

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIDIABÉTICA E ANTIBACTERIANA DE ACETAIS OBTIDOS A PARTIR DE ÁLCOOIS E FENÓIS

Camilla T. M. T. Oliveira^{1,2}; José V. P. Barbosa^{1,2}; Glória V. Silva¹, Izaqueu R. Silva¹; Tonny C. C. Leite¹; Bogdan D³; Gilson Bezerra.¹; Amanda R. Sena^{1,2}.

¹Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco; ²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco, Barreiros, ³Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco,

Palavras-Chave: α -glicosidase, Atividade Biológica, *Klebsiella pneumoniae*

Introdução

Os acetais com a fórmula geral ROCH₂OR, exibem uma ampla variedade de atividades biológicas e industriais. Dentre essas atividades, destacam-se a inibição da agregação da proteína β -amiloide (Doboszewski *et al.*, 2021), propriedades antifúngicas (Pawar; Garud; Mahulikar, 2012), ação pesticida (Raths; Berghaus; Semar, 2010) e atividade antibacteriana contra microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos (Mathela; Singh; Gupta, 2010). Além disso, esses compostos possuem potencial antileishmanial, e alguns demonstram eficácia no controle do ácaro vermelho dos citros (Jeppson, 1946) e da fascíola hepática (Harfenist, 2010). Certos acetais também atraem interesse nas indústrias de perfumes (Fujita; Nippon, 2010), papel e têxtil (Kress, 2010). A síntese dos acetais pode ser realizada em meio básico, através de substituição dupla em dihalometanos (como CH₂Br₂, CH₂BrCl, CH₂Cl₂, CH₂I₂) ou em meio ácido, utilizando paraformaldeído ou dimetoximetano, entre outros precursores.

Diante do exposto, a presente pesquisa teve como objetivo sintetizar os acetais e avaliar a atividade antidiabética e antibacteriana dos mesmos.

Material e Métodos

Síntese de Acetais

O experimento foi realizado no Laboratório de Química do IFPE - *Campus* Barreiros. A reatividade da mistura contendo componentes hidroxílicos foi investigada em uma reação com CH₂Cl₂ em ambiente básico, de acordo com Doboszewski *et al.* (2021). O diclorometano foi escolhido como substrato devido à presença de dois grupos abandonadores, o que facilita as substituições nucleofílicas, similar a outros haletos de alquila.

A caracterização e purificação dos compostos sintetizados foram realizadas utilizando técnicas analíticas para garantir a identidade e pureza dos produtos finais. A purificação foi efetuada por cromatografia em coluna ou recristalização, enquanto as estruturas foram analisadas por espectroscopia de Infravermelho, Espectrometria de Massas e Ressonância Magnética Nuclear (RMN ¹H e ¹³C). Os experimentos de caracterização foram realizados em colaboração com o Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal da Paraíba.

Atividade antidiabética

Atividade Inibitória das enzimas α -amilase e α -glicosidase

Foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Kim *et al.* (2004). A atividade inibitória de α -amilase foi expressa em porcentagem (%).

Atividade antibacteriana

As linhagens de bactérias utilizadas foram obtidas a partir da Coleção de Microorganismos do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco

(UFPEDA). Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* UFPEDA 02, *Streptococcus pyogenes* UFPEDA 07), gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA 416, *Eschechiria coli* UFPEDA 224, *Klebisiella pneumoniae* UFPEDA 396) e uma álcool-ácido resistente (*Mycobacterium smegmatis* UFPEDA 71). A avaliação das amostras frente aos microrganismos foi baseada no Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) (2018).

