



AVALIAÇÃO DO PERFIL ADMET E DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DE UM DERIVADO TIOSSEMICARBAZONA JF-260 COMO CANDIDATA A AGENTE ESQUISTOSSOMICIDA

Wagner Miguel dos Santos Silva¹, Josué Felipe de Oliveira Moraes Miranda¹, Lisandra da Silva Lima¹, Iranildo José da Cruz Filho¹, Maria do Carmo Alves de Lima¹, Diego Santa Clara Marques¹

¹Laboratório de química e inovação Terapêutica, Departamento de Antibióticos
Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil (wagner.miguel@ufpe.br)

Resumo: A esquistossomose permanece dependente do praziquantel, reforçando a busca por novos candidatos terapêuticos. Avaliou-se a tiossemicarbazona JF-260 por predição *in silico* do perfil ADMET e ensaios de citotoxicidade *in vitro*. A molécula apresentou elevada absorção gastrointestinal, ausência de permeabilidade à barreira hematoencefálica, não reconhecimento como substrato da glicoproteína P, hemólise inferior a 6% e perfil citotóxico compatível com o avanço em estudos pré-clínicos.

Palavras-chave: Esquistossomose; Tiossemicarbazona; ADMET; Citotoxicidade; SwissADME.

INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma doença parasitária causada por helmintos do gênero *Schistosoma* e permanece entre as doenças tropicais negligenciadas de maior impacto em saúde pública, principalmente em países de baixa e média renda. Estima-se que mais de 250 milhões de pessoas necessitem de tratamento anualmente, sendo a doença responsável por elevada morbidade em regiões endêmicas (Dziwornu et al., 2020). Apesar dos avanços nas estratégias de controle, a persistência da transmissão demonstra a necessidade do desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas.

Atualmente, o praziquantel (PZQ) constitui o único medicamento amplamente empregado nos programas de tratamento em massa da esquistossomose. Entretanto, sua eficácia reduzida contra formas juvenis do parasito e a preocupação crescente com o surgimento de isolados menos sensíveis reforçam a necessidade da prospecção de novos compostos bioativos (Eastham et al., 2024). Nesse contexto, a descoberta de candidatos com maior seletividade, menor toxicidade e propriedades farmacocinéticas favoráveis representa uma prioridade para a pesquisa em Química Medicinal.

Entre as diferentes classes de compostos investigadas, as tiossemicarbazonas têm despertado

interesse devido ao amplo espectro de atividades biológicas descritas, incluindo ações antiparasitária, antiviral, antitumoral e antimicrobiana (Beraldo, 2004). A elevada versatilidade estrutural dessa classe permite modificações químicas capazes de otimizar potência biológica, seletividade e características farmacocinéticas, favorecendo sua aplicação na descoberta racional de novos fármacos.

Nas etapas iniciais do desenvolvimento de medicamentos, ferramentas computacionais de predição das propriedades de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET) vêm sendo amplamente utilizadas para reduzir custos, tempo experimental e taxas de insucesso durante o processo de desenvolvimento farmacêutico (Daina; Michielin; Zoete, 2017; Pires; Blundell; Ascher, 2015). Paralelamente, ensaios *in vitro* de citotoxicidade e hemólise fornecem informações preliminares sobre a segurança biológica dos compostos, permitindo selecionar moléculas mais promissoras para estudos farmacológicos posteriores (Mosmann, 1983). Estudos recentes demonstram que derivados sintéticos com propriedades farmacocinéticas adequadas podem apresentar atividade esquistossomicida relevante e perfil toxicológico compatível com o desenvolvimento pré-clínico, reforçando a importância da integração entre análises *in silico* e ensaios biológicos experimentais



(Morais et al., 2021; Almeida Júnior et al., 2024; Rocha et al., 2023) Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o perfil ADMET *in silico* da molécula tiossemicarbazônica JF-260, bem como determinar sua citotoxicidade *in vitro* em diferentes linhagens celulares, investigando seu potencial como candidata ao desenvolvimento de novos agentes esquistossomicidas.

