



Universidade Federal de Santa Catarina
Centro Tecnológico, de Ciências Exatas e Educação
Engenharia de Materiais - Campus Blumenau

Louise Souza Santos

Uso de hidrogel para encapsulamento de tiossemicarbazonas como potenciais
candidatas ao tratamento da Doença de Alzheimer

Blumenau

2023

Louise Souza Santos

Uso de hidrogel para encapsulamento de tiossemicarbazonas como potenciais candidatas ao tratamento da Doença de Alzheimer

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Engenharia de Materiais do *Campus* Blumenau da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharelado em Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Aldo Sena de Oliveira

Blumenau

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Santos, Louise Souza

Uso de hidrogel para encapsulamento de
tiossemicarbazonas como potenciais candidatas ao
tratamento da Doença de Alzheimer / Louise Souza Santos ;
orientador, Aldo Sena de Oliveira, 2023.

67 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Blumenau,
Graduação em Engenharia de Materiais, Blumenau, 2023.

Inclui referências.

1. Engenharia de Materiais. 2. Hidrogel. 3. Doença de
Alzheimer. 4. Tiossemicarbazona. I. Oliveira, Aldo Sena
de. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação
em Engenharia de Materiais. III. Título.

Louise Souza Santos

Uso de hidrogel para encapsulamento de tiossemicarbazonas como potenciais candidatas ao tratamento da Doença de Alzheimer

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Engenheira de Materiais e aprovado em sua forma final pelo Curso de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Santa Catarina.

Blumenau, 22 de junho de 2023.



Acadêmica

Banca examinadora

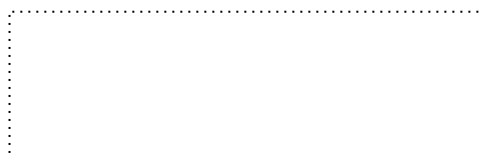


Prof. Dr. Aldo Sena de Oliveira - Orientador



Profa. Dra. Lara Fernandes dos Santos Lavelli

Universidade Federal de Santa Catarina



Profa. Dra. Claudia Merlini

Universidade Federal de Santa Catarina

Blumenau, 2023.

Este trabalho é dedicado a minha família por sempre me apoiar, por todo o amor incondicional.

Agradecimentos

Foi uma jornada longa e trabalhosa, cheias de altos e baixos. Não apenas o projeto do TCC, mas todo o caminho anterior a ele. Tenho orgulho em dizer que muitas pessoas me apoiaram e me incentivaram a seguir em frente e dar o meu melhor.

Quero agradecer ao meu orientador, Prof. Aldo Sena, por ser paciente e sempre achar alguma solução. E apesar de ter passado anos depois da nossa interação em sala de aula, ele me recebeu de braços abertos quando eu quis desenvolver algo da sua área. Serei sempre grata.

Sou imensamente agradecida a enorme ajuda que o Prof. Ismael Casagrande nos deu. Seu suporte foi decisivo nesse projeto. Apesar de nem me conhecer, sem hesitar se dispôs de seu tempo para me auxiliar. São pessoas como você que, me inspiram em sempre dar o meu melhor para os outros e para o mundo.

Aos professores pelo conhecimento, mas especialmente, àqueles que se dedicam em formar pessoas que admiram e gostam do que se envolvem, por causa do carinho deles. Àqueles que nos incentivam em toda a oportunidade que aparece. Àqueles que nos fazem mais fortes e seguros de nós mesmos, que constroem junto conosco. Serei sempre muito grata.

Aos colegas e amigos que também fizeram parte dessa história. Pelas ideias brilhantes e por compartilharem tantos momentos memoráveis. A vida é mais feliz pela presença deles.

À minha família pelas palavras de amparo, por ser a base que me sustenta, pelo carinho na pele, na mente e na alma. Por me fazer enxergar o doce da vida e por me ensinar a lidar com o amargo da vida. Pelo colo a todos os momentos, pela presença sempre marcante, pelo ombro amigo. Pelo amor infinito e eterno. Por me fazer ser resistente. Sou grata!

*"Do not go gentle into that good night.
Rage, rage against the dying of the light."*

Dylan Thomas

Resumo

A doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa, concebida como a maior causa de demência entre idosos com idade acima de 65 anos, que acarreta a perda de funções cognitivas, como memória e orientação. A DA, apesar de ter sido amplamente investigada nas últimas décadas, ainda é fonte de grandes questionamentos e incógnitas. Seu caráter neurodegenerativo, além de desenvolver sintomas irreversíveis, assola um número significativo de pessoas. Pacientes com DA leve a moderada são candidatos adequados para terapia com inibidores da colinesterase, como donepezil e rivastigmina, que foram aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA). Os fármacos utilizados no tratamento da DA apresentam uma ampla gama de efeitos adversos, o que implica na necessidade de novos fármacos que sejam eficazes terapêuticamente e que exibam menos efeitos. Dentre as classes de compostos a serem utilizados no contexto do desenvolvimento de fármacos, há um destaque para as tiossemicarbazonas (TSC), as quais têm sido extensivamente investigadas pelo nosso grupo de pesquisa e para as quais há um perfil farmacodinâmico relevante no contexto do desenvolvimento de materiais com propriedades úteis ao tratamento da DA. Portanto, o presente trabalho propõe a avaliação *in silico* de TSC para as quais foram investigados seus perfis farmacocinético e toxicológico ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade). Metodologicamente a pesquisa se sustenta nos pilares contemporâneos da área, para a qual foram combinadas investigações teóricas, por meio de plataformas digitais tais como SwissADME. Após a avaliação das propriedades, foi selecionado o composto mais promissor na aplicação do tratamento de DA, para o encapsulamento em hidrogel de alginato/carragenana e sua liberação em fluídos gastrointestinais simulados. O mecanismo de liberação envolve o pH do meio e o acompanhamento da efetivação da entrega do composto no meio desejado é através do ensaio UV-Vis. Através dos espectros foi possível determinar a liberação da TSC na simulação ao meio gastrointestinal (pH 0,9 e 6,6), 29% e 87% respectivamente, o que encorajam novas pesquisas para verificar o potencial desse composto no desenvolvimento de fármacos com propriedades anti-DA.

Palavras-chave: Hidrogel; Doença de Alzheimer; Tiossemicarbazona.

ABSTRACT

The Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease, conceived as the biggest cause of dementia among elderly people, from the age of 65 years and forward, with symptoms like cognitive functions lost, as memory and orientation. The AD, despite the high number of investigations in the last decades, it still a source of huge questions. The neurodegenerative aspect, besides to developing irreversible symptoms, also reach a great number of people. AD's patients with moderate symptoms are therapy candidates with cholinesterase inhibitors, as donepezil and rivastigmine that are Food and Drug Administration (FDA) approved. Unfortunately, the drugs that are used on the AD's treatment presents various adverse effects, which implies that there is a need of more effective new drugs, with less effects. Among the compound's classes in the drug development context, there is a focus in the thiosemicarbazones that are being extensively investigated by our research team, for which has a relevant pharmacodynamic profile in the development of useful properties materials to AD's treatment. Therefore, the present project proposes the thiosemicarbazones evaluation *in silico*, which the pharmacodynamic profile and toxicological were investigated through ADMET (absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity). The methodology sustains in the area contemporary pillars, which it was combined theoretical investigations through digital platforms as SwissADME. After the property's evaluation, it was selected the most promising compound to the application of AD's treatment, to go forward to the hydrogel encapsulation with alginate/carrageenan and your release, simulated gastrointestinal fluids. The release mechanism involves the environment pH and the detection of your delivery was through UV-Vis rehearsal. The specters allowed to see that the compound was effectively release in the gastrointestinal fluid simulation (pH 0,9 and 6,6), 29% and 87% respectively, which encourage further research to verify the potential of this compound in the development of drugs with anti-AD properties.

Keywords: Hydrogel; Alzheimer's disease; Thiosemicarbazones.

Lista de Figuras

Figura 1 - Estrutura química do alginato, bloco M é o ácido β -D-manurônico e o bloco G é o ácido α -L-gulurônico, onde tem-se as organizações MM (A), GG (B) e MG (C)	21
Figura 2 - Estrutura química do kappa-carragenana.....	22
Figura 3 - A primeira imagem é de um cérebro saudável e a segunda é de um cérebro com DA.	26
Figura 4 - Página do SwissADME com as propriedades da molécula avaliada.	31
Figura 5 - Radar de bioviabilidade.	32
Figura 6 - Imagem do BOILED-Egg de uma molécula analisada, onde a região branca é indicação da absorção gastrointestinal (HIA) e a região amarelo permeabilidade da barreira hematoencefálica (BBB).	35
Figura 7 - Fórmula química geral das tiossemicarbazonas.	37
Figura 8 - Preparação de hidrogéis.....	39
Figura 9 - Hidrogéis distribuídos em placa petri para secagem. A imagem da esquerda antes de secagem e imagem à direita, após a secagem.	40
Figura 10 - Espectros de UV-VIS nas soluções tampões SGF e SIF com volumes diferentes da solução com o composto FI-1	41
Figura 11 - Estrutura química dos compostos analisados.....	43
Figura 12 - Gráficos indicando o grau das propriedades de solubilidade, polaridade, saturação, tamanho da molécula, flexibilidade e lipofilicidade.	48
Figura 13 - BOILED-Egg dos compostos analisados, indicando a permeabilidade da barreira hematoencefálica, BBB (região amarela) e absorção gastrointestinal, G (região branca).....	51
Figura 14 - Mudança visual dos beads após ser condicionado ao meio com pH 0,9 após 2 horas.	53
Figura 15 - Mudança visual dos <i>beads</i> após ser condicionado ao meio com pH 6,6 após 2 horas.	53
Figura 16 - Aparente reações dos <i>beads</i> nos meios SIF (esquerda) e SGF (direita)	54
Figura 17 - Curva de liberação do fármaco no meio SGF.....	55
Figura 18 - Curva de liberação do fármaco no meio SIF.....	57
Figura 19 - Curva de calibração no meio SGF.....	67
Figura 20 - Curva de calibração no meio SIF.....	67

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas dos compostos analisados.....	44
Tabela 2 - Faixas de solubilidade em água dos compostos analisados.....	45
Tabela 3 – Indicações de alguma violação das faixas determinadas por Lipinski, Ghose, Veber, Egan e Muegge, apontando a bioviabilidade do composto.	46
Tabela 4 – Indicações de alerta sobre reações falsas positivas (PAINS).	47
Tabela 5 - Propriedades farmacocinética de absorção gastrointestinal (GI), permeabilidade da barreira hematoencefálica (BBB) e Glicoproteína P (P-gp).	49
Tabela 6 - Tabela indicando as propriedades farmacocinética da inibição das isoenzimas da família do citocromo CYP450.	50

Lista de Siglas e Abreviaturas

ADME - Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção

DA - Doença de Alzheimer

m/v - Massa/volume

nm- nanômetros

P-gp - Glicoproteína P

SAR - Relação Estrutura-Atividade (*Structure-Activity Relationships*)

TSC - Tiosemicarbazonas

Sumário

Sumário

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
3.1 HIDROGEL.....	18
3.2 DOENÇA DE ALZHEIMER.....	23
3.3 QUÍMICA MEDICINAL NA MODERNIDADE	27
3.3.1 Swiss Adme	30
3.4 TIOSSEMICARBAZONAS.....	36
4. MATERIAIS E METODOLOGIA.....	38
4.1 MATERIAIS	38
4.2 PREVISÃO DE CARACTERÍSTICAS ADMET	38
4.3 PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO DO POLÍMERO	38
4.4 CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DO COMPOSTO FI-1	40
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	43
5.1 ESTUDOS ADME	43
5.2 LIBERAÇÃO DO COMPOSTO FI-1	52
6. CONCLUSÕES	59
REFERÊNCIAS.....	60
Apêndice – Gráficos das curvas de calibração	67

1. INTRODUÇÃO

Os avanços tecnológicos, decorrentes de pesquisas realizadas nos últimos anos, permitiram que houvesse mais aprofundamento em muitos estudos sobre mecanismos fisiológicos, conseqüentemente, também houve muitas descobertas de compostos e materiais que reagem benéficamente no organismo humano. Estas pesquisas dinamizaram o processo de descoberta de fármacos e permitiram uma quantidade de inovações terapêuticas significativas nos últimos anos, resultando em melhorias imensas na qualidade de vida da população mundial (GUIDO, ANDRICOPULO, 2008).

O processo de estudos de moléculas com potencial medicinal necessita de estratégias que permitam uma análise de possíveis alvos e das interações que possam racionalizar os mecanismos que envolvem o reconhecimento molecular entre ligantes e receptores, de modo a fornecer o grau de potência, afinidade e seletividade da molécula com o sistema biológico (GUIDO, ANDRICOPULO, 2008). Conforme há avanços nos estudos dessa área, mais detalhadas são as informações obtidas, mais dados são conhecidos e mais previsíveis são as reações em organismos, possibilitando a interação do potencial e relevância de compostos desde fases iniciais (SALUM, 2007).

A Doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa sendo a causa mais comum de demência em idosos (DE FALCO et al, 2016; ALAGIAKRISHNAN, BHANJI, KURIAN, 2013). Entre os aspectos que caracterizam a DA está o fato de ser uma desordem crônica, degenerativa e progressiva, isto é, seus sintomas pioram com o tempo, além de serem irreversíveis. Entre os sintomas estão a significativa perda de memória, e então, a perda cognitiva. Conseqüentemente, afeta gravemente o comportamento social do indivíduo e com o passar do tempo e a progressão da doença, não apenas as habilidades sociais se encontram prejudicadas, mas as funções físicas também, isto é, o paciente se torna quase que integralmente dependente de cuidados especiais (TOBBIN et al, 2021).

Apesar de haver um número significativo de pesquisas em desenvolvimento relacionados a DA, ainda não há tratamentos efetivos em vias de fato, apenas alternativos e paliativos. Nos Estados Unidos foram aprovados pela FDA (do inglês: *Food and Drug Administration*) alguns fármacos para o tratamento da DA: donepezil, galantamina, rivastigmina e rivastigmina. Entretanto, esses fármacos têm graves

efeitos adversos, incentivando a continuação e crescimento de estudos voltados para o desenvolvimento de novos fármacos (TOBBIN et al, 2021). Dentre as classes de compostos a serem utilizados no contexto desse desenvolvimento, há um destaque para as tiossemicarbazonas (TSC), as quais têm sido extensivamente investigadas pelo nosso grupo de pesquisa e para as quais há um perfil farmacodinâmico relevante no contexto do desenvolvimento de materiais com propriedades úteis ao tratamento da DA. Trabalhos desenvolvidos pelo grupo como investigações de estudos quânticos e modelagem molecular de TSC para tratamento da doença de Chagas, por exemplo, entre outros.

E para maior a eficácia da função do composto escolhido, uma área que vem sendo muito trabalhada é a liberação controlada do fármaco, que além de garantir a ação e eficácia do composto, também está sendo avaliado um maior tempo de ação, maior segurança e menores evidências tóxicas. Para que isso ocorra sem efeitos adversos, são avaliados uma variedade de materiais e técnicas de veículo do composto, menor quantidade de doses e melhor direcionamento do fármaco em si, havendo uma possibilidade muito maior de atingir o alvo desejado (VELLOSO, 2008).

Para este trabalho, com o objetivo de liberação do fármaco, chama-se a atenção uma vertente bastante explorada nessa área, os hidrogéis, com característica de intumescência e solubilidade, essas matrizes sofrem desgaste ou alguma reação com o meio que são expostas, no caso, na etapa em que foi planejada a liberação do fármaco, que é dissolvido no meio e então são incentivados a agir. Ou seja, a matriz polimérica que envolve o composto e o transporta pelo organismo é o hidrogel sem que haja efeitos nocivos e aumentando a aplicabilidade do fármaco (PEDROSA, 2013). Outra forma de avaliar a escolha pelo hidrogel, é o seu comportamento no organismo, por ter elevada absorção de solventes, em especial, a água, podendo ser até 99% da sua composição, fornece a semelhança físico-química, juntamente com a sua propriedade de biocompatibilidade, da matriz polimérica com o meio em que está. Garantindo assim, um transporte e liberação efetiva no organismo humano, sem que manifeste nenhum efeito adverso (MONTEIRO, 2014).

Portanto, o objetivo dessa pesquisa é realizar uma triagem inicial das TSC *in silico* com a ferramenta ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade), traçando seu perfil toxicológico e farmacocinético. Após a triagem, a TSC com os perfis ADMET mais promissores foi submetida a estudos de encapsulação com encapsulamento do composto com hidrogel por sua biocompatibilidade e

atoxicidade, para as quais foram realizados estudos cinéticos envolvendo a sua liberação no organismo.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Selecionar através do perfil ADMET *in silico*, um composto do tipo TSC mais promissor ao tratamento da DA, realizar o seu encapsulamento com hidrogel e verificar a sua liberação em fluidos gastrointestinais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar, utilizando metodologias *in silico*, o perfil farmacocinético e toxicológico de uma série de TSC;
- Selecionar o composto com perfil farmacocinético mais favorável a um candidato ao desenvolvimento de fármacos para o tratamento da DA;
- Avaliar a encapsulação do composto mais promissor em hidrogel de alginato/carragenana e sua liberação em fluídos gastrointestinais simulados;

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 HIDROGEL

O tratamento para a Doença de Alzheimer vem sendo amplamente estudado nas últimas décadas, porém, também é um fator a considerar a forma de administração desses compostos sendo desenvolvidos. Um dos formatos que estão sendo explorados para alcançar a região de ação do fármaco é a entrega seletiva do composto, onde por meio de administração oral é absorvido na região gastrointestinal e alcançando o cérebro posteriormente. Havendo, então, necessidade de um estudo tanto farmacocinético, avaliando os obstáculos que esse método oferece, como o próprio metabolismo, e o material que tem o papel de encapsular, transportar e liberar o fármaco (CUNHA, 2015). Focando sempre no meio menos incômodo de administrar fármacos conforme o paciente apresenta sintomas que podem interferir no seu consumo.

