (IV), Ressonância Magnética Nuclear (RMN), Ponto de fusão e Cromatografia Gasosa (CG) foram fornecidos pelo laboratório de análise Farmanguinhos- FIOCRUZ.

Os espectros na região de Infravermelho (IV) foram obtidos no espectrômetro FTIR modelo IRPrestige-21, do fabricante Shimadzu, utilizando-se pastilhas de KBr. Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  foram obtidos por Oxford NMR200 marca BRUKER (400 MHz para  $^1\text{H}$  e 100 MHz para  $^{13}\text{C}$ ), como padrão interno. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram medidos em unidade de parte por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hertz (Hz). As multiplicidades das bandas em RMN  $^1\text{H}$  foram indicadas segundo as convenções: s (singlete), sl (singlete largo), d (dubleto), dd (duplo dubleto), dl (dubleto largo), t (tripleto), dt (duplo tripleto), q (quarteto), sept (septeto) e m (multiplete). Os espectros de massa de baixa resolução foram obtidos no espectrômetro CGMS-QP2010 do fabricante BRUKER.

### 2.2.3 Método para Síntese do Composto (*E*)-*N*-(2-hidroxibenzilideno)isonicotinohidrazida.

Figura 8: Estrutura do composto (*E*)-*N*-(2-hidroxibenzilideno)isonicotinohidrazida.



Em um balão de fundo redondo de 25mL, equipado com agitador magnético, uma solução de isoniazida (1.0eq.) em água (5mL) foi adicionada uma solução de salicilaldeído (1.0eq.) em etanol (10mL) previamente resfriado. Após aproximadamente 1 hora e 30 minutos de agitação em temperatura ambiente evidenciou-se o término da reação por CCF, sendo a mistura reacional filtrada e o sólido obtido purificado através de lavagem com éter etílico (2x10mL) a aproximadamente 5<sup>o</sup>C. O produto foi obtido sob a forma de um sólido branco com 73% de rendimento.

- Rendimento 73 %
- Fórmula molecular: C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>
- Ponto de fusão: 253<sup>o</sup>C
- RMN <sup>1</sup>H (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 12,32 (1H; s; NH); 11,11 (1H; s; OH); 8,82 (2H; dd; J= 4,4 Hz e J=1,6 Hz; H3 e H5); 8,71 (1H; s; N=CH); 7,87 (1H, dd; J= 4,4 Hz e J= 1,6 Hz; H2 e H6); 7,62 (1H; dd; J= 7,7 Hz e J= 1,6 Hz; H6); 7,33 (1H, dt, J= 7,4 Hz e J= 1.6 Hz; H4); 6,95 (1H, m, H5); 6,93 (1H, dd, J= 7,4 Hz e J= 1,0 Hz; H3) ppm.
- RMN <sup>13</sup>C (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 161,4; 157,5; 150,4; 150,4; 149,0; 140,0; 131,8; 129,2; 121,5; 121,5; 119,4; 118,7; 116,4 ppm.
- IV (cm<sup>-1</sup>; KBr): 3002 (OH); 1683 (CO); 1567 (C=N).
- CG/EM: 281,1 m/Z .

### 3. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi sintetizado o *N*-(2-hidroxibenzilideno)isonicotinohidrazida.

A rota sintética utilizada para a síntese da molécula mostrou-se ser simples e eficaz uma vez que se obteve 73% de rendimento. A estrutura química foi elucidada por meio de espectrometria de RMN- <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, IV e CG/EM. A partir desta molécula pode-se iniciar o estudo de suas propriedades farmacológicas, principalmente como quelante de ferro, explorar a versatilidade dos compostos *N*- acilhidrazônicos na obtenção de outros núcleos heterocíclicos biologicamente importantes, fazer estudos de toxicidade *in vitro* e realizar modificações estruturais afim de identificar protótipos com atividade



farmacológica. Este trabalho é uma abordagem no estudo de bases de Schiff como ferramentas da Química Medicinal.

