

SÍNTESE E AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E ANTIFÚNGICA DE DERIVADOS *N*-ACILIDRAZÔNICOS

Thomas Haruo Cachiba, Bruno Demartini Carvalho e Diogo Teixeira Carvalho\*

Departamento de Alimentos e Medicamentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alfenas, Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, 37130-000 Alfenas – MG, Brasil

Marina Cusinato, Clara Gavião Prado e Amanda Lateralcia Tranches Dias

Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Alfenas, Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, 37130-000 Alfenas – MG, Brasil

Recebido em 5/1/12; aceito em 9/4/12; publicado na web em 26/6/12

SYNTHESIS AND PRELIMINARY EVALUATION OF *N*-ACYLHYDRAZONE COMPOUNDS AS ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL AGENTS. We describe the synthesis and evaluation of *N*-acylhydrazone compounds bearing different electron-donating groups in one of its aromatic rings, obtained using a four-step synthetic route. IC<sub>50</sub> values against pathogenic fungi and bacteria were determined by serial microdilution. Compounds showed low activity against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. By contrast, a derivative with a *meta*-oriented electron-donating group showed significant activity (IC<sub>50</sub>) against *Candida albicans* (17 μM), *C. krusei* (34 μM) and *C. tropicalis* (17 μM). Results suggest this is a promising lead-compound for synthesis of potent antifungal agents.

Keywords: *N*-acylhydrazones; antibacterial activity; antifungal activity.

## INTRODUÇÃO

A pesquisa por novos antimicrobianos constitui uma das estratégias para evitar o insucesso nos tratamentos anti-infecciosos, causado pela emergência de microrganismos resistentes. Embora o uso inadequado desses fármacos seja um dos principais fatores para o surgimento de linhagens resistentes, sabe-se que a busca por fármacos inovadores que atuem em rotas bioquímicas ainda não exploradas representa um caminho importante para o sucesso da quimioterapia antibacteriana e antifúngica.<sup>1</sup>

As subunidades estruturais hidrazona e acilidrazona estão presentes em diversas substâncias com atividades biológicas bem relatadas e que podem ser utilizadas como modelos para o planejamento de candidatos a novos fármacos. Foram descritas, para diversos compostos dessa natureza, ação antiviral,<sup>2</sup> antiparasitária, antimicrobiana, anticonvulsivante,<sup>3</sup> analgésica e anti-inflamatória,<sup>4</sup> e antiproliferativa de células tumorais<sup>5</sup>. A ação anti-HIV de hidrazonas benzilisotiazólicas e de quinolínicas foi relatada recentemente,<sup>6</sup> ao passo que essas últimas também exibiram efeito antitumoral pronunciado, possivelmente relacionado à capacidade queladora de íons metálicos. A ação antiparasitária de um conjunto de *N*-acilidrazonas sobre o protozoário *Trypanosoma cruzi* foi bem descrita por Romeiro e colaboradores,<sup>7</sup> que demonstraram a ação inibitória do crescimento *in vitro* de formas epimastigotas desse protozoário, enquanto Melnyk *et al.*<sup>8</sup> prepararam uma coleção de acilidrazonas ativas contra linhagens de *Plasmodium falciparum* resistentes à cloroquina. Outros autores relataram atividade antimicrobiana de hidrazonas contra uma ampla variedade de bactérias e fungos. Alguns desses compostos mostraram atividade antifúngica, além de ação antibacteriana equivalente à da ceftriaxona frente a *Staphylococcus aureus*.<sup>9</sup> Masunari e Tavares<sup>10</sup> demonstraram efeito antibacteriano expressivo de análogos da nifuroxazida, uma acilidrazona, contra linhagens multirresistentes de *S. aureus*. Moreau e colaboradores<sup>11</sup> descreveram atividade antifúngica contra espécies do gênero *Candida* de uma série de hidrazonas construídas a partir

de xantonas naturais. Algumas delas foram ativas inclusive contra a espécie *C. krusei*, problemática quando se considera a intervenção com azóis. Foi encontrada atividade expressiva contra o fungo *Paracoccidioides brasiliensis* por Visbal e colaboradores<sup>12</sup> com derivados hidrazônicos de esteróis, provavelmente por atuarem na via de síntese do ergosterol fúngico. Acilidrazonas de ácidos quinolino-carboxílicos foram sintetizadas por Metwally<sup>13</sup> e exibiram atividades antibacteriana e antifúngica significativas contra *Escherichia coli* e *Candida albicans*, embora nenhuma atividade frente ao *S. aureus*.

