

4.03.99 - Farmácia.

## SÍNTESE DE DERIVADOS TIOSSEMICARBAZÔNICOS COMO POTENCIAIS AGENTES LEISHMANICIDAS

Anna K. L. R. Ramos<sup>1\*</sup>, Nathallia M. R. Campos<sup>2</sup>, Thiago M. Aquino<sup>3</sup>, João X. de Araújo-Júnior<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Estudante de IC da Escola de Enfermagem e Farmácia - ESENFAR - UFAL

<sup>2</sup> Graduada em Química Industrial do Instituto de Química e Biotecnologia - IQB - UFAL

<sup>3</sup> Professor e Pesquisador do IQB - UFAL.

<sup>4</sup> Professor e Pesquisador da ESENFAR - UFAL / Orientador

**Resumo:** A leishmaniose é uma doença parasitária causada pelo protozoário *Leishmania spp.* Esta doença é um desafio à saúde pública, oferecendo risco de infecção para mais de 350 milhões de pessoas no mundo e apresenta-se endêmica em 98 países. No Brasil, em 2015, foram registrados 2316 casos de leishmaniose e 175 óbitos. Em adição, a alta toxicidade e posologia limitada dos fármacos disponíveis, incentiva-se o estudo de diversas alternativas terapêuticas com o objetivo de desenvolver novos fármacos. Assim, as tiossemicarbazonas representam uma importante classe de compostos, as quais são reportadas como potenciais agentes antiparasitários, antivirais e antineoplásicos. Para isto, as modificações químicas utilizando as técnicas do bioisosterismo clássico são ferramentas promissoras na busca de novas moléculas ativas. Desta forma, o intuito deste trabalho foi sintetizar compostos tiossemicarbazônicos derivados do 3,5-di-terc-butil-4-hidroxibenzaldeído, com potencial atividade leishmanicida.

**Palavras-chave:** Tiossemicarbazonas; Leishmaniose; Doenças negligenciadas

**Apoio financeiro:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e FAPEAL.

**Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição:** UFAL

### Introdução:

Atualmente, as doenças negligenciadas são consideradas um problema de saúde pública mundial, atingindo principalmente países em desenvolvimento. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a leishmaniose representa um grande desafio dentre as doenças negligenciadas (ALVES et al., 2015; AQUINO et al., 2015). Estas, são doenças parasitárias causadas por protozoários do gênero *Leishmania spp.*, transmitidas através do repasto sanguíneo de flebotomíneos femininos infectados, desencadeando até três formas clínicas: leishmaniose visceral (LV), cutânea (LC) e mucocutânea (WHO, 2017).

Possuem ampla distribuição, são endêmicas em 98 países, oferecendo risco de infecção para mais de 350 milhões de pessoas no mundo (DARABI, 2015). Na América Latina, a LV acomete 12 países, sendo 90% dos casos no Brasil, sobretudo na região Nordeste (BRASIL, 2014). No ano de 2015, no país, foram registrados 3770 casos e 288 óbitos, sendo 2316 casos e 175 óbitos apenas na região Nordeste (DATASUS, 2017).

Sabe-se que o tratamento da leishmaniose possui poucos medicamentos, sendo a primeira escolha os antimoniais pentavalentes, como o Antimoniato de N-metilglucamina, e como segunda escolha, a Anfotericina B e a Pentamidina. Estes, possuem posologia limitada e alta toxicidade. Há também a Paromomicina e a Miltefosina, que são administrados em casos de resistência aos anteriores. Assim, a busca de novos fármacos torna-se importante para obtenção de uma terapia com maior êxito (ELMAHALLAWY & AGIL, 2014; BRASIL, 2014).

A modificação molecular baseada no bioisosterismo clássico divalente é uma ferramenta importante no planejamento e otimização de novas moléculas. Através desta técnica permite-se a síntese de moléculas com atividades similares ou ainda, se a modificação for realizada no grupo farmacofórico, podem ocorrer alterações em suas propriedades farmacocinéticas e atividade farmacológica (JACOMINI, A. P. et al, 2016; VERÇOSA. et al, 2009).

Dentre as classes de compostos antileishmania reportados na literatura, as tiossemicarbazonas constituem grupamento com importante capacidade de interagir com DNA, enzimas e proteínas importantes, conferem atividades biológicas, como: antiviral, antiparasitária, antibacteriana e antineoplásica (PASSOS et al, 2013; BEKHIT et al, 2015; CHADHA et al, 2015; TENÓRIO et al, 2005).

Diante do que foi exposto, o presente trabalho objetivou sintetizar compostos derivados do 3,5-Di-terc-butil-4-hidroxibenzaldeído, planejados com potencial atividade leishmanicida.