MATERIAL E MÉTODOS

A molécula tiossemicarbazônica JF-260 foi previamente sintetizada no laboratório de química e inovação terapêutica (LQIT) e avaliada por meio de análises *in silico* e ensaios *in vitro*. O perfil ADMET foi predito utilizando as plataformas SwissADME e pkCSM, sendo analisados parâmetros relacionados à absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade, incluindo absorção gastrointestinal, permeabilidade à barreira hematoencefálica, interação com a glicoproteína P, lipofilicidade, solubilidade, área de superfície polar topológica (TPSA) e regras de *drug-likeness* (Daina; Michielin; Zoete, 2017; Pires; Blundell; Ascher, 2015). O praziquantel (PZQ) foi utilizado como fármaco de referência para comparação.

A citotoxicidade foi determinada pelo ensaio de MTT em macrófagos RAW 264.7, células HepG2 e Vero, conforme metodologia descrita por Mosmann (1983). As células foram incubadas com diferentes concentrações dos compostos por 48 h, sendo posteriormente determinada a concentração citotóxica para 50% das células (CC₅₀).

O potencial hemolítico da JF-260 também foi avaliado em eritrócitos, sendo os resultados expressos em porcentagem de hemólise. Os dados obtidos foram analisados de forma comparativa com o PZQ, visando identificar características farmacocinéticas e toxicológicas compatíveis com o desenvolvimento de novos candidatos esquistossomicidas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise *in silico* demonstrou que a molécula JF-260 apresenta propriedades farmacocinéticas compatíveis com um candidato promissor para administração por via oral. O composto apresentou elevada absorção gastrointestinal predita, ausência de permeabilidade à barreira hematoencefálica (BBB) e não foi classificado como substrato da glicoproteína P (P-gp), características que favorecem sua

biodisponibilidade e podem reduzir a ocorrência de efeitos adversos relacionados ao sistema nervoso central (**Figura 1**) (Daina; Michielin; Zoete, 2017; Pires; Blundell; Ascher, 2015).

Além disso, a JF-260 atendeu às principais regras de *drug-likeness* (Lipinski, Ghose, Veber, Egan e Muegge), apresentando propriedades físico-químicas compatíveis com moléculas bioativas de interesse farmacêutico. O Bioavailability Radar evidenciou que a maior parte dos parâmetros avaliados encontra-se dentro da faixa considerada ideal para compostos com potencial de administração oral (**Figura 2**), corroborando as predições obtidas pelo SwissADME (Daina; Michielin; Zoete, 2017).

A análise pelo modelo BOILED-Egg reforçou esses resultados ao indicar elevada probabilidade de absorção intestinal e baixa probabilidade de permeação da barreira hematoencefálica (**Figura 3**). Embora o praziquantel também apresente elevada absorção oral, sua capacidade de atravessar a BBB e sua interação como substrato da P-gp diferem do perfil observado para a JF-260, sugerindo características farmacocinéticas distintas que podem influenciar sua distribuição tecidual e seu comportamento *in vivo* (Pires; Blundell; Ascher, 2015).

Os ensaios biológicos revelaram baixa toxicidade preliminar para os compostos avaliados. Todos apresentaram hemólise inferior a 6%, indicando reduzida interação com membranas eritrocitárias e sugerindo boa compatibilidade com células sanguíneas (**Tabela 1**), característica desejável durante a triagem inicial de candidatos a fármacos (Almeida Júnior et al., 2024).

Quanto à citotoxicidade, a JF-260 apresentou valores de CC₅₀ de $88,85 \pm 0,3 \mu\text{M}$ em macrófagos RAW 264.7, $24,26 \pm 0,8 \mu\text{M}$ em células HepG2 e $38,49 \pm 1,0 \mu\text{M}$ em células Vero (**Tabela 1**). Em comparação ao praziquantel, observou-se menor citotoxicidade em macrófagos e células Vero, enquanto em HepG2 ambos os compostos apresentaram comportamento semelhante. A menor citotoxicidade frente aos macrófagos é particularmente relevante, considerando a participação dessas células na resposta imunológica durante a infecção por *Schistosoma mansoni*, podendo representar uma vantagem para futuras investigações farmacológicas.

