

AValiação DA CITOTOXICIDADE DE UMA SÉRIE DE TIOSEMICARBAZONAS DERIVADAS DA ISONIAZIDA

Camilla de Lima Ruffini (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Giulienne Karla Pereira da Silva, Camile Yukari Okochi, Leticia Julia Faria, Anna Carolina Ponhozi, Katiany Rizzieri Caleffi Ferracioli, Regiane Bertin de Lima Scodro (Orientadora). E-mail: rblscodro@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Ciências da Saúde, Microbiologia/Microbiologia aplicada

Palavras-chave: *Mycobacterium tuberculosis*; citotoxicidade; Vero.

RESUMO

De acordo com as diretrizes do *International Council for Harmonisation* (ICH M3(R2)), a avaliação não clínica de novos fármacos deve iniciar com ensaios *in vitro*, como a citotoxicidade. O presente estudo visou avaliar a citotoxicidade de tiossemicarbazonas derivadas da isoniazida em células VERO pelo ensaio de redução do do 3-brometo de [4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazólio (MTT). As células foram cultivadas em meio Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), tratadas com diferentes concentrações dos derivados (6,25-250 µg/mL), testadas quanto à viabilidade celular e posteriormente foi analisado índice de seletividade (IS) contra cepa H37Rv de *Mycobacterium tuberculosis*. Os valores de concentração citotóxica 50% (CC₅₀) ficaram entre 40,82 a 96,27 µg/mL. A TSC-5 apresentou a menor CC₅₀ (40,82 µg/mL) e maior IS (10,46), TSC-4 também apresentou a segunda maior seletividade (IS = 4,86), ao passo que a TSC-1, TSC-2 e principalmente a TSC-3 apresentaram perfis menos favoráveis. Desta forma, TSC-5 pode ser considerada a mais relevante dentre as avaliadas, constituindo uma candidata para futuros estudos como potencial agente antituberculose.

INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença causada por bactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) e representa um dos maiores problemas de saúde pública. Sabe-se que a TB é a principal causa de morte por um único agente infeccioso, ficando à frente do HIV/AIDS (Vírus da Imunodeficiência Humana/Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) (WHO, 2024).

As tiossemicarbazonas são compostos que vêm despertando considerável interesse na comunidade científica por suas propriedades químicas e biológicas como agente antiviral, antiprotzoário, antitumoral e antibacteriano. Além disso, são conhecidas, por suas propriedades excelentes em formar complexos organometálicos, comportando-se como agentes quelantes (Zahra *et al.*, 2025), esses compostos agem tanto como inibidores de enzimas, através de reações

redox, da complexação de metais endógenos, quanto através de interações com o DNA ou inibição de sua síntese (Sharma; Singh, 2025).

De acordo com as diretrizes do *International Council for Harmonisation* (ICH M3(R2)), os estudos não clínicos de segurança de novos fármacos devem iniciar com ensaios *in vitro*, como a avaliação de citotoxicidade, que compõem a primeira etapa para caracterizar o potencial tóxico da substância. Desse modo, o objetivo dessa pesquisa foi avaliar a citotoxicidade de uma série de derivados de isoniazida em linhagem celular VERO.

MATERIAIS E MÉTODOS

As células VERO foram cultivadas em meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB), penicilina (100 U/mL) e incubadas a 37°C com 5% de CO₂. Após destacamento com tripsina-EDTA e contagem, preparou-se suspensão a 5×10^5 células/mL, semeando-se 100 µL em placas de 96 poços para formação de monocamada por 24 horas.

Após as 24 horas, as células foram tratadas com diferentes concentrações dos derivados (6,25–250 µg/mL) por mais 24 horas, lavadas com PBS e submetidas ao ensaio MTT (2 mg/L) por 3h. Os cristais de formazan foram solubilizados com dimetilsulfóxido (DMSO), e a absorbância foi lida no fluorímetro Thermo Scientific Varioskan LUX Multimode Microplate Reader a 550 nm. A citotoxicidade foi expressa como porcentagem de inibição celular, sendo o CC₅₀ definido como a concentração capaz de reduzir em 50% a viabilidade em relação ao controle.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação da citotoxicidade e índice de seletividade das substâncias TSC-1 a TSC-5 na linhagem celular VERO foi realizada com base na CIM previamente obtida, e os resultados de Média CC₅₀ e IS contra a cepa padrão H37Rv são apresentados na Tabela 1.

Os valores da média CC₅₀ variam entre as substâncias testadas. A substância TSC-5 exibiu a menor média CC₅₀, 40,82 µg/mL, o que sugere que o composto apresenta o maior potencial citotóxico entre as substâncias testadas. Em contraste, a substância TSC-2 exibiu a maior média CC₅₀, 96,27 µg/mL, sugerindo menor toxicidade na linhagem celular VERO.