O sistema de liberação controlada de fármacos (SLC) é um aspecto que faz parte da investigação da aplicação de um novo composto, é um mecanismo que envolve multidisciplinaridade. Ao avanço dessa área, veio a exploração de novas tecnologias que envolvessem eficácia de aplicação dos fármacos, diversidade em técnicas de encapsulamento, maior proteção e estabilidade, menores custos e técnicas de ocultação de sabores indesejáveis (VELLOSO, 2008).

Os polímeros vêm sendo a base de muitas evoluções na história recente da tecnologia, e justamente por causa de suas numerosas características, os polímeros possibilitam diversas aplicações que antes não eram fáceis de elaborar por ausência de um material tão versátil (PEDROSA, 2013). Na área da química medicinal e o desenvolvimento de novos fármacos, muitos alvos se tornaram mais fáceis de alcançar pelas propriedades que os polímeros oferecem. Como por exemplo, o mecanismo de ter como função o envolvimento físico sobre o composto, estando disperso sobre a matriz polimérica, e através de reações químicas e físicas sobre o material, há a liberação do fármaco dentro do organismo, ou seja, suas características podem fornecer reações que favorecem a efetividade do composto atingir o alvo, ou pelo menos liberar o fármaco em uma etapa que favoreça a sua atividade (PEDROSA, 2013).

Entre as grandes vantagens do estudo da liberação do fármaco estão, como já citado anteriormente, a eficácia da função do composto liberado, maior tempo de ação, maior segurança e menores evidências tóxicas, variedade dos materiais e técnicas de veículo do composto, menor quantidade de doses e melhor direcionamento do fármaco em si, havendo uma possibilidade muito maior de atingir o alvo desejado (VELLOSO, 2008). Os polímeros mais procurados nesse papel seriam aqueles que se apresentam biocompatíveis, inertes, isto é, reagirem apenas com que é necessário e planejado, com propriedades mecânicas resistentes que possam possibilitar o transporte dos compostos, mecanismos simples de síntese/fabricação, remoção do organismo e administração do fármaco (VELLOSO, 2008). Os biopolímeros, além de terem a funcionalidade de se decompor por determinadas reações, enzimáticas, por exemplo, como necessário na aplicação de liberação de fármaco, também têm outras vantagens, como a fonte renovável (MONTEIRO, 2014).

Com o objetivo de liberação do fármaco onde ele pode agir mais efetivamente, uma vertente bastante explorada são os hidrogéis, com característica de intumescência e solubilidade, formam matrizes hidrofílicas, sendo os mais comuns derivados de celulose e polissacarídeos. Então, essas matrizes sofrem desgaste ou alguma reação com o meio que são expostas, no caso, na etapa em que foi planejada a liberação do fármaco, que é dissolvido no meio e então são incentivados a agir (PEDROSA, 2013). Outra forma de avaliar a escolha é o seu comportamento no organismo, por ter elevada absorção de solventes, em especial, a água, podendo ser até 99% da sua composição, fornece a semelhança físico-química, juntamente com a sua propriedade de biocompatibilidade, da matriz polimérica com o meio em que está. Garantindo assim, um transporte e liberação efetiva no organismo humano, sem que manifeste nenhum efeito adverso (MONTEIRO, 2014).

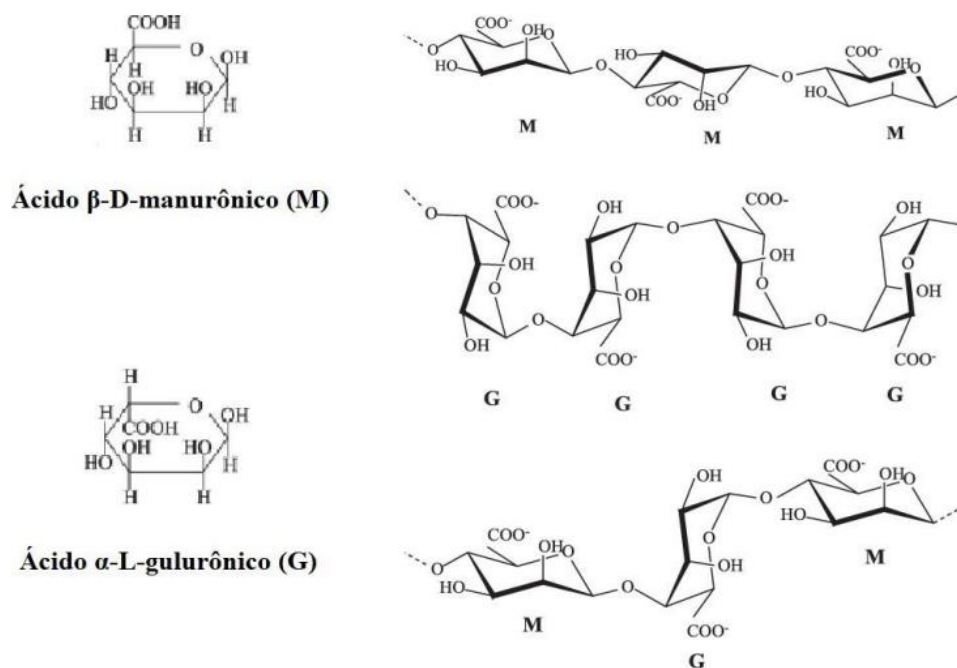
Os hidrogéis são formados por reticulações, ou rede tridimensional, que podem ser produzidos a partir de colágeno e algas, por exemplo. Sua estrutura de rede permite uma alta capacidade de reter água, devido aos grupos hidrofílicos como $-OH$ e $-CONH_2$ (SILVA, 2020). Esses materiais têm elevada biocompatibilidade, grande parte devido a sua retenção de água, que se assemelha à estrutura da sua fonte. Além de agregar no aspecto biológico, também acrescenta nas propriedades mecânicas (MONTEIRO, 2014). As ligações cruzadas presentes nos hidrogéis fornecem um comportamento elástico e viscoelástico, sendo orientadas suas

estruturas predominantemente rígidas ou elásticas através da polarização do meio (SILVA, 2020). Isto é, suas propriedades e comportamentos mecânicos, físicos e químicos estão diretamente relacionados a densidade, ou quantidade, de ligações cruzadas, a reticulação do hidrogel formado. Conseqüentemente, a taxa de liberação da carga contida no hidrogel também depende do grau de reticulação (MONTEIRO, 2014).

O intumescimento se deve a capacidade das reticulações reterem um volume significativo, suportando uma carga de moléculas sem que rompa. Essa capacidade também está diretamente ligada a densidade, ou o grau de reticulação. E não apenas as suas propriedades mecânicas têm interferência direta com essa densidade de ligações, como também a taxa de degradação do material. E entre os mecanismos que fomentam a degradação estão as reações de hidrólise, de dissolução e enzimática (MONTEIRO, 2014).

Entre os materiais que são utilizados na produção de hidrogéis, os polissacarídeos são muito utilizados. O alginato de sódio, que é um copolímero linear que pode ser obtido através de alga marrom ou bactérias, composto por ácido α -L-gulurônico e β -D-manurônico e ligações glicosídicas (VELLOSO, 2008; SILVA, 2015). Sua síntese determina a estrutura de formação de blocos do copolímero, sendo distribuídos diferentemente como mostra a Figura 6 (SILVA, 2020). O alginato de sódio tem sua formação como hidrogel quase espontânea, com elevada viscosidade, suas propriedades mais atrativas, principalmente em estágio inicial de escolha do polímero para aplicação na área farmacêutica, é sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa toxicidade (SILVA, 2015).

Figura 1 - Estrutura química do alginato, bloco M é o ácido β -D-manurônico e o bloco G é o ácido α -L-gulurônico, onde tem-se as organizações MM (A), GG (B) e MG (C)

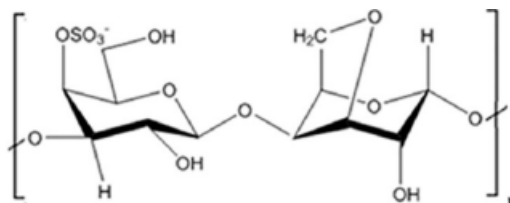


Fonte: Silva (2020).

Um dos fatores que chama a atenção na classe de hidrogéis é a sua capacidade de adsorver. Por esse mesmo motivo, a possibilidade de trabalhar na manipulação de suas propriedades através de adições de outros materiais se torna destaque no estudo da sua possível aplicação. Um candidato a contribuir à composição é o κ -carragenana, um polissacarídeo, com as propriedades básicas para aplicação na área medicinal como biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa toxicidade. É derivado de algas e tem grupos superficiais aniônicos (DUMAN *et al*, 2020). Carragenana (CG) é um grupo de moléculas de elevada massa molar com enxofre em sua composição, o que fornece seu caráter aniônico, mais especificamente, composto pelas unidades D-galactose, 3,6-anhidro-galactose juntamente com α -1,3 e β -1,4-glicosídeo (ZIA *et al*, 2017). Sua fonte são as algas vermelhas, da família Rhodophyceae e entre os gêneros mais comuns está a *Kappaphycus*, dando origem a kappa-carragenana, ou κ -carragenana (kC), (ZIA *et al*, 2017). O κ -carragenana tem como papel gelificante e estabilizante a partir da presença de cátions, tendo sua estrutura química linear. O mecanismo da interação eletrostática entre o ânion do sulfato presente no κ -carragenana e o cátion da outra solução, é considerado de caráter físico. Isto é, determina propriedades do hidrogel,

como sua textura, grau de retenção, entre outros, através de concentrações dos compostos na solução (LIU, OMER, OUYANG, 2018).

Figura 2 - Estrutura química do kappa-carragenana.



Fonte: Duman *et al* (2020).

Uma das maneiras utilizadas na produção, são os chamados de *beads*. Os *beads* têm uma forma esférica quando formados devido às interações iônicas entre os grupos ionizáveis presentes nos polímeros, apresentando uma estrutura polimérica em rede. Seu comportamento varia entre algo mais gelatinoso a algo mais rígido, dependendo, é claro, da sua composição e grau de reticulação (SILVA, 2020).

O mecanismo de criação dos *beads* é através da mistura controlada de uma solução à outra, acarretando a geração de hidrogéis em formato esférico quando as soluções entram em contato, por meio de gotas. Esse é o momento que inicia a formação da reticulação (SILVA, 2020). A reticulação em si pode ser definida como a ligação entre cadeias poliméricas, que ocorre através da interação entre cargas presentes nessas cadeias com a presença de um reticulante (MIHAILA *et al*, 2013).

A gelificação ocorre basicamente em duas fases, sendo que a primeira consiste na formação de uma mistura helicoidal em temperatura mais elevada, e então, o grupo sulfato, que é carregado negativamente, presente na κ -carragenana é neutralizado pela carga positiva do íon Ca^{2+} do CaCl_2 . A rede tridimensional, ou reticulação, ocorre posteriormente, com a diminuição da temperatura (SARIYER *et al.*, 2020). O CaCl_2 é um dos agentes reticulantes mais utilizados nesses casos, para a formação de hidrogéis, onde a intenção é formar uma estrutura segura o suficiente para encapsular um fármaco, mas que possa liberá-lo em determinadas condições (SILVA, 2020). Com o papel de formar o entrelaçamento entre as moléculas, o agente reticulante é responsável pelo grau dessa reticulação formada, dependendo diretamente de sua concentração (PEDROSA, 2013).

O alginato de sódio tem sua viscosidade modificada conforme a alteração do pH do meio. Portanto, o mecanismo de liberação do que está contendo no hidrogel

depende do pH, havendo uma faixa de atuação como transporte e proteção para o fármaco e outra faixa em que o material é desfeito e degradado, liberando o composto (SILVA, K., 2015). O meio em que altera a interação das ligações químicas do hidrogel estão diretamente relacionadas com o comportamento mecânico dos *beads*. A alteração do meio para um pH mais neutro aumenta ainda mais o potencial de intumescimento, conseqüentemente, diminuindo sua estabilidade, relaxando ou esticando as reticulações. Logo, com o aumento da instabilidade, a criação ou o crescimento de porosidades ou vacâncias e as reticulações sendo desfeitas, o composto que estava armazenado dentro das esferas são liberados no meio (SARIYER *et al.*, 2020).

3.2 DOENÇA DE ALZHEIMER

A DA é uma doença neurodegenerativa, uma patologia que os estudos apontam como sendo a causa mais comum de demência em idosos (DE FALCO *et al.*, 2016; ALAGIAKRISHNAN, BHANJI, KURIAN, 2013). As doenças neurodegenerativas, por sua vez, são definidas como patologias que têm neurônios destruídos, deteriorando a função cognitiva do cérebro de modo irreversível, ocasionando progressivamente a perda da função do sistema nervoso e, conseqüentemente, a progressão da doença leva à incapacitação do indivíduo (DE FALCO *et al.*, 2016). É estimado que existam em torno de 50 milhões de pessoas que sofrem de DA atualmente. É calculada uma média de 10 milhões de novos casos anualmente no cenário mundial. Analisando as estatísticas 7,1 % idosos de mais de 65 anos de idade, apresentam doenças degenerativas, dos quais 55% são causados por DA. No Brasil hoje, existem aproximadamente 1,2 milhões de pessoas diagnosticadas com DA (TOBBIN *et al.*, 2021).

A DA foi estudada pelo alemão Alois Alzheimer, um psiquiatra clínico que começou sua carreira médica em 1888, focado nos estudos sobre o cérebro humano e que se especializou em neuropatologia (LIMA, 2020). Muitos pesquisadores da época já estavam cientes sobre pacientes que apresentavam condições comportamentais que eram conhecidas como demência senil, comumente associada com o envelhecimento. As pessoas que apresentavam tal quadro, se sua família não tinha condições para oferecer cuidados especiais, eram enviadas a asilos ou hospitais psiquiátricos, locais onde ocorreram os estudos que identificaram e definiram a DA

(ENGEL, 2019). Ponto marcante dos registros iniciais da DA foi em 1901, a primeira paciente relatada, Auguste Deter, de 51 anos. Os sintomas descritos por seu marido eram de esquecimentos, delírios, agressividade e instabilidade no humor (ENGEL, 2019; LIMA, 2020). Então foram solicitados exames gerais e neurológicos na paciente, ambos os casos estavam normais. Após descartar outras possíveis doenças e condições, começou-se o estudo mais aprofundado, classificando os sintomas, como senilidade relacionada com perda de células neuronais (cerebrais e das glândulas linfáticas) (LIMA, 2020). Quando a paciente veio a falecer em 1907, Alzheimer solicitou o cérebro para entender melhor o comportamento de Auguste. A autópsia mostrou quantidade significativa de novos neurofibrilares dentro de células nervosas e placas senis (proteína beta-amiloide) ao meio dos neurônios (ENGEL, 2019). Após suas observações do caso, Alzheimer palestrou no 37º Congresso de Psiquiatria do Sudoeste da Alemanha, porém não houve nenhum interesse da comunidade acadêmica em relação às condições apresentadas por Auguste (LIMA, 2020). Alzheimer veio a falecer em 1915, seu colega Emil Kraepelin batizou a condição em sua homenagem em 1910 no Livro de Psiquiatria, com a intenção de mostrar a diferença da senilidade causada pela idade avançada por processo natural e a patológica. Entretanto, a doença continuou discreta na pauta da comunidade científica por décadas desde então, retornando a ser observada apenas quando o número de incidência começou a ser preocupante (ENGEL, 2019; LIMA, 2020).