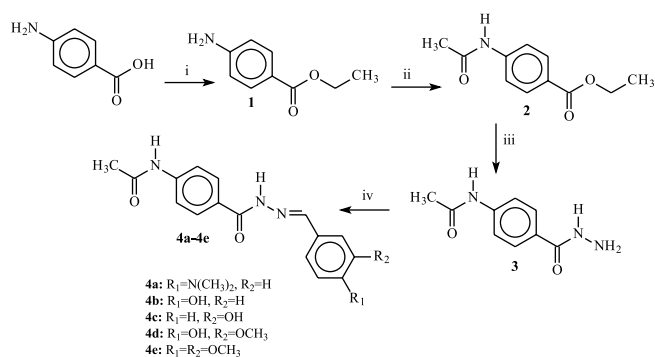
Com base no exposto, e tendo em vista o potencial antimicrobiano de substâncias que contenham a subunidade hidrazona, nosso grupo de pesquisa sintetizou uma série de cinco acilidrazonas e avaliou, pela primeira vez, o perfil de sensibilidade de bactérias e fungos patogênicos de linhagens padronizadas frente a esses derivados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A rota de síntese para a obtenção dos produtos planejados é mostrada na Figura 1. A obtenção dos derivados acilidrazônicos iniciou-se com a preparação do intermediário hidrazida, preparado em duas etapas a partir da esterificação do ácido 4-aminobenzoico, seguido da hidrazinólise desse éster com hidrato de hidrazina. As reações que levaram à obtenção dessa hidrazida compreenderam a sequência sintética mais comumente empregada nesse sentido. Os rendimentos obtidos para os intermediários **1**, **2** e **3** foram ligeiramente inferiores aos relatados, todavia obtidos em quantidade e pureza suficientes para as reações seguintes pretendidas.

A síntese de hidrazonas e acilidrazonas é feita, classicamente, por meio da condensação de aldeídos com hidrazinas e hidrazidas, respectivamente.<sup>14</sup> O emprego de catálise ácida (ácido clorídrico, acético ou 4-toluenossulfônico, por exemplo) é relatado nas reações à temperatura ambiente ou, na ausência desses, reações em aquecimento sob refluxo.<sup>15</sup> Essa reação se desenvolve bem em uma ampla variedade de solventes orgânicos e foi também relatada a obtenção de hidrazonas em meio aquoso ou na ausência de solventes, condições estas favorecidas pelo uso de irradiação ultrassônica ou de

\*e-mail: diogo.carvalho@unifal-mg.edu.br



**Figura 1.** Rota de síntese dos derivados *N*-acilidrazônicos **4a-4e** (i: EtOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> cat., refluxo; ii: Ac<sub>2</sub>O, MeOH, t.a.; iii: NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, EtOH, t.a.; iv: ArCHO, EtOH, t.a.)

micro-ondas,<sup>16</sup> respectivamente. Nesse trabalho elegeram-se como condições reacionais o uso do solvente etanol, ácido clorídrico como catalisador e temperatura ambiente durante todo o curso da reação. Mesmo sendo condições clássicas, a escolha foi eficaz, uma vez que em um curto intervalo de tempo (2-4 h) observou-se o consumo dos materiais de partida e o surgimento dos produtos desejados na forma de sólidos puros, isolados por filtração a pressão reduzida, em rendimentos médios a elevados. Não foi observada, pela análise de CCD, formação de subprodutos.

