SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO PERFIL FARMACOCINÉTICO IN SILICO DE NOVOS DERIVADOS 4-DIMETILAMINO-BENZILIDENO-TIOSSEMICARBAZONAS E TIAZOIS.

Gomes, João Pedro Pereira.[1]
Lima, Luiz Vitor De Oliveira [2]
Novais, Ana Karoline Ribeiro [3]
Filho, Antonio Miguelsinho Martins De[4]
Oliveira, Jamerson Ferreira De[5]

RESUMO

Atualmente, o tratamento antifúngico encontra-se ultrapassado, seja pelo desenvolvimento de mecanismos de escape por parte dos microrganismos ou pela presença de efeitos adversos indesejados. Com isso, torna-se necessário a busca por moléculas inovadoras com potencial antimicrobiano, destacando-se as tiossemicarbazonas e tiazois, compostos com atividade biológica diversa descrita em literatura. O presente estudo visa sintetizar e caracterizar uma nova tiossemicarbazona (TSC-07) e de dois novos derivados tiazois (TZ-11 e TZ-12) com potencial atividade antifúngica. Para isso, inicialmente procedeu-se à síntese dos compostos, distinguindo-se pela metodologia aplicada, seja por agitação e refluxo (TSC-07 - 94,7%) ou por banho de ultrassom (TZ-11 - 62,8%; TZ-12 - 68,8%). A reação foi confirmada por cromatografia em camada delgada. O ponto de fusão dos compostos obtidos foi determinado com o auxílio de um fusiômetro analógico (TSC-07 - 189°C; TZ-11 - 209°C; TZ-12 - 214°C). Além disso, foram realizadas análises espectroscópicas por infravermelho utilizando a metodologia de Reflectância Total Atenuada (ATR), obtendo-se estiramentos NH (3373 cm-1) e N=C (1594 cm-1) da tiossemicarbazona, e NH (3304 e 3373 cm-1), C=N (1607 e 1590 cm-1) relativo aos tiazois. Paralelamente, estudos in silico foram conduzidos para prever parâmetros farmacocinéticos das moléculas, indicando boa biodisponibilidade oral e baixa toxicidade para ambos os compostos. Com base nisso, os compostos sintetizados mostram resultados promissores, requerendo estudos adicionais para maior elucidação de sua estrutura e atividade biológica.

Palavras-chave: Tiossemicarbazona; Tiazol; in silico; Infravermelho.

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), Instituto de Ciências da Saúde, Discente, joaopedropereira@aluno.unilab.edu.br[1]
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), Instituto de Ciências da Saúde, Discente, luizvitor@aluno.unilab.edu.br[2]
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Ciências da Saúde, Discente, karolinenovais@aluno.unilab.edu.br[3]
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Ciências da Saúde, Discente, miguelmartins@aluno.unilab.edu.br[4]
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Ciências da Saúde, Docente, jamerson@unilab.edu.br[5]

ISSN: 2447-6161

INTRODUÇÃO

A resistência microbiana pode ser definida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como a capacidade que microrganismos (bactérias, vírus, fungos e parasitas) possuem de se adaptarem frente à ação de fármacos antimicrobianos. Sua incidência pode ser associada a fatores como o uso indiscriminado destes medicamentos, falta de acesso à informação pela população, alto consumo destes fármacos na agropecuária e poluição do meio ambiente por descarte indevido de antimicrobianos. Ademais, as principais consequências desse fenômeno incluem aumento do risco de morte, tempo de internação, invalidez e tratamentos alternativos mais onerosos (Anvisa, 2020).