A comparação entre a JF-260 e os demais derivados tiossemicarbazônicos evidenciou que pequenas modificações estruturais foram capazes de alterar significativamente os valores de CC₅₀ nas diferentes linhagens celulares (**Tabela 1**). Esse comportamento reforça a influência da relação estrutura-atividade (SAR) sobre o perfil toxicológico desses compostos,

aspecto amplamente descrito para derivados tiossemicarbazônicos (Beraldo, 2004).

De forma integrada, os resultados *in silico* e *in vitro* indicam que a JF-260 reúne características favoráveis ao desenvolvimento como candidata a agente esquistossomícida. O perfil farmacocinético predito, associado à baixa atividade hemolítica e à reduzida citotoxicidade observada nos ensaios celulares, reforça o potencial da molécula para avançar em estudos de eficácia, determinação do índice de seletividade e avaliações *in vivo* contra *Schistosoma mansoni* (Morais *et al.*, 2021; Rocha *et al.*, 2023).

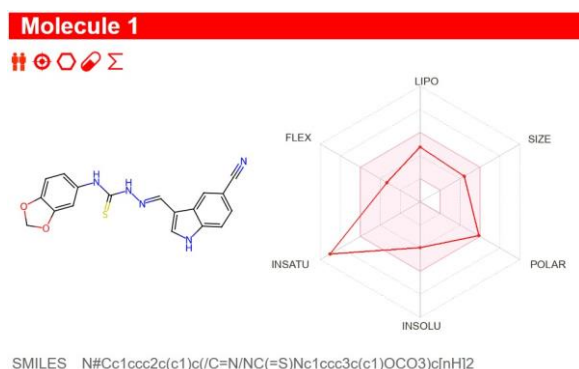


Figura 1. Estrutura química e radar de biodisponibilidade do composto JF-260 obtidos pela plataforma SwissADME.

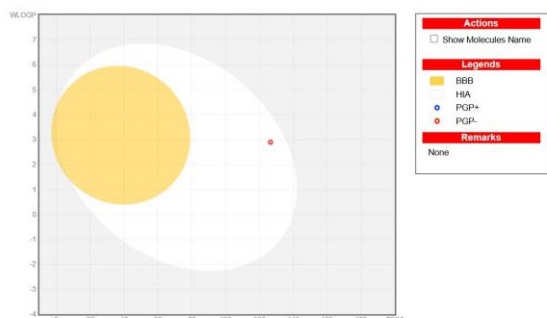


Figura 2. Avaliação das propriedades de drug-likeness do composto JF por meio do Bioavailability Radar (SwissADME).

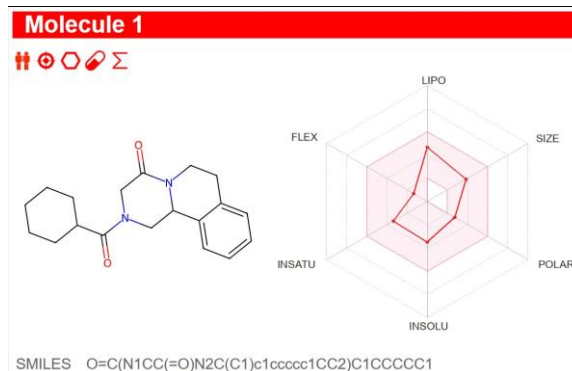


Figura 3. Estrutura química e radar de biodisponibilidade do Praziquantel obtidos pela plataforma SwissADME.

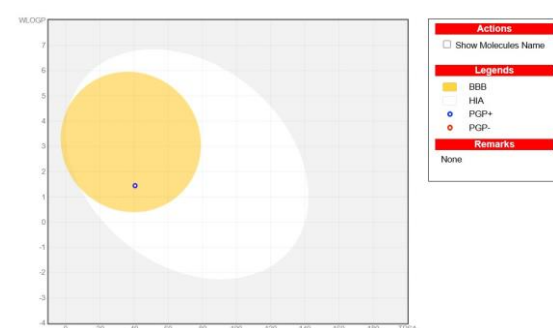


Figura 4. Avaliação das propriedades de drug-likeness do composto JF por meio do Bioavailability Radar (SwissADME).

