

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE *IN SILICO* DE DERIVADOS TRIAZENÍLICOS DE AMINOACETOFENONAS

Rafael F. A. Cardillo[1]; Viviane S. Lobo[2]; Mauricio F. Rosa[3]. mauricio.rosa@unioeste.br

[1]*Química Bacharelado, UNIOESTE/Toledo-PR*
[2]*Tecnologia em Processos Químicos, UTFPR/Toledo-PR*
[3]*PPG Química, UNIOESTE/Toledo-PR*
mauricio.rosa@unioeste.br

Palavras-Chave: compostos azóicos, triazenilacetofenonas, ProTox3.

Introdução

A resistência antimicrobiana (RAM) tem sido um dos principais desafios atuais para a saúde pública, uma vez que reduz a eficácia das estratégias de prevenção e tratamento de infecções causadas por diferentes classes de microrganismos, incluindo bactérias, vírus, fungos e parasitas. Esse fenômeno decorre da capacidade dos microrganismos de desenvolver mecanismos adaptativos frente à exposição a agentes antimicrobianos, incluindo antibióticos, antifúngicos, antivirais, antimaláricos e anti-helmínticos, o que favorece o surgimento de cepas resistentes aos tratamentos disponíveis (OPAS, 2026).

Em casos mais críticos, tais microrganismos podem apresentar resistência a múltiplas classes de medicamentos, sendo classificados como ultrarresistentes. Como consequência, à medida que os tratamentos disponíveis se tornam cada vez menos eficazes, amplia-se o potencial de transmissão entre indivíduos, tornando necessária a obtenção de novos compostos para o tratamento dessas infecções. Devido à limitação de dados diretos em escala global, o impacto da resistência antimicrobiana tem sido estimado por meio de modelos estatísticos baseados em grandes bancos de dados epidemiológicos, os quais permitem inferir a carga da doença em diferentes regiões. Nesse contexto, estimativas recentes indicam que a resistência antimicrobiana esteve associada a aproximadamente 4,95 milhões de mortes em nível global, sendo diretamente responsável por cerca de 1,27 milhão de óbitos, com maior impacto relacionado a infecções bacterianas (Murray *et al*., 2022).

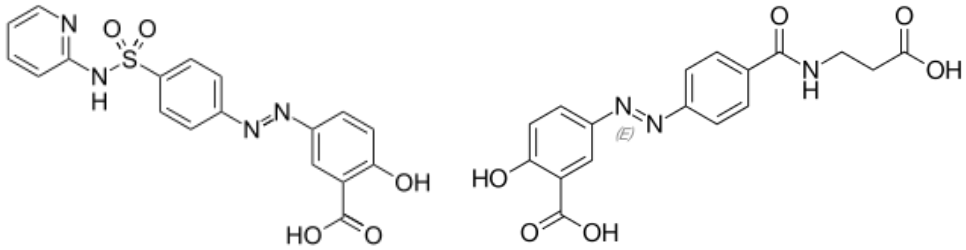
Entre os principais microrganismos associados à resistência antimicrobiana destacam-se *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*, como responsáveis por grande parte da carga global de infecções.

Compostos azoicos são definidos por uma ligação R-N=N-R, geralmente entre duas arila ou alquila, são comumente utilizados na indústria de corantes devido à coloração forte de seus compostos, e apresentam atividade biológica promissora, que tem despertado interesse

devido ao seu amplo espectro de atividades biológicas e aplicações terapêuticas (Shawali, & Samy, 2015).

Compostos azo naturais e/ou sintéticos representam uma classe valiosa de moléculas bioativas com diversas aplicações farmacológicas. Suas propriedades antitumorais, antimicrobianas e antibacterianas já confirmadas, juntamente com atividades previstas, destacam seu potencial como protótipos de fármacos e compostos líderes no desenvolvimento farmacêutico" (Dembitsky & Terent'ev, 2025).

Apesar de compostos azo e nitro apresentarem características que levam a ser consideradas pré-carcinogênicos, ainda assim são cotados como potenciais estratégias para o desenvolvimento de fármacos. A Pfizer, por exemplo, comercializa a sulfassalazina (Azulfidine®) (Figura 1A), um fármaco utilizado no tratamento de doenças inflamatórias intestinais cuja estrutura contém uma ligação azo. Da mesma forma, a Bausch Health, por meio do medicamento balsalazida (Colazal®) (Figura 1B) utiliza essa mesma aplicação para promover a liberação do princípio ativo no cólon.



