

SÍNTSE, CARACTERIZAÇÃO, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E AVALIAÇÃO DE INTERAÇÃO COM ct-DNA DO N-(PIRIDIN-2-ILCARBAMOTIOL) BENZAMIDA

EDUARDA CAROLINA ROMAN MACHADO^{*1}; RENIEIDY FLÁVIA CLEMENTE DIAS²; ELVIS FARIA SILVEIRA JUNIOR³, TAISE CARLOS NUNES⁴, ADRIANA CASTRO PINHEIRO⁵.

¹ Universidade Federal de Pelotas (UFPEL): eduardacarolinaroman@gmail.com

² Universidade Federal de Uberlândia (UFPEL): flaviaufrgs04@gmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas (UFPEL): elvissilveira@hotmail.com.br

⁴ Universidade Federal de Pelotas (UFPEL): taisecnunes@outlook.com

⁵ Universidade Federal de Pelotas (UFPEL): acpinheiro@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

Uma classe de compostos orgânicos que se apresenta como candidatos a fármacos são as aciltioureias. A primeira síntese dessa classe de compostos está datada há mais de um século. As aciltioureias são uma classe versátil que apresentam em sua estrutura, oxigênio, nitrogênio e enxofre, e devido a capacidade destes átomos em doar elétrons, despertam interesse na química de coordenação. Esses compostos se destacam por apresentarem uma ampla variedade de atividades biológicas, como antifúngica, bactericida, antiviral, antiparasita, antitumoral e antioxidante. Na **Figura 1** está destacado a estrutura básica das aciltioureias.

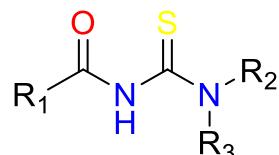
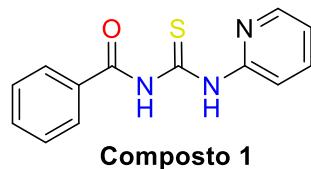


Figura 1. Estrutura química da classe aciltioureias.

Dentro deste contexto, no presente trabalho descrevemos a síntese e caracterização de um composto derivado da classe aciltioureias, N-(piridin-2-ilcarbamotioil) benzamida (composto 1), **Figura 2**. Estudos *in silico* das propriedades físico-químicas e ADMETox (absorção, distribuição, metabolismo e toxicidade) do composto 1 estão em andamento. Esses estudos, auxiliam na predição das características farmacocinéticas e farmacodinâmicas em um estágio inicial do desenvolvimento de um novo fármaco, permitindo a seleção dos melhores candidatos. A atividade antioxidante do composto 1, foi explorada *in vitro*, avaliando a capacidade de captura dos radicais livres DPPH e ABTS⁺.

Com o desenvolvimento da biotecnologia e biomedicina, diversas técnicas estão sendo utilizadas para o estudo das interações de espécies com o DNA. Os métodos de análise se tornaram mais sensíveis e seletivos. Uma das técnicas que se destaca é a espectroscopia de UV-Vis. Desta forma, avaliamos a capacidade de interação do composto 1 com *calf thymus* DNA por espectroscopia de UV-vis.



Análise antioxidant em ABTS⁺
 $IC_{50} = 2.55 \mu M$,
 Trolox: $IC_{50} = 12,5 \mu M$

Análise antioxidant em DPPH:
Sem potencial antioxidant



Apresentou fraca interação com CT-DNA

Figura 2. Estrutura do N-(piridin-2-ilcarbamotioil) benzamida (**Composto 1**).

2. METODOLOGIA

2.1 Síntese e caracterização do N-(piridin-2-ilcarbamotioil) benzamida

Partindo-se do cloreto de benzoila e tiocianato de potássio, obtendo na primeira etapa isotiocianato. Na etapa 2, foi adicionado o 2-amino-piridina e a reação foi mantida sob agitação por 24h à temperatura ambiente. Após o tempo reacional, adicionou-se água destilada gelada para precipitar o sólido, que foi filtrado e recristalizado em acetona. O sólido foi obtido com 65% de rendimento e caracterizado por RMN de ¹H e ¹³C em DMSO- δ_6 .