Compostos	Hemólise (%)	Macrófagos (RAW 264.7) CC ₅₀ (μM)	Hepatoma (HepG2) CC ₅₀ (μM)	Células Vero CC ₅₀ (μM)
JF-257	<6%	91.52 ± 0.5	35.64 ± 1.0	32.77 ± 0.9
JF-258	<6%	57.11 ± 0.2	45.67 ± 0.9	68.36 ± 1.0
JF-259	<6%	50.62 ± 0.4	20.10 ± 0.6	44.42 ± 0.7
JF-260	<6%	88.85 ± 0.3	24.26 ± 0.8	38.49 ± 1.0
JF-262	<6%	38.08 ± 0.2	19.97 ± 0.3	39.47 ± 1.0
JF-264	<6%	49.64 ± 0.1	16.69 ± 0.2	22.99 ± 0.5
JF-265	<6%	41.88 ± 0.5	17.89 ± 0.3	21.90 ± 0.1
JF-266	<6%	85.29 ± 0.9	29.51 ± 0.5	16.99 ± 0.11
PZQ	<6%	15.57 ± 0.3	27.35 ± 0.1	33.07 ± 0.6

Tabela 1. Percentual de hemólise e valores de CC₅₀ (μM) das tiossemicarbazonas e do praziquantel (PZQ) frente às linhagens celulares RAW 264.7, HepG2 e Vero.

CONCLUSÃO

A molécula tiossemicarbazônica JF-260 apresentou um perfil farmacocinético *in silico* compatível com candidatos promissores ao desenvolvimento de novos agentes esquistossomídeos, destacando-se pela elevada absorção gastrointestinal predita, conformidade com as principais regras de *drug-likeness*, ausência de permeabilidade à barreira hematoencefálica e por não ser classificada como substrato da glicoproteína P. Nos ensaios *in vitro*, o composto apresentou baixa atividade hemolítica e menor citotoxicidade que o praziquantel em macrófagos RAW 264.7 e células Vero, além de comportamento semelhante em células HepG2. Em conjunto, esses resultados indicam que a JF-260



possui um perfil inicial de segurança favorável e potencial para avançar em estudos farmacológicos, incluindo a avaliação da atividade esquistossomicida, determinação do índice de seletividade e ensaios *in vivo*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Laboratório de Química e Inovação Terapêutica (LQIT) pelo suporte técnico e científico, à Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) pela infraestrutura disponibilizada e à FACEPE pelo apoio financeiro ao desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA JÚNIOR, A. S.; **et al.** Therapeutic potential of hydantoin and thiohydantoin compounds against *Schistosoma mansoni*: an integrated *in vitro*, DNA, ultrastructural, and ADMET *in silico* approach. *Molecular and Biochemical Parasitology*, v. 260, p. 111646, 2024.

BERALDO, H. Semicarbazonas e tiosemicarbazonas: o amplo perfil farmacológico e usos clínicos. *Química Nova*, v. 27, n. 3, p. 461–471, 2004.

DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, v. 7, p. 42717, 2017.

DZIWORNU, G. A.; **et al.** Chemotherapy for human schistosomiasis: how far have we come? What's new? Where do we go from here? *RSC Medicinal Chemistry*, v. 11, n. 4, p. 455–490, 2020.

EASTHAM, G.; **et al.** Praziquantel resistance in schistosomes: a brief report. *Frontiers in Parasitology*, v. 3, p. 1471451, 2024.

MORAIS, C. S.; **et al.** Pyrazoline derivatives as promising novel antischistosomal agents. *Scientific Reports*, v. 11, p. 23437, 2021.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, v. 65, n. 1–2, p. 55–63, 1983.

PIRES, D. E. V.; BLUNDELL, T. L.; ASCHER, D. B. pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 58, n. 9, p. 4066–4072, 2015.

ROCHA, V. C.; **et al.** Evaluating the antischistosomal activity of dehydrodieugenol B and its methyl ether isolated from *Nectandra leucantha*: a preclinical study against *Schistosoma mansoni* infection. *ACS Omega*, v. 8, n. 43, p. 40890–40897, 2023.