

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA
LICENCIATURA EM QUÍMICA

RAFAEL VITOR PEREIRA DOS SANTOS NERES

**SEMICARBAZONAS E TIOSSEMICARBAZONAS ANÁLOGAS À
TIOACETAZONA: SÍNTESE, ESTUDOS *IN SILICO* E AVALIAÇÃO DE
ATIVIDADE ANTITUBERCULOSE**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO 2

LONDRINA

2021

RAFAEL VITOR PEREIRA DOS SANTOS NERES

**SEMICARBAZONAS E TIOSSEMICARBAZONAS ANÁLOGAS À
TIOACETAZONA: SÍNTESE, ESTUDOS *IN SILICO* E AVALIAÇÃO DE
ATIVIDADE ANTITUBERCULOSE**

Trabalho de Conclusão de Curso 2
apresentado como requisito parcial à
obtenção do título de Licenciado em
Química da Universidade Tecnológica
Federal do Paraná, Câmpus Londrina.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Vandresen.

LONDRINA

2021

TERMO DE APROVAÇÃO

Rafael Vitor Pereira dos Santos Neres

Semicarbazonas e tiosemicarbazonas análogas à tioacetazona: Síntese, estudos *in silico* e avaliação de atividade antituberculose

Trabalho de Conclusão de Curso 2 apresentado no dia 14 de dezembro de 2021 como requisito para obtenção do título de Licenciado em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Londrina. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Fábio Vandresen
(UTFPR – DAQUI)

Prof. Dr. Renato Márcio Ribeiro Viana
(UTFPR – DAQUI)

Prof. Dra. Vanessa Guimarães Alves Olher
(IFPR – Câmpus Paranavaí)

AGRADECIMENTOS

Ao orientador, Prof. Dr. Fábio Vandresen, a oportunidade, a confiança, os ensinamentos e a amizade nessa trajetória.

A Prof. Dra. Regiane B. L. Scodro e a toda sua equipe do Laboratório de Bacteriologia Médica da Universidade Estadual de Maringá, pela realização dos ensaios de atividade biológica.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná, a possibilidade de realização deste trabalho, bem como todos os servidores que tiveram uma colaboração fundamental na minha formação.

A Universidade Estadual de Londrina, a parceria que possibilitou a realização das análises de RMN.

Aos colegas de laboratório, a troca de conhecimentos e os momentos de descontração.

Aos meus pais, Eliene e Noedio, a confiança e o constante apoio em minhas escolhas, bem como os bons ensinamentos.

Aos meus avós, Maria e José, o carinho genuíno de cada encontro que tivemos, bem como a sabedoria que compartilharam.

Aos meus amigos e minha namorada, o apoio, a parceria e o incentivo durante esses anos.

No decurso de milhares de anos a Tuberculose encerrou mensagem ainda não totalmente decifrada. Pela sua influência cultural, seus efeitos sobre a obra humana, suas implicações históricas, sociais, econômicas e políticas, constitui modelo científico peculiar. Modernamente continua causando as maiores devastações. Seu valor epistemológico é imenso. Misteriosa e ameaçadora permanece o paradigma dos temores das paixões e dos conhecimentos humanos.
(CHRÉTIEN, 1990)

RESUMO

NERES, Rafael V. P. S. **Semicarbazonas e tiosemicarbazonas análogas à tioacetazona: Síntese, estudos *in silico* e avaliação de atividade antituberculose.** 2021. 77 fls. Trabalho de Conclusão de Curso 2 (Licenciatura em Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2021.

Mycobacterium tuberculosis é o bacilo causador da tuberculose, doença infectocontagiosa de alto impacto mundial, principalmente em pacientes imunodeficientes. O tratamento poliquimioterápico possui fármacos de primeira e segunda escolha. Entretanto, possuem severos efeitos adversos e um longo tratamento, o que aumenta a chance de abandono pelos pacientes. Fato que se tornou um enorme problema, pois deu início a manifestação de cepas multirresistentes e extensivamente resistentes a um ou mais antibióticos. Em decorrência deste cenário, faz-se necessário o desenvolvimento de novas substâncias mais seguras e eficazes com potencial de ação anti-*Mycobacterium tuberculosis*. As tiosemicarbazonas e semicarbazonas possuem um amplo perfil farmacológico, além de apresentarem eficácia na inibição da enzima ribonucleotídeo redutase, potencializando ainda mais o interesse de estudo desses compostos. Nesse sentido, o presente trabalho apresenta a síntese de uma série de tiosemicarbazonas e semicarbazonas com estruturas químicas análogas ao fármaco tioacetazona, com foco na avaliação da atividade anti-*Mycobacterium tuberculosis* e a realização de estudos de predição de parâmetros físico-químicos *in silico*. Os compostos foram obtidos com rendimentos variando de 26,2 a 89,4 %. A caracterização foi realizada com a utilização de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H e de ^{13}C e por espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR). Os estudos de parâmetros *in silico* foram realizados com auxílio dos softwares OSIRIS Property Explorer[®], SwissADME[®], PASS Online[®] e Molinspiration[®], nos quais propriedades físico-químicas atribuídas à capacidade de biodisponibilidade oral, ação toxicológica, predições de atividades farmacológicas e bioatividade foram obtidas e as análises indicaram que as substâncias podem apresentar bom perfil de biodisponibilidade. As tiosemicarbazonas 4, 5, 3 e 2 foram as substâncias mais ativas contra a cepa padrão H₃₇Rv de *M. tuberculosis*, com MIC de 7,8, 15,6, 15,6 e 31,25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente. Por fim, apesar de não ser conhecido o mecanismo de ação ou os alvos moleculares para as moléculas propostas, foi observado que quando inserido substituintes halogênios como grupos retiradores de elétrons na posição para do anel aromático atrelado ao efeito lipofílico do átomo de enxofre das tiosemicarbazonas se resulta em uma melhora da atividade.

Palavras-chave: Tuberculose. Semicarbazona. Tiosemicarbazona. *In silico*. Atividade antituberculose.

ABSTRACT

NERES, Rafael V. P. S. **Semicarbazones and thiosemicarbazones analogues to thioacetazone: Synthesis, *in silico* study and biological evaluation antitubercular.** 2021. 77 fls. Trabalho de Conclusão de Curso 2 (Licenciatura em Química) - Federal Technology University of Paraná. Londrina, 2021.

Mycobacterium tuberculosis is the bacillus responsible for tuberculosis disease, a worldwide high-impact infectious disease, especially in immunodeficient patients. Polichemotherapy treatment has drugs of first and second choice, however they have severe adverse effects and a long treatment, which increases the chance of patients abandoning treatment. This fact became a huge problem, since it started the manifestation of multi-resistant and extensively resistant strains to one or more antibiotics. As a result of this situation, it is necessary to develop new safe and effective bioactive molecules with potential anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity. Thiosemicarbazones and semicarbazones have a wide pharmacological profile, in addition to being effective in inhibiting the ribonucleotide reductase enzyme, further enhancing the interest in studying these compounds. In this sense, the present work presents a synthesis of a series of thiosemicarbazones and semicarbazones with structures analogues to the drug thioacetazone, focusing on the evaluation of the anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity and on the prediction studies of physical-chemical parameters *in silico*. The yield compounds were obtained with yield range of 26.2 to 89.4%. Structural characterization was performed by ^1H and ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy and infrared spectroscopy (FT-IR). The *in silico* parameter studies were carried out with the aid of the OSIRIS Property Explorer[®], SwissADME[®], PASS Online[®] and Molinspiration[®] software, in which physical-chemical properties-attributed to the ability of oral bioavailability, toxicological action, predictions of pharmacological activities and bioactivity were obtained and the analyzes indicated that the substances may have a good bioavailability profile. Thiosemicarbazones 4, 5, 3 and 2 were the most active substances against a standard H₃₇Rv strain of *M. tuberculosis*, with MICs of 7,8, 15,6, 15,6 and 31,25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectively. Finally, although the mechanism of action or the molecular targets for the proposed molecules is not known, it was observed that when halogen substituents were inserted as electron withdrawing groups in the para position of the aromatic ring linked to the lipophilic effect of the sulfur atom of thiosemicarbazones, results in an improvement in activity.

Keywords: Tuberculosis. Semicarbazones. Thiosemicarbazones. *In silico*. Anti-tubercular Activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Taxas estimadas de incidência de tuberculose em 2019.	15
Figura 2 – Estratégia de obtenção dos compostos análogos à tioacetazona	16
Figura 3 - Representação de pulmões infectados pela tuberculose	17
Figura 4 – Bacilo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	18
Figura 5 – Representação da parede celular do <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	19
Figura 6 – Fármacos de primeira escolha anti-TB	20
Figura 7 - Representação estrutural da Tioacetazona	21
Figura 8 - Representação das tiossemicarbazonas e Semicarbazonas (átomos numerados segundo IUPAC)	22
Figura 9 – Esquema de equilíbrio das formas tautoméricas das TSC	23
Figura 10 – Tiossemicarbazona relatada com significativa atividade antimicobacteriana sintetizados por Collins, Klayman e Morrison (1982).....	24
Figura 11 – (-)-Canfeno Tiossemicarbazonas relatadas com significativa atividade <i>M. tuberculosis</i> sintetizados por Souza <i>et al.</i> (2018).....	25
Figura 12 – Esquema de formação direta de tiossemicarbazonas e semicarbazonas	25
Figura 13 – Conceito de esquematização dos compostos análogos à tioacetazona	29
Figura 14 – Esquema de rota de síntese direta de TSC e SEMI	32
Figura 15 – Estrutura das semicarbazonas e tiossemicarbazonas.....	35
Figura 16 – Esquema de mecanismo geral de síntese das SEMI e TSC	43
Figura 17 – Amostras sintetizadas e armazenadas em eppendorfs	44
Figura 18 – Espectro IV do 2-(4-nitrobenzaldeído)hidrazina-1-carboxamida (SEMI2)	45
Figura 19 – Espectro de RMN ¹ H do 2-(4-nitrobenzaldeído)hidrazina-1-carboxamida (SEMI2)	46
Figura 20 – Espectro RMN ¹³ C do 2-(4-nitrobenzaldeído)hidrazina-1-carboxamida (SEMI2)	46
Figura 21 – Espectro IV do 2-(4-fluorobenzaldeído)hidrazina-1-carbotioamida (TSC5)	47
Figura 22 – Espectro RMN ¹ H do 2-(4-fluorobenzaldeído)hidrazina-1-carbotioamida (TSC5).....	48
Figura 23 – Espectro RMN ¹³ C do 2-(4-fluorobenzaldeído)hidrazina-1-carbotioamida (TSC5).....	49
Figura 24 – Relação estrutura-atividade do 2-(4-clorobenzaldeído)hidrazina-1-carbotioamida (TSC4)	53
Figura 25 – Espectro de IV da SEMI1	64
Figura 26 – Espectro de IV da SEMI2.....	64
Figura 27 – Espectro de IV da SEMI3.....	64
Figura 28 – Espectro de IV da SEMI4.....	65
Figura 29 – Espectro de IV da SEMI5.....	65

Figura 30 – Espectro de IV da SEMI6	65
Figura 31 – Espectro de IV da SEMI7	66
Figura 32 – Espectro de IV da SEMI8	66
Figura 33 – Espectro de IV da TSC1	66
Figura 34 – Espectro de IV da TSC2	67
Figura 35 – Espectro de IV da TSC3	67
Figura 36 – Espectro de IV da TSC4	67
Figura 37 – Espectro de IV da TSC5	68
Figura 38 – Espectro de IV da TSC6	68
Figura 39 – Espectro de IV da TSC7	68
Figura 40 – Espectro de IV da TSC7	69
Figura 41 – Espectro de RMN ^1H SEMI1	71
Figura 42 – Espectro de RMN ^{13}C SEMI1	71
Figura 43 – Espectro de RMN ^1H SEMI2	72
Figura 44 – Espectro de RMN ^{13}C SEMI2	72
Figura 45 – Espectro de RMN ^1H SEMI5	73
Figura 46 – Espectro de RMN ^{13}C SEMI5	73
Figura 47 – Espectro de RMN ^1H TSC1	74
Figura 48 – Espectro de RMN ^{13}C TSC1	74
Figura 49 – Espectro de RMN ^1H TSC2	75
Figura 50 – Espectro de RMN ^{13}C TSC2	75
Figura 51 – Espectro de RMN ^1H TSC5	76
Figura 52 – Espectro de RMN ^{13}C TSC5	76
Figura 53 – Espectro de RMN ^1H TSC7	77
Figura 54 – Espectro de RMN ^{13}C TSC7	77

LISTA DE TABELAS

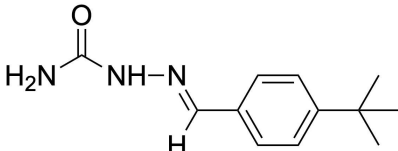
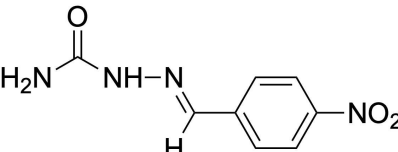
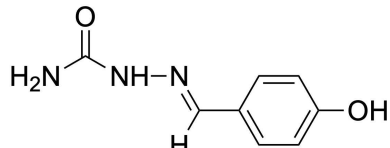
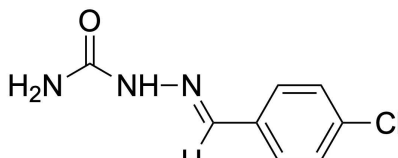
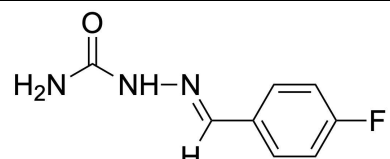
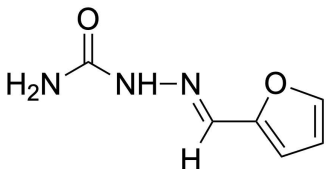
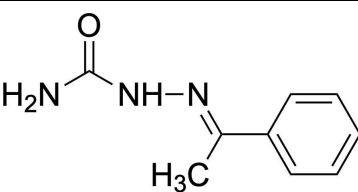
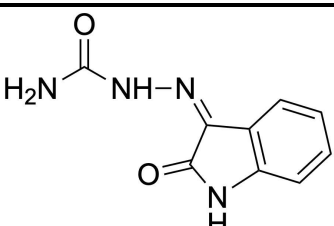
Tabela 1 – Aldeídos e cetonas utilizados na síntese dos compostos	32
Tabela 2: Parâmetros <i>in silico</i> de acordo com a regra dos 5 de Lipinski e Veber, como também parâmetros de previsão do perfil de absorção por membranas para os compostos	37
Tabela 3: Parâmetros <i>in silico</i> sobre <i>drugscore</i> , <i>druglikness</i> e ação toxicológica	38
Tabela 4: Predições de atividade farmacológica para as SEMI (1-8)	40
Tabela 5: Predições de atividade farmacológica para as TSC (1-8).....	40
Tabela 6: Previsões <i>in silico</i> de bioatividade para as semicarbazonas e tiosemicarbazonas.....	41
Tabela 7: Temperaturas de ponto de fusão, aspectos físicos e rendimentos para as SEMI(1-8) e TSC(1-8)	44
Tabela 8: Concentração inibitória mínima (MIC) de tiosemicarbazonas semicarbazonas frente a <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃₇ Rv.....	52

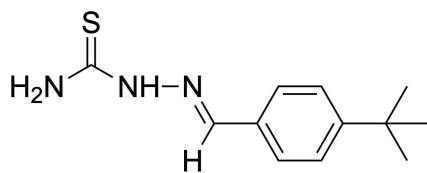
LISTA DE ABREVIATURAS

a.C	Antes de Cristo
AIDS	Síndrome da imunodeficiência humana adquirida
anti-MTB	anti- <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
anti-TB	antituberculose
ATR	Reflectância total atenuada
BAAR	Bacilo álcool-ácido resistente
BBB	Permeação por membrana hematoencefálica
CCD	Cromatografia em coluna delgada
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
CYP450	Citocromo P450
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EBM	Etambutol
EI	Inibidores de outras enzimas
GI	Absorção gastrointestinal
GPCR	Receptores acoplados à proteína G
HIV	Retrovírus da imunodeficiência humana
ICM	Moduladores de canais iônicos
INH	Isoniazida
IUPAC	União internacional de química pura e aplicada
IV	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier
KI	Inibidores de quinase
LBDD	<i>Ligand-based drug design</i>
LogP	Lipofilicidade
LogS	Solubilidade
MDR-TB	Cepas de tuberculose multirresistentes
MIC	Concentração inibitória mínima
MM	Massa molecular
MTB	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
NLR	Número de ligações rotáveis
NRL	Ligantes de receptores nucleares
nHa	Átomos receptores de ligação de hidrogênio
nHb	Átomos doadores de ligação de hidrogênio

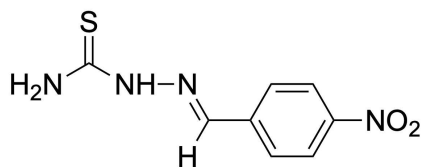
OADC	Ácido oléico, albumina bovina, dextrose e catalase
OMS	Organização mundial da saúde
Pa	Probabilidade de ser ativo
P.A.	Para análise
PI	Inibidores de protease
Pi	Probabilidade de ser inativo
PZA	Pirazinamida
REMA	<i>Resazurin microtiter assay plate</i>
RIF	Rifampicina
RMN	Ressonância magnética nuclear
RR	Enzima ribonucleotídeo redutase
SBDD	<i>Structure-based drug design</i>
SEMI	Semicarbazona
TB	Tuberculose
TMS	Tetrametilsilano
Tox.	Ação toxicológica
TPSA	Área total de superfície polar
TSC	Tiosemicarbazona
TZA	Tioacetazona
US	Ultrassom
WHO	<i>World health organization</i>
XDR-TB	Cepas de tuberculose extensivamente resistentes

LISTA DE COMPOSTOS

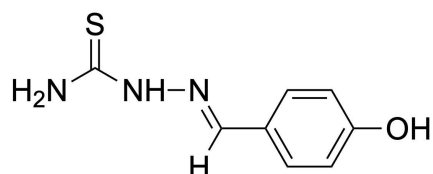
Código/Composto	Nomenclatura Sistemática e Fórmula Molecular
SEMI1 	2-(4-(terc-butil)-benzaldeído)hidrazina-1-carboxamida $C_{12}H_{17}N_3O$
SEMI2 	2-(4-nitrobenzaldeído)hidrazina-1-carboxamida $C_8H_8N_4O_3$
SEMI3 	2-(4-hidroxibenaldeído)hidrazina-1-carboxamida $C_8H_9N_3O_2$
SEMI4 	2-(4-clorobenzaldeído)hidrazina-1-carboxamida $C_8H_8ClN_3O$
SEMI5 	2-(4-fluorobenzaldeído)hidrazina-1-carboxamida $C_8H_8FN_3O$
SEMI6 	2-(2-furaldeído)hidrazina-1-carboxamida $C_6H_7N_3O_2$
SEMI7 	2-(1-feniletilideno)hidrazina-1-carboxamida $C_9H_{11}N_3O$
SEMI8 	2-(2-oxoindolin-3-ilideno)hidrazina-1-carboxamida $C_9H_8N_4O_2$

TSC1

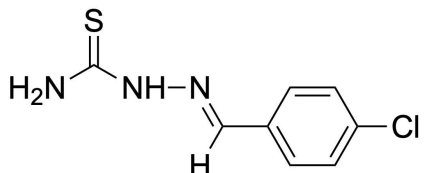
2-(4-(terc-butil)-benzaldeído)hidrazina-1-carbotioamida

 $C_{12}H_{17}N_3S$ **TSC2**

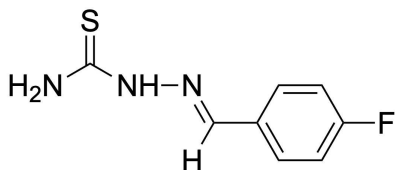
2-(4-nitrobenzaldeído)hidrazina-1-carbotioamida

 $C_8H_8N_4O_2S$ **TSC3**

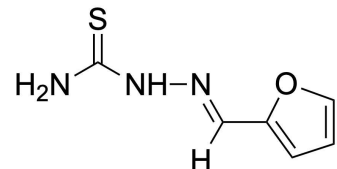
2-(4-hidroxi-benzaldeído)hidrazina-1-carbotioamida

 $C_8H_9N_3OS$ **TSC4**

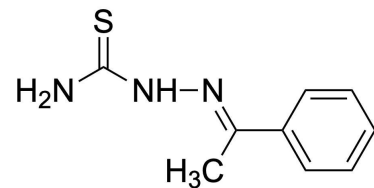
2-(4-clorobenzaldeído)hidrazina-1-carbotioamida

 $C_8H_8ClN_3S$ **TSC5**

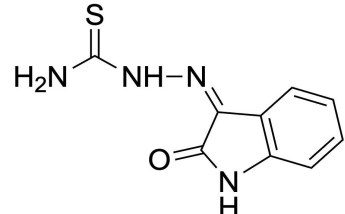
2-(4-fluorobenzaldeído)hidrazina-1-carbotioamida

 $C_8H_8FN_3S$ **TSC6**

2-(2-furaldeído)hidrazina-1-carbotioamida

 $C_6H_7N_3OS$ **TSC7**

2-(1-feniletilideno)hidrazina-1-carbotioamida

 $C_9H_{11}N_3S$ **TSC8**

2-(2-oxoindolin-3-ilideno)hidrazina-1-carbotioamida

 $C_9H_8N_4OS$

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 TUBERCULOSE	17
2.1.1 Tioacetazona	21
2.2 TIOSSEMICARBAZONAS E SEMICARBAZONAS	22
2.2.1 Aspectos Gerais.....	22
2.2.2 Propriedades Farmacológicas	23
2.2.3 Métodos de Síntese	25
2.3 ESTUDOS <i>IN SILICO</i>	26
3 JUSTIFICATIVA	28
4 OBJETIVOS	30
4.1 OBJETIVO GERAL	30
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	30
5 PARTE EXPERIMENTAL	31
5.1 INSTRUMENTAÇÃO	31
5.2 SOLVENTES E REAGENTES.....	31
5.3 ROTA DE SÍNTESE GERAL	32
5.4 PROCEDIMENTOS GERAIS PARA SÍNTESE DE TIOSSEMICARBAZONAS E SEMICARBAZONAS.....	33
5.5 ESTUDOS <i>IN SILICO</i>	33
5.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-TB <i>IN VITRO</i>	33
5.6.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima.....	33
6 RESULTADOS E DISCUSSÕES	35
6.1 ESTUDOS <i>IN SILICO</i>	36
6.1.1 Previsão da biodisponibilidade oral e perfil de absorção por membranas	36
6.1.2 Previsão de atividade farmacológica	39
6.1.3 Previsão de bioatividade.....	41
6.2 SÍNTESE.....	42
6.3 ANÁLISE ESPECTRAL E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL	45
6.4 ATIVIDADE BIOLÓGICA	51
7 CONCLUSÕES	54
8 PERSPECTIVAS	55
REFERÊNCIAS	56
APÊNDICE A - Espectros vibracionais de infravermelho	63
APÊNDICE B - Espectros de ressonância magnética nuclear unidimensionais de ¹H e ¹³C	70

1 INTRODUÇÃO

A Química Medicinal, compreende entre suas inúmeras atribuições o planejamento racional de novas substâncias bioativas, incluindo a síntese ou a modificação molecular de substâncias, a caracterização das suas propriedades físico-químicas; além da verificação da relação entre estrutura química e atividade biológica/toxicidade (BARREIRO, 2002; AMARAL; MONTANARI, 2002).

A síntese orgânica se destaca como ferramenta para elaboração de novas moléculas bioativas totalmente sintéticas ou com modificação estrutural de precursores naturais e deve permitir o acesso a moléculas de maior rendimento, alta pureza, com um menor custo e de preferência utilizando reagentes, solventes e metodologias mais limpas (NASCIMENTO; SANTOS; AGUIAR, 2014).

A elaboração de moléculas bioativas candidatas a uma ação terapêutica específica pode ser relacionada a um grupo farmacofórico característico ou pelo conhecimento das estruturas de alvos macromoleculares ou de complexos do tipo ligante-receptor, permitindo a aplicação de estratégias de planejamento baseado na estrutura do receptor (SBDD, do inglês *Structure-based drug design*) ou na estrutura do ligante (LBDD, do inglês *Ligand-based drug design*) (GUIDO; ANDRICOPULO; OLIVA, 2010).

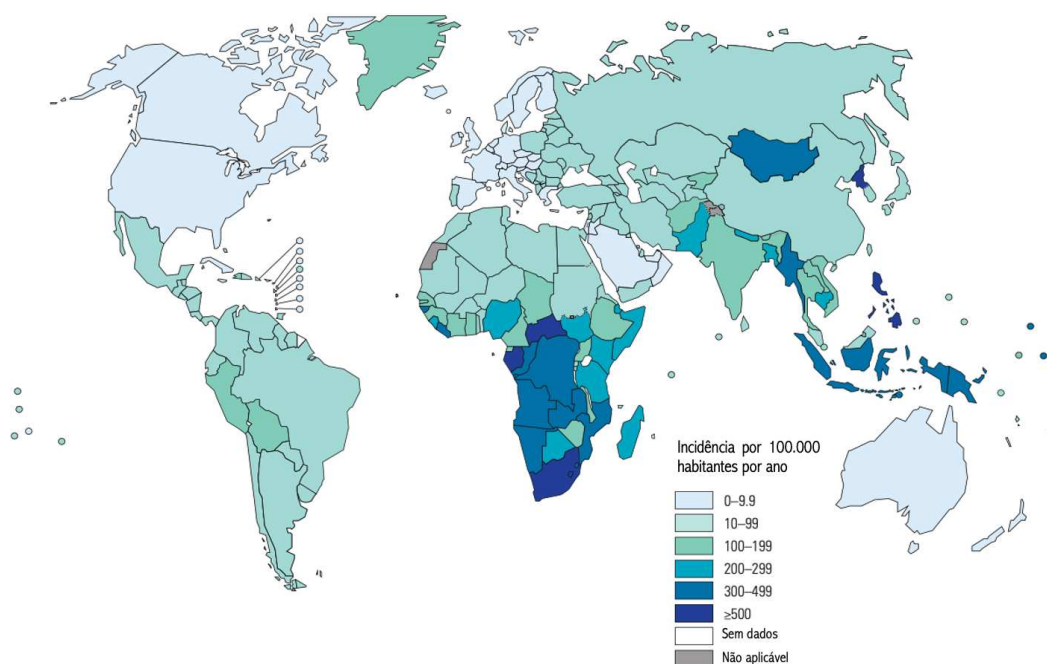
De maneira geral, esses estudos baseiam-se na obtenção de uma série de derivados sintéticos com estruturas análogas, modificadas pela alteração por exemplo de grupos substituintes e suas posições ou grupos isostéricos. A avaliação da atividade farmacológica *in vitro* é verificada para todos os análogos obtidos e entre eles, seleciona-se as substâncias mais promissoras, as quais poderão ser conduzidas a outros ensaios biológicos *in vitro* e *in vivo* (SILVA, 2013; LIMA, 2007).

