



## Síntese de Aciltiossemicarbazida a partir da Isoniazida para o Tratamento da Tuberculose

### Synthesis of Acylthiosemicarbazides from Isoniazid for Tuberculosis Treatment

Sara Xavier Neves da Silva<sup>1</sup>, Fábio Vandresen<sup>2</sup>

#### RESUMO

Este estudo teve como objetivo sintetizar quatro moléculas de aciltiossemicarbazida, derivadas do fármaco isoniazida, com o propósito de buscar potenciais candidatos a fármacos contra a tuberculose. A metodologia empregada foi a via direta, demonstrando rendimentos superiores a 80%, sendo esta a única abordagem utilizada na síntese dos compostos denominados Acil 01-04. A caracterização das moléculas foi realizada por meio de técnicas espectroscópicas, como espectroscopia de infravermelho e ressonância magnética nuclear de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. Os resultados dessas análises confirmaram a concordância das estruturas químicas com as propostas inicialmente, validando assim a síntese. Além disso, foi conduzido um estudo *in silico*, no qual os compostos Acil não violaram as regras dos parâmetros de Lipinski, indicando a viabilidade de se tornarem novos fármacos contra o bacilo *Mycobacterium tuberculosis*. Esses compostos apresentaram melhorias significativas em relação à atividade antituberculose em comparação com a isoniazida, o fármaco atualmente utilizado, e também mostraram uma redução substancial na citotoxicidade, indicando baixo potencial de agressão ao organismo humano. Portanto, este estudo demonstrou a síntese bem-sucedida dos compostos Acil 01-04, que apresentam potencial como novos fármacos contra a tuberculose, com características promissoras em termos de atividade antituberculose e baixa citotoxicidade.

**PALAVRAS-CHAVE:** acil; aciltiossemicarbazida; isoniazida; tuberculose.

#### ABSTRACT

This study aimed to synthesize four molecules of acylthiosemicarbazide, derived from the drug isoniazid, with the purpose of seeking potential candidates for tuberculosis drugs. The methodology employed was the direct route, demonstrating yields of over 80%, being the only approach used in the synthesis of the compounds called Acil 01-04. The characterization of the molecules was carried out through spectroscopic techniques such as infrared spectroscopy and nuclear magnetic resonance of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C. The results of these analyses confirmed the agreement of the chemical structures with the proposals initially, thus validating the synthesis. In addition, an *in silico* study was conducted, in which the Acil compounds did not violate Lipinski's parameter rules, indicating the feasibility of becoming new drugs against the bacillus *Mycobacterium tuberculosis*. These compounds showed significant improvements in antituberculosis activity compared to isoniazid, the currently used drug, and also demonstrated a substantial reduction in cytotoxicity, indicating low potential for harm to the human body. Therefore, this study demonstrated the successful synthesis of Acil 01-04 compounds, which have the potential to become new drugs against tuberculosis, with promising characteristics in terms of antituberculosis activity and low cytotoxicity.

**KEYWORDS:** acyl; acylthiosemicarbazide; isoniazid; tuberculosis.

#### INTRODUÇÃO

A tuberculose, uma doença infecciosa causada pelo bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, permanece como um desafio global de saúde no século XXI. Apesar dos

<sup>1</sup> Voluntário PIVICT/UTFPR. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, PR, Brasil. E-mail: saraxavier@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 4597229955592128.

<sup>2</sup> Docente do Departamento de Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, PR, Brasil. E-mail: fabiovandresen@utfpr.edu.br. ID Lattes: 8780109652880703.



avanços na compreensão e tratamento, a tuberculose ainda é uma das principais causas de mortalidade no Brasil e em todo o mundo. A doença é transmitida através de gotículas de saliva de pessoas infectadas durante atividades como tossir e espirrar, afetando cerca de um quarto da população mundial, mesmo que muitos não desenvolvam a forma ativa (MINISTÉRIO DA SAÚDE, s.d). O tratamento convencional da tuberculose dura no mínimo seis meses devido ao crescimento lento da bactéria, podendo durar até 18 meses em casos onde a bactéria se torna resistente, o que leva ao abandono do tratamento e à resistência aos medicamentos, além de causar efeitos colaterais aos paciente que estão em tratamento (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022). O surgimento de cepas altamente resistentes da tuberculose, especialmente à ação dos medicamentos tradicionais, impulsionou a urgência na busca por novos agentes anti-tuberculose capazes de efetivamente combater todas as formas da doença (PATEL, 2014). Este estudo busca desenvolver quatro novos compostos derivados da isoniazida, incorporando a estrutura das aciltiossemicarbazidas. Esses compostos mostraram potencial para serem agentes antituberculose apresentando uma diminuição no efeito de citotoxicidade e eficácia contra cepas resistentes do *Mycobacterium Tuberculosis* (SCARIM, 2021). O objetivo é desenvolver moléculas bioativas que reduzam os efeitos colaterais, encurte a duração do tratamento e, assim, combata o abandono do tratamento e a propagação da doença. Isso pode representar um avanço significativo no controle eficaz da tuberculose, melhorando a saúde global.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção, descreveremos os equipamentos utilizados no processo de reação, que inclui uma Balança Analítica Shimadzu, duas micropipetas Jetta (uma com graduação de 100-1000 $\mu$ L e outra com graduação de 10-100 $\mu$ L), um Termômetro Digital Thermo, Banhos Ultratermostáticos Solab e um Agitador Magnético Solab. Para análises de infravermelho, empregamos um espectrofotômetro PerkinElmer modelo UATR Two com o módulo ATR. Já as análises de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram realizadas em um espectrômetro Bruker, operando a frequências de 400 MHz para  $^1\text{H}$  e 100 MHz para  $^{13}\text{C}$ .

## SÍNTESE

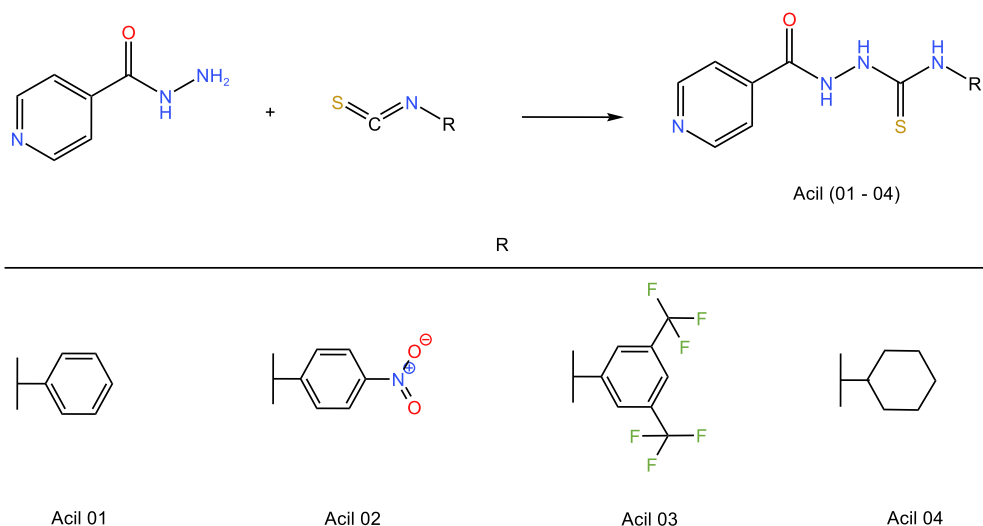
Para a síntese das quatro moléculas identificadas como Acil 01 a Acil 04, uma metodologia única foi empregada, visando a formação das tiossemicarbazidas. O ponto de partida para essa síntese foi o fármaco isoniazida, amplamente disponível comercialmente, juntamente com o isotiocianatos que possuem 4 grupos R distintos. As quatro moléculas resultantes são as seguintes: fenil aciltiossemicarbazida (Acil 01), 4-nitrofenil aciltiossemicarbazida (Acil 02), 3,5-Bis(trifluormetil) fenil aciltiossemicarbazida (Acil 03) e ciclohexil aciltiossemicarbazida (Acil 04). O processo de síntese da Acil – 04 seguiu os passos descritos a seguir: Inicialmente, 3 mmol (0,4154 g) de isoniazida foram dissolvidos em álcool etílico (20 ml) em um balão de fundo redondo de 50 ml. Em seguida, usando uma micropipeta, foram adicionados 3 mmol (0,42 ml) do reagente ciclohexil isotiocianato à solução. A mistura reacional foi então colocada em um banho de glicerina com um condensador acoplado e submetida a refluxo e aquecimento. A temperatura foi monitorada e, quando atingiu 50 °C, mantendo a temperatura entre 70 e 80 °C. Para o acompanhamento da reação, foi realizada uma análise de Cromatógrafo de Camada Delgada (CCD), usando uma mistura de acetato de etila e metanol na proporção de 4:1, com os reagentes e as reações dissolvidos em etanol (EtOH). A análise CCD foi usada

para confirmar o completo consumo dos reagentes. Após a análise, o aquecimento foi desligado, e a reação foi mantida apenas à temperatura ambiente por aproximadamente mais 24 horas. Após esse período, o produto foi resfriado à temperatura ambiente, resultando na formação de um precipitado, que foi filtrado e lavado com álcool etílico. Em seguida, o precipitado foi levado para secagem em uma estufa. Após a completa secagem, o produto foi pesado e armazenado adequadamente. A mesma metodologia foi aplicada para a formação das quatro aciltiossemicarbazidas.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Todos os compostos foram sintetizados de maneira consistente por meio da aplicação de uma única metodologia direta. Nessa abordagem, as moléculas de aciltiossemicarbazida foram obtidas através da reação entre a isoniazida, um medicamento de partida crucial, e os reagentes isotiocianato. O processo de síntese segue uma rota específica, que é ilustrada detalhadamente no esquema 1 abaixo.

Figura 1 – Rota de síntese das moléculas aciltiossemecarbazida



Fonte: Próprios autores

Os rendimentos obtidos para todos os compostos sintetizados foram superiores a 80%, indicando a eficácia da metodologia utilizada para a obtenção dos compostos Acil. Abaixo estão os rendimentos individuais para cada composto Acil: Acil-01 (87,5%), Acil-02 (90,65%), Acil-03 (83,61%) e Acil-04 (90,33%). Esses resultados demonstram a eficiência da metodologia empregada na síntese das aciltiossemicarbazidas. Para a caracterização das moléculas sintetizadas, foram empregadas técnicas analíticas, especificamente ensaios de infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN). Os dados espectroscópicos resultantes estão detalhadamente descritos a seguir:

**Acil – 01:** IV(ATR): (NH) 3235  $\text{cm}^{-1}$ ; (C=O) 1670  $\text{cm}^{-1}$ ; (fenil) 1500  $\text{cm}^{-1}$ ; (C=S) 1255  $\text{cm}^{-1}$ ; (Piridina) 753  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\delta$ ) – 7,18 (t, 1H, HI); 7,37 (m, 4H, Hk, Hj); 7,86 (d, 2H, Ha, J = 5,87 Hz); 8,78 (d, 2H, Hb, J = 6,11 Hz); 9,84 (s, 1H, Hh); 9,88 (s, 1H, Hf); 10,88 (s, 1H, He).



**Acil – 02:** IV(ATR): (NH) 3268  $\text{cm}^{-1}$ ; (C=O) 1600  $\text{cm}^{-1}$ ; (NO<sub>2</sub>) 1336  $\text{cm}^{-1}$ ; (C=S) 1276  $\text{cm}^{-1}$ ; (Piridina) 740  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN <sup>1</sup>H (400 MHz,  $\delta$ ) – 7,80 (m, 4H, Hk, Hj); 8,23 (d, 2H, Ha, J = 9,29 Hz); 8,80 (d, 2H, Hb, J=6,11 Hz); 10,17 (s, 1H, Hh); 10,27 (s, 1H, Hf); 10,99 (s, 1H, He).

**Acil – 03:** IV(ATR): (NH) 3269  $\text{cm}^{-1}$ ; (C=O) 1680  $\text{cm}^{-1}$ ; (CF<sub>3</sub>) 1278  $\text{cm}^{-1}$ ; (Piridina) 752  $\text{cm}^{-1}$ .

**Acil – 04:** IV(ATR): (NH) 3266  $\text{cm}^{-1}$ ; (CH alifático) 2928  $\text{cm}^{-1}$ ; (C=O) 1680  $\text{cm}^{-1}$ ; (C=S) 1229  $\text{cm}^{-1}$ ; (Piridina) 749  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN <sup>1</sup>H (400 MHz,  $\delta$ ) – 1,06 (m, 2H, HI); 1,26 (m, 4H, Hk); 1,79 (m, 4H, Hj); 4,14 (m, 1H, Hi); 7,83 (d, 2h, Ha, J = 5,9 Hz); 7,85 (s, 1H, Hh); 8,76 (d, 2H, Hb, J = 6,4 Hz); 9,30 (s, 1H, Hf); 10,57 (s, 1H, He); RMN <sup>13</sup>C (400 MHz,  $\delta$ ) – 25,44 (Ck); 25,65 (Cl); 32,31 (Cj); 53,80 (Ci); 123,13 (Ca); 140,10 (Cc); 150,66 (Cb); 167,77 (Cd); 180,50 (Cg).

Esses resultados sólidos validam a importância da metodologia adotada na síntese das aciltiossemicarbazidas, fornecendo informações essenciais para futuros avanços na pesquisa e desenvolvimento de novos compostos farmacêuticos. A partir dos dados apresentados, é possível caracterizar o composto Acil-04. No espectro de infravermelho, observam-se picos característicos de carbono alifático do ciclohexil (2928  $\text{cm}^{-1}$ ) e C=S (1229  $\text{cm}^{-1}$ ), ambos correspondentes ao ciclohexil isotiocianato. Além disso, o espectro exibe sinais dos grupos NH (3266  $\text{cm}^{-1}$ ) e C=O (1680  $\text{cm}^{-1}$ ), típicos da estrutura da piridina. A ressonância magnética nuclear (RMN) da mesma molécula revela bandas características no espectro de <sup>1</sup>H, variando de 1,6 até 4,14, correspondentes às bandas do ciclohexil. Também são identificadas os sinais característicos de NH em 7,85, 9,30 e 10,57 ppm e do anel piridina como dupletos em 7,83 e 8,76 ppm. No espectro de <sup>13</sup>C, observam-se picos em 167,77 indicando a presença da carbonila, e 180,50 ppm correspondendo ao carbono ligado ao enxofre (C=S). Essas análises permitem validar a autenticidade da molécula sintetizada. É importante destacar que as outras moléculas foram caracterizadas de maneira semelhante, apresentando picos específicos para sua identificação, reforçando a confiabilidade do processo de síntese e caracterização desses compostos.

## ESTUDO IN SÍLICO

Outra forma de análise dos compostos sintetizados foi conduzida através da previsão computacional in silico. Esse tipo de análise é útil para avaliar a toxicidade dos compostos e realizar uma triagem virtual, que permite a rápida identificação de compostos que podem ser promissores para testes experimentais. Essa abordagem foi aplicada aos quatro compostos Acil, bem como ao fármaco isoniazida, a fim de possibilitar uma comparação direta. Os dados do estudo in silico foram retirados dos sites Osiris, SwissAdme e Pass Online. Os resultados dessa análise estão apresentados nas Tabelas 1 e 2 a seguir:

Tabela 1 - Dados e previsão das propriedades moleculares

Composto	MM (g/mol)	cLog P	H - Aceptor	H - doador	Log S	TPSA	Absorção GI	BBB
Acil - 01	272,33	1,01	5	3	-3,11	98,14	Alta	Não
Acil - 02	317,33	0,09	8	3	-3,57	143,96	Baixa	Não
Acil - 03	408,33	2,70	5	3	-4,67	98,14	Baixa	Não
Acil - 04	278,38	0,85	5	3	-3,18	98,14	Alta	Não
Isoniazida	137,14	-1,02	4	2	-1,19	68,01	Alta	Não

Fonte: Dos próprios autores



Tabela 2 – Estudo de predição de toxicidade e atividade farmacológica dos Acil.

Composto	Alérgico	Mutagênico	Tumorigênico	Sistema Reprodutor	Atividade Antituberculose (Pa)
Acil - 01	Alta agressão	Alta agressão	Média agressão	Média agressão	0,828
Acil - 02	Alta agressão	Alta agressão	Média agressão	Média agressão	0,909
Acil - 03	Alta agressão	Alta agressão	Média agressão	Média agressão	0,762
Acil - 04	Alta agressão	Média agressão	Média agressão	Média agressão	0,731
Isoniazida	Alta agressão	Média agressão	Média agressão	Média agressão	0,810

■ Alta agressão     
 ■ Média agressão     
 ■ Baixa agressão

Fonte: Dos próprios autores

Na Tabela 1, são apresentados diversos parâmetros relacionados às moléculas, permitindo uma análise abrangente. É evidente que nenhuma das moléculas viola os critérios de Lipinski, que estabelecem padrões para a viabilidade de uma molécula como um potencial fármaco. Esses critérios incluem um coeficiente de partição (cLog P) maior ou igual a 5, uma massa molecular menor ou igual a 500 g/mol, número de aceitadores de hidrogênio menor ou igual a 10 e número de doadores de hidrogênio menor ou igual a 5. Isso é importante para determinar se as características físico-químicas dos compostos com atividade farmacológica permitem sua administração oral. Ao analisar o parâmetro Log S, que define a solubilidade dos compostos em água, observamos que o Acil-01 apresenta a maior capacidade solúvel (Log S -3,11), enquanto a molécula Acil-03 possui a menor solubilidade (Log S -4,67). Comparativamente, todas as moléculas apresentam valores abaixo do fármaco isoniazida em relação a esse parâmetro. O parâmetro TPSA, que descreve a absorção do fármaco, indica que a molécula Acil-02 obteve o melhor resultado, com todas as moléculas apresentando valores superiores ao fármaco padrão. A capacidade de permeação pela membrana gastrointestinal (GI) revela que Acil-01 e Acil-04 têm alta capacidade de absorção gastrointestinal, enquanto as demais moléculas Acil apresentam baixa capacidade nesse aspecto. Na Tabela 2, observamos como a isoniazida demonstra potencial agressivo ao organismo humano, com alta capacidade alérgica e mutagênica. No entanto, as moléculas Acil 01 até 03 exibem baixa agressão em relação a esses parâmetros, embora nenhuma delas alcance resultados excelentes nesse aspecto. Em relação ao uso farmacológico desses compostos contra a tuberculose, os compostos Acil-01 e Acil-02 apresentam resultados mais promissores do que o fármaco isoniazida, com probabilidades de atividade (Pa) mais elevadas, sugerindo que podem ser excelentes opções para o desenvolvimento de novos fármacos no tratamento dessa doença.

## CONCLUSÃO

Neste estudo, todas as moléculas propostas foram sintetizadas usando uma única metodologia direta, resultando em excelentes rendimentos, validando a eficácia dessa abordagem na formação dos compostos Acil. As moléculas foram submetidas a análises por técnicas analíticas, incluindo espectroscopia de infravermelho e ressonância magnética nuclear (RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ), confirmando sua identidade e integridade. A maioria dos compostos Acil demonstrou uma alta probabilidade de atividade (Pa) como agentes



antituberculosas, o que sugere que eles têm potencial para se tornarem novos fármacos eficazes. No entanto, é importante notar que todas as moléculas apresentaram parâmetros associados a uma agressão significativa ao organismo humano, incluindo alta agressão ao sistema reprodutivo e potencial tumorigênico. Notavelmente, o Acil-04 foi o único a apresentar alta agressão mutagênica, um aspecto menos favorável. No contexto dos estudos *in silico*, as moléculas Acil se destacaram principalmente por sua ação antituberculosa, com resultados impressionantes. Um ponto notável foi o desempenho do Acil-02, que, apesar de apresentar baixa absorção gastrointestinal, demonstrou uma eficácia antituberculosa de 90%, superando a isoniazida, um dos principais medicamentos contra o *Mycobacterium tuberculosis*. Portanto, é importante destacar que os resultados *in silico* são promissores, mas testes *in vitro*, especialmente com cepas mais resistentes do *Mycobacterium tuberculosis*, são necessários para avaliar definitivamente a eficácia e segurança desses compostos, além de confirmar os resultados promissores apresentados neste estudo.

### Agradecimentos

PIVICT/UTFPR, DAQUI-LD/UTFPR, UEL – Universidade Estadual de Londrina

### Conflito de interesse

“Não há conflito de interesse”.

### REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. **Tuberculose**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/t/tuberculose>. Acesso em: 15 de agosto de 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Tratamento e prevenção**, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/t/tuberculose/tratamento-e-prevencao>. Acesso em: 19 de agosto de 2023.

PATEL, S. R.; GANGWAL, R.; SANGAMWAR, A. T.; JAIN, R. **Synthesis, biological evaluation and 3D-QSAR study of hydrazide, semicarbazide and thiosemicarbazide derivatives of 4-(adamantan-1-yl)quinoline as anti-tuberculosis agents**. *European Journal of Medicinal Chemistry*, [s. l.], v. 85, p. 255–267, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0223523414007156>. Acesso em: 22 de agosto de 2023.

SCARIM, C. B.; PAVAN, F. R. **Thiazole, triazole, thio- and semicarbazone derivatives - Promising moieties for drug development for the treatment of tuberculosis**. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*, [s. l.], v. 1, p. 100002, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772417421000029?via%3Dihub>. Acesso em: 28 de agosto de 2023.