

Síntesis de derivados de sulfanilamida asistida por microondas y su evaluación anti-microbiana

Pablo Alvarado Mayra Karina¹, Dinorín Arrieta Julieta¹, Trujillo García Pilar¹, Gárate Morales José Luis¹, Díaz Fonseca Alfonso², Peña Rosas Ulises Angel^{1*}

¹Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Departamento de Química Analítica. Av. San Claudio No. , Puebla, Ciudad de Puebla. México.

²Benemérita Universidad Autónoma de Puebla Departamento de Farmacia. Av. San Claudio No. , Puebla, Ciudad de Puebla. México.

*Autor para correspondencia: quim_perua@hotmail.com

Recibido:

13/julio/2017

Aceptado:

05/septiembre/2017

Palabras clave

Imina, sulfanilamida, horno de microondas

Keywords

Imine, sulfanilamide, microwave oven

RESUMEN

En este trabajo se llevó a cabo la síntesis en microondas de derivados de sulfanilamida, N-(bencilsulfonamida)-2-hidroxi-bencenimina, a partir de sulfanilamida y salicilaldehído (compuesto 1) y la síntesis de N-(bencilsulfonamida)-4-hidroxi-3-metoxifenilimina a partir de sulfanilamida y vainillina (compuesto 2) a cada compuesto se le dio seguimiento por cromatografía en capa fina. Posteriormente se purificaron por cromatografía en columna y se caracterizaron por espectroscopia de FT-IR, RMN 1H, espectrometría de masas y punto de fusión. El objetivo es potencializar la actividad antimicrobiana de este fármaco probando su efecto contra *E.coli* y *Streptococcus aureus*. Para llevar a cabo la síntesis de sulfamidas se han usado diversos métodos, como el calentamiento convencional, método que consume mucho tiempo y energía obteniendo rendimientos menores al 50 %, una alternativa es la síntesis por microondas la cual proporciona energía térmica a una reacción con ventajas como ahorro de tiempo, generación de menos subproductos y optimización de rendimientos.

ABSTRACT

In this work, it was carried out the synthesis of sulfanilamide, N-(benzylsulfonamide) -2-hydroxybenzeneimine derivatives from sulfanilamide and salicylaldehyde (compound 1) and the synthesis of N- (benzylsulfonamide) -4-hydroxy- 3-methoxyphenylimine from sulfanilamide and vanillin (compound 2) to each compound was monitored by thin layer chromatography. They were then purified by column chromatography and characterized by FT-IR spectroscopy, 1H NMR, mass spectrometry and melting point. The objective is to potentiate the antimicrobial activity of this drug by proving its effect against *E.coli* and *Streptococcus aureus*. To carry out the synthesis of sulfamides, several methods have been used, such as conventional heating, the time-consuming method and the power that achieves yields of less than 50%, an alternative is microwave synthesis which provides thermal energy a reaction With advantages As time saving, generation of fewer byproducts and optimization of yields.

Introducción

Las infecciones comunitarias siguen constituyendo hoy en día una de las principales causas de morbilidad a nivel mundial; si bien las vacunas y las mejores condiciones de vida han permitido mejorar la esperanza de vida en muchas regiones del mundo, la gran mayoría de ellas sigue padeciendo de males infecciosos como tuberculosis pulmonar, malaria, enfermedad diarreica aguda, enfermedad respiratoria aguda, etc. A ello se ha sumado la aparición de numerosos y nuevas enfermedades de origen bacteriano, viral y micótico. Desde su aparición, los antibióticos han sido y son una importante arma para el tratamiento de muchas enfermedades infecciosas, su uso permitió disminuir en forma notable la morbimortalidad de algunas de estas infecciones. Un primer problema fue la aparición de reacciones adversas entre leves a severas, posteriormente se ha sumado la aparición cada vez más frecuente de bacterias resistentes y multi-resistentes a uno o a varios antibióticos. (Blasco et.al, 1996).

La sulfanilamida es un fármaco que inhibe la enzima cuyo sustrato normal es el ácido p-aminobenzoico (PABA) (Figura 1). Este compuesto es un nutriente esencial que utilizan numerosas bacterias para sintetizar ácido fólico, una vitamina que actúa como coenzima. (Ferrer et al 1990).