Os intermediários **1**, **2** e **3**, já descritos, foram caracterizados por determinação de ponto de fusão e espectroscopia na região do infravermelho. Os produtos finais **4a-4e** (Tabela 1) foram adicionalmente analisados por ressonância magnética nuclear de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. Pôde ser observado pelos espectros no IV das substâncias **4a-4e** as bandas relativas à deformação axial de NH da subunidade acilidrazônica e amídica na região de 3380-3219 cm<sup>-1</sup>. Duas bandas de carbonila, relativas às mesmas subunidades, foram observadas no intervalo de 1684-1666 e 1645-1633 cm<sup>-1</sup>, respectivamente.

**Tabela 1.** Dados dos produtos acilidrazônicos **4a-4e**

Produto	R	R'	REND (%)	P.F. (°C)	Fórmula
<b>4a</b>	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	84	266-269	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>
<b>4b</b>	OH	H	77	305-307	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>
<b>4c</b>	H	OH	68	282-285	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>
<b>4d</b>	OH	OCH <sub>3</sub>	68	271-275	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>
<b>4e</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	48	251-255	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>

**Tabela 2.** Valores de menor concentração inibitória de 50% do crescimento microbiano (CI50, μM) determinados *in vitro* para os produtos **4a-4e**

Substância	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	<i>C. krusei</i> ATCC 6258	<i>C. tropicalis</i> ATCC 750
<b>4a</b>	770	1540	3090	770	310	770
<b>4b</b>	840	3360	3370	1680	NI <sup>a</sup>	3370
<b>4c</b>	3370	1680	3370	17,0	34,0	17,0
<b>4d</b>	380	3070	3060	240	120	1530
<b>4e</b>	730	360	1470	NI <sup>a</sup>	730	2930
Cloranfenicol	0,20	1,50	51,0	–	–	–
Fluconazol	–	–	–	1,0	NI <sup>a</sup>	3,0

<sup>a</sup> NI: inibição não observada com qualquer uma das concentrações avaliadas.

A formação e pureza das acilidrazonas puderam ser confirmadas pela análise de seus espectros de RMN. Na região de δ 11,73-11,53 ppm observou-se sinal de ressonância relativo ao hidrogênio da subunidade CONHN=C, enquanto o sinal na região de 10,28-10,24 ppm foi atribuído ao hidrogênio ácido do grupo acetamídico. Os produtos foram obtidos exclusivamente na forma do diastereoisômero *E*. Essa configuração relativa foi atribuída a partir do sinal de ressonância do hidrogênio imínico N=CH, observado na região de δ 8,36-8,23 ppm, nos espectros de todas as acilidrazonas. Conforme relatado anteriormente,<sup>17</sup> a presença de sinal único nessa região indica a existência desse estereoisômero apenas. Por outro lado, sinal com deslocamento químico por volta de δ 7,9 ppm está relacionado ao isômero de configuração relativa *Z*. Os padrões de acoplamento típicos de sistemas aromáticos 1,4-dissubstituídos (**4a** e **4b**), 1,3-dissubstituídos (**4c**) e 1,2,4-trissubstituídos (**4d** e **4e**) foram claramente observados, o que veio corroborar a formação dos produtos pretendidos. Os sinais observados, nos espectros de RMN de <sup>13</sup>C, na faixa de δ 170,65-168,68 e 162,62-161,34 ppm, referem-se, respectivamente, às carbonilas do grupo acetamida e à do grupo acilidrazona. O sinal relativo ao carbono da subunidade C=N foi evidenciado na região de δ 149,41-147,67 ppm.

As cinco acilidrazonas obtidas foram investigadas pelo método de microdiluição seriada frente a seis microrganismos patogênicos (fungos *C. albicans*, *C. krusei* e *C. tropicalis*, bactérias *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*). A atividade antimicrobiana dos produtos pode ser observada na Tabela 2 e foi expressa na forma de valores de menor concentração inibitória de 50% do crescimento microbiano (CI50 em μM).