Tabela 1: Média de concentração citotóxica 50% (CC₅₀) em células Vero e Índice de seletividade (IS) frente a *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv

Substância	CIM para H ₃₇ Rv	Média CC ₅₀ (DP)	IS H37Rv
	µg/mL	µg/mL	
TSC-1	62,5	62,48 (32,93)	0,99
TSC-2	62,5	96,27 (38,99)	1,54
TSC-3	625	65,24 (25,15)	0,10
TSC-4	15	72,94 (17,85)	4,86
TSC-5	3,90	40,82 (4,03)	10,46

CIM: concentração inibitória mínima, DP: desvio padrão.

Considerando o IS em relação à cepa padrão H₃₇Rv, foi observada uma ampla gama de valores. A TSC-3 apresenta o menor IS - 0,10 - o que indica pouca seletividade da substância. Por outro lado, a TSC-5 se destacou com o IS mais alto de 10,46, o que sugere uma maior seletividade, sendo mais tóxica para bactéria, que para linhagem de células testadas. As substâncias TSC-1, TSC-2 e TSC-4 tiveram IS de 0,99, 1,54 e 4,86, respectivamente, o que indica diferentes índices de seletividade.

Desse modo, a substância TSC-5 aparenta ser a mais promissora. Com uma Média CC₅₀ de 40,82 µg/mL, sendo a menor entre as avaliadas, ou seja, tem um considerável potencial citotóxico, e seu IS de 10,46 sendo o mais alto, indicando ser mais seletivo entre a série de derivados estudados. Essa combinação de alta potência e alta seletividade é uma característica muito importante para o desenvolvimento dos novos fármacos antituberculose, já que indica que a TSC-5 pode ser capaz de agir contra a bactéria com menor risco de toxicidade às células do hospedeiro.

Por outro lado, a TSC-3 apresenta um média CC₅₀ intermediária (65,24 µg/mL) e um IS de apenas 0,1. O seu perfil de baixa seletividade é desfavorável para uso como um antimicobacteriano.

A substância TSC-2 apresentou a maior média de CC₅₀ (96,27 µg/mL), indicativo de que é a menos citotóxica dos compostos. Apesar de ter um CC₅₀ elevado, seu IS (1,54) pode ser um fator limitante, como um antimicobacteriano.

As substâncias TSC-1 e TSC-4 apresentaram valores intermediários de Média de CC₅₀ (62,48 µg/mL e 72,94 µg/mL, respectivamente). No entanto, IS da TSC-1

(0,99) é muito próximo de 1, o que implica em baixa seletividade para as células alvo. Esta falta de seletividade torna a TSC-1 menos interessante para o desenvolvimento de fármacos, pois os benefícios terapêuticos podem ser equivalentes aos efeitos tóxicos inespecíficos. Por outro lado, a TSC-4 apresentou um IS de 4,86, indicando boa seletividade. Embora seu IS não seja tão alto quanto a de TSC-5, a seletividade de TSC-4 torna-a candidata a ser otimizada, principalmente caso as modificações estruturais puderem aumentar sua atividade, sem, no entanto, comprometer esta seletividade.

CONCLUSÕES

Dessa forma, a TSC-5 destacou-se como a substância mais promissora entre as avaliadas, por apresentar melhor relação entre concentração citotóxica e índice de seletividade. As substâncias TSC-2 e TSC-4 também se mostram relevantes e devem ser consideradas em estudos futuros visando à otimização de suas propriedades. Em contraste, a TSC-1 e, sobretudo, a TSC-3 exibiram perfis menos favoráveis, devido à baixa seletividade e/ou elevada toxicidade por diferentes mecanismos, o que limita seu potencial como agentes antimicobacterianos.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Maringá e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Prof. Dr. Fabio Vandresen do Laboratório de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), *campus* Londrina pela cessão das substâncias químicas.

REFERÊNCIAS

INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION. ICH M3(R2): *Non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals*. Geneva: ICH, 2009. Disponível em: https://database.ich.org/sites/default/files/M3_R2_Guideline.pdf. Acesso em: 30 ago. 2025.

Organização Mundial da Saúde (OMS). Relatório Global de Tuberculose 2024. Disponível em: <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2024>. Acesso em: 12 mai. 2025.

SHARMA, N.; SINGH, H. L. Spectroscopic, DFT, anti-bacterial, and *in-silico* investigations of novel semicarbazone and thiosemicarbazone synthesised from asymmetrical chalcones. **Next Materials**, v. 7, p. 100511–100511, 5 fev. 2025.

ZAHRA, S. B. et al. Versatile biological activities of thiosemicarbazones and their metal complexes. **Journal of Molecular Structure**, v. 1322, p. 140511, fev. 2025.