Estudos desta vertente da química medicinal serão tratados nesse trabalho com o alvo no estudo de substâncias com potencial ação antituberculose. A tuberculose é uma doença infectocontagiosa transmitida pelo ar causada pela micobactéria *Mycobacterium tuberculosis*. Apesar de ser considerada um patógeno pulmonar, essa micobactéria pode afetar outros órgãos em qualquer parte do corpo. A doença se espalha quando as pessoas que estão infectadas com tuberculose expõem gotículas com bactérias para o ar, como por exemplo, pela tosse (WILDNER *et al.*, 2011).

Em 2020, a tuberculose foi considerada a principal causa de mortes no planeta ocasionada de um único agente infeccioso, mas em 2021 a COVID-19 (doença do coronavírus 2019) superou a TB em números de óbitos no mundo em virtude da pandemia. Como também a coinfeção TB-HIV e a manifestação de cepas da bactéria resistentes a medicamentos se tornaram grandes preocupações (WHO, 2020; WHO, 2021; PAI *et al.*, 2016).

A Organização Mundial da Saúde (2020) relata que países desenvolvidos com alta renda tem números de novos casos de tuberculose mais baixos, como mostra a Figura 1, normalmente menor que 10 casos por 100 mil habitantes por ano. Em contrapartida, também se destacam alguns países subdesenvolvidos com baixa renda por apresentarem taxas mais alta de incidência da tuberculose.

Figura 1 – Taxas estimadas de incidência de tuberculose em 2019.



Fonte: Adaptado de WHO, 2020.

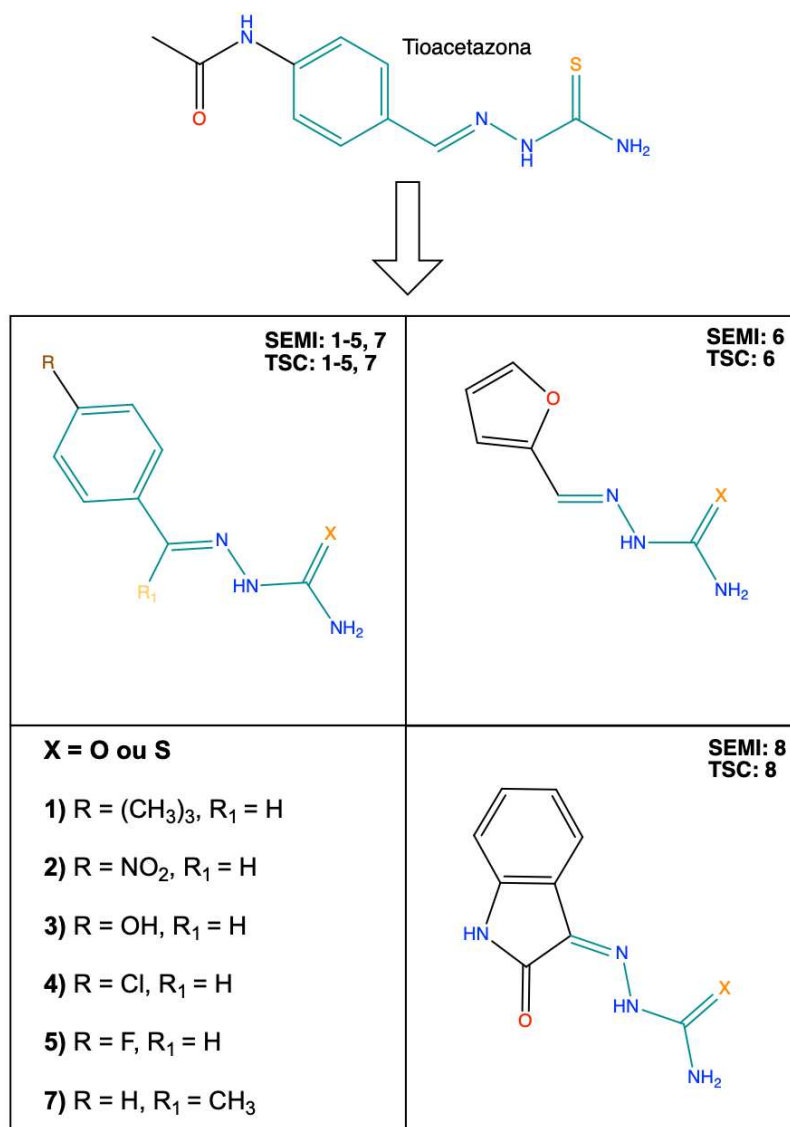
O tratamento padrão (primeira escolha) para tuberculose é de caráter poliquimioterápico e consiste na administração de quatro antimicrobianos: isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etambutol. O tratamento tem duração de 6 meses e pode apresentar graves efeitos adversos, como também pode ocorrer resistência a um ou mais fármacos, em razão da manifestação de cepas multirresistentes (BRANCO; PINTO; BOECHAT, 2012).

Nesta proposta de trabalho, o interesse é no desenvolvimento de novos candidatos a possíveis fármacos antituberculose, tendo em vista que o tratamento da

tuberculose atual pode ser aperfeiçoado, assim tornando válida a busca por substâncias bioativas mais eficazes, com menor grau toxicológico e tempo de administração.

Tendo em vista que, as semicarbazonas (SEMI) e tiossemicarbazonas (TSC) possuem um amplo potencial farmacológico, entre eles ação antituberculose (PAVAN *et al.*, 2010; SOUZA *et al.*, 2018). A linha de pesquisa desse trabalho se baseia em realizar a síntese (Figura 2) de uma série de semicarbazonas e tiossemicarbazonas análogas a tiacetazona através da reação de semicarbazida e tiossemicarbazida com derivados de benzaldeídos, heteroaldeídos e cetonas para avaliação da atividade anti-*Mycobacterium tuberculosis*, com intuito de descobrir novos candidatos a possíveis fármacos antituberculose.

Figura 2 – Estratégia de obtenção dos compostos análogos à tiacetazona



Fonte: Autoria Própria.

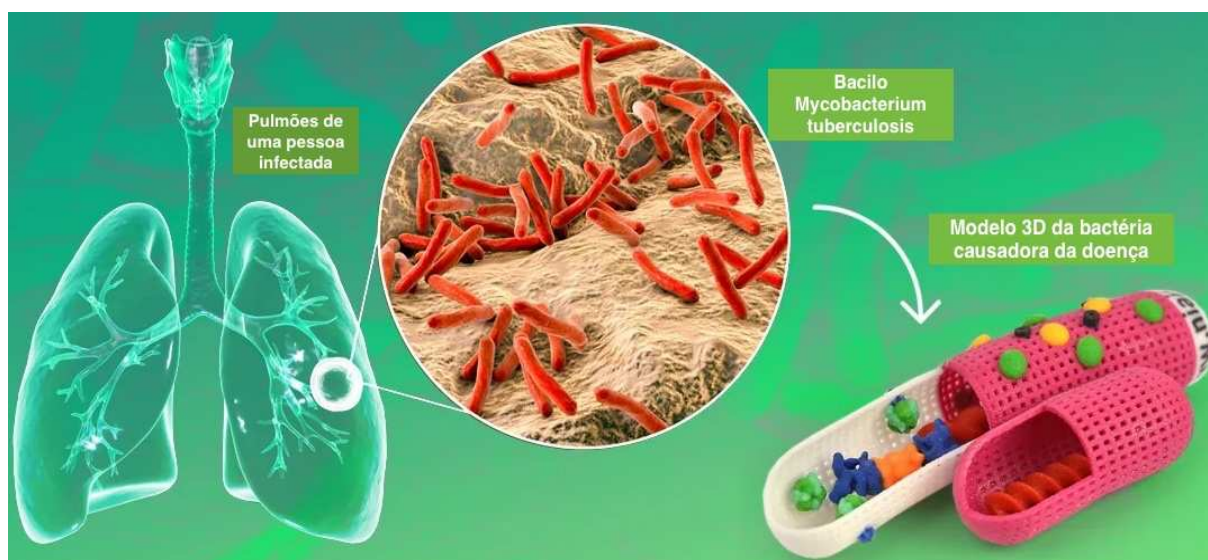
2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 TUBERCULOSE

A Tuberculose trata-se de uma doença milenar. Evidências constataam sua presença em múmias bem preservadas datando de 3700 a 1000 a.C na região de Tebas, cidade do Antigo Egito, e seu impacto foi crescente no decorrer dos séculos, o que culminou em diversas formas de manifestações na sociedade (TARANTINO; ROSEMBERG, 2005).

A transmissão da TB entre humanos realiza-se apenas por meio da inalação de partículas pelas vias aéreas produzidas por pacientes portadores da TB pulmonar ativa (WILDNER *et al.*, 2011), como ilustra a Figura 3. Esses perdigotos expelidos do pulmão pela tosse ou espirro para o ar, podem permanecer em suspensão durante algumas horas, caracterizando assim uma doença altamente contagiosa (TRABULSI; ALTERTHUM, 2015).

Figura 3 - Representação de pulmões infectados pela tuberculose



Fonte: Adaptado de Bernardes, 2020.

Atualmente a TB está entre as 10 principais causas de mortes no mundo, e até antes da pandemia do novo coronavírus (COVID-19), a TB era a principal causa ocasionada por um único agente infeccioso (WHO, 2021). Em 2020, estima-se que a

TB tenha afetado cerca de 10 milhões de pessoas ao redor do mundo, sendo registrados mais de 66 mil casos só no Brasil (WHO, 2021; BRASIL, 2021). Em 2019 1,4 milhões de pessoas morreram, incluindo 208 mil pessoas com HIV (retrovírus da imunodeficiência humana) (WHO, 2020). Além disso, a Organização Mundial da Saúde (2021) estima que um quarto da população mundial possui o bacilo da TB.

A TB humana é uma doença infectocontagiosa grave causada pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). De acordo com Pandolfi e colaboradores (2007) a TB é uma doença crônica que se caracteriza sobretudo pelo comprometimento dos pulmões (TB pulmonar), sendo capaz também de atingir outros órgãos (TB extrapulmonar) ou ocorrer de maneira disseminada (TB miliar). Segundo Nogueira e colaboradores (2012) fora dos pulmões, os locais onde a TB se localiza, em ordem de frequência, são: gânglios, pleura, sistema urinário, ossos e articulações, meninges, e peritônio, mas praticamente todos os órgãos e sistemas podem ser afetados.

O bacilo *MTB*, inicialmente chamado de bacilo de Koch, foi isolado pela primeira vez em 1882 pelo bacteriologista alemão Robert Koch (1843-1910) como o agente etiológico da TB (DUCATI *et al.*, 2006). O *MTB* tem como característica ser um bacilo aeróbico em forma de bastonetes, imóvel, bem como é classificado como um bacilo álcool-ácido resistentes (BAAR). A Figura 4 ilustra uma representação do bacilo *MTB*.

Figura 4 – Bacilo *Mycobacterium tuberculosis*

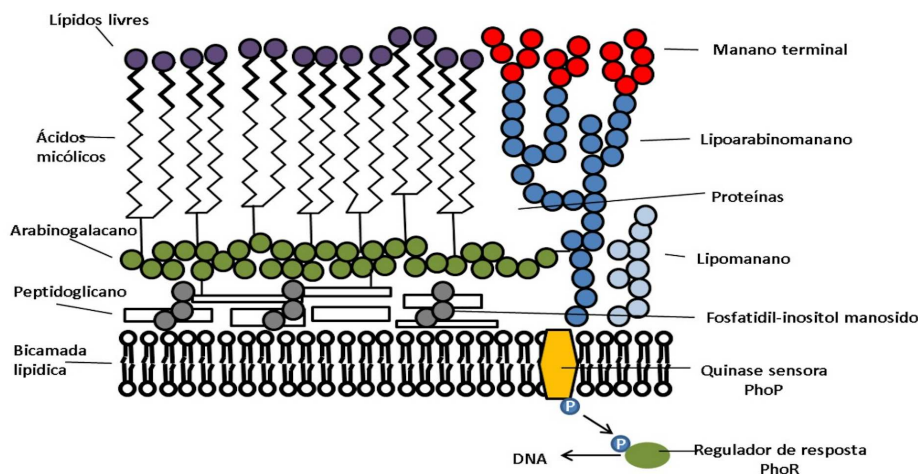


Fonte: Sanofi Pasteur via Flickr / CC BY-NC-ND 2.0.

Um BAAR possui resistência à descoloração por álcool etanol e ácido nítrico ou sulfúrico, quando previamente corados pela fucsina, devido ao alto teor de lipídios que engloba a sua parede celular. Essa característica no *MTB* deve-se principalmente a produção de ácidos graxos de cadeia longa, os ácidos micólicos (Figura 5), que

também atribuem resistência à ação de uma variedade de agentes químicos, como também de antibióticos (TARANTINO; ROSEMBERG, 2005; DUCATI *et al.*, 2006).

Figura 5 – Representação da parede celular do *Mycobacterium tuberculosis*



Fonte: Adaptado de Park e Bendelac, 2000.

A disseminação vasta e rápida de infecções pelo HIV favoreceu a elevação de novos casos de TB. Isso dá-se devido a imunidade na TB ser mediada pelo sistema imunológico celular que está comprometido em portadores infectados pelo HIV. O baixo potencial combativo de indivíduos portadores de HIV favorece principalmente a manifestação da TB extrapulmonar (BRANCO; PINTO; BOECHAT, 2012). Segundo Ducati e colaboradores (2006) foi estabelecido o sinergismo entre essas duas infecções, na qual inferiu-lhes a designação de "dueto maldito".

A coinfeção TB-HIV continua sendo a principal causa de mortes que acometem portadores de AIDS (Síndrome da imunodeficiência humana adquirida), sendo responsável por cerca de uma em cada três mortes (UNAIDS, 2020). Um fator agravante nesse quadro é a interação entre os fármacos utilizados no tratamento anti-TB com alguns empregados na quimioterapia antirretroviral, tendo em vista que a mesma enzima do citocromo P450 (CYP450) é responsável pela metabolização destes fármacos (BRANCO; PINTO; BOECHAT, 2012).

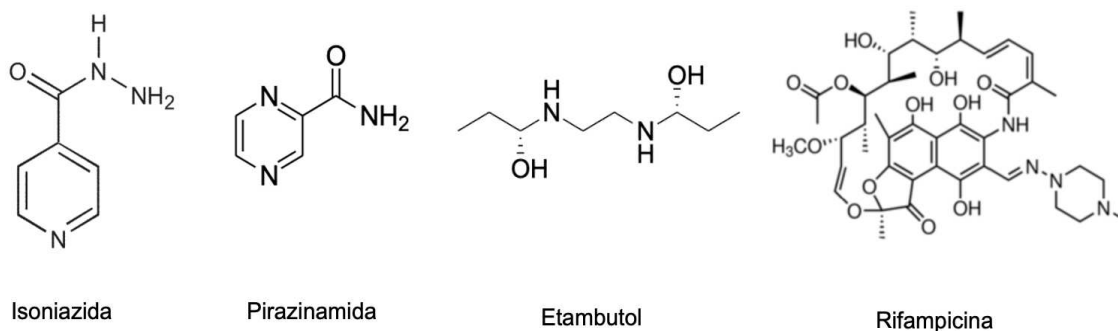
Outro fator alarmante é a manifestação de cepas multirresistentes (MDR-TB) e extensivamente resistentes (XDR-TB) aos fármacos anti-TB diretamente relacionadas ao abandono do tratamento. Além disso, essas manifestações afetam diretamente o indivíduo infectado com TB, tornando o tratamento convencional anti-TB pouco eficiente, como também trazem graves efeitos colaterais (BRANCO; PINTO; BOECHAT, 2012).

A TB tem cura, porém a quimioterapia anti-TB enfrenta grandes desafios como o longo período do tratamento que exige acompanhamento e disciplina ao paciente, somado aos diversos efeitos colaterais tais como náuseas, vômitos, asma, cegueira, entre outros. O abandono do tratamento estimula o desenvolvimento de MDR-TB a um ou mais fármacos (NOGUERIA *et al.*, 2012; BRANCO; PINTO; BOECHAT, 2012). Tarantino e Rosemberg (2005, p. 352) enfatizam “A quimioterapia deve visar primordialmente: impedir o desenvolvimento da resistência, obter a cura e evitar recaídas.”

O tratamento da TB é dividido em categorias baseadas nos fatores de segurança e efetividade dos fármacos disponíveis, conhecidas como quimioterapia de primeira escolha e de segunda escolha. Toda via, trata-se de um tratamento antigo já que dos fármacos de primeira linha o mais recente foi empregado somente em 1968. No Brasil, o tratamento anti-TB é constituído por quatro fármacos de forma gratuita, padronizada e é disponibilizado pelo Sistema Único de Saúde (SUS) em todo território nacional (NOGUERIA *et al.*, 2012; BRASIL, 2020). Vale salientar que os fármacos de primeira escolha representam custo relativamente baixo.

A quimioterapia de primeira escolha no Brasil agrega fármacos (Figura 6) que são geralmente bactericidas, de alto nível de eficácia a uma condição relativa de toxicidade, inicialmente por meio da utilização, durante dois meses, de comprimidos em dose combinada incluindo a isoniazida (INH), rifampicina (RIF), pirazinamida (PZA) e etambutol (EBM), chamada fase intensiva, que consiste na eliminação breve da população bacteriana. Posteriormente é administrado por mais quatro meses um comprimido combinado de INH e RIF, na chamada fase de continuação, que consiste na prevenção de recaídas e manutenção da situação clínica até a cura (BRANCO; PINTO; BOECHAT, 2012; NOGUERIA *et al.*, 2012; TARANTINO; ROSEMBERG, 2005).

Figura 6 – Fármacos de primeira escolha anti-TB



Fonte: Autoria Própria.

O tratamento de segunda escolha é administrado nos casos de resistência aos fármacos anteriormente citados, principalmente INH e/ou RIF, ou mesmo quando se manifestam impossibilidades na utilização dos mesmos por aspectos individuais do portador de TB. As infecções por cepas MDR-TB são normalmente tratadas por fármacos que são geralmente bacteriostáticos, como levofloxacina, terizidona, tioacetazona, ácido *p*-aminosalicílico (PAS), amicacina ou canamicina injetáveis e um derivado fluorquinolônico como a ciprofloxacina e a ofloxacina, entre outros (BRANCO; PINTO; BOECHAT, 2012; SOUZA; VASCONCELOS, 2005; NOGUERIA *et al.*, 2012; SOUZA *et al.*, 2010).

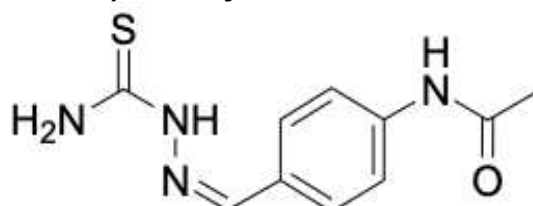
Segundo Souza e colaboradores (2010) “O uso dos fármacos de segunda escolha apresenta como desvantagens a maior quantidade de efeitos colaterais, alto custo e maior tempo de tratamento, que pode chegar a até 24 meses de duração.”

Dessa forma, o interesse em desenvolvimento de novos fármacos anti-TB é necessário e muito válido, enfatizando a busca por fármacos mais eficazes, com menor grau toxicológico, ativos contra MDR-TB e XDR-TB. Como também, candidatos a atuarem de modo a simplificar o tempo de duração do tratamento e não manifestarem reação cruzada com os medicamentos da quimioterapia antirretroviral (BRANCO; PINTO; BOECHAT, 2012; SOUZA; VASCONCELOS, 2005).

2.1.1 Tioacetazona

Tioacetazona (TZA), *p*-acetamidobenzaldeído tiossemicarbazona, ou ainda comercialmente conhecido como tiacetazona, é o único composto da classe das tiossemicarbazonas empregado no tratamento de segunda escolha da TB. Esta molécula se beneficia em razão do seu baixo custo (PAVAN *et al.*, 2010). Os efeitos antimicobacterianos da TZA foram descobertos em meados de 1940 em estudos da sua atividade na quimioterapia da tuberculose (DOMAGK, 1946). A Figura 7 apresenta uma representação da TZA.

Figura 7 - Representação estrutural da Tioacetazona



Fonte: Autorial Própria.

Em países do continente africano, em razão da epidemia de AIDS, a tiacetazona é usada ainda hoje como fármaco anti-TB, principalmente como análogo à isoniazida, para obtenção de efeitos sinérgicos e de tentativa de reversão da MDR-TB. De modo semelhante, a literatura retrata que o uso combinado de tioacetazona com rifampicina, além de aprimorar as propriedades de permeação dos fármacos, pode levar ao sinergismo (COLLINS; KLAYMAN; MORRISON, 1982; SEYDEL; SCHAPER; RÜSH-GERDES, 1994; ABATE *et al.*, 2002). No entanto, ressalta-se que em razão dos grupos amida presente na molécula o uso da TZA pode provocar efeitos adversos, como transtornos gastrointestinais, hepatite e depressão da medula óssea (BERALDO, 2004).

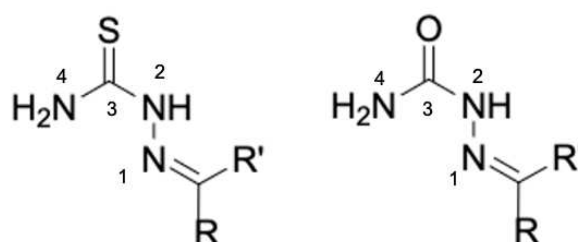
2.2 TIOSSEMICARBAZONAS E SEMICARBAZONAS

2.2.1 Aspectos Gerais

As tiossemicarbazonas (TSC) e semicarbazonas (SEMI) são uma classe de compostos isómeros de elevado interesse farmacológico, devido as suas propriedades químicas e biológicas semelhantes que proporcionam um amplo espectro de atividades farmacológicas, tais como exemplo a atividade antifúngica (TENÓRIO, *et al.*, 2005), antitumoral (VANDRESEN *et al.*, 2014), antiviral (BANERJEE *et al.*, 2011), antibacteriana (SOUZA *et al.*, 2018; GÜZEL; KARALI; SALMAN, 2008), incluindo a atividade anti-*Mycobacterium tuberculosis* (anti-MTB) (PAVAN *et al.*, 2010).

As SEMI se diferenciam das TSC por substituir o átomo de enxofre por um átomo de oxigênio, como se exemplifica na Figura 8.

Figura 8 - Representação das tiossemicarbazonas e Semicarbazonas (átomos numerados segundo IUPAC)



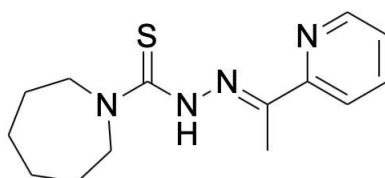
R, R' = H, alquil ou aril

Fonte: Autoria Própria.

acetamidobenzaldeído tiossemicarbazona, disponível comercialmente como tiacetazona (OPLETALOVÁ; DOLEŽEL, 2013; SOUZA *et al.* 2018).

A atividade antimicobacteriana desses compostos se manifesta principalmente nas séries de tiossemicarbazonas derivadas de benzaldeídos com substituintes em posição *para* ou de aldeídos heterocíclicos (BERALDO, 2004). Como exemplo temos que a atividade antimicobacteriana dentro de uma série de acetilpiridina tiossemicarbazonas N-4 substituídas se dá pelo composto que apresenta um bom caráter hidrofóbico, no qual possibilita permear a membrana celular para se ligar a um receptor específico (COLLINS; KLAYMAN; MORRISON, 1982). A Figura 10 representa um dos compostos que se destacam nos resultados do estudo de Collins, Klayman e Morrison (1982).

Figura 10 – Tiossemicarbazona relatada com significativa atividade antimicobacteriana sintetizados por Collins, Klayman e Morrison (1982)



Fonte: Autoria Própria.

Beraldo (2004) ainda argumenta que existe uma versatilidade na escolha dos substituintes das TSC e SEMI que possibilitam a modulação do caráter lipofílico dos compostos influenciando diretamente nas interações com receptores biológicos.

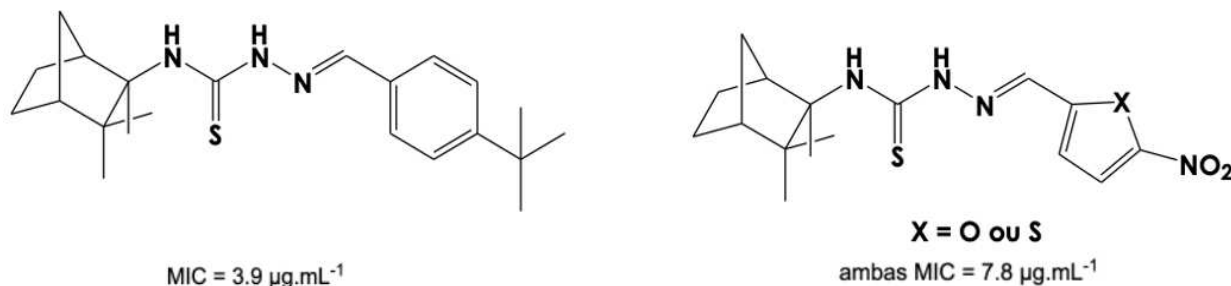
As TSC e SEMI também possuem papel importante na Química Medicinal Inorgânica, por consequência de sua capacidade de formar complexos organometálicos e pela atuação de coordenação no mecanismo bioquímico de ação (BERALDO, 2004).