Pode-se perceber que as acilidrazonas apresentaram atividade antibacteriana inferior contra as espécies avaliadas, quando comparada aos valores de CI50 observados com o cloranfenicol, fármaco antibacteriano usado como padrão. Frente à *P. aeruginosa* as substâncias **4a-4d** foram cerca de 60 vezes menos ativas que o cloranfenicol, enquanto que a **4e**, 30 vezes. Quando avaliadas contra *S. aureus* e *E. coli* essa diferença é, todavia, cerca de mil vezes maior.

Por outro lado, a atividade antifúngica de alguns dos produtos foi expressiva ao ser comparada à do fluconazol (CI50 de 3,3 μM), eleito como fungistático referência neste trabalho. O derivado **4c**, com anel benzênico *meta*-substituído com hidroxila, mostrou-se como o mais ativo entre todos, com valores de CI50 de 16,8 μM. É importante destacar que, mesmo ainda sendo 5 vezes menos ativo que o fluconazol contra *C. albicans* e *C. tropicalis*, seu efeito inibitório estendeu-se à espécie *C. krusei*, naturalmente resistente ao esse antifúngico padrão.<sup>18</sup> Notavelmente, a substância **4b**, regioisômero *para*-hidroxilado de **4c**, não foi ativa contra *C. krusei* e mostrou-se, em valores absolutos, cerca de 100 e 200 vezes menos ativa que **4c** frente a *C. albicans* e *C. tropicalis*, respectivamente. A atividade do produto **4d**, que possui um de seus anéis benzênicos 3,4-dissubstituído com os grupos metoxila e hidroxila foi inferior a **4c**, todavia o segundo produto mais ativo da série, com valores de CI50 de 244 e 122 μM, respectivamente, para *C. albicans* e *C. krusei*.

Em vista desses resultados, nossa equipe está preparando uma série mais extensa de acilidrazonas, análogas do derivado **4c**, para avaliação aprofundada das relações estrutura-atividade e otimização do efeito antifúngico.

## CONCLUSÕES

Neste trabalho foram preparadas cinco acilidrazonas e, pela primeira vez, foram avaliadas como antimicrobianas. Análises de RMN evidenciaram a presença exclusiva do diastereoisômero de configuração relativa *E*. Na avaliação da sensibilidade bacteriana e fúngica frente a essas substâncias, não foi observada atividade de destaque contra as bactérias empregadas no ensaio. Por outro lado, pode-se destacar a atividade antifúngica do derivado **4c** que apresentou CI<sub>50</sub> de 33,7 µM contra *C. krusei*, não responsiva ao antifúngico fluconazol e responsável por infecções de grau significativo, especialmente em pacientes imunocomprometidos.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Síntese

Os reagentes empregados na obtenção dos produtos foram de grau analítico e não passaram por purificação prévia ao uso. A determinação das faixas de fusão foi realizada em aparelho Buchi modelo 535 empregando-se capilares de vidro e os valores não foram corrigidos. Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em espectrômetro de infravermelho Spectrum One - Perkin Elmer acoplado a acessório de reflectância difusa. As absorções foram relatadas em número de ondas  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>). Os espectros de ressonância magnética nuclear de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C foram obtidos em espectrômetro Avance DPX 200—Brucker empregando tetrametilsilano ou dimetilsulfóxido deuterado como referência interna, sendo os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) descritos em ppm e as constantes de acoplamento (*J*) em Hertz (Hz). As atribuições das bandas no IV e de sinais de RMN, especialmente os relativos à subunidade acilidrazônica, foram feitas baseando-se em dados de trabalhos relacionados.<sup>19</sup> A evolução das reações foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando cromatoplaças de sílica gel com indicador de fluorescência (Merck). Os sistemas de eluentes empregados estão especificados em cada procedimento. Como revelador foi empregada exposição à luz ultravioleta (254 nm) e a vapores de iodo metálico.

### Síntese do 4-aminobenzoato de etila (1)

O 4-aminobenzoato de etila foi obtido por esterificação do ácido 4-aminobenzoico com álcool etílico em meio ácido sob refluxo, conforme método descrito por Zheng e colaboradores.<sup>20</sup>

Aspecto físico: sólido branco; rend.: 80%; p.f. 90-91 °C (lit.<sup>21</sup> 89-92 °C).