2.2 Avaliação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante refere-se à capacidade de um composto de neutralizar ou reduzir os efeitos prejudiciais dos radicais livres no organismo. Os radicais livres são moléculas instáveis que possuem elétrons desemparelhados e podem causar danos às nossas células, às proteínas e ao nosso DNA. A atividade antioxidante do composto 1 foi avaliada através de sua capacidade de eliminar os radicais sintéticos 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) e 2,2'-azino-bis (ácido 3-tilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS⁺). O composto foi diluído em dimetilsulfóxido (DMSO) e empregado para preparar soluções com diferentes concentrações (1-200 μM). Todos os testes foram realizados em triplicata e os dados são expressos como média \pm desvio padrão da média. A concentração da solução do composto 1 para inibir 50% do radical DPPH ou ABTS⁺ (IC_{50}) e os valores de máximos de inibição foram calculados usando o software GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software) (MARZANO, C.;2009).

2.3 Ensaios de interação com ct-DNA

O DNA empregado nesta etapa da pesquisa é o *calf thymus* -DNA (ct-DNA) — DNA de timo de vitelo — o qual é uma molécula circular, ou seja, suas fitas duplas de DNA estão ligadas de forma covalente, formando uma estrutura circular. A determinação da concentração de ct-DNA foi realizada por meio de espectroscopia UV-visível. Para verificar a pureza do ct-DNA, foi calculada a razão de absorbância A260/A280. Os experimentos foram conduzidos utilizando um tampão Tris-HCl e coletando o espectro de absorção da amostra. A concentração do composto 1 foi mantida constante em 10 μM , enquanto as concentrações de ct-DNA variaram de 10

a 100 µM. Para garantir resultados consistentes, cada experimento foi repetido em conjuntos de três ($n = 3$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Síntese e Caracterização por Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C

A primeira etapa da síntese é realizada a substituição nucleofílica entre cloreto de benzoila e o tiocianato de potássio, formando o intermediário da reação-o isoftiocianato. Na segunda etapa, é realizada uma adição nucleofílica entre a amina e o isoftiocianato, dando origem a ligação tioureia.

Os principais deslocamentos do composto 1 podem ser vistos na **Figura 3**, nos deslocamentos δ 13,55 (s, 1H) e em δ 12,09 (s, 1H) referente aos H da tioureia. Os H do anel aromático aparecem em δ 8,78 (d, $J = 4,9$ Hz, 2H), δ 7,99 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H), δ 7,73 – 7,66 (m, 1H), δ 7,60 (dd, $J = 8,4, 6,9$ Hz, 2H), δ 7,31 (t, $J = 4,9$ Hz, 1H). Seguido dos deslocamentos de ^{13}C -APT (101 MHz, DMSO- d_6): δ 178,53, 166,18, 158,98, 157,52, 133,77, 133,57, 129,45, 128,50, 117,73.