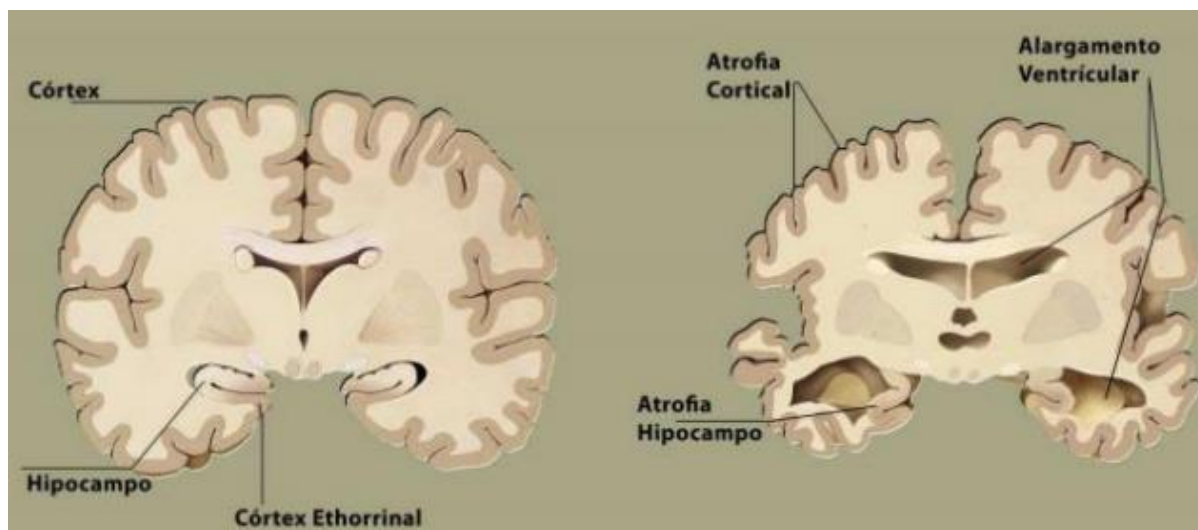
Apoiada pela estatística, a população da faixa etária mais avançada tende a crescer, por diversos motivos sociais atuais, e por isso algumas preocupações vêm à tona por haver consequências e novos cenários perante uma população com um número cada vez maior de idosos. Uma dessas situações é o aumento, também, das doenças, como as doenças neurodegenerativas, a demência, por exemplo (APRAHAMIAN, MARTINELLI, YASSUDA, 2008). Desde que foi identificada, a DA dentro da esfera da demência é a mais comum e que vem crescendo em casos, chamando a atenção mundial, incentivando muitas pesquisas a serem desenvolvidas, na área medicinal e em outras áreas, como o segmento social (ENGEL, 2019). A demência prejudica seriamente o comportamento da pessoa afetada pela DA, necessitando de cuidados especiais que vão agravando com o tempo. A degradação gradual atinge tanto em aspecto físico quanto sociais e mentais, e conseqüentemente, surgem preocupações com as pessoas que sofrem com DA, transformando em um

problema social que tende a crescer cada vez mais com o aumento da população idosa (DADALTO, CAVALCANTE, 2021).

Entre os aspectos que caracterizam a DA está o fato de ser uma desordem crônica, como já citado antes, degenerativa e progressiva. Com o passar do tempo e a progressão da doença, não apenas as habilidades sociais se encontram prejudicadas, a doença desenvolve perda das funções físicas também, isto é, o paciente se torna quase que integralmente dependente de cuidados especiais. A expectativa de vida do paciente desde o início da manifestação dos sintomas é de 10 a 12 anos (TOBBIN *et al*, 2021).

Fisiologicamente o que se observa é a presença significativa de placas senis, perda neuronal e novos neurofibrilares. Conforme houve avanços nos estudos sobre DA, notou-se um acúmulo significativo de proteína β -amilóide entre as próprias placas senis. Abordagens teóricas indicam que o acúmulo da proteína ocasiona a formação das placas e também, o acúmulo de proteína tau hiperfosforilada nos novos neurofibrilares (SMITH, 1999; TOBBIN *et al*, 2021). Continuam havendo, cada vez mais, pesquisas sobre o mecanismo que ocasiona o desenvolvimento da atrofia neural por ser possíveis meios para desenvolver, não apenas novos compostos para tratamento terapêutico da doença, mas também para desenvolvimento de marcadores para diagnosticá-la, já que esse processo ainda é muito subjetivo (CAVALCANTI, ENGELHARDT, 2012). Para melhor visualização do efeito da doença no cérebro, a Figura 1 apresenta a atrofia cortical ocasionada pela morte neuronal e o crescimento do tamanho dos sulcos e ventrículos cerebrais nas áreas hipocâmpais, ocorrendo então, a diminuição progressiva das funções cognitivas e motoras e demais sintomas (SOUZA, SANTOS, SILVA, 2021).

Figura 3 - A primeira imagem é de um cérebro saudável e a segunda é de um cérebro com DA.



Fonte: Souza, Santos, Silva (2021).

Através dos anos foram feitos muitos estudos sobre causas e tratamentos de DA, e dentro dessa esfera tem-se alguns fatores como genética e agentes etiológicos que chamam a atenção, justamente por serem possíveis chaves para grandes descobertas. Entre os casos diagnosticados, 33% são registrados como resultado de herança genética, esses mesmos casos tendem a manifestar sintomas precocemente. Outros fatores também foram associados à doença, como diabetes e doença cardiovascular (TOBBIN *et al*, 2021).

Os estudos para tratamento da DA consistem em fármacos que possam inibir colinesterases, conseqüentemente, aumentando a efetividade da acetilcolina, desviando a toxicidade do glutamato (TOBBIN *et al*, 2021). Apesar de haver um número significativo de pesquisas em desenvolvimento relacionados a DA, ainda não há tratamentos efetivos em vias de fato, apenas alternativas e paliativos. Nos Estados Unidos foram aprovados pela FDA (do inglês: *Food and Drug Administration*) alguns fármacos para o tratamento da DA, donepezil, galantamina, rivastigmina e rivastigmina. Entretanto, esses fármacos têm efeitos adversos, incentivando a continuação e crescimento de estudos voltados para novos compostos (TOBBIN *et al*, 2021). Dentre as classes de compostos a serem utilizados no contexto do desenvolvimento de fármacos, há um destaque para as TSC, as quais têm sido extensivamente investigadas pelo nosso grupo de pesquisa e para as quais há um

perfil farmacodinâmico relevante no contexto do desenvolvimento de materiais com propriedades úteis ao tratamento da DA.

3.3 QUÍMICA MEDICINAL NA MODERNIDADE

A descoberta e o desenvolvimento de um novo composto envolvem algumas etapas, que por essência, têm algumas áreas fundamentais para o seu avanço, como por exemplo a tecnologia, a inovação e investimentos em pesquisa e desenvolvimento (P&D) (GUIDO, ANDRICOPULO, 2008). O processo de desenvolvimento de um composto para aplicação na área da saúde pode ser definido no quadro geral em duas grandes fases, pré-clínica e clínica. A primeira fase se concentra em análises detalhadas sobre as moléculas investigadas, suas estruturas, suas propriedades, suas reações e potencialidades. Em resumo se trata de sua identificação e otimização. A segunda fase se concentra na validação das informações que a primeira fase proporcionou (GUIDO, ANDRICOPULO, 2008).

Juntamente com a evolução da tecnologia, também veio, seja por consequência das novas ferramentas ou o incentivo para elas serem criadas, novos métodos para identificar possíveis compostos para tratamentos, curas ou biomateriais que auxiliam na saúde humana (TERSTAPPEN, REGGIANI, 2001). O objeto desses estudos são biomoléculas e elas são estudadas e validadas com determinados objetivos, seja tratamento de sintomas, cura para doenças, melhorias do bem-estar, entre outros (TERSTAPPEN, REGGIANI, 2001). A química medicinal aborda o estudo de diversas áreas para que haja pesquisas completas sobre essas moléculas, envolvendo o aspecto de outras especialidades para que seja construído um conjunto de dados o mais completo possível. As etapas da pesquisa envolvem a descoberta ou seleção dos compostos a serem estudados, o desenvolvimento que inclui a análise de potencialidade do bioativo, a identificação de suas reações no organismo, entre outros, e então, seguir para seletividade e validação dos mesmos (GUIDO, ANDRICOPULO, 2008).

A partir de uma coleção de dados que indicam a possibilidade de interações benéficas, os próximos passos, normalmente, são as validações de suas reações em algo mais próximo possível do organismo humano antes de ser testado no ser humano em vias de fato. Modelos são utilizados, como em laboratórios com

procedimentos que imitam o organismo, método chamado de *in vitro*, e então modelos como os animais. Após as análises positivas, o estudo se encaminha para a etapa do próprio experimento em humanos, que é a validação definitiva, onde as reações adversas são consideradas em diversos cenários com outras possíveis variáveis, conhecido como método *in vivo* (TERSTAPPEN, REGGIANI, 2001).

Os métodos *in silico* estão sendo possíveis justamente a partir do avanço tecnológico que possibilitou outros métodos de avaliação de compostos para desenvolvimento de novos fármacos. Nesses métodos são simuladas as interações de moléculas com o organismo, através de banco de dados que tem informações de propriedades farmacocinéticas, físico-químicas e do metabolismo. Portanto, a técnica *in silico* é o motivo de diversos avanços tecnológicos na área de desenvolvimento de fármacos retornando com pesquisas de mais curto prazo que as tradicionais, mais econômicas e mais eficientes por haver a eliminação de diversos compostos em estágios iniciais, ou melhor, oferece maior seletividade (PELKONEN, TURPEINEN, RAUNIO, 2011; SHAKER et al, 2021).

Para que o andamento do estudo ocorra de forma eficaz é determinada a estratégia que vai ser aplicada anteriormente ao início das etapas em si. Algumas estratégias que estão em ascensão são ferramentas como triagem virtual, ou VS (do inglês: *virtual screening*), triagens biológicas automatizadas em larga escala, ou HTS (do inglês: *high-throughput screening*), relações qualitativas entre estrutura química e atividade, ou QSAR (do inglês: *quantitative structure-activity relationships*) (GUIDO, ANDRICOPULO, 2008).

Na primeira etapa, no início de toda a pesquisa, a avaliação é feita então através de modelagem molecular, existindo variadas técnicas (BORGES, 2018). Quando é estudado a fundo a estrutura tridimensional (3D) é avaliado o complexo em si do ligante/receptor, então é analisada o potencial de ação do composto (BORGES, 2018).

Existem duas técnicas bastante utilizadas, planejamento baseado na estrutura ligante, ou LBDD (do inglês: *ligand-based drug design*) e planejamento baseado na estrutura do receptor, ou SBDD (do inglês: *structure-based drug design*) (GUIDO, ANDRICOPULO, 2008). Esses métodos utilizam o modelo 3D da molécula para estudar suas interações, ou seja, sua potencialidade de ação. O SBDD tem algumas estratégias conhecidas como o estudo da dinâmica molecular, ou MD (do inglês: *molecular dynamics*) e docagem molecular (do inglês: *molecular docking*) (FERREIRA

et al, 2015). O modelo 3D é formulado através de dados obtidos em ensaios de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), cristalografia de raios X e modelagem por homologia (GUIDO, ANDRICOPULO, 2008). A partir dessas imagens é estudada a conformação, os mecanismos de interação e reação entre ligante e receptor, o bioativo e uma enzima, por exemplo. Então, é avaliado o comportamento estereoquímico e a eletrostática entre as estruturas é possível determinar a efetividade da ação desejada, o tratamento terapêutico, as influências físico-químicas (GUIDO, ANDRICOPULO, 2008; VERLI, 2014; FERREIRA et al, 2015). Nesse mapeamento são identificadas características como porosidades, vacâncias, fendas, em geral, sua topologia (FERREIRA et al, 2015).

O desenvolvimento do estudo pende bastante para como a molécula se comporta no organismo humano, independente de qual é o receptor alvo. Justamente por sempre envolver o metabolismo, por exemplo, o composto sempre é avaliado o comportamento perante o cenário das demais atividades do corpo, estudando-se os fenômenos envolvidos e determinando parâmetros necessários para haver a ingestão do composto e desempenho da sua função (GUIDO, ANDRICOPULO, 2008). Portanto, o processo de avaliação de um composto inicia-se com a avaliação da molécula, o grau de potencialidade a determinada aplicação, ou seja, o quão promissora aquela molécula pode ser. Após uma avaliação da sua relevância à específico alvo estudado, a sua capacidade reativa no processo fisiológico em questão, segue-se para mais uma avaliação mais minuciosa, começando o processo de afunilamento de parâmetros (SALUM, 2007).

Então, é investigada a capacidade da molécula de fato reagir ao alvo estudado, estabelecendo a primeira etapa de seletividade através da resposta esperada no cenário da doença ou anomalia que está sendo examinada. A seletividade é avaliada por meio das propriedades biológicas, assim como sua potencialidade (SALUM, 2007). A identificação das moléculas é determinada pela avaliação de diversos fatores visando a melhor perspectiva no cenário do alvo estudado, algumas das propriedades levantadas são afinidade, biodisponibilidade, toxidez (GUIDO, ANDRICOPULO, 2008). Dessa forma, é construído um perfil que contribui com uma coleção de compostos que tem como intuito direcionar a fase de pré-clínica como um meio de aumentar a efetividade da escolha dos compostos a serem explorados nas próximas etapas da pesquisa (SALUM, 2007).

As ferramentas computacionais são utilizadas para auxiliar na avaliação do comportamento de um conjunto de compostos selecionados para a aplicação e estudo, e com a ajuda de um banco de dados que fornece informações sobre propriedades das moléculas, como propriedades farmacocinéticas e físico-químicas, é possível otimizar os parâmetros de seleção de compostos que seguirão nas demais etapas do estudo como uma forma de triagem mais efetiva e econômica (SALUM, 2007). Uma das ferramentas que obtém uma quantidade considerável de informações qualitativas de moléculas é o ADME (Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção). O perfil de propriedades farmacocinéticas fornecido pelo ADME informa o comportamento, ou melhor, a interação em diversos aspectos ligados desde a administração do fármaco até a sua excreção (ROSA *et al*, 2022).

Quando já existem informações disponíveis sobre o material, é uma forma de eliminar etapas que seriam feitas antigamente, demandando menos tempo, otimizando a fase de conhecer sobre as moléculas e suas características, diminuindo os ensaios necessários para isso, ou seja, diminuindo os gastos também. Além disso, maior é a assertividade e seletividade dos compostos a serem necessárias validações nas etapas seguintes (SALUM, 2007).

Para análise do perfil ADME, atualmente já existem alguns softwares que auxiliam nas análises, como pkCSM, SwissADME, ADMETLab e Osiris (ROSA *et al*, 2021). Para esse estudo foi utilizado o SwissADME para os quais serão apresentadas maiores informações detalhadas dos parâmetros avaliados.

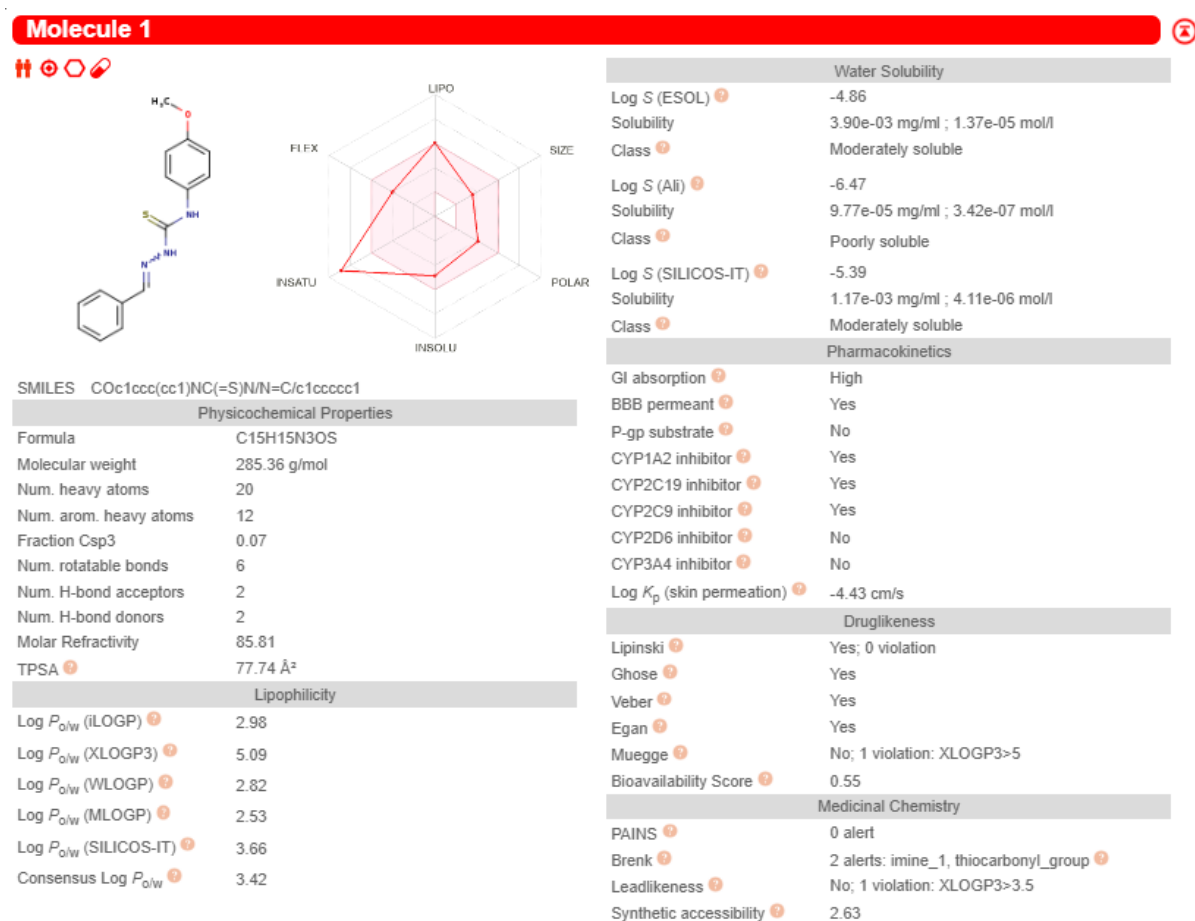
3.3.1 Swiss Adme

A análise de compostos pela ferramenta ADME (Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção) diminuiu consideravelmente as falhas que ocorrem em etapas mais avançadas de pesquisas por novos fármacos, consequentemente, aumentando a eficiência dos compostos que são liberados para o mercado (DAINA, ZOETE, 2016). Alguns dos aspectos que adianta muito o desenvolvimento do estudo é a forma como será administrado o composto, a bioviabilidade do método oral, por exemplo, a dose que alcançará a circulação sanguínea, absorção gastrointestinal, entre outros, são propriedades que podem ser avaliadas pela ferramenta ADME e que ao serem já consideradas no estágio inicial otimizam muitas validações em outras

etapas, além de evitar muitos problemas que surgem ao longo do caminho (DAINA, ZOETE, 2016).