### Síntese do 4-(acetilamino)benzoato de etila (2)

A uma solução de 2,42 g (14,6 mmol) do intermediário **1** em 10 mL de metanol foram adicionados 3,4 mL de anidrido acético. A mistura foi deixada sob agitação magnética à temperatura ambiente por 2 h, quando se observou, por CCD (hexano/acetato de etila 7:3), a conversão de todo o material de partida. O solvente foi eliminado em rotaevaporador e ao resíduo obtido adicionado água. Por trituração nesse solvente foi formado um produto sólido, na sequência separado por filtração a pressão reduzida.

Aspecto físico: sólido amarelo claro; rend.: 91%; p.f. 99,5-103 °C

(lit.<sup>21</sup> 100-101°C); IV ( $\nu$ , cm<sup>-1</sup>): 3331 (NH), 1704 (C=O éster), 1678 (C=O amida), 1608, 1596, 1523 (C=C).

### Síntese da *N*-[4-(hidrazinocarbonil)fenil]acetamida (3)

O procedimento empregado é uma adaptação da metodologia descrita por Fox e colaboradores.<sup>22</sup> A uma solução de 0,5 g (2 mmol) do éster **2** em 20 mL de etanol absoluto adicionou-se, sob agitação e gradualmente, hidrato de hidrazina 80% v/v até um total de 40 mmol. Manteve-se a solução sob agitação magnética à temperatura ambiente e, após um período de 8 h, verificou-se o consumo de todo o material de partida por CCD (hexano/acetato de etila 1:1) e a formação de suspensão amarelada. O produto **3** foi então separado por filtração à pressão reduzida, o sólido retido lavado com etanol gelado e deixado sob secagem em dessecador.

Aspecto físico: sólido amarelo claro; rend.: 79%; p.f. 275,3-276,5 (lit.<sup>22</sup> 288-289°C); IV ( $\nu$ , cm<sup>-1</sup>): 3312 (NH), 1667 (C=O amida), 1615 (C=O hidrazida), 1610, 1588, 1521, 1498 (C=C).

### Síntese dos derivados *N*-acilidrazônicos (4a-4e)

#### Procedimento geral

A uma solução de 0,35 g (1,8 mmol) da hidrazida **3** em 25 mL de etanol foi adicionada quantidade equimolar do aldeído aromático (4-*N,N*-dimetilaminobenzaldeído, 4-hidroxibenzaldeído, 3-hidroxibenzaldeído, 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído ou 3,2-dimetoxibenzaldeído) dissolvido em quantidade mínima de etanol. Em seguida, adicionou-se 0,2 mL de ácido clorídrico concentrado e a mistura foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente. Quando foi observado por CCD (acetato de etila/metanol 9:1) o consumo de todo o material de partida, separou-se o sólido formado por filtração à pressão reduzida. Os produtos não necessitaram purificação adicional.

#### *N*-[4-((2*E*)-2-[4-(dimetilamino)benzilideno]hidrazino)carbonil]fenil]acetamida (**4a**)<sup>23</sup>

Aspecto físico: sólido alaranjado claro; rend.: 84%; p.f. 266-269°C; IV ( $\nu$ , cm<sup>-1</sup>): 3380, 3306, 1681, 1639, 1619. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>/ppm)  $\delta$ : 11,53 (s, 1H, NH), 10,28 (s, 1H, NH), 8,23 (s, 1H, N=CH), 7,82 (d, 2H, *J*=8,6Hz, H-3 e H-5), 7,65 (d, 2H, *J*=8,6Hz, H-2 e H-6), 7,54 (d, 2H, *J*=8,6Hz, H-2' e H-6'), 6,72 (d, 2H, *J*=8,6Hz, H-3' e H-5'), 2,93 (s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2,06 (s, 1H, CH<sub>3</sub>). RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>/ppm)  $\delta$ : 170,17 (C=O amida); 163,46 (C=O hidrazona); 151,99 (C<sub>arom</sub>); 149,31 (C=N); 142,49; 128,96; 122,20; 118,89 e 112,24 (C<sub>arom</sub>); 40,18 (2 x N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 24,37 (CH<sub>3</sub>CO).

