PLANEJAMENTO, SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO FARMACOCINÉTICA IN SILICO DE NOVOS DERIVADOS ARIL-TIOSSEMICARBAZONAS

João Pedro Pereira Gomes[1]
Ana Karoline Ribeiro Novais [2]
Antonio Miguelsinho Martins De Sousa Filho [3]
Cidla De Sousa Marinho [4]
Jamerson Ferreira De Oliveira[5]

RESUMO

Os tratamentos medicamentosos utilizados atualmente em infecções fúngicas apresentam desafios, seja pelo desenvolvimento de resistência pelos microrganismos ou pela presença de efeitos adversos por parte das classes de fármacos utilizadas. Assim, novas moléculas são desenvolvidas como futuras alternativas farmacológicas, destacando-se os derivados tiossemicarbazona e tiazóis, arcabouços moleculares com potencial farmacológico considerável e menor toxicidade. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo a síntese, caracterização e determinação das propriedades farmacocinéticas in silico de um derivado tiossemicarbazona (TSC-06) e dois novos híbridos tiazóis (TZ-09 e TZ-10). Para isso, realizou-se etapas sequenciais de síntese da tiossemicarbazida, tiossemicarbazona e por fim, dos dois derivados tiazóis, além de estudos cromatográficos realizados paralelamente para determinação do consumo total dos reagentes. Posteriormente, realizou-se a caracterização físico-química, determinando o ponto de fusão por meio de um fusiômetro analógico, além dos aspectos físicos dos compostos. Para a caracterização estrutural, utilizou-se um espectrômetro no infravermelho com a metodologia da Reflectância Total Atenuada (ATR). Por fim, determinou-se as características farmacocinéticas *in silico*, com auxílio das plataformas computacionais SwissADME e pKCSM. Diante disso, a tiossemicarbazona se apresentou como um sólido esbranquiçado e inodoro, com rendimento de 76,8% e P.F de 198°C. Já com relação aos derivados tiazóis (TZ-09 e TZ-10), foram obtidos sólidos claro-esverdeados e inodoros, com rendimentos de 62,76% e 53,55%, além de ponto de fusão de 239°C e 225°C, respectivamente. Unido a isso, a análise espectroscópica dos compostos indicou a presença de estiramentos característicos NH (3301 cm-1) e C=S (1190cm-1) para tiossemicarbazona, e C=N (1605 cm-1) e C-S (812 e 810 cm-1) para os tiazóis. Ademais, ambas as moléculas analisadas *in silico* predispõem uma boa biodisponibilidade oral e baixa toxicidade. Com isso, os compostos obtidos apresentaram-se promissores, mas, necessitam passar por novas etapas de elucidação estrutural e biológica, possibilitando agregar futuramente como novas alternativas para o tratamento antifúngico.

Palavras-chave: sintese; tiossemicarbazona; tiazol; espectroscopia no infravermelho.

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (Unilab), ICS- Instituto de Ciências da Saúde, Discente, joaopedropereira@aluno.unilab.edu.br[1]
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (Unilab), ICS - Instituto de Ciências da Saúde., Discente, karolinenovais@aluno.unilab.edu.br[2]
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (Unilab), ICS - Instituto de Ciências da Saúde, Discente, miguelmartins@aluno.unilab.edu.br[3]
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (Unilab), ICS - Instituto de Ciências da Saúde, Discente, cidlamarinho1@gmail.com[4]
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (Unilab), ICS - Instituto de Ciências da Saúde, Docente, jamerson@unilab.edu.br[5]

ISSN: 2447-6161

INTRODUÇÃO

As infecções fúngicas acarretam mais de 300 milhões de pessoas no mundo, onde no Brasil, estimativas de 2016 apontam pelo menos 3,8 milhões de indivíduos com alguma doença de cunho fúngico (VASCONCELOS, 2023). Dentro de hospitais brasileiros, Agnelli et al (2023) destaca a candidemia, apresentando uma incidência de pelo menos 2,4 casos por mil internos, com taxas de mortalidade para pacientes com 14 dias de infecção de 35%, chegando a metade dos casos em 30 dias, resultados apontados pelo estudo como constantes ao longo do tempo. Com base nisso, é possível visualizar uma necessidade de mudança no manejo terapêutico atual, seja na forma de execução terapêutica ou na introdução de novas alternativas farmacológicas.

