

ÁREA TEMÁTICA: QUÍMICA ORGÂNICA: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÁCIDO ACETILSALICÍLICO.

Daniel Pereira de Oliveira¹
Ana Carolina Silva e Silva²
Raquel Oliveira dos Santos Fontenelle³
Eveline Solon Barreira Cavalcanti⁴

RESUMO

O ácido acetilsalicílico ou AAS, conhecido popularmente como aspirina, nome de uma marca que se tornou de uso comum, é um fármaco da família dos salicilatos. É utilizado como medicamento para tratar a dor, a febre e a inflamação, devido ao seu efeito inibidor, não seletivo, da ciclo-oxigenase. O objetivo do trabalho foi avaliar o potencial antifúngico do composto sintetizado no Laboratório de Química na disciplina de Química Orgânica II do Curso de Química da Universidade Estadual do Ceará. O ácido acetilsalicílico foi produzido a partir do ácido salicílico, anidrido acético e ácido sulfúrico, através de uma reação de acetilação da hidroxila fenólica do ácido salicílico. A síntese foi confirmada por Espectroscopia na Região do Infravermelho (FT-IR). A atividade antifúngica foi avaliada por método de microdiluição de Fontenelle *et al.* (2007). O FT-IR do composto apresentou estiramento carbonílico da função éster em 1760 cm^{-1} . O composto apresentou inibição de 100% das cepas de *T. rubrum* (6753); *T. rubrum* (6213), utilizando apenas 2,5 mg/mL, quando comparado ao Cetoconazol utilizando 0,25 $\mu\text{g/mL}$ para inibição de 100% das cepas dos mesmos microorganismos.

PALAVRAS-CHAVE: Antifúngica, Ácido Acetilsalicílico, Éster Benzóico.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a resistência frente aos antimicrobianos se constituiu em um problema relevante para a população, montando barreiras ao controle de diversas espécies de microrganismos de interesse médico-sanitário (BACCARO *et al.*, 2002; MANTILLA *et al.*, 2008; NAWAZ, 2002). O potencial de resistência a fármacos de patógenos humanos e animais se tornou um dos casos mais bem apresentados em relação à evolução biológica e uma problemática tanto em países desenvolvidos como em subdesenvolvidos. A utilização de mais de uma tonelada diária de antibióticos em

1Graduando do Curso de Química da Universidade Estadual do Ceará - UECE, pereira.oliveira@aluno.uece.br;

2Graduanda do Curso de Química da Universidade Estadual do Ceará - UECE, carolinaana1310@gmail.com;

3Professora Doutora, Universidade Estadual do Vale do Acaraú - UVA, raquelbios@yahoo.com.br;

4Professora orientadora: Doutora, Universidade Estadual do Ceará - UECE, evelinecavalcanti@yahoo.com.br.

alguns países da Europa tem resultado na seleção de populações bacterianas resistentes (DUARTE, 2006). Baquero e Blázquez (1997) demonstram o perigo do retorno a uma era pré-antibiótico, particularmente considerando que nenhuma nova classe de antibiótico foi produzida e apresentada nos últimos tempos, apesar das intensas pesquisas das indústrias farmacêuticas.

METODOLOGIA

O ácido acetilsalicílico foi preparado através da reação de acetilação do ácido salicílico utilizando-se anidrido acético, como agente acilante, e ácido sulfúrico como catalisador. Pesou-se 4g de ácido salicílico e colocou-se o sólido em um erlenmeyer de 125 mL. Cuidadosamente adicionou-se 6,0 mL de anidrido acético e 5,0 gotas de ácido sulfúrico concentrado, sob agitação. Misturaram-se os reagentes em banho-maria, aquecendo-os por 20 min., e o sólido dissolveu completamente. Esfriou-se até aproximadamente a temperatura do laboratório e a solução foi transferida para um becker de 250 mL contendo 40 mL de água gelada, em um banho de gelo. Os cristais foram coletados através da filtração à vácuo em funil de Büchner.

Espectroscopia na Região do Infravermelho (FT-IR): Os espectros de infravermelho foram obtidos utilizando um espectrofotômetro modelo Nicolet iS5 da ThermoScientific. As amostras foram preparadas na forma de pastilhas de KBr na proporção 2:100 (m/m) (amostra:KBr) e os espectros registrados no intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} , empregando-se 32 scans e resolução de 4 cm^{-1} . Operador: Ana Carolina Silva e Silva