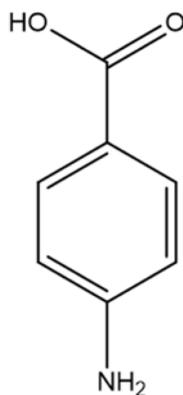


Figura 1. Ácido p-aminobenzoico (PABA)

En este trabajo se llevará a cabo la síntesis de derivados de sulfanilamida, con el fin de potencializar su actividad anti-microbiana. Para llevar a cabo la síntesis de las sulfamidas se han usado diversos métodos, uno de ellos es por calentamiento convencional, este tipo de método consume mucho tiempo y energía, en algunas ocasiones ha resultado ineficaz y con rendimientos menores de 50%, por lo que se han buscado nuevas metodologías para la síntesis de estos compuestos, una de ellas es la síntesis por microondas, la cual representa una técnica

alternativa para proporcionar energía térmica a una reacción con ventajas interesantes como el ahorro de tiempo y energía, la generación de menos subproductos, la optimización de rendimientos y la obtención de productos en un menor número de pasos, sin contar que es una alternativa que apoya el desarrollo de nuevas líneas de investigación mediante la optimización de condiciones.

Esta forma de calentamiento utiliza la propiedad de algunas moléculas de transformar la energía electromagnética en calor. (Gelmo et al, 1908; Kingston, 1988)

Antecedentes

Los efectos de la radiación en microondas en síntesis orgánica no fueron explorados hasta la década de 1980. La primera publicación, pionera en este campo y poco conocida, data de 1969. Vanderhoff describe el uso de microondas en la polimerización de monómeros de vinilo en disolución acuosa. Más tarde, en 1981, una patente de Bhargava Naresh, de la compañía BASF Canadá Inc., describe el uso de la energía de microonda para producir ésteres plastificantes. Sin embargo, las publicaciones más destacadas como punto de partida de la síntesis orgánica asistida por microondas son de R. Gedye y R. J. Giguere, ambas en 1986. Estos autores describieron varias reacciones que transcurrían en pocos minutos cuando se irradiaban en recipientes sellados en hornos de microondas domésticos. Aunque la viabilidad del método era evidente, también se documentó la aparición de explosiones causadas por el rápido desarrollo de altas presiones en los sistemas cerrados. Para remediar tales inconvenientes, se diseñaron técnicas más seguras, como las reacciones en recipientes abiertos y las reacciones en agitación continua, las cuales se desarrollaron principalmente en Francia por Bram, Loupy, Villemin, Hamelin y Texier-Boullet. (Giguere et al, 1986).

Las sulfamidas son un grupo de compuestos que se emplean como antibióticos, antiparasitarios y para el tratamiento de enfermedades infecciosas. El descubrimiento de éstas fue realizado por Gerhard Domagk, un médico empleado de una fábrica de tinte alemán, quien hizo un descubrimiento sin precedentes mediante la búsqueda de un colorante que se conoce como prontosil, dosificado por vía oral, fue eficaz en la curación de las infecciones de estreptococos. Fue galardonado por el Premio Nobel para la medicina en 1939. Por otra parte en 1936, Ernest Fourneau del Instituto Pasteur de París descubrió que el prontosil se descompone en el cuerpo humano para producir sulfanilamida o 4-aminobencenosulfonamida (Figura 2) el cual es un agente activo que mata a bacterias estreptococos. El

descubrimiento de Fournau desencadenó una oleada de investigaciones sobre derivados estructurales de sulfanilamida lo que resultó en el desarrollo de una familia de antibióticos exitosos que han salvado millones de vidas. (Domagk, 1940; Domagk, 1941)

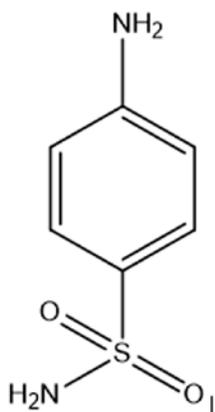


Figura 2. Estructura de la sulfanilamida.

Aunque la sulfanilamida era activa contra una gama más extensa de bacterias, producía muchos efectos secundarios, por lo tanto se necesitaba otro derivado de la familia de las sulfamidas que tuviera la misma eficacia contra las bacterias pero con menos efectos secundarios, entonces fue que en el año de 1939 cuando sintetizó por primera vez la sulfatiazol (Figura 3), que al igual que la sulfanilamida ha resultado útil en el tratamiento de infecciones.

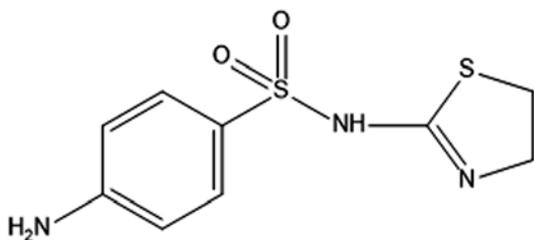


Figura 3. Estructura de la sulfatiazol.