O software Swiss ADME vem do Instituto Swiss de Bioinformática, ou SIB (do inglês: *Swiss Institute of Bioinformatics*), disponível no link <http://www.swissadme.ch/>. É uma página que é utilizada para fornecer informações (Figura 2), ou perfis, individuais de compostos, contendo uma molécula avaliada e seus valores de suas propriedades através do que é chamado de SMILES (do inglês: *simplified molecular input line entry system*), ou sistema molecular simplificado de entrada em linha que é basicamente uma notação da estrutura química (MT *et al*, 2020; FERREIRA *et al*, 2021).

Figura 4 - Página do SwissADME com as propriedades da molécula avaliada.

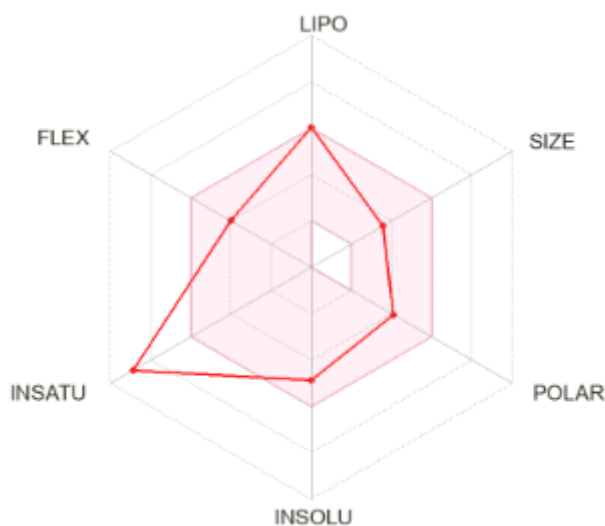


Fonte: Autora.

A primeira parte das informações fornece a estrutura química em formato 2D, juntamente com o radar da bioviabilidade da molécula que tem a indicação de seis propriedades físico-químicas: tamanho da molécula (*size*), insolubilidade (*insolu*),

polaridade (polar), instauração (insatu), flexibilidade (flex) e lipofilicidade (lipo), como mostra a Figura 3 (DAINA, MICHIELIN, ZOETE, 2017). Também é fornecido propriedades mais gerais da molécula, como sua fórmula química, massa molecular, que pode indicar absorção do composto, área de superfície polar topológica, TPSA (do inglês: *topological polar surface area*) e a indicação do transporte molecular passivo entre membranas, e outras propriedades (ROSA *et al*, 2022).

Figura 5 - Radar de bioviabilidade.



Fonte: Autora.

A seção sobre os valores de lipofilicidade vem do coeficiente de partição entre água e n-octanol, apresentando estimativas de $\log P_{OW}$ que advêm de variados métodos computacionais (DAINA, MICHIELIN, ZOETE, 2017; BORGES, 2018). Entre os valores fornecidos estão fatores de correção (XLogP3), energia livre de solvatação (iLogP) e fragmentação da molécula, método atomístico (WLogP), entre outros (BORGES, 2018). O aspecto de estudar a lipofilicidade é diretamente ligado a permeabilidade e solubilidade da substância, então através da razão da concentração da fase aquosa e fase orgânica, isto é, água e n-octanol, sendo assim determinado o grau de hidrofobia de cada átomo da molécula (ROSA *et al*, 2022).

A solubilidade na água é apresentada pelos valores de $\log S$, sendo que S representa a concentração da molécula em mol/L. As faixas indicam o estado de solubilidade do composto, valores maiores que 0 são considerados altamente solúveis, entre -2 e 0 é classificado como muito solúvel, entre -4 e -2 é solúvel, entre -6 e -4 é moderadamente solúvel e entre -10 e -6 é considerado pouco solúvel

(PINHEIRO SEGUNDO, 2020; OLIVEIRA, 2020). Existem três modelos que são calculados na solubilidade, ESOL, ALI e SILICOS-IT. Nos dois primeiros casos, suas equações se diferem da equação geral de solubilidade considerada tradicional, não considerando o ponto de fusão (OLIVEIRA, 2020).

A Farmacocinética apresenta os valores relacionados ao metabolismo, ou reações enzimáticas, mais especificamente sobre sua reação no fígado, através do estudo do citocromo CYP450, conhecido por ser uma família de monoxigenases (ROSA *et al*, 2022). O metabolismo hepático envolve reações de biotransformações que tem como intuito a hidrossolubilidade do composto, ou seja, mais polares, justamente para favorecer a sua eliminação. Essas reações são divididas em duas fases, a primeira induz reações de hidrólise, oxidação ou redução. Então, é analisada a possibilidade de a molécula causar inibição através da interação com isoformas da família, CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 e CYP3A4 (MARTINS, 2021; ROSA *et al*, 2022). Entre as isoformas presentes, CYP3A4, CYP2D6 e CYP2C9 são os principais destaques geradores dessas reações, especialmente a CYP3A4 que é responsável por 50% dos metabolitos de fármacos (ROSA *et al*, 2022). Porém, a indicação de suas inibições pode causar problemas como efeitos nocivos, tóxicos, que é ocasionado devido ao acúmulo do fármaco, ou seus produtos, no organismo, ou seja, consequência da falta de eficiência da eliminação do composto e seus metabólicos (SOUZA, OLIVEIRA, 2022). Entre as interações possíveis com a família CYP450 estão as reações esperadas do fármaco com a isoforma formando produtos mais favoráveis a eliminação, inibidores que produzem complexos que dificultam ou impedem completamente o metabolismo do composto, e os indutores que são ligantes que incentivam a produção da enzima CYP, e conseqüentemente, aumenta-se o metabolismo do composto (ROSA *et al*, 2022). A eliminação do fármaco ingerido, quando reage conforme o esperado com alguma isoenzimas citadas, transformando em um produto que metaboliza no organismo, pode ser excretado de variadas formas, seja através de vias renais (urina), ou outras vias, através dos pulmões, por exemplo.

Existem algumas formas de excreção ser efetiva, mas o mais importante é estudar se de fato haverá a biotransformação do composto para que haja as reações necessárias para que o produto possa ser eliminado do organismo (ROSA *et al*, 2022). Outro fator que é essencial para a excreção do fármaco é a Glicoproteína P (P-gp), a indicação da sua inibição, ou substrato, é evidência que pode haver problemas na eliminação do fármaco. O P-gp é uma proteína que está presente na

membrana celular de órgãos como pâncreas, intestino, rim, fígado, cérebro e placenta, e é responsável pelo transporte ativo de substâncias para fora da célula (SALES, 2023). Isto é, sua função é o transporte transmembranar como uma barreira biológica que pode eliminar toxinas e xenobióticos (MATTOS, 2022). Quando positivo o substrato, a molécula tem baixa biodisponibilidade, evidenciando atividade MDR, conhecido como fenômenos de resistência a múltiplos fármacos (SALES, 2023).

A tabela de valores nomeada Druglikeness, apresenta alguns aspectos de viabilidade da utilização da molécula, e para isso utiliza alguns parâmetros que certos autores determinaram para avaliar a biodisponibilidade oral da molécula (MARTINS, 2021; ROSA *et al*, 2022).

Quanto aos parâmetros, um dos considerados mais importantes é a regra de Lipinski, conhecida como a regra dos cinco, que examina a atividade da bioviabilidade oral dos compostos, definindo o alcance e as probabilidades do uso oral através da relação das propriedades físico-químicas dos compostos e a seus parâmetros farmacocinéticos (DAINA, MICHIELIN, ZOETE, 2017). Sob as regras dos cinco são estabelecidos parâmetros estruturais essenciais para determinar o que é chamado de perfil biodisponibilidade oral. O perfil é construído através da avaliação de absorção e a permeabilidade dos compostos, entre as regras estão massa molar menor ou igual a 500 g/mol, área de superfície polar menor ou igual 140 Å², coeficiente de partição octanol-água menor ou igual a 5, número de grupos receptores e doadores de ligação hidrogênio, menores ou igual a 10 e 5 respectivamente (BELTRAME, ROMERO, ROMERO, 2013). Violando os números das margens determinadas pelas regras de Lipinski há problema vinculado à biodisponibilidade da molécula avaliada (BELTRAME, ROMERO, ROMERO, 2013).

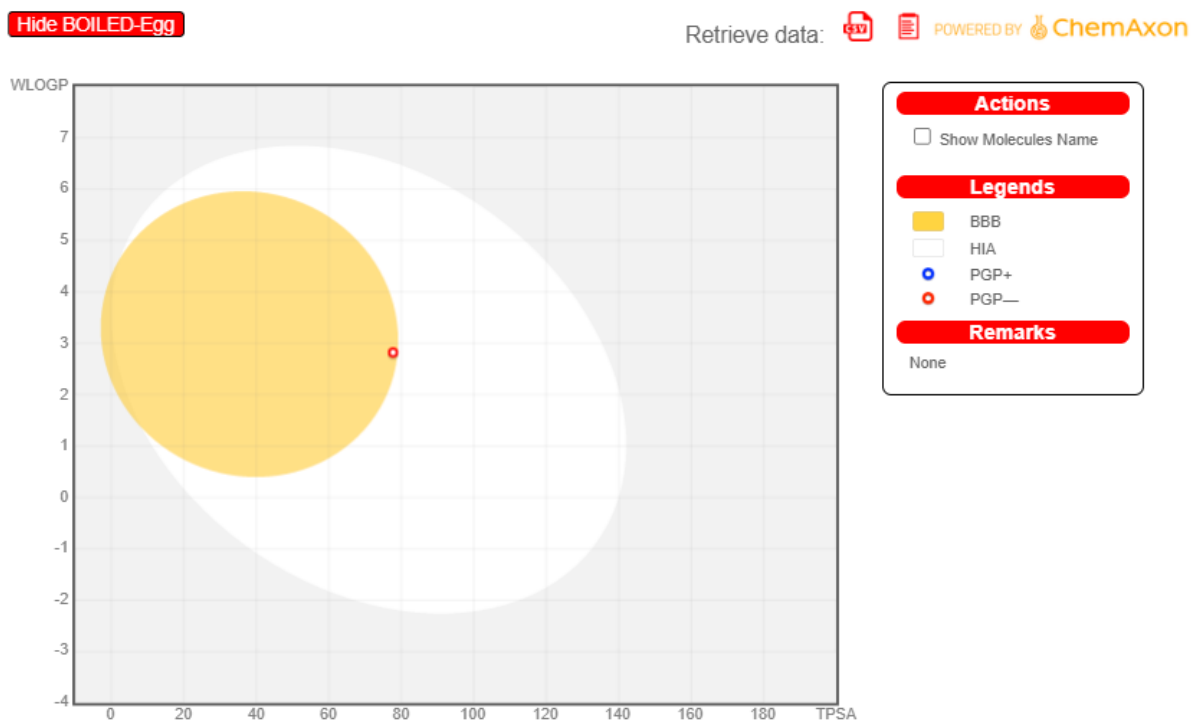
Outro autor que determinou a relação entre parâmetros para avaliar a biodisponibilidade da molécula é o Veber, ele considera o comportamento e a influência do volume e rigidez através da contagem de ligações rotacionais e da área de superfície polar topológica (TPSA), essas propriedades permitem que seja possível estimar a interação e permeabilidade da molécula a partir de sua estrutura química. Os parâmetros determinados por Veber foram TPSA menor que 140 Å² e uma contagem de ligações rotacionais menor que 10 (MARTINS, 2021).

Também são abordados os parâmetros do autor Ghose, que delimita a massa molecular entre 160 e 480 g/mol, número de átomos entre 20 e 70, refratividade molecular entre 40 e 130 e o WLogP entre -0,4 e 5,6. Muegge limita os parâmetros

de massa molecular entre 200 e 600 g/mol, TPSA menor ou igual 150 Å², WLogP entre -2 e 5, número de carbonos maior que 4, número de anéis menor ou igual a sete, entre outros valores. E por fim, Egan determinou as margens dos parâmetros da molécula para uma boa bioavaliabilidade do WLogP menor ou igual a 5,88 e o TPSA menor ou igual a 131,6 Å² (RESENDE, 2022).

Outro fator apresentado nos valores apresentados na farmacocinética a permeabilidade da barreira hematoencefálica, BBB (do inglês: *blood-brain barrier*), também é possível observar na imagem do BOILED-Egg, que é a relação entre BBB e HIA, a absorção gastrointestinal (do inglês: *human gastrointestinal absorption*), como é possível observar na Figura 4, onde a região amarela indica BBB e a branca, HIA. Nesta imagem é possível visualizar um perfil toxicocinético a partir desses dois parâmetros essenciais para a análise do composto, a imagem é construída pelas propriedades físico-químicas WLogP e TPSA, isto é, lipofilicidade e polaridade aparente (FERREIRA *et al*, 2021; ROSA *et al*, 2022).

Figura 6 - Imagem do BOILED-Egg de uma molécula analisada, onde a região branca é indicação da absorção gastrointestinal (HIA) e a região amarelo permeabilidade da barreira hematoencefálica (BBB).



Fonte: Autora.

A seção que denota alguns parâmetros da Química Medicinal tem como intuito reconhecer potenciais problemas através da avaliação de fragmentos da molécula. Como, por exemplo, o parâmetro PAINS (do inglês: *pan assay interference compounds*) que consiste em identificar os casos em que o composto pode reagir de tal forma que seja um falso positivo, descartando as moléculas que possam aparentar potencial, porém suas reações não são como eficazes na função que foi desenvolvida (SILVA, 2022).

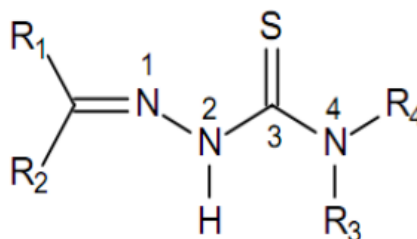
Dentre as classes de compostos a serem utilizados no contexto do desenvolvimento de fármacos, há um destaque para as TSC, as quais têm sido extensivamente investigadas pelo nosso grupo de pesquisa e para as quais há um perfil farmacodinâmico relevante no contexto do desenvolvimento de materiais com propriedades úteis ao tratamento da DA.

3.4 TIOSSEMICARBAZONAS

As tiossemicarbazonas (TSC) vêm sendo amplamente estudadas por alguns fatores na área da química medicinal, especialmente, na química medicinal inorgânica. Isso vem ocorrendo devido a capacidade quelante das TSC, assim como seu papel de coordenação em mecanismos bioquímicos e sua versatilidade na aplicação farmacológica (BERALDO, 2004). Justamente por essa amplitude de adaptações, há um leque muito grande de aplicações envolvendo atividades biológicas para as TSC, como atividades: antifúngica, antibacteriana, antitumoral, antiviral e antimaláricas (COSTA, 2020).

As TSC são compostos orgânicos com vastos estudos sobre suas possíveis aplicações, das quais estão se tornando cada vez mais amplas, e igualmente interessantes. A presença de enxofre e nitrogênio em sua composição, garantem interações químicas fortes e interessantes entre íons metálicos. Por pertencer à família das iminas, são considerados como base de Schiff (SILVA, 2013). A Figura 5 apresenta sua fórmula geral.

Figura 7 - Fórmula química geral das tiossemicarbazonas.



Fonte: Silva (2013).

Com relação aos aspectos sintéticos das TSC, existe uma variabilidade de obtenção de propriedades, para os quais há diversas aplicações e variações metodológicas (COSTA, 2020). A classe desses compostos é conhecida por importantes aplicações biológicas, justamente por causa das mudanças estruturais possíveis. Portanto, está surgindo estudos sobre as TSC na área de novos fármacos com foco na sua capacidade estrutural tem a oferecer (SILVA, 2013). Além de serem intermediários versáteis, as reações para sua obtenção geralmente têm processo de custo baixo, bons rendimentos e elevada quimiosseletividade (PERONDI, 2018).

As TSC são obtidas por reações de condensação entre cetonas e aldeídos (BITTENCOURT, 2016). Geralmente sua síntese envolve isotiocianatos e hidrazinas, mas há alternativas de reações, como hidrazina e ácidos tiocarbamoilglicólicos (ARAUJO, 2016).

Os estudos sobre os compostos de TSC e semicarbazonas apresentam ação de inibição sobre as enzimas, seja por complexação com metais ou por reações de oxi-redução. Outro fator que influencia muito na atenção desse composto para aplicação na saúde é a sua significativa baixa toxicidade (ARAUJO, 2016). Também vem apresentando indícios promissores agindo em doenças como malária. Mais recentemente, observa-se a oportunidade de estudos mais aprofundados, ainda abordando o mecanismo de inibição, em terapias anticâncer, por exemplo, já que foram apresentadas pesquisas que apresentaram evidências positivas das TSC neste papel (SENS *et al.*, 2018). Portanto, devido as suas propriedades de versatilidade e adaptações em diversos mecanismos biológicos, é importante conhecer e estudar as TSC.

4. MATERIAIS E METODOLOGIA

4.1 MATERIAIS

A solução polimérica foi composta por 2% (m/v) de alginato de sódio com 0,5% (m/v) de κ -carragenana. O agente reticulando utilizado para formar o hidrogel foi cloreto de cálcio (CaCl_2), na concentração de 1% (m/v). O composto escolhido após análise via *in silico* foi o composto **FI-1**, que foi diluído em etanol absoluto para haver sua mistura com a solução polimérica.