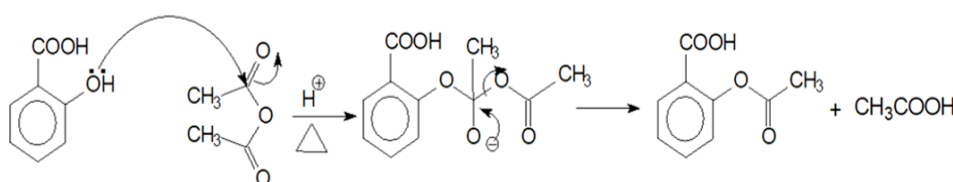
A Concentração Inibitória Mínima (CIM) para cepas de *T. rubrum* foram determinadas pelo método de Microdiluição em caldo de acordo com a metodologia descrita por Fontenelle et al. (2007), com as normas do protocolo Clinical Laboratory Standards Institute - M38-A (CLSI M38-A2, 2008). As amostras foram diluídas (10 mg/mL) em DMSO 5%. Como controle positivo foi utilizado o cetoconazol (Sigma, ChemicalCo., USA). Para este ensaio foram utilizadas placas de microdiluição de 96 poços, onde inicialmente foram adicionados 100 μL de meio RPMI em todos os poços e em seguida 10 mg/mL da amostra foi acrescentado a todos os poços da primeira coluna para, em sequência, fazer as diluições seriadas. Finalmente, 100 μL do inóculo foram adicionados aos poços da placa.

As placas foram incubadas a 37° C e a leitura visual foi realizada após sete dias para as cepas de *T.rubrum*. Todos os testes foram feitos em duplicata e a CIM foi definida como a menor concentração da amostra capaz de inibir 100% do crescimento visível do microrganismo. Os resultados foram determinados através da visualização como recomendado pelo CLSI.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

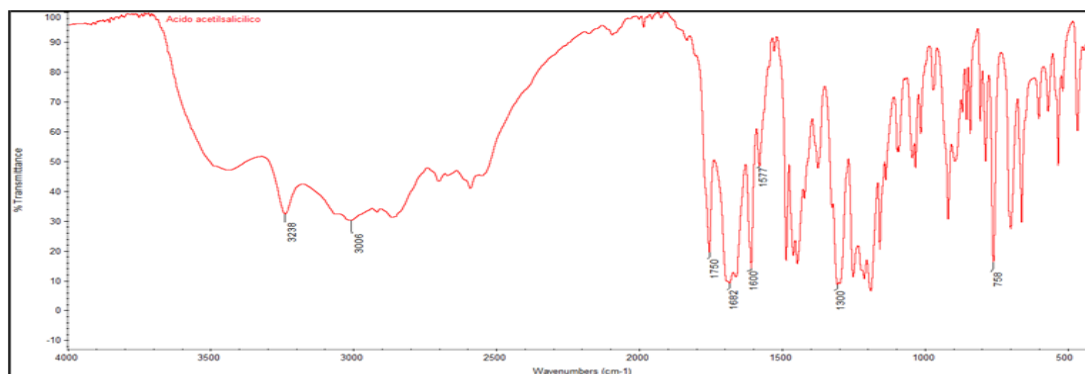
O mecanismo de síntese do ácido acetilsalicílico, à partir do ácido salicílico, foi realizado conforme mostra a Figura 1.

FIGURA 1- Mecanismo reacional de síntese do Ácido Acetilsalicílico.



O ácido acetilsalicílico foi produzido pela reação de acetilação da hidroxila fenólica de ácido salicílico através do ataque nucleofílico do grupamento fenólico à carbonila do anidrido acético produzindo o ácido acetilsalicílico como produto principal e o ácido acético como subproduto. O ácido acetilsalicílico foi confirmado por Espectroscopia na Região do Infravermelho. A Figura 2 mostra o espectro de infravermelho do ácido acetilsalicílico, nos quais as atribuições dos picos mais importantes para caracterizá-lo, estão no Quadro 1 (PAVIA., 2009), (ALLINGER., 1978), (SILVERSTEIN., 2006)

FIGURA 2- Espectro na Região do Infravermelho do Ácido Acetilsalicílico.



FONTE: Silva e Silva 2019.

QUADRO 1- Atribuições dos picos obtidos na Espectroscopia na Região do Infravermelho.

(cm ⁻¹)	Atribuição
3300 - 2500	Estiramento O-H, ácido carboxílico, sobreposto ao estiramento C-H
1760	Estiramento C=O, éster
1700	Estiramento C=O, ácido carboxílico
1600-1575	Estiramento C=C, aromático
1300	Estiramento C-O, éster
758	1,2 Dissubstituição do anel benzênico

FONTE: Próprio autor.