#### 4.REFERÊNCIAS

1. BARREIRO, Eliezer. *et al* . A química medicinal de N-acilidrazonas: novos compostos-protótipos de fármacos analgésicos, antiinflamatórios e anti-trombóticos. **Quím. Nova**, v. 25, n. 1, p. 129-148, fev. 2002 . Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422002000100022&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422002000100022&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em 17 out. 2016.
2. COHEN, Seth M. New approaches for medicinal applications of bioinorganic chemistry. **Current Opinion In Chemical Biology**, v. 11, n. 2, p.115-120, abr. 2007.
3. BENITE, Anna; MACHADO, Sérgio; BARREIRO, Eliezer. Uma visão da química bioinorgânica medicinal. **Quím. Nova**, v. 30, n. 8, p. 2062-2067, 2007. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422007000800045&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000800045&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em 17 out. 2016.
4. BARAN, Enrique. Suplementação de elementos-traços. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, v.6, p.7, jul. 2005 . Disponível em <<http://qnesc.sbq.org.br/online/cadernos/06/a04.pdf>>. Acesso em 16 de out. 2016.
5. GROTO, Helena. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter**, v. 30, n. 5, p. 390-397, Out. 2008. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-84842008000500012&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842008000500012&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em 17 Out. 2016.
6. UYEMURA, Makoto; AIDA, Takuzo. Steric Control of Organic Transformation by a Dendrimer Cage: Organocobalt Dendrimer Porphyrins as Novel Coenzyme B 12 Mimics. **J. Am. Chem. Soc**, v. 124, n. 38, p.11392-11403, set. 2002.
7. ROAT-MALONE, Rosette. Bioinorganic chemistry: A Short Course. Washington College Chestertown, **John Wiley & Sons**, Inc, 2002. Disponível em <[http://www.quimica.ufpr.br/nunesgg/QIM\\_PG/QIM\\_books/Bioinorganic\\_chemistry\\_a\\_Short\\_Course-Rosette.pdf](http://www.quimica.ufpr.br/nunesgg/QIM_PG/QIM_books/Bioinorganic_chemistry_a_Short_Course-Rosette.pdf)>. Acesso em 14 out. 2016.
8. KOLBERG, Matthias. *et al*. Structure, function, and mechanism of ribonucleotide reductases. **Biochimica Et Biophysica Acta (bba) - Proteins And Proteomics**, v. 1699, n. 1-2, p.1-34, jun. 2004.
9. ANDREWS, Nancy. Iron homeostasis: insights from genetics and animal models. **Nature Reviews Genetics**, v. 1, n. 3, p.208-217, 1 dez. 2000.
10. CAPPELLINI, M. A phase 3 study of deferasirox (ICL670), a once-daily oral iron chelator, in patients with beta-thalassemia. **Blood**, v. 107, n. 9, p.3455-3462, 1 maio 2006.
11. ARANTES, Jerusa. *et al*. Trypanosoma cruzi: Desferrioxamine decreases mortality and parasitemia in infected mice through a trypanostatic

effect. **Experimental Parasitology**, v. 128, n. 4, p.401-408, ago. 2011. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014489411001603>>. Acesso em 20 out. 2016.

12. MALAFAIA, Guilherme. *et al.* Leishmania chagasi: Effect of the iron deficiency on the infection in BALB/c mice. **Experimental Parasitology**, v. 127, n. 3, p.719-723, mar. 2011. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014489410003516>>. Acesso em 20 out. 16.

13. MITTAL, S. *et al.* Susceptibility-Weighted Imaging: Technical Aspects and Clinical Applications, Part 2. **American Journal Of Neuroradiology**, v. 30, n. 2, p.232-252, 11 nov. 2008.

14. FALANGOLA, Maria. *et al.* Histological Co-Localization of Iron in Plaques of PS/APP Transgenic Mice. **Neurochemical Research**, v. 30, n. 2, p.201-205, fev. 2005.

15. RICHARDSON, D. *et al.* Cancer cell iron metabolism and the development of potent iron chelators as anti-tumour agents. **Biochimica Et Biophysica Acta (bba) - General Subjects**, v. 1790, n. 7, p.702-717, jul. 2009.