Para simular os cenários gastrointestinais, foram utilizadas as soluções tampões SGF (*Simulated Gastric Fluid*) com valor de pH 0,9 simulando o fluido gástrico, e SIF (*Simulated Intestinal Fluid*) com valor de pH 6,6 simulando o fluido intestinal.

4.2 PREVISÃO DE CARACTERÍSTICAS ADMET

As predições de características ADMET foram realizadas por meio da plataforma virtual SwissADME, de forma online e gratuita. Nesse site, foram obtidos os parâmetros mais promissores para candidatos a fármacos quanto às propriedades físico-químicas, administração oral, lipofilicidade, solubilidade, farmacocinética e outros. Estes resultados também foram analisados pelas regras de Lipinski e suas expansões. Essas regras foram usadas como um parâmetro para a avaliação das violações das propriedades físico-químicas das moléculas propostas para essa triagem virtual, bem como para otimizar a posterior proposição de novos substituintes para esta série de TSC.

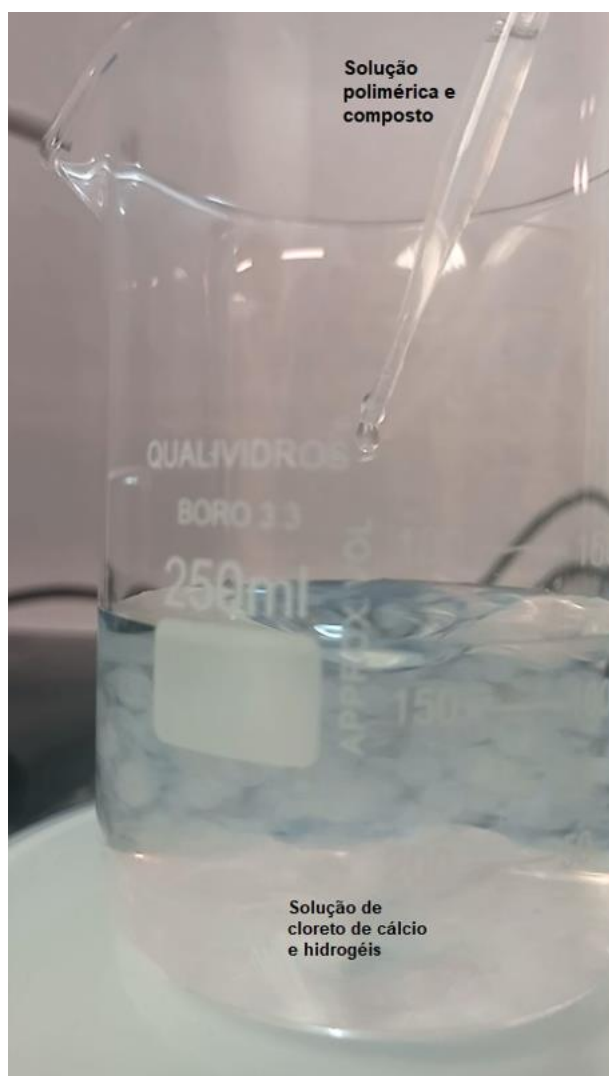
4.3 PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO DO POLÍMERO

A preparação da solução polimérica consistiu em uma solução aquosa (50mL) de alginato de sódio com κ -carragenana. A solução ficou sob agitação por 24h a 60°C com intuito de garantir homogeneização. Após esse tempo, separadamente, foi solubilizado 1 mg do composto escolhido, **FI-1**, em 1 mL de etanol absoluto. Em seguida, essa solução com o composto foi adicionada à solução polimérica que ficou

sob agitação por 1h a 60°C, novamente, para garantir uma homogeneização. Após, a solução polimérica com o composto foi retirada do aquecimento até que a temperatura estivesse estabilizada na temperatura ambiente.

Então, separadamente da solução polimérica junto com o composto, foi preparada outra solução aquosa de 100 mL com o agente reticulante, cloreto de cálcio (CaCl_2), que também foi agitada para sua homogeneização. Em temperatura ambiente, a solução polimérica com o composto (50 mL) foi adicionada gota-a-gota à solução de CaCl_2 (100 mL) em constante agitação, como mostra a Figura 8. Imediatamente após a adição da solução polimérica à solução com o cloreto de cálcio, formaram-se os hidrogéis esféricos que ficaram em agitação por 2 h para atingir sua estabilidade.

Figura 8 - Preparação de hidrogéis.



Fonte: Autora.

Passadas as 2 horas para a reticulação completa, os hidrogéis foram lavados com 500 mL água deionizada para retirar o excesso de CaCl_2 . Os hidrogéis foram distribuídos em placas petri e deixadas para secar em temperatura ambiente por 6 dias, como mostra a Figura 9, após a secagem sua aparência é de cristais que são denominados *beads*.

Figura 9 - Hidrogéis distribuídos em placa petri para secagem. A imagem da esquerda antes de secagem e imagem à direita, após a secagem.



Fonte: Autora.

4.4 CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DO COMPOSTO **FI-1**

A liberação do composto **FI-1**, o composto selecionado, foi realizada em um fluído gástrico simulado (SGF, do inglês: *Simulated Gastric Fluid*) com valor de pH 0,9 e em um fluído intestinal simulado (SIF, do inglês: *Simulated Intestinal Fluid*) com valor de pH 6,6.

A cinética de liberação foi acompanhada em um espectrofotômetro de UV-Vis 1800 da marca Shimadzu. Primeiramente, foi feito um espectro para determinar o comprimento de onda em que o composto **FI-1** apresentou absorção máxima. O composto **FI-1** apresentou um máximo de absorção em $\lambda = 310 \text{ nm}$. Esse valor, então, é a referência para acompanhar a sua liberação.

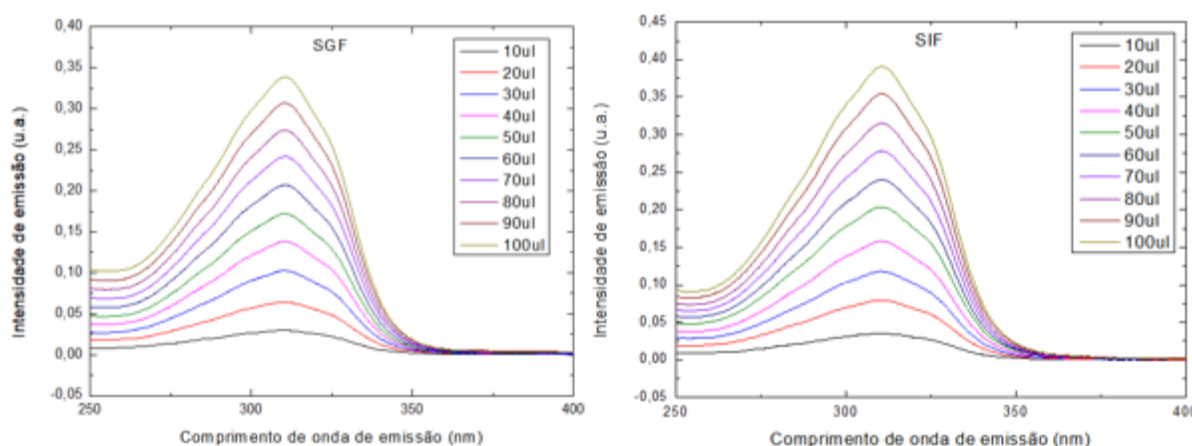
Antes de efetuado o experimento sobre a liberação do fármaco em função do tempo, foram feitos dois outros procedimentos. Um para determinar valores da massa

dos *beads* e do composto contido neles. E o outro para determinar a curva de calibração.

Primeiro, para haver o conhecimento das massas, foi preparada em uma solução de 5 mL da solução tampão (SGF e SIF) contendo 5 *beads*, isto é, 8 mg de *beads*. A partir das curvas de calibração, a concentração do **FI-1** determinado foi de 0,28 µg por mg de *beads*. Constatando uniformidade na massa dos *beads* e com esses valores registrados, foi possível calcular a concentração do composto nos *beads* e a sua liberação no meio.

Então, foi necessário determinar as curvas de calibração do meio SGF e SIF para que os cálculos da liberação do fármaco fossem realizados. E para isso, foi medida a intensidade de absorção UV-Vis em função da concentração do composto quando adicionados em 10 µL em 3 mL da solução tampão (SGF e SIF) que estava na cubeta. É possível observar a medições dos espectros na Figura 10 em suas intensidades das absorções máximas, a 310 nm, em função da concentração do composto.

Figura 10 - Espectros de UV-VIS nas soluções tampões SGF e SIF com volumes diferentes da solução com o composto **FI-1**.



Fonte: Autora.

Com a concentração da solução do composto **FI-1** dissolvido em etanol absoluto conhecida, 0,1 mg/mL, volumes adicionados conhecidos, volume da solução tampão conhecido, foi possível calcular as equações de reta de cada caso. As equações da reta (1) e (2) são das soluções tampão SGF e SIF, respectivamente. E seus coeficientes de determinação (R^2) são 99,973% e 99,959%, respectivamente. É possível observar os gráficos das curvas de calibração no Apêndice.

$$y = -0,0044 + 0,10716 x \quad (1)$$

$$y = -0,00263 + 0,12253 x \quad (2)$$

O experimento da liberação do fármaco em função do tempo foi realizado em quatro recipientes (os dois simulados e suas respectivas duplicatas), onde foram colocados exatos 20 *beads* para haver massas semelhantes entre eles. Havendo em média 34 mg de *beads* dentro de cada recipiente, foram adicionados em cada um deles 15 mL de cada fluído simulado. Dois recipientes, cada um contendo 15 mL da solução SGF e dois com 15 mL da solução SIF.

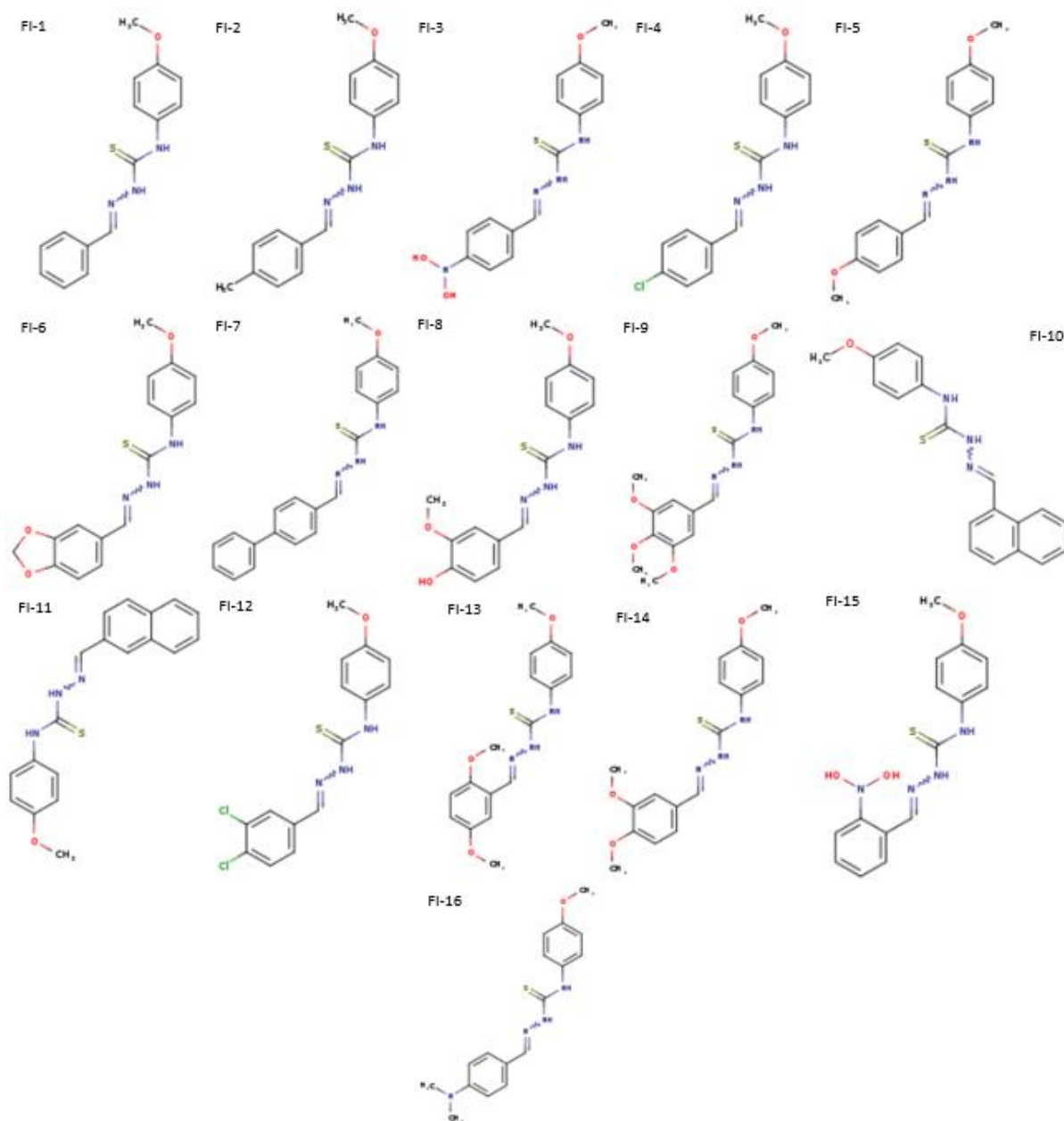
A fim de acompanhar a liberação do composto no meio do fluido, em intervalos de tempo, foram retiradas alíquotas de 0,5 mL da amostra para medição no espectrofotômetro, avaliando a presença do pico da absorção em 310 nm, isto é, a presença do composto no meio. A cada retirada o mesmo volume de fluído simulado foi adicionado, para os cálculos de liberação essas diluições foram corrigidas. Os intervalos foram avaliados, inicialmente, com 15, 30, 60, 120 (2 horas), 180 (3 horas), 240 (4 horas) e 300 minutos (5 horas). Então seguiu-se para o intervalo de 1200 e 1320 (20 e 22 horas) e finalizou com o acompanhamento de 1440 minutos (24 horas).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 ESTUDOS ADME

A primeira etapa do trabalho foi a análise na plataforma SwissADME, na qual foram inseridas as estruturas químicas das TSC investigadas neste trabalho. Na Figura 11 é possível ver as estruturas químicas de todos os compostos analisados, denominados de **FI-1** ao **FI-16**.

Figura 11 - Estrutura química dos compostos analisados.



Fonte: Autora.

As propriedades físico-químicas apresentadas na Tabela 1 serviram para outras análises apresentadas mais à frente, como a estimativa de absorção do composto através do valor da massa molecular e o tamanho da área de superfície da molécula, ou melhor, TPSA (ROSA *et al.*, 2022). Portanto, é possível visualizar entre eles quais dos compostos têm maior facilidade de penetração em membranas, por exemplo, pela área de superfície, já que, com exceção dos **FI-1** e **FI-2**, que estão abaixo de 300 g/mol, e os **FI-7** e **FI-9**, que estão acima de 355 g/mol, todos os demais estão em uma faixa aproximada. Esta propriedade é analisada em outros parâmetros conforme valores já estabelecidos pela literatura, que serão discutidos mais à frente.

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas dos compostos analisados.

Nº	Fórmula	Massa molar [g/mol]	TPSA [Å ²]
FI-01	C15H15N3OS	285.36	77,74
FI-02	C16H17N3OS	299.39	77,74
FI-03	C15H16N4O3S	332.38	121,44
FI-04	C15H14ClN3OS	319.81	77,74
FI-05	C16H17N3O2S	315.39	86,97
FI-06	C16H15N3O3S	329.37	96,2
FI-07	C21H19N3OS	361.46	77,74
FI-08	C16H17N3O3S	331.39	107,2
FI-09	C18H21N3O4S	375.44	105,43
FI-10	C19H17N3OS	335.42	77,74
FI-11	C19H17N3OS	335.42	77,74
FI-12	C15H13Cl2N3OS	354.25	77,74
FI-13	C17H19N3O3S	345.42	96,2
FI-14	C17H19N3O3S	345.42	96,2
FI-15	C15H16N4O3S	332.38	121,44
FI-16	C17H20N4OS	328.43	80,98

Fonte: Autora.

A Tabela 2 apresenta a solubilidade em água dos compostos, indicando indiretamente o seu grau de polaridade e afinidade com possíveis fluídos do organismo, podendo auxiliar no metabolismo, por exemplo. Porém, qualquer grau de solubilidade com a água pode ser um parâmetro que pode prejudicar possíveis sínteses de encapsulamento para liberação de fármaco, já que a água é um solvente bastante utilizado.

Tabela 2 - Faixas de solubilidade em água dos compostos analisados.

Nº	Solubilidade em água
FI-01	Moderavelmente solúvel
FI-02	Moderavelmente solúvel
FI-03	Solúvel
FI-04	Moderavelmente solúvel
FI-05	Moderavelmente solúvel
FI-06	Moderavelmente solúvel
FI-07	Pouco solúvel
FI-08	Moderavelmente solúvel
FI-09	Moderavelmente solúvel
FI-10	Pouco solúvel
FI-11	Pouco solúvel
FI-12	Pouco solúvel
FI-13	Moderavelmente solúvel
FI-14	Moderavelmente solúvel
FI-15	Solúvel
FI-16	Moderavelmente solúvel

Fonte: Autora.