La sulfanilamida y sulfatiazol son compuestos ampliamente producidos en la industria farmacéutica y utilizados en medicina. También fueron los primeros agentes quimioterapéuticos eficaces para ser empleados en la prevención y cura de infecciones bacterianas en humanos. (Chheda et al, 2007)

Metodología

Compuesto 1

El compuesto 1 se sintetizará en un matraz de bola de 100 mL al cual se le agregaron 1.8×10^{-2} moles de sulfanilamida y 2.90×10^{-3} moles de salicilaldehído, la reacción se lleva a cabo con un solvente polar a una temperatura de 66°C , con una potencia de 400W, durante 20 minutos en agitación constante. A la reacción se le dió seguimiento por cromatografía en capa fina, se purificó por cromatografía en columna y finalmente se caracterizó por técnicas espectroscópicas de rutina

Compuesto 2

El compuesto 2 se sintetizó en un matraz de bola de 100 mL al cual se agregaron 0.29 g de sulfanilamida y 0.11 g de vanilina, la reacción se lleva a cabo con un solvente polar a una temperatura de 66°C , con una potencia de 400W, durante 20 minutos en agitación constante. A la reacción se le dio seguimiento por cromatografía en capa fina, se purificó por cromatografía en columna y finalmente se caracterizó por técnicas espectroscópicas de rutina.

Posteriormente cada muestra (compuesto 1 y compuesto 2) se disolvió inicialmente en metanol y posteriormente se realizaron diluciones seriadas al doble en caldo soya tripticaseina en microplacas estériles de 96 pozos. Se corrió un control del disolvente a las mismas concentraciones. Posteriormente se adicionaron 50 μL de las suspensiones bacterianas de las cepas de referencia *Escherichia coli* (ATCC #25922) y *Staphylococcus aureus* (#29213) ajustadas en caldo soya tripticaseina a una turbidez igual al estándar 0.5 de McFarland. Las microplacas se incubaron a 37°C por 18 horas. Después de la incubación se adicionaron a cada pozo 50 μL de una solución de p-INT (p-iodonitrotetrazolium violet Sigma-Aldrich) y fueron incubadas por dos horas. La concentración mínima inhibitoria (MIC) se determinó como la menor concentración a la cual no se desarrollaba un color rojo (el color rojo evidencia el crecimiento bacteriano)

Resultados y discusión

Compuesto 1

Se obtuvo un rendimiento del 87%. Punto de fusión: $238-240^\circ\text{C}$; FT-IR $\nu_{\text{máx}}$ (KBr): 3343.0 cm^{-1} , 3247.0 cm^{-1} y 3061.0 cm^{-1} ($\nu_{\text{O-H}}$), 2957.3 cm^{-1} ($\nu_{\text{N-H}}$), 1688.0 cm^{-1} y 1618 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=N}}$), (ν_{OH}), ($\nu_{\text{C-C}}$), ($\nu_{\text{C=O}}$); 1570.0 cm^{-1} , 1528.0 cm^{-1} , 1487.0 cm^{-1} y 1455 cm^{-1} ($\nu_{\text{COO-}}$), $d_{\text{CH}_3}^{\text{as}}$, d_{CH_3} , ($\nu_{\text{C-O-C}}$);

1410.0 cm^{-1} , 1313.0 cm^{-1} y 1281.0 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-C}}$), ($\nu_{\text{S-O}}$), (ν_{SO_3}), ($\nu_{\text{C-O}}$), ($\nu_{\text{C-S}}$), ($\nu_{\text{N-S}}$); 1095.0 cm^{-1} , 992.0 cm^{-1} y 907.0 cm^{-1} (ν_{CH_2}), ($\nu_{\text{O-C-C}}$), ($\nu_{\text{S-O}}$); 837.0 cm^{-1} , 758.0 cm^{-1} y 723.0 cm^{-1} $\gamma_{\text{C-H}}$, $\delta_{\text{O-H}}$, $\delta_{\text{N-H}}$; 631.0, 544.0 cm^{-1} y 504.0 cm^{-1} ($\gamma_{\text{C-H}}$) y ($\nu_{\text{S-O}}$);

En el espectro de masas permite observar el pico ion molecular del compuesto 1 (m/z 276 M^+)^{*} y confirma el peso molecular propuesto para $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$.

