

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE ORAL E CITOTÓXICA DE NOVOS COMPOSTOS TIOSSEMICARBAZONAS

Cidla De Sousa Marinho¹
Ana Karoline Ribeiro Novais²
Claudio Henrique Victor Porto³
João Pedro Pereira Gomes⁴
Jamerson Ferreira De Oliveira⁵

RESUMO

Devido a necessidade de inovação no tratamento de algumas doenças, as moléculas de tiossemicarbazonas vem ganhando destaque na literatura por apresentarem baixa citotoxicidade e alta atividade contra cepas de microrganismos. O presente estudo tem como objetivo a obtenção de duas moléculas dessa classe, bem como a sua caracterização estrutural e avaliação da biodisponibilidade oral e citotóxica. Para a síntese dos compostos foi realizada uma reação entre a hidrazina e o 4-cloro-fenil isotiocianato e 4-nitro-fenil isotiocianato resultando em duas tiossemicarbazidas as quais foram utilizadas como reagentes intermediários para uma segunda reação com o 4-hidroxibenzaldeído para obtenção das tiossemicarbazonas LAQOF-TSC01 e LAQOF-TSC02. Os compostos apresentaram valores de rendimentos de 97% e 90,13%, respectivamente. Com relação a avaliação da biodisponibilidade oral *in silico*, os compostos apresentaram peso molecular 316.34g/mol e 305.78g/mol; MlogP 1.32 e 2.80; 4 e 2 aceptores de ligação de H (LH) e ambos com 3 doadores de LH. Dessa forma, apontaram boa biodisponibilidade oral por não violar nenhuma regra de Lipinski. Além disso, os compostos apresentaram a citotoxicidade *in vitro* em linhagem de macrófagos de 49,1 e 61,3 μ M, respectivamente, revelando uma baixa capacidade tóxica em células normais. Sendo assim, esses resultados iniciais apontam os compostos sintetizados como promissores.

Palavras-chave: Resistência Microbiana; Antimicrobianos; Tiossemicarbazonas; Biodisponibilidade.

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, ICS - Instituto de Ciências da Saúde, Discente, cidlamarinho1@gmail.com¹

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, ICS - Instituto de Ciências da Saúde, Discente, karolinenovais@aluno.unilab.edu.br²

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, ICS - Instituto de Ciências da Saúde, Discente, claudiohenriquevictorporto@gmail.com³

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, ICS - Instituto de Ciências da Saúde, Discente, joapedropereira.labjt@gmail.com⁴

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, ICS - Instituto de Ciências da Saúde, Docente, jamerson@unilab.edu.br⁵

INTRODUÇÃO

Está cada vez mais comum o aparecimento de cepas de microrganismos resistentes aos antimicrobianos existentes no mercado atual, o aumento da virulência dessas cepas gera estado de alerta a saúde pública mundial, pois seus mecanismos estão ameaçando cada vez mais a eficácia da prevenção e do tratamento de diversas patologias como tuberculose, malária e HIV (OPAS/OMS, s.d.).

Segundo SANTOS (2020) a resistência microbiana pode ser definida como a resistência decorrente do resultado de adaptações genéticas dos microrganismos aos fármacos utilizados em seu combate, além de ser um problema de saúde pública também afeta economicamente a sociedade visto que como consequência da ineficácia e diminuição dos efeitos farmacológicos se faz necessário tratamentos alternativos e mais caros.

Frente a essa realidade torna-se indispensável a pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos com atividade biológica contra essas novas cepas multirresistentes, nesse cenário a classe das tiossemicarbazonas se destacam na literatura por suas diversas atividades biológicas entre elas a antimicrobiana, entretanto, ainda pouco estudada (GRGICEVI, I. et al., 2020).

Dessa forma, o presente estudo busca sintetizar moléculas da classe das tiossemicarbazonas e avaliar sua estrutura, características físico-químicas e atividade antimicrobiana contra algumas cepas assim como suas propriedades farmacocinéticas *in silico* e citotoxicidade *in vitro*.

METODOLOGIA

As etapas de síntese dos compostos foram divididas em duas fases, inicialmente foram obtidas duas tiossemicarbazidas através da reação entre a hidrazina e o 4-cloro-fenil isotiocianato e 4-nitro-fenil isotiocianato na proporção estequiométrica 1:2, o solvente utilizado nessa etapa foi o diclorometano (CH₂Cl₂). Em um balão de fundo redondo e temperatura ambiente a reação ficou sob agitação magnética por 1 hora e após a precipitação, o conteúdo do balão foi filtrado e lavado com n-hexano.