Então, é possível constatar que os compostos **FI-7**, **FI-10**, **FI-11**, e **FI-12** têm baixas solubilidades em água, enquanto os **FI-1**, **FI-2**, **FI-4**, **FI-5**, **FI-6**, **FI-8**, **FI-9**, **FI-13**, **FI-14** e **FI-16** têm a solubilidades razoável, e por fim, o **FI-3** tem uma solubilidade considerável em água.

A Tabela 3 nos fornece a avaliação de cada composto conforme cada autor nomeado determinou seus parâmetros para bioavaliabilidade oral, definindo o alcance e as probabilidades do uso oral através da relação das propriedades físico-químicas dos compostos e a seus parâmetros farmacocinéticos (DAINA, MICHIELIN, ZOETE, 2017). As regras de Lipinski, por exemplo, avaliam as faixas de massa molar, área de superfície polar, coeficiente de partição octanol-água e número de grupos receptores e doadores de ligação hidrogênio. Seus valores devem ficar menores ou igual a 500 g/mol, 140 Å², 5, 10 e 5, respectivamente (BELTRAME, ROMERO, ROMERO, 2013). Todos os componentes demonstram ótima receptividade oral por não apresentarem discrepâncias nestes parâmetros delimitados por Lipinski, Ghose, Veber e Egan. Porém, há uma indicação de violação, o composto **FI-1**, a um parâmetro de Muegge que delimita os parâmetros de massa molecular (200 a 600 g/mol), TPSA (menor ou igual 150 Å²) e o parâmetro que indicou alteração de avaliação, WLogP (-2 a 5), entre outros valores avaliados (RESENDE, 2022). Os valores de log P_{ow} são determinados

por métodos computacionais com relação do eficiente de partição entre água e n-octanol, analisando a lipofilicidade (DAINA, MICHIELIN, ZOETE, 2017; BORGES, 2018). Através da razão da concentração da fase aquosa e fase orgânica, isto é, água e n-octanol, determinando o grau de hidrofobia da molécula, diretamente ligado a permeabilidade e solubilidade da substância (ROSA *et al*, 2022). O valor não deveria superar 5, porém o valor apresentado pelo composto é 5,09. Uma faixa de alteração que não é tão significativa, ou seja, não atraiu a atenção para possível problema na bioviabilidade oral do composto. Especialmente, se não houve violação as regras de Lipinski que é a referência nessa avaliação (DAINA, MICHIELIN, ZOETE, 2017).

Tabela 3 – Indicações de alguma violação das faixas determinadas por Lipinski, Ghose, Veber, Egan e Muegge, apontando a bioviabilidade do composto.

Nº	Lipinski	Ghose	Veber	Egan	Muegge	Bioavialabilidade
FI-01	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Não; 1 violação: XLOGP3>5	0.55
FI-02	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim	0.55
FI-03	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim	0.55
FI-04	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim	0.55
FI-05	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim	0.55
FI-06	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim	0.55
FI-07	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim	0.55
FI-08	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim	0.55
FI-09	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim	0.55
FI-10	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim	0.55
FI-11	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim	0.55
FI-12	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim	0.55
FI-13	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim	0.55
FI-14	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim	0.55
FI-15	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim	0.55
FI-16	Sim; 0 violação	Sim	Sim	Sim	Sim	0.55

Fonte: Autora.

A Tabela 4 demonstra os compostos que podem vir apresentar potenciais problemas, mais especificamente reagindo de tal forma que seja um falso positivo, descartando as moléculas que possam aparentar potencial, porém suas reações não são como eficazes na função que foi desenvolvida. Esse método usa a avaliação de fragmentos da molécula que possam causar o falso positivo (SILVA, 2022). Nesse caso, os compostos **FI-8** e **FI-11** apresentaram fragmentos de suas respectivas moléculas que podem apresentar esse cenário de falso positivo.

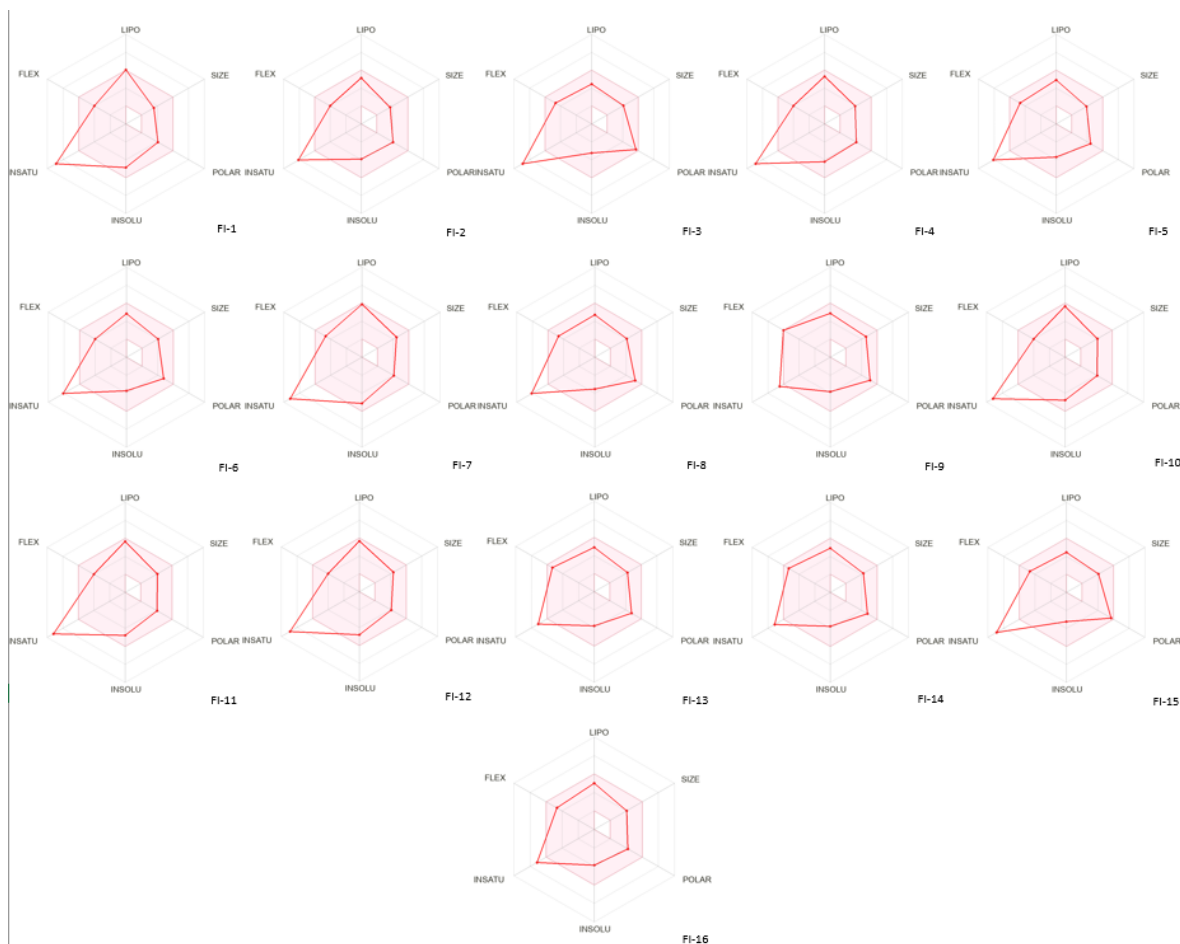
Tabela 4 – Indicações de alerta sobre reações falsas positivas (PAINS).

Nº	PAINS
FI-01	0 alerta
FI-02	0 alerta
FI-03	0 alerta
FI-04	0 alerta
FI-05	0 alerta
FI-06	0 alerta
FI-07	0 alerta
FI-08	1 alerta: hzone_phenol_B
FI-09	0 alerta
FI-10	0 alerta
FI-11	1 alerta: hzone_naphth_A
FI-12	0 alerta
FI-13	0 alerta
FI-14	0 alerta
FI-15	0 alerta
FI-16	0 alerta

Fonte: Autora.

A Figura 12 mostra uma forma de mapeamento do grau das propriedades físico-químicas: tamanho da molécula, solubilidade, polaridade, saturação, flexibilidade e lipofilicidade. Esse parecer visual facilita a dinâmica da molécula, avaliando esses aspectos básicos, mas que podem fornecer muitas informações sobre diversos outros aspectos e desempenhos, como as moléculas podem ser trabalhadas em aspecto de maleabilidade e polaridade, por exemplo. É possível observar múltiplos perfis dos compostos, isto é, comportamentos diferentes das moléculas. Por isso são necessários diversos parâmetros em múltiplos cenários para que se possa conhecer todas as possíveis reações e efeitos que podem vir a ter no organismo. Através desses mapas, é possível observar alguns fatores que podem ser aprimorados futuramente para melhor desempenho no organismo, como elevada insaturação indicando rigidez da molécula, havendo a possibilidade de trabalhar com ligações simples, torná-la mais maleável, por exemplo.

Figura 12 - Gráficos indicando o grau das propriedades de solubilidade, polaridade, saturação, tamanho da molécula, flexibilidade e lipofilicidade.



Fonte: Autora.

A Tabela 5 apresenta as propriedades farmacocinética de absorção gastrointestinal (GI), permeabilidade da barreira hematoencefálica (BBB) e Glicoproteína P (P-gp). A inibição, ou substrato, a Glicoproteína P (P-gp) é evidência que pode haver problemas na excreção do fármaco. Presente na membrana celular de órgãos como pâncreas e fígado, é responsável pelo transporte ativo de substâncias para fora da célula e nenhum dos compostos apresenta inibição da P-gp (SALES, 2023).

É bem aparente a afinidade dos compostos com o meio gastrointestinal, além da média, indicando elevada eficiência de interação com essa região no organismo. Inclusive, é um dado de destaque que selecionou o meio em que os experimentos de liberação de fármaco foram analisados com atenção.

E, por fim, o parâmetro mais importante desse trabalho, a absorção dos compostos na região do cérebro, onde ocorre a doença degenerativa e alvo do

fármaco, a DA. Entre todos os dados levantados a seleção primária e prioritária é a permeabilidade da barreira hematoencefálica (BBB). Os compostos promissores para exercer a função terapêutica na DA são **FI-1**, **FI-2** e **FI-4**.

Tabela 5 - Propriedades farmacocinética de absorção gastrointestinal (GI), permeabilidade da barreira hematoencefálica (BBB) e Glicoproteína P (P-gp).

Nº	GI	BBB	P-gp substrato
FI-01	Alto	Sim	Não
FI-02	Alto	Sim	Não
FI-03	Alto	Não	Não
FI-04	Alto	Sim	Não
FI-05	Alto	Não	Não
FI-06	Alto	Não	Não
FI-07	Alto	Não	Não
FI-08	Alto	Não	Não
FI-09	Alto	Não	Não
FI-10	Alto	Não	Não
FI-11	Alto	Não	Não
FI-12	Alto	Não	Não
FI-13	Alto	Não	Não
FI-14	Alto	Não	Não
FI-15	Alto	Não	Não
FI-16	Alto	Não	Não

Fonte: Autora.

A Tabela 6 apresenta quais compostos inibem as isoformas da família, CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 e CYP3A4. Essas reações estão relacionadas ao metabolismo, mais especificamente sobre sua reação no fígado, através do estudo do citocromo CYP450, conhecido por ser uma família de monoxigenases (ROSA *et al*, 2022). As suas inibições podem indicar problemas como efeitos nocivos, tóxicos, que ocorrem por causa do acúmulo do fármaco no organismo (SOUZA, OLIVEIRA, 2022). Os inibidores produzem complexos que dificultam ou impedem completamente o metabolismo do composto, enquanto os compostos não inibidores são ligantes que incentivam a produção da enzima CYP, e conseqüentemente, aumenta-se o metabolismo do composto (ROSA *et al*, 2022). Existe uma atenção maior à isoforma CYP3A4 que é responsável por 50% dos metabolismos de fármacos (ROSA *et al*, 2022). Os compostos **FI-1**, **FI-3**, **FI-5**, **FI-8**, **FI-9** e **FI-15** não são inibidores de CYP3A4 indicando o metabolismo deles quando

encontrados em organismos. A eliminação do fármaco é um parâmetro de extrema importância na avaliação de um novo composto, tanto quanto a análise de sua funcionalidade ao alvo. Por isso foi um dos fatores decisivos na seleção dos compostos para os estudos seguintes.

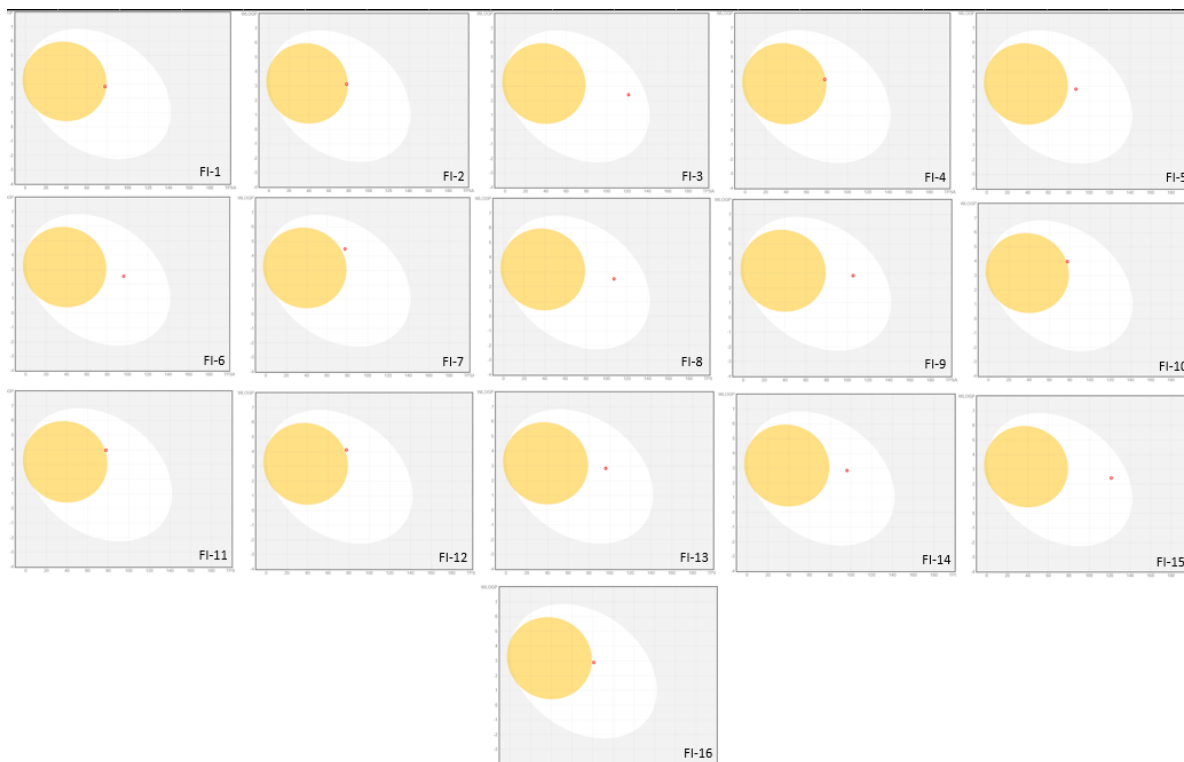
Tabela 6 - Tabela indicando as propriedades farmacocinética da inibição das isoenzimas da família do citocromo CYP450.

Nº	CYP1A2 inibidor	CYP2C19 inibidor	CYP2C9 inibidor	CYP2D6 inibidor	CYP3A4 inibidor
FI-01	Sim	Sim	Sim	Não	Não
FI-02	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
FI-03	Não	Não	Sim	Não	Não
FI-04	Sim	Sim	Sim	Não	Sim
FI-05	Sim	Sim	Sim	Não	Não
FI-06	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
FI-07	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
FI-08	Não	Não	Sim	Não	Não
FI-09	Não	Sim	Sim	Não	Não
FI-10	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
FI-11	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
FI-12	Sim	Sim	Sim	Não	Sim
FI-13	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
FI-14	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
FI-15	Não	Não	Sim	Não	Não
FI-16	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim

Fonte: Autora.

Como visto anteriormente, o BOILED-Egg é um gráfico que estima a permeabilidade da barreira hematoencefálica (BBB) e da absorção gastrointestinal (HIA), sendo a primeira representada pela região amarela e a segunda pela região branca. Ao analisar as estimativas da lista de compostos selecionados para este trabalho, é possível observar que alguns têm alcance em ambos os parâmetros na Figura 13, por haver o intuito de absorção da molécula na região do intestino e a doença de Alzheimer atingir a região cefálica, é necessário atingir ambas as regiões. As moléculas **FI-1**, **FI-2** e **FI-4** apresentam essa premissa de haver absorções tanto em meio de tecido cerebral quanto gastrointestinal.

Figura 13 - BOILED-Egg dos compostos analisados, indicando a permeabilidade da barreira hematoencefálica, BBB (região amarela) e absorção gastrointestinal, G (região branca).



Fonte: Autora.