Alguns autores descrevem o mecanismo bioquímico de ação das TSC e SEMI por efeito de sua ação inibitória da síntese do DNA (ácido desoxirribonucleico), inibindo possivelmente a enzima ribonucleotídeo redutase (RR) por meio da complexação de metais ou por reações redox (TENÓRIO, 2005; YOUSEF, 2011; BERALDO, 2004).

Recentemente Souza e colaboradores (2018) relataram significativa atividade de uma série de (-)-canfeno-tiossemicarbazonas derivadas de benzaldeídos e nitro-heterocíclicos aromáticos frente ao *M. tuberculosis*. Dentre seus melhores resultados destacam-se três compostos (Figura 11) que apresentaram Concentração Inibitória

Mínima (MIC) comparáveis à possíveis fármacos de primeira escolha anti-TB, como etambutol, estreptomicina e pirazinamida.

Figura 11 – (-)-Canfeno Tiossemicarbazonas relacionadas com significativa atividade *M. tuberculosis* sintetizados por Souza *et al.* (2018)



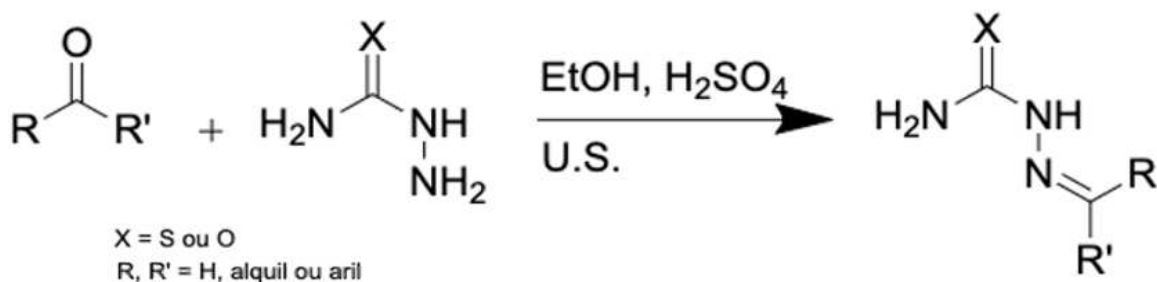
Fonte: Autoria Própria.

2.2.3 Métodos de Síntese

As metodologias descritas na literatura para a síntese de TSC e SEMI são a partir de tiossemicarbazidas ou semicarbazidas e hidrazonas por meio de reação em etapas e reação multicomponente (COELHO, 2011). O presente projeto de pesquisa adotará o método de obtenção direta das TSC e SEMI a partir de tiossemicarbazidas e semicarbazidas respectivamente (TENÓRIO, 2005).

A síntese ocorre pela condensação de um derivado carbonilado, geralmente aldeído e/ou cetona, com a tiossemicarbazidas (ou semicarbazidas, depende de qual produto é esperado) em meio alcoólico com catalise ácida sob sistema de ultrassom e refluxo (HOLLA *et al.*, 2003; SHAIENDRA *et al.*, 2003). Esta reação (Figura 12) é conhecida pela sua alta quimiosseletividade, rapidez e capacidade de gerar altos rendimentos (TARASCONI *et al.*, 2000; TENÓRIO, 2005).

Figura 12 – Esquema de formação direta de tiossemicarbazonas e semicarbazonas



Fonte: Autoria Própria.

2.3 ESTUDOS *IN SILICO*

Os métodos utilizados nos estudos *in silico* são empregados para avaliar as propriedades farmacocinéticas e toxicológicas de candidatos a fármacos, de modo a prever a potencial atividade terapêutica de um composto antes mesmo de se iniciar as práticas laboratoriais. Se tornando assim uma excelente ferramenta da química medicinal, na qual torna possível usufruir de *softwares* para um planejamento de pesquisa que pode resultar em otimização de tempo, moléculas e principalmente previsões relacionadas ao objetivo da pesquisa (CRUZ, 2019; MODA, 2007).

Através dos modelos *in silico* é possível realizar previsões de diversos fatores da biodisponibilidade de fármacos, como, desintegração e dissolução da formulação, solubilidade do princípio ativo, absorção gastrointestinal, metabolismo mediado pela CYP450, ligações às proteínas, entre outros fatores (WATERBEEMD; GIFFORD, 2003).

Os parâmetros físico-químicos ADMET (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) usados nos estudos *in silico* são usualmente utilizados como complemento aos estudos *in vitro*. Neste trabalho, a análise da biodisponibilidade oral segue a “Regra dos Cinco” de Lipinski, que estabelece que para uma biomolécula agir como uma molécula candidata a ser oralmente ativa é necessário ter massa molecular (MM) menor ou igual 500 g.mol^{-1} , lipofilicidade (LogP) menor ou igual a 5, número menor que 5 átomos doadores de ligações de hidrogênio (nHb) e menos de dez aceptores de ligações de hidrogênio (nHa) (LIPINSKI *et al.*, 1997).

Complementado os parâmetros físico-químicos, tem-se a regra de Veber, que se aplica com a área de superfície polar topológica (TPSA) que está correlacionada com a ligação de hidrogênio de uma molécula. A regra de Veber estabelece que todos os compostos devem possuir TPSA menor ou igual a 140 \AA^2 , o que indicaria uma boa biodisponibilidade oral (HUSAIN, 2016).

O modelo de testes de atividade farmacológica *in silico* também é muito utilizado para avaliar o potencial biológico de uma molécula orgânica quando em contato com o organismo humano. De modo a ser possível fazer previsões de múltiplos tipos de atividades biológicas com base na estrutura dos compostos, estimando esse potencial como índices Pa (probabilidade de ser ativo) e Pi (probabilidade de ser inativo).

No que diz respeito ao metabolismo das moléculas bioativas, podem ser realizadas predições *in silico* sobre a inibição e indução de enzimas do complexo CYP450, as quais possuem papéis metabólicos importantes, como por exemplo, na síntese de antibióticos, como também são alvos de medicamentos em algumas doenças. Tal como esse conjunto de enzimas apresenta uma grande versatilidade funcional tanto na variedade de processos que catalisa quanto na enorme diversidade de substratos que pode transformar (GUENGERICH, 2019).

No metabolismo de moléculas bioativas a indução ou inibição da enzima CYP é o mecanismo principal para interações medicamentosas (MANIKANDAN; NAGINI, 2018). Isto é, se um fármaco inibe a enzima que degrada uma segunda droga, na presença de ambas, a segunda aumentará seus níveis no sangue, podendo assim aumentar as chances de danos por *overdose* (tradução livre, quantidade excessiva de drogas e medicamentos no organismo). Em contrapartida, se o primeiro medicamento induzir o metabolismo de tal enzima, as concentrações da segunda droga diminuirão, um fator de grande importância, por exemplo para antibióticos (GONZALEZ; GUERRA, 2014).

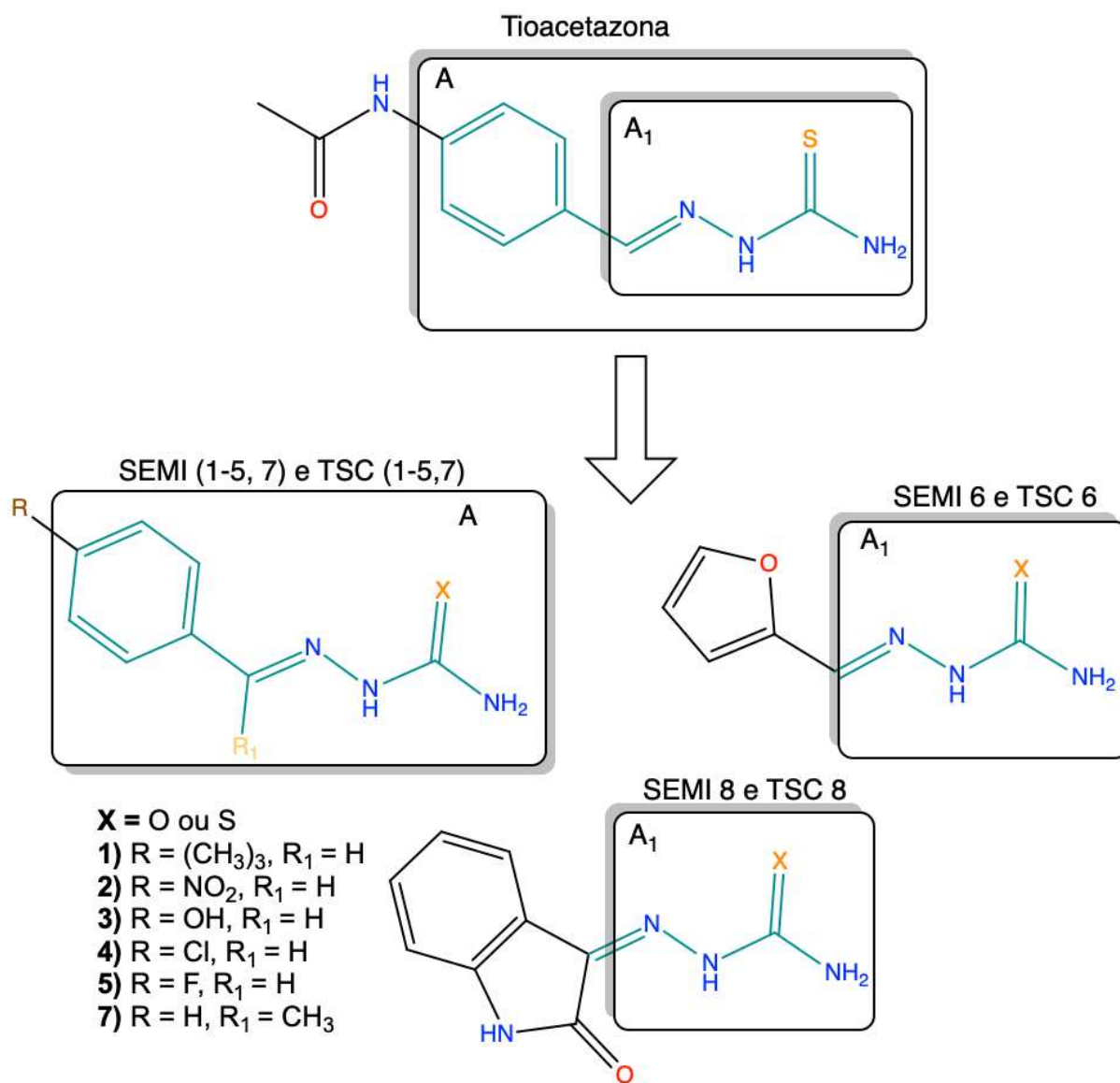
3 JUSTIFICATIVA

O interesse na pesquisa de novos compostos biologicamente ativos contra tuberculose, se dá em virtude do impacto global causado pela tuberculose, em relação ao número de reincites e de óbitos; ao surgimento de cepas multirresistentes; aos efeitos da coinfeção TB-HIV; ao longo período de tratamento poliquimioterápico, bem como aos efeitos adversos causados pelos fármacos. Fatores que por si só tornam de grande interesse o desenvolvimento de novos fármacos mais eficazes, com menor grau toxicológico e potencialmente ativos para o tratamento de MDR-TB e XDR-TB.

Considerando que semicarbazonas e tiossemicarbazonas possuem um amplo potencial farmacológico, o presente trabalho estabeleceu uma linha de pesquisa sintética de dezesseis compostos de TSC e SEMI análogas a tiacetazona (Figura 13) para avaliação anti-*Mycobacterium tuberculosis*. Além disso, a realização de estudos *in silico* das propriedades físico-químicas desses compostos em conjunto com a triagem da atividade *in vitro* anti-*Mycobacterium tuberculosis*, tem o intuito de auxiliar na descoberta de novos candidatos a fármacos antituberculose.

O esquema conceitual de síntese usado para preparar esses compostos análogos à tioacetazona (Figura 13) exploram a introdução de benzaldeídos, heteroaldeídos e cetonas nos núcleos da tioacetazona (A e A₁) para obter grupos semicarbazonas e tiossemicarbazonas. Essa modificação tem como objetivo analisar a influência de alguns substituintes em N-1 na atividade biológica *in vitro* apresentada por esses compostos.

Figura 13 – Conceito de esquematização dos compostos análogos à tioacetazona



Fonte: Autoria Própria.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar, caracterizar e avaliar a atividade anti-*Mycobacterium tuberculosis* da série de compostos semi e tiossemicarbazônicos por meio de estudos *in silico* e ensaios biológicos para determinação da concentração inibitória mínima (MIC).

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar uma série de semicarbazonas e tiossemicarbazonas utilizando aldeídos e cetonas aromáticas substituídas com grupos doadores e retiradores de densidade eletrônica ou com grupos heterocíclicos;
- Caracterizar a série de compostos sintetizados por meio de métodos espectroscópicos, como Infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN);
- Avaliar os parâmetros físico-químicos *in silico* dos compostos sintetizados, por meio de determinação ADMET (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade);
- Realizar a avaliação da atividade *in vitro* anti-*Mycobacterium tuberculosis* dos compostos sintetizados, pelo método REMA (*Resazurin Microtiter Assay Plate*).

5 PARTE EXPERIMENTAL

5.1 INSTRUMENTAÇÃO

A irradiação em ultrassom foi realizada em um equipamento Cristófoli com frequência de 42 MHz, na qual o frasco reacional foi colocado em banho ultrassônico contendo água. O arranjo estrutural e a nomenclatura sistemática das substâncias foram obtidas pelo software ChemDraw[®]. O ponto de fusão dos compostos foi obtido através do aparelho de ponto de fusão Microquímica modelo MQAPF-302 com faixa de temperatura até 350°C. Os espectros vibracionais na região do infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetro FT-IR Spectrometer Spectrum Two, Perkin Elmer, acoplado ao acessório de reflectância total atenuada (ATR) sendo as medidas realizadas na faixa de 4000 a 400 cm⁻¹ e foram processados no *software* SpectraGryph[®]. Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) unidimensionais de ¹H e ¹³C foram realizados em espectrômetro Bruker Avance III com frequência de 400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C usando uma sonda direta de 5 mm, CDCl₃ e DMSO-d₆ como solventes deuterados, TMS como padrão interno e foram processados no *software* ACD/Labs[®]. Os deslocamentos químicos (δ) indicados, expressos em ppm, foram medidos em relação ao tetrametilsilano, utilizado como referência interna. As constantes de acoplamento foram indicadas em Hertz (Hz) e as multiplicidades dos sinais foram designadas da seguinte forma: s = simpleto, br s = simpleto de sinal largo, d = duplete, dd = duplete de duplete, t = tripleto, q = quarteto, m = multiplete. A elucidação dos espectros foi realizada mediante consulta de tabelas de correlação (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001).

5.2 SOLVENTES E REAGENTES

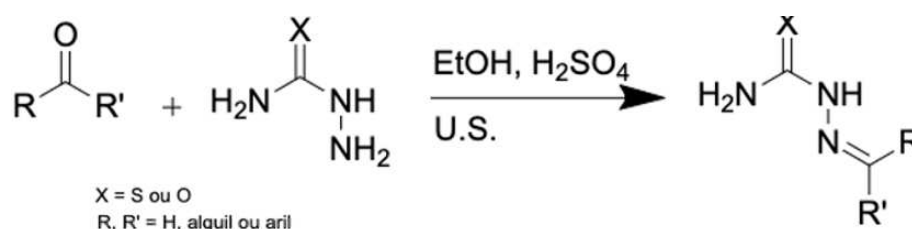
Para a realização das sínteses foram utilizados os seguintes reagentes: 4-nitrobenzaldeído, 4-hidroxibenzaldeído, 4-clorobenzaldeído, 4-fluorobenzaldeído, 4-(terc-butil)-benzaldeído, 2-furaldeído, 1-feniletanona, 1H-indol-2,3-diona, semicarbazida cloridrato e tiosemicarbazida. Como solventes serão utilizados hexano, acetato de etila, clorofórmio, etanol absoluto e metanol, todos grau P.A.

Todos os reagentes orgânicos foram adquiridos da empresa Sigma-Aldrich. Os demais reagentes e solventes foram adquiridos das empresas Synth, Neon e Dinamica. A Cromatografia em camada delgada (CCD) foi realizada utilizando sílica gel suportada em folha de alumínio (Sigma-Aldrich) e a revelação foi realizada com vapores de iodo.

5.3 ROTA DE SÍNTESE GERAL

A síntese das TSC e SEMI foi realizada conforme a metodologia da literatura descrita para síntese direta (TENÓRIO *et al.*, 2005) que consiste na condensação da tiossemicarbazida com um derivado carbonilado, aldeído ou cetona, em meio alcoólico com catálise ácida sob sistema de ultrassom (U.S.) e refluxo, conforme pode ser observado no Figura 14 abaixo.

Figura 14 – Esquema de rota de síntese direta de TSC e SEMI



Fonte: Autoria Própria.

A Tabela 1 descreve a relação de aldeídos e cetonas para série de compostos TSC e SEMI N-1 substituídos.

Tabela 1 – Aldeídos e cetonas utilizados na síntese dos compostos

Aldeídos e Cetonas	Produtos	
	CÓDIGOS SEMI	CÓDIGOS TSC
4-(terc-butil)-benzaldeído	SEMI1	TSC1
4-nitrobenzaldeido	SEMI2	TSC2
4-hidroxibenzaldeído	SEMI3	TSC3
4-clorobenzaldeído	SEMI4	TSC4
4-fluorobenzaldeido	SEMI5	TSC5
2-furaldeído	SEMI6	TSC6
1-feniletanona	SEMI7	TSC7
1H-indol-2,3-diona	SEMI8	TSC8

5.4 PROCEDIMENTOS GERAIS PARA SÍNTESE DE TIOSSEMICARBAZONAS E SEMICARBAZONAS

Em um balão erlenmeyer foi adicionado 100 mg (1,1 mmol) de tiossemicarbazida ou semicarbazida e 1,1 mmol de um dos seguintes aldeídos ou cetonas (4-(terc-butil)-benzaldeído, 4-nitrobenzaldeído, 4-hidroxibenzaldeído, 4-clorobenzaldeído, 4-fluorobenzaldeído, 2-furaldeído, 1-feniletanona, 1H-indol-2,3-diona). Após isso foi adicionado 25 mL de álcool etílico absoluto mantendo a mistura sob agitação em U.S. até solubilização dos reagentes. Em seguida, foi adicionado 1 gota de ácido sulfúrico 25% e manteve-se a reação por agitação em U.S. por aproximadamente 10 min. A mistura então foi aquecida sob agitação em uma chapa de aquecimento para remoção do excesso de solvente. A reação foi acompanhada por CCD em placas de sílica utilizando uma pequena quantidade da reação no sistema hexano:acetato de etila 30%. Após finalizada a reação os produtos foram filtrados, lavados com álcool etílico absoluto e água destilada, e após secagem em estufa foram obtidos os rendimentos.

5.5 ESTUDOS *IN SILICO*

A previsão dos parâmetros físico-químicos para todos os compostos foi realizada nos *softwares* Osiris Property Explorer®, SwissADME®, Pass Online® e Molinspiration®. As propriedades de ADMET, o perfil de absorção por membranas, previsão farmacológica e biológica foram preditas para auxiliar no planejamento dos compostos, de modo a auxiliar na escolha dos grupos doadores e retiradores de elétrons que iriam compor a série de moléculas.

5.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-TB *IN VITRO*

5.6.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima

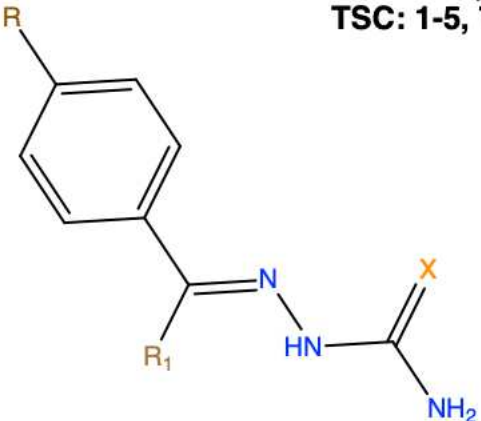
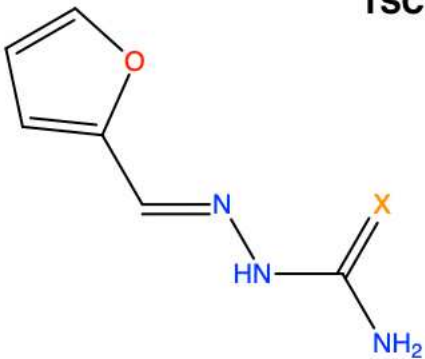
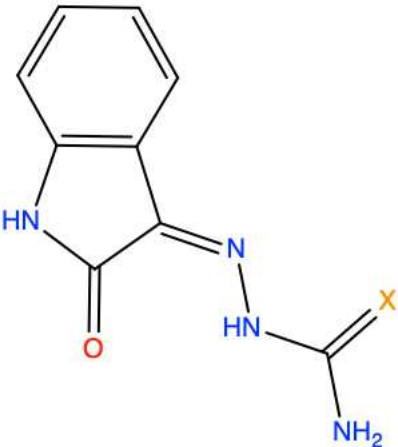
Os ensaios anti-*Mycobacterium tuberculosis* foram realizados em parceria com o Laboratório de Bacteriologia Médica da Universidade Estadual de Maringá. Para os ensaios biológicos, as moléculas sintetizadas foram submetidas ao ensaio *in vitro* para

determinação da concentração inibitória mínima (MIC, do inglês *Minimum inhibitory concentration*) capaz de inibir a multiplicação bacilar em cepa padrão *M. tuberculosis* H₃₇Rv (ATCC 27294), utilizando a metodologia REMA (do inglês, *Resazurin Microtiter Assay Plate*) (PALOMINO *et al.*, 2002) em uma microplaca estéril de 96 orifícios. Os compostos foram diluídos em Dimetilsulfóxido (DMSO, Sigma) para se obter soluções de 10000 µg.mL⁻¹. Em seguida foram realizadas diluições destas soluções no meio Middlebrook 7H9 com OADC (ácido oleico, albumina, dextrose e catalase), de maneira a se obter concentrações dos compostos (250 a 0,97 µg.mL⁻¹). As concentrações do fármaco padrão, isoniazida que foram estudadas foram de 1,0 a 0,01 µg.mL⁻¹ após a adição do inóculo bacteriano nos orifícios da placa, sendo as diluições realizadas diretamente na microplaca utilizando diluições seriadas. A cepa de *M. tuberculosis* H₃₇Rv foi previamente cultivada em Middlebrook 7H9 com OADC, a 35 °C e padronizada até atingir a turvação igual à escala nº 1 de McFarland. As culturas foram diluídas 1:20 e 100 µL da diluição foram inoculados em cada um dos orifícios contendo as substâncias, com exceção do controle negativo, os quais continham apenas meio de cultura. As microplacas então foram seladas com tampa transparente e incubadas a 35 °C por sete dias e após este período, foram adicionados 30 µL de solução de Resazurina (0,01% p/v) em todos os orifícios da microplaca. As placas foram reincubadas por mais 24 horas a 35 °C e após isso foi realizada a leitura final. A manutenção da cor azul nos orifícios foi interpretada como ausência de crescimento bacteriano e o desenvolvimento de cor rósea, como de multiplicação bacilar. A MIC foi definida como a menor concentração da droga capaz de impedir a mudança de cor de azul para róseo, ou seja, presença de viabilidade bacilar.

6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

No decorrer desta seção será utilizada uma identificação por códigos em detrimento da nomenclatura sistemática, a fim de facilitar a referência aos compostos sintetizados (Figura 15). Ambos os métodos de identificação se encontram na Lista de Compostos, localizada no início deste trabalho.

Figura 15 – Estrutura das semicarbazonas e tiosemicarbazonas

 <p>SEMI: 1-5, 7 TSC: 1-5, 7</p>	 <p>SEMI: 6 TSC: 6</p>
<p>X = O ou S</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) R = (CH₃)₃, R₁ = H 2) R = NO₂, R₁ = H 3) R = OH, R₁ = H 4) R = Cl, R₁ = H 5) R = F, R₁ = H 7) R = H, R₁ = CH₃ 	 <p>SEMI: 8 TSC: 8</p>

Fonte: Autoria Própria.

6.1 ESTUDOS IN SILICO

6.1.1 Previsão da biodisponibilidade oral e perfil de absorção por membranas

A predição avaliação *in silico* da biodisponibilidade oral dos compostos foi abordada por meio da regra dos cinco de Lipinski com o auxílio da base de dados do *software* OSIRIS Property Explorer[®]. Parâmetros como lipofilicidade (LogP), massa molecular (MM), número de átomos receptores (nHa) e doadores (nHb) de ligação de hidrogênio foram considerados.

Com o auxílio do *software* SwissADME[®] foi possível prever outros parâmetros adicionais como solubilidade (Log S), absorção gastrointestinal humana (HIA) e possibilidade de penetração da barreira hematoencefálica (BBB), com intuito de prever o perfil de absorção por membranas dos compostos.

O agrupamento de todos os parâmetros físico-químicos relacionados acima para os compostos sintetizados se encontra na Tabela 2 na próxima página.

A biodisponibilidade oral humana se refere à fração do fármaco administrado que chega de fato à via sistêmica, isto é, à corrente sanguínea do paciente, onde poderá encontrar seu receptor-alvo e exercer o efeito terapêutico (LIPINSKY, 1997). Os resultados das predições mostraram que todos os compostos atenderam com vantagem às regras de Lipinski e Veber, o que sugere que estes apresentarão uma boa biodisponibilidade oral. Ressalta-se que o LogP aumenta significativamente para as moléculas TSC em razão da presença do átomo de enxofre, variando de 0,16 a 3,11, sugerindo assim que essas moléculas devem possuir boa permeabilidade da membrana celular.