Quando pensasse na farmacoterapia antifúngica, os casos de resistência estão majoritariamente associados ao grupo dos azois, devido ao seu uso massivo e inadequado no tratamento de infecções fúngicas. Os mecanismos de resistência identificados envolvem a ativação de bombas de efluxo, o que diminui a concentração intracelular do fármaco, além de mutações nos genes ERG11 e ERG3, que resultam, respectivamente, no aumento da produção da enzima CYP51 e em modificações na via de síntese do ergosterol. Ademais, a classe dos antimetabólitos, quando utilizada isoladamente, contribui para o desenvolvimento de resistência antimicrobiana, por meio de mutações nos genes FCY1 e FUR1, que promovem alterações na via de síntese de DNA (Menéndez, 2019; Moreira, 2019).

Diante disso, a busca por novos compostos com potencial atividade fungicida e/ou fungistática, que possuam a capacidade de contornar os mecanismos de escape presente microrganismos, torna-se um dos objetivos da química farmacêutica. As tiossemicarbazonas, relatadas como compostos de fácil síntese e com atividade antimicrobiana descrita em literatura, destacam-se como opções convenientes na síntese de protótipos a fármacos (Gangurde et al., 2023). Além disso, seus derivados tiazóis, heterociclos de 5 membros contendo heteroátomos de nitrogênio e enxofre, são reconhecidos como building block essenciais na química medicinal, reforçando sua importância no planejamento de moléculas inovadoras (Eissa et al., 2023).

Com isso, o presente trabalho se propõe a sintetizar um novo análogo 4-dimetilamino-benzilideno-tiossemicarbazona e dois novos derivados 4-dimetilamino-benzilideno-tiazóis com potencial atividade antifúngica. Além disso, será investigado as características físico-químicas e estruturais, bem como seu perfil farmacocinético in silico.

METODOLOGIA

Síntese

A síntese dos compostos foi realizada em duas etapas. Inicialmente, utilizou-se os reagentes tiossemicarbazida não substituída e p-dimetilaminobenzaldeído em proporção equimolar para obtenção da 4-dimetilamino-tiossemicarbazona (TSC-07). A reação de condensação foi conduzida sob refluxo e agitação magnética em solvente alcoólico (etanol ou metanol), com catálise ácida.

Na sequência, utilizou-se a TSC-07 anteriormente sintetizada em combinação com 2,4-dibromoacetofenona ou 2-bromo-4-cloroacetofenona, ambas também em proporção equimolar, para obtenção dos derivados 4-dimetilamino-benzilideno-tiazois (TZ-11 e TZ-12). A reação foi realizada em banho ultrassônico e meio etanólico, método escolhido pela sua eficiência na formação de heterociclos. Outra abordagem metodológica foi aplicada, utilizando iodeto de potássio como catalisador por transhalogenação. Para confirmar a formação dos compostos, empregou-se a técnica de Cromatografia em Camada Delgada (CCD), com simultânea determinação do Fator de Retenção (Rf).

Caracterização dos compostos

A caracterização dos compostos foi dividida entre a determinação do ponto de fusão e a elucidação estrutural

ISSN: 2447-6161

por espectroscopia no infravermelho. Inicialmente, realizou-se a purificação dos compostos por recristalização em solvente alcoólico visando minimizar possíveis interferências e remover impurezas. Em seguida, as características físicas (coloração e odor) foram investigadas.

O ponto de fusão (P.F.) foi determinado com o auxílio de um fusiômetro analógico, sendo o processo realizado em duplicata, aceitando-se uma variação máxima de 2°C entre a temperatura inicial e final de fusão. A análise espectroscópica foi conduzida no Departamento de Física da UFC, utilizando 5 mg de cada composto. Os analitos foram submetidos ao espectrômetro FT-IR VERTEX 70v, aplicando-se a técnica de Reflectância Total Atenuada (ATR) por meio do software OPUS. Os espectros gerados foram posteriormente tratados e analisados com o software Origin 2018.