Portanto, a seleção teve como prioridade o aspecto de possibilidade de ação no tecido encefálico, justamente pelo alvo de tratamento ser uma doença que age nas funções neurais. A função terapêutica do composto deve ter ação no cérebro e para isso o composto deve ter a capacidade de agir e permear a barreira hematoencefálica (BBB). Partindo da seleção dos compostos que interagem com a barreira hematoencefálica, foram selecionados os compostos **FI-1**, **FI-2** e **FI-4**. E apenas após a garantia da ação na região em que o tratamento é proposto é que se deu continuidade com as demais análises. Sem haver inibições P-gp, indicação de absorção gastrointestinal, sem alertas de PAINS, os três casos demonstram ótima biotransformação. Entre eles foi analisado a inibição da enzima CYP, responsável por uma parte importante sobre o metabolismo, mais especificamente à isoforma CYP3A4 que é responsável por 50% dos metabolitos de fármacos (ROSA *et al*, 2022). Por ter uma probabilidade grande de sucesso de metabolismo quando não apresenta inibição, a seleção propôs a escolha do composto **FI-1**. Ao apresentar as

propriedades mais promissoras, o **FI-1** seguiu para o estudo da possibilidade de encapsulamento.

5.2 LIBERAÇÃO DO COMPOSTO **FI-1**

Ao selecionar o composto **FI-1**, é possível observar sua baixa toxicidade traçada pelo perfil levantado pela ferramenta ADMET, um fator que chama a atenção é a sua biocompatibilidade. Por demonstrar absorção tanto na região do cérebro quanto intestinal, foi trabalhada e estudada uma possibilidade de transporte e liberação de fármaco. Com o objetivo da liberação do fármaco onde ele possa agir efetivamente, um material bastante explorado são os hidrogéis. Sua propriedade de intumescência e solubilidade, formam matrizes hidrofílicas, sendo os mais comuns derivados de celulose e polissacarídeos. Então, essas matrizes sofrem erosão com o meio que são expostas, no caso, na etapa em que foi planejada liberação do fármaco, que é dissolvido no meio e então forçado a agir (PEDROSA, 2013).

Pelo composto apresentar um grau, apesar de moderado, de solubilidade em água, a escolha do material responsável pelo encapsulamento do fármaco foi um pouco mais limitada. A água é comumente utilizada no processo de síntese de polímeros, como hidrogéis. Então, foi optado por um material que o processo de síntese fosse utilizado o mínimo possível do fluxo de água para não haver o risco de solubilizar o composto nela, resultando no seu descarte indesejado.

O projeto estudou dois cenários onde um meio se encontra em uma faixa de pH ácido (solução tampão SGF) enquanto o outro em pH neutro (solução tampão SIF). Como já discutido anteriormente, a solução polimérica alginato de sódio e κ -carragenana tem um comportamento de relaxação das reticulações com o aumento de potencial de inchamento em uma faixa de pH neutro (SARIYER *et al.*, 2020). Portanto, o planejado é a liberação do composto em meio neutro para maior eficiência de aplicação sobre o tratamento. Após o acompanhamento do comportamento dos *beads* em suas respectivas soluções tampões em função do tempo, foi analisado a presença do composto **FI-1** no meio, isto é, fora dos *beads*.

A Figura 14 demonstra a mudança visual dos *beads* após ser condicionado ao meio ácido, com pH 0,9 após 2 horas.

Figura 14 - Mudança visual dos beads após ser condicionado ao meio com pH 0,9 após 2 horas.



Fonte: Autora.

A Figura 15 demonstra a mudança visual dos *beads* após ser condicionado ao meio neutro, com pH 6,6 após 2 horas.

Figura 15 - Mudança visual dos *beads* após ser condicionado ao meio com pH 6,6 após 2 horas.



Fonte: Autora.

Portanto, é visível a mudança dos beads nas diferentes condições em que estão inseridos, assim como é visível a diferença entre esses dois cenários. Onde o primeiro caso, o material está mais compacto, ou sólido. Enquanto o segundo caso há uma expansão das esferas, mudança na cor e menor compactação do material. Na Figura 16, os dois casos estão lado a lado para maior comparação dos seus aspectos visuais, após 2 horas nas soluções tampão.

Figura 16 - Aparente reações dos *beads* nos meios SIF (esquerda) e SGF (direita)



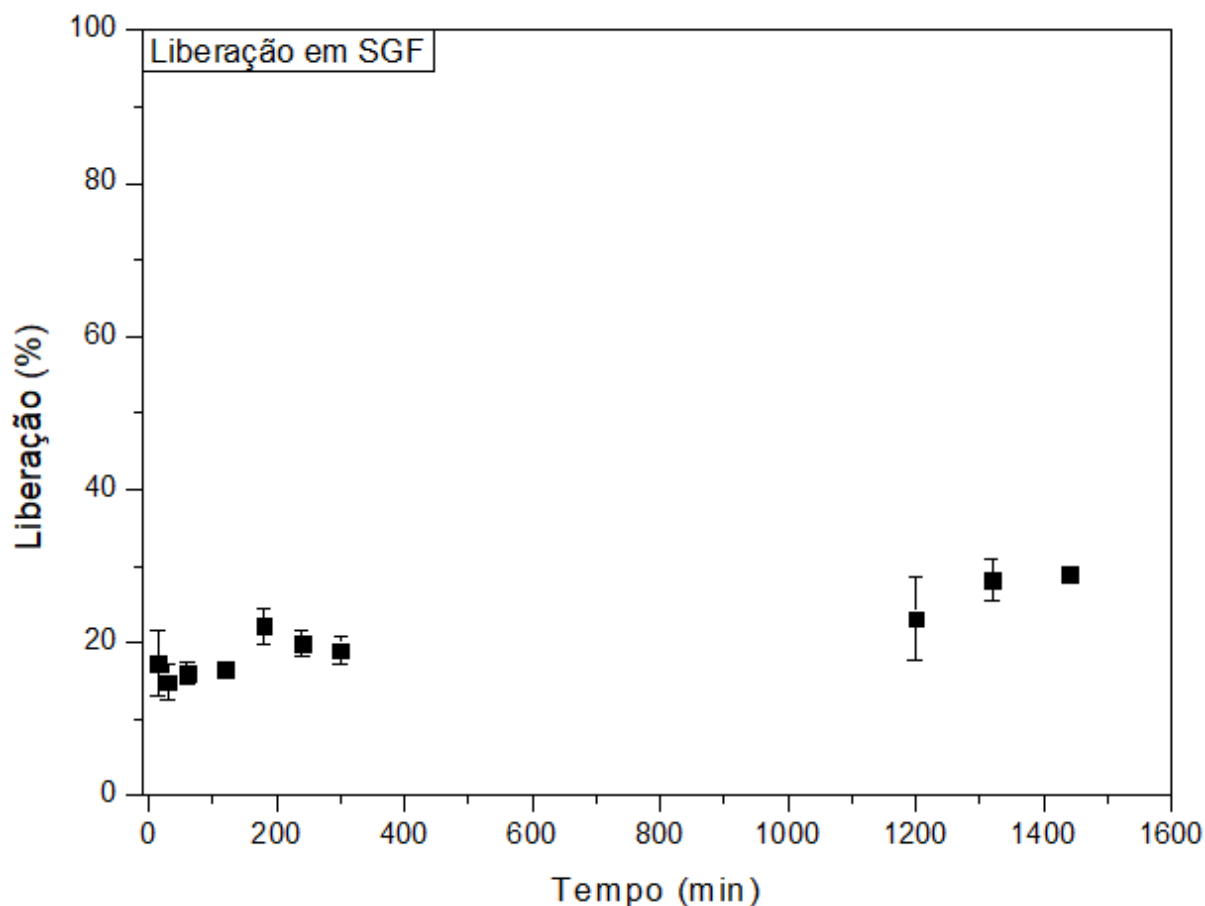
Fonte: Autora.

No caso do SGF, meio ácido, que simula o estomago, os *beads* ainda tem alguma mudança de seu aspecto original, dos cristais secos da Figura 9 até o que é possível observar nas Figuras 14 e 16. Além de apresentar absorção, mesmo que mínima, no comprimento de onda 310 nm. Para determinar a porcentagem de intumescimento, foram pesados os *beads* em estado original, sem contato com a solução tampão e após 24 horas de contato. No cenário SGF (pH 0,9), houve 69% de

intumescimento em relação a sua massa original. No cenário SIF (pH 6,6) houve mais de 3000% de intumescimento em relação a sua massa original.

Na Figura 17, é possível analisar alguma liberação do fármaco, porém a intensidade detectada foi mínima e seu comportamento em função do tempo é quase constante.

Figura 17 - Curva de liberação do fármaco no meio SGF.



Fonte: Autora.

As análises são feitas em relação com a intensidade de absorção máxima em 310 nm em cada medida feita em determinados períodos em que os *beads* foram expostos ao meio, e assim determinar a porcentagem liberada. Isto é, em todos os períodos que foram retirados os 0,5 mL do meio foi detectado uma certa concentração do composto ao meio em função do tempo em que os *beads* estavam expostos a solução tampão em questão. É válido citar que nesse acompanhamento também foi observado que não houve discrepâncias no comportamento do pico de absorção, ou seja, não houve nenhum indício de descolamento da faixa avaliada, 310 nm.

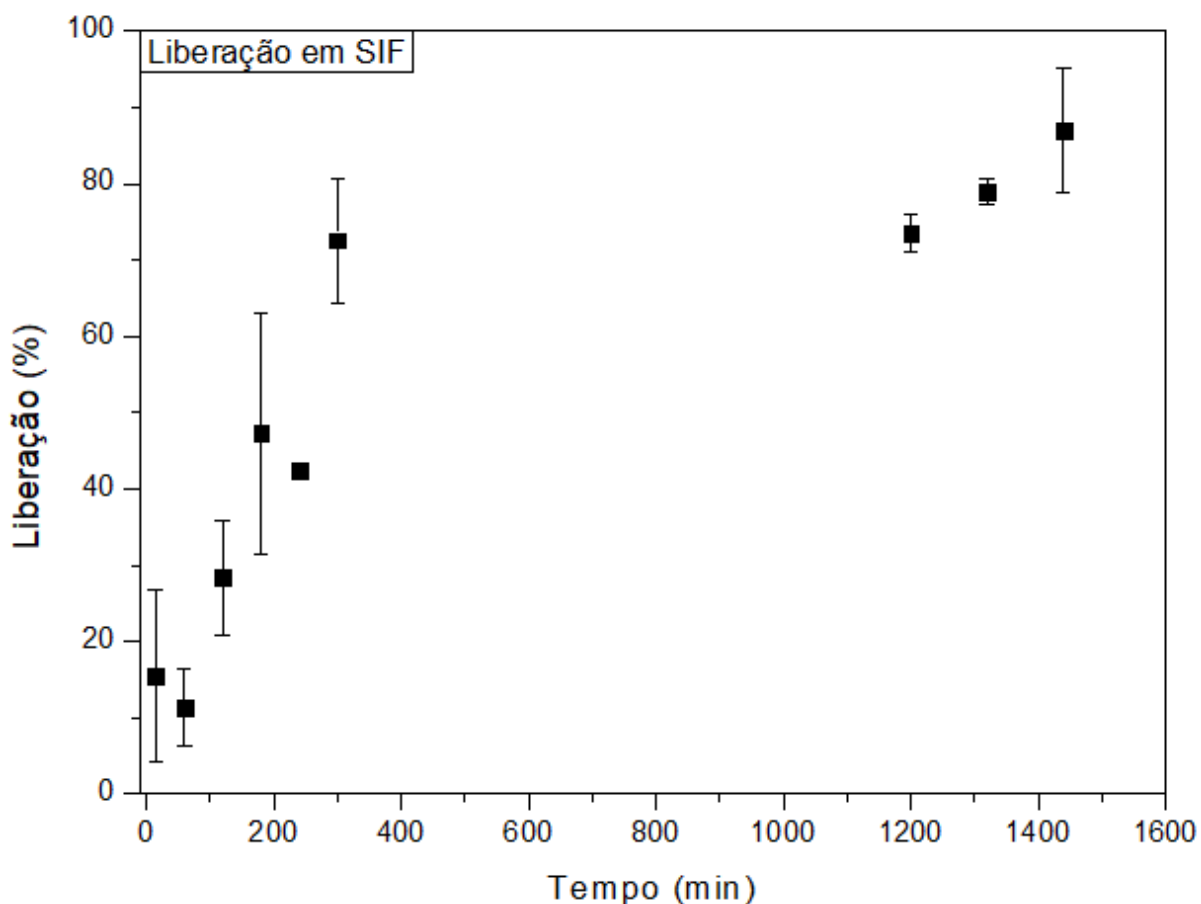
A partir dessa massa obtida, da equação da reta, das absorções máximas registradas, juntamente com a correção de diluição do experimento, foi possível calcular a porcentagem de liberação do fármaco como está mostrando no gráfico da Figura 17. A liberação total é de 29% do composto **FI-1** e 69% de intumescimento de seus *beads*.

No caso do SGF, a falta de compactação após um período, ou o baixo grau de reticulações, pode ser devido à alguns fatores, como as concentrações da solução polimérica ou contração do agente reticulante. O processo envolveu a adição, gota-a-gota, da solução com o composto estudado misturado com a solução polimérica, isto é, alginato de sódio e κ -carragenana, à solução com o agente reticulante, formando os *beads*. A solução polimérica em questão vem sendo estudada por sua estabilidade e capacidade de absorção de água. Inserida na característica de estabilidade está a baixa formação de porosidade, estruturas que podem comprometer no comportamento mecânico e químico do material, prejudicando o seu desempenho no carregamento de fármacos (KANEHIRA, 2022).

A liberação do composto em meio ácido pode ocasionar a protonação do composto. A TSC, no estudo *in silico* demonstrou reações promissoras com relação à sua liberação e absorção gastrointestinal. Porém, em meio ácido ela pode sofrer protonação em seu nitrogênio (N-1) em pH menor que 4 (TENÓRIO *et al.*, 2005).

Na Figura 18, o comportamento da curva de liberação do fármaco na solução SIF é bem diferente e mais dinâmico que da solução SGF.

Figura 18 - Curva de liberação do fármaco no meio SIF.



Fonte: Autora.

No gráfico é possível observar um comportamento crescente nos primeiros 400 minutos até que se estabiliza a curva no mesmo nível de absorção medidos. Isto é, as primeiras horas do hidrogel e o composto no meio intestinal, há uma gradual liberação do fármaco até a sua estabilidade. Ao intumescer os *beads* no meio SIF há maior liberação do composto para o meio, aumentando sua concentração com o tempo.

Utilizando o mesmo método de cálculo de liberação de fármaco em SGF, o SIF apresentou intensidade da absorção em 310 nm mais significativas. A liberação total é de 87% do composto **FI-1**.

O composto foi liberado 29% da sua totalidade quando em meio ácido, porém, pelo fármaco ter um aspecto de absorção intestinal significativos vistos no estudo *in silico*, é possível concluir que os 87% do composto foi liberado no local desejado onde há maior probabilidade de efetividade da ação do fármaco, além da ação metabólica. Portanto, existe ainda a necessidade de aprimorar o material onde há o transporte e

liberação do fármaco com o objetivo de haver maior assertividade no alvo de dispersão e ação do composto.

6. CONCLUSÕES

O estudo *in silico* dos compostos escolhidos inicialmente apresentou diversas propriedades, desde as mais básicas como as físico-químicas até as relacionadas as reações no organismo, fornecendo possíveis cenários. Apesar da série de TSC apresentar caráter quase de baixa tóxico, boa biodisponibilidade oral e metabolismo, a propriedades prioritária nesse projeto é a sua interação com o cérebro devido a DA. Por isso a seleção se resumiu aos compostos **FI-1**, **FI-2** e **FI-4** que são permeáveis a barreira hematoencefálica (BBB). A partir disso, analisando as propriedades metabólicas e absorção gastrointestinal (GI), foi selecionado, por fim, o composto **FI-1** para seguir com o experimento de encapsulamento e liberação de fármaco.

O acompanhamento do experimento da liberação do fármaco sobre o meio através de medições de intensidade do espectro UV-Vis, onde o ponto máximo de absorção do composto **FI-1** é a 310 nm, foi possível analisar um comportamento crescente até a estabilidade dos *beads* em meio de pH 6,6 (SIF), registrando 87% do composto no meio em 24 horas e mais de 3000% de intumescimento. Enquanto no meio ácido (SGF) houve uma porcentagem menor porcentagem de intumescimento e de liberação do composto, 69% e 29%, respectivamente.

Com os resultados foi observada a necessidade de outras tentativas de formulação, modificando concentrações, por exemplo, das soluções poliméricas e do agente reticulante. Além de ser uma possibilidade o acompanhamento com mais períodos, adicionando mais informações a curva de liberação do fármaco (SIF). Há estudos que indicam outros agentes reticulantes que podem fornecer maior estabilidade do hidrogel, em destaque está o cloreto de potássio (KCl), portanto, existe a possibilidade de maior controle na liberação do fármaco no meio ácido, por exemplo (SARIYER *et al.*, 2020).

Apesar de apresentar alguns pontos que podem ser aprimorados, houve uma quantia de resultados que permitiu a avaliação bastante completa do comportamento do composto, sua toxicidade, seu transporte, liberação e metabolismo no organismo. Dessa maneira, este trabalho proporcionou a avaliação do perfil ADMET de uma série de TSC e a investigação do perfil de liberação em fluídos gastrointestinais do composto com perfil farmacocinético mais adequado, impulsionando novas pesquisas de extrema necessidade no processo de desenvolvimento de um candidato ao tratamento da DA.