#### *N*-[4-((2*E*)-2-(4-hidroxibenzilideno)hidrazino)carbonil]fenil]acetamida (**4b**)<sup>23</sup>

Aspecto físico: sólido amarelo claro; rend.: 77%; p.f. 305-307 °C; IV ( $\nu$ , cm<sup>-1</sup>): 3340, 3261, 1684, 1641, 1604. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>/ppm)  $\delta$ : 11,59 (s, 1H, NH), 10,24 (s, 1H, NH), 10,08 (s, 1H, OH), 8,32 (s, 1H, N=CH), 7,86 (d, 2H, *J*=8,6Hz, H-3 e H-5), 7,69 (d, 2H, *J*=8,6Hz, H-2 e H-6), 7,56 (d, 2H, *J*=8,4Hz, H-2' e H-6'), 6,83 (d, 2H, *J*=8,4Hz, H-3' e H-5'), 2,08 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>/ppm)  $\delta$ : 169,04 (C=O amida); 162,62 (C=O acilidrazona); 159,43 (C<sub>arom</sub>); 148,10 (C=N); 142,34; 128,97; 127,74; 125,45; 118,37 e 115,81 (C<sub>arom</sub>); 24,17 (CH<sub>3</sub>CO).

#### *N*-[4-((2*E*)-2-(3-hidroxibenzilideno)hidrazino)carbonil]fenil]acetamida (**4c**)<sup>24</sup>

Aspecto físico: sólido branco; rend.: 68%; p.f. 282-285°C; IV ( $\nu$ , cm<sup>-1</sup>): 3317, 3222, 1678, 1645, 1610. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>/ppm)  $\delta$ : 11,73 (s, 1H, NH), 10,25 (s, 1H, NH), 9,71 (s, 1H, OH), 8,34 (s, 1H, N=CH), 7,88 (d, 2H, *J*=8,6Hz, H-3 e H-5), 7,70 (d, 2H, *J*=8,6Hz,

H-2 e H-6), 7,28 – 6,80 (m, 4H, H-2', H-3', H-4' e H-6'), 2,08 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>/ppm) δ: 168,95 (C=O amida); 161,34 (C=O acilidrazona); 157,70 (C<sub>arom</sub>); 148,00 (C=N); 142,47; 136,01; 130,00; 128,66; 127,55; 118,88; 118,37; 117,49 e 112,77 (C<sub>arom</sub>); 24,18 (CH<sub>3</sub>CO).

*N*-(4-[[*(2E)*-2-(4-hidroxi-3-metoxibenzilideno)hidrazino]carbonil]fenil)acetamida (**4d**)<sup>24</sup>

Aspecto físico: sólido amarelo claro; rend.: 68%; p.f. 271-275°C; IV (v, cm<sup>-1</sup>): 3305, 3219, 1666, 1633, 1609. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>/ppm) δ: 11,62 (s, 1H, NH), 10,24 (s, 1H, NH), 9,55 (sl, 1H, OH), 8,36 (s, 1H, N=CH), 7,89 (d, 2H, *J*=8,6Hz, H-3 e H-5), 7,72 (d, 2H, *J*=8,6Hz, H-2 e H-5), 7,32 (s, 1H, H-6'), 7,08 (d, 1H, *J*=8Hz, H-2'), 6,85 (d, 1H, *J*=8Hz, H-3'), 3,83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2,1 (s, 1H, CH<sub>3</sub>). RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>/ppm) δ: 168,68 (C=O amida); 162,32 (C=O acilidrazona); 148,82 (C<sub>arom</sub>); 147,94 (C=N); 142,19; 128,38; 127,60; 125,71; 122,04; 118,08; 115,34 e 108,77 (C<sub>arom</sub>); 55,43 (OCH<sub>3</sub>); 24,03 (CH<sub>3</sub>CO).