16. LANE, Darius. *et al.* Expanding horizons in iron chelation and the treatment of cancer: Role of iron in the regulation of ER stress and the epithelial–mesenchymal transition. **Biochimica Et Biophysica Acta (bba) - Reviews On Cancer**, v. 1845, n. 2, p.166-181, abr. 2014.

17. ROLLAS, Sevim; KÜÇÜKGÜZEL, S. Biological Activities of Hydrazone Derivatives. **Molecules**, v. 12, n. 8, p.1910-1939, 17 ago. 2007.

18. CHITRAPRIYA, Nataraj. *et al.* Novel Ru(II) oximate complexes with silent oxygen atom: Synthesis, chemistry and biological activities. **Inorganica Chimica Acta**, v. 361, n. 9-10, p.2841-2850, jun. 2008.

19. SUGIURA, Masaharu; KOBAYASHI, Shū. N-Acylhydrazones as Versatile Electrophiles for the Synthesis of Nitrogen-Containing Compounds. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, n. 33, p.5176-5186, 19 ago. 2005.

20. VICINI, Paola. *et al.* Hydrazones of 1,2-benzisothiazole hydrazides: synthesis, antimicrobial activity and QSAR investigations. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 37, n. 7, p.553-564, jul. 2002.

21. RAGAVENDRAN, Jegadeesan. *et al.* Design and synthesis of anticonvulsants from a combined phthalimide–GABA–anilide and hydrazone pharmacophore. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 42, n. 2, p.146-151, fev. 2007.

22. NASKAR, Subhendu. *et al.* Versatility of 2,6-diacetylpyridine (dap) hydrazones in generating varied molecular architectures: Synthesis and structural characterization of a binuclear double helical Zn(ii) complex and a Mn(ii) coordination polymer. **Dalton Transactions**, n. 11, p.1150-1159, 2007.

23. MANIKANDAN, R.; VISWANATHAMURTHI, P.; MUTHUKUMAR, M. Ruthenium(II) hydrazone Schiff base complexes: Synthesis, spectral study and catalytic applications. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 83, n. 1, p.297-303, dez. 2011.

24. AVAJI, Prakash. *et al.* Synthesis, spectral characterization, in-vitro microbiological evaluation and cytotoxic activities of novel macrocyclic bis hydrazone. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 9, p.3552-3559, set. 2009.
25. PINTO, Juan; MORENO, Carlos; GARCÍA-VARGAS, Manuel. A very sensitive flow system for the direct determination of copper in natural waters based on spectrophotometric detection. **Talanta**, v. 64, n. 2, p.562-565, 8 out. 2004.
26. RODRÍGUEZ-ARGÜELLES, María. *et al.* Antibacterial and antifungal activity of metal(II) complexes of acylhydrazones of 3-isatin and 3-(N-methyl)isatin. **Polyhedron**, v. 28, n. 11, p.2187-2195, jul. 2009.
27. BUSS, J.; NEUZIL, J.; PONKA, P. The role of oxidative stress in the toxicity of pyridoxal isonicotinoyl hydrazone (PIH) analogues. **Biochm. Soc. Trans.**, v. 30, n. 4, p.755-758, ago. 2002.
28. TIMMINS, Graham; DERETIC, Vojo. Mechanisms of action of isoniazid. **Molecular Microbiology**, v. 62, n. 5, p.1220-1227, dez. 2006.
29. SOUZA, Marcus ; VASCONCELOS, Thatyana. Fármacos no Combate à Tuberculose: Passado, Presente e Futuro. **Quim. Nova**, v. 28, n. 4, p.678-682, fev. 2005.
30. HEARN, Michael. *et al.* Preparation and antitubercular activities in vitro and in vivo of novel Schiff bases of isoniazid. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 10, p.4169-4178, out. 2009.
31. COELHO, Tatiane. *et al.* In vitro anti-mycobacterial activity of (E)-N'-(monosubstituted-benzylidene) isonicotinohydrazide derivatives against isoniazid-resistant strains. **Infectious Disease Reports**, v. 4, p. 49-51, 2012.
32. RODRIGUES, Felipe. Biological Evaluation of Isoniazid Derivatives as an Anticancer Class. **Scientia Pharmaceutica**, v. 82, n. 1, p.21-28, 2014.