A solubilidade de compostos orgânicos é normalmente representada por LogS, onde S é a concentração do composto em mol.L⁻¹. Valores acima de -1 estão associados com moléculas bastante polares, tais como açúcares ou pequenos peptídeos, que possuem baixa permeabilidade de membrana na ausência de transporte ativo, mas não são problemáticos (JORGENSEN; DUFFY, 2002). Observa-se que o LogS das moléculas estão próximos com os encontrados para os fármacos padrões: isoniazida (-0,56) e tioacetazona (-1,91), mais próximos inclusive da solubilidade teórica da TZA.

Tabela 2: Parâmetros *in silico* de acordo com a regra dos 5 de Lipinski e Veber, como também parâmetros de previsão do perfil de absorção por membranas para os compostos

Composto	LogP	nHa	nHb	MM	TPSA	NLR	LogS	GI	BBB
INH	-1,02	4	2	137,14	68,01	1	-0,56	Alta	-
TZA	1,24	5	3	236,30	111,60	3	-1,91	Alta	-
SEMI1	2,72	4	2	219,29	67,48	3	-3,07	Alta	+
SEMI2	0,21	7	2	208,18	113,30	3	-1,65	Alta	-
SEMI3	0,79	5	3	179,18	87,71	2	-1,81	Alta	-
SEMI4	1,74	4	2	197,62	67,48	2	-2,54	Alta	+
SEMI5	1,24	4	2	181,17	67,48	2	-2,11	Alta	+
SEMI6	0,32	5	2	153,14	80,62	2	-1,58	Alta	-
SEMI7	1,07	4	2	177,21	67,48	2	-1,30	Alta	-
SEMI8	-0,24	6	3	204,19	96,58	1	-1,65	Alta	-
TSC1	3,11	3	2	235,35	82,50	3	-3,54	Alta	-
TSC2	0,61	6	2	224,24	128,32	3	-2,13	Alta	-
TSC3	1,19	4	3	195,25	102,73	2	-2,14	Alta	-
TSC4	2,14	3	2	213,69	82,50	2	-2,23	Alta	-
TSC5	1,63	3	2	197,24	82,50	2	-2,44	Alta	-
TSC6	0,72	4	2	169,21	95,64	2	-2,06	Alta	-
TSC7	1,47	3	2	193,27	82,50	2	-1,77	Alta	-
TSC8	0,16	5	3	220,26	111,60	1	-2,13	Alta	-

Fonte: Osiris Property Explorer® e SwissADME®

Nota: INH = isoniazida, TZA = tioacetazona. GI = absorção gastrointestinal, BBB = membrana hematoencefálica.

Quanto a permeação por membrana hematoencefálica (BBB), é fato que é um importante componente da rede de comunicação que conecta o sistema nervoso central e os tecidos periféricos, além disso funciona como uma interface que limita e regula a troca de substâncias entre sangue e o sistema nervoso central (BANKS,

2010). Os valores encontrados mostram que as substâncias podem ultrapassar a membrana gastrointestinal, mas em sua grande maioria não permeiam a barreira hematoencefálica, fato que coincide com os dados dos fármacos padrões, tornando assim uma predição positiva para as moléculas.

Parâmetros como *Drugscore*, *Druglikeness* e Toxicidade (Tox) também foram considerados. A avaliação *in silico* da ação toxicológica dos compostos neste *software* inclui a predição de efeitos mutagênicos (M), tumorogênicos (T), irritantes (I) e os atrelados ao sistema reprodutor (E.R.).

Tabela 3: Parâmetros *in silico* sobre *drugscore*, *druglikeness* e ação toxicológica

Composto	Drugscore	Druglikeness	Tox.
INH	0,06	-5,06	M**, T**, I**, E.R.**
TZA	0,96	4,23	-
SEMI1	0,79	0,78	-
SEMI2	0,49	-6,01	-
SEMI3	0,98	4,45	-
SEMI4	0,97	5,13	-
SEMI5	0,96	3,43	-
SEMI6	0,59	4,05	M**
SEMI7	0,96	3,34	-
SEMI8	0,98	6,17	-
TSC1	0,56	-1,22	-
TSC2	0,49	-8,08	-
TSC3	0,94	2,45	-
TSC4	0,94	3,30	-
TSC5	0,88	1,53	-
TSC6	0,93	2,13	-
TSC7	0,71	1,61	M*
TSC8	0,98	4,89	-

Fonte: Osiris Property Explorer®
Nota: *médio risco; **alto risco

Os valores positivos de *drug-score* entre 0,1 e 1,0 indicam que a molécula contém frequentemente grupos farmacofóricos que são usualmente encontrados em fármacos. O valor de *drug-score* combina registros de *drug-likeness*, lipofilicidade, solubilidade, massa molecular e riscos de toxicidade em um único valor que pode ser

empregado para prever o potencial dos compostos a se tornarem candidatos a novos fármacos. Já valores positivos para *drug-likeness* apontam que o composto contém predominantemente fragmentos que são muitas vezes presentes na maioria dos fármacos existentes no mercado. Os resultados para as moléculas apresentaram valores de *drug-score* entre 0,49 a 0,98, e valores em sua grande parte positivos para *drug-likeness* variando de 0,78 a 6,17 para as SEMI e de -1,22 a 4,89 para as TSC, com exceção da SEMI2 e TSC2 ambas substituídas com 4-hidroxibenzaldeído apresentaram valores abaixo de -6,0 para *drug-likeness*.

6.1.2 Previsão de atividade farmacológica

No *software* PASS Online[®], foram realizadas as possíveis previsões da atividade farmacológica para os compostos, por meio de uma análise da probabilidade de ser uma molécula ativa (Pa) ou inativa (Pi) em uma escala de 0 a 1. Na tabela 4 é possível observar as previsões das semicarbazonas para atividade antituberculose e antimicobacteriana.

Analisando o Pa para atividade antituberculose dos fármacos padrões INH (Pa: 0,810) e TZA (Pa: 0,923), as moléculas estudadas que apresentaram maior potencial farmacológico para tal ação são respectivamente as estruturas TSC2 (0,941), TSC6 (0,940), TSC4 (0,883), SEMI2 (0,724), SEMI6 (0,717) e SEMI3 (0,626). Em comparação com os fármacos padrões, observa-se que as moléculas TSC se aproximaram mais do Pa da INH e da TZA, na qual todas obtiveram Pa superiores a 0,700. Com destaque para a TSC2 que ultrapassou a Pa da TZA.

Em relação ao Pi, as moléculas da classe SEMI apresentaram uma média de 0,011 e as TSC de 0,002 para antituberculose, e para antimicobacteriana as SEMI apresentaram média de 0,017, já as TSC apresentaram valores médios de 0,003. Com base nesses dados podemos concluir que esses valores estão baixos, principalmente para as TSC, o que é o ideal para diminuir a possibilidade da molécula ser inativa.

Tabela 4: Predições de atividade farmacológica para as SEMI (1-8)

Composto	Atividade	Pa	Pi
INH	Antituberculose	0,810	0,003
INH	Antimicobacteriano	0,798	0,004
TZA	Antituberculose	0,923	0,002
TZA	Antimicobacteriano	0,906	0,002
SEMI1	Antituberculose	0,518	0,010
SEMI1	Antimicobacteriano	0,482	0,022
SEMI2	Antituberculose	0,724	0,004
SEMI2	Antimicobacteriano	0,685	0,005
SEMI3	Antituberculose	0,626	0,005
SEMI3	Antimicobacteriano	0,591	0,010
SEMI4	Antituberculose	0,567	0,007
SEMI4	Antimicobacteriano	0,559	0,013
SEMI5	Antituberculose	0,498	0,021
SEMI5	Antimicobacteriano	0,500	0,019
SEMI6	Antituberculose	0,717	0,004
SEMI6	Antimicobacteriano	0,701	0,005
SEMI7	Antituberculose	0,445	0,020
SEMI7	Antimicobacteriano	0,405	0,038
SEMI8	Antituberculose	0,542	0,019
SEMI8	Antimicobacteriano	0,487	0,021

Fonte: Pass Online®

As previsões de atividade antituberculose e antimicobacteriana para as tiossemicarbazona estão previstas na Tabela 5.

Tabela 5: Predições de atividade farmacológica para as TSC (1-8) (continua)

Composto	Atividade	Pa	Pi
INH	Antituberculose	0,810	0,003
INH	Antimicobacteriano	0,798	0,004
TZA	Antituberculose	0,923	0,002
TZA	Antimicobacteriano	0,906	0,002
TSC1	Antituberculose	0,844	0,003
TSC1	Antimicobacteriano	0,843	0,003
TSC2	Antituberculose	0,941	0,002
TSC2	Antimicobacteriano	0,919	0,002

Composto	Atividade	Pa	Pi
TSC3	Antituberculose	0,912	0,002
TSC3	Antimicobacteriano	0,889	0,003
TSC4	Antituberculose	0,883	0,002
TSC4	Antimicobacteriano	0,880	0,003
TSC5	Antimicobacteriano	0,854	0,003
TSC5	Antituberculose	0,830	0,003
TSC6	Antituberculose	0,940	0,002
TSC6	Antimicobacteriano	0,922	0,002
TSC7	Antituberculose	0,799	0,003
TSC7	Antimicobacteriano	0,798	0,004
TSC8	Antituberculose	0,866	0,002
TSC8	Antimicobacteriano	0,848	0,003

Fonte: Pass Online®

6.1.3 Previsão de bioatividade

As pontuações de bioatividade das semicarbazonas e tiossemicarbazonas foram previstas pelo *software* Molinspiration® e estão apresentadas na Tabela 6. Em geral, uma molécula com pontuação de bioatividade maior que 0,00 tem maior probabilidade de exibir atividades biológicas significativas, enquanto valores de -0,50 a 0,00 devem ser moderadamente ativas e pontuações de bioatividade menores que -0,50, é provável que ela seja inativa. Os parâmetros analisados são receptores acoplados à proteína G (GPCR), moduladores de canais iônicos (ICM), inibidores da quinase (KI), ligantes de receptores nucleares (NRL), inibidores de protease (PI) e inibidores de outras enzimas (EI).

Tabela 6: Previsões *in silico* de bioatividade para as semicarbazonas e tiossemicarbazonas

(continua)

Composto	GPCR	ICM	KI	NRL	PI	EI
INH	-1.39	-1.45	-1.05	-2.32	-1.23	-0.66
TZA	-1.45	-1.26	-1.23	-1.81	-1.08	-0.68
SEMI1	-0.69	-0.53	-0.80	-1.10	-0.86	-0.37
SEMI2	-1.13	-0.80	-1.17	-1.61	-1.23	-0.66

Tabela 6: Previsões in silico de bioatividade para as semicarbazonas e tiossemicarbazonas							(conclusão)
Composto	GPCR	ICM	KI	NRL	PI	EI	
SEMI3	-1.07	-0.82	-1.15	-1.57	-1.25	-0.55	
SEMI4	-1.15	-0.91	-1.26	-1.88	-1.35	-0.71	
SEMI5	-1.13	-0.93	-1.17	-1.79	-1.32	-0.68	
SEMI6	-1.82	-1.34	-2.04	-2.91	-1.91	-1.20	
SEMI7	-1.14	-0.90	-1.50	-1.64	-1.07	-0.56	
SEMI8	-0.93	-0.86	-0.44	-1.97	-1.35	-0.39	
TSC1	-1.25	-0.96	-1,14	-1.37	-0.98	-0.49	
TSC2	-1.74	-1.26	-1.54	-1.90	-1.36	-0.78	
TSC3	-1.76	-1.34	-1.57	-1.89	-1.40	-0.69	
TSC4	-1.85	-1.43	-1.69	-2.20	-1.51	-0.85	
TSC5	-1.83	-1.45	-1.59	-2.12	-1.47	-0.82	
TSC6	-2.64	1.96	-2.54	-3.29	-2.08	-1.36	
TSC7	-1.83	-1.42	-1.93	-1.96	-1.22	-0.70	
TSC8	-1.42	-1.31	-0.84	-2.28	-1.51	-0.64	

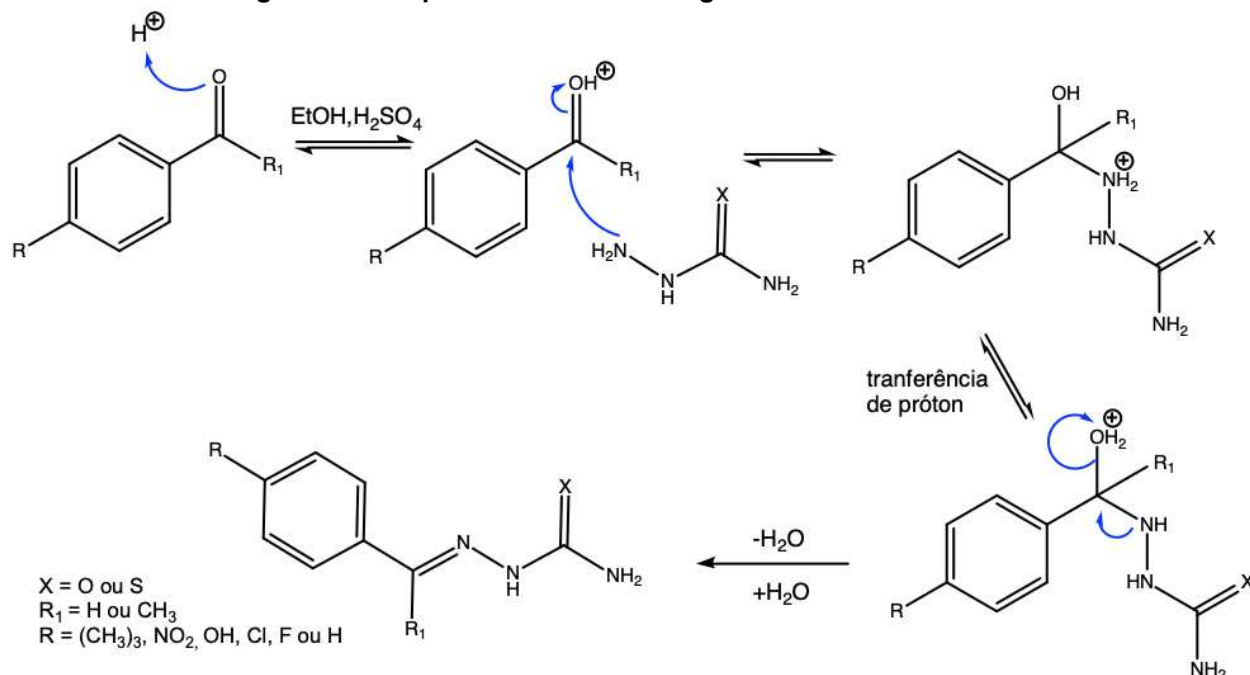
Fonte: Molinspiration®

Em meio às diversas famílias de receptores de membrana, os receptores acoplados à proteína G compõem a maior família de proteínas codificadas pelo genoma humano. Além de participarem em vários processos fisiológicos essenciais para a vida humana, estas proteínas são alvos terapêuticos para mais de 50% dos fármacos vendidos mundialmente (HOELZ *et. al.*, 2013). Todos os compostos apresentaram pontuações abaixo de zero nas categorias, o que indica uma menor probabilidade de uma molécula ser ativa, como também de ter os receptores acoplados à proteína G, entretanto resultado semelhante foi apresentado para os fármacos padrões, indicando assim uma predição de certo modo positiva para as substâncias deste trabalho.

6.2 SÍNTESE

As semicarbazonas e tiossemicarbazonas foram resultado de uma reação de condensação entre aldeídos e cetonas aromáticas em presença de semicarbazida cloridrato ou tiossemicarbazida em meio alcoólico utilizando catalisador ácido (TENÓRIO *et al.*, 2005).

Figura 16 – Esquema de mecanismo geral de síntese das SEMI e TSC



Fonte: Autoria Própria.

O mecanismo reacional (Figura 16) inicia-se com a protonação do átomo oxigênio da carbonila que origina o intermediário íon oxônio, em seguida ocorre o ataque nucleofílico do nitrogênio N-1 da semicarbazida ou tiossemicarbazida, que perde uma molécula de água e em seguida, após neutralização, forma-se a SEMI ou TSC (SOLOMONS; FHYHLE, 2002).

Os produtos (Figura 17) foram obtidos após lavagem dos precipitados com água destilada e secagem, os rendimentos reacionais variaram de 30,8% a 83,6% para as semicarbazonas e de 26,2% a 89,4% para as tiossemicarbazonas. O ponto de fusão dos compostos foi determinado com taxa de aquecimento próxima à faixa de fusão controlada em $2,0 \text{ } ^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. A partir das faixas iniciais e finais de temperatura de fusão foi obtida a média aritmética para cada composto sintetizado e elas estão apresentadas na Tabela 7. Na mesma tabela também estão dispostos os respectivos rendimentos e colorações dos compostos.

Tabela 7: Temperaturas de ponto de fusão, aspectos físicos e rendimentos para as SEMI(1-8) e TSC(1-8)

Composto	Aspecto físico	Faixa de fusão (°C)	Rendimento (%)	Composto	Aspecto físico	Faixa de fusão (°C)	Rendimento (%)
SEMI1	Sólido branco	204.8-205.7	83.6	TSC1	Sólido branco	155.2-156.0	68.9
SEMI2	Sólido amarelo	210.4-211.8	75.2	TSC2	Sólido amarelo	232.7-234.2	62.2
SEMI3	Sólido amarelo	217.1-218.0	56.9	TSC3	Sólido branco	242.2-242.9	26.2
SEMI4	Sólido branco	239.2-239.9	64.4	TSC4	Sólido branco	216.1-216.7	63.9
SEMI5	Sólido branco	228.8-229.4	60.1	TSC5	Sólido branco	195.6-196.8	79.0
SEMI6	Sólido marrom	194.2-195.9	30.8	TSC6	Sólido marrom	148.9-150.0	28.7
SEMI7	Sólido branco	206.7-207.6	45.0	TSC7	Sólido branco	117.8-118.5	89.4
SEMI8	Sólido amarelo	279.2-280.4	61.1	TSC8	Sólido amarelo	257.8-258.9	59.5

Figura 17 – Amostras sintetizadas e armazenadas em ependorfs



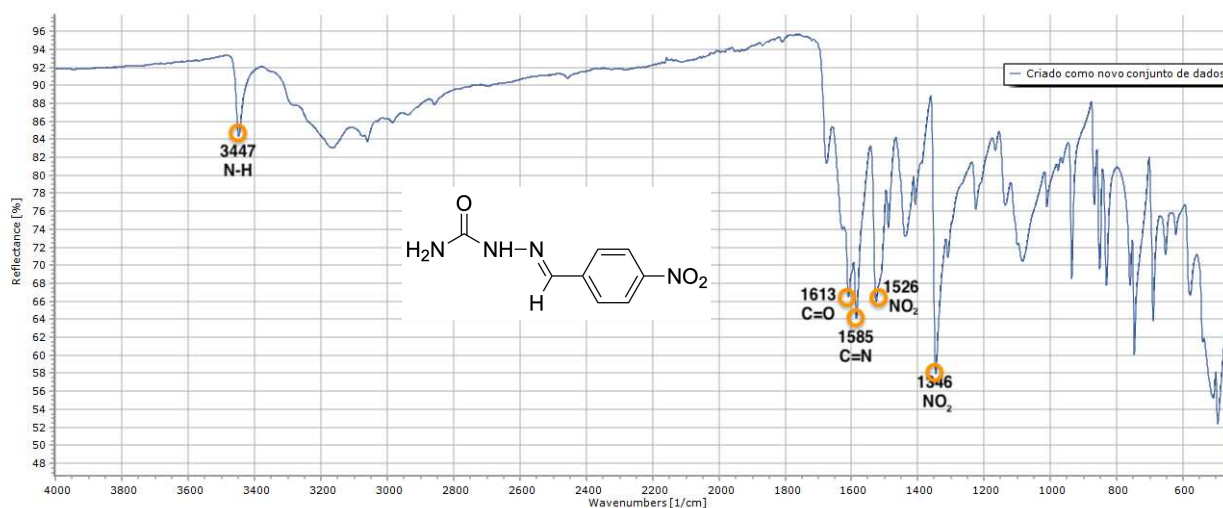
Fonte: Autoria Própria.

6.3 ANÁLISE ESPECTRAL E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL

As semicarbazonas (SEMI1-8) e tiosemicarbazonas (TSC1-8), sintetizadas foram caracterizados por técnicas de absorção no infravermelho (IV), e técnicas de ressonância magnética nuclear (RMN) unidimensionais (^1H e ^{13}C).

No espectro de IV para a SEMI2 (derivada do 4-nitrobenzaldeído) (Figura 18), destacam-se bandas de absorção características dos estiramentos da ligação N-H em 3447 cm^{-1} , C=O em 1613 cm^{-1} e de C=N em 1585 cm^{-1} . Para esse derivado observam-se também bandas típicas de estiramento do grupo nitro em 1526 e 1346 cm^{-1} .

Figura 18 – Espectro IV do 2-(4-nitrobenzaldeído)hidrazina-1-carboxamida (SEMI2)



Fonte: SpectraGryph®

No espectro de RMN de ^1H (Figura 19), ainda para a SEMI2, verificam-se dois simples em 10,62 e 6,69 ppm com integração para 1 e 2 hidrogênios, respectivamente, atribuídos aos hidrogênios ligados aos nitrogênios N2 e N4. O sinal do hidrogênio imínico foi verificado como um simpleto em 7,92 ppm. Os dupletos em 8,18 e 8,01 ppm são atribuídos aos hidrogênios do sistema aromático *para*-substituído da unidade 4-nitrofenil. No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 20) destacam-se os sinais em 157,1 e 141,9 correspondentes aos sinais do carbono carbonílico e imínico, respectivamente e os sinais dos carbonos aromáticos do sistema *para*-substituído entre 147,7 e 124,4 ppm

Figura 19 – Espectro de RMN ^1H do 2-(4-nitrobenzaldeído)hidrazina-1-carboxamida (SEMI2)

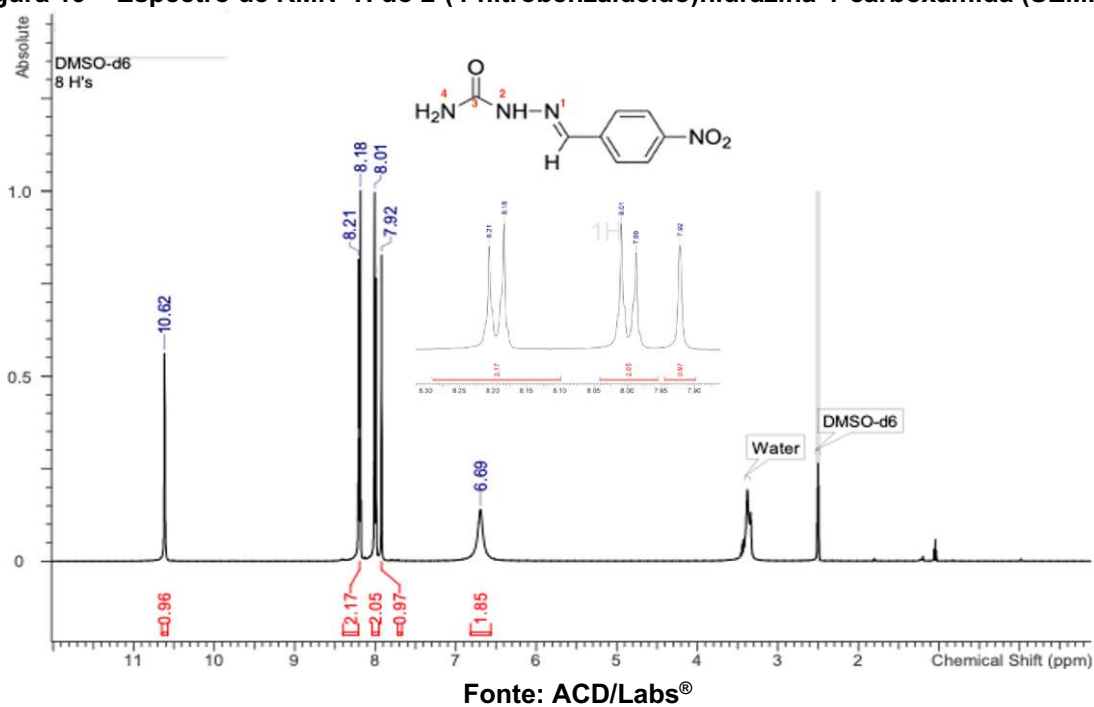
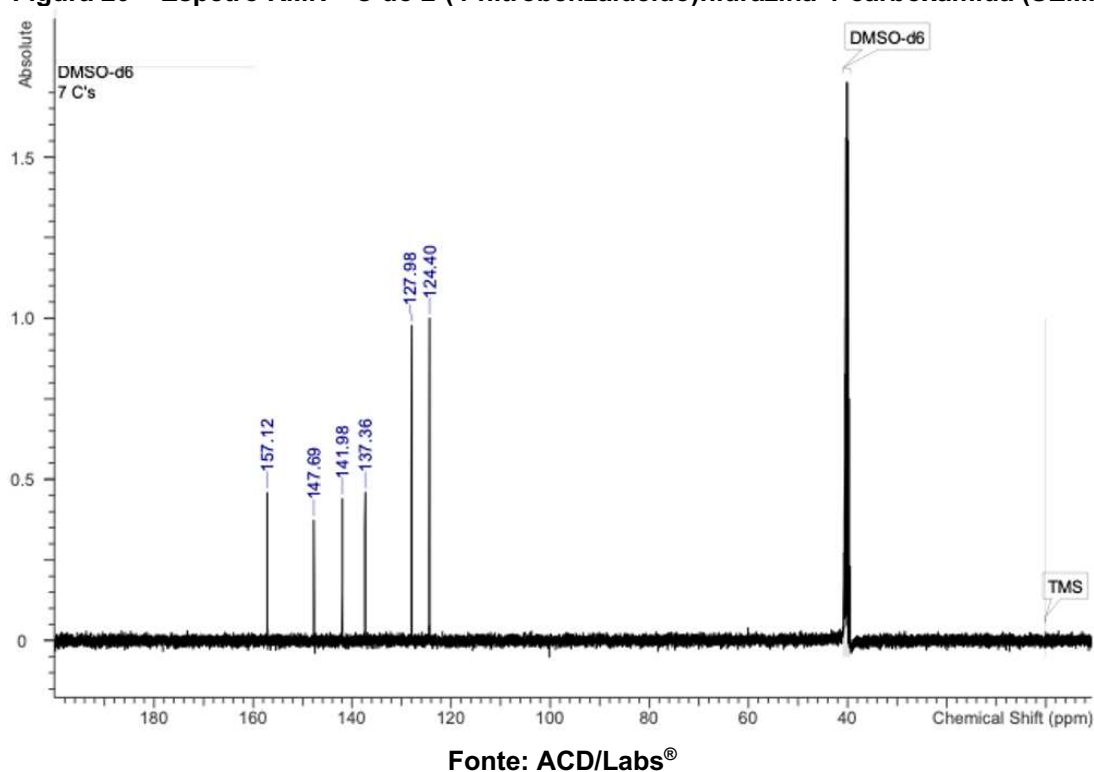
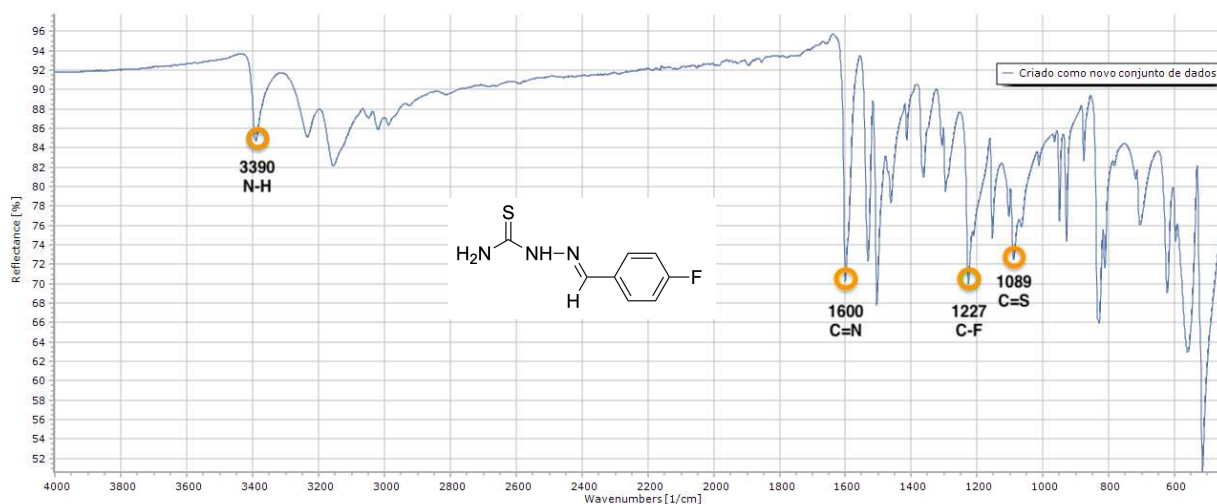


Figura 20 – Espectro RMN ^{13}C do 2-(4-nitrobenzaldeído)hidrazina-1-carboxamida (SEMI2)



No espectro de IV para a TSC5 (Figura 21) (derivada do 4-nitrobenaldeído), destacam-se bandas de absorção características dos estiramentos da ligação N-H em 3390 cm^{-1} , C=N em 1600 cm^{-1} e C=S em 1089 cm^{-1} . Para esse derivado observam-se também a banda típica de estiramento da ligação C-F destacada em 1227 cm^{-1} .

