



Síntese de híbridos piridina-tiossemicarbazonas análogos da Isoniazida

Synthesis of pyridine-thiosemicarbazone hybrids of Isoniazid analogs

Eduardo Pereira Cavalsani Barbosa¹, Fábio Vandresen²

RESUMO

Neste estudo, realizou-se a síntese de 5 híbridos 4-formilpiridina-tiossemicarbazonas, análogos à isoniazida, com foco na obtenção de novos compostos candidatos à fármacos contra a tuberculose. Foram propostas duas metodologias para a síntese desses híbridos, a via *indireta* e direta (*one-pot*) onde os rendimentos obtidos variaram de 68,29% a 92,08% e de 84,43% a 89,99%, respectivamente. Os híbridos sintetizados foram denominados TSC 1-5. Os compostos foram caracterizados utilizando a espectroscopia de infravermelho (FT-IR), ponto de fusão e RMN de ¹H e ¹³C. A análise espectroscópica mostrou que os compostos sintetizados foram obtidos de acordo com as estruturas químicas propostas. Os compostos TSC 1-5 não violaram nenhuma regra dos parâmetros de Lipinski e Veber, e apresentaram uma boa disponibilidade de absorção oral no estudo *in silico*. No estudo *in silico*, os compostos TSC-1 e TSC-3 mostraram uma melhor disponibilidade de atividade antituberculose que os demais, porém todos os compostos apresentaram baixa citotoxicidade.

PALAVRAS-CHAVE: Isoniazida; tiossemicarbazidas; tiossemicarbazonas; tuberculose.

ABSTRACT

In this study, the synthesis of 5 4-formylpyridine-thiosemicarbazones hybrids, analogues to isoniazid, was carried out, with a focus on obtaining new candidate compounds for drugs against tuberculosis. Two methodologies were proposed for the synthesis of these hybrids, the *indirect* and direct route (*one-pot*) where the obtained yields ranged from 68.29% to 92.08% and from 84.43% to 89.99%, respectively. The synthesized hybrids were named TSC 1-5. The compounds were characterized using infrared spectroscopy (FT-IR), melting point and ¹H and ¹³C NMR. Spectroscopic analysis showed that the synthesized compounds were obtained according to the proposed chemical structures. Compounds TSC 1-5 did not violate any rule of Lipinski and Veber parameters, and showed good availability for oral absorption in the *in silico* study. In the *in silico* study, TSC-1 and TSC-3 compounds showed a better availability of antituberculosis activity than the others, but all compounds showed low cytotoxicity.

KEYWORDS: Isoniazid; thiosemicarbazides; thiosemicarbazones; tuberculosis.

INTRODUÇÃO

A tuberculose é uma doença causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* ou bacilo de Koch, que pode afetar vários órgãos do nosso corpo. Apesar de também acometer outras partes (forma extrapulmonar), essa doença infectocontagiosa geralmente afeta os pulmões (forma pulmonar) (SANTOS, 2023). A Isoniazida é um fármaco essencial para o combate à Tuberculose, sendo indicada para tratamento da doença desde meados da década de 1950. Apesar dos fármacos antituberculose combaterem eficazmente o micro-organismo, elas podem ocasionar diversos efeitos colaterais indesejáveis, seja pelo próprio princípio ativo ou pelos seus metabólitos e o longo período de tratamento (ao menos 6 meses) leva ao abandono do tratamento ocasionando o surgimento de cepas resistentes do bacilo

¹ Bolsista PIVICT/UTFPR. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, PR, Brasil. E-mail: barbosae@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 9588833919386325.

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



(VIEIRA; GOMES, 2008). Por outro lado, as tiossemicarbazonas são compostos azometínicos que despertam grande interesse do ponto de vista farmacológico e este grupo pode também ser encontrado em fármacos com ação antituberculose como a tiacetazona (BERALDO, 2004). Com isso, esse estudo visa sintetizar 5 híbridos 4-piridina-tiossemicarbazonas análogos da isoniazida utilizando 2 diferentes metodologias sintéticas que possam atuar como moléculas com ação antituberculose e efeitos colaterais menos agressivos que os fármacos utilizados atualmente na quimioterapia antituberculose.

MATERIAIS E MÉTODOS

INSTRUMENTAÇÃO

As reações foram realizadas utilizando os seguintes equipamentos: Para o Ultrassom foi utilizado o banho ultrassônico da marca Cristofoli operando com frequência de 42 Hz; banho termostatizado para refrigeração do sistema de condensação da marca SOLAB modelo SL152; os pontos de fusão dos compostos foram medidos em um equipamento da marca Microquímica; as análises de FT-IR dos compostos TSC 1-5 foram realizadas em um espectrofotômetro IV de marca PerkinElmer, do modelo UATR Two usando o módulo ATR; e a análise do RMN de ^1H e ^{13}C foram realizados em um espectrômetro Bruker operando a 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C .

SÍNTESE

As metodologias adotadas para obtenção dos híbridos TSC 1-5 foram a indireta e a direta (*one-pot*). A metodologia indireta é realizada em 2 etapas: a primeira etapa é a síntese das tiossemicarbazidas a partir do isotiocianato e hidrazina e a segunda etapa consiste na reação da tiossemicarbazida com 4-formilpiridina. Para a síntese das tiossemicarbazonas utilizando essa metodologia, foram inicialmente obtidas quatro tiossemicarbazidas: feniltiossemicarbazida, ciclohexiltiossemicarbazida, 4-nitrofeniltiossemicarbazida e a 3,5-Bis(trifluormetil)fenil-tiossemicarbazida. Já a tiossemicarbazida utilizada para a síntese de TSC-1 é disponibilizada comercialmente. Já na metodologia *one-pot*, TSC 2-5 são obtidas diretamente utilizando isotiocianato, hidrazina e 4-formilpiridina sem a necessidade de realizar etapas preliminares. A descrição das sínteses é apresentada abaixo e a comparação entre os rendimentos globais, obtidos em ambas metodologias, estão dispostas na Tabela 1.

Tabela 1- Rendimentos das sínteses

Compostos	Rendimento Global		
	Met. Indireta ultrassom (%)	Met. One-pot ultrassom (%)	Met. One-pot refluxo (%)
TSC1	87,45	n.r	n.r
TSC2	69,01	84,43	85,91
TSC3	92,08	85,76	n.r
TSC4	77,13	89,99	n.r
TSC5	68,29	86,29	n.r

n.r = não realizado



Fonte: Dos próprios autores

MÉTODO INDIRETO: Para a obtenção das tiossemicarbazonas TSC 1-5 inicialmente foi necessário obter a intermediária tiossemicarbazida. A seguir, será descrita a obtenção de TSC-3: Para a formação do precursor 4-nitrofeniltiossemicarbazida foi utilizado 1,5 mmol (0,2725 g) de 4-nitrofenilisotiocianato e 2 mmol (0,08 mL) de hidrato de hidrazina 80%. Em um balão de fundo redondo o 4-nitrofenilisotiocianato é dissolvido em álcool etílico (15 mL) e em seguida foi adicionado lentamente hidrazina 80%. A reação foi mantida em agitação à temperatura ambiente durante a adição da hidrazina. Posteriormente, a mistura reacional foi mantida em refluxo por 1 hora. Para verificação do consumo dos reagentes foi realizado análise com CCD utilizando uma mistura de hexano e acetato de etila 80:20 como eluente, mostrando o consumo dos reagentes. Após esse período, a reação foi resfriada à temperatura ambiente obtendo-se um precipitado que foi filtrado e lavado com cerca de 20 mL de éter etílico e posteriormente colocado na estufa para secagem. Após a secagem da amostra obteve-se 0,2979 g de massa, com um rendimento de 92,83%. Para a obtenção do híbrido TSC-3 utilizou-se 1 mmol (0,2101 g) de 4-nitrofeniltiossemicarbazida previamente preparada e 1 mmol (0,090 mL) de 4-piridinocarboxaldeído. Os reagentes foram adicionados em um Erlenmeyer e dissolvidos com 25 mL de etanol e 5 mL de H₂O. Após a diluição foi acrescentada 5 gotas de ácido acético. Em seguida, essa solução foi levada ao ultrassom por 25 minutos à temperatura ambiente. Após a agitação, a reação foi mantida em descanso por 24 horas para posteriormente ser filtrada e lavada com água e posteriormente seca na estufa. Após a secagem da amostra obteve-se 0,2959 g de massa, com um rendimento de 98% para segunda etapa e apresentando um rendimento global de 92,08%. As demais tiossemicarbazonas foram sintetizadas de maneira análoga a TSC-3.

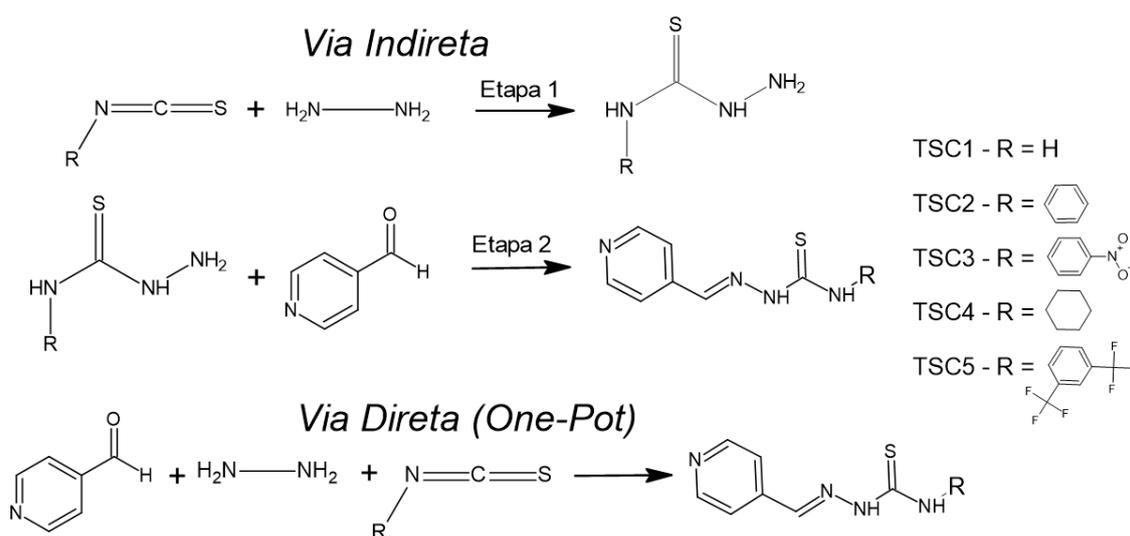
MÉTODO DIRETO: Para a obtenção das tiossemicarbazonas TSC 2-5 pelo método *one-pot*, todos os reagentes foram simultaneamente adicionados ao sistema reacional, sem etapas preliminares. Para a síntese do híbrido TSC-3 foi utilizado 1 mmol (0,1806 g) de 4-nitrofenilisotiocianato, 1 mmol (0,094 mL) de 4-piridinocarboxaldeído e 1 mmol de Hidrazina-80% (0,039 mL). Primeiramente, adicionou-se 20 mL de álcool etílico e em seguida juntou-se o 4-nitrofenilisotiocianato, a hidrazina (80%), o 4-piridinocarboxaldeído e 5 gotas de ácido acético. O Erlenmeyer foi colocado no ultrassom por 40 minutos para a solução ser agitada e totalmente diluída. O acompanhamento da reação foi realizado o CCD utilizando hexano e acetato de etila 80:20 como eluente. A análise da CCD revelou o consumo total dos reagentes e a obtenção das TSC 2-5. A mistura reacional foi mantida em repouso por 2 dias para precipitação do produto e posteriormente ser filtrada. Após esse período a solução foi filtrada e o sólido lavado com água e posteriormente colocado na estufa de secagem. Após a secagem da amostra obteve-se 0,2584 g de massa, com um rendimento de 85,76%. Os demais compostos foram sintetizados de maneira análoga à TSC-3.

ESTUDO *IN SÍLICO* (ADME/T): Os estudos referentes as propriedades de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade ao organismo humano dos compostos sintetizados foram obtidos através da plataforma SWISS Online, OSIRIS Property Explorer e PASS online. Com o uso dessas plataformas é possível obter os parâmetros e estimar a viabilidade da administração oral destes compostos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foi utilizado duas diferentes metodologias de síntese: a *via indireta* onde primeiramente obtém-se a tiossemicarbazida a partir da reação de hidrazina com o isotiocianato correspondente e posteriormente essa tiossemicarbazida reage com 4-formilpiridina na presença de catalisador ácido; e a *via direta (one-pot)* onde o isotiocianato, hidrazina e 4-formilpiridina (4-piridinacarboxaldeído) reagem simultaneamente em um único meio reacional. Na Figura 1 encontra-se a rota de síntese para a metodologia Indireta e Direta (*One-Pot*), em que o radical R identifica os radicais para os compostos TSC 1-5.

Figura 1 – Sistema reacional geral para a via indireta e direta (*One-Pot*)



Fonte: Dos próprios autores

Os rendimentos obtidos para TSC 1-5 foram bons ou ótimos em ambas as metodologias, apresentando resultados superiores a 60% para todos os compostos sintetizados. A metodologia direta (*one-pot*) mostrou-se mais rápida e eficaz com relação aos rendimentos dos híbridos sintetizados. Na metodologia indireta o composto TSC-3 apresentou o maior rendimento (92,10%), bem como o composto TSC-4 na metodologia *One-Pot* (89,99%). Os valores altos de rendimento mostram uma grande eficiência na aplicação das metodologias, evidenciando um papel importante na síntese das tiossemicarbazonas. Os dados espectroscópicos abaixo, confirmam a caracterização estrutural dos híbridos sintetizados.

TSC-1: (IV, ATR, cm^{-1}): 3422 (NH₂); 3255 (NH); 1592 (C=N); 1537 (C=C_{Aro}); 1107 e 1063 (C=S). p.f. 238-239 °C (Ocorreu degradação).

TSC-2: (IV, ATR, cm^{-1}): 3298 e 3208 (NH); 1595 (C=N); 1498 (C=C_{Aro}); 1102 e 1070 (C=S); RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ_H 12,11 (s, NH, 1H), 10,31 (s, NH, 1H), 8,63 (d, 2H_{Pir}, J=6,0 Hz), 8,12 (s, 1H, H-C=N), 7,90 (d, 2H_{Pir}, J=6,0 Hz), 7,54 (d, 2H, J=7,6 Hz). p.f. 181-185 °C.

TSC-3: (IV, ATR, cm^{-1}): 3292 (N-H); 1600 (C=N); 1550 e 1330 (NO₂); 1501 (C=C_{Aro}); 1110 (C=S); RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): ζ_H 12,43 (s, NH, 1H); 10,58 (s, NH, 1H); 8,66 (d,



2H_{pir}, J=6 Hz); 8,26 (d, 2H, J=9 Hz); 8,17 (s, 1H, H-C=N); 8,05 (d, 2H, J=9 Hz); 7,90 (d, 2H_{pir}, J=6 Hz. p.f. 238-242 °C. RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆): δ_C 176,49 (C=S), 150,56 (2C_{pir}), 145,64 (C-NO₂), 144,22 (C=N), 141,77, 141,43, 125,44 (2C₄-NO₂), 124,22 (2C_{pir}), 122,00 ((2C₄-NO₂).

TSC-4: (IV, ATR, cm⁻¹): 3132 (N-H); 2926 (C-H_{ciclo}); 1601 (C=N); 1515 (C=C_{Aro}); 1115 (C=S); RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ_H 11,71 (s, NH, 1H), 8,61 (d, 2H_{pir}, J=4,6 Hz), 8,23 (d, 2H, J=8,6 Hz), 8,02 (s, 1H, H-C=N), 7,78 (d, 2H_{pir}, J=4,6 Hz). p.f. 188-191 °C.

TSC-5: (IV, ATR, cm⁻¹): 2933 e 2810 (N-H); 1604 (C=N); 1497 (C=C_{Aro}); 1384 e 1273 (C-F); 1119 (C=S); RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ_H 12,49 (s, 1H); 10,83 (s, 1H); 8,76 (d, 2H_{pir}, J=5,8 Hz); 8,70 (s, 1H, H-C=N); 8,46 (s, 2H); 7,92 (s, 1H); 7,82 (d, 2H_{pir}, J=5,8 Hz). p.f. 280-283 °C.

DADOS DE ADME/T

A predição *in silico* foi realizado para os híbridos TSC 1-5 e para o fármaco padrão isoniazida (INH). Os resultados são mostrados nas Tabelas 2 e 3 abaixo:

Tabela 2 - Dados e previsão das propriedades físico-químicas de biodisponibilidade oral.

Molécula	LogP	nHA	nHB	MM	LogS	Druglikeness	Drugscore	TPSA	GI ou HIA	BBB
INH	-1,02	4	2	137,14	-1,19	-5,06	0,06	68,01	ALTA	BAIXA
TSC-1	0,53	4	2	180,23	-2,1	2,02	0,93	95,39	ALTA	BAIXA
TSC-2	2,59	4	2	256,33	-3,53	0,68	0,28	81,4	ALTA	BAIXA
TSC-3	1,67	7	2	301,33	-3,99	-9,06	0,17	127,22	ALTA	BAIXA
TSC-4	2,44	4	2	262,38	-3,59	-2,77	0,18	81,4	ALTA	BAIXA
TSC-5	4,29	4	2	392,33	-5,08	-20,11	0,13	81,4	BAIXA	BAIXA

Fonte: Dos próprios autores

Tabela 3 – Estudo de predição de toxicidade e atividade farmacológica dos híbridos.

Molécula	Mutagênico	Tumorigênico	Alérgico	Sist. Reprodutor	Antituberculose		Legenda
					PA	PI	
INH					0,801	0,003	
TSC-1					0,932	0,002	
TSC-2					0,886	0,002	
TSC-3					0,934	0,002	
TSC-4					0,79	0,003	
TSC-5					0,808	0,003	

Fonte: Dos próprios autores

Na Tabela 1, são apresentados os parâmetros de Lipinski, onde nenhuma molécula sintetizada violou esses critérios físicos-químicos que indicam uma boa disponibilidade oral. Os parâmetros adequados são Log (P) menor que 5, massa molecular menor que 500 Daltons, aceptores de ligação de hidrogênio (nHa) igual ou menor que 10 e doadores de ligação de hidrogênio (nHb) igual ou menor que 5 (LIPINSKI, 1997). As moléculas com maior lipofilicidade são TSC-2, TSC-4 e TSC-5. O híbrido TSC-1 teria a maior solubilidade



em água (log S -2,10) enquanto que TSC-5 apresenta a menor solubilidade (log S -5,08). Todas as moléculas possuem boa capacidade de permeação pela membrana gastrointestinal (GI), com exceção de TSC-5. Isso indica que a maioria dos híbridos teriam boa absorção oral. Em relação ao uso farmacológico desses compostos, os híbridos TSC-1 e TSC-3 apresentaram as melhores perspectivas como candidatos a fármacos contra a tuberculose com PA (probabilidade de atividade) superior a 90%, sendo inclusive, superior ao do fármaco isoniazida. Como supracitado acima, a Isoniazida (INH) é bastante agressiva ao organismo humano, mostrando ação mutagênica, tumorogênica, alérgica e reprodutiva. Além disso, TSC-1 apresentou baixas agressões mutagênicas, tumorogênicas, alérgicas e reprodutivas, bem como se enquadrou nos parâmetros druglikeness e drugscore possibilitando sua utilização futura em fármacos.

CONCLUSÕES

As moléculas propostas, TSC-1, TSC-2, TSC-3, TSC-4, TSC-5 foram sintetizadas e caracterizadas utilizando o espectro infravermelho e RMN ^1H e ^{13}C , sendo a TSC-1 sintetizada somente pela metodologia indireta e os demais compostos pelas duas metodologias, a indireta e a one-pot. Os híbridos INH-TSC's apresentaram em sua maioria baixa toxicidade tumorogênica, mutagênica, alérgica e reprodutiva, com a TSC-1 se destacando nos quesitos de pouca agressão nos efeitos indesejáveis ao organismo e também na boa pontuação nos parâmetros druglikeness e drugscore que indicam fatores propícios para futuras utilizações em fármacos. Desse modo, destacam-se a TSC-1 e TSC-3 com grande perspectiva para a utilização em fármacos uma vez que satisfaz o objetivo desse estudo em buscar um composto menos tóxico e com atividade igual ou superior à da isoniazida. Não obstante, testes *in vitro* utilizando a *M.tuberculosis* e cepas mais resistentes desse bacilo são indicados para avaliar definitivamente sua atividade antituberculose e comprovar sua eficácia apresentada nos modelos *in silico* desse estudo. As moléculas sintetizadas nesse trabalho foram enviadas para ensaio anti-*Mtb*, porém, os resultados ainda não se encontram disponíveis.

Agradecimentos

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

Conflito de interesse

“Não há conflito de interesse”.

REFERÊNCIAS

Beraldo H.; Gambini D.; Mini-Rev. **Med. Chem.** 2004, 4, 31.

SANTOS, Vanessa Sardinha dos. Tuberculose; **Brasil Escola**. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/doencas/tuberculose.htm>. Acesso em 05 de agosto de 2023.

VIEIRA, Denise Eri Onodera; GOMES, Mauro. Efeitos adversos no tratamento da tuberculose: experiência em serviço ambulatorial de um hospital-escola na cidade de São Paulo. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 34, p. 1049-1055, 2008.