



Síntese de derivados sintéticos da isoniazida: potencial farmacológico para o tratamento de tuberculose

Synthesis of synthetic derivatives of isoniazid: pharmacological potential for the treatment of tuberculosis

Ana Beatriz Silveira Valencio¹, Fabio Vandresen²

RESUMO

Nesse estudo foi realizada a síntese de seis moléculas da classe das acilhidrazonas com o objetivo de encontrar possíveis fármacos candidatos à agentes antituberculose. A síntese, foi realizada a partir de agitação ultrassônica entre a isoniazida e uma cetona (ABS 1-2) ou um aldeído (ABS 3-6), ambas em etanol na presença de catalisador. Para acompanhamento das reações utilizou-se cromatografia em camada delgada (CCD) e em seguida, as moléculas sintetizadas foram caracterizadas por espectroscopia na região de infravermelho e por RMN de ¹H e ¹³C, indicando que os compostos sintetizados estão coerentes com a estrutura química proposta. Obteve-se um rendimento de 50,20%, 74,94%, 56,65%, 89,45%, 84,10% e 88,3% respectivamente. Foi realizado também o estudo *in silico* para a determinação preliminar da biodisponibilidade oral e as seis moléculas em questão estavam dentro dos parâmetros de Lipinski e não violaram nenhuma regra. As próximas etapas são um estudo *in silico* para a indicação de atividade antituberculose e ensaio *in vitro*.

PALAVRAS-CHAVE: acilhidrazonas, isoniazida, tuberculose

ABSTRACT

In this study, six molecules of the acylhydrazone class were synthesized with the aim of finding possible drug candidates for anti-tuberculosis agents. The synthesis was carried out using ultrasonic agitation between isoniazid and a ketone (ABS 1-2) or an aldehyde (ABS 3-6) in ethanol and acid catalyst. Thin layer chromatography (TLC) was used for monitored the reaction and after synthesized molecules were characterized by spectroscopy in the infrared region and by ¹H and ¹³C NMR, indicating that the synthesized compounds are consistent with the proposed chemical structure. The yields obtained were of 50.20%, 74.94%, 56.65%, 89.45%, 84.10% and 88.3%, respectively. *In silico* study was also carried out to determine oral bioavailability, and the six molecules no presented violations of Lipinski's rule. The next steps are an *in silico* study for the indication of anti-tuberculosis activity and an *in vitro* assay.

KEYWORDS: acylhydrazones, isoniazid, tuberculosis

INTRODUÇÃO

A tuberculose é uma doença contagiosa grave causada pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis*, nomeada também de Bacilo de Koch. Essa doença se desenvolve rapidamente em áreas do corpo com muito oxigênio, sendo o pulmão o mais acometido. (SILVA, 2019).

O Brasil se encontra dentro do grupo de 22 países priorizados pela OMS (Organização Mundial da Saúde), pois juntos, totalizam 80% da carga geral de tuberculose. A doença é transmitida através de gotículas de saliva de pessoas infectadas durante atividades como tossir e espirrar (MINISTÉRIO DA SAÚDE, s.d). Apesar de ser uma doença

¹ Iniciação Científica Voluntária. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil. E-mail: anavalencio@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 8924078777961043

² Docente no Curso de Engenharia Química, Departamento de Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil. E-mail: fabiovandresen@utfpr.edu.br. ID Lattes: 8780109652880703



que teve seu aparecimento a muito tempo atrás, os fármacos utilizados para o combate da enfermidade são escassos, e os existentes apresentam diversos efeitos colaterais devido sua longa exposição no corpo dada pela duração de tratamento, como a Isoniazida (INH) e a Rifampicina (RIF) que atuam na linha de frente do combate à doença. A derivação sintética de fármacos é uma estratégia de síntese muito difundida pela comunidade acadêmica e tem como intuito a obtenção de análogos com perfil farmacológico similar ou superior aos dos fármacos referência como o caso da INH (foco do atual estudo) (SOUZA, 2005). As modificações estruturais resultantes do processo de síntese alteram grupos estruturais e assim, provocam mudanças na toxicidade e na atividade. Por fim, este estudo tem como objetivo a síntese, caracterização e estudo *in sílico* de moléculas derivadas da INH.

MATERIAIS E MÉTODOS

INSTRUMENTAÇÃO

As reações foram utilizadas utilizando os equipamentos a seguir: Reações em ultrassom foi utilizado o banho ultrassônico da marca Cristofoli operando com frequência de 42 Hz; as análises de FT-IR dos compostos foram realizadas em um espectrofotômetro IV de marca PerkinElmer, do modelo UATR Two usando o módulo ATR; e a análise do RMN de ¹H realizados em um espectrômetro Bruker operando a 400 MHz.

SÍNTESE DAS ACILHIDRAZONAS

Para a síntese das acilhidrazonas (ABS 1-6), foi adicionado 2,5mmol de isoniazida em um béquer e em seguida, adicionou-se aldeído ou cetona na proporção molar de (1:1) ou (1:1,1) em relação a isoniazida. Em seguida, foi solubilizado com etanol e acidificado com ácido acético (3 a 4 gotas). O meio reacional foi então submetido à agitação ultrassônica em uma cuba de ultrassom à temperatura ambiente durante 40 minutos a 1 hora. Para confirmação da reação, foi utilizado cromatografia em camada delgada (CDD) com uma solução de hexano e acetato de etila na proporção de (3:2). Após esses procedimentos, a solução foi deixada em repouso para que o excesso de solvente fosse evaporado lentamente e o produto obtido foi posteriormente filtrado e lavado com água destilada ou etanol. Por fim, as análises de rendimento, espectroscópicas e estudo *in sílico* foram realizadas.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS

Substância ABS1: Rendimento: 50,20%, IV (FTIR/ATR): ν (cm^{-1}) = 3222 (NH amida), 1661 (C=O amida), 1530 (N=C imina). RMN DE ¹H (400, MHz, DMSO-d₆): δ_{H} 10,92 (s, NH, 1H), 8,72 (d, 2H_{piridyne}, J=6,0 Hz), 7,73 (d, 2H_{piridyne}, J=6,0 Hz), 2,50 (t, 2H_{aro}, J=9,0 Hz), 2,38 (m, 3H_{aro}, J=9,0 Hz). RMN DE C¹³ (100 MHz, DMSO-d₆): δ_{C} 168,02(C=N), 161,96 (C=O),



150,31(2C, C₄), 141,37 (1C, C₂), 121,89(2C, C₃), 35,32(1C, C₆'), 28,45(1C, C₂'), 27,16(1C, C₃'), 26,01(1C, C₅'), 25,27(1C, C₄').

Substância ABS2: Rendimento: 74,94%, IV (FTIR/ATR): ν (cm⁻¹) = 3242 (NH amida), 1661 (C=O amida), 1527 (N=C imina). RMN DE ¹H (400, MHz, DMSO-d₆): δ_{H} 10,96 (s, NH, 1H), 8,75 (d, 2H_{piridyne}, J=6,0 Hz), 7,78 (d, 2H_{piridyne}, J=6,0 Hz), 2,31 (m, 3H_{aro}, J=9,0 Hz).

Substância ABS3: Rendimento: 56,65%, IV (FTIR/ATR): ν (cm⁻¹) = 3457 (NH amida), 1686 (C=O amida), 1550 (N=C imina). RMN DE ¹H (400, MHz, DMSO-d₆): δ_{H} 12,25 (s, NH, 1H), 8,92 (d, 2H_{piridyne}, J=6,0 Hz), 7,73 (d, 2H_{piridyne}, J=6,0 Hz), 2,50 (t, 2H_{aro}, J=9,0 Hz), 2,38 (m, 3H_{aro}, J=9,0 Hz).

Substância ABS4: Rendimento: 89,45%, IV (FTIR/ATR): ν (cm⁻¹) = 3201 (NH amida), 1681 (C=O amida), 1567 (N=C imina). RMN DE ¹H (400, MHz, DMSO-d₆): δ_{H} 10,92 (s, NH, 1H), 8,79 (d, 2H_{piridyne}, J=6,0 Hz), 8,51 (s, NC-H, 1H), 8,05 (d, 2H_{piridyne}, J=6,0 Hz), 7,77 (t, 2H_{aro}, J=9,0 Hz), 7,48 (m, 3H_{aro}, J=9,0 Hz). RMN DE C¹³ (100 MHz, DMSO-d₆): δ_{C} 161,63(C=O), 150,17 (C_{piridyne}=N), 148,34 (C=N), 146,43 (C=C_{piridyne}), 143,56 (C_{ciclo}).

Substância ABS5: Rendimento: 84,10%, IV (FTIR/ATR): ν (cm⁻¹) = 3272 (NH amida), 1618 (C=O amida), 1534 (N=C imina). RMN DE ¹H (400, MHz, DMSO-d₆): δ_{H} 12,04 (s, NH, 1H), 8,79 (d, 2H_{piridyne}, J=6,0 Hz), 8,35 (s, NC-H, 1H), 7,73 (d, 2H_{piridyne}, J=6,0 Hz), 6,98 (s, 1H_{furano}), 6,64 (d, 2H_{furano}, J=6,0 Hz).

Substância ABS6: Rendimento: 88,3%, IV (FTIR/ATR): ν (cm⁻¹) = 3209 (NH amida), 1681 (C=O amida), 1572 (N=C imina). RMN DE ¹H (400, MHz, DMSO-d₆): δ_{H} 12,05 (s, NH, 1H), 8,70 (d, 2H_{piridyne}, J=6,0 Hz), 8,28 (s, NC-H, 1H), 7,82 (d, 2H_{tiofeno}, J=6,0 Hz), 7,16 (s, 1H_{tiofeno}, J=9,0 Hz).

Para as moléculas ABS2, ABS3, ABS5 e ABS6 não foi possível realizar a análise espectroscópica RMN do C¹³.

Esses resultados autenticam a importância da metodologia adotada na síntese das acilhidrazonas, fornecendo informações essenciais para futuros avanços na pesquisa e desenvolvimento de novos compostos farmacêuticos.

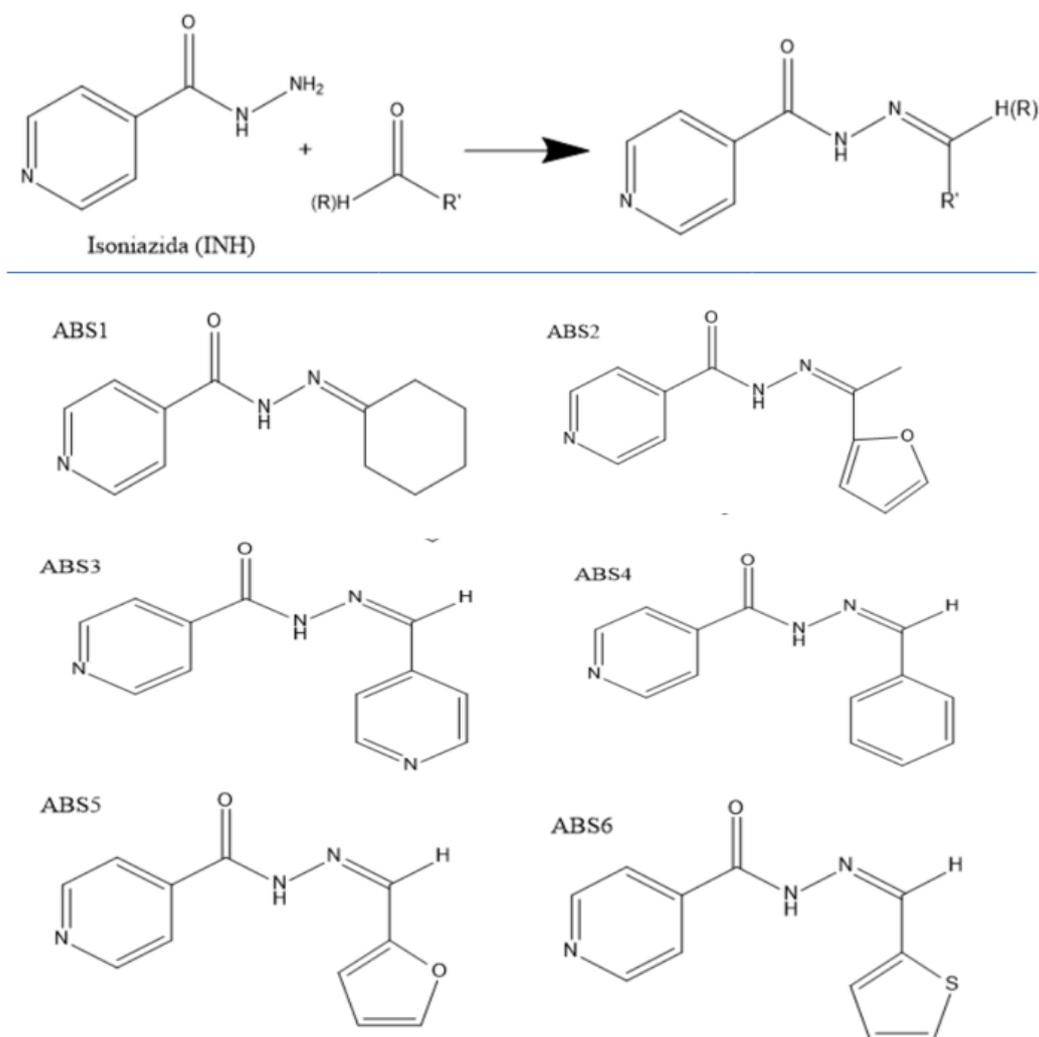
ROTA DE SÍNTESE DAS ACILHIDRAZONAS

As N-acilhidrazonas derivadas da isoniazida foram obtidas a partir da reação de adição nucleofílica envolvendo o nitrogênio terminal nucleofílico da isoniazida com carbonilas de aldeídos (4-formilpiridina, benzaldeído, furfural e 2-tiofenocarboxaldeído) e cetonas (ciclohexanona e 2-acetilfurano) na presença de etanol e ácido acético catalítico.

O processo de síntese segue uma rota específica, que é ilustrada detalhadamente no esquema 1 abaixo. É ilustrado também os compostos ABS1-6.

Todos derivados foram obtidos com rendimentos bons variando de 50 a 89%.

Figura 1 - Rota de síntese e moléculas sintetizadas para análise



Fonte: Autoria Própria, 2023

ESTUDO IN SÍLICO

O estudo in sílico foi realizado nas moléculas ABS 1-6 e para o fármaco de referência do estudo: Isoniazida (INH). Foram realizadas as predições de propriedades físico-químicas de acordo com os parâmetros de Lipinski, sendo eles: lipofilicidade (LogP), número de



acceptores de ligações de hidrogênio (nHa), número de doadores de ligações de hidrogênio (nHb) e massa molecular (MM). O software utilizado para análise foi o Osiris Predictor.

Tabela 1 – Parâmetros de Lipinski

<i>Molécula</i>	<i>LogP</i>	<i>nHa</i>	<i>nHb</i>	<i>MM</i>
INH	-1,02	4	2	137,14
ABS1	1,95	4	1	217,27
ABS2	1,33	5	1	229,24
ABS3	1,20	5	1	226,24
ABS4	2,20	4	1	225,25
ABS5	1,33	5	1	229,24
ABS6	2,01	4	1	245,31

Fonte: Autoria própria

De acordo com a regra dos cinco de Lipinski para uma molécula para ter boa disponibilidade oral deve apresentar valores para 4 parâmetros múltiplos de 5: log P menor ou igual a 5, Massa Molecular (MM) menor ou igual a 500, acceptores de ligação de hidrogênio (nHa) menor ou igual a 10 e doadores de ligação de hidrogênio (nHb) menor ou igual a 5. As seis moléculas em análise (ABS 1-6) estão dentro dos critérios utilizado na regra dos cinco, que significa que indicam uma boa disponibilidade oral.

Tabela 2 - Estudo de predição de toxicidade e atividade farmacológica

Compostos	Mutagênico	Tumorigênico	Irritante	Sistema Reprodutor
INH	Alta agressão	Alta agressão	Alta agressão	Alta agressão
ABS1	Baixa agressão	Alta agressão	Baixa agressão	Alta agressão
ABS2	Alta agressão	Alta agressão	Baixa agressão	Alta agressão
ABS3	Baixa agressão	Alta agressão	Baixa agressão	Alta agressão
ABS4	Baixa agressão	Alta agressão	Baixa agressão	Alta agressão
ABS5	Alta agressão	Alta agressão	Baixa agressão	Alta agressão
ABS6	Baixa agressão	Alta agressão	Baixa agressão	Alta agressão

Alta agressão

Média agressão

Baixa agressão

Fonte: Autoria própria, 2023

Na Tabela 2, observa-se como a isoniazida demonstra potencial de alta agressão ao organismo humano. No entanto, as moléculas ABS1, ABS3, ABS4 e ABS6 exibem baixa agressão nos parâmetros mutagênico e irritante, embora nenhuma delas alcance resultados excelentes nesse aspecto. Todas as 6 moléculas (ABS1-6) demonstram baixa agressão no parâmetro irritante.



CONCLUSÃO

As Moléculas (ABS 1-6) foram sintetizadas e analisadas através de técnicas espectroscópica. As seis moléculas indicaram bandas características da estrutura molecular apresentada, podendo concluir que o produto esperado em teoria é o mesmo esperado na prática. A partir do estudo in sílico os compostos em estudo seguiram os parâmetros de Lipinski e não violaram nenhuma regra, possuindo assim um bom resultado na avaliação de disponibilidade oral. Apesar das conclusões apontadas, se faz necessário um estudo in sílico para a determinação do potencial dos compostos em atividade antituberculose e um ensaio biológico in vitro para confirmar se as moléculas possuem atividade antituberculose.

Agradecimentos

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

Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

SOUZA, Vinícius Nora de; VASCONCELOS, Thatyana Rocha Alves. Fármacos no combate à tuberculose: passado, presente e futuro. **Química Nova**, Vol. 28, No. 4, 678-682, 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/6QZRwvrRDb4qLX3zjzQyJRB/>. Acesso em: 11 set. 2023

SILVA, Rodrigo Antônio Lopes. Determinação de parâmetros físico-químicos de derivados triazólicos da vanilina com potencial atividade farmacológica. **Planeta Inovação**. Disponível em: <https://www.ifmg.edu.br/sic/edicoes-anteriores/resumos-2019/determinacao-de-parametros-fisico-quimicos-de-derivados-triazolicos-da-vanilina-com-potencial-atividade-farmacologica.pdf>. Acesso em: 12 set. 2023

BRASIL. Tuberculose. **Ministério da Saúde**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/t/tuberculose>. Acesso em: 25 out. 2023