Compuesto 2

Se obtuvo un rendimiento del 85%. Punto de fusión: 238-240 °C; FT-IR $\nu_{\text{máx}}$ (KBr): 3487.0 cm^{-1} , 3385.0 cm^{-1} , 3358.0 cm^{-1} y 3244.0 cm^{-1} ($\nu_{\text{O-H}}$) y ($\nu_{\text{N-H}}$); 2967.0 cm^{-1} ($\nu_{\text{Csp}^2\text{-H}}$) y d_{CH_3} ; 2843.0 cm^{-1} $\nu_{\text{Csp}^2\text{-H}}$; 1670.0 cm^{-1} y 1631.0 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=N}}$), (ν_{OH}), d_{HOH} , ($\nu_{\text{C-C}}$), ($\nu_{\text{C=O}}$); 1582.0 cm^{-1} , 1515.0 cm^{-1} , 1464.0 y 1431 cm^{-1} ν_{COO} , $d^{\text{as}}_{\text{CH}_3}$, d_{CH_3} ($\nu_{\text{C-CO-C}}$): 1399.0 cm^{-1} , 1305.0 cm^{-1} y 1214.0 cm^{-1} C-C ($\nu_{\text{C-C}}$), ($\nu_{\text{S-O}}$), (ν_{SO_3}), ($\nu_{\text{C-O}}$), ($\nu_{\text{C-S}}$), ($\nu_{\text{N-S}}$), ($\nu_{\text{C-O-C}}$); 1097.0 cm^{-1} , 1026.0 cm^{-1} , 968.0 cm^{-1} y 905.0 cm^{-1} , ($\nu_{\text{O-C-C}}$), ($\nu_{\text{S-O}}$); en 874.0 cm^{-1} , 832.0 cm^{-1} y 733.0 cm^{-1} $\gamma_{\text{C-H}}$, $\delta_{\text{O-H}}$, $\delta_{\text{N-H}}$; 692.0 cm^{-1} , 692.0 cm^{-1} , 633.0 cm^{-1} , 545.0 cm^{-1} y 506.0 cm^{-1} ($\gamma_{\text{C-H}}$), ($\nu_{\text{S-O}}$).

En el espectro de masas permite observar el pico ion molecular del compuesto 2 (m/z 306 M^+)^{*} y confirma el peso molecular propuesto para $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$.

Estos estudios preliminares muestran que los 2 compuestos tuvieron actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Se observó que el efecto antimicrobiano para ambas sustancias actuaba en un rango de concentración, por abajo o por encima de esa concentración no se presentó la actividad bactericida. El rango para el compuesto 1 fue de 512 $\mu\text{g/mL}$ y para el compuesto 2 de 512 $\mu\text{g/mL}$.

En la tabla 1 se muestra la concentración mínima inhibitoria (MIC), de cada uno de los compuestos sintetizados.

Tabla 1. Concentraciones mínimas inhibitorias de los compuestos sintetizados.

	MIC ($\mu\text{g/mL}$) para <i>S.aureus</i>	MIC ($\mu\text{g/mL}$) para <i>E.coli</i>
Compuesto 1	512	512
Compuesto 2	512	512

Conclusiones

En este trabajo se realizó la síntesis de dos derivados de sulfonamidas asistida por microondas.

Las síntesis se realizaron por la metodología en microondas a temperaturas de a 60°C y 66°C a potencia de 400 Watts, además, es una técnica con tiempos de reacción cortos y con rendimientos aceptables. Todos los compuestos fueron caracterizados por FT-IR, espectrometría de masas y punto de fusión.

Agradecimientos

A la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado de la BUAP por haberme dado la oportunidad de colaborar en este trabajo.

Al Dr. Ulises Angel Peña Rosas, por aceptarme en su equipo de trabajo, por su apoyo y por su tiempo.

Referencias

- Blasco, F.; Perelló, L.; Latorre, J.; Borrás, J.; García-Granda, S. J. (1996). *Inorg. Biochem.* 61, 143.
- Chheda, J. N.; Roman-Leshkov, Y.; Dumesic, J. A. (2007). *Green Chem.* 9, 342.
- Domagk, G. (1940). *Dtsch. Med.* 66, 203.
- Domagk, G. (1941). *Chirurg.* 13, 433.
- Ferrer, S.; Borrás, J.; García España, E. J. (1990). *Inorg. Biochem.* 39, 297.
- Gedye, R.; Smith, F.; Westaway, K.; Ali, H.; Baldisera, L.; Laberge, L.; Rousell, J. (1986). *Tetrahedron Lett.* 27, 279.
- Gelmo, P. J. (1908). *Prakt. Chem. Leipzig.* 77, 369.
- Giguere, R.J.; Bray, T.L.; Duncan, S.M.; Majetic, G. (1986). *Tetrahedron Lett.* 27, 4945.
- Kingston H.M. (1988). *American Chemical Society*, 2, 7.
- Kingston, H.M.; Haswell, S.J. (1997). *American Chemical Society*, 1, 3.