## Metodologia: MATERIAIS E MÉTODOS

### Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A CCD utilizou placas de sílica em alumínio Silicycle® e a leitura ocorreu por radiação ultravioleta (UV). A CLAE foi realizada em aparelho SHIMADZU CORPORATION L201550. As amostras foram analisadas em coluna de fase reversa (C18), em corridas de 15 minutos, utilizando como fase móvel metanol/H<sub>2</sub>O.

### Ponto de Fusão

Foram mensurados em capilares abertos no equipamento MSTecnopon® PFMI Digital.

### Espectroscopias de RMN<sup>1</sup>H e RMN<sup>13</sup>C

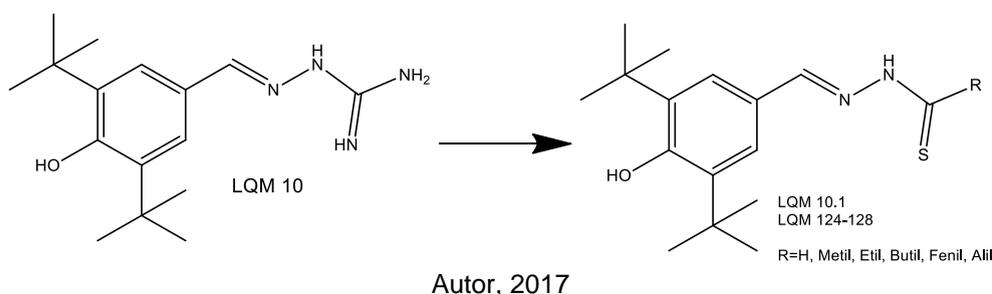
Os espectros de RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C foram obtidos no aparelho Bruker Avance DRX 400 MHz usando CDCl<sub>3</sub> e DMSO-*d*<sub>6</sub> como solventes.

## PROCESSO EXPERIMENTAL

A partir da análise dos protótipos obtidos, realizaram-se modificações estruturais, utilizando a técnica do biososterismo clássico divalente, para avaliar a influência dos substituintes na cadeia *N*-terminal da região tioamida. A síntese dos compostos derivados das tiossemicarbazonas foi planejada a partir do **LQM 10** (Esquema 1).

O composto **LQM 10.1** foi obtido por meio da reação do aldeído 3,5-Di-*tert*-butil-4-hidroxibenzaldeído e a tiossemicarbazida. Já a preparação das tiossemicarbazonas substituídas foi realizada por meio da reação do aldeído 3,5-Di-*tert*-butil-4-hidroxibenzaldeído com hidrazina monoidratada, obtendo um intermediário (**NR 01**), que em seguida foi submetido à reação com os isotiocianatos substituídos, fornecendo os produtos **LQM 124-128**.

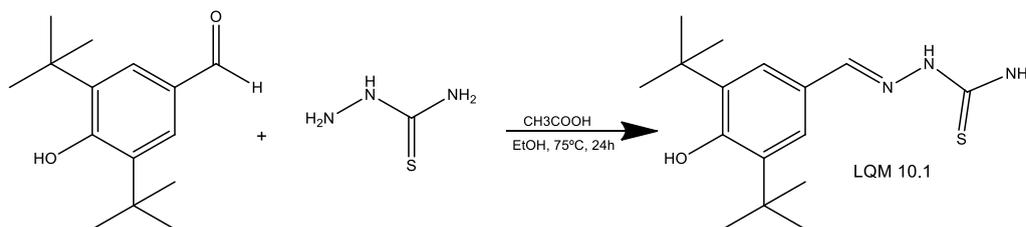
### Esquema 1: Planejamento de tiossemicarbazonas por biososterismo clássico



### Síntese do LQM 10.1

Em um balão de 50 mL foram adicionados 0,1g de 3,5-Di-*tert*-butil-4-hidroxibenzaldeído e 0,0538g de Tiossemicarbazida (1,2 eq), com 3 gotas de ácido acético, em 10 mL de EtOH (Esquema 2). A reação foi agitada sob refluxo por 24h. O término da reação foi indicado por CCD, com fase móvel Hex/AcOEt 20%. O solvente foi retirado sob pressão reduzida, ocorrendo precipitação ao adicionar hexano, e o material resultante foi filtrado.