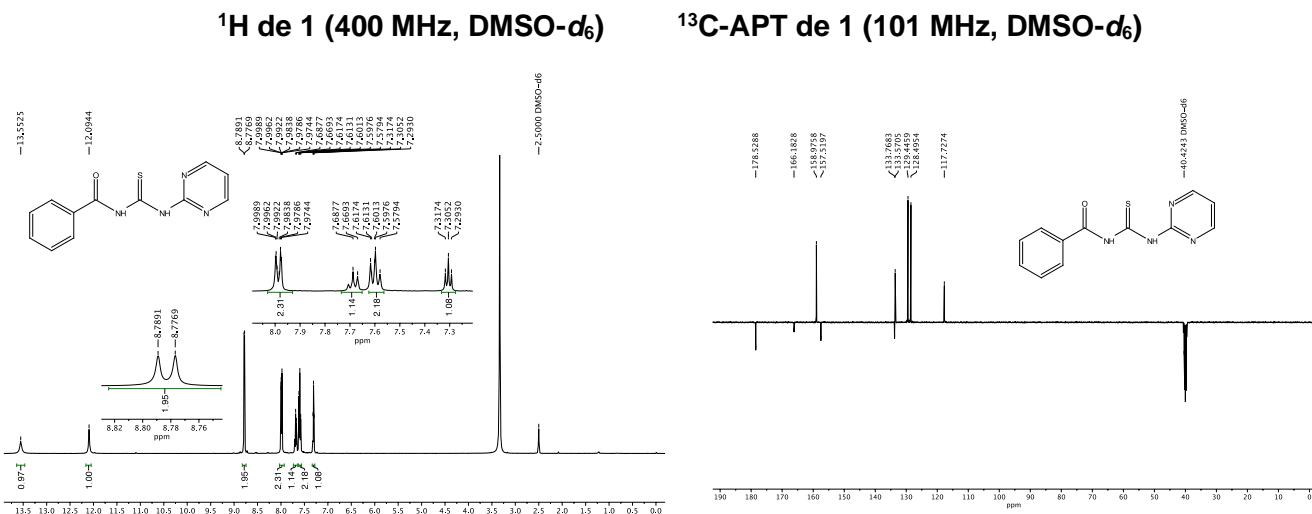


Figura 3. Espectro de RMN de ^1H e ^{13}C do **composto 1** em DMSO- D_6

3.2 Atividade antioxidante por ABTS

A avaliação do composto **1** se expressou com uma atividade antioxidante considerável e significativa, visto que o IC₅₀ atingiu o valor de 2,6 µM, indicando seu potencial de inibição de 50% da ação do cátion radical ABTS⁺. Portanto, esses resultados fortalecem o estudo do composto **1**, como um potente candidato na ação de redução de danos oxidativos, com atividade foi cerca de 5 vezes maior que o controle positivo utilizado – o trolox (derivado da vitamina E), com IC₅₀ de 12 µM.

3.3 Atividade antioxidante por DPPH

A avaliação do composto **1** no ensaio de captura do radical sintético DPPH, apresentou $IC_{50} = 38,2 \mu M$, indicando seu potencial de inibição de 50% desse radical.



3.4 Interação com ct-DNA e albumina sérica humana

Estudos prévios de avaliação do composto **1** com ct-DNA demonstram interação fraca do tipo π - π com as bases do DNA. Em ordem de analisar a interação desse composto frente a albumina sérica humana, análises por métodos espectroscópicos de UV-vis estão em andamento.

4. CONCLUSÕES

Nesse trabalho descremos a síntese e caracterização de um composto orgânico derivado de aciltioureias. Estudos iniciais demonstram o potencial antioxidante do composto **1**. Dados espectroscópicos indicam fraca interação do composto **1** com ct-DNA, nas condições empregadas. Avaliação das propriedades farmacocinéticos e farmacodinâmica, assim como interação desse composto com albumina sérica humana estão em andamento. A ligação entre candidatos a fármacos e albumina sérica é um fator determinante e importante para a compreensão da interação do organismo com o composto (estudo farmacocinético), já que influencia a distribuição, excreção, metabolismo e interação com o alvo biológico. Por fim, ressaltamos a importância do estudo científico, a fim de reforçar as descobertas de novos fármacos e inovação de novos produtos para área biomédica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MARZANO, C.; PELLEI, M.; TISATO, F.; SANTINI, C. Copper Complexes as Anticancer Agents. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*. v. 9, p. 185-211, 2009
2. OLIVEIRA, G. L. S.; OLIVEIRA, G. L. S. Determination *in vitro* of the antioxidant capacity of natural products by the DPPH•-method: review study. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 17, n. 1, p. 36–44, 1 mar. 2015.
3. PRIOR, R.L., WU, X., SCHÄICH, K., Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary
4. SAEED, A.; FLÖRKE, U. & ERBEN, M. F. “A review on the chemistry, coordination, structure and biological properties of 1-(acyl/aroyl) -3-(substituted) thioureas”. *J. Sulfur Chem.*, 35 (3): 318, 2014.
5. SIRAJUDDIN, Muhammad; ALI, Saqib; BADSHAH, Amin. Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltammetry. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 124, p. 1- 19, 2013.