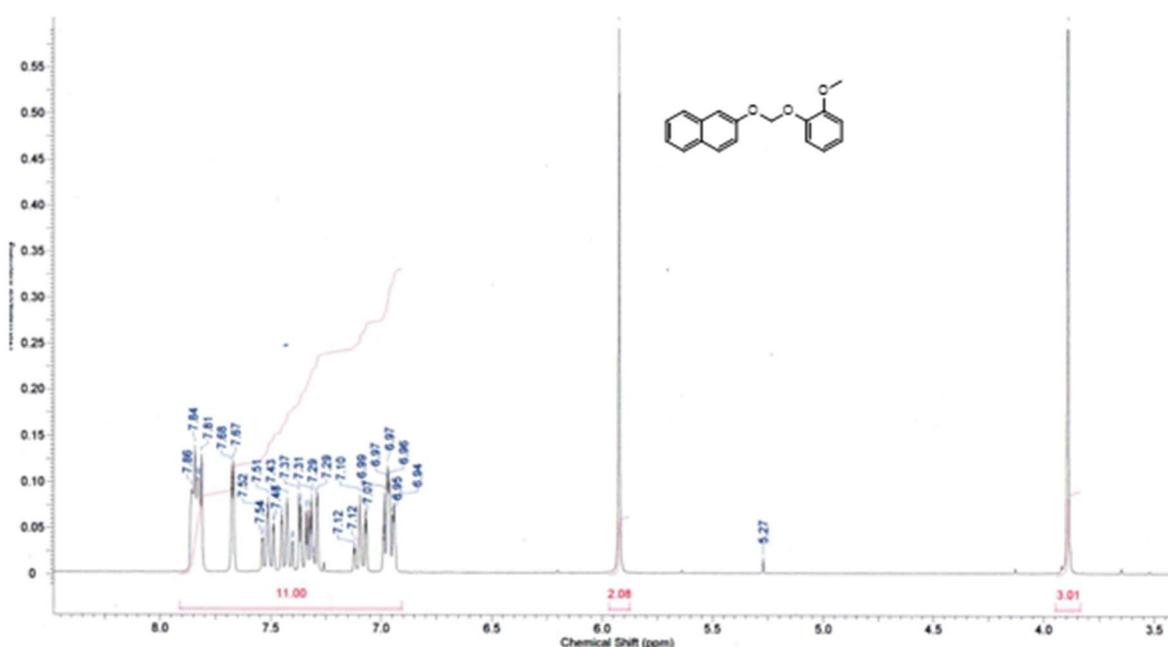
Resultados e Discussão

Síntese e caracterização dos acetais

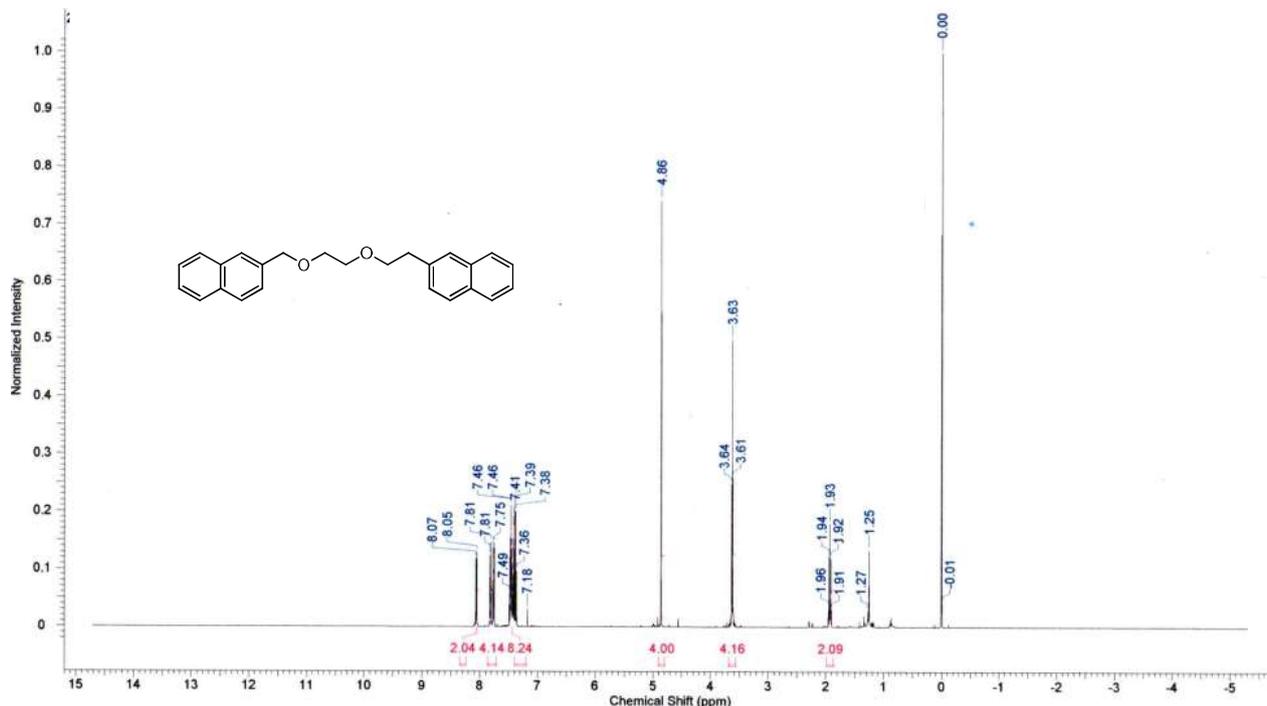
Neste estudo, replicou-se a reatividade de misturas contendo componentes hidroxílicos correspondentes, álcoois e fenóis, em uma reação com CH_2Cl_2 em meio básico, seguindo a metodologia proposta por Doboszewski *et al.* (2021).