A B

Figura 1 – A) Fórmula estrutural do ativo farmacêutico da sulfassalazina; B) Fórmula estrutural do ativo farmacêutico da balsalazida.

Esses exemplos demonstram que compostos azo não possuem apenas importância industrial na produção de corantes, mas também despertam interesse farmacêutico devido ao seu potencial em sistemas de liberação direcionada de fármacos e no desenvolvimento de novas moléculas bioativas.

Dentre os heterociclos empregados neste trabalho destacam-se a piperidina, a pirrolidina e a morfolina. A piperidina é um dos núcleos nitrogenados mais frequentemente utilizados em fármacos e compostos bioativos, estando associada a atividades antimicrobiana, anti-inflamatória, analgésica e antitumoral. A pirrolidina, por sua vez, é considerada um importante estrutura na química medicinal, sendo encontrada em moléculas com propriedades antimicrobianas, antivirais e antitumorais.

Já a morfolina é amplamente utilizada no desenvolvimento de fármacos devido à sua capacidade de melhorar propriedades como solubilidade e biodisponibilidade, além de estar presente em compostos com atividades antifúngica, antibacteriana, antiparasitária e antineoplásica (termo farmacológico que se refere a medicamentos e substâncias utilizados para prevenir, inibir ou destruir o crescimento de tumores malignos e sua disseminação).

Dessa forma, a incorporação desses heterociclos aos derivados triazenílicos sintetizados, pode contribuir para a modulação de suas propriedades físico-químicas e biológicas, justificando a escolha dessas estruturas como componentes dos compostos investigados neste trabalho (Kumar & Narasimhan, 2018; Patel *et al*., 2015; Sharma *et al*., 2020.

Material e Métodos

A síntese das triazenilacetofenonas foi realizada tendo por base o artigo de Kaur *et al*. (2018), com adaptações (Figura 2). A primeira etapa consistiu na reação de diazotação da 4-aminoacetofenona (1,35 g, 10 mmol), 3 ml de ácido clorídrico concentrado em 8 ml de água, nitrito de sódio (0,69 g, 10 mmol) em 5 ml de água destilada, sob agitação e temperatura reduzida em banho de gelo, e em seguida adicionando 10 mmol das aminas cíclicas secundárias (morfolina, piperidina e pirrolidina). O meio então era neutralizado com uma solução saturada de carbonato de sódio, o produto sólido isolado por filtração à pressão reduzida, lavado com água destilada resfriada e a seco em dessecador. Os sólidos foram recristalizados em etanol, caracterizados por ponto de fusão, empregando um aparelho de determinação de ponto de fusão Fisatom 403D, e por espectroscopia na região do infravermelho médio por Refletância Total Atenuada (ATR) em um espectrômetro Perkin-Elmer Frontier.

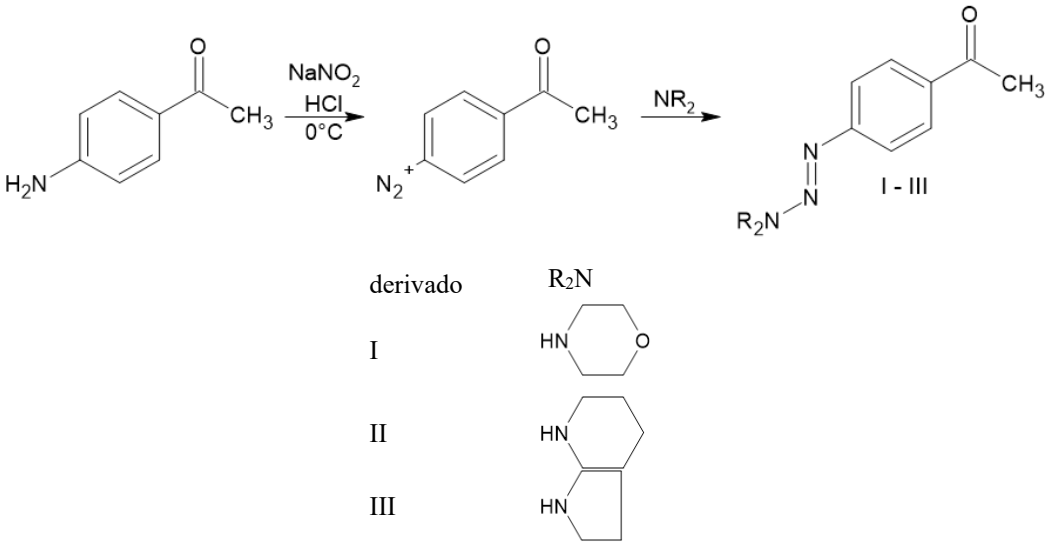


Figura 2 – Rota sintética para a obtenção dos três derivados triazenílicos.