Em relação à atividade antifúngica do ácido acetilsalicílico, o Quadro 2 apresenta os valores de concentração inibitória mínima (CIM), sobre as cepas de *T. rubrum* (5908); *T. rubrum* (6753); *T. rubrum* (6213) e *T. rubrum* (6205). De acordo com a análise, o ácido acetilsalicílico conseguiu inibir 100% do crescimento do microorganismo *T. rubrum* (6753); *T. rubrum* (6213), utilizando apenas 2,5 mg/mL. A concentração observada no teste estar próxima do padrão utilizado Cetoconazol com 0,25 µg/mL. Dando maior ênfase ao potencial antimicrobiano de derivados benzóicos, estudos são evidenciados na literatura. Kim e colaboradores (2010) analisaram a atividade antifúngica de análogos substituídos do ácido benzoico contra *Aspergillus* spp. Na mesma pesquisa foi observado também que esterificações de um ácido benzoico (ácido gálico) com grupos alquila (metila, etila, propila, octila, decila) apresentou pontencial para a melhor bioatividade dos derivados esterificados. Carta e colaboradores (2011) demonstraram a capacidade de inibição de alguns ácidos benzoicos e derivados esterificados, frente à anidrase carbônica presente em alguns fungos patogênicos como *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Cryptococcus neoformans*, objetivando encontrar algum mecanismo de ação antifúngica.

QUADRO 2- Concentrações Inibitórias Mínimas (CIMs) para cepas de *T. rubrum*.

Amostra	<i>T.rubrum</i> (5908) MIC	<i>T.rubrum</i> (6753) MIC	<i>T.rubrum</i> (6213) MIC	<i>T.rubrum</i> (6205) MIC
AAS	NI	2,5 mg/mL	2,5 mg/mL	NI
Cetoconazol	0,25 µg/mL	0,25 µg/mL	0,25 µg/mL	0,25 µg/mL

NI: Não inibiu

FONTE: Neves, 2019.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A rota sintética do ácido acetilsalicílico se mostrou eficaz, e o mesmo foi confirmado pela Espectroscopia na Região do Infravermelho.

Embora não existam muitos relatos na literatura acerca do ácido acetilsalicílico sobre sua atividade antifúngica, os resultados obtidos mostram ser um composto que pode ser utilizado para pesquisas de inibição frente microorganismos, em virtude de apresentar parte esterificada na sua estrutura. A realização de pesquisas *in vivo*, além de testes de toxicidade são imprescindíveis para que o composto possa ser utilizado, clinicamente, no tratamento de doenças infecciosas por outros microorganismos

REFERÊNCIAS

ALLINGER, N. **Química Orgânica**, 2 ed., Rio de Janeiro:LTC, 984 p

BACCARO, M. R.; MORENO, A. M.; CORRÊA, A.; FERREIRA, A. J. P.; CALDERARO, F. F. Resistência antimicrobiana de amostras de *Escherichia coli* isoladas de fezes de leitões com diarreia. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v. 69, n. 2, p. 15-18, jun. 2002.

BAQUERO, F.; BLÁZQUEZ, J. Evolution of antibiotic resistance, Trends in Ecology and Evolution, Londres, v. 12, n. 12, p. 482-487, dec. 1997.

CARTA, F.*et al.* Carbonican hydrase inhibitors. Inhibition of the β -classen zymes from the fungal pathogens *Candida albicans* and *Cryptococcus neo formans* with brancheda

liphatic/aromatic carboxylates and their derivatives. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, n. 8, p. 2521–2526, 2011.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi (Approved Standard Document M38. CLSI), vol. M38-A2, **second ed.** Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2008.

DUARTE, M. C. T. Atividade Antimicrobiana de Plantas Mediciniais e Aromáticas Utilizadas no Brasil. *Multiciência*, Campinas, v. 7, n. 10, p. 1-17, out. 2006.

FONTENELLE, R. O. S. et al. Chemical composition, toxicological aspects and antifungal activity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 59, n. 5, p. 934-940, 2007.

KIM, J. H. *et al.* Augmenting the activity of antifungal agents against *Aspergillus* structural analogues of benzoic acid as chemo sensitizing agents. **Fungal Biology**, v. 114, n. 10, p. 817–824, 2010.

MANTILLA, S. P. S.; FRANCO, R. M.; OLIVEIRA, L. A. T. DE.; SANTOS, E. B.; GOUVÊA, R. Resistência antimicrobiana de bactérias do gênero *Listeria* spp. Isoladas de carne moída bovina. *Braz. Journal of Veterinary Research and Animal Science*, Ribeirão Preto, v. 45, n. 2, p. 116-121, maio 2008.

NAWAZ, M. S. Human health impact and regulatory issues involving antimicrobial resistance in the food animal production environment. Disponível em: < <http://www.fda.gov> >. Acesso em 25 jan 2012.

OLIVEIRA, M. S, Badiale-Furlong E. Screening of antifungal and anti mycotoxigenic activity of plant phenolic extracts. **World Mycotoxin Journal** 2008; 2 (1): 1-10

SOLOMONS, G. T. W.; FRYHLE, C. B. **Química Orgânica**. 8. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2005. vol. 2..

PAVIA, D. L. et al. **Química Orgânica Experimental: técnicas em pequena escala**. 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009. 887 p.

SILVERSTEIN, R. et al. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7 ed. LTC, 2006