### Esquema 2: Rota de síntese do composto LQM 10.1



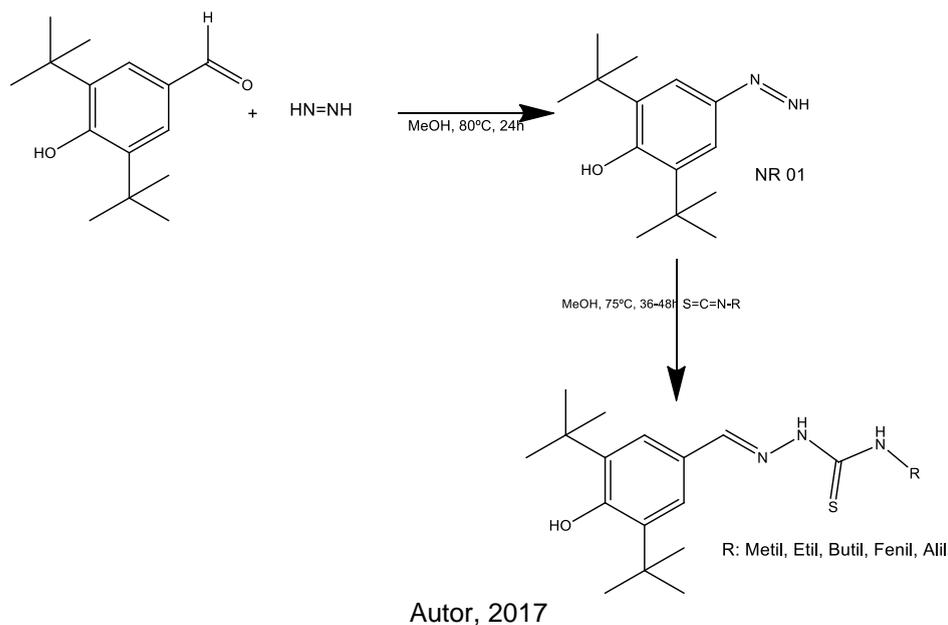
### Síntese de NR 01

Em um balão de 100 mL foram adicionados 1g de 3,5-Di-tert-butil-4-hidroxibenzaldeído e 0,133 mL de Hidrazina (1 eq), em 10 mL de EtOH, com 3 gotas de ácido acético. A reação foi agitada sob refluxo por 24h. O término foi confirmado por CCD, com fase móvel Hex/AcOEt 30%. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida, ocorrendo precipitação ao adicionar hexano, e o material resultante foi filtrado.

### Síntese das tiossemicarbazonas substituídas (LQM 124-128)

As tiossemicarbazonas foram obtidas a partir da reação do intermediário **NR01** e isotiocianatos substituídos, em 3 mL de EtOH, em tubo selado (Esquema 3). A mistura foi aquecida à temperatura de 75 °C, sob agitação e duração de 24-48h. O progresso foi acompanhado através de CCD. Ao final da reação, evaporou-se o solvente sob pressão reduzida. O material resultante foi triturado em H<sub>2</sub>O destilada e em seguida foi filtrado.

#### Esquema 3: Rota de síntese dos análogos do composto LQM 10.



### Resultados e Discussão:

A síntese para obtenção de tiossemicarbazonas foi realizada utilizando a técnica do bioisosterismo clássico divalente com modificação da cadeia N-terminal da tioamida. Ocorreu uma reação prévia do intermediário **NR 01** com os isotiocianatos substituídos (S=C=N-R), obtendo os produtos **LQM 124-128**.

A reação das tiossemicarbazonas derivadas ocorre por meio de uma adição nucleofílica ao carbono sp, que tem um par de elétrons deslocado para a amina, dando origem um intermediário dipolar. Em seguida, um ataque intermolecular ocorre, formando a tiossemicarbazona desejada. As reações tiveram duração de 36-48h e foram acompanhadas por CCD, em fase móvel Hex/ AcOEt 20%. Com o término das reações, o solvente foi retirado sob pressão reduzida. Posteriormente, ocorreu precipitação do produto ao adicionar H<sub>2</sub>O destilada, e o material resultante foi filtrado. A determinação da pureza dos compostos foi realizada por CLAE, em coluna de fase reversa (C18), em corridas de 15 minutos e gradiente de MeOH/H<sub>2</sub>O.

A metodologia aplicada para obtenção foi considerada eficiente, visto que forneceu produtos com altos rendimentos e grau de pureza satisfatório. A tabela 1 mostra os tempos de reação, rendimentos, grau de pureza e ponto de fusão das tiossemicarbazonas obtidas.

**Tabela 1 - Tempo de reação, rendimentos, grau de pureza e ponto de fusão das tiossemicarbazonas substituídas e intermediário.**

Código	T (h)	R (%)	Grau de pureza (%)	P.F. (°C)
LQM 124	36	88	95	177-178
LQM 125	36	86	97	165-167
LQM 126	36	85	96	150-152

<b>LQM 127</b>	48	89	96	190-192
<b>LQM 128</b>	36	79	96	181-183
<b>LQM10.1</b>	24	92	97	196-197
<b>NR 01</b>	24	91	97	162-164

Fonte: Autor, 2017

Na caracterização por espectros de RMN  $^1\text{H}$ , a função imina foi observada em singletos na faixa de 8,01-9,54 ppm. Já o deslocamento químico do hidrogênio, provável, das aminas N-2 e N-4 foi verificado tanto em campo alto e baixo nos espectros, com valores entre 1,71-10,03 ppm. Os deslocamentos de carbono treze ( $^{13}\text{C}$ ) estão relacionados principalmente com a hibridação e com a eletronegatividade do substituinte. Analisando os espectros de  $^{13}\text{C}$ , foi possível observar os deslocamentos químicos para os carbonos que indicam a presença da tiocarbonila (C=S), identificados entre 175,34-177,40 ppm. Além disto, as tiossemicarbazonas foram confirmadas pela presença de grupos funcionais na cadeia lateral.

### Conclusões:

Devido à falha no arsenal terapêutico dos fármacos leishmanicidas disponíveis, torna-se de suma importância a busca por novos compostos. Assim as tiossemicarbazonas configuram-se uma classe promissora à luz da química medicinal. Neste trabalho foram sintetizadas seis tiossemicarbazonas (**LQM 124-128** e **LQM 10.1**) com rendimentos entre 79-92% e metodologia eficiente. Todos os compostos foram caracterizados por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e a CLAE demonstrou grau de pureza satisfatório. Como perspectivas, os produtos obtidos estão em análises farmacológicas para a atividade leishmanicida, objetivando novos protótipos de fármacos.

### Referências bibliográficas

- ALVES, A. A. et al. Design, synthesis and in vitro trypanocidal and leishmanicidal activities of novel semicarbazone derivatives. *Eur J Med Chem*, 100, 24-33, 2015.
- AQUINO, P. G. V. ; SILVA JÚNIOR, E. F. ; ARAUJO JUNIOR, J. X. ; AQUINO, T. M. . Tuberculose Sob os Olhos da Química Medicinal. In: Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior; Thiago Mendonça de Aquino. (Org.). *Doenças Negligenciadas sob a Ótica da Química Medicinal*. 1ed. Curitiba: Editora CRV, 2015, v. 5, p. 145-201.
- BEKHIT, A. A., HASSAN, A. M. M., ABD, H. A., RAZIK, E., EL-MILIGY, M. M. M., EL-AGROUDY, E. J. & BEKHIT, A. E. A. European Journal of Medicinal Chemistry New heterocyclic hybrids of pyrazole and its bioisosteres : Design , synthesis and biological evaluation as dual acting antimalarial-antileishmanial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 94, 30–44, 2015.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral– 1. ed., 5. reimpr. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
- CHADHA, N., BAHIA, M. S., KAUR, M., & SILAKARI, O. Bioorganic & Medicinal Chemistry Thiazolidine-2, 4-dione derivatives : Programmed chemical weapons for key protein targets of various pathological conditions. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23(13), 2953–2974, 2015.
- DARABI, S. et al Leishmania major strains isolated from distinct endemic areas show diverse cytokine mRNA expression levels in C57BL/6 mice: toward selecting and ideal strain for the vaccine studies. *Cytokine*, 76, 303-308, 2015.
- DATASUS. Ministério da Saúde. <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinanet/cnv/ltabr.def>. Acesso em 18/04/2017.
- ELMAHALLAWY, Ehab Kotb; AGIL, Ahmad. Treatment of Leishmaniasis: A Review and Assessment of Recent Research . *Current Pharmaceutical Design*, [S.l.], p. 2259-2275, dez. 2014.
- JACOMINI, A. P. et al. Synthesis and evaluation against Leishmania amazonensis of novel pyrazolo[3,4-d]pyridazinone-N-acylhydrazone-(bi)thiophene hybrids. *European Journal of Medicinal Chemistry* 124, 340-349, 2016.
- PASSOS, D. C. S. Ação biológica in vitro de tiossemicarbazonas derivadas de canfeno e limoneno em células de melanoma humano (SK-MEL-37). 2013.85 f. Tese (doutora em biologia). Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- TENÓRIO, R. P. et al. Tiossemicarbazonas: Métodos de Obtenção, Aplicações Sintéticas e importância Biológica. *Química Nova*, v. 28, p. 1030-1037, 2005.
- VERÇOSA, G. L. et al. Síntese e avaliação da atividade antimicrobiana de novas 4-tiazolidinonas obtidas a partir de formilpiridinatiossemicarbazonas. *Química Nova*, v.32, São Paulo, 2009.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Leishmaniasis Epidemiological situation, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>. Acesso em 20/04/2017.