A próxima etapa foi referente a síntese das tiossemicarbazonas, para isso foram utilizados os compostos obtidos na fase inicial e o 4-hidroxibenzaldeído (1:1) junto com o etanol como solvente e ácido acético como catalisador, a reação foi colocada sob refluxo e agitação magnética até a formação de precipitado, o qual foi filtrado e lavado com etanol gelado resultando em duas tiossemicarbazonas: LAQOF-TSC01 e LAQOF-TSC02, as quais foram submetidas a ressonância magnética nuclear para identificação de algumas estruturas como os diferentes tipos de hidrogênios e átomos de carbono.

Também foi avaliado a biodisponibilidade oral *in silico* através da plataforma *on-line* Swiss ADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>) onde foi possível quantificar algumas propriedades e comparar os resultados com os valores estipulados nas regras de Lipinski. Por não violar nenhum parâmetro da regra dos cinco conclui-se que os compostos apresentam boa disponibilidade oral.

Além da avaliação *in silico* as moléculas LAQOF-TSC01 e LAQOF-TSC02 foram submetidos a ensaios de citotoxicidade *in vitro*, nessa etapa as células J774 foram cultivadas em placas de 96 poços na concentração de 1x10⁵ células/poço e incubadas em atmosfera de 5% de CO₂ a 37° C por 24 horas. Após esse tempo, foram adicionados os compostos nas concentrações de 6,25 µM, 12,5 µM, 25 µM, 50 µM, 100 µM e 200 µM e mantidos por 48 horas. Em seguida, 20 µL da solução de MTT (3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium, 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-difenil-tetrazolium bromide) foi adicionada a uma concentração de 5 mg/mL em tampão PBS (Solução Tamponada de Fosfato), e as células foram incubadas por 3 horas nas mesmas condições de cultivo.

Após o tempo de incubação, o sobrenadante foi retirado e os cristais de formazan formados foram solubilizados em 20µL de DMSO. A leitura da absorbância dos cristais de formazan foi realizada através de leitor ELISA Benchmark Plus (Bio-Rad), no comprimento de onda de 590 nm. A concentração capaz de causar

50% (CC50) de perda de viabilidade celular foi determinada por análise de regressão linear. Os testes foram realizados em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O composto LAQOF-TSC01 se caracterizou como um sólido laranja com rendimento de 97% e ponto de fusão de 190 °C já o LAQOF-TSC02 se apresentou como um sólido na cor verde com um rendimento menor que o primeiro composto alcançando um valor de 90,13% e maior ponto de fusão sendo ele de 204 °C. Os rendimentos apresentados foram satisfatórios visto que alguns resultados da síntese de tiossemicarbazonas de forma indireta presentes na literatura apresentaram taxas de rendimento entre 47% e 78% (FIGUEIRÊDO, 2017).

Para análise estrutural foi utilizado o método de ressonância magnética nuclear (RMN), assim, o valor de deslocamento químico dos hidrogênios azometínicos (N=CH) foi de 8.07 ppm em ambos os compostos alvos da análise, um resultado semelhante com os obtidos por Silva et al. (2016) onde foi evidenciado um deslocamento químico de 8.38 ppm e o estudo de Sens et al. (2018) com 8,18 ppm, relativo ao hidrogênio azometínico, confirmando a formação dos compostos planejados neste estudo.

Também foi avaliado uma ligação típica das tiossemicarbazonas (C=S). Esse carbono da tiocarbonila, mostrou um deslocamento de 174.65 ppm no primeiro composto e de 175.38 ppm no segundo. Valores semelhantes foram encontrados nos estudos de Silva et al. (2016) e Sousa et al. (2013), onde os deslocamentos químicos desse carbono foram de 174.60 ppm e 178,00 ppm, respectivamente.

Para determinar a biodisponibilidade oral das moléculas foi utilizada a ferramenta computacional Swiss ADME onde foram avaliadas um conjunto de regras estabelecidas por Lipinski que institui parâmetros de propriedades físico-químicas, tais como: peso molecular menor que 500 Da; presença de no máximo 5 grupos doadores de ligação de hidrogênio; até 10 grupos aceptores de ligação de hidrogênio; e MLogP calculado inferior a 4,15 (BARREIRO; FRAGA, 2015).