O tratamento antifúngico, segundo Malagón (2021), é dividido em 5 principais classes de fármacos, sendo elas os azóis, alilaminas, polienos, lipopeptídeos e os antimetabólitos. Atualmente, parte desses medicamentos falham na terapia antifúngica devido a presença de resistência por parte dos microrganismos ou por efeitos adversos que impedem a continuidade do tratamento.

A presença de efeitos adversos, além da resistência por parte das cepas de fungos, é bastante relatada na literatura, principalmente envolvendo as classes dos azóis, antimetabólitos e polienos. Os azóis, mesmo que considerados os mais seguros, apresentam problemas envolvendo seu uso de forma massiva, abrindo caminho para mutações em genes responsáveis pela síntese do seu alvo farmacológico, assim, reduzindo sua afinidade e ocasionando no desenvolvimento de resistência antimicrobiana. Já com relação aos antimetabólitos, seu uso em monoterapia está diretamente relacionado com o desenvolvimento de resistência, além de serem conhecidos por apresentar hepatotoxicidade e nefrotoxicidade, limitando seu uso na terapia. Por fim, a última classe citada é conhecida por apresentar baixa afinidade ao colesterol humano devido seu alvo farmacológico ser o ergosterol, esterol presente na membrana dos fungos, assim, ocasionando também em danos as células do paciente (MALAGÓN, 2021; MOREIRA, 2021).

Diante destas limitações, novas moléculas estão em desenvolvimento como alternativas farmacológicas para o tratamento antifúngico, dentre elas, destacam-se os derivados tiossemicarbazona e tiazóis, compostos com atividade antimicrobiana já descrita em literatura (JÚNIOR, 2020). Com base nisso, o presente trabalho busca sintetizar, caracterizar e determinar as características farmacocinéticas in silico dos derivados tiosemicarbazona (TSC-O6) e tiazóis (TZ-09 e TZ-10), assim, possibilitando futuramente o desenvolvimento de novas drogas que possam auxiliar na terapia medicamentosa antifúngica.

METODOLOGIA

2.1 Síntese dos compostos

A síntese dos derivados tiossemicarbazona e tiazóis foi dividida em três etapas sequenciais. Inicialmente, obteve-se a tiossemicarbazida (intermediário de reação), utilizando como reagentes fenilisotiocianato e hidrazina na proporção 1:2, processo que ocorreu sob agitação e utilizando etanol como solvente. Posteriormente, realizou-se a síntese da tiossemicarbazona (TSC-06), utilizando o intermediário reacional obtido e 4-bromobenzaldeído na proporção 1:1, além de etanol como solvente e ácido acético como catalisador, reação que ocorreu sob agitação e refluxo.

Por fim, obteve-se os dois derivados tiazóis por meio da metodologia do ultrassom. Para isso, utilizou-se a tiossemicarbazona anteriormente obtida, diferenciando-se pela escolha do segundo reagente, que para o TZ-09, foi a 2,4-dibromoacetofenona, e para TZ-10, utilizou-se a 2-bromo-4-cloro-acetofenona, ambas na proporção estequiométrica de 1:1 e utilizando etanol como solvente.

As 3 sínteses se processaram de 45 a 60 minutos, onde após presença de precipitado, realizava-se uma análise por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) para confirmação do consumo total dos reagentes.

ISSN: 2447-6161

Assim, caso confirmado, o meio reacional era deixado sob filtração simples e, após secagem do sólido retido, determinava-se o rendimento da reação.

2.2 Caracterização físico-química e estrutural.

A caracterização foi dividida em duas etapas, sendo a primeira realizada no laboratório de química orgânica aplicada à fármacos da UNILAB e a segunda ocorrendo no departamento de física da UFC. Inicialmente, caracterizou-se os sólidos com relação aos seus aspectos físicos, sendo estes a coloração e o odor. Posteriormente, com auxílio de um fusiômetro analógico, determinou-se os pontos de fusão, processo realizado em triplicata, aceitando uma variação de até 2°C entre o ponto inicial e final da fusão. Por fim, no departamento de física da UFC, executou-se a caracterização estrutural dos compostos utilizando o espectrômetro FT-IR VERTEX 70v e a metodologia da Reflectância Total Atenuada (ATR). Assim, os dados eram obtidos pelo software OPUS, sendo posteriormente plotados em gráficos utilizando o software Origin 2018.

2.3 Análise *in silico* para determinação das características farmacocinéticas.

Como última etapa, realizou-se a predição *in silico* das propriedades ADME das moléculas. Para isso, utilizou-se as plataformas SwissADME (http://www.swissadme.ch/) e pkCSM (https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/), necessárias para a determinação da biodisponibilidade oral e parâmetros farmacocinéticos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Síntese e caracterização dos compostos.

A tiossemicarbazona (TSC-06) se apresentou como um sólido cristalino de coloração esbranquiçada e inodoro, com rendimento de 76,8%, Fator de Retenção (RF) de 0,45 e Ponto de Fusão (P.F) de 198°C (Tabela 1). Com relação a caracterização, seu espectro apresentou bandas na faixa de 3301 cm^(-1) e 3130 cm^(-1), características de uma amina secundária. A ausência de um estiramento referente a uma amina primária confirma o ataque nucleofílico da tiossemicarbazida ao benzaldeído, que posteriormente converte-se em uma imina, presente no espectro com o comprimento de onda de 1593 cm^(-1). Além destas, observou-se também estiramentos na faixa de 1190 cm^(-1), refente a uma tiocarbonila, e 1070 cm^(-1), característico de um brometo de arila.

O derivado tiazol (TZ-09) se apresentou como um sólido claro-esverdeado e inodoro, com rendimento de 62,76%, RF de 0,51 e PF de 239°C (Tabela 1). Com relação a sua análise espectroscópica (Imagem 1), uma das bandas referentes a amina sumiu, evidenciando a formação do heterociclo junto a presença de um novo estiramento carbono-enxofre (812 cm-1). Além desta, outras bandas foram observadas, apresentando pequenos deslocamentos se comparadas as da tiossemicarbazona, dentre elas, 1608 cm-1 (N=C-R) e 1013 cm-1 (C-Br). Por fim, a banda remanescente referente ao grupamento amino (3115 cm-1) é indicativo da presença de impureza na amostra.

Por fim, o TZ-10 se apresentou como um sólido claro-esverdeado e inodoro, com rendimento de 53,33%, Rf de 0,41 e PF de 225°C (Tabela 1). Com relação ao seu espectro (Imagem 2), as bandas referentes aos grupamentos amino (3115 cm-1), imina (1609 cm-1), carbono-enxofre (812 cm-1) e brometo de arila (1013 cm-1) se justificam pelos mesmos motivos discutidos anteriormente, com adição de um novo estiramento na faixa de 1087 cm-1 indicativo do grupamento cloreto de arila.

ISSN: 2447-6161

3.2 Análise *in silico* das propriedades farmacocinéticas.

Com relação a predição da biodisponibilidade oral, utilizou-se a regra dos 5 de Lipinski e as adicionais de Veber, sendo elas: peso molecular maior que 500 Da, grupos doadores ≤ 5 e aceptores ≤ 10 de ligação de hidrogênio, MlogP ≤ 4,15, número de ligações rotacionáveis ≤ 10 e área de superfície polar ≤ 140 Å² (PIRES et al, 2015).

O TSC-06 obedeceu todos os parâmetros analisados (Tabela 2), predispondo uma boa biodisponibilidade oral. Com relação aos derivados tiazóis, o TZ-10 reprovou a variável referente ao MlogP (Tabela 2), reflexo de seu arcabouço molecular com grandes bolsões lipofílicos provenientes dos seus anéis aromáticos para-substituídos, garantindo uma alta lipofilicidade. Ademais, para predispor uma boa biodisponibilidade oral, é aceito a reprovação de até 1 dos parâmetros citados, assim, garantindo também a aprovação TZ-10 (IVANOVIY et al, 2020).

O TZ-09, por também apresentar um arcabouço molecular lipofílico, reprovou na variável MlogP. Além disso, diferenciando-se do seu bioisóstero (TZ-10), o mesmo apresenta um átomo de bromo adicional em sua estrutura, aumentando a massa atômica e, consequentemente, violando o parâmetro referente ao peso molecular (Tabela 2). Diante disso, a violação de 2 regras predispõe uma baixa biodisponibilidade oral, mas, não descarta sua aplicabilidade por outras vias de administração.

Por fim, foram determinadas algumas propriedades farmacocinéticas, a fim de complementar os resultados obtidos. Dentre elas, o Volume de Distribuição no Estado Estacionário (VDss), onde o TSC-06 apresentou-se mais próximo de um baixo volume de distribuição, indicando uma maior presença no plasma, diferente dos derivados tiazóis, com valores próximos a um volume de distribuição alto, predispondo uma maior permanência nos tecidos, como consta na tabela 2 (JÚNIOR, 2020; PIRES et al, 2015).

Além disso, verificou-se também parâmetros envolta da metabolização e toxicidade das moléculas, sendo estes a toxicidade hepática e se são substratos da enzima CYP3A4. Assim, ambos os compostos demonstraram baixa hepatotoxicidade, tornando-se uma vantagem para o ajuste de sua possível dose terapêutica. Além disso, as moléculas demonstraram ser substrato da enzima CYP3A4, importante isoforma da família citocromo P450 responsável pela metabolização de fármacos, indicando possíveis interações medicamentosas com drogas inibidoras da mesma (GONÇALVES, 2013; JÚNIOR, 2020; PIRES et al, 2015).

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos durante a caracterização estrutural e físico-química, têm-se um forte indício da formação dos compostos sintetizados, necessitando de novas análises espectroscópicas para confirmação de seus arcabouços estruturais. Além disso, os dados obtidos in silico predispõem uma boa biodisponibilidade oral para pelo menos 2 das 3 moléculas, além de baixa toxicidade, tornando-as atrativas para próximas etapas de avaliação de sua atividade biológica. Por fim, torna-se necessário novas análises envolta da elucidação estrutural e atividade antimicrobiana das moléculas, possibilitando seu uso futuro como novas alternativas para o tratamento antifúngico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao PROPPG e ao PIBIC por terem disponibilizado esta bolsa de iniciação científica, além dos demais

ISSN: 2447-6161

membros do laboratório de química orgânica aplicada à fármacos da UNILAB.

REFERÊNCIAS

AGNELLI, Caroline et al. Prognostic Trends and Current Challenges in Candidemia: A Comparative Analysis of Two Multicenter Cohorts within the Past Decade. J**ournal of Fungi**, v. 9, n. 4, p. 468, 2023.

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.

MALAGÓN, Alejandro Díaz. **A evolução do consumo de antifúngicos em unidades de cuidados intensivos**. 2021. Dissertação (Mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas) - Instituto Universitário Egas Moniz. Almada, p. 82. 2021.

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

PIRES, Douglas EV; BLUNDELL, Tom L.; ASCHER, David B. pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. **Journal of medicinal chemistry**, v. 58, n. 9, p. 4066-4072, 2015.

VASCONCELOS, Artur Bibiano de. **Diagnóstico molecular de infecções fúngicas negligenciadas: criptococose e pitiose.** 2023. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2023.

ISSN: 2447-6161