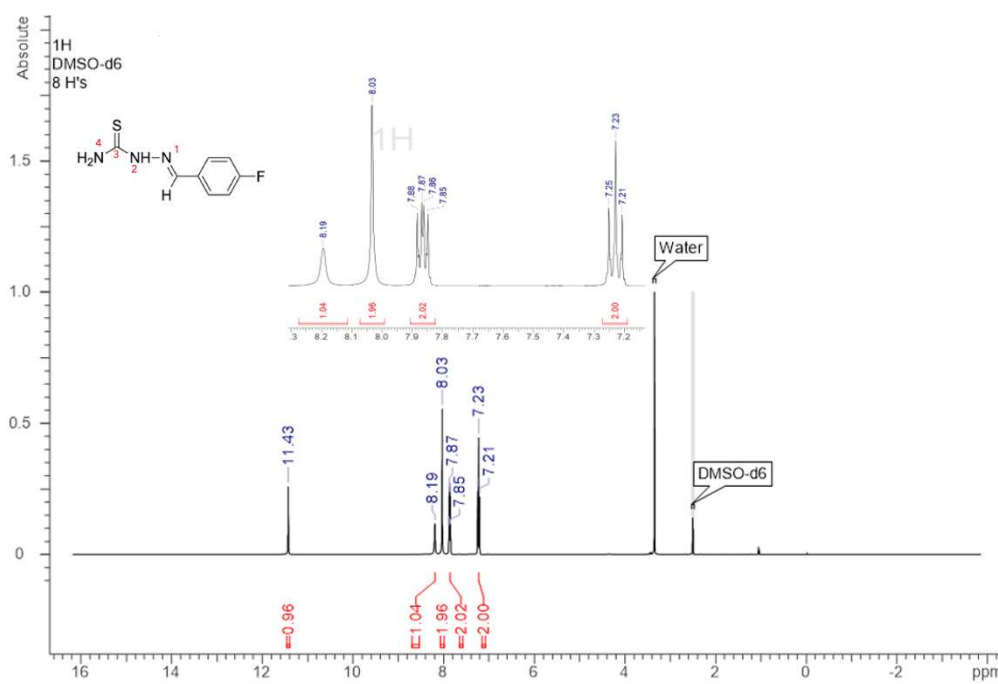
Figura 21 – Espectro IV do 2-(4-fluorobenzaldeído)hidrazina-1-carbotioamida (TSC5)



Fonte: SpectraGryph®

No espectro de RMN de ^1H para a TSC5 (Figura 22), verificam-se dois simples em 11,43 e 8,03 ppm com integração para 1 e 2 hidrogênios, respectivamente, atribuídos aos hidrogênios ligados ao N2 e N4. O sinal do hidrogênio imínico foi verificado como um simpleto em 8,19 ppm. O multiplete e o tripleto, respectivamente, em 7,87 e 7,23 ppm são atribuídos aos hidrogênios do sistema aromático.

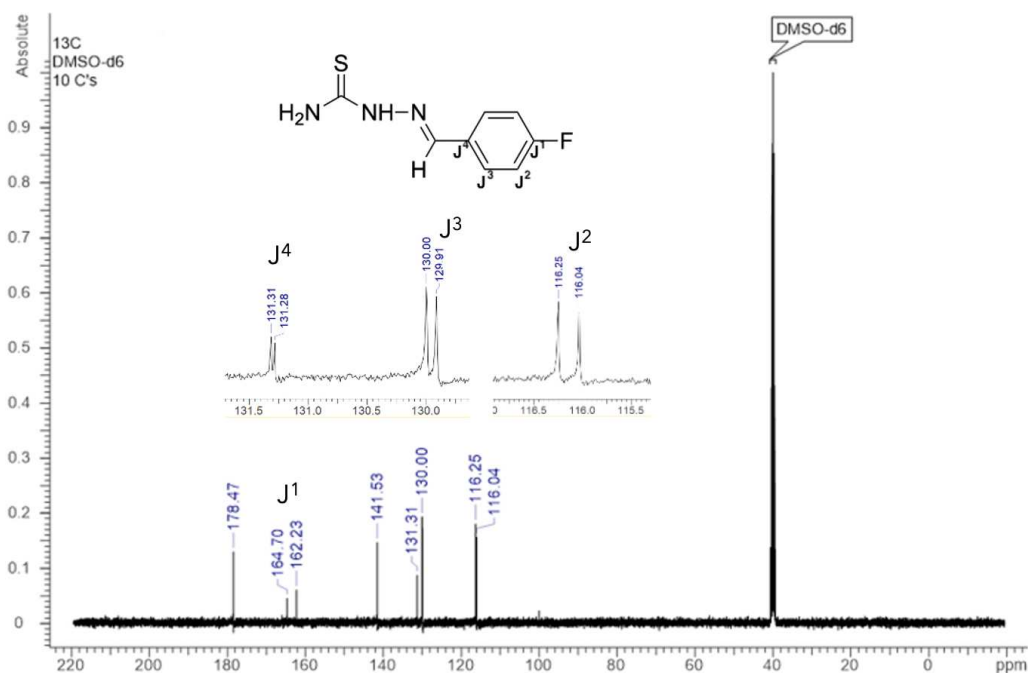
Figura 22 – Espectro RMN ^1H do 2-(4-fluorobenzaldeído)hidrazina-1-carbotioamida (TSC5)



Fonte: ACD/Labs®

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 23) destacam-se os sinais em 178,0 ppm correspondente ao carbono tioamida e 141,1 ao carbono imínico. Bem como, verificam-se os sinais correspondentes aos carbonos do sistema aromático *para*-substituído entre 163,6 e 116,1 ppm. Esses sinais apresentaram-se como dupletos devido ao acoplamento C-F e aqueles em razão do efeito do flúor no anel aromático, resultando em constantes de acoplamento de ordens $J_1(\text{C } ipso) = 248 \text{ Hz}$, $J_2 = 21,3 \text{ Hz}$, $J_3 = 8,1 \text{ Hz}$ e $J_4 = 2,9 \text{ Hz}$, que como pode ser observado ocasiona em uma diminuição das distâncias de acoplamento.

Figura 23 – Espectro RMN ^{13}C do 2-(4-fluorobenzaldeído)hidrazina-1-carboxamida (TSC5)



Fonte: ACD/Labs®

Os dados dos demais derivados sintéticos (SEMI e TSC) estão listados abaixo, como também os espectros de infravermelho e RMN encontram-se nos apêndices A e B, respectivamente, deste trabalho.

2-(4-(terc-butil)-benzaldeído)hidrazina-1-carboxamida (SEMI1) $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}$: IV (ATR) – 3458-3294 (NH), 2955 (CH_3), 1646 ($\text{C}=\text{O}$), 1597 ($\text{C}=\text{N}$), 1352 (CH_3). RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ – 10,19 (s, 1H, NH), 7,81 (s, 1H), 7,62 (d, 2H, $J = 8$ Hz), 7,39 (d, 2H, $J = 8$ Hz), 6,44 (br s, 2H, NH_2), 1,27 (s, 9H, CH_3). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ - 158,1 ($\text{C}=\text{O}$), 152,9, 140,6 ($\text{C}=\text{N}$), 133,4, 127,6, 126,6, 35,7, 32,3 (CH_3).

2-(4-nitrobenzaldeído)hidrazina-1-carboxamida (SEMI2) $\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_3$: IV (ATR) – 3447 (NH), 3165 (CH), 1613 ($\text{C}=\text{O}$), 1585 ($\text{C}=\text{N}$), 1526 e 1346 (NO_2). RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ – 10,62 (s, 1H, NH), 8,18 (d, 2H, $J = 12$ Hz), 8,01 (d, 2H, $J = 8$ Hz), 7,92 (s, 1H), 6,69 (br s, 2H, NH_2). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ - 157,1 ($\text{C}=\text{O}$), 147,7, 141,9 ($\text{C}=\text{N}$), 137,4, 127,9, 124,4.

2-(4-hidroxibenzaldeído)hidrazina-1-carboxamida (SEMI3) $C_8H_9N_3O_2$: IV (ATR) – 3472 (NH), 3257-3020 (OH), 1681 (C=O), 1581 (C=N).

2-(4-clorobenzaldeído)hidrazina-1-carboxamida (SEMI4) $C_8H_8ClN_3O$: IV (ATR) – 3461 (NH), 1665 (C=O), 1586 (C=N), 824 (CCI).

2-(4-fluorobenzaldeído)hidrazina-1-carboxamida (SEMI5) $C_8H_8FN_3O$: IV (ATR) – 3461 (NH), 3143 (CH), 1660 (C=O), 1588 (C=N), 1235 (CF). RMN 1H (400 MHz, DMSO-d6) δ – 10,26 (s, 1H, NH), 7,83 (s, 1H), 7,78 (m, 2H, J = 8 Hz), 7,21 (t, 2H, J = 8 Hz), 6,52 (br s, 2H, NH₂). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d6) δ - 162,0 (C-F, J₁ = 246,5 Hz), 157,1 (C=O), 138,4 (C=N), 131,7 (J⁴ = 2,9 Hz), 128,9 (J³ = 8,1 Hz), 115,9 (J² = 22,0 Hz).

2-(2-furaldeído)hidrazina-1-carboxamida (SEMI6) $C_6H_7N_3O_2$: IV (ATR) – 3455 (NH), 3152 (CH), 1654 (C=O), 1600 (C=N), 740 (Furano).

2-(1-feniletilideno)hidrazina-1-carboxamida (SEMI7) $C_9H_{11}N_3O$: IV (ATR) – 3478 (NH), 3143 (CH), 1736 (C=O), 1581 (C=N), 1303, 756, 693.

2-(2-oxoindolin-3-ilideno)hidrazina-1-carboxamida (SEMI8) $C_9H_8N_4O_2$: IV (ATR) – 3468 (NH), 3130 (CH), 1699 (C=O), 1572 (C=N), 744.

2-(4-(terc-butil)-benzaldeído)hidrazina-1-carbotioamida (TSC1) $C_{12}H_{17}N_3S$: IV (ATR) – 3446 (NH), 2950 (CH₃), 1592 (C=N), 1288 (CH₃), 1107 (C=S). RMN 1H (400 MHz, DMSO-d6) δ – 11,39 (s, 1H, NH), 8,17 (br s, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,91 (br s, 1H), 7,70 (d, 2H, J = 8 Hz), 7,40 (d, 2H, J = 8 Hz), 1,27 (s, 9H, 3CH₃). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d6) δ - 178,5 (C=S), 153,3, 142,9 (C=N), 132,1, 127,8, 126,1, 35,2, 31,6 (3CH₃).

2-(4-nitrobenzaldeído)hidrazina-1-carbotioamida (TSC2) $C_8H_8N_4O_2S$: IV (ATR) – 3492 e 3364 (NH), 3145 (CH), 1577 (C=N), 1528 e 1337 (NO₂), 1099 (C=S). RMN 1H (400 MHz, DMSO-d6) δ – 11,71 (s, 1H, NH), 8,41 (s, 1H), 8,24 (t, J = 8 Hz, 3H), 8,11 (t, J =

8 Hz, 3H). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d6) δ - 178,5 (C=S), 147,6, 140,7 (C=N), 139,5, 128,2, 123,8.

2-(4-hidroxibenzaldeído)hidrazina-1-carbotioamida (TSC3) $\text{C}_8\text{H}_9\text{N}_3\text{OS}$: IV (ATR) – 3471 e 3359 (NH), 3183-3015 (OH), 1552 (C=N), 1165 (C=S).

2-(4-clorobenzaldeído)hidrazina-1-carbotioamida (TSC4) $\text{C}_8\text{H}_8\text{ClN}_3\text{S}$: IV (ATR) – 3436 e 3299 (NH), 1600 (C=N), 1089 (C=S), 813 (CCL).

2-(4-fluorobenzaldeído)hidrazina-1-carbotioamida (TSC5) $\text{C}_8\text{H}_8\text{FN}_3\text{S}$: IV (ATR) – 3390 e 3233 (NH), 3020 (CH), 1600 (C=N), 1227 (CF), 1089 (C=S). RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d6) δ – 11,43 (s, 1H, NH), 8,19 (br s, 1H), 8,03 (s, 2H, NH_2), 7,87 (m, $J = 4$ Hz, 2H), 7,23 (t, $J = 8$ Hz, 2H). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d6) δ - 178,0 (C=S), 164,2 (d, C-F, $J_1 = 248,0$ Hz), 141,1 (C=N), 131,3, (d, $J_4 = 2,9$ Hz), 130,0 (d, $J_3 = 8,1$ Hz), 116,2 (d, $J_2 = 21,3$ Hz).

2-(2-furaldeído)hidrazina-1-carbotioamida (TSC6) $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{S}$: IV (ATR) – 3411 (NH), 3138 (CH), 1609 (C=N), 1522 (Furano), 1059 (C=S), 755.

2-(1-feniletilideno)hidrazina-1-carbotioamida (TSC7) $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_3\text{S}$: IV (ATR) – 3406 (NH), 3165 (CH), 1584 (C=N), 1092 (C=S), 762, 687. RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d6) δ – 10,33 (br s, 1H, NH_2), 8,40 (br s, 1H), 8,01 (s, 3H), 7,48 (br s, 3H, CH_3), 3,82 (br s, 1H), 2,41 (q, $J = 4$ Hz, 3H, 3CH_3). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d6) δ - 180,2 (C=S), 149,3, 138,9 (C=N), 130,6, 129,6, 127,9, 15,3 (CH_3).

2-(2-oxoindolin-3-ilideno)hidrazina-1-carbotioamida (TSC8) $\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_4\text{OS}$: IV (ATR) – 3416 (NH), 3165 (CH), 1674 (C=O), 1609 (C=N), 1059 (C=S), 758.

6.4 ATIVIDADE BIOLÓGICA

As semicarbazonas (SEMI 2, 3 e 4) e tiossemicarbazonas (TSC 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8) sintetizadas foram submetidas ao ensaio biológico contra a cepa padrão

H₃₇Rv de *Mycobacterium tuberculosis*. A isoniazida (INH) foi utilizada como fármaco padrão no ensaio e apresentou MIC de 0,03 µg.mL⁻¹. A escolha da isoniazida se deu em razão da sua maior disponibilidade comercial, tendo em vista que no momento em que o ensaio foi realizado a tioacetazona estava sendo comercializada à valores inacessíveis.

De modo geral, as tiosemicarbazonas mostraram-se com maior capacidade de inibição do crescimento bacteriano em comparação às semicarbazonas, como mostra a Tabela 8. Todas as semicarbazonas testadas mostraram-se inativas com MIC maior que 250 µg.mL⁻¹.

Tabela 8: Concentração inibitória mínima (MIC) de tiosemicarbazonas semicarbazonas frente a *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv

Composto	Concentração inibitória mínima (µg.mL⁻¹)
INH	0,03
SEMI2	>250
SEMI3	>250
SEMI4	>250
TSC1	>250
TSC2	31,25
TSC3	15,6
TSC4	7,8
TSC5	15,6
TSC6	>250
TSC7	>250
TSC8	>250

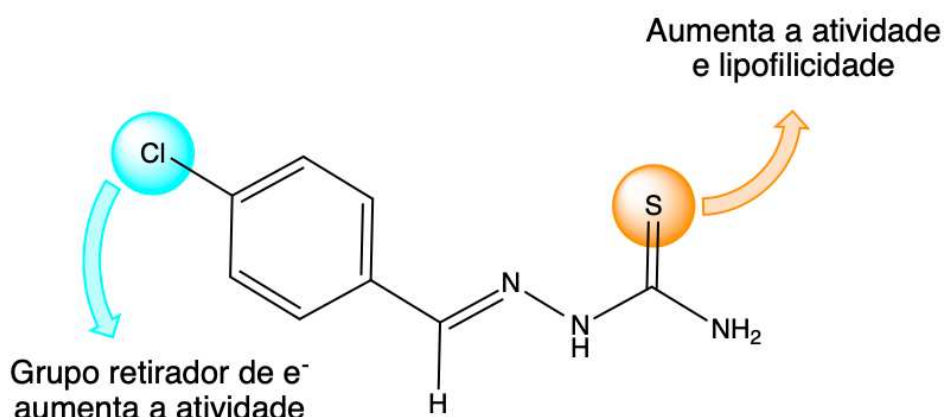
Fonte: Autoria Própria.

Entre as tiosemicarbazonas, os compostos TSC 02, TSC 03, TSC 04 e TSC 05 foram as mais ativas com MIC de 31.25, 15.6, 7.8 e 15.6 µg.mL⁻¹, respectivamente. As moléculas mais ativas apresentam substituintes halogênios (cloro e flúor) como grupos retiradores de elétrons na posição *para* do anel aromático, sendo a tiosemicarbazona contendo o cloro a substância mais ativas entre todas com uma

concentração de $7,8 \mu\text{g.mL}^{-1}$. A TSC 03 apresenta o grupo hidroxila como grupo doador de elétrons na posição para do anel benzênico que se destaca pela sua atividade frente a cepa padrão em uma concentração de $15,6 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Já a TSC 02, com o grupo nitro, fortemente retirador de elétrons, apresentou uma moderada atividade anti-TB, reduzindo o crescimento microbiano numa concentração de $31,25 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Já as tiossemicarbazonas contendo os grupos doadores de elétrons 4-terc-butila, fenil-metila e grupos heterocíclicos apresentaram-se inativas com MIC maior que $250 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Vale ressaltar que não é conhecido o mecanismo de ação e os alvos moleculares para as moléculas propostas.

Esses resultados mostram que o isosterismo existente entre o átomo de oxigênio do grupo semicarbazona e o átomo de enxofre das tiossemicarbazonas levaram as moléculas com a unidade tiossemicarbazona a apresentarem-se como grupamento farmacofórico mais destacado para a atividade anti-TB avaliada. Tendo em vista que todas as semicarbazonas testadas se mostraram inativas para a cepa padrão de *M. tuberculosis*.

Figura 24 – Relação estrutura-atividade do 2-(4-clorobenzaldeído)hidrazina-1-carbotioamida (TSC4)



Fonte: Autoria Própria.

Além disso, grupos retiradores de elétrons no anel aromático das tiossemicarbazonas promoveram uma melhor ação antituberculose, em especial para o derivado 4-cloro (Figura 24). Os resultados encontrados neste ensaio são similares a de outros autores como Souza *et al.* (2018), que reportaram atividade de uma série de tiossemicarbazonas derivadas do (-)-canfeno com valores de concentração inibitória mínima variando entre $3,9$ a $>250 \mu\text{g.mL}^{-1}$, corroborando com a possível atividade promissora das substâncias aqui estudadas.

7 CONCLUSÕES

As substâncias estudadas foram submetidas à ensaios *in silico* para previsão da biodisponibilidade oral, perfil de absorção por membranas, ação toxicológica, atividade farmacológica e de bioatividade, ao final observou-se que os parâmetros físico-químicos resultantes foram satisfatórios, o que sugere que a grande maioria das substâncias seriam bons candidatos a fármacos, tendo em vista que muitos resultados se aproximaram dos valores apresentados pelos fármacos padrões.

Todas as substâncias foram sintetizadas por metodologia de obtenção de simples aplicação e versatilidade, apresentando ao final rendimentos satisfatórios em sua grande maioria. A elucidação e caracterização das substâncias se deu por meio de espectros de IV para todos os compostos e espectros de RMN, que foram realizados apenas para sete substâncias, tendo em vista as medidas sanitárias que foram impostas durante a pandemia de COVID-19, que impossibilitaram o uso do espectrômetro. Apesar disso, todos os dados espectrais estudados foram assinalados com base na literatura.

Em relação à atividade antituberculose, ficou evidente que as tiossemicarbazonas se sobressaíram em relação as semicarbazonas testadas. As tiossemicarbazonas 4, 5, 3 e 2 foram as substâncias mais ativas contra a cepa padrão H₃₇Rv de *M. tuberculosis*, com MIC de 7,8, 15,6, 15,6 e 31,25 µg.mL⁻¹, respectivamente, enquanto todas as semicarbazonas testadas apresentaram-se inativas com MIC maior que 250 µg.mL⁻¹. Apesar de não ser conhecido o mecanismo de ação ou os alvos moleculares para as moléculas propostas, foi observado que quando inserido substituintes halogênicos, cloro e flúor, como grupos retiradores de elétrons na posição *para* do anel aromático que atrelado ao efeito lipofílico proporcionado pelo átomo de enxofre das tiossemicarbazonas resulta em uma melhora da atividade.

Desta forma, este trabalho contribuiu na investigação de novos candidatos a fármacos antituberculose, tendo em vista o bom perfil das atividades biológicas encontrado em boa parte das tiossemicarbazonas.

8 PERSPECTIVAS

Os resultados que foram apresentados neste trabalho somados a outras atividades futuras podem resultar em avanços ainda mais significativos na investigação de possíveis novos fármacos antituberculose. Tendo em vista, que a ausência de alguns espectros de RMN poderia ser solucionada, para que assim a análise espectral esteja completa para as substâncias. Em um futuro próximo, espera-se submeter a ensaios de atividade anti-*Mycobacterium tuberculosis* as demais substâncias que não foram testadas nesse trabalho em razão da COVID-19. Espera-se também submeter todos os compostos a ensaios de citotoxicidade em células VERO e macrófagos para a determinação do índice de seletividade. As moléculas mais promissoras também poderão ser submetidas à ensaios de sinergismo com fármacos utilizados atualmente no tratamento da tuberculose.

REFERÊNCIAS

ABATE, Getahun. *et al.* In vitro activity of thiacetazone on mycobacterial species belonging to the Mycobacterium tuberculosis complex. **Int J Tuberc Lung Dis**, v. 6 n.10, p. 933–935, 2002.

AMARAL, Antonia T.; MONTANARI, Carlos A. Química Medicinal: 25 anos de planejamento racional de fármacos. **Quim. Nova**, v. 25, n.1, p. 39-44, 2002.

BANERJEE, Debjane B. *et al.* Novel isatinyl hiosemicarbazones derivatives as potential molecule to combat HIV-TB co- infection. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, n.1, p.106-121, 2011.

BANKS, William A. Blood-brain barrier as a regulatory interface. **Forum Nutr.** V. 63, p.102-10, 2010.

BARREIRO, Eliezer. Estratégia de simplificação molecular no planejamento racional de fármacos: A descoberta de novo agente cardioativo. **Quim. Nova**, v. 25 n. 6B, p. 1172-1180, 2002.