As moléculas avaliadas (LAQOF-TSC01 E LAQOF-TSC02) apresentaram peso molecular 316.34g/mol e 305.78g/mol; MlogP 1.32 e 2.80; 4 e 2 aceptores de ligação de H (LH) e ambos com 3 doadores de LH, com todos os valores de acordo com a regra de Lipinski, portanto, apresentam características de boa disponibilidade oral.

Em relação a citotoxicidade dos compostos o LAQOF/TSC-01 apresentou um valor de IC₅₀ de 49,1 e o LAQOF/TSC-02 de 61,3. Concluindo que o primeiro composto por apresentar um valor de IC₅₀ menor tende a ser mais prejudicial que o segundo, pois quanto menor a concentração mais se tem riscos de danos. Se comparados com resultados encontrados em outras pesquisas como na de Sens (2018) que foram obtidos valores de 9,5 µM e 17,8 µM os resultados dos compostos LAQOF/TSC-01 e LAQOF/TSC-02 foram satisfatórios (menos citotóxicos). Entretanto, quando comparados com os resultados apresentados por Oliveira et.al (2008), as moléculas deste estudo foram mais citotóxicas (73,5 µM).

CONCLUSÕES

Tendo em vista os resultados obtidos entende-se que as moléculas de tiossemicarbazonas LAQOF/TSC-01 e LAQOF/TSC-02 apresentaram resultados satisfatórios com boas taxas de rendimento de 97% e 90,13%, respectivamente, boa biodisponibilidade oral in silico obedecendo os parâmetros estabelecidos por Lipinski com peso molecular 316.34g/mol e 305.78g/mol; MlogP 1.32 e 2.80; 4 e 2 aceptores de ligação de H (LH) e ambos com 3 doadores de LH, além de baixa capacidade tóxica com citotoxicidade in vitro em linhagem de macrófagos de 49,1 e 61,3 µM, mas necessitam de mais estudos para avaliar outras características essenciais

no desenvolvimento de um fármaco.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer ao PIBIC por disponibilizar a bolsa e tornar esse projeto possível, a UNILAB pelo apoio ao desenvolvimento da ciência, ao Prof. Dr. Jamerson Ferreira de Oliveira e aos meus colegas que contribuíram durante esse estudo.

REFERÊNCIAS

BARREIRO, Eliezer J.; FRAGA, Carlos A. M. **Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.

BRASIL. OPAS/OMS. (org.). **Resistência antimicrobiana**. s.d. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/resistencia-antimicrobiana>. Acesso em: 13 out. 2022.

FIGUEIRÊDO, Tibério. **Derivados 5-Metil-Indol-Tiossemicarbazonas: Síntese, Elucidação Estrutural E Avaliação Esquistossomícida**. 2017. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

GRGICEVIC, Ivan et al. **Discovery of macrozones, new antimicrobial thiosemicarbazone-based azithromycin conjugates: design, synthesis and in vitro biological evaluation**. International Journal Of Antimicrobial Agents. Zagreb, p. 1-5. 09 set. 2020.

SANTOS, Kérollyn Oliveira dos. **Resistência microbiana: um alerta à segurança do paciente**. 2020. 35 f. TCC (Graduação) - Curso de Saúde Coletiva, Departamento de Saúde Coletiva, Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia, Brasília, 2020.

SENS, Larissa. **Síntese, caracterização e análises farmacológicas de novos derivados de tiossemicarbazonas e amidas: um estudo de correlação estrutura atividade**. 2018. 293 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018.

SILVA, Aldo César Passilongo da. **Tiossemicarbazonas: síntese, caracterização estrutural e avaliação da atividade biológica**. 2016. 96 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

SOUSA-PEREIRA, D. et al. Synthesis and Evaluation of the Anti-corrosion Activity of Thiosemicarbazide and Thiosemicarbazone 4-N-(p-methoxyphenyl) Substituted. **Revista Virtual de Química**, [S.L.], v. 5, n. 4, p. 770-785, 2013. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20130055>. Disponível em: <https://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/view/497>. Acesso em: 21 set. 2022.

OLIVEIRA, Renata B. et al. **Synthesis and antimalarial activity of semicarbazone and thiosemicarbazone derivatives.** European journal of medicinal chemistry, v. 43, n. 9, p. 1983-1988, 2008.