A avaliação da toxicidade dos compostos obtidos foi realizada utilizando-se a plataforma ProTox 3.0. Esta plataforma, online e gratuita, utiliza inteligência artificial e modelos computacionais para prever a toxicidade de substâncias químicas de forma *in silico*, baseado em validação cruzada por similaridade de fragmentos, utilizando um total de 61 modelos para a predição de atividade toxicológica, como toxicidade aguda, toxicidade em órgãos, eventos moleculares iniciadores, metabolismo.

Resultados e Discussão

Todas as sínteses geraram, no primeiro momento, produtos sólidos que foram isolados por filtração e caracterizados por ponto de fusão (PF) (Tabela 1) e espectroscopia na região do infravermelho médio (IV).

Tabela 1 – Pontos de fusão (PF) dos derivados triazenílicos sintetizados neste trabalho, com a comparação com dados reportados na literatura.

Derivado	$PF_{Exp.}$ (ºC)	PF_{Lit} (ºC)	Ref
I	76,7	80-85	Kaur *et al*. (2018)
II	75	48-50	Das & Begum (2017)
III	78,6	-	-

Na literatura têm-se informações conflitantes em relação ao derivado I. Kaur *et al*. (2018) relatam que o produto obtido é um sólido cristalino de coloração laranja, a mesma cor observada por nós antes da recristalização, porém Das & Begum (2017) relatam que este mesmo derivado possui característica oleosa. Em relação ao derivado II, Das & Begam reportam ser um sólido de coloração vermelha, porém não menciona qual foi o solvente utilizado na recristalização, ou mesmo se esta foi realizada. Considerando que a estrutura do derivado I é muito semelhante à estrutura do derivado II, e considerando também que Das & Begum (2017) encontraram um produto de características oleosas para o derivado I, enquanto Kaur *et al*. (2018) um produto sólido, semelhante ao encontrado por nós, acredito que seja mais lógico colocar em dúvida os resultados obtidos pelo primeiro. Os espectros de FTIR apresentam as bandas compatíveis com aquelas relatadas na literatura (Kaur *et al*., 2018; Das & Begum, 2017).

Softwares de avaliação de toxicidade de moléculas orgânicas é uma ferramenta valiosa na tomada de decisões sobre a segurança farmacológica de uma determinada molécula, e é amplamente utilizada na pesquisa (Irsal *et al.*, 2024). Analisando a previsão de toxicidade, expressa pelo valor LD50 (dose letal para 50% de uma população de espécimes em estudo) dos derivados sintetizados (Figura 3), dado pelo ProTox 3.0, observa-se que o derivado I é o de maior toxicidade (classe de toxicidade 3), com LD50 de 54 mg/kg, enquanto os derivados II e III apresentam toxicidade similares (classe de toxicidade 4), com LD50 de 320 mg/kg.

A Figura 4 apresenta as indicações do modelo de toxicidade previstas pelo software. Os derivados I e II apresentam toxicidade respiratória e na BBB (blood-brain barrier), enquanto o derivado III, além destes dois tipos de ação apresentadas pelos derivados I e II, apresenta também efeitos carcinogênicos e mutagênicos. Segundo Banerjee *et al*. (2024), a toxicidade respiratória está associada a efeitos adversos, leves ou severos, no sistema respiratório, e a BBB está associada a permeabilidade da molécula atravessar a barreira hemato encefálica.

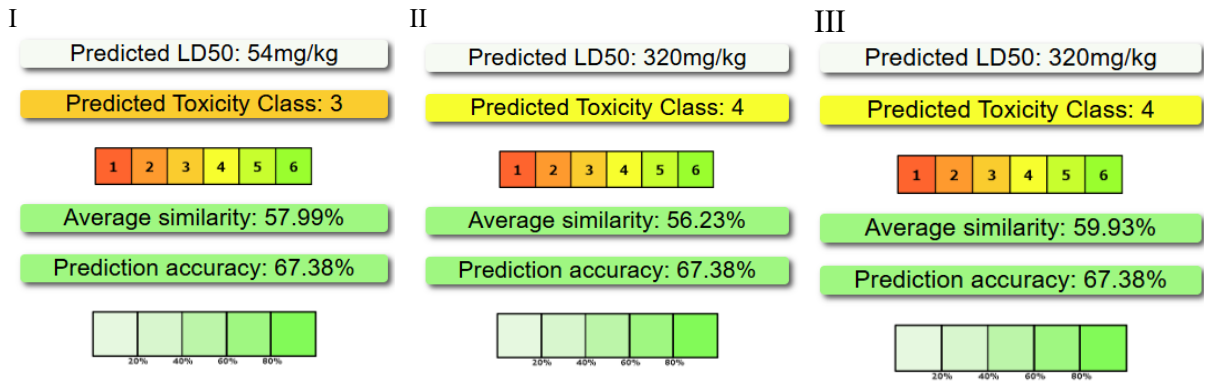


Figura 3 – Previsão de toxicidade pelo ProTox-3.0 para os derivados I, II e III.