Esses acetais foram eficientemente separados por cromatografia em coluna convencional. A abordagem utilizou diferentes fenóis e álcoois para sintetizar dois tipos distintos de acetais de formaldeído (Figuras 1a e 1b). Os resultados obtidos estão de acordo com os dados já mencionados na literatura.

Figura 1a: Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^1H) do acetal (a).



Fonte: Os autores, 2024.

Figura 1b: Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^1H) do acetal (b).

Fonte: Os autores, 2024.

Atividade antidiabética

Atividade inibitória da alfa-amilase e alfa-glicosidase

A diabetes mellitus é uma doença metabólica caracterizada por elevados níveis de glicose no sangue (hiperglicemia). Diversas estratégias são empregadas para controlar essa condição, buscando principalmente aumentar a disponibilidade de insulina ou promover uma remoção mais eficiente de glicose (Santoso *et al.*, 2022).

A atividade de inibição da α -amilase e α -glicosidase em diferentes concentrações dos acetais sintetizados estão evidenciadas na Tabela 1.

Os resultados experimentais demonstraram que para os acetal **a**, não houve uma diferença estatisticamente significativa, na atividade inibitória da α -amilase, entre as concentrações testadas, indicando que a menor concentração já seria o suficiente para o efeito desejado.

Nos estudos realizados com o acetal **b**, observou-se diferenças estatisticamente significativas entre as concentrações avaliadas, destacando-se a 31,20 $\mu\text{g/mL}$ (29,62 %). Esse aumento progressivo possui uma relação direta entre a concentração e o grau de inibição, com a eficácia aumentando conforme a quantidade do composto disponível para interagir com a enzima. Entretanto, ao elevar a concentração para 62,4 $\mu\text{g/mL}$, a taxa de inibição observada foi de 29,1 %, o que representa uma estabilidade relativa em comparação com a concentração de 31,2 $\mu\text{g/mL}$.

A partir da análise, conclui-se que os acetais simétricos sintetizados proporcionam um efeito inibitório mediano, o que o torna adequado para diversas aplicações, especialmente na formulação de medicamentos antidiabéticos. Os dados apresentados sugerem que os acetais podem ser uma opção valiosa na produção de tratamentos voltados para o controle da atividade da alfa-amilase, contribuindo assim para um tratamento eficaz dos níveis de glicose no sangue.

Tabela 1 - Resultados de inibição da α -amilase e α -glicosidase.

α -amilase (I %)		
(40 U/mL)		
$\mu\text{g/mL}$	a	b
3,9	52,53 \pm 0,14 a	18,30 \pm 0,50 e
7,8	15,23 \pm 0,90 a	20,70 \pm 2,25 d
15,6	27,27 \pm 0,00 a	25,46 \pm 0,81 c
31,2	37,78 \pm 0,14 a	29,62 \pm 0,75 a
62,4	40,81 \pm 0,67 a	29,089 \pm 2,25 b

α -glicosidase (I %)		
(1 U/mL)		
$\mu\text{g/mL}$	a	b
3,9	90,63 \pm 0,00 b	90,63 \pm 1,10 e
7,8	99,13 \pm 0,00 a	98,47 \pm 0,72 d
15,6	99,27 \pm 0,00 a	98,76 \pm 0,10 c
31,2	99,34 \pm 0,10 a	99,17 \pm 0,11 b
62,4	99,49 \pm 0,10 a	99,19 \pm 0,10 a

I: Porcentagem de inibição. Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de significância pelo Teste de Skott-Knott. CI_{50} da acarbose na inibição da α -amilase: 21,44 $\mu\text{g/mL}$. CI_{50} da acarbose na inibição da α -glicosidase: 24,22 $\mu\text{g/mL}$. **a e b**: acetais obtidos.

Para a alfa-glicosidase, os resultados indicaram que todos os acetais testados exibiram uma capacidade altamente eficaz de inibição, com a maioria das concentrações atingindo taxas superiores a 90 %. No entanto, o acetal **a** apresentou inibições a partir da segunda concentração, estatisticamente iguais entre si. Já o acetal **b** apresentou inibição dose-dependente.