BERALDO, Heloisa. Semicarbazonas e tiosemicarbazonas: o amplo perfil farmacológico e usos clínicos. **Quim. Nova**, v. 27, n. 3, p. 461-471, 2004.

BERNARDES, Júlio. Do genoma ao fator social, cientistas estudam formas de vencer a tuberculose resistente. Especial Epidemias, **Jornal da USP**. Disponível em <<https://jornal.usp.br/ciencias/ciencias-da-saude/quais-sao-os-caminhos-para-vencer-a-tuberculose-resistente/>>. Acesso em: 17 set. 2021.

BRANCO, Frederico S. C.; PINTO, Angelo C.; BOECHAT, Núbia. A Química Medicinal de Novas Moléculas em Fase Clínica para o Tratamento da Tuberculose. **Rev. Virt. De Química**, v. 4, n. 3, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico de Tuberculose**. Departamento de doenças de condições crônicas e infecções sexualmente transmissíveis - DCCI. Brasília, 2020. Disponível em <<http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2020/boletim-epidemiologico-de-tuberculose-2020>>. Acesso em: 23 set. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico de Tuberculose**. Departamento de doenças de condições crônicas e infecções sexualmente transmissíveis - DCCI. Brasília, 2021. Disponível em <https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2021/marco/24/boletim-tuberculose-2021_24.03>. Acesso em: 16 out. 2021.

BRASIL. Saúde. SUS oferece tratamento completo para tuberculose. Disponível em <<https://www.gov.br/pt-br/noticias/saude-e-vigilancia-sanitaria/2019/09/sus-oferece-tratamento-completo-para-tuberculose>>. Acesso em: 23 set. 2020.

CHEMDRAW[®]. Disponível em: <<https://chemdrawdirect.perkinelmer.cloud/js/sample/index.html>>. Acesso em: 20 de set. 2020.

CHRÉTIEN, Jacques. La tuberculose. Tuberculosis and HIV. The cursed duet. **Bull Int Union Tuberc Lung Dis**, Regards, Paris, 1990.

COELHO, Narcimário P. **Síntese de Tiossemicarbazonas Aldeídicas e Cetônicas Derivadas do (-)-canfeno**. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2011.

COLLINS, Frank M.; KLAYMAN, Daniel L.; MORRISON, Norman E. Correlations between Structure and Antimycobacterial Activity in a Series of 2-Acetylpyridine Thiosemicarbazones. **Journal of General Microbiology**, v.128, n. 6, p. 1349–1356, 1982.

CRUZ, José H. A. *et al.* Análise da atividade farmacológica e toxicológica do monoterpeno relacionado à Odontologia: estudo *in silico*. **Arch Health Invest**, v. 8, n. 11, 2019.

DOMAGK, Gerhard. *et al.* On a new class of compounds effective in vitro against tubercle bacilli. **Naturwissenschaften**, v. 33, p. 315, 1946.

DUCATI, Rodrigo G. *et al.* *The resumption of consumption: a review on tuberculosis*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n. 7, p. 697-714, 2006.

GONZALEZ, Júlio C. R.; GUERRA, Idania R. El sistema citocromo P450 y el metabolismo de xenobióticos: Cytochrome P450 system and xenobiotic metabolismo. **Rev. Cub. Farm.**, v. 48, n. 2, 2014.

GUENGERICH, F. P. Guengerich F.P. Cytochrome P450 research and *The Journal of Biological Chemistry*. **J. Biol. Chem**, v. 294, n. 5, 2019.

GUIDO, Rafael V. C.; ANDRICOPULO, Adriano D.; OLIVA, Glaucius. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **Estud. av.**, v. 24, n. 70, p. 81-99, 2010.

GÜZEL, Özlen; KARALI, Nilgün; SALMAN, Ayndin. Synthesis and antituberculosis activity of 5-methyl/trifluoromethoxy- 1H-indole-2,3-dione 3-thiosemicarbazone derivatives. **Bioorg Med Chem Lett**, v.16, p. 8976-8987, 2008.

HOELZ, Lucas V. B. *et al.* Receptores Acoplados à Proteína G. **Rev. Virtual Quim.**, v. 5, n. 5, 2013.

HOLLA, Bantwala S. *et al.* Synthesis of some new 2,4-disubstituted thiazoles as possible antibacterial and driti-inflammatory agents. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 38, p. 313-318, 2003.

HUSAIN, A. *et al.* Synthesis, molecular properties, toxicit and biological evaluation of some new substituted imidazolidine derivatives in search of potent anti-inflammatory agentes. **Saudi Pharm. Journ**, v. 24, p. 104-114, 2016.

JORGENSEN, William L.; DUFFY, Erin M. Prediction of drug solubility from Structure, **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, p. 355-366, 2002.

LIMA, Lídia M. Química medicinal moderna: desafios e contribuição brasileria. **Quim. Nova**, v. 30, n. 6, p. 1456-1468, 2007.

LIPINSKI, C. A. *et al.* Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Adv. Drug Delivery Rev.**, v.23, p. 3-25, 1997.

MANIKANDAN, P; NAGINI, S. Cytochrome P450 Structure, Function and Clinical Significance: A Review. **Current Drug Targets**, v. 19, n. 1, 2018.

MODA, Tiago L. **Desenvolvimento de modelos In Silico de propriedades ADME para triagem de novos candidatos a fármacos**. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Física de São Carlos na Universidade de São Paulo. 2007.

MOLINSPIRATION®. Disponível em: <<https://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>>. Acesso em: 5 set. 2021.

NASCIMENTO, Luciano F. DO; SANTOS, Elisabete P. DOS; AGUIAR, Alcino P. DE. Fotoprotetores Orgânicos: Pesquisa, Inovação e a Importância da Síntese Orgânica. **Rev. Virt. De Química**, v. 6, n. 2, p. 190-223, 2014.

NOGUEIRA, Antônio F. *et al.* Tuberculose: uma abordagem geral dos principais aspectos. **Rev Bras Farm.** v. 93, n. 1, 2012.

OPLETALOVÁ, Veronika; DOLEŽEL, Jan. Thiosemicarbazones and their antimycobacterial effects. **Ces Slov Farm.** v. 62, p. 78–83, 2013.

OSIRIS Property Explorer®. Disponível em: <http://www.cheminfo.org/Chemistry/Cheminformatics/Property_explorer/index.html>. Acesso em: 15 set. 2020.

PAI, Madhukar *et al.* Tuberculosis. **Nat Rev Dis Primers**, v. 2, 2016.

PANDOLFI, José R. *et al.* Tuberculose e o estudo molecular da sua epidemiologia. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl**, v. 28, n. 3, p. 251-257, 2007.

PALOMINO, Juan-Carlos *et al.* Resazurin Microtiter Assay Plate: Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in Mycobacterium tuberculosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 8, 2002.

PARK, Se-ho; BENDELAC, Albert. CD1-restricted T-cell responses and microbial infection. **Nat Ver**, v. 406, p. 789, 2000.

PASTEUR, Santolfi via Flickr. Disponível em: <<https://www.flickr.com/photos/sanofi-pasteur/5280405700/sizes/l/>>. Acesso em: 26 de nov. 2020.

PASS ONLINE®. Disponível em: <<http://way2drug.com/passonline/>>. Acesso em: 5 set. 2021.

PAVAN, Fernando R. *et al.* Thiosemicarbazones, semicarbazones, dithiocarbazates and hydrazide/hydrazones: Anti – Mycobacterium tuberculosis activity and cytotoxicity. **Eur J Med Chem**, v. 45, p. 1898-1905, 2010.

PAVIA, Donald L.; LAMPMAN, Gary M.; KRIZ, George S. **Introduction to spectroscopy**: A guide for students of organic chemistry. 3. ed. Thomson Learning, Inc. 2001.

RANE, Rajesh A. *et al.* Synthesis of novel 4-nitropyrrole-based semicarbazide and thiosemicarbazide hybrids with antimicrobial and anti-tubercular activity. **Bioorg Med Chem Lett**, v. 24, p. 3079-3083, 2014.

SEYDEL, Joachim K.; SCHAPER; Klaus-Jürgen; RÜSH-GERDES, Sabine. Experimental Drugs and Combination Therapy. **Immunobiol.** v. 191, 1994.

SHAIENDRA, Neelam B. *et al.* Synthesis, spectral studies and screening for amoebicidal activity of new palladium (II) complexes derived from thiophene-2-carboxaldehyde thiosemicarbazones. **Bioorg Med Chem Lett**, v. 13, p. 689, 2003.

SILVA, Alan P. DA. *et al.* Addition of hydrazine to natural terpene-based isothiocyanates derivatives: density functional theory investigation. **Tetrahedron Letters**, v. 52, n. 1, p. 62-64, 2011.

SILVA, Cleuza C. DA; ALMAGRO, V.; MARSALOLI, Anita J. A direct route to terpene isothiocyanates. **Tetrahedron Letters**, v. 34, n. 42, p. 6717-6720, 1993.

SILVA, Tiago F. Abordagens da química medicinal para o desenho de protótipos de fármacos. **Rev. Virt. De Química**, v. 5, n. 5, p. 921-933, 2013.

SOLOMONS, Graham T. W.; FRYHLE, Craig B. Química Orgânica. 7^a ed. Rio de Janeiro: **LTC**. v. 2, 2002.

SOUZA, Marcus V. N. DE. *et al.* Produtos naturais com atividade inibitória da Translocase I, uma promissora classe de compostos contra tuberculose. **Bol. Latinoam. Car. Plant. Méd. Arom.**, v. 9, n. 1, p. 1-12, 2010.

SOUZA, Marcus V. N. DE; VASCONCELOS, Thatyana R. A. Fármacos no combate à tuberculose: passado, presente e futuro. **Quím. Nova**, v. 28, n. 4, p. 678-682, 2005.

SOUZA, Mariana R. P. *et al.* Synthesis of novel (-)- Camphene-based thiosemicarbazones and evaluation of anti-Mycobacterium tuberculosis activity. **Natural Product Research**, 2018.

SWISSADME®. Disponível em: <<http://www.swissadme.ch>>. Acesso em: 5 set. 2021.

TARANTINO, Affonso B.; ROSEMBERG, José. **Tuberculose**: Doenças pulmonares. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.294-380, 2002.

TARASCONI, Pieralberto. *et al.* Synthesis, Spectroscopic Characterization and Biological Properties of New Natural Aldehydes Thiosemicarbazones. **Bioorg Med Chem**, v. 8, p. 157-162, 2000.

TEIXEIRA, João P. F. *et al.* Composição química de óleos essenciais de quinze genótipos de limão em duas épocas de colheita. **Citrus R&T**. Cordeirópolis, v. 34, n. 2, p. 65-74, 2013.

TENÓRIO, Rômulo P. *et al.* Tiossemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 1030-1037, 2005.

TRABULSI, Luiz B.; ALTERTHUM, Flavio. **Microbiologia**. 6 ed. São Paulo: Atheneu, 2015.

UNAIDS. Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS no Brasil. **Estatísticas**. Brasília, 2020. Disponível em <<http://unaid.org.br/estatisticas/>>. Acesso em: 23 set. 2020.

VANDRESEN, F. *et al.* Novel R-(+)-limonene-based thiosemicarbazones and their antitumor activity against human tumor cell lines. **Eur J Med Chem**. v. 79, p. 110-116, 2014.

WANTERBEEMD, H., GIFFORD, E. ADMET in silico modelling: Towards prediction paradise? **Nat. Rev. Drug Discov.**, v. 2, p. 192-204, 2003.

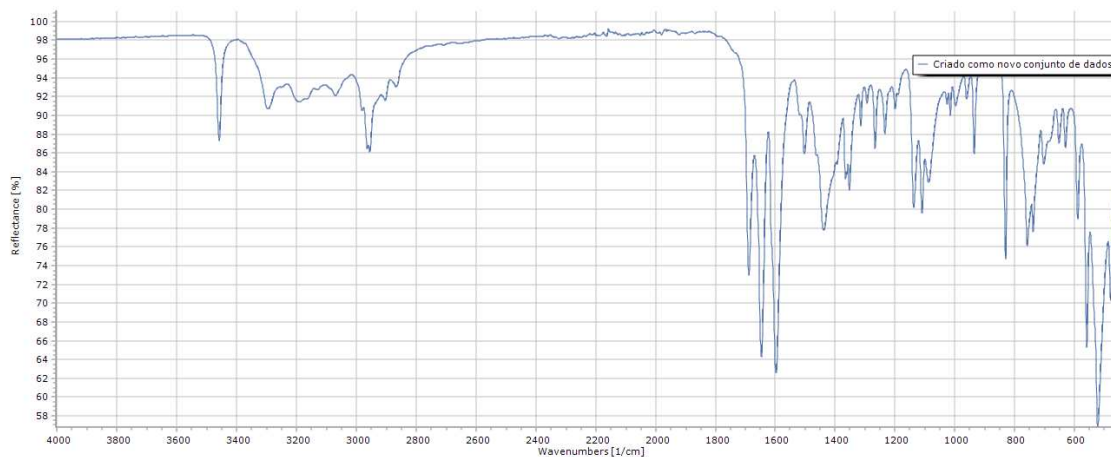
WHO, World Health Organization. **Global tuberculosis report 2020**. Genebra, 2020. Disponível em <<https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>>. Acesso em: 18 out. 2020.

WHO, World Health Organization. **Global tuberculosis report 2021**. Genebra, 2021. Disponível em <<https://www.who.int/publications/i/item/9789240037021>>. Acesso em: 16 out. 2021.

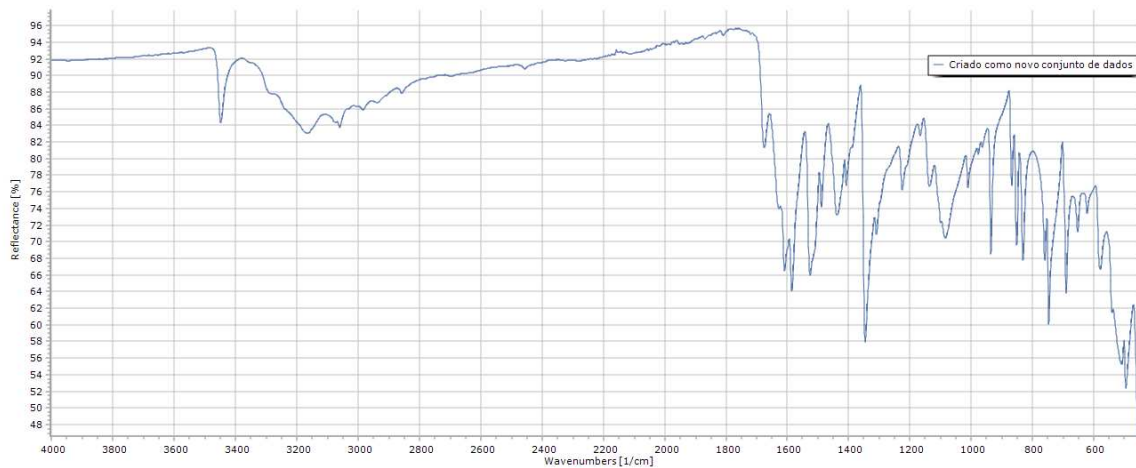
WILDNER, L. M. *et al.* Micobactérias: epidemiologia e diagnóstico. **Rev. Patologia Tropical.**, Goiás, v. 40, n. 3, p. 207-229, 2011.

YOUSEF, Tarek A. *et al.* In vitro and in vivo antitumor activity of some synthesized 4-(2-pyridyl)-3-Thiosemicarbazide derivatives. **International Journal of Medicine and Medical Sciences.** v. 3, n. 2, 2011.

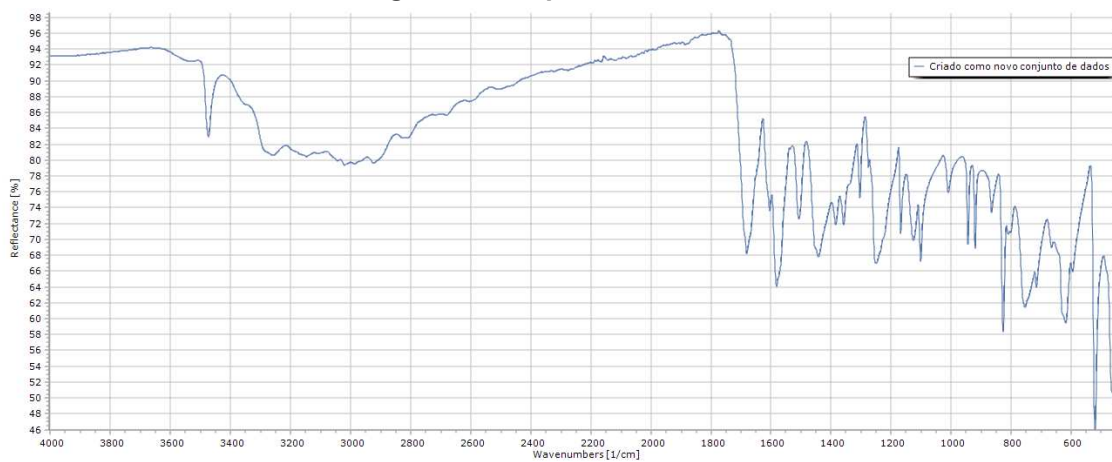
APÊNDICE A - Espectros vibracionais de infravermelho