Perfil farmacocinético *in silico*

A predição in silico foi focada na obtenção de informações sobre a biodisponibilidade oral e as propriedades farmacocinéticas dos compostos. Para isso, utilizou-se o código SMILES das moléculas, que possibilitou o acesso a duas plataformas online: SwissADME (http://www.swissadme.ch/) e pkCSM (https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/). Os dados gerados foram direcionados para investigar as propriedades farmacocinéticas e a conformidade com a regra dos cinco de Lipinski e parâmetros de Veber.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A 4-dimetilamino-benzilideno-tiossemicarbazona foi obtida como um sólido de coloração amarela clara, com rendimentos de 63,9% (em etanol) e 94,7% (em metanol), fator de retenção de 0,38 no sistema de eluição hexano-acetato de etila (7:3) e ponto de fusão de 189°C (Tabela 1). Além disso, os compostos 4-dimetilamino-benzilideno-tiazois, TZ-11 e TZ-12, foram obtidos como sólidos azulados, com rendimentos de 62,8% e 68,8%, fator de retenção de 0,59 no sistema de eluição hexano-acetato de etila (8:2) e pontos de fusão de 209°C e 214°C, respectivamente (TABELA 1). Os rendimentos reacionais apresentaram-se congruentes com o que se observa em literatura (Júnior, 2020).

Tabela 1 - Resultados envolvendo aspectos físico-químicos e reacionais dos compostos.

	TSC-07	TZ-11	TZ-12
Aspectos físicos	Amarelado	Azulada	Azulada
Rendimento	síntese proposta: 63,9% adaptação metanol: 94,7%	síntese proposta: 62,8% adaptação com iodeto de potássio: 49%	síntese proposta: 68,8%
Ponto de fusão	189°C	209°C	214°C
Fator de retenção	0,38	0,59	0,59

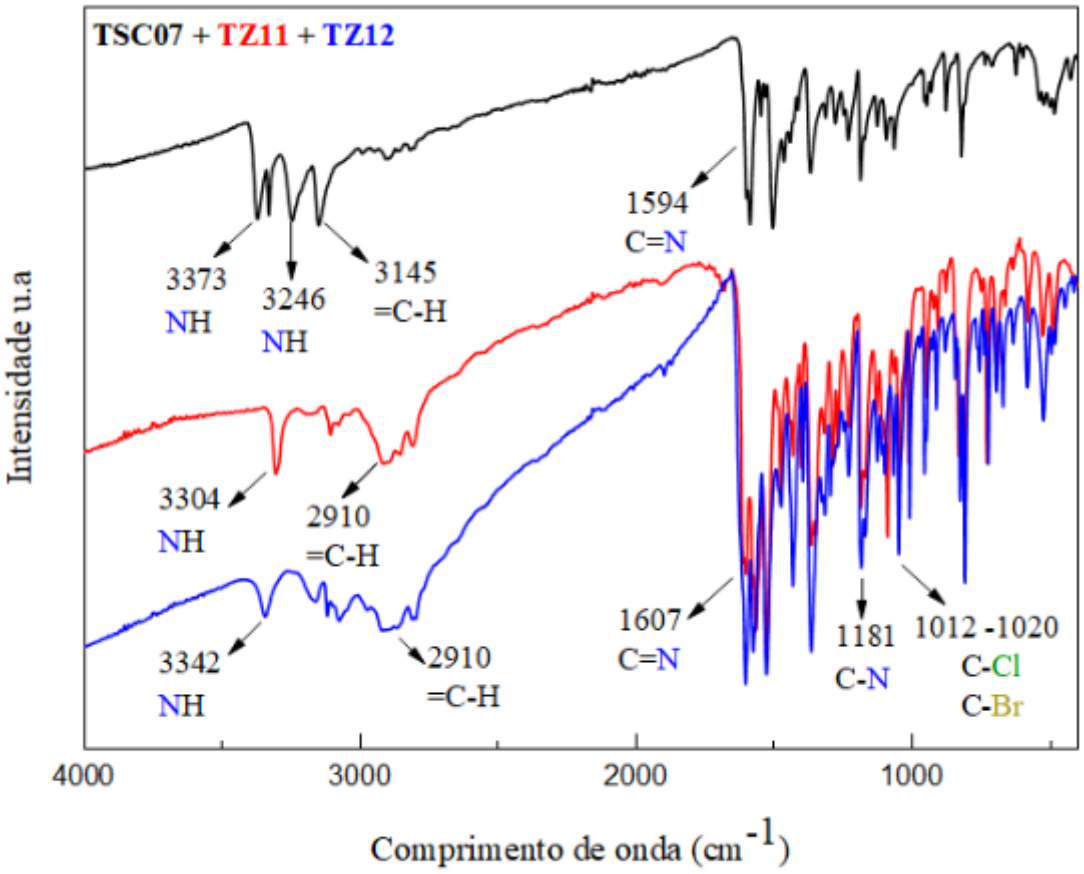
Fonte: Dos autores, 2023.