*N*-(4-[[*(2E)*-2-(3,4-dimetoxibenzilideno)hidrazino]carbonil]fenil)acetamida (**4e**)<sup>23</sup>

Aspecto físico: sólido amarelo claro; rend.: 48%; p.f. 251-255°C; IV (v, cm<sup>-1</sup>): 3326, 3258, 1674, 1636, 1611. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>/ppm) δ: 11,68 (s, 1H, NH), 10,25 (s, 1H, NH), 8,35 (s, 1H, N=CH), 7,86 (d, 2H, *J*=8,6Hz, H-3 e H-5), 7,69 (d, 2H, *J*=8,6Hz, H-2 e H-6), 7,38 (s, 1H, H-6'), 7,14 (d, 1H, *J*=8,6Hz, H-2'), 7,00 (d, 1H, *J*=8,4Hz, H-3'), 3,80 (s, 6H, 2 x OCH<sub>3</sub>), 2,08 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>/ppm) δ: 170,65 (C=O amida); 164,41 (C=O hidrazona); 152,51 (C<sub>arom</sub>); 149,41 (C=N); 144,16; 130,17; 129,24; 123,65; 119,95; 113,11 e 109,89 (C<sub>arom</sub>); 57,23 e 57,13 (2 x OCH<sub>3</sub>); 25,76 (CH<sub>3</sub>CO).

#### Avaliação do perfil de sensibilidade fúngica e bacteriana

As determinações dos valores de concentrações inibitórias foram realizadas segundo metodologias padronizadas de microdiluição para leveduras<sup>25</sup> e bactérias,<sup>26</sup> com algumas modificações. Os ensaios foram realizados com fungos e bactérias padrões *American Type Culture Collection* (ATCC). Os microrganismos escolhidos são oportunistas e/ou patogênicos: leveduras do gênero *Candida*: *C. albicans* ATCC 10231, *C. krusei* ATCC 6258 e *C. tropicalis* ATCC 750; bactéria Gram positiva: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538); bactérias Gram negativas: *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027).

O meio de cultura utilizado foi caldo Mueller Hinton e as substâncias foram testadas em 10 concentrações (µg/mL): 1000; 500; 250; 125; 100; 80; 40; 20; 10 e 5. Esse mesmo meio, acrescido de DMSO nas mesmas concentrações finais propostas para os derivados, foi utilizado como controle negativo. Os fármacos padrão utilizados como controle positivo no teste foram o antifúngico fungistático fluconazol (nas concentrações em µg/mL: de 64 a 0,03) e o antibiótico bacteriostático cloranfenicol (nas concentrações em µg/mL: 125 a 0,06).

Os valores de CI50 (menor concentração inibitória de 50% do crescimento microbiano) foram determinados e expressos em µM. Os ensaios foram realizados em duplicada e os resultados obtidos nas réplicas foram coincidentes.

#### AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Fitoquímica e Química Medicinal (LFQM) da UNIFAL-MG pelo fornecimento de parte dos aldeídos empregados nesse estudo e aos Laboratórios de Química Farmacêutica e de Ressonância Magnética de Alta Resolução (LAREMAR) da UFMG pelas análises na região do infravermelho e de ressonância magnética nuclear, respectivamente.