Figura 25 – Espectro de IV da SEMI1

Fonte: SpectraGryph®

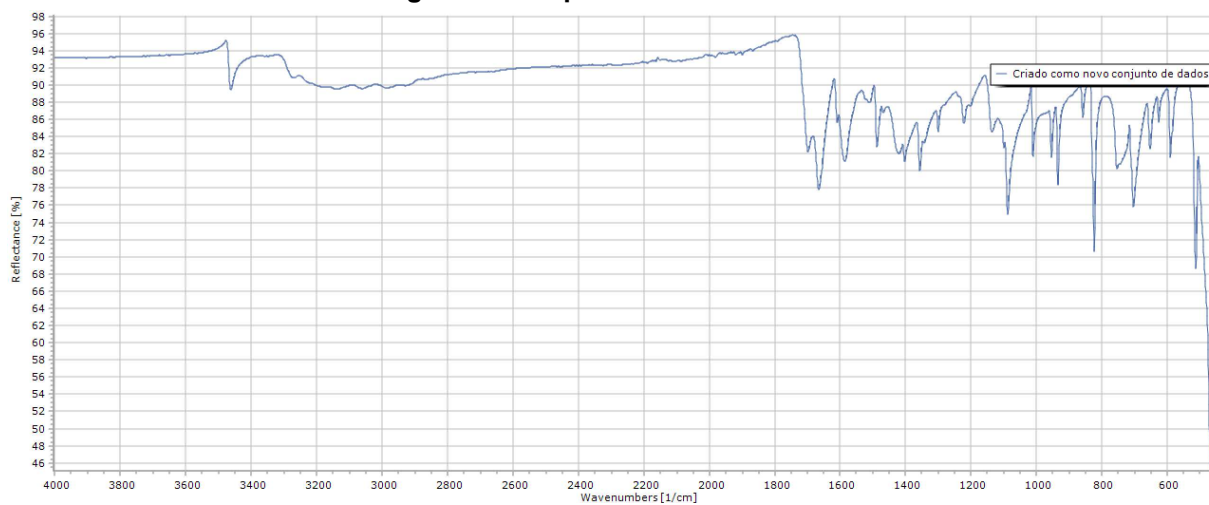
Figura 26 – Espectro de IV da SEMI2

Fonte: SpectraGryph®

Figura 27 – Espectro de IV da SEMI3

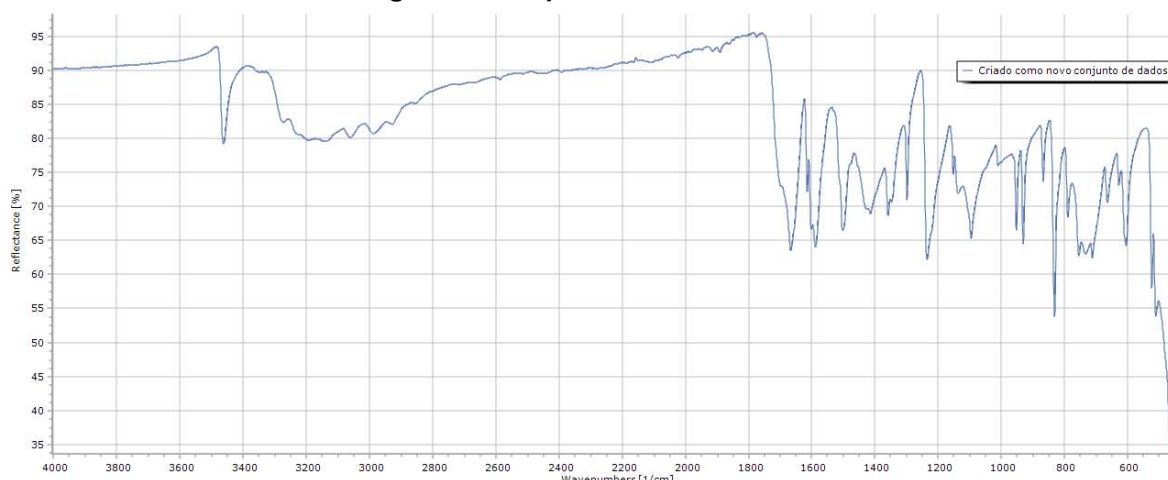
Fonte: SpectraGryph®

Figura 28 – Espectro de IV da SEMI4



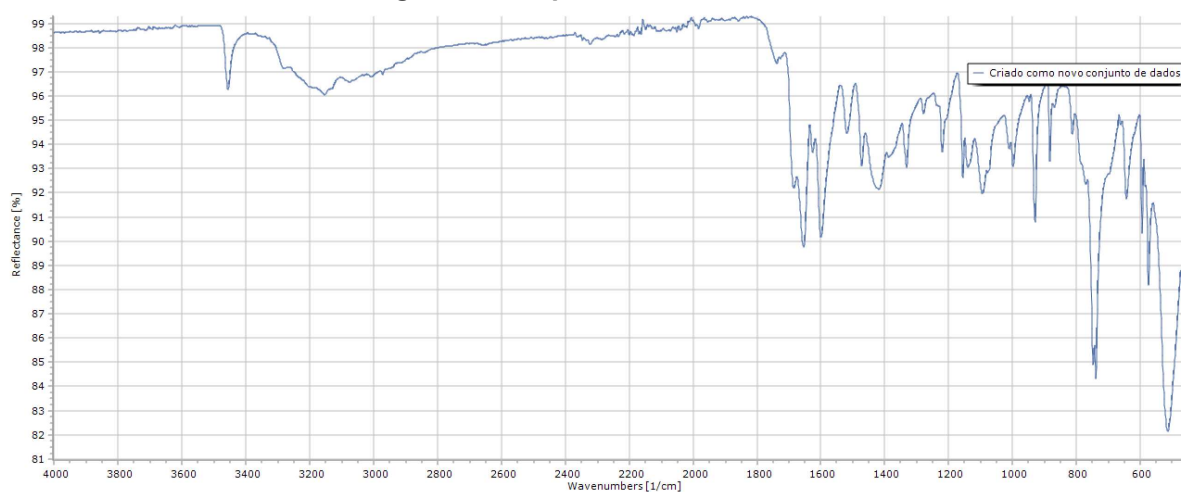
Fonte: SpectraGryph®

Figura 29 – Espectro de IV da SEMI5

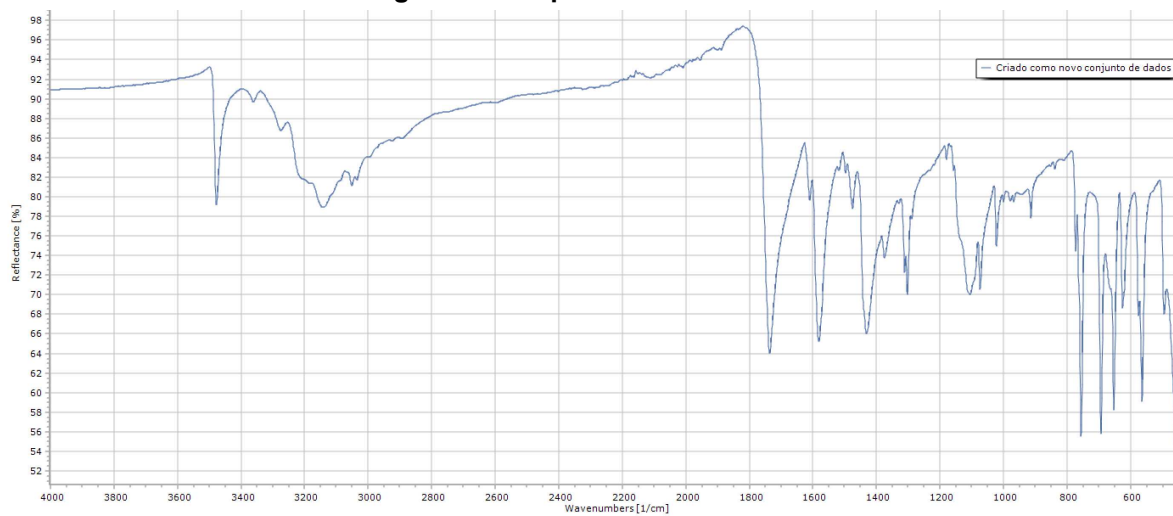


Fonte: SpectraGryph®

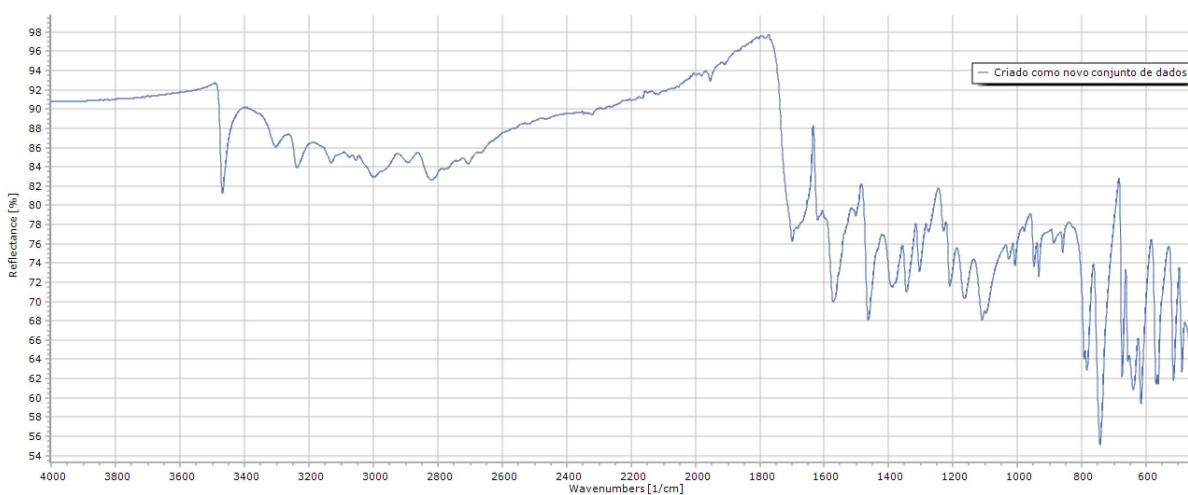
Figura 30 – Espectro de IV da SEMI6



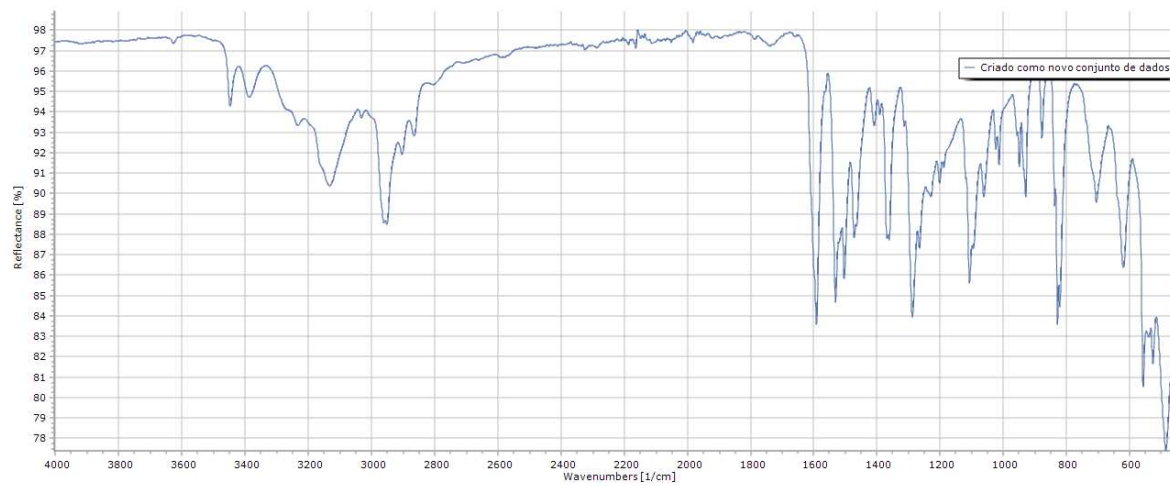
Fonte: SpectraGryph®

Figura 31 – Espectro de IV da SEMI7

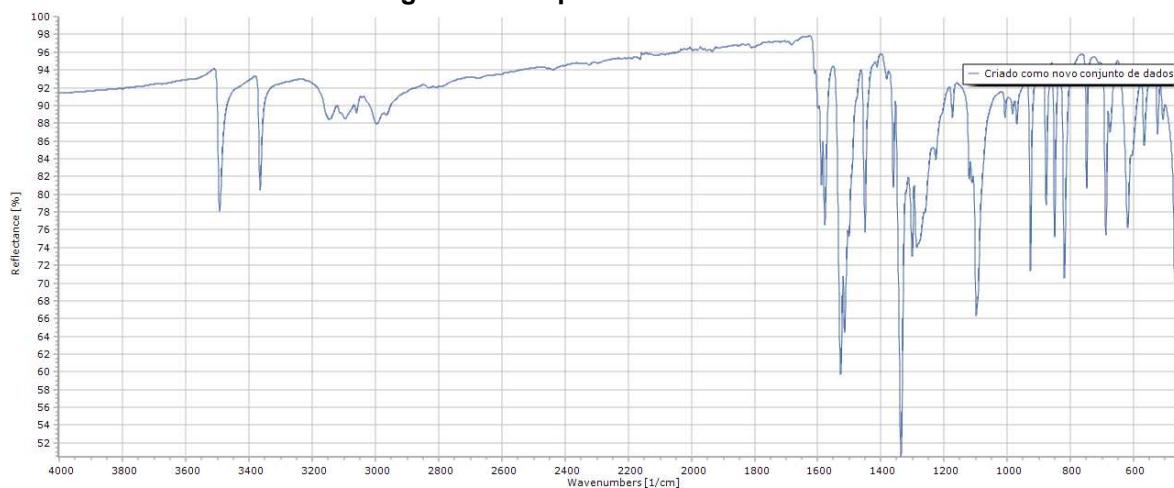
Fonte: SpectraGryph®

Figura 32 – Espectro de IV da SEMI8

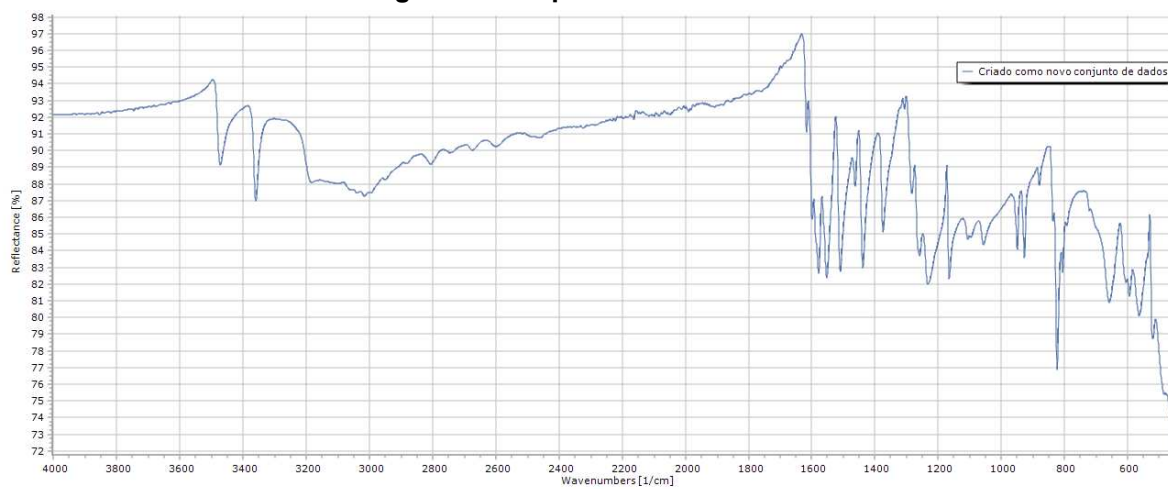
Fonte: SpectraGryph®

Figura 33 – Espectro de IV da TSC1

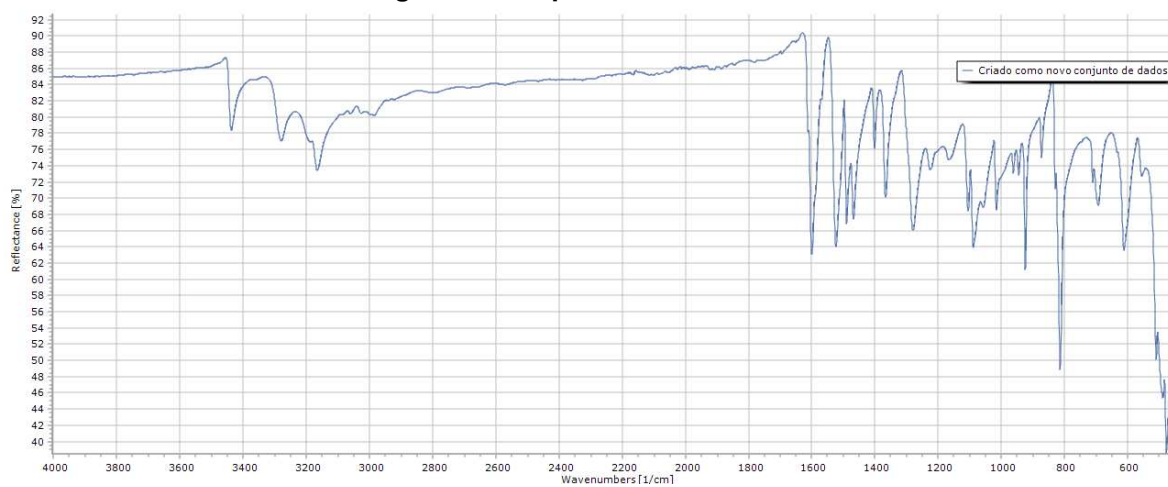
Fonte: SpectraGryph®

Figura 34 – Espectro de IV da TSC2

Fonte: SpectraGryph®

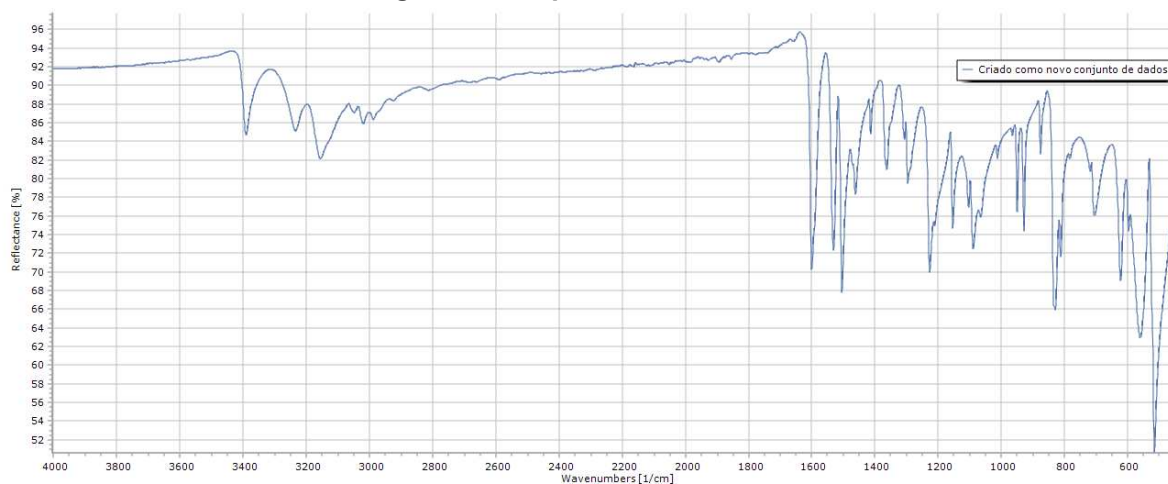
Figura 35 – Espectro de IV da TSC3

Fonte: SpectraGryph®

Figura 36 – Espectro de IV da TSC4

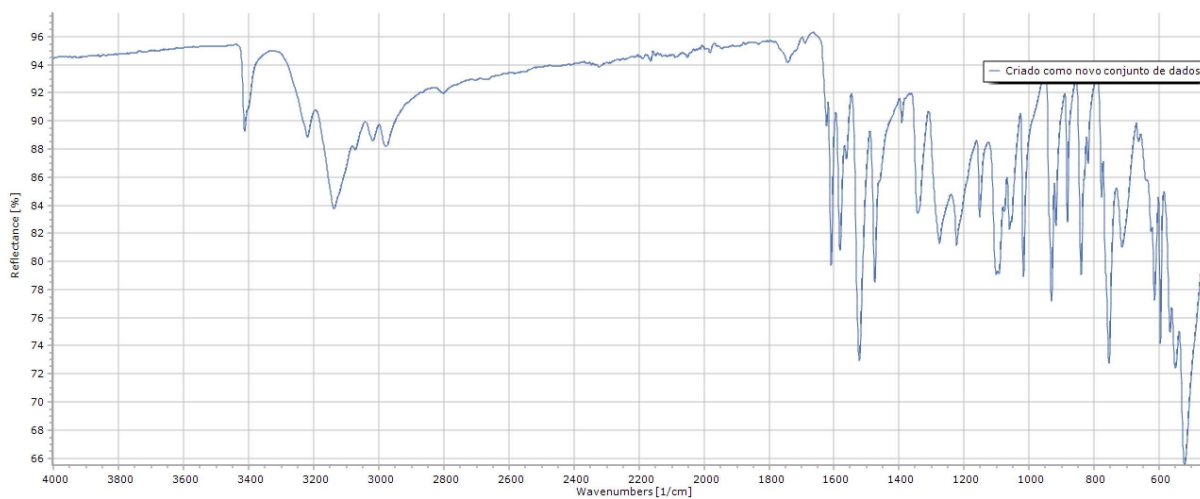
Fonte: SpectraGryph®

Figura 37 – Espectro de IV da TSC5



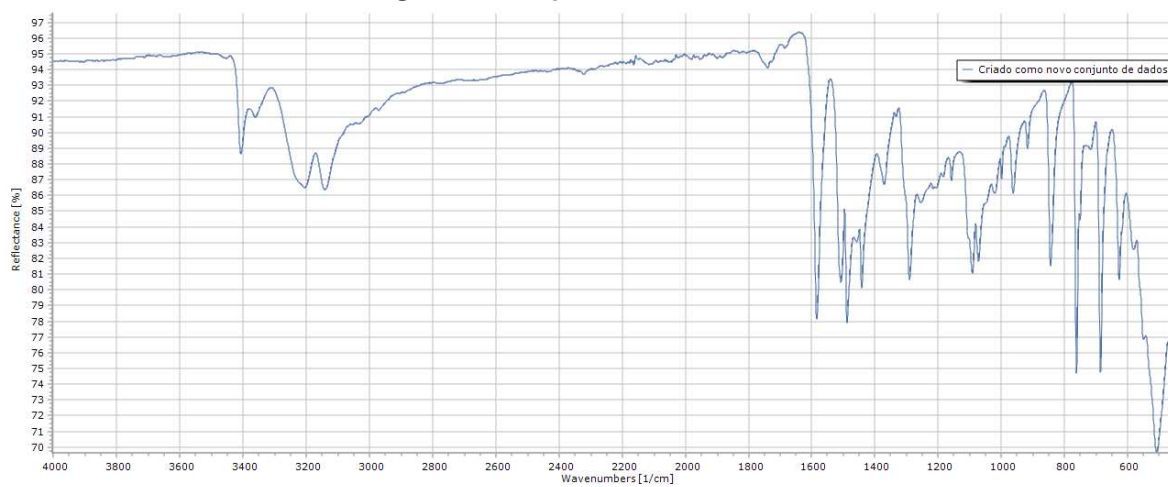
Fonte: SpectraGryph®

Figura 38 – Espectro de IV da TSC6



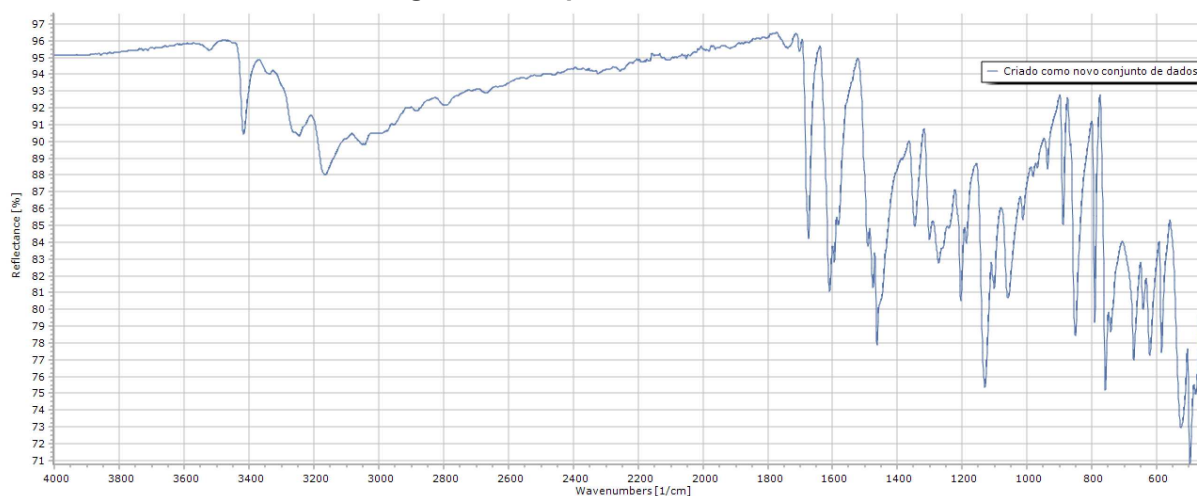
Fonte: SpectraGryph®

Figura 39 – Espectro de IV da TSC7



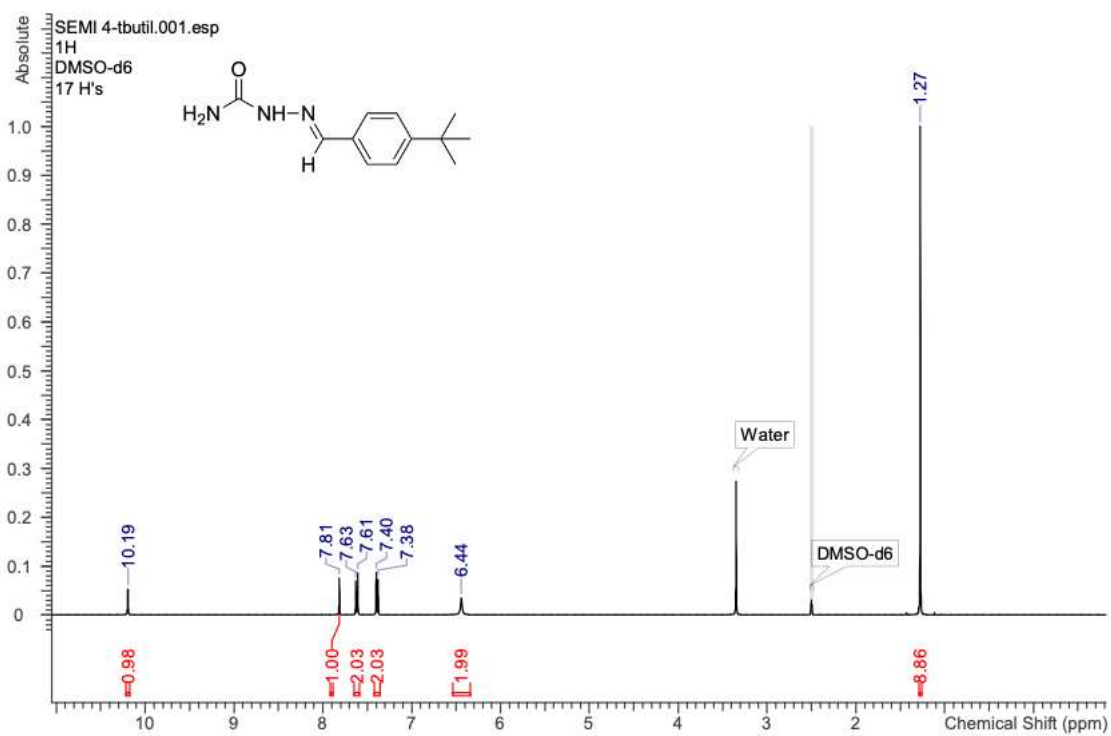
Fonte: SpectraGryph®

Figura 40 – Espectro de IV da TSC7

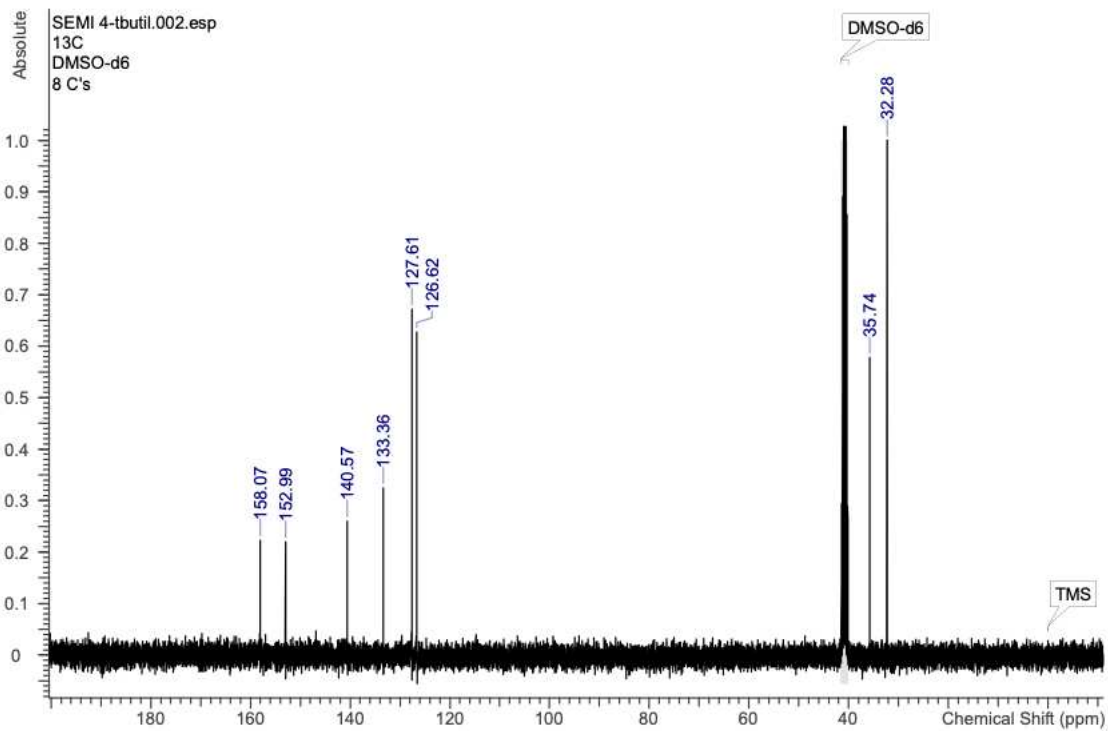


Fonte: SpectraGryph®

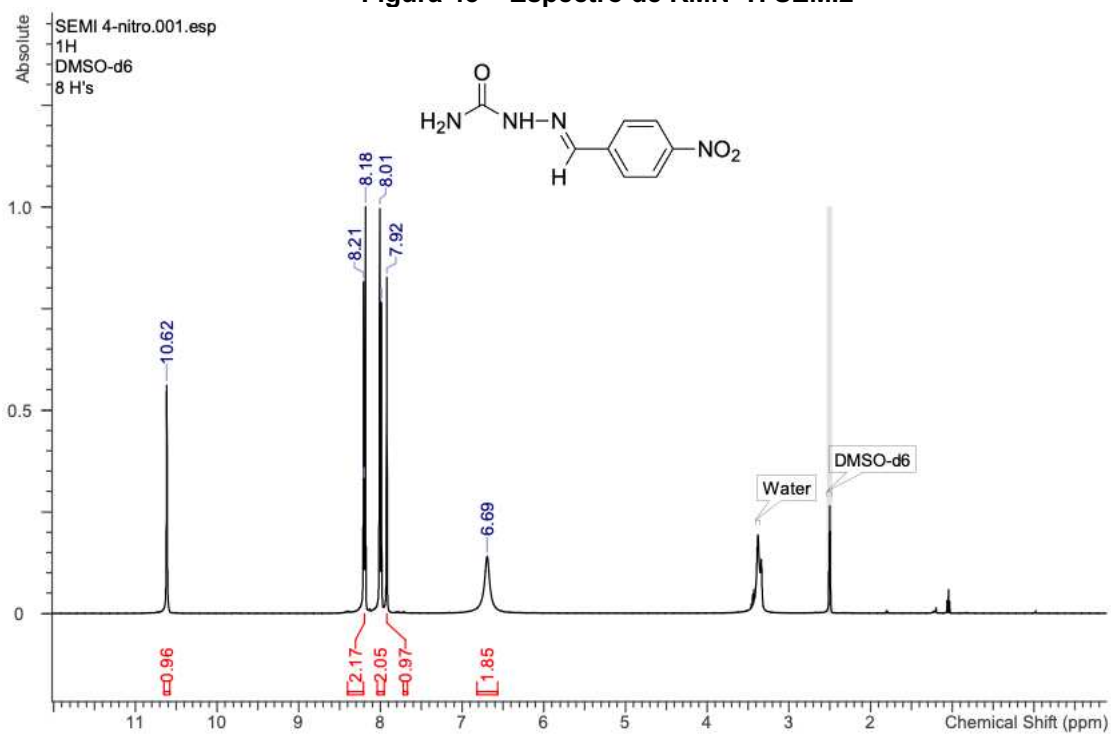
APÊNDICE B - Espectros de ressonância magnética nuclear unidimensionais de
 ^1H e ^{13}C

