

CITOTOXICIDADE DE HIDRAZINA-1-CARBOTIOAMIDAS EM ERITRÓCITOS HUMANOS: TRIAGEM *IN SILICO* E ANÁLISE *IN VITRO*

Zilka Nanes Lima

Universidade Federal da Paraíba, campus I
zilknaneslima@gmail.com

Ricardo Olímpio de Moura

Universidade Estadual da Paraíba, campus I
ricardo.olimpiodemoura@gmail.com

Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz

Universidade Federal da Paraíba, campus I
margarethdiniz.ufpb@gmail.com

Abrahão Alves de Oliveira Filho

Universidade Federal de Campina Grande
Campus Patos/PB
abrahao.farm@gmail.com

Fábio Correia Lima Nepomuceno

Centro Universitário de João Pessoa-UNIPÊ
fabiocln21@yahoo.com.br

Fernanda Patrícia Torres Barbosa

Centro Universitário UNIFACISA,
Campina Grande, Paraíba
fernanda.barbosa@maisunifacisa.com.br

Inácio Ricardo Alves Vasconcelos

Universidade Federal da Paraíba, campus I
inacio.vasconcelos@hotmail.com

Misael de Azevedo Teotônio Cavalcanti

Universidade Estadual da Paraíba, campus I
misaelazevedo.2015@gmail.com

Luis Augusto Pereira Silva

Universidade Estadual da Paraíba, campus I
luis.augusto.pereira.silva@aluno.uepb.edu.br

Hilzeth de Luna Freire Pessôa

Universidade Federal da Paraíba, campus I
hilzeth@gmail.com

RESUMO

A descoberta de novos medicamentos tem suas raízes profundamente ligadas às inovações científicas e tecnológicas. A pesquisa da atividade biológica de moléculas sintéticas é uma área de estudo crucial para a exploração de novos produtos farmacêuticos. Os ensaios toxicológicos não-clínicos antecipam o risco e reduzem a probabilidade dos compostos promissores falharem em fases avançadas do processo de pesquisa e desenvolvimento, evitando assim perdas massivas de recursos materiais e econômicos. Para a triagem da toxicidade teórica foi utilizado o admetSAR®, um software que avalia a viabilidade de uma molécula antes mesmo de sua síntese. O teste de atividade hemolítica *in vitro* tem sido relatado como um método alternativo na triagem da toxicidade de vários compostos. O objetivo deste estudo foi avaliar a citotoxicidade de quatro compostos sintéticos da classe hidrazina-1-carbotioamidas; GL-02, GL-04, GL-07 e GL-08; em células sanguíneas humanas. Para quantificar a atividade citotóxica foram preparadas suspensões sanguíneas com sangue humano A, B e O, que foram misturadas a diferentes concentrações dos compostos por 60 minutos, a hemólise quantificada por espectrofotometria em comprimento de onda de 540 nm. Teoricamente as carbotioamidas não possuem potencial mutagênico AMES e nem potencial carcinogênico. A análise da toxicidade oral aguda teórica evidenciou classificação na categoria I para todos os compostos. A DL₅₀ teórica da GL-02 corresponde a 760,2 mg/kg e a DL₅₀ da GL-04, GL-05 e GL-08 é 857,2 mg/kg. Foi observado que todas as hidrazina-1-carbotioamidas testadas apresentaram citotoxicidade frente aos eritrócitos humanos quando testadas *in vitro*. O LogP das quatro moléculas é maior que zero, indicando que elas são lipofílicas e que a interação com os lipídeos de membrana pode ter favorecido a hemólise.

Palavras-chave: Carbotioamidas. Citotoxicidade. Moléculas sintéticas. Hemólise. Membrana plasmática.

CYTOTOXICITY OF HYDRAZINE-1-CARBOTHIOAMIDES IN HUMAN ERYTHROCYTES: *IN SILICO* SCREENING AND *IN VITRO* ANALYSIS

ABSTRACT

The discovery of new drugs has its roots deeply intertwined with scientific and technological innovations. The investigation of the biological activity of synthetic molecules is a crucial area of study for the exploration of new pharmaceutical products. Non-clinical toxicological assays anticipate risk and reduce the likelihood of promising compounds failing in advanced stages of the research and development process, thus avoiding massive losses of