#### REFERÊNCIAS

- Bierman, B.; Bubalo, J.; *US Pharmacist* **2006**, *1*, 3; Diazgranados, C. A.; Cardo, D. M.; McGowan Jr., J. E.; *Int. J. Antimicrob. Agents* **2008**, *32*, 1; Moellering Jr., R.; *Int. J. Antimicrob. Agents* **2011**, *37*, 2.
- Savini, L.; Chiasserini, L.; Travagli, V.; *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, *39*, 113.
- Kucukguzel, S.; Mazi, A.; Sahin, F.; *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, *38*, 1005.
- Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M.; Miranda, A. L. P.; Rodrigues, C. R.; *Quim. Nova.* **2002**, *25*, 129.
- Vogel, S.; Kaufmann, D.; Pojarova, M.; Muller, C.; Pfaller, T.; Kühne, S.; Bednarski, B. J.; von Angerer, E.; *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 6436; Cocco, M. T.; Congiu, C.; Lilliu, V.; Onnis, V.; *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 366; Varache-Lembege, M.; Larrouture, S.; *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, *37*, 237.
- Vicini, P.; Incerti, M.; Colla, P. L.; *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 1801.
- Romeiro, N. C.; Aguirre, G.; Hernández, P.; González, M.; Cerecetto, H.; Aldana, I.; Pérez-Silanes, S.; Monge, A.; Barreiro, E. J.; Lima, L. M.; *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 641; Melnyk, P.; Leroux, V.; Sergheraerta, C.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 31.
- Rollas, S.; Küçükgül, G.; *Molecules* **2007**, *12*, 1910.
- Rollas, S.; Gulerman, N.; Erdeniz, H.; *Farmaco* **2002**, *57*, 171.
- Masanari, A.; Tavares, L. C.; *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 4229.
- Moreau, S. M.; Pavan, F. R.; Maia, P. I. S.; Leite, S. R.; *J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 1898.
- Visbal, G.; San-blas, G.; Maldonado, A.; Alvarez-Aular, A.; Caparrelli, M. V.; Murgich, J.; *Steroids* **2011**, *76*, 1069.
- Metwally, K. A.; Abdel-Aziz, L. M.; Lashine, E. M.; Abdel-Aziz, L. M.; Lashine, E. M.; Mohamed, M. I.; Badawya, R. H.; *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 8675.
- Lima, P. C.; Lima, L. M.; Da Silva, K. C. M.; Lédab, P. H. O.; Miranda, A. L. P.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J.; *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, *35*, 187.
- Costa, P.; Pilli, R.; Pinheiro, S.; Vasconcelos, M.; *Substâncias carboniladas e derivados*, Artmed: Porto Alegre, 2003; Rollas, S.; Küçükgül, G.; *Molecules* **2007**, *12*, 1910.
- Leite, A. C. L.; Moreira, D. R. M.; Coelho, L. C. D.; Menezes, F. D.; Brondani, D. J.; *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 1538; Jarikote, D. V.; Deshmukh, R. R.; Rajagopal, R.; Lahoti, R. J.; Daniel, T.; Srinivasan, K. V.; *Ultrason. Sonochem.* **2003**, *10*, 45.
- Onnis, V.; Cocco, M. T.; Fadda, R.; Congiu, C.; *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 6158; Lima, P. C.; Lima, L. M.; Da Silva, K. C. M.; *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, *35*, 187.
- Orozco, A. S.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, *55*, 2645.
- Vogel, S.; Kaufmann, D.; Pojarova, M.; *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 6436; Varache-Lembege, M.; Moreau, S.; Larrouture, S.; Montaudon, D.; Robert, J.; Nuhrich, N.; *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 1336.
- Qing-zhong, Z.; Fei, Z.; Kui, C.; Heng, Y.; *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 880.
- Xiao-jian, W.; Qian, Y.; Fei, L.; Qi-dong, Y.; *Synth. Commun.* **2008**, *38*, 1028.
- Fox, H. H.; Gibas, J. T.; *J. Org. Chem.* **1952**, *17*, 1653.
- Chaco, E. P.; Rao, G. K.; *Asian J. Chem.* **2007**, *19*, 3274.
- Parmar, S. S.; Gupta, A. K.; Gupta, T. K.; Stenberg, V. I.; *J. Pharm. Sci.* **1975**, *64*, 154.
- Clinical and Laboratory Standards Institute; *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*, 6<sup>th</sup> ed., CLSI: Wayne, 2003.
- Clinical and Laboratory Standards Institute; *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts*, 3<sup>rd</sup> ed., CLSI: Wayne, 2008.