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

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

RESUMO

O gênero Candida possui mais de 150 espécies sendo algumas delas presentes em seres humanos no trato gastrointestinal, sistema urogenital e mucosa do trato respiratório as quais podem se tornar patogênicas em casos de alterações fisiológicas desse habitat ou comprometimento do sistema imunológico, dessa forma, essa levedura é considerada a principal causa de infecções oportunistas em seres humanos e é responsável por cerca de 80% das infecções fúngicas diagnosticadas em hospitais terciários podendo gerar infecções invasivas ou sistêmicas. As principais classes de antifúngicos utilizadas atualmente no tratamento são Polienos, Azólicos, Equinocandinas e Antimetabólitos, entretanto, seus efeitos adversos, toxicidade e resistência a esses fármacos os tornam insuficientes no combate às essas infecções, evidenciando assim a necessidade de pesquisa e aprimoramento de protótipos a novos medicamentos potentes contra essas leveduras. Diante desse cenário, o objetivo do presente estudo foi desenvolver tiossemicarbazonas e derivados tiazóis e avaliar seu potencial antifúngico frente a cepas padrões e isolados clínicos. Para isso foi sintetizado inicialmente a tiossemicarbazida utilizada como reagente intermediário para obtenção da tiossemicarbazona (TSC-06) que reagiu com acetofenonas em banho ultrassom originando dois derivados tiazóis (TZ-07; TZ-08) após as etapas de síntese foram realizados testes em cromatografia em camada delgada para avaliar a efetividade da reação, os compostos obtidos alcançaram rendimentos de 76,8% (TSC-06); 78,7% (TZ-07); 72,8% (TZ-08) e ponto de fusão de 198ºC (TSC-06); 170ºC (TZ-07); 210ºC (TZ-08) e foram submetidos à análise in silico através das plataformas online SwissADME e pkCSM onde apresentaram bons resultados de biodisponibilidade oral de acordo com os parâmetros de Weber e Lipinsk e baixa toxicidade, também foi realizado a espectroscopia de absorção na região do infravermelho pelo método de Reflectância Total Atenuada (ATR), diante dos resultados encontrados foi possível concluir que os compostos estudados são promissores como alternativas no tratamento contra fungos, entretanto, ainda necessitam de mais etapas de estudo.

Palavras-chave: Tiazol; Tiossemicarbazona; Antifúngico.

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

ISSN: 2447-6161

INTRODUÇÃO

A candidemia é um problema de saúde pública em diversos países, entre os anos de 1979 e 2001 nos EUA o índice de infecções sistêmicas causadas por Candida spp foi de 207%, o aumento desses casos são observados principalmente em pacientes que são hospitalizados por longos períodos e/ou submetidos a terapia imunossupressora, cateter venoso central, nutrição parenteral e antibióticos de amplo espectro, além do alto índice de infecções a taxa de mortalidade relacionada a candidemia varia de 40 a 60% (CANASSA, 2019).

O diagnóstico precoce e a identificação da espécie são de extrema importância para o combate da enfermidade, entretanto, isso é dificultado visto que os sintomas apresentados pelos pacientes são muito inespecíficos e os testes de diagnóstico apresentam altos índices de falsos-negativos, diante desse cenário muitos indivíduos mais suscetíveis a infecções são submetidos a tratamentos profiláticos com antifúngicos, mas grande parte acaba por desenvolver resistência a esses medicamentos (CANASSA, 2019).

De acordo com Silva (2017) os antifúngicos mais utilizados no tratamento de candidemia são equinocandinas (caspofungina, micafungina, anidulafungina) e o fluconazol, em casos de resistência a essas formulações pode-se optar pela anfotericina B porém seus efeitos tóxicos são maiores, dessa forma torna-se necessário a pesquisa para o desenvolvimento e aprimoramento de fármacos mais potentes e com menor toxicidade para o combate dessa enfermidade.

METODOLOGIA

O primeiro passo da etapa de síntese foi a reação entre o fenilisotiocianato e a hidrazina na proporção estequiométrica 1:2 em temperatura ambiente originando a tiossemicarbazida, um composto necessário para a segunda etapa, essa reação permaneceu sob agitação magnética até a precipitação, após esse processo o produto foi analisado em cromatografia em camada delgada (CCD) para validação da reação.

A próxima etapa foi a obtenção da tiossemicarbazona (TSC-06) através de uma reação entre o composto anteriormente sintetizado e o 4-bromobenzaldeído na proporção estequiométrica 1:1 utilizando etanol como solvente e ácido acético como catalisador, a reação permaneceu sob refluxo e agitação magnética até a precipitação e em seguida também foi analisada por CCD.

Na última etapa de síntese foi realizada uma reação entre a tiossemicarbazona (TSC-06) e duas acetofenonas sendo a 2-Br-acetofenona e 2-Br-4-NO2-acetofenona resultando em dois derivados tiazóis (TZ–07; TZ-08) na proporção estequiométrica 1:1 em meio etanólico e banho de ultrassom até completa precipitação, ao final da reação os produtos foram analisados por CCD.

Para análise in silico foi utilizado duas plataformas online, sendo elas SwissADME (http://www.swissadme.ch/) e pkCSM (https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/), na primeira foi avaliada a biodisponibilidade oral através da regra dos cinco, também chamada regra de Lipinski e a regras de Veber, nesse site também foi gerado um código SMILE necessário na segunda plataforma citada responsável por avaliar as características farmacocinéticas das moléculas. Com relação a análise estrutural, ela foi realizada por meio da espectroscopia de infravermelho, utilizando a metodologia da Reflectância Total Atenuada (ATR).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O primeiro composto avaliado apresentou-se como como um sólido branco, com RF de 0,45 (hexano/acetato de etila 8:2) e ponto de fusão (PF) 198°C sendo este a tiossemicarbazona (TSC-06), em seguida os derivados tiazóis, sendo o TZ-07 um sólido de coloração esverdeada com RF de 0,5 (hexano/acetato de etila 8:2) e PF 170ºC, já o TZ-08 como um sólido laranja com RF de 0,62 (hexano/acetato de etila 8:2) e PF de 210ºC. Os resultados calculados dos rendimentos foram de 76,8% para TSC-06, 72,8% para TZ-07 e de 78,7% para

ISSN: 2447-6161

TZ-08, valores superiores a alguns rendimentos encontrados no estudo de Espíndola (2017) que variaram de 56% a 89% utilizando o mesmo método de ultrassom.

A avaliação da biodisponibilidade oral das moléculas foi realizada através de uma plataforma online chamada SwissADME (http://www.swissadme.ch/) onde foram avaliados quatro parâmetros estabelecidos por Lipinski sendo eles: peso molecular < 500 Da; presença de ≤ 5 grupos doadores de ligação de hidrogênio; presença de ≤ 10 grupos aceptores de ligação de hidrogênio; e MLogP calculado ≤ 4,15. Outra regra avaliada foi a de Veber onde o composto deve apresentar área de superfície polar ≤ 140 Å2 e o número de ligações com flexibilidade torsional ≤ 10 (BARREIRO; FRAGA, 2015).

Como podemos observar na tabela 1 a seguir os resultados encontrados foram satisfatórios para as três moléculas estudadas, a tiossemicarbazona (TSC-06) não violou nenhum dos parâmetros analisados, porém os tiazois (TZ-07; TZ-08) apresentaram valores 4.95 e 4.76 para LogP, dessa forma, foi violado um parâmetro de Lipinski, entretanto, isso não os inviabilizam de serem estudados e biodisponíveis por via oral visto que a regra de Lipinski permite a violação de até um dos critérios e esses valores podem ser explicados pela pela ciclização promovida em seu processo de síntese (JUNIOR, 2020).

Tabela 1 - Avaliação da biodisponibilidade oral in silico.

Fonte: O autor, 2023.

Por meio do site pkCSM (https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/), foi possível obter dados farmacocinéticos de absorção, distribuição, metabolização, excreção e toxicidade. Um dos dados analisados na etapa de absorção foi a solubilidade dos compostos em água por meio do LogS que de acordo com Júnior (2020) obedece aos seguintes parâmetros: insolúvel < -10 < pobremente solúvel < -6 < moderadamente solúvel < -4 < solúvel < -2 < muito solúvel < 0 < altamente solúvel. A TSC-06 foi considerada moderadamente solúvel assim como o composto semelhante JF-93 de Ribeiro (2019) e os tiazois com valores de -6.629 mg/ml e -6.517 mg/ml, estando na média de valores encontrados por Junior (2020).

Outro dado analisado nessa primeira etapa foi a permeabilidade Caco-2 que tem como objetivo avaliar a penetração de compostos na parede intestinal onde a molécula deve apresentar log Papp > 0,90. A TSC-06 apresentou valor de 1,616, ou seja, de boa permeabilidade e os valores encontrados para o TZ-07 e TZ-08 foram de 1,102 e 0,38 respectivamente, indicando uma baixa permeabilidade para o TZ-08 o que pode ser explicada pela presença do grupo nitro na molécula, um fato que também foi observado nos estudos de Matias (2017).

Na etapa de distribuição foi avaliado o VDSs e fração não ligada do fármaco que segundo Junior (2020) significam a partição do fármaco entre o plasma sanguíneo e os tecidos e à quantidade do fármaco que se encontra livre no plasma e está prontamente disponível para extravasar do plasma para os tecidos respectivamente. Nesse estudo todos os compostos apresentaram VDSs intermediários, indicando que os compostos planejados tem tanto distribuição sanguínea quanto tecidual.

Na análise da metabolização a TSC-06 é considerada inibidor do CYP2D6, mas não inibe a isoenzima CYP3A4, diferente dos compostos estudados por Santos (2022) que não apresentam nenhuma atividade inibitória frente a essas isoenzimas, o TZ-07 e o TZ-08 inibem a isoenzima CYP3A4, mas não são inibitórios do CYP2D6.

Com relação a excreção foram avaliados os valores de clearance total que é uma relação entre a quantidade de fluidos corporais e fármaco eliminados por unidade de tempo (mL/min/kg), os resultados de TSC-06: -0.235; TZ-07: 0,096; TZ-08: 0,002 estão dentro da faixa de valores adequados encontrados em outros estudos sendo de -0,232 a 0,061 para tiossemicarbazonas e -0,018 a 0,411 para tiazóis (JUNIOR, 2020).

Outra característica observada foi a toxicidade, onde todos os compostos sintetizados neste estudo foram

ISSN: 2447-6161

considerados não hepatotóxicos, o que é uma vantagem frente a terapia medicamentosa existente, pois como comentado anteriormente esse problema é um de seus efeitos adversos mais comuns, entretanto, todos também foram considerados potencialmente mutagênicos quando avaliados a toxicidade AMES.

Com relação a sua análise espectroscópica, o TSC-06 apresentou um estiramento no comprimento de onda de 3301 cm-1 e 3130 cm-1, ambos respectivos para amina secundária. Além disso, é perceptível também uma banda na faixa de 1593 característico de uma imina, confirmando o ataque nucleofílico da tiossemicarbazida ao aldeído. Também, observa-se um estiramento correspondente ao grupamento brometo de arila (1070 cm-1) e outro para uma carbonila (1190 cm-1).

Quando comparados os resultados da TSC-06 e os tiazóis, é possível observar um rearranjo de ligações relacionadas ao ataque nucleofílico do enxofre, causando o desaparecimento de uma das bandas referente ao estiramento da amino e gerando um processo de ciclização e formação do tiazol. A banda correspondente ao grupamento imina é bastante similar entre a tiossemicarbazona e os tiazóis, apresentando-se na faixa de 1611 cm-1 (TZ-07) e 1600 cm-1 (TZ-08).

Além disso, percebe-se também o desaparecimento do estiramento referente a tiocarbonila após o ataque nucleofílico pelo enxofre da tiossemicarbazona, surgindo uma nova banda carbono-enxofre na faixa de 834 cm-1 (TZ08) e 818 cm-1 (TZ07). Com relação ao brometo de arila, as faixas referentes aos tiazóis foram, respectivamente, 1020 cm-1 (TZ07) e 1110 cm-1 (TZ-08). Além disso, percebe-se uma nova banda na faixa de 1489 no espectro do TZ07, correspondendo ao grupamento nitro.

Por fim, é possível observar no gráfico referente ao TZ-08 a presença de uma banda referente ao grupamento amino (3133 cm-1), bem como uma nova faixa com comprimento de onda de 2689, referente a um tiol, possibilitando a presença de tiossemicarbazona que tenha sofrido tautomerismo pela presença de hidrogênios lábeis adjacente à ligação C=S.

Figura 1. Análise por espectroscopia no infravermelho da tiossemicarbazona.



Fonte: Dos autores, 2023.

Figura 2. Análise por espectroscopia no infravermelho dos derivados tiazóis



Fonte: Dos autores, 2023.

CONCLUSÕES

Diante dos resultados encontrados nas análises in silico onde os compostos apresentaram boa biodisponibilidade oral, nas características farmacocinéticas sendo solúveis, permeáveis na parede intestinal e não hepatotóxicas pode-se concluir que as moléculas sintetizadas são consideradas promissoras, porém, ainda é necessário mais análises de suas características antifúngicas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao PIBIC e ao CNPq pela bolsa que tornou essa pesquisa possível e aos integrantes do Laboratório de Química Orgânica Aplicada a Fármacos da Unilab.

REFERÊNCIAS

BARREIRO, Eliezer J.; FRAGA, Carlos A. M. **Química Medicinal: as bases moleculares da açao dos**

ISSN: 2447-6161

fármacos. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.

BERTO, C.; WIRTH, F.; BARTH, N.; HERMES, D. M. BASES DA RESISTÊNCIA ANTIFÚNGICA: UMA REVISÃO COMENTADA. **Revista Uningá**, [S. l.], v. 55, n. 3, p. 52–71, 2018.

ESPÍNDOLA, Leandro. **Síntese, atividade biológica e propriedades ADME de novos derivados quinolínicos contendo o núcleo pirazolina e tiazol.** 2017. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2017.

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.

MATIAS, M. et al. Screening of pharmacokinetic properties of fifty dihydropyrimidin(thi)one derivatives using a combo of in vitro and in silico assays. **European Journal of Pharmaceutical Sciences.** v. 109, p. 334-346, 2017.

RIBEIRO, A.G. et al. Novel 4-quinoline-thiosemicarbazone derivatives: Synthesis, antiproliferative activity, in vitro and in silico biomacromolecule interaction studies and topoisomerase inhibition. **Eur. J. Med. Chem.** v. 182, p. 111592, 2019.

SANTOS, L.S. **Uso de hidrogel para encapsulamento de tiossemicarbazonas como potenciais candidatas ao tratamento da Doença de Alzheimer.** 2023. TCC (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina. Centro Tecnológico, de Ciências Exatas e Educação. Engenharia de Materiais. 2023.

Silva RB. **Candidemia em um hospital público do nordeste do Brasil: características epidemiológicas e fatores de risco em pacientes críticos.** Recife. Dissertação [Mestrado em Patologia] – Universidade Federal de Pernambuco; 2017.

VIEIRA, A. J. H; SANTOS, J. I. Mecanismos de resistência de Candida albicans aos antifúngicos anfotericina B, fluconazol e caspofungina. **Revista Brasileira de Análises Clínicas.** [S. l.], v. 49, n. 3, p. 235-239, 2017.

ISSN: 2447-6161