Os espectros exibidos pelos derivados tiazóis (TZ-11 e TZ-12), em comparação ao intermediário de reação (TSC-07), sugerem a possível formação do produto (FIGURA 1). Inicialmente, nota-se o desaparecimento de uma banda dupla relacionada à amina primária na faixa de 3373 cm^{-1} e de um fraco estiramento característico de amina secundária em 3246 cm^{-1}, cuja ausência aponta para o sucesso do ataque intramolecular do grupo amino, resultando na formação do anel tiazol. Ademais, a persistência de uma banda NH no espectro dos derivados tiazóis é esperada, devido à presença de uma amina secundária após evidenciação da ciclização. O aumento na intensidade e/ou duplicidade dos estiramentos em 1607 cm^{-1}, 1500

ISSN: 2447-6161

cm⁻¹ e 1181 cm⁻¹ também são esperados, condizentes com a adição de outro anel aromático (C=C), grupamento imina (C=N) e ligação C-N. Outro indicativo da formação do composto é a presença de uma banda correspondente a haletos de arila na faixa de (1012-1020 cm⁻¹).

Figura 1 - Espectros TSC07, TZ-11 e TZ-12



Fonte: Dos autores, 2024.

Quanto à biodisponibilidade oral in silico das moléculas (TABELA 2), observa-se que ambos os compostos obtiveram êxito em todos os critérios de Lipinski e Veber, indicando uma forte evidência de boa dissolução e absorção. Ademais, a diferença apresentada entre a tiossemicarbazona e seus derivados tiazóis relaciona-se pelo incremento de regiões lipofílicas decorrente da ciclocondensação com a acetofenona (IVANOVIY et al., 2020; JÚNIOR, 2020).

Com relação aos parâmetros farmacocinéticos in silico (TABELA 2), há mais um indicativo de boa biodisponibilidade oral com base no critério de absorção intestinal (>30%). O volume de distribuição indica uma distribuição mais equilibrada da tiossemicarbazona entre a corrente sanguínea e os tecidos, diferentemente dos derivados tiazólicos que apresentam baixo VDSs. No que se refere à metabolização, os derivados tiazólicos se destacam pela tendência a serem substratos da enzima CYP3A4, responsável pela metabolização de xenobióticos. Quanto ao clearance total, que se refere à capacidade do organismo de eliminar uma substância em um tempo específico (mL/min/kg), os compostos apresentaram taxas de depuração compatíveis com os valores reportados na literatura. Por fim, ambos os compostos predizem uma baixa hepatotoxicidade (PIRES et al., 2015; JÚNIOR, 2020).