O acetal **a** apresentou uma média de 97,37 % na redução da atividade enzimática. Somente na menor concentração testada houve uma inibição de 90%, enquanto nas concentrações restantes o composto alcançou mais de 99 % de inibição, demonstrando sua elevada eficácia e estabilidade ao longo das diferentes concentrações analisadas.

Em contraste, o acetal **b** apresentou uma média de inibição em torno de 97,64 %. Os resultados indicaram que o composto tem uma eficácia elevada na inibição da α -glicosidase, superior a 98 % a partir de 7,8 $\mu\text{g/mL}$.

Ma *et al.* (2008) conduziram a síntese e a avaliação da atividade inibitória da alfa-glicosidase de derivados mono e dicetal/acetal do ácido clorogênico. Os resultados indicaram que os derivados dicetal exibem uma atividade inibitória significativamente mais potente em comparação com os monocetais. Esses dicetais alcançaram taxas de inibição notáveis, confirmando sua eficácia e potencial como agentes terapêuticos.

Ponnam *et al.* (2014) sintetizaram uma série de novos derivados 1,9-acetais de forskolinas (1, 2 e 3) a partir de *Coleus forskohlii*, utilizando CAN como catalisador, e avaliaram sua atividade inibitória sobre a α -glicosidase. Os compostos 1g (IC_{50} = 0,76 mg/mL) e 1p (IC_{50} = 0,74 mg/mL) demonstraram inibição significativa da α -glicosidase em ensaios *in vitro*, comparável ao controle padrão, a acarbose (IC_{50} = 0,45 mg/mL).

Atividade antibacteriana dos acetais

Os acetais de formaldeído exibem uma variedade de atividades, tais como propriedades antifúngicas (Arnoldi *et al.*, 2000), antibacterianas (Mathela; Singh; Gupta, 2010) e antileishmanial (Palit *et al.*, 2009).

A Tabela 2 apresenta a Concentração Mínima Inibitória (CMI) dos acetais denominados a e b, indicando a eficácia dos mesmos na inibição de todas as bactérias avaliadas. Segundo Andrews (2001), à medida que a CMI diminui, observa-se uma maior potência do composto em sua capacidade de inibir o crescimento do micro-organismo em análise.

Como pode ser observado, os acetais apresentaram atividades que variaram entre 20 e 1000 µg/mL. O acetal **a** apresentou inibição com CMI variando entre 20 e 1000 µg/mL. Vale destacar que esse composto apresentou uma CMI, para *Klebsiella pneumoniae* UFPEDA 396, igual ao da gentamicina, sendo desta forma relevante.

O acetal **b** pode apresentar forte potencial de inibição contra bactérias dos gêneros *Streptococcus* e *Staphylococcus*. Os resultados indicaram uma CMI de 63 µg/mL tanto para *S. aureus* UFPEDA 02 quanto *S. pyogenes* UFPEDA 07, ambas gram-positivas. Para as demais bactérias (gram-negativas e álcool-ácido-resistente), exceto *Klebsiella pneumoniae* UFPEDA 396, apresentou atividade igual ao acetal **a**.

Tabela 2 - Resultados para a atividade antibacteriana dos acetais obtidos (a e b).

Micro-organismos	a CMI (µg/mL)	b CMI (µg/mL)	C+ CMI (µg/mL)
Gram positiva			
<i>Staphylococcus aureus</i> UFPEDA 02	1000	63	20
<i>Streptococcus pyogenes</i> UFPEDA 07	250	63	NA
Gram-negativa			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UFPEDA 416	500	500	20
<i>Eschechiria coli</i> UFPEDA 224	500	500	40
<i>Klebsiella pneumoniae</i> UFPEDA 396	20	500	20
Álcool-ácido-resistente			
<i>Mycobacterium smegmatis</i> UFPEDA 71	1000	1000	NA

CMI: Concentração Mínima Inibitória. C+: Controle positivo para a inibição (Gentamicina). NA: Não avaliado.

Conclusões

Os acetais sintetizados apresentaram atividade antidiabética e antibacteriana. O acetal **a** destacou-se na inibição de *Klebsiella pneumoniae* UFPEDA 396 ao passo que o acetal **b** destacou-se na inibição de bactérias gram-positivas. No entanto, considerando a CMI, o acetal **a** destacou-se por apresentar um valor igual à gentamicina.

Por tanto, este estudo revelou resultados promissores ao empregar acetais como uma alternativa viável na obtenção de produtos farmacêuticos, uma vez que inibidores da α -glicosidase são açúcares ou derivados de açúcar existindo apenas alguns antagonistas enzimáticos não sacarídeos que inibem eficazmente a mesma.