material and economic resources. Theoretical toxicity screening utilized admetSAR®, a software that assesses the viability of a molecule even before its synthesis. In vitro hemolytic activity testing has been reported as an alternative method in screening the toxicity of various compounds. The aim of this study was to evaluate the cytotoxicity of four synthetic compounds of the hydrazine-1-carbothioamide class; GL-02, GL-04, GL-07, and GL-08; in human blood cells. To quantify cytotoxic activity, blood suspensions with human A, B, and O blood types were prepared and mixed with different concentrations of the compounds for 60 minutes, with hemolysis quantified by spectrophotometry at a wavelength of 540 nm. Theoretically, carbothioamides have no mutagenic AMES potential and no carcinogenic potential. The theoretical acute oral toxicity analysis revealed a classification in Category I for all compounds. The theoretical LD50 of GL-02 corresponds to 760.2 mg/kg, and the LD50 of GL-04, GL-05, and GL-08 is 857.2 mg/kg. It was observed that all tested hydrazine-1-carbothioamides exhibited cytotoxicity against human erythrocytes when tested in vitro. The LogP of the four molecules is greater than zero, indicating that they are lipophilic and that interaction with membrane lipids may have favoured hemolysis.

Key words: Carbothioamides. Cytotoxicity. Synthetic molecules. Hemolysis. Plasma membrane.

1. INTRODUÇÃO

As hidrazina-1-carbotioamidas são compostos orgânicos que contêm carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre; são derivadas da reação da tiossemicabazida com aldeídos aromáticos. Conforme relatado na literatura, o uso da tiosemicarbazida no desenvolvimento e planejamento de fármacos tem se mostrado uma alternativa promissora; destacando-se a hibridação molecular, que acaba por combinar novos núcleos com o grupo farmacofórico de moléculas que tenham a atividade antimicrobiana comprovada cientificamente; tendo como objetivo encontrar novas alternativas terapêuticas (LÓCIO *et al.*, 2017).

É importante salientar que muitas substâncias são estudadas em laboratório por suas propriedades promissoras, mas podem levar anos até que sejam aprovadas para uso clínico, se

forem aprovadas. As hidrazina-1-carbotioamidas têm sido estudadas por suas atividades biológicas e citotóxicas.

O composto 3d, (2E)-2-[(4-nitrofenil)metilideno]hidrazina-1-carbotioamida, demonstrou ser forte inibidor da tirosinase de cogumelo com IC₅₀ de 0,05 µM, resultando num aumento de 128 vezes a potência em comparação com o controle positivo, o ácido kójico. (IC₅₀ representa o valor da concentração de um inibidor necessário para reduzir pela metade a atividade enzimática.) A cinética enzimática foi analisada, o padrão indica que o mecanismo de inibição de 3d é competitivo. Estudos de *docking* confirmaram o encaixe completo do composto no sítio ativo da tirosinase (HOSSEINPOOR *et al.*, 2020). Essa enzima, também conhecida como monofenol monoxigenase, contém cobre e catalisa a oxidação de fenóis em mamíferos, plantas e fungos; é a responsável pela produção

da melanina (SILVÉRIO; CASTRO; MIRANDA, 2013), portanto 3d possivelmente tem ação clareadora em manchas escuras de pele.

Apesar das funções fisiopatológicas das ectonucleotidasas não serem totalmente compreendidas devido à falta de inibidores potentes e seletivos da NTPDase (do inglês, *Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolases*), é sabido que a *h*-NTPDase3 é uma ectoenzima que tem preferência pelo ATP em vez do ADP como substrato (SCHRADER, 2022). A atividade indesejada das *h*-NTPDases leva a condições patológicas como câncer, diabetes, inflamação e trombose (BEGUN *et al.*, 2022). O composto 8m (Z)-N-etil-2-(2-oxoindolin-3-ilideno)hidrazina-1-carbotioamida foi relatado como um potente inibidor da *h*-NTPDase3, estimulando a secreção de insulina induzida pela glicose (AFZAL *et al.*, 2020).

Na pesquisa de Çapan e colaboradores (2021), as novas hidrazina-1-carbotioamidas (IC32 e IC34) com esqueleto de benzimidazol não substituído foram convertidas em derivados 1, 2, 4-triazol (IC42 e IC44) por reação de N-ciclização usando o método de síntese assistida por micro-ondas no meio básico com alta eficiência em um curto espaço de tempo. Quando as propriedades de *docking* molecular foram examinadas, observou-se que todos os ligantes se ligam à chaperona Hsp90 (*heat shock protein* 90), mas o IC32 inibiu melhor essa proteína. Esses dados contribuem para estudos potenciais de desenvolvimento de fármacos anticancerígenos, já que a Hsp90 estabiliza uma série de proteínas necessárias para o crescimento do tumor.

MePhPyC (N-3,5-trimetil-N-fenil-1-H-pirazol-1-tiocarboxamidapirazol), é uma molécula sintética que apresentou citotoxicidade com $IC_{50} = 49 \mu\text{g/mL}$ e demonstrou eficácia contra carcinoma ascítico de Ehrlich-Lette (EAC). A dose de 5 mg/kg de peