



Síntese de aciltiossemicarbazidas baseadas no ácido salicílico para o tratamento da tuberculose

Synthesis of salicylic acid-based acylthiosemicarbazides for tuberculosis treatment

Otniel Souza Santos¹, Fábio Vandresen²

RESUMO

Este estudo tem como objetivo avaliar a viabilidade da síntese de 4 novas moléculas bioativas para o tratamento da tuberculose baseado em aciltiossemicarbazidas derivadas do ácido salicílico. O processo de síntese envolveu a obtenção da salicilidrazida por meio da reação entre o salicilato de metila e hidrazida. Posteriormente, as aciltiossemicarbazidas foram obtidas a partir da acilação da salicilidrazida com diferentes isotiocianatos, denominadas Acil 01 a Acil 04, com rendimentos satisfatórios superiores a 80%, com exceção da Acil 04, que apresentou um rendimento de 35%. A caracterização das moléculas foi bem-sucedida, utilizando técnicas de espectroscopia de infravermelho e ressonância magnética nuclear de ¹H e ¹³C, confirmando sua identidade conforme a proposta inicial. Além disso, realizou-se um estudo *in silico*, no qual se observou que as moléculas demonstram boa viabilidade para administração oral. Adicionalmente, todas apresentam um considerável potencial como futuros fármacos para o tratamento da tuberculose com Pa >0,7, e baixa citotoxicidade em comparação com a isoniazida, especialmente a Acil01 e 02.

PALAVRAS-CHAVE: Tuberculose; Aciltiossemicarbazida; Ácido salicílico

ABSTRACT

This study aims to evaluate the feasibility of synthesizing 4 new bioactive molecules for the treatment of tuberculosis based on acylthiosemicarbazides derived from salicylic acid. The synthesis process involved obtaining salicylhydrazide through the reaction between methyl salicylate and hydrazide. Subsequently, acylthiosemicarbazides were obtained from the acylation of salicylhydrazide with different isothiocyanates, called Acyl 01 to Acyl 04, with satisfactory yields greater than 80%, with the exception of Acyl 04, which presented a yield of 35%. The characterization of the molecules was successful, using infrared spectroscopy and ¹H and ¹³C nuclear magnetic resonance techniques, confirming their identity as per the initial proposal. Furthermore, an *in silico* study was carried out, in which it was observed that the molecules demonstrate good viability for oral administration. Additionally, they all have considerable potential as future drugs for the treatment of tuberculosis with Pa >0.7, and low cytotoxicity compared to isoniazid, especially Acil01 and 02.

KEYWORDS: Tuberculosis; Acylthiosemicarbazide; Salicylic acid

INTRODUÇÃO

A tuberculose, causada pelo *Mycobacterium tuberculosis*, conhecido como Bacilo de Koch, é uma doença que geralmente afeta os pulmões, embora possa acometer outros órgãos e sistemas, especialmente em indivíduos com comprometimento imunológico, como aqueles portadores do vírus HIV (MINISTÉRIO DA SAÚDE, [s. d.]). Mesmo sendo uma doença antiga, a tuberculose ainda representa um desafio significativo para a saúde pública. No Brasil, aproximadamente 70 mil novos casos são notificados anualmente, resultando em cerca de 4,5 mil mortes relacionadas à doença. Isso reflete várias questões,

¹ Voluntário PIVICT/UTFPR. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, PR, Brasil. E-mail: otniel@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 9338636629131950.

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



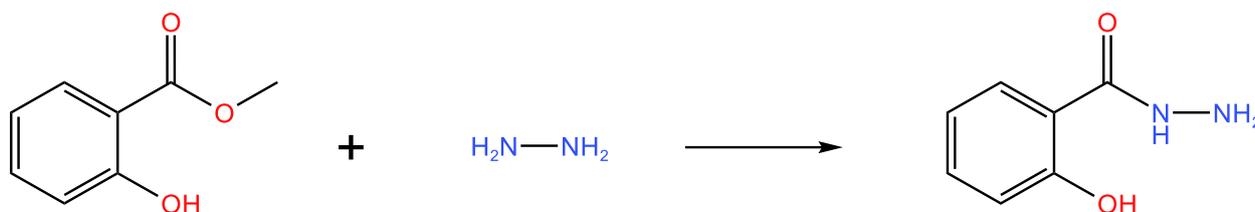
incluindo abandono de tratamento, falta de saneamento em áreas carentes e a necessidade de investimento em tratamentos mais eficazes e acessíveis. O tratamento da tuberculose é oferecido pelo Sistema Único de Saúde (SUS) e envolve medicamentos como rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol, com duração média de seis meses (MINISTÉRIO DA SAÚDE, [s. d.]). Esses medicamentos são antigos, com a isoniazida sendo introduzida em 1952, rifampicina em 1965, etambutol em 1960 e pirazinamida em 1970 (SOUZA, 2005). Além disso, eles podem causar efeitos colaterais significativos, como a rifampicina, que deve ser evitada por pessoas com insuficiência hepática (BISAGLIA et al., 2003). Em busca de tratamentos alternativos, estudos recentes têm mostrado resultados promissores com moléculas do grupo tio e semicarbazida (PATEL et al., 2014), como também derivados do ácido salicílico, como o Para-aminosalicílico (PAS), que demonstraram eficácia contra o *Mycobacterium tuberculosis* (ZHENG et al., 2013). Portanto, este estudo visa à síntese de novos derivados do aciltiossemicarbazida, com a perspectiva de oferecer uma terapia antituberculose mais eficaz e com menos efeitos colaterais em comparação aos tratamentos convencionais.

MATERIAIS E MÉTODOS

Na presente seção, serão detalhados os equipamentos empregados no decorrer do processo para conduzir as reações. Estes equipamentos incluem: Balança Analítica Shimadzu, duas micropipetas Jetta uma com graduação de 100-1000 μ L e outra com graduação de 10-100 μ L, Termômetro Digital Thermo, Banhos Ultratermostáticos Solab, Agitador Magnético Solab. Para as análises de Infravermelho, empregou-se um espectrofotômetro PerkinElmer modelo UATR Two, utilizando o módulo ATR. Por outro lado, as análises de RMN de ^1H e ^{13}C foram conduzidas em um espectrômetro Bruker, operando a frequências de 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C .

A síntese dos compostos iniciou com a preparação do material de partida, a salicilhidrazida, que foi obtida por meio da reação do ácido salicílico com a hidrazina, como ilustrado na Figura 1. Posteriormente, foram realizadas quatro reações distintas com quantidade estequiométrica de compostos que compartilham o grupo isotiocianato, conhecidos como acil e foram numeradas de 01 a 04.

Figura 1 – Reação para obtenção da Salicilhidrazida



Fonte: dos próprios autores

Todas as quatro reações seguiram um procedimento semelhante, levando em consideração as massas molares para evitar o uso excessivo de reagentes. A seguir será descrito o procedimento para obtenção do Acil 01.

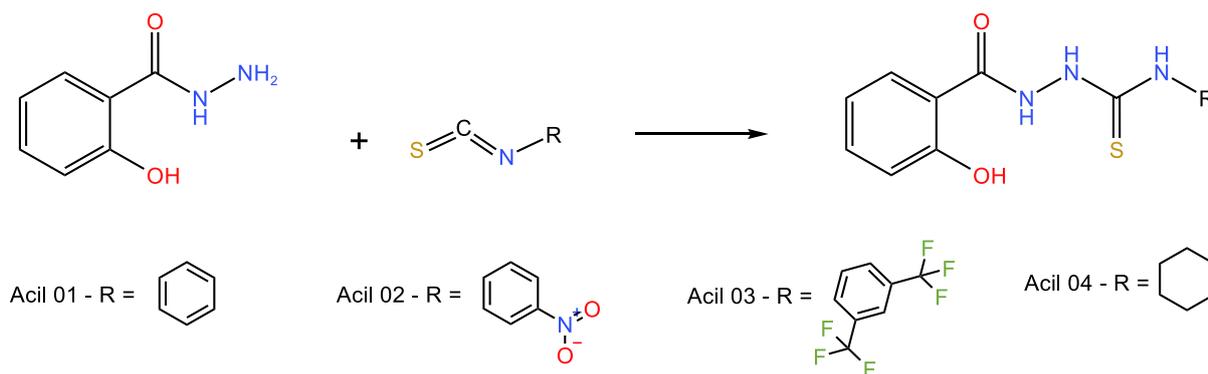


Inicialmente, um béquer de 25 mL foi utilizado, e nele foram adicionados 3 mmol de Isotiocianatobenzeno e 3 mmol de salicilhidrazida, equivalentes a 0,4643 g e 0,32 mL, respectivamente. Em seguida, 20 mL de etanol (EtOH) foram adicionados para a diluição dos reagentes. A mistura foi então colocada em refluxo e aquecida em um banho de glicerina com um condensador acoplado, mantendo a temperatura a 50°C. A reação prosseguiu por 1 hora sob aquecimento. Para monitorar o consumo dos reagentes, uma análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi realizada, utilizando uma mistura de acetato de metila e metanol na proporção de 4:1 como eluente, permitindo a avaliação do consumo dos reagentes ao longo do processo. Após o período de aquecimento, o mesmo foi desligado, e a mistura permaneceu em agitação à temperatura ambiente por 24 horas. Após a conclusão da reação, a mistura foi lavada, filtrada e os produtos obtidos foram submetidos à secagem em estufa. O Acil 01 foi obtido com uma massa de 0,6161 g e um rendimento total de 70,47%. Os procedimentos para a obtenção das demais acil seguiram o mesmo protocolo.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A rota de síntese para a obtenção dos compostos mencionados no título está ilustrada na figura 2. As aciltiossemicarbazidas foram produzidas de maneira eficiente por meio de uma única etapa de reação, na qual a salicilhidrazida foi sintetizada em conjunto com os tiocianatos adequados. Essa reação ocorre quando a hidrazida presente na salicilhidrazida atua como um nucleófilo, atacando o carbono do grupo tiocianato (C=S).

Figura 2 – Esquema para as sínteses das acila



Fonte: dos próprios autores

Para confirmar com sucesso a obtenção das moléculas, foram realizados estudos de espectroscopia no infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear, os quais serão descritos a seguir:

Molécula Acil 01 2-(2-hidroxibenzoíla)-N-fenilidrazinacarbonamida: Sólido branco com 70,47% de rendimento; (IV, ATR, cm^{-1}): (NH) 3348, (C=O) 1640, (C=C) 1520, (OH) 3167, (C=S) 1209; RMN ^{13}C (100 MHz, δ) – 181,06 (C=S); 159,28 (C=O); 157,38 (C-OH); 139,02; 138,49; 132,42; 129,04; 127,36; 121,89; 119,72; 116,80; 109,56.



Molécula Acil 02 2-(2-hidroxibenzoil)-N-(4-nitrofenil)hidrazinocarbotionamida: Sólido laranja com 88,06% de rendimento; (IV, ATR, cm^{-1}): (NH) 3296, (C=O) 1642, (C=C) 1504, (OH) 3169, (C=S) 1237, (NO_2) 1470; RMN ^1H (400 MHz, δ) – 7,84 (m, 1H); 7,46 (m, 1H); 7,00 (s, 1H); 6,97 (m, 1H); 7,92 (m, 2H); 8,23 (m, 2H); 11,86 (m, 1H); 10,77 (m, 1H); 8,32 (m, 1H) 10,23 (s, 1H).

Molécula Acil 03 N-(3,5-bis(trifluormetil)fenil)-2-(2-hidroxibenzoíla)hidrazinacarbotionamida: Sólido branco com 87,12% de rendimento; (IV, ATR, cm^{-1}): (NH) 3209, (C=O) 1553, (C=C) 1471, (OH) 3074, (C=S) 1127, ($(\text{CF}_3)_2$) 1273; RMN ^1H (400 MHz, δ) – 7,92 (m, 1H); 7,47 (m, 1H); 7,48 (m, 1H); 6,98 (m, 1H); 8,33 (m, 2H); 7,87 (m, 1H); 11,84 (m, 1H); 10,76 (m, 1H); 10,25 (m, 1H) 10,32 (s, 1H, OH).

Molécula Acil 04 N-ciclo-hexil-2-(2-hidroxibenzoil)hidrazinacarbotioamida: Sólido branco com 35% de rendimento; (IV, ATR, cm^{-1}): (NH) 3373, (C=O) 1605, (C=C) 1472, (OH) 3182, (C=S) 1233, ($\text{CH}_{\text{Alifático}}$) 2926; RMN ^1H (400 MHz, δ) – 7,83 (m, 2H); 7,43 (m, 1H); 6,95 (m, 1H) 4,10 (s, 1H); 1,25 (m, 4H); 1,82 (m, 4H); 1,58 (m, 2H); 9,41 (s, 1H); 11,83 (s, 1H); 6,91 (m, 1H); 10,46 (s, 1H, OH).

Na caracterização da molécula Acil 1, é possível confirmar a presença do produto desejado através da identificação dos sinais de OH da salicilhidrazida e do grupo isotiocianato C=S. No espectro de IV (ATR), os seguintes valores foram registrados: 1209 ppm (C=S) e 3167 ppm (OH). No espectro de RMN de ^{13}C , os deslocamentos químicos foram observados em $\delta\text{H} = 157,38$ ppm (C-OH) e 181,06 ppm (C=S). Quanto ao espectro de RMN de ^1H da Acil 2, foram identificados os picos correspondentes aos três NH presentes na estrutura a 11,86 ppm, 10,77 ppm e 8,32 ppm. Esses mesmos padrões de sinais foram consistentemente observados nas outras moléculas pertencentes a este estudo.

Estudo *In silico*

Foram realizadas predições das propriedades físico-químicas, atividade biológica, biodisponibilidade e riscos toxicológicos para as moléculas sintetizadas nesse estudo, utilizando os softwares OSIRIS Property Explorer, Swiss ADME e Pass Online os resultados obtidos serão apresentados nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas e biodisponibilidade

Composto	MM (g/mol)	clog P	H - Aceptor	H - Doador	Absorção GI	Permear BBB
Acil01	287,34	1,66	5	4	Alta	Não
Acil02	332,34	0,74	8	4	Baixa	Não
Acil03	423,34	3,36	5	4	Baixa	Não
Acil04	293,39	1,51	5	4	Alta	Não
Isoniazida	137,14	-1,02	4	2	Alta	Não

Fonte: dos próprios autores



Tabela 2 – Predição de atividade biológica e efeitos toxicológicos

Composto	Irritante	Mutagênico	Tumorigênico	Reprodução Efetiva	Atividade Anti tuberculose (Pa)
Acil01	Não	Não	Não	Sim	0,84
Acil02	Não	Sim	Sim	Sim	0,88
Acil03	Não	Não	Não	Sim	0,73
Acil04	Sim	Não	Não	Sim	0,70
Isoniazida	Sim	Sim	Sim	Sim	0,81

Fonte: dos próprios autores

Na Tabela 1, devemos considerar algumas diretrizes para os parâmetros envolvidos. Primeiramente, a lipofilicidade deve ser inferior a 5. Além disso, o número de átomos de hidrogênio aceptores e doadores deve ser igual ou inferior a 10 e 5, respectivamente. A massa molar também deve ser inferior a 500 g/mol [8]. As moléculas que atendem a esses critérios têm grandes chances de serem bem absorvidas quando administradas oralmente. Nesse sentido, nenhuma das moléculas estudadas violou esses critérios básicos. Ao analisar a absorção gastrointestinal (GI), observamos que apenas as moléculas Acil02 e Acil03 apresentaram baixa absorção, enquanto as demais mostraram alta absorção. Isso sugere a possibilidade de utilizar essas moléculas como futuros fármacos para administração oral. Na Tabela 2, podemos ver que todas as moléculas exibem um alto potencial no tratamento da tuberculose, com efeitos muito próximos ou superiores aos da isoniazida, um medicamento de referência. No entanto, é importante destacar que a citotoxicidade apresentou resultados negativos em pelo menos uma das categorias. A Acil02 teve o pior desempenho nesse aspecto, mas ainda assim foi melhor do que a isoniazida, que é conhecida por ter efeitos adversos significativos no organismo humano.

CONCLUSÃO

A conclusão deste estudo revelou que as sínteses realizadas foram de execução relativamente fácil, com rendimentos satisfatórios para a maioria das moléculas, com exceção da Acil04, que apresentou apenas um rendimento de 35%. Este resultado sugere a possibilidade de aprimorar os processos de síntese, especialmente para moléculas menos reativas, como aquelas com grupos hexil. No entanto, os rendimentos das demais moléculas superaram os 80%, o que é muito encorajador. No geral, a metodologia demonstrou ser eficiente e de fácil aplicação na obtenção das moléculas desejadas. Além disso, após a realização do estudo *in silico*, observamos que, embora as Acil02 e Acil03 não tenham demonstrado resultados positivos em relação à absorção gastrointestinal, as outras moléculas apresentaram uma boa capacidade de absorção no trato gastrointestinal. Além disso, todas as acilas exibiram baixa citotoxicidade em comparação com a isoniazida e grande potencial antituberculose, destaque para Acil01. Portanto, é válido considerar a recomendação das moléculas sintetizadas para testes *in vitro* utilizando o *Mycobacterium tuberculosis* e cepas mais resistentes, a fim de validar os resultados obtidos nos estudos *in silico* e potencialmente avançar no desenvolvimento de tratamentos mais eficazes para a tuberculose.



Agradecimentos

PIVICT/UTFPR, DAQUI-LD/UTFPR, UEL.

Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

BISAGLIA, J. B.; SANTUSSI, W. M.; GUEDES, A. G. M.; GOMES, A. P.; OLIVEIRA, P. C. De; SIQUEIRA-BATISTA, R. Atualização terapêutica em tuberculose: principais efeitos adversos dos fármacos. **Boletim de Pneumologia Sanitária**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 53–59, 2003. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0103-460X2003000200008&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt. Acesso em: 10 de agosto de 2023.

BRASIL. Ministério da saúde. **Tratamento e prevenção**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/t/tuberculose/tratamento-e-prevencao>. Acesso em: 10 de agosto de 2023.

BRASIL. Ministério da saúde. **Tuberculose**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/t/tuberculose/tuberculose>. Acesso em: 10 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/pii/S0223523414007156>. Acesso em: 10 de agosto de 2023.

SOUZA, M. V. N. De; VASCONCELOS, T. R. A. Fármacos no combate à tuberculose: passado, presente e futuro. **Química Nova**, [s. l.], v. 28, p. 678–682, 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/6QZRwvrRDb4qLX3zjzQyJRB/>. Acesso em: 10 de agosto de 2023.

ZHENG, J.; RUBIN, E. J.; BIFANI, P.; MATHYS, V.; LIM, V.; AU, M.; JANG, J.; NAM, J.; DICK, T.; WALKER, J. R.; PETHE, K.; CAMACHO, L. R. para-Aminosalicylic Acid Is a Prodrug Targeting Dihydrofolate Reductase in Mycobacterium tuberculosis. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 288, n. 32, p. 23447–23456, 2013. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925820453694>. Acesso em: 10 de agosto de 2023.