ISSN: 2447-6161

Tabela 2 - Análise *in silico* da biodisponibilidade oral e farmacocinética

	TSC-07	TSC-11	TZ-12	Referência
Massa molar	222,31 g/mol	356,87 g/mol	401,333 g/mol	< 500 Da
Doadores de H	2	1	1	≤ 5
Aceptores de H	3	4	4	≤ 10
LogP	0,9197	4.3974	4.5065	≤ 5
N. ligações rotacionáveis	3	4	4	≤ 10
Área de superfície polar	85.74	71.99	71.99	≤ 140 Å²
Absorção intestinal (absorção)	83.957%	93,77%	93,71%	alta > 30% baixa < 30%
VDSs (distribuição)	-0,021	- 0,235	-0.222	alto > 0,45 baixo < -0,15
Substrato CYP3A4 (metabolização)	não	sim	sim	Sim/não
Clearance total (excreção)	-0,019 Log(mL/min/Kg)	0,181 Log(mL/min/Kg)	0,16 Log(mL/min/Kg)	Júnior, 2020.
Hepatotoxicidade (toxicidade)	não	não	não	sim/não

Fonte: Dos autores, 2024.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos durante a caracterização estrutural e físico-química, há fortes evidências da formação dos compostos sintetizados. Além disso, os dados obtidos por métodos in silico indicam uma boa biodisponibilidade oral e baixa toxicidade para os três compostos. Por fim, torna-se necessário o auxílio de técnicas espectroscópicas mais robustas junto a pesquisas in vitro e in vivo para maiores elucidações sobre sua caracterização estrutural, atividade biológica e perfil farmacocinético.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB) pelo financiamento da pesquisa intitulada SÍNTESE, AVALIAÇÃO DO PERFIL FARMACOCINÉTICO IN SILICO E DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA IN VITRO DE NOVOS DERIVADOS N-FENIL-TIOSSEMICARBAZONAS E TIAZOIS, executada entre 1 de outubro de 2023 e 30 de setembro de 2024, através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (Pibic), da Unilab. Também agradeço ao Laboratório de Química Orgânica Aplicada a Fármacos (LAQOFAR) e ao grupo de pesquisa de Tecnologia Farmacêutica (TECFAR) pela oportunidade de me envolver na presente pesquisa. Por fim, agradeço ao professor Dr. Jamerson Ferreira de Oliveira pela orientação durante execução do projeto.

ISSN: 2447-6161

REFERÊNCIAS

MOREIRA, Marta Alexandra Macedo. **Terapêutica antifúngica: novas moléculas, novas formas de administração e diferentes estratégias para alcançar a toxicidade seletiva**. Dissertação (mestrado em ciências farmacêuticas) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa. Porto, p. 54. 2021.

IVANOVIĆ, Violeta et al. Lipinski's rule of five, famous extensions and famous exceptions. **Popular Scientific Article**, v. 3, n. 1, p. 171-177, 2020.

PIRES, DEV et al. pkCSM: Predição de propriedades farmacocinéticas e de toxicidade de moléculas pequenas usando assinaturas baseadas em gráficos. **J. Med. Química**. 2015 , 58 , 4066–4072.

JÚNIOR, Natanael da Silva Bezerra. **Obtenção, caracterização estrutural e estudo in silico e avaliação da atividade antimalárica de novos derivados tiossemicarbazônicos e tiazólicos**. 2020. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.

EISSA SI, Farrag AM, Abbas SY, El Shehry MF, Ragab A, Fayed EA, Ammar YA . Novel structural hybrids of quinoline and thiazole moieties: Synthesis and evaluation of antibacterial and antifungal activities with molecular modeling studies. **Bioorganic Chemistry**. 2021;110:104803.

MENÉNDEZ, O. R. **Estudio de la resistencia a los antifúngicos en hongos patógenos humanos**. 2019. Tese (doutorado em biologia) - Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Complutense de Madrid. Madrid, p. 165. 2019.

GANGURDE, K. B. et al. Design, synthesis and biological evaluation of new series of benzotriazole-pyrazole clubbed thiazole hybrids as bioactive heterocycles: Antibacterial, antifungal, antioxidant, cytotoxicity study. **Journal of Molecular Structure**, v. 1299, p. 136760, 2023.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGIL NCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Resistência microbiana: saiba o que é e como evitar**. Brasília: Anvisa, 2013. Disponível em: . Acesso em 09 de out. 2024.

ISSN: 2447-6161