Figura 41 – Espectro de RMN ^1H SEMI1

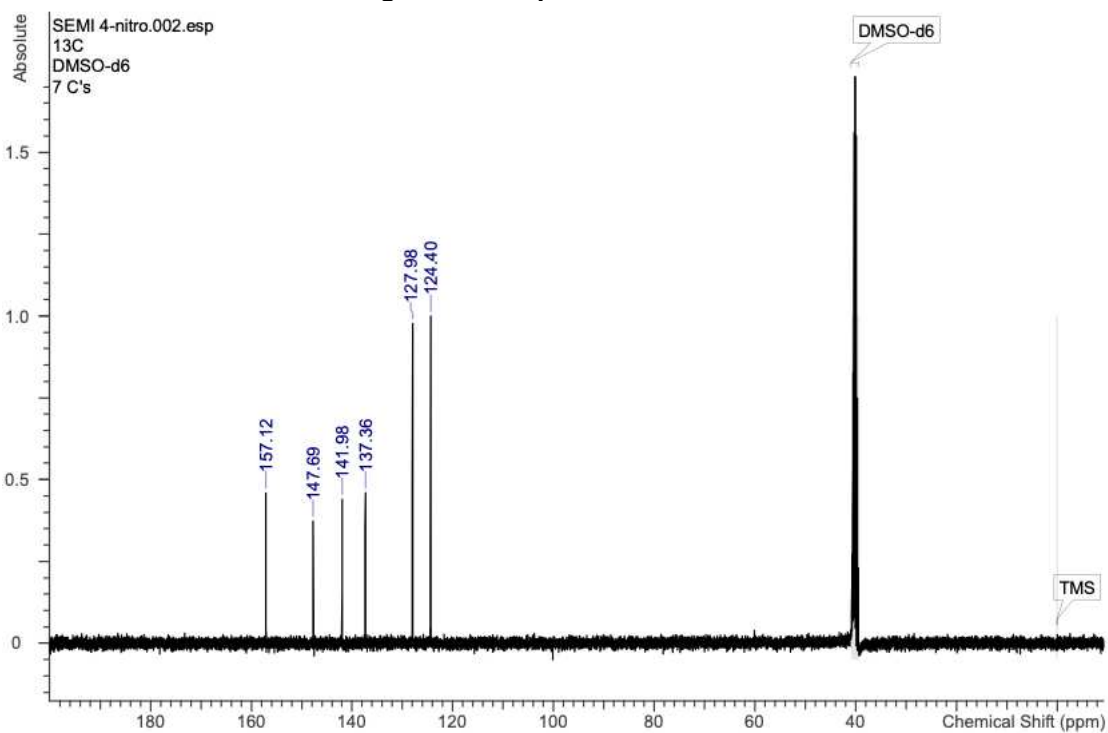
Fonte: ACD/Labs®

Figura 42 – Espectro de RMN ^{13}C SEMI1

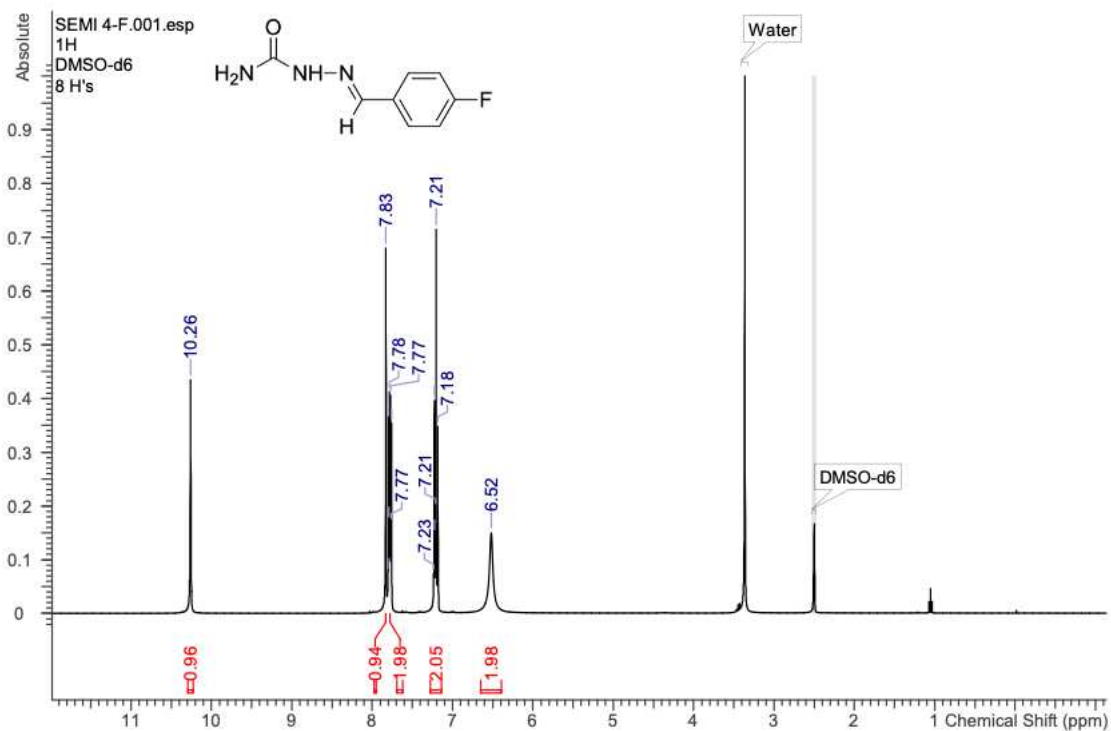
Fonte: ACD/Labs®

Figura 43 – Espectro de RMN ¹H SEMI2

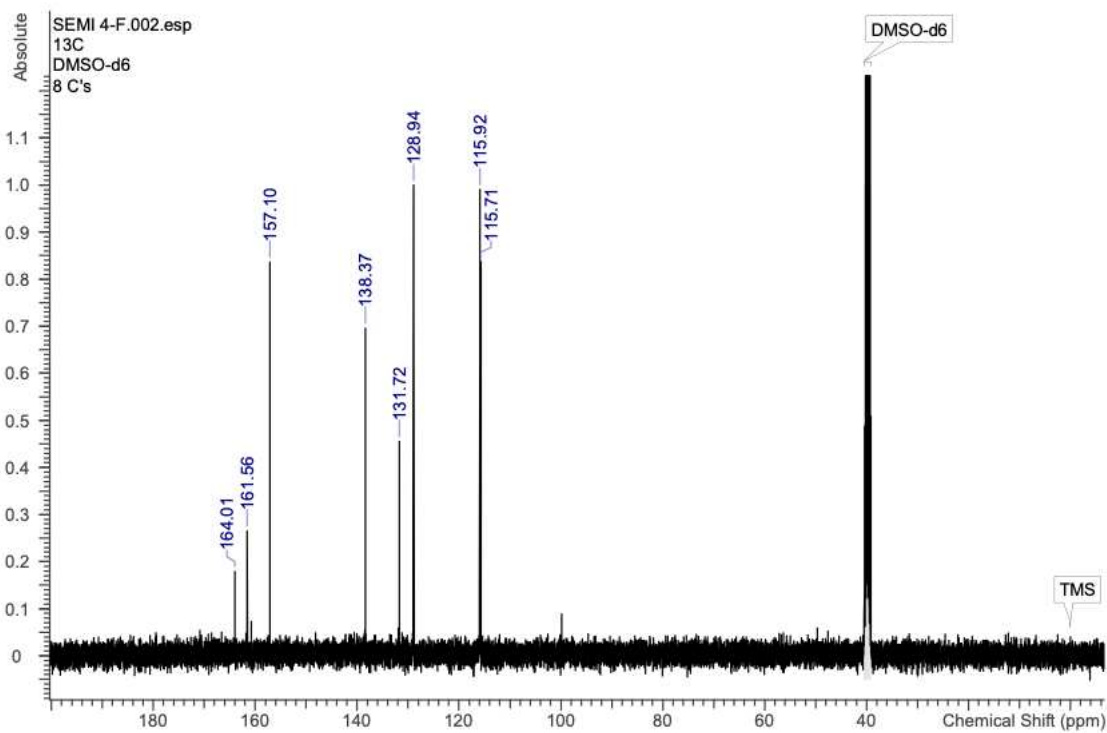
Fonte: ACD/Labs®

Figura 44 – Espectro de RMN ¹³C SEMI2

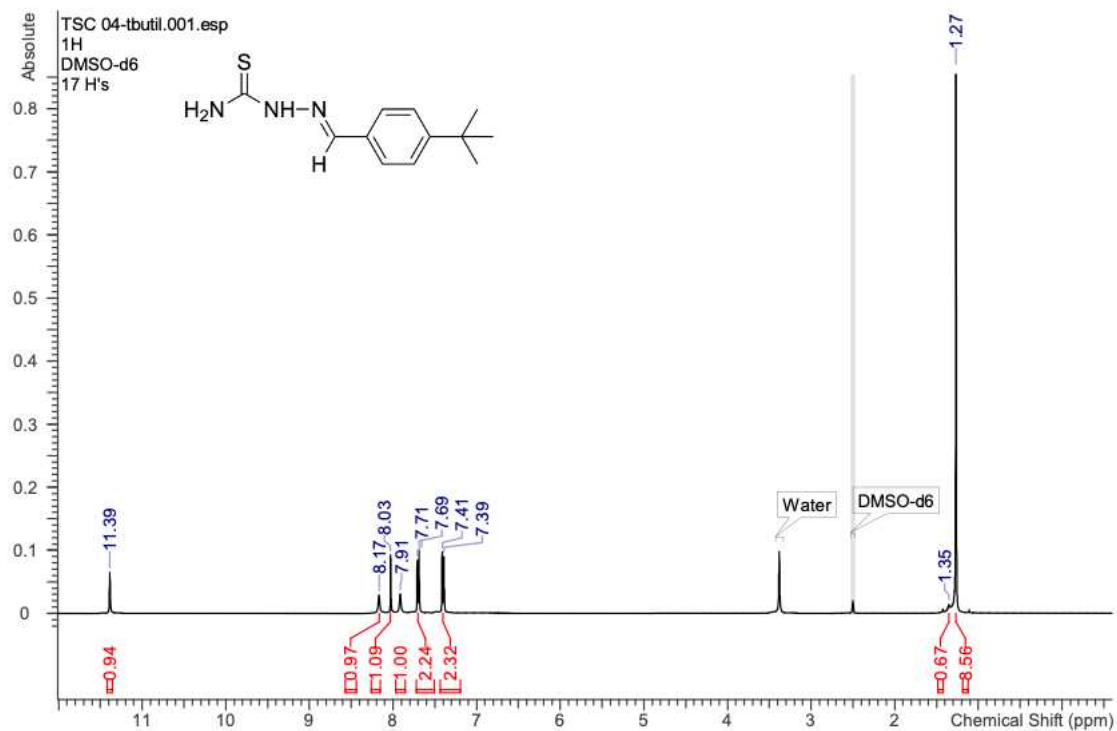
Fonte: ACD/Labs®

Figura 45 – Espectro de RMN ¹H SEMI5

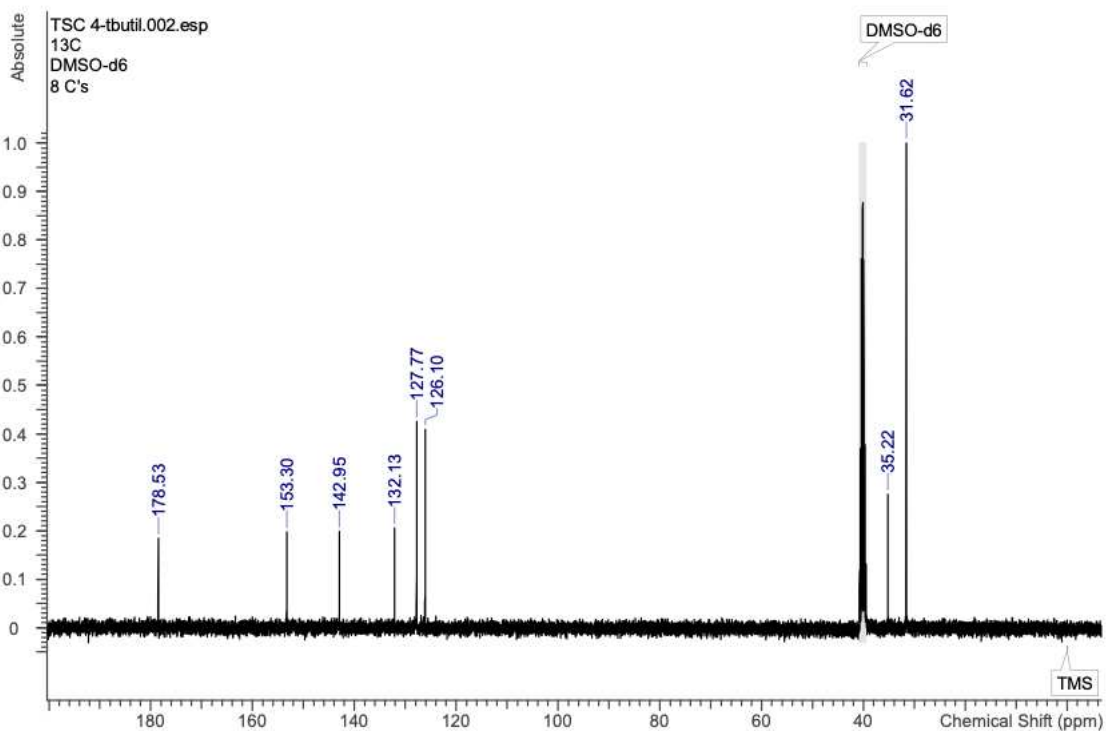
Fonte: ACD/Labs®

Figura 46 – Espectro de RMN ¹³C SEMI5

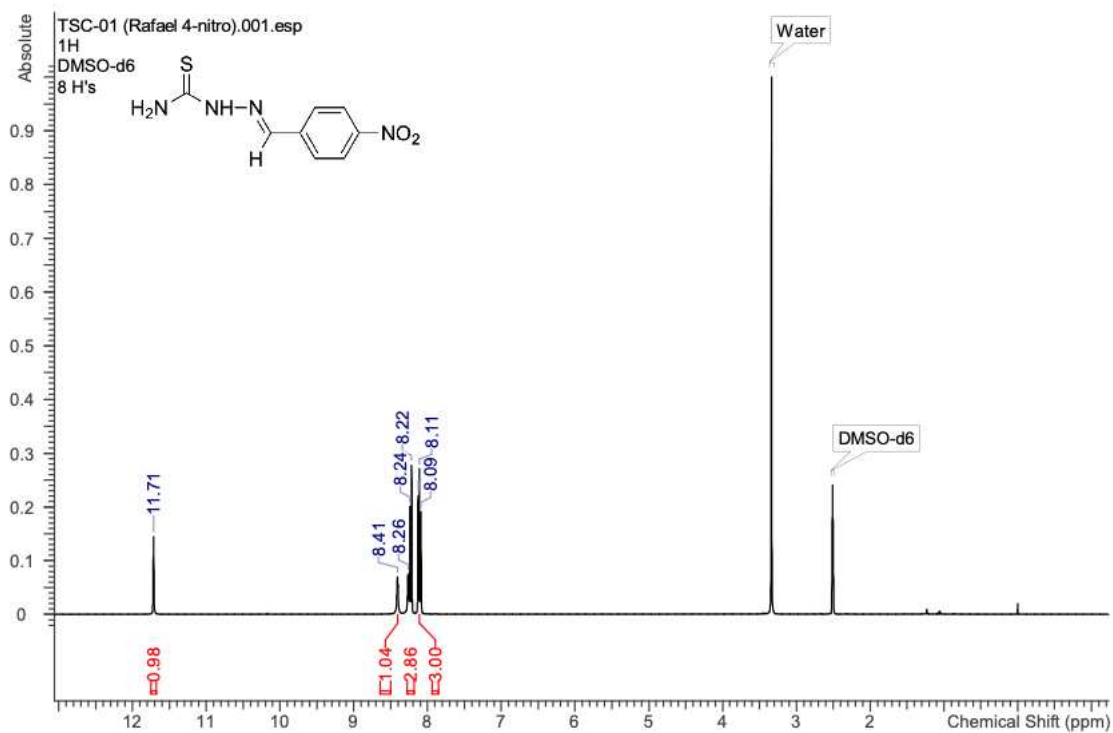
Fonte: ACD/Labs®

Figura 47 – Espectro de RMN ^1H TSC1

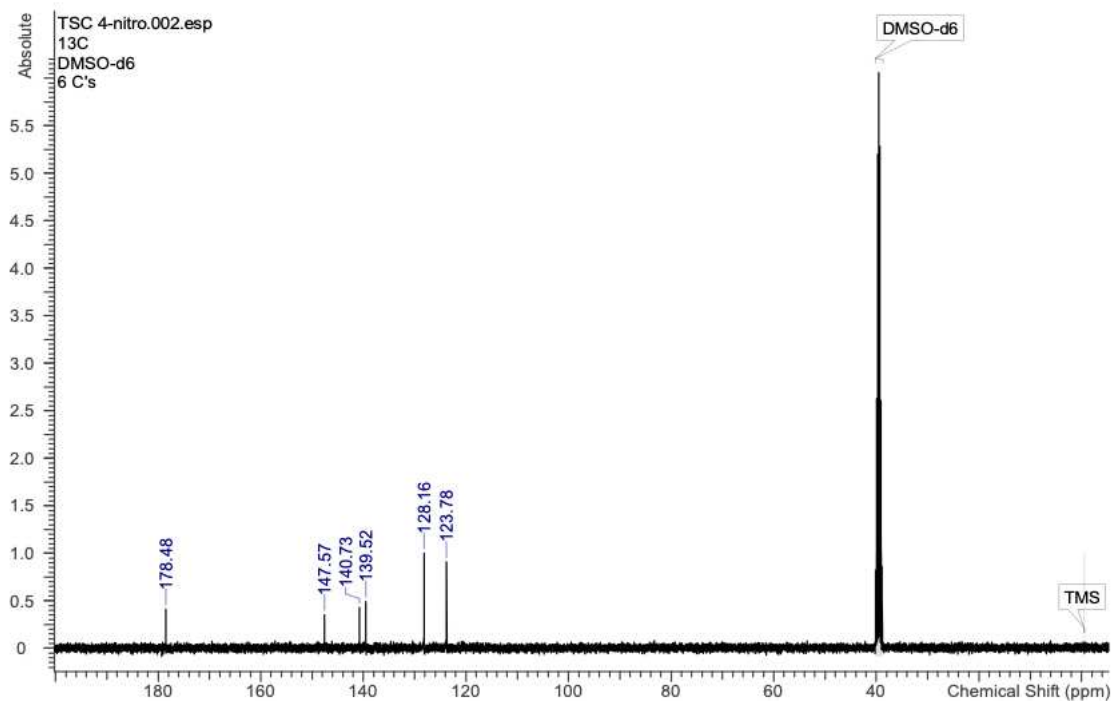
Fonte: ACD/Labs®

Figura 48 – Espectro de RMN ^{13}C TSC1

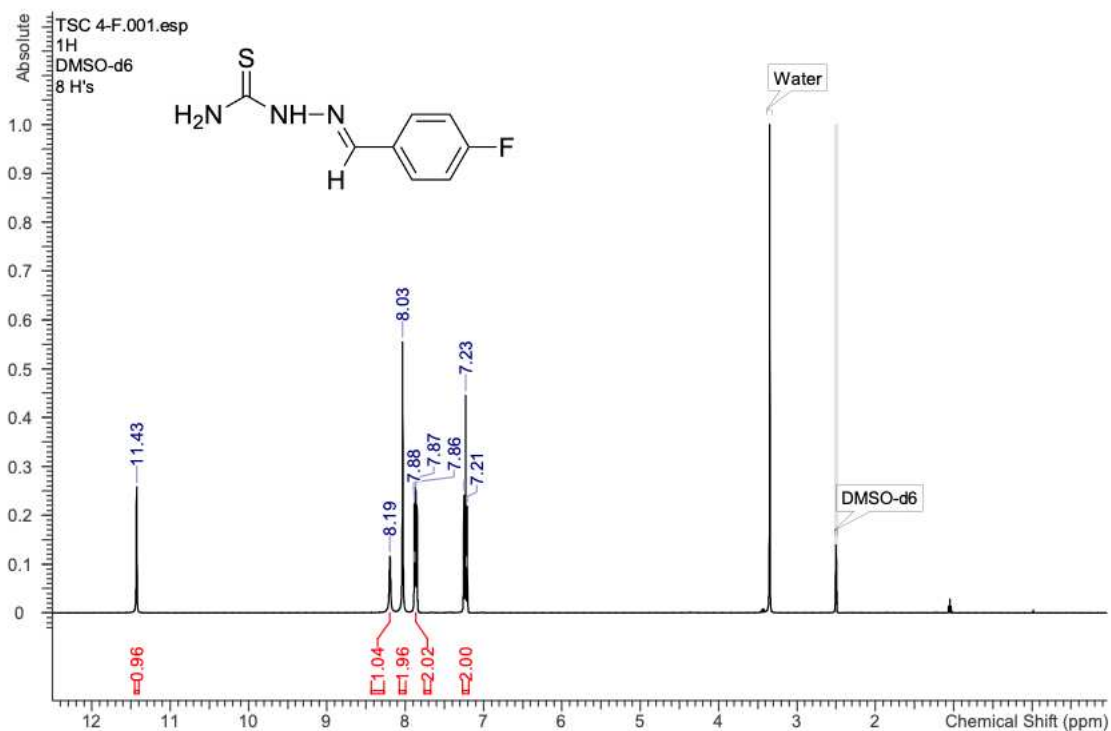
Fonte: ACD/Labs®

Figura 49 – Espectro de RMN ^1H TSC2

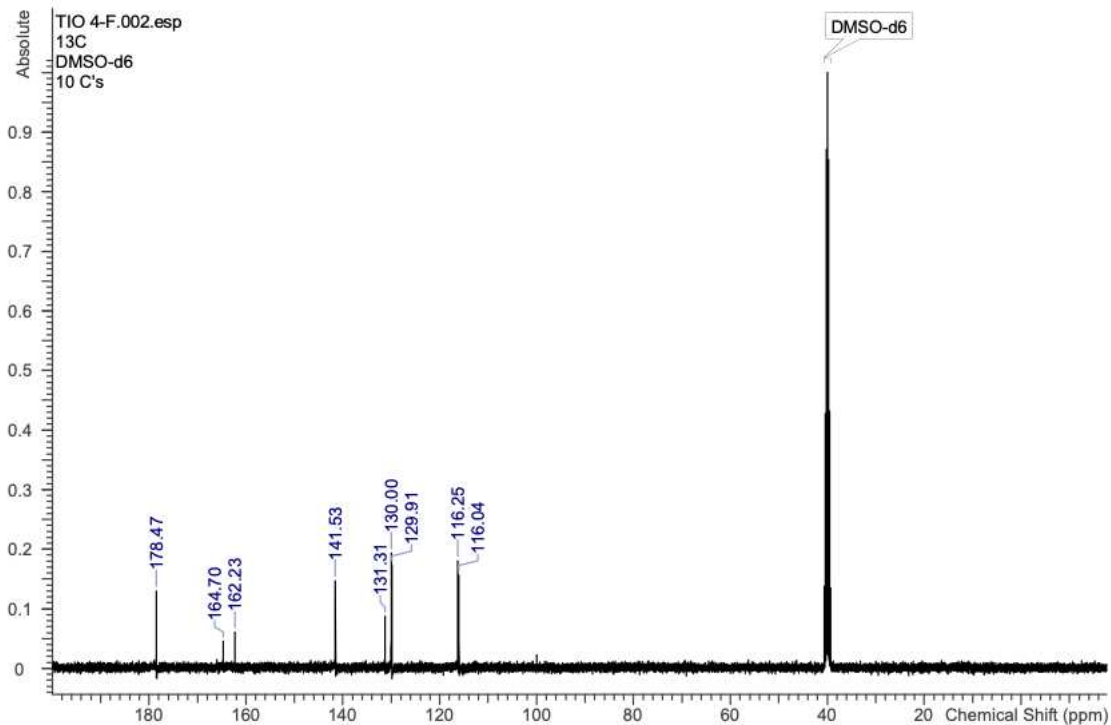
Fonte: ACD/Labs®

Figura 50 – Espectro de RMN ^{13}C TSC2

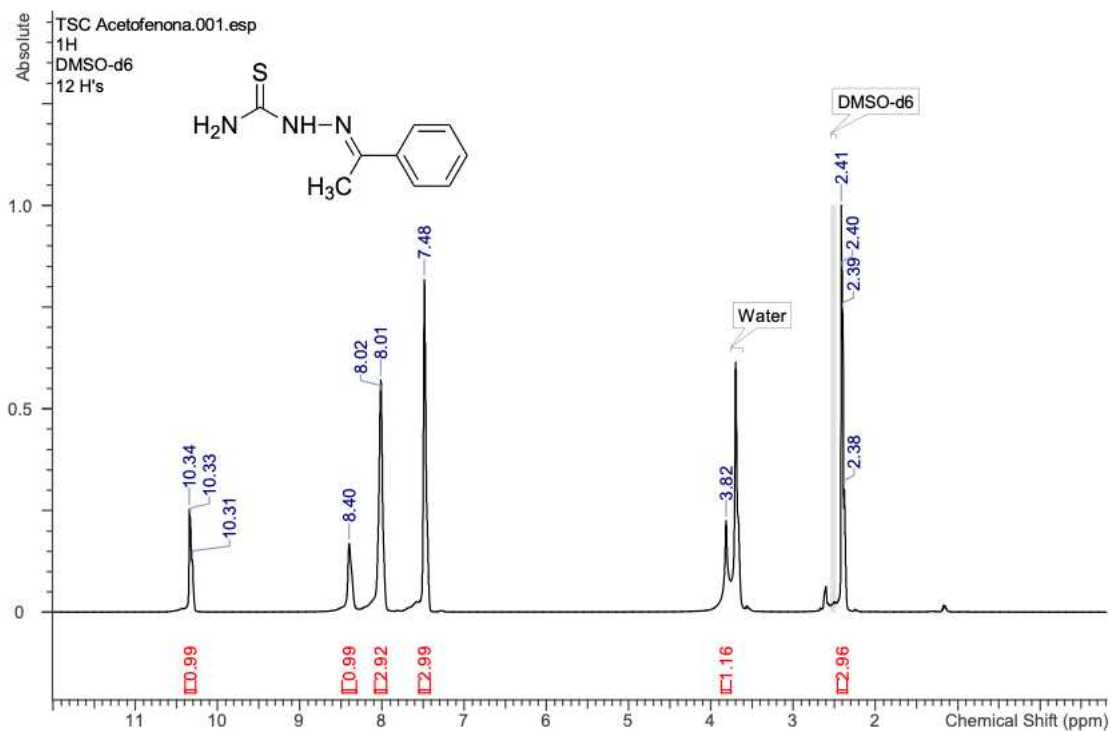
Fonte: ACD/Labs®

Figura 51 – Espectro de RMN ^1H TSC5

Fonte: ACD/Labs®

Figura 52 – Espectro de RMN ^{13}C TSC5

Fonte: ACD/Labs®

Figura 53 – Espectro de RMN ^1H TSC7Figura 54 – Espectro de RMN ^{13}C TSC7