(I)

Classification	Target	Shorthand	Prediction	Probability
Organ toxicity	Hepatotoxicity	dili	Inactive	0.72
Organ toxicity	Neurotoxicity	neuro	Active	0.63
Organ toxicity	Nephrotoxicity	nephro	Inactive	0.60
Organ toxicity	Respiratory toxicity	respi	Active	0.75
Organ toxicity	Cardiotoxicity	cardio	Inactive	0.77
Toxicity end points	Carcinogenicity	carcino	Active	0.67
Toxicity end points	Immunotoxicity	immuno	Inactive	0.99
Toxicity end points	Mutagenicity	mutagen	Active	0.64
Toxicity end points	Cytotoxicity	cyto	Inactive	0.64
Toxicity end points	BBB-barrier	bbb	Active	0.87
Toxicity end points	Ecotoxicity	eco	Active	0.61
Toxicity end points	Clinical toxicity	clinical	Active	0.55

(II)

Classification	Target	Shorthand	Prediction	Probability
Organ toxicity	Hepatotoxicity	dili	Inactive	0.75
Organ toxicity	Neurotoxicity	neuro	Active	0.66
Organ toxicity	Nephrotoxicity	nephro	Inactive	0.76
Organ toxicity	Respiratory toxicity	respi	Active	0.77
Organ toxicity	Cardiotoxicity	cardio	Inactive	0.68
Toxicity end points	Carcinogenicity	carcino	Active	0.68
Toxicity end points	Immunotoxicity	immuno	Inactive	0.98
Toxicity end points	Mutagenicity	mutagen	Active	0.63
Toxicity end points	Cytotoxicity	cyto	Inactive	0.67
Toxicity end points	BBB-barrier	bbb	Active	0.94
Toxicity end points	Ecotoxicity	eco	Active	0.62
Toxicity end points	Clinical toxicity	clinical	Active	0.54

(III)

Classification	Target	Shorthand	Prediction	Probability
Organ toxicity	Hepatotoxicity	dili	Inactive	0.73
Organ toxicity	Neurotoxicity	neuro	Active	0.68
Organ toxicity	Nephrotoxicity	nephro	Inactive	0.71
Organ toxicity	Respiratory toxicity	respi	Active	0.73
Organ toxicity	Cardiotoxicity	cardio	Inactive	0.68
Toxicity end points	Carcinogenicity	carcino	Active	0.71
Toxicity end points	Immunotoxicity	immuno	Inactive	0.98
Toxicity end points	Mutagenicity	mutagen	Active	0.74
Toxicity end points	Cytotoxicity	cyto	Inactive	0.70
Toxicity end points	BBB-barrier	bbb	Active	0.92
Toxicity end points	Ecotoxicity	eco	Active	0.63
Toxicity end points	Clinical toxicity	clinical	Active	0.51

Figura 4. Previsão do modelo de toxicidade dado pelo ProTox-3.0 para os derivados I, II e III.

Diante dos resultados apresentados verifica-se que os derivados sintetizados talvez não apresentem segurança farmacológica para serem utilizados como fármacos. Porém eles podem ser utilizados como moléculas de partida para obtenção de novas estruturas que possam ser investigadas quanto a sua toxicidade e atividade farmacológica. Por exemplo, a conversão de acetofenonas em chalconas é uma reação de simples realização, e a literatura apresenta vários relatos de atividade biológica de chalconas (Mahapatra *et al*., 2017; Ouyang *et al*., 2021; Elkanzi *et al*., 2022). A Figura 5 abaixo mostra a avaliação *in silico* da toxicidade de uma chalcona que pode ser obtida a partir do derivado I. Observa-se claramente a redução da toxicidade desta chalcona, quando comparada à toxicidade da acetofenona original (I).