Este trabalho destaca-se como uma das primeiras abordagens na exploração dos acetais sintetizados, enfatizando suas potenciais atividades biológicas. A síntese desses compostos abre novas oportunidades para investigações mais aprofundadas, buscando avaliar e otimizar seu potencial biotecnológico, especialmente no desenvolvimento de aplicações químicas e farmacológicas.

Agradecimentos

Ao Instituto Federal de Pernambuco, *Campus* Barreiros, ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco e à Capes pela bolsa concedida.



Referências

- ANDREWS, J. M. Determination of minimum inhibitory concentrations. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 48, n. 1, p. 5-16, 2001.
- ARNOLDI, A., *et al.* Synthesis, fungicidal activity, and QSAR of a series of 2-dichlorophenyl-3-triazolylpropyl ethers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 2547-2555, 2000.
- Clinical and laboratory Standards Institute (CLSI). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Four Informational Supplement. Document M11-A07. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 2018.
- DOBOSZEWSKI, B. *et al.* Síntese e atividade anticancerígena in vitro de Bis-(2-naftiloxi)-(phenil)-metano, Bis-(4-alil-2-metoxifeniloxi)-metano e acetais mistos R1OCH2OR2 obtidos via química combinatória pela aquilação de diclorometano. Depositante: Universidade Federal Rural de Pernambuco, Universidade Federal de Pernambuco, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco. BR 10 2021 011239 5 A2. Depósito: 10 jun. 2021. Disponível em: <<https://busca.inpi.gov.br/pePI/servlet/PatenteServletController?Action=detail&CodPedido=1614669&SearchParameter=ACETAIS%20%20%20%20%20%20&Resumo=&Titulo=>>>. Acesso em: 27. ago. 2023.
- GUARCIA, B.S., *et al.* Virtual combinatorial chemistry and pharmacological screening: a short guide to drug design. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p.1620, 2022.
- HUEMER, M., *et al.* Antibiotic resistance and persistence—Implications for human health and treatment perspectives. **Embo Reports**, v. 21, n. 12, 2020.
- KIM, Y. M. *et al.* A novel α -glucosidase inhibitor from pine bark. **Carbohydrate Research**, v. 339, p. 715–717, 2004.
- LÖFFLER, B; TUCHSCHERR, L. *Staphylococcus aureus* toxins: promoter or handicap during infection? **Toxins**, v. 13, n. 4, p. 287, 2021.
- LLOR C., *et al.* New paradigms on antibiotic recommendations for community-acquired infections in Spain. **Aten Primaria**, v. 55, n. 8, 2023.
- MA, C., *et al.* Chlorogenic Acid Derivatives with Alkyl Chains of Different Lengths and Orientations: Potent α -Glucosidase Inhibitors. **J. Med. Chem.**, v.51, p.6188-6194, 2008.
- MASENGA, S. K. *et al.* Mechanisms of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 24, n. 9, p. 7898, 2023.
- MATHELA, C.S; SINGH K.K; GUPTA V.K. Synthesis and in vitro antibacterial activity of thymol and carvacrol derivatives. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research**, v. 67, n. 4, p. 375-380, 2010.
- NIEDBALA, P; JURCZAK, J. One-Pot parallel synthesis of unclosed cryptands-searching for selective anion receptors via static combinatorial chemistry techniques. **ACS Omega**, v. 5, n. 40, p. 26271-26277, 2020.
- PALIT, P., *et al.* Phase transfer catalyzed synthesis of bis-quinolines: antileishmanial activity in experimental visceral leishmaniasis and *in vitro* antibacterial evaluation. **Eur. J. Med. Chem.** v. 44, p. 845-853, 2009.
- PONNAM, D., *et al.* Synthesis of cyclic 1,9-acetal derivatives of forskolin and their bioactivity evaluation. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 87, p. 735-744, 2014.
- SANGI, D. P. Estratégias de síntese na descoberta de fármacos: o emprego da síntese orientada pela diversidade estrutural. **Química Nova**, v. 39, n. 8, p. 995-1006, 2016.
- SANTOSO, M., *et al.* Synthesis, α -glucosidase inhibition, α -amylase inhibition, and molecular docking studies of 3,3-di(indolyl)indolin-2-ones. **Heliyon**, v. 8, n. 3, e09045, 2022.
- SILVA, M. J. *et al.* Synthesis of the acetals R1OCH2OR2 and R1OCH2OR2 by double alkoxylation of dichloromethane via “mini combinatorial” approach and their anticancer activity in the HeLa cell line. **SCIREA Journal of Chemistry**, v. 8, p. 16-26, 2023.