REFERÊNCIAS

APRAHAMIAN, Ivan; MARTINELLI, José Eduardo; YASSUDA, Mônica Sanches. **Doença de Alzheimer: Revisão da Epidemiologia e Diagnóstico**. Rev Bras Clin Med, 2008.

ARAUJO, Deize Evangelista. **Avaliação do potencial in vitro e in vivo de tiossemicarbazida, tiossemicarbazida em nanopartícula de quitosana e tiossemicarbazida derivada do canfeno como antifúngico sobre Candida albicans**. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, 2016.

BELTRAME, Karla Karine; ROMERO, Rafaelle Bonzanini, ROMERO, Adriano Lopes. **ESTUDO IN SILICO DO ACETATO DE 1'S-1'-ACETOXIEUGENOL E DE SEUS INTERMEDIÁRIOS SINTÉTICOS**. O Método Científico, VIII Encontro de Produção Científica e Tecnológica (EPCT), 2013.

BERALDO, Heloisa. **SEMICARBAZONAS E TIOSSEMICARBAZONAS: O AMPLO PERFIL FARMACOLÓGICO E USOS CLÍNICOS**. Quim. Nova, Vol. 27, No. 3, 461-471, 2004.

BITTENCOURT, Viviane Conceição Duarte de. **Síntese e caracterização estrutural de ligantes isatina-mono-halogenadas derivados de tiossemicarbazonas e hidrazonas e complexos de níquel (II) e zinco (II)**. Tese de doutorado em Química, Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande - RS, 2016.

BORGES, Nathalie Helen Paes Barreto. **ANÁLISE IN SILICO DAS PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS E TOXICOLÓGICAS DOS ORGANOSSELÊNIOS E ENSAIOS IN VITRO DE ATIVIDADES ANTIBACTERIANA E MODULADORA DA RESISTÊNCIA A DROGAS EM Staphylococcus aureus**. Tese de doutorado, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa - PB, 2018.

CAVALCANTI, José Luiz de Sá; ENGELHARDT, Elias. **Aspectos da fisiopatologia da doença de Alzheimer esporádica**. Revista Brasileira de Neurologia, v. 48, n. 4, out - nov - dez, 2012.

COSTA, Waleska Renata P. **Síntese e Caracterização de Complexos de Zinco (II) com Tiossemicarbazonas com Potencial Biológico.** Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia - MG, 2020.

CUNHA, Sara Maria Pereira Alves. **Novos sistemas terapêuticos para a administração de fármacos utilizados no tratamento de doenças neurodegenerativas: Alzheimer e Parkinson.** Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2015.

DADALTO, Eliane Varanda; CAVALCANTE, Fátima Gonçalves. **O lugar do cuidador familiar de idosos com doença de Alzheimer: uma revisão de literatura no Brasil e Estados Unidos.** *Ciência & Saúde Coletiva*, 26(1):147-157, 2021.

DAINA, Antoine; ZOETE, Vincent. **A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules.** *ChemMedChem*, 11, p. 1117 – 1121, 2016.

DAINA, Antoine; MICHIELIN, Olivier; ZOETE, Vincent. **SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, druglikeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules.** *Scientific Reports*, 7, 42717, 2017.

DUMAN, Osmar *et al.* **Agar/κ-carrageenan composite hydrogel adsorbent for the removal of Methylene Blue from water.** *International Journal of Biological Macromolecules*, 160, p. 823–835, 2020.

ENGEL, Cíntia Liara. **Antropologia das demências: uma revisão a partir da Doença de Alzheimer.** *BIB*, São Paulo, n. 89, p. 1-22, 2019

FALCO, Anna; *et al.* **DOENÇA DE ALZHEIMER: HIPÓTESES ETIOLÓGICAS E PERSPECTIVAS DE TRATAMENTO.** *Quim. Nova*, Vol. 39, No. 1, 63-80, 2016.

FERREIRA, Leonardo G *et al.* **Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies.** *Molecules*, 20, p. 13384-13421, 2015.

FERREIRA, Gabriele Viviam *et al.* **AVALIAÇÃO IN SILICO DA TOXICIDADE DE CARBAMATOS DE IMPORTÂNCIA EM MEDICINA VETERINÁRIA.** Anais 17^a da Mostra de Iniciação Científica - Congrega, URCAMP, 2021.

FRANCISCATO, Douglas S. *et al.* **Thiosemicarbazone@Gold nanoparticle hybrid as selective SERS substrate for Hg 2+ ions.** Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, [s.l.], v. 204, p.174-179, nov. 2018. Elsevier BV.

GUIDO, Rafael V. C.; ANDRICOPULO, Adriano D. **Modelagem Molecular de Fármacos.** Revista Processos Químicos, Jul - Dez de 2008.

LIMA, Isadora Soares de. **DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA DOENÇA DE ALZHEIMER E SEU REGISTRO HISTÓRICO.** Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2020

MARTINS, Nathalia da Rosa Coelho. **AVALIAÇÃO IN SILICO DOS PERFIS FARMACOCINÉTICO E TOXICOLÓGICO E DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO CONTRA CANDIDA spp. DE DERIVADOS DE QUINONAS.** Dissertação de mestrado em Patologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói - RJ, 2021.

MATTOS, Camila Ferreira. **ANÁLISES IN SILICO PARA AVALIAÇÃO DE FÁRMACOS POTENCIAMENTE EFICAZES CONTRA O SARS-CoV-2.** Dissertação de mestrado em Patologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2022.

MIHAILA, Silvia M. *et al.* **Photocrosslinkable Kappa -Carrageenan Hydrogels for Tissue Engineering Applications.** Adv. Healthcare Mater, 2, p. 895–907, 2013

MONTEIRO, Mariana Marinho Caires. **Síntese de hidrogéis biocompatíveis para encapsulamento de fármacos.** Dissertação de mestrado em Engenharia Biomédica, Universidade de Coimbra, 2014.

MT, Mahanthesh *et al.* **Swiss ADME prediction of phytochemicals present in Butea monosperma (Lam.) Taub.** Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 9(3): 1799-1809, 2020.

OLIVEIRA, Luana Carvalho de. **Complexos de inclusão entre a mistura binária de α , β -amirenona com ciclodextrinas para avaliação da atividade inibitória da enzima lipase in vitro.** Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2020.

PEDROSA, Michelle de Oliveira. **Grânulos de Alginato de Cálcio como sistema de liberação para um candidato a fármaco derivado do Tiofeno.** Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Campina Grande - PB, 2013.

PELKONEN, Olavi; TURPEINEN, Miia; RAUNIO, Hannu. **In Vivo-In Vitro-In Silico Pharmacokinetic Modelling in Drug Development - Current Status and Future Directions.** Clin Pharmacokinet, 50, p. 483-491, 2011.

PINHEIRO SEGUNDO, Miguel Angelo Santos. **DESENVOLVIMENTO, AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA E INCREMENTO DE SOLUBILIDADE DE NOVOS DERIVADOS ESPIRO-ACRIDÍNICOS.** Tese de doutorado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.

PERONDI, Daiane Mari. **INVESTIGAÇÃO DO MECANISMO DE MORTE CELULAR INDUZIDO POR TIOSSEMICARBAZONAS EM LINHAGENS DE CÉLULAS DE LEUCEMIAS AGUDAS HUMANAS.** Dissertação de mestrado em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018

RESENDE, Millena Almeida. **PROSPECÇÃO, ANÁLISES E DESIGN IN SILICO DE POTENCIAIS INIBIDORES DA PROTEÍNA NS3 DO VÍRUS ZIKA.** Dissertação de mestrado em Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, 2022.

ROSA, Raíssa Santos de Lima et al. **PREDITORES FARMACOCINÉTICOS E TOXICOLÓGICOS *in silico* PARA VIA ORAL: CONHEÇA E ANÁLISE ADMETOX.** BIOINFO: Revista Brasileira de bioinformática e Biologia Computacional, v. 2, P. 83 – 95, jul - 2022.

SALES, Iardja Stéfane Lopes. **RIPARINA I E RIPARINA II REDUZEM A NEUROINFLAMAÇÃO E AS ALTERAÇÕES GLIAIS EM CAMUNDONGOS**

SUBMETIDOS AO MODELO DE DEPRESSÃO INDUZIDA POR ESTRESSE CRÔNICO IMPREVISÍVEL. Tese de doutorado em Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2023.

SALUM, Livia de Barros. **Estudos in silico no planejamento de candidatos a novos fármacos na terapia do câncer de mama e de reposição hormonal.** Universidade de São Paulo, Mestrado em Ciências, São Carlos, 2007.

SARIYER, S.; DURANOGLU, D.; DOGAN, O.; KÜÇÜK, I. pH-responsive double network alginate/kappa-carrageenan hydrogel beads for controlled protein release: Effect of pH and crosslinking agent. **Journal of Drug Delivery Science and Technology.** v. 56, p. 1-7, 2020.

SENS, Larissa. *et al.* **Synthetic thiosemicarbazones as a new class of Mycobacterium tuberculosis protein tyrosine phosphatase A inhibitors.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 26, 5742 – 5750, 2018.

SHAKER, B. *et al.* **In silico methods and tools for drug discovery.** *Computers in Biology and Medicine*, 137, 104851, 2021

SILVA, Cecília Santos. **Determinação da estrutura cristalina/molecular de um derivado da tiossemicarbazona com atividade farmacológica, tetralona-tiossemicarbazona.** Dissertação de mestrado em Química, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2013.

SILVA, Mariana Inês do Nascimento. **PREPARO E ESTUDO FÍSICO-QUÍMICO E MORFOLÓGICO DE HIDROGEL DE ALGINATO RECOBERTO COM QUITOSANA CONTENDO BERBERINA.** Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia - DF, 2015.

SILVA, Kláudia Maria Machado Neves. **CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS SEMI-INTERPENETRANTES DE ALGINATO E QUITOSANA RETICULADOS COM CLORETO DE CÁLCIO OU GLUTARALDEÍDO: ESTUDO DO EFEITO DAS CONDIÇÕES DE PREPARO EM SUAS PROPRIEDADES MECÂNICAS E FÍSICO-QUÍMICAS.** Dissertação de mestrado em Engenharia Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

SILVA, Barbara Emanuelle Maria da. **Beads de hidrogel à base de alginato e líquidos iônicos sensíveis ao pH para carreamento de fármacos.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN, Química, Recife, 2020.

SILVA, Filipe Rodrigues de Oliveira. **PLANEJAMENTO DE INIBIDORES DA ENZIMA TRIPANOTIONA REDUTASE UTILIZANDO FERRAMENTAS IN SILICO.** Dissertação de mestrado em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2022.

SOUZA, Rafael A. C.; OLIVEIRA, Carolina G. **Investigação teórica por Docking molecular e parâmetros farmacocinéticos do potencial antibacteriano de complexos de manganês(II) com tiossemicarbazonas.** Open Science Research II, Editora Científica Digital, Vol. 2, ISBN 978-65-5360-080-5, 2022.

SOUZA, Elizabeth Scatolino de; SANTOS, Amanda Maria da Silva; SILVA, Andreza de Jesus Dutra. **DOENÇA DE ALZHEIMER: Abordagem Sobre a Fisiopatologia.** Rev. Episteme Transversalis, Volta Redonda-RJ, v.12, n.2, p.356-381, 2021.

TENÓRIO, Rômulo P. *et al.* **TIOSSEMICARBAZONAS: MÉTODOS DE OBTENÇÃO, APLICAÇÕES SINTÉTICAS E IMPORTÂNCIA BIOLÓGICA.** Quim. Nova, Vol. 28, No. 6, 1030-1037, 2005.

TERSTAPPEN, Georg C.; REGGIANI, Angelo. **In silico research in drug discovery.** TRENDS in Pharmacological Sciences Vol. 22 No.1 January 2001.

TOBBIN, Isabella Arantes *et al.* **Doença de Alzheimer: uma revisão de literatura.** Brazilian Journal of Health Review, Curitiba, v.4, n.3, p. 14232-14244, may./jun., 2021.

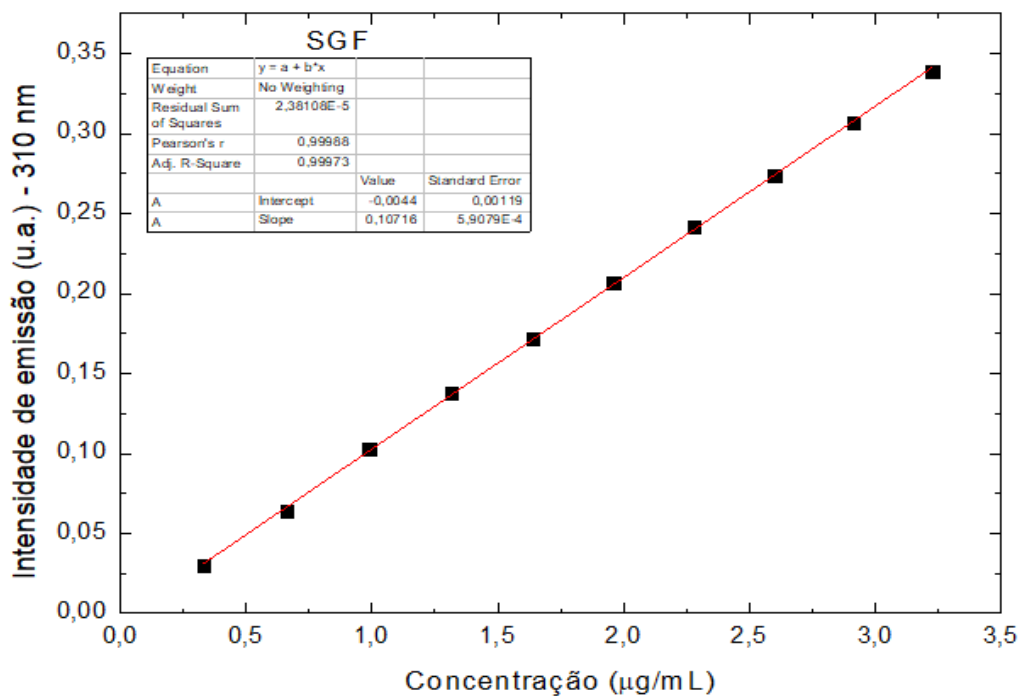
VELLOSO, Fabiana Tolêdo. **Desenvolvimento e caracterização de microcápsulas de alginato/quitosana contendo ácido retinóico e óleo de babaçu.** Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.

VERLI, Hugo. **Bioinformática da Biologia à flexibilidade molecular.** Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular - SBBq, 1 ed, São Paulo, 2014

ZIA, Khalid Mahmood *et al.* **A review on synthesis, properties and applications of natural polymer based carrageenan blends and composites.** International Journal of Biological Macromolecules, 96, p. 282–301, 2017

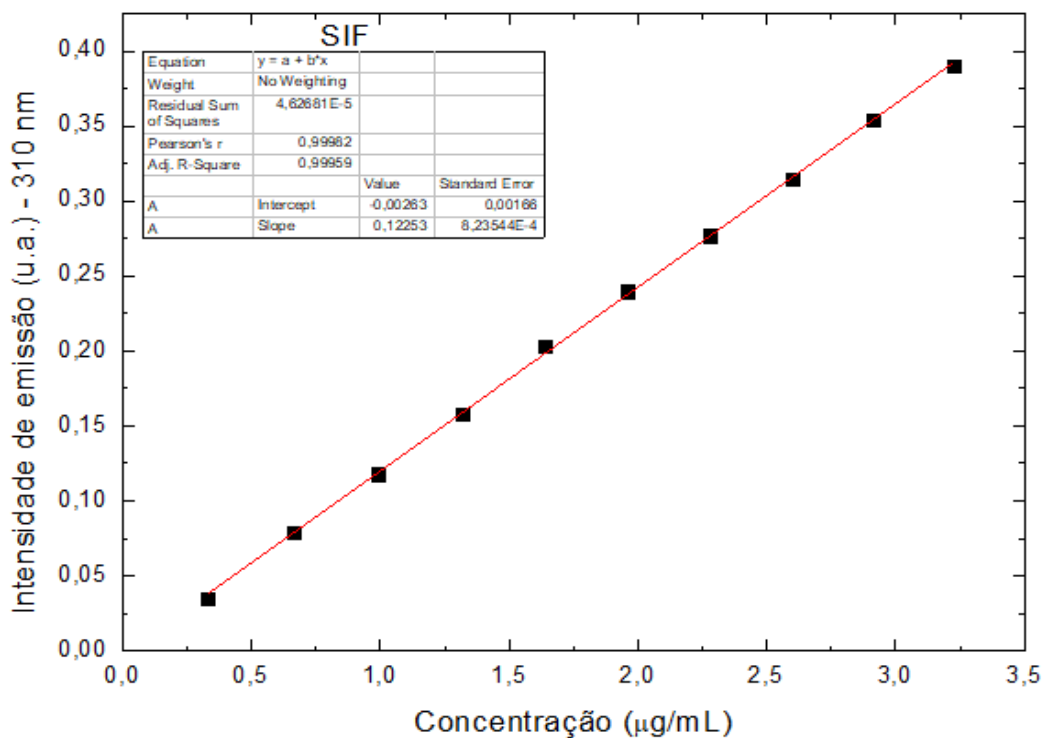
Apêndice – Gráficos das curvas de calibração

Figura 19 - Curva de calibração no meio SGF.



Fonte: Autora.

Figura 20 - Curva de calibração no meio SIF.



Fonte: Autora.