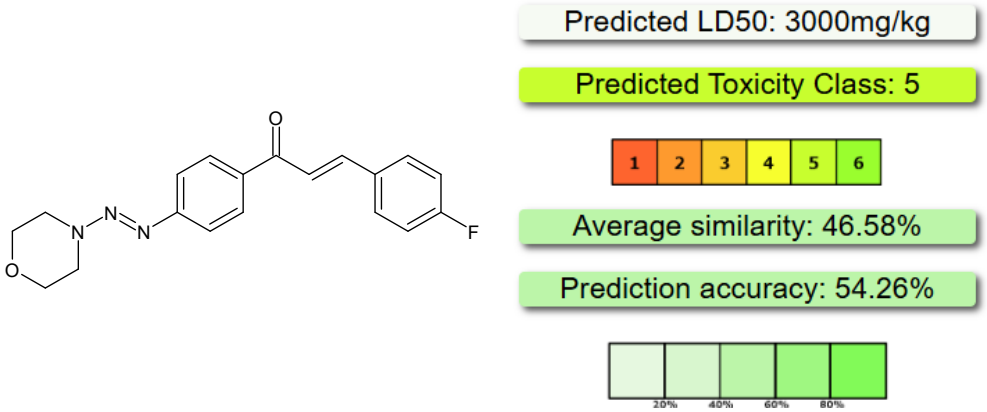


Figura 5 – Uma chalcona obtida a partir do derivado I que apresenta menor toxicidade pervista pelo software ProTox 3.0

Conclusões

A síntese dos derivados propostos não apresentou dificuldades, e foram obtidos com bons rendimentos. Infelizmente os ensaios *in silico* da toxicidade mostraram que os derivados obtidos apresentam níveis de toxicidade medianos, restringindo sua possível utilização como fármacos, porém podem servir como moléculas de partida para obtenção de novas moléculas com toxicidade inferior.

Agradecimentos

R. F. A. C. agradece ao MEC pelo suporte financeiro na forma de bolsa do Programa PET.

Referências

BANERJEE, P.; KEMMLER, E.; DUNKEL, M.; PREISSNER, R. ProTox 3.0: a webserver for the prediction of toxicity chemicals. **Nucleic Acids Research**, *52*, W513-W520, 2024.



DAS, P. J.; BEGUM, J. Synthesis of triazenes of N-heterocycles mediated by resin immobilized diazonium ions. **Asian Journal of Chemistry**, 29, 1125-1129 2017.

DEMBITSKY, V. M.; TERENT'EV, A. O. *Azo dyes and the microbial world: synthesis, breakdown, and bioactivity*. Microorganisms. N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Leninsky Prospect, 47, 119334 Moscow, Russia 2025.

ELKANZI, N. A. A.; HRICHI, H.; ALOLAYAN, R.; DERAFA, W.; ZAHOU, F. M.; BAKR, R. B. Synthesis of chalcones derivatives and their biological activities: A review. **ACS Omega**, *7*, 27769-27786, 2022.

IRSAL, R. A. P.; GHOLAM, G. M.; DWICESARIA, M. A.; CHAIRUNISA, F. Computational investigation of Y. aloifolia variegate as anti-Human Immunodifficency Virus (HIV) targeting HIV-1 protease: A multiscale in silico exploration. **Pharmacological Research – Modern Chinese Medicine**, *11*, 100451, 2024.

KUMAR, D.; NARASIMHAN, B. Therapeutic potential of piperidine derivatives: a patent review (2010–2015). **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, *28*, 43–66, 2018.

MAHAPATRA, D. K.; BHARTI, S. K.; ASATI, V. Chalcone derivatives: anti-inflamatory potential and molecular targets perspectives. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, *17*, 3146-3169, 2017.

MURRAY C. *et al*. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The Lancet**, *399*, 629-655, 2022.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). Resistência antimicrobiana. Disponível em: https://www.paho.org/pt/topicos/resistencia-antimicrobiana. Acesso em: 28 mar. 2026

OUYANG, Y.; LI, J.; CHEN, X.; FU, X.; SUN, S.; WU, Q. Chalcone derivatives: role in anticancer therapy. **Biomolecules**, *11*, 894, 2021.

PATEL, R. V. *et al*. Pyrrolidine: a versatile scaffold for medicinal chemistry. **European Journal of Medicinal Chemistry**., *97*, 356–376, 2015.

SHARMA, V. *et al*. Morpholine: a privileged structure in medicinal chemistry. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, *57*, 1941–1965, 2020.

SHAWALI, A.S.; SAMY, N. A. Functionalized formazans: A review on recent progress in their pharmacological activities, **Journal of Advanced Research**, *6*, 241–254, 2015.