

## SÍNTESE, ESTUDO *IN SILICO* E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NOVAS ISATINAS *N*-PRENILADAS

Felipe B. Sousa<sup>1</sup>; Emelly S. F. R. Santos<sup>1</sup>; Rosa M. B. Alves<sup>1</sup>; Bráulio A. Teixeira<sup>2</sup>; Edeltrudes O. Lima<sup>2</sup>; Dayse N. Moreira<sup>1</sup>; Claudio G. Lima-Junior<sup>1</sup>

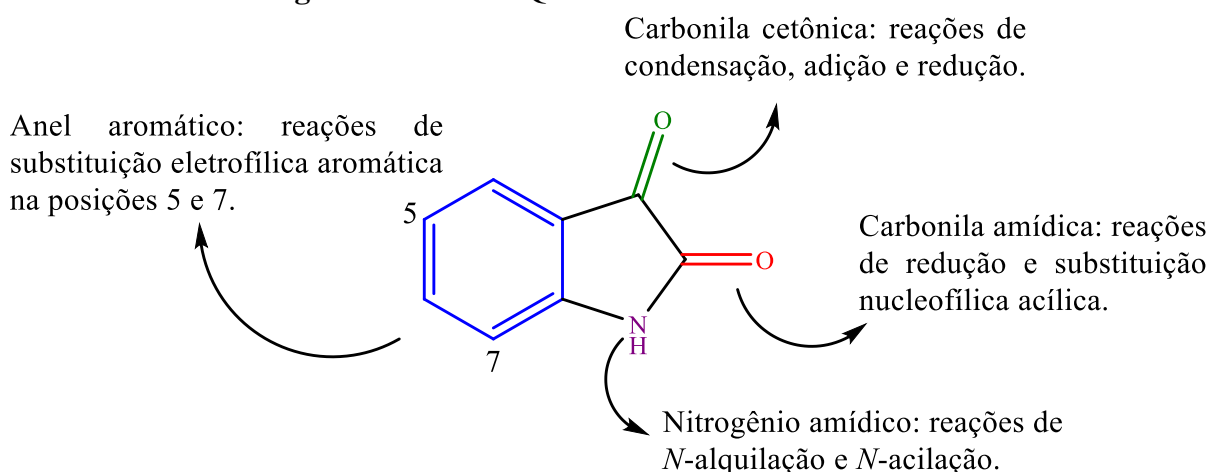
<sup>1</sup>Laboratório de Síntese Orgânica Medicinal da Paraíba (LASOM-PB), Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba (UFPB); <sup>2</sup>Laboratório de Micologia, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

**Palavras-Chave:** Atividade Antibacteriana, Atividade Antifúngica, 1*H*-indol-2,3-diona.

### Introdução

A Isatina é um composto que apresenta duas carbonilas de funções orgânicas distintas, cetona e amida, possibilitando a formação de diversos produtos derivados de reações de substituição nucleofílica, formação de ligação carbono-carbono, adição e condensação a carbonila [1-4]. Também, apresenta um nitrogênio amídico susceptível a reações de *N*-alquilação e *N*-acilação, e um anel aromático passível de reações de substituição eletrofílica aromática [5].

**Figura 1.** Estrutura Química e sítios reativos da isatina



Fonte: Adaptado de Martinez e Ferreira, 2017[5]

Além disso, a Isatina é um derivado indol, importante classe de compostos heterocíclicos que apresenta atividade biológica como, antimicrobiana, anticâncer, anti-inflamatório, anticonvulsivante, antituberculose, entre outras [6-10]. Outrossim, o grupo prenila está presente em diversas classes de produtos naturais, como flavonóides, naftoquinonas e terpenos, que já são relatados na literatura com várias atividades biológicas, como antimicrobiana, anti-inflamatório e anticancerígeno [11-13].

A busca por novos compostos com potencial atividade biológica é uma área de grande emergência dentro da química orgânica, visando a prospecção de moléculas com maior seletividade, além do desenvolvimento de metodologias sintéticas mais sustentáveis e de baixo custo [14].

Muitos dos fármacos comercializados atualmente possuem baixa eficácia, resultando em mortalidade, sintomas e reações adversas. Neste sentido, os medicamentos utilizados como antimicrobianos possuem um agravante, a resistência dos organismos, como os fungos e bactérias, devido ao uso indiscriminado dessas substâncias [15,16].

Levando em consideração estes aspectos, o estudo *in silico* se faz importante no desenvolvimento de novos compostos com potencial atividade biológica, pois há a

possibilidade de identificação de alvos específicos de uma determinada doença, previsão de efeitos colaterais ou de má absorção, realizando avaliação das propriedades farmacocinética dos compostos. Desta forma, é possível propor alternativas sintéticas para resolver tais obstáculos antes da sua execução [17].

Assim, o objetivo desse trabalho é sintetizar e avaliar novas Isatinas *N*-preniladas com potencial atividade antimicrobiana. Adicionalmente, realizar o estudo *in silico* e avaliar as propriedades farmacocinéticas das moléculas propostas.

## Material e Métodos

Neste trabalho foram realizadas reações de *N*-alquilação utilizando isatinas *C*-substituídas com 4-bromo-2-metil-but-2-eno (brometo de prenila) como agente alquilante. Todos esses reagentes são comerciais e foram adquiridos na Sigma-Aldrich. Os solventes foram adquiridos pela Aldrich provenientes da Tedia, Quimiz e da Vetec, todos com excelente grau de pureza, indicado pelo fabricante, não sendo necessário realizar nenhum processo de purificação.

A formação dos produtos foi acompanhada pela técnica de cromatografia de camada delgada analítica (CCDA), sendo utilizada cromatofolhas de alumínio da marca Macherey-Nagel, suportadas em Gel de Sílica 60 (fase estacionária), contendo indicador de fluorescência a 254nm, e uma mistura de acetato de etila / hexano foi usada como fase móvel, sendo irradiadas em câmara de ultravioleta com comprimento de onda de 254nm. Os espectros de IV foram registrados em um espectrofotômetro Shimadzu IRPrestige-21, em pastilhas de KBr. Os espectros de RMN foram registrados em um Varian Mercury 500 usando TMS como padrão interno (400 MHz para <sup>1</sup>H e 100 MHz para <sup>13</sup>C).

Na preparação da isatina *N*-alquilada, foram adicionados em um balão de 50 mL 1 mmol de Isatina, 5-Flúor-isatina, 5-Metil-isatina, 5-Bromo-isatina ou 5-Nitro-isatina, 3 mL de DMF seco e colocado sob agitação magnética em temperatura ambiente. Em seguida, foi pesado em um béquer 1,2 mmol de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> o qual foi adicionado ao meio reacional. Após alguns minutos, foi adicionado 1,2 mmol do agente alquilante (brometo de prenila). Ao final, os produtos foram vertidos em gelo, isolados utilizando filtração a vácuo e lavados com água destilada gelada.

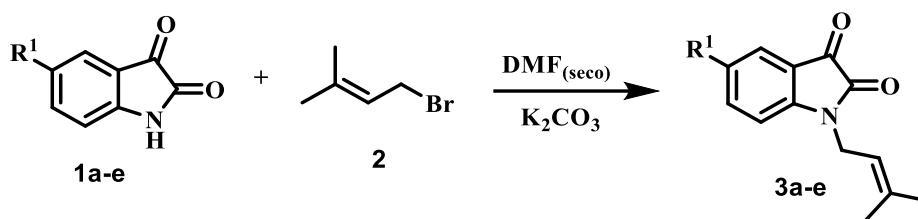
As substâncias foram submetidas aos ensaios biológicos para avaliação da atividade antimicrobiana sobre cepas de bactérias, fungos leveduriformes e fungos filamentosos. Os fármacos antimicrobianos usados como controles foram gentamicina/bactérias e fluconazol/fungos (Sigma-Aldrich/Merck KGaA). Os produtos foram pesados e devidamente solubilizados em 150 µL (3 %) de dimetilsulfóxido (DMSO) e adicionados 100 µL (2%) de Tween 80, completando-se o volume final com água destilada esterilizada q.s.p. 5 mL. Dessa forma, foi obtida a concentração inicial dos produtos de 1024 µg/mL e diluído em série até 4 µg/mL [18-20].

O estudo *in silico* foi realizado no software SwissADME disponível gratuitamente no link <http://www.swissadme.ch/index.php>.

## Resultados e Discussão

Inicialmente, foram realizadas as reações de *N*-alquilação dos derivados da Isatina utilizando meio básico para ocorrer a desprotonação do NH e então adicionar o excesso de brometo de prenila em temperatura ambiente, formando assim o derivado da isatina *N*-prenilada. Com relação aos rendimentos e tempos reacionais, é possível observar na Tabela 1 que essas reações se processaram entre 3-5 horas com rendimentos de 75-94%.

**Tabela 1.** Rendimentos e tempos das reações de alquilação dos derivados da Isatina



Entrada	R <sup>1</sup>	Produto	Tempo (h)	Rendimento (%) <sup>a</sup>
1	H	<b>3a</b>	5	79
2	CH <sub>3</sub>	<b>3b</b>	4	91
3	F	<b>3c</b>	4	90
4	Br	<b>3d</b>	3	94
5	NO <sub>2</sub>	<b>3e</b>	3	75

<sup>a</sup>Rendimento do produto isolado.

Todos os compostos formados foram caracterizados por infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. Nos espectros de IV foram observadas a inexistência das bandas de NH do material de partida na região de 3300-3250 cm<sup>-1</sup>, e foram mantidas as bandas de carbonila de cetona em 1755-1719 cm<sup>-1</sup> e de amida em 1617-1603 cm<sup>-1</sup>. Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H das moléculas não há a presença do sinal de NH em ~10 ppm, mas há um muultipeto característico do CH da prenila em ~5 ppm, um dubleto do CH<sub>2</sub> em ~4 ppm e os singletos dos CH<sub>3</sub> entre 1,80-1,70 ppm, indicando que a reação de alquilação foi bem-sucedida. No <sup>13</sup>C foi observado os sinais referentes as metilas em 25-18 ppm, o CH<sub>2</sub> em ~38 ppm e o CH em ~117 ppm. Os compostos **3a** e **3b** são relatados na literatura com caracterização análoga ao apresentado nesse trabalho [21, 22].

Os compostos sintetizados foram submetidos aos ensaios biológicos para avaliação da atividade antimicrobiana sobre cepas de bactérias e fungos. Na Tabela 2, os compostos **3a**, **3b** e **3c** não apresentaram inibição ou diminuição do crescimento dos micro-organismos, indicando ausência de atividade biológica.

**Tabela 2.** Resultados da avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) sobre espécies de bactérias e fungos

Cepas	CIM (µg/mL)					Gentamicina	Fluconazol
	<b>3a</b>	<b>3b</b>	<b>3c</b>	<b>3d</b>	<b>3e</b>		
<i>S. aureus</i> <sup>a</sup>	+	+	+	1024	1024	128	NA
<i>S. epidermidis</i> <sup>b</sup>	+	+	+	1024	1024	128	NA
<i>P. aeruginosa</i> <sup>c</sup>	+	+	+	1024	1024	256	NA
<i>E. coli</i> <sup>d</sup>	+	+	+	1024	1024	256	NA
<i>C. albicans</i> <sup>e</sup>	+	+	+	1024	1024	NA	128
<i>C. albicans</i> <sup>f</sup>	+	+	+	1024	512	NA	256
<i>C. tropicalis</i> <sup>g</sup>	+	+	+	1024	512	NA	256
<i>C. tropicalis</i> <sup>h</sup>	+	+	+	1024	512	NA	256
<i>A. flavus</i> <sup>i</sup>	+	+	+	1024	512	NA	256
<i>A. flavus</i> <sup>j</sup>	+	+	+	1024	512	NA	256
<i>A. niger</i> <sup>k</sup>	+	+	+	1024	512	NA	256
<i>P. citrinum</i> <sup>l</sup>	+	+	+	1024	512	NA	256

(+): Crescimento microbiano; (NA): Não Aplicado.

<sup>a</sup> ATCC-13150; <sup>b</sup> ATCC-12228; <sup>c</sup> ATCC-25853; <sup>d</sup> ATCC-18739; <sup>e</sup> ATCC-76485; <sup>f</sup> LM-70; <sup>g</sup> ATCC-13803;

<sup>h</sup> LM-77; <sup>i</sup> LM-26; <sup>j</sup> LM-55; <sup>k</sup> LM-23; <sup>l</sup> ATCC-40011.

As moléculas **3d** e **3e** foram capazes de inibir o crescimento visível, sobre 100% dos micro-organismos utilizados nos ensaios de atividade antimicrobiana. Essas moléculas, cujas CIM ficou estabelecida entre 512-1024 µg/mL, apresentam efeito bacteriostático e fungistático. A presença do NO<sub>2</sub> se faz importante, talvez devido ao processo de biorredução desse grupo por nitroreduzases, que desempenha um papel central no mecanismo de ação antimicrobiano [23].

No que se refere o estudo *in silico* das isatinas alquiladas, é notório que todas as moléculas obedecem a Regra dos Cinco de Lipinski, sem violações, apresentando biodisponibilidade oral. Na Tabela 3, em relação ao coeficiente de partição n-octanol e água (cLogP), há um aumento do valor com a presença do átomo de bromo, indicando uma subsequente melhora na permeabilidade oral que pode estar atrelada a atividade antimicrobiana observada [24]. Devido a característica polar do grupo nitro, há uma diminuição do cLogP, porém é observado um aumento no valor da área da superfície polar topológica (TPSA), onde todos os outros valores são iguais. Não há doadores de ligação de hidrogênio, mas com a presença dos oxigênios e flúor existe variação dos aceptores de ligação de hidrogênio.

**Tabela 3.** Estudo *in silico* das Isatinas N-preniladas<sup>a</sup>

Compostos	cLogP	MM	nHBA	nHBD	nViolação	TPSA	nRotativas <sup>b</sup>
<b>3a</b>	2,01	215,25	2	0	0	37,38	2
<b>3b</b>	2,42	229,27	2	0	0	37,38	2
<b>3c</b>	2,40	233,24	3	0	0	37,38	2
<b>3d</b>	2,69	294,14	2	0	0	37,38	2
<b>3e</b>	1,27	260,25	4	0	0	83,20	3
Regra de Lipinski	≤ 5	≤ 500	≤ 10	≤ 5	-	≤ 140	≤ 10

<sup>a</sup>Dados obtidos através do software SwissADME; <sup>b</sup>Número de ligações possíveis de rotação na molécula.

## Conclusões

As moléculas foram sintetizadas de maneira eficiente, com bons tempos e rendimentos reacionais. Apresentaram características bacteriostáticas e fungistáticas, assim como, biodisponibilidade oral frente a avaliação *in silico*. Nesse sentido, direcionaremos esforços na busca de novos compostos mais potentes semelhantes as moléculas acima sintetizadas, a fim de solucionar problemáticas frente a medicamentos antimicrobianos.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao INCT-CiMol, CAPES, CNPq, Programa de Pós-Graduação em Química e a Universidade Federal da Paraíba.

## Referências

- [1] Solaiselvi, R.; Mandal, A. B.; Shanmugam, P. Nucleophilic substitution reaction of Morita–Baylis–Hillman adducts of isatin with X, S, N, and O-nucleophiles: a facile and efficient synthesis of highly functionalized tetrasubstituted alkene appended oxindoles. **Tetrahedron Letters**, 53(1), 90-94, 2012.
- [2] Meng, J.; Jia, R.; Leng, J.; Wen, M.; Yu, X.; Deng, W.-P. Carbon–Carbon Bond Formation by Reaction of Rhodium Azavinylcarbenes with Secondary Amides: Access to Indigo Analogues from Isatins. **Organic Letters**, 19(17), 4520-4523, 2017.
- [3] Alcaide, B.; Almendros, P.; Rodríguez-Acebes, R. Efficient Entry to Diversely Functionalized Spirocyclic Oxindoles from Isatins through Carbonyl-Addition/Cyclization Reaction Sequences. **The Journal of Organic Chemistry**, 71(6), 2346-2351, 2006.
- [4] Guimarães, D. G.; Rolim, L. A.; Gonsalves, A. A.; Araújo, C. R. M. Investigação do Potencial Biológico de Hidrazonas Obtidas Sinteticamente na Última Década (2006-2016): Uma Revisão Sistemática. **Revista Virtual de Química**, 9(6), 2551-2592, 2017.



- [5] Martinez, S. T.; Ferreira, V. F. As Isatinas do Professor Angelo. **Revista Virtual de Química**, 9(3), 1154-1183, 2017.
- [6] Pathak, A.; Soni, N.; Pandey, D. D.; Verma, D. Recent Advances, Future Challenges, Sar And Antimicrobial Activities Of Isatin: A Breaif Review. **Journal of Pharmaceutical Negative Results**, 13(9), 7285-7307, 2022.
- [7] Grewal, A. S. Isatin Derivatives with Several Biological Activities. **International Journal of Pharmaceutical Research**, 6(1), 1-7, 2014.
- [8] Silva, B. V. Isatin, a Versatile Molecule: Studies in Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 24(5), 707-720, 2013.
- [9] Nath, P.; Mukherjee, A.; Mukherjee, S.; Banerjee, S.; Das, S.; Banerjee, S. Isatin: A Scaffold with Immense Biodiversity. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, 21(9), 1096-1112, 2021.
- [10] Guo, H. Isatin derivatives and their anti-bacterial activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 164, 678-688, 2019.
- [11] Falco, E. D.; Mancini, E.; Roscigno, G.; Mignola, E.; Tagliatela-Scafati, O.; Senatore, F. Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils in the Family Lauraceae: A Systematic Review of the Literature. **Molecules**, 18(12), 14948-14960, 2013.
- [12] Damasceno, C. S. B.; Higaki, N. T. F.; Dias, J. F. G.; Miguel, M. D.; Miguel, O. G. Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils in the Family Lauraceae: A Systematic Review of the Literature. **Planta Med**, 85(13), 1054-1072, 2019.
- [13] Arung, E. T.; Shimizu, K.; Kondo, R. Structure –Activity Relationship of Prenyl-Substituted Polyphenols from *Artocarpus heterophyllus* as Inhibitors of Melanin Biosynthesis in Cultured Melanoma Cells. **CHEMISTRY & BIODIVERSITY**, 4(9), 2166-2171, 2007.
- [14] Anastas, P.; Eghbali, N. Green Chemistry: Principles and Practice. **Chemical Society Reviews**, 39(1), 301-312, 2010.
- [15] Projan, S. J. Why is big Pharma getting out of antibacterial drug discovery? **Current Opinion in Microbiology**, 6(5), 427-430, 2003.
- [16] Organização Mundial da Saúde. Genebra: OMS; 2015. Plano de ação global sobre resistência antimicrobiana; pág. 28. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241509763> . Acessado em 30 de agosto de 2024.
- [17] Khan, T.; Lawrence, A. J.; Azad, I.; Raza, S.; Joshi, S.; Khan, A. R. Computational Drug Designing and Prediction of Important Parameters Using in silico Methods- A Review. **Current Computer-Aided Drug Design**, 15(5), 384-397, 2019.
- [18] Cleland, R.; Squires, E. Evaluation of new antimicrobials “in vitro” and in experimental animal infections. In: LORIAN, V. M. D. **Antibiotics in Laboratory Medicine**. Willians & Wilkins, 739-788, 1991.
- [19] Nascimento, P. F. C.; Nascimento, A. C.; Rodrigues, C. S.; Antonioli, A. R.; Santos, M. P. O.; Júnior, A. M. B., Trindade, R. C. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 17(1), 108-113, 2007.
- [20] Pereira, F. O.; Mendes, J. M.; Lima, I. O.; Mota, K. S. L.; Oliveira, W. A.; Lima, E. O. Antifungal activity of geraniol and citronellol, two monoterpenes alcohols, against *Trichophyton rubrum* involves inhibition of ergosterol biosynthesis. **Pharmaceutical Biology**, 53(2), 1-7, 2014.
- [21] Gangar, M.; Kashyap, N.; Kumar, K.; Goyal, S.; Nair, V. A. Imidazolidinone based chiral auxiliary mediated acetate aldol reactions of isatin derivatives and stereoselective synthesis of 3-substituted-3-hydroxy-2-oxindoles. **Tetrahedron Letters**, 56(51), 7074-7081, 2015.
- [22] Li, W.; Duan, Z.; Zhang, X.; Zhang, H.; Wang, M.; Jiang, R.; Zeng, H.; Liu, C.; Lei, A. From Anilines to Isatins: Oxidative Palladium-Catalyzed Double Carbonylation of C–H Bonds. **Angewandte Chemie**, 127(6), 1913-1916, 2015.



63º Congresso Brasileiro de Química  
05 a 08 de novembro de 2024  
Salvador - BA

[23] Abreu, S. T.; Gelves, L. G. V.; Barreiro, E. J.; Lima, L. M. Revisiting Nitroaromatic Drugs: Mechanisms of Bioactivation, Metabolism and Toxicity and Methods to Synthesize Nitroaromatic Fragments. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 35(10), 1-34, 2024.

[24] Hernandez, M. Z.; Cavalcanti, S. M. T.; Moreira, D. R. M.; Junior, W. F. A.; Leite, A. C. L. Halogen Atoms in the Modern Medicinal Chemistry: Hints for the Drug Design. **Current Drug Targets**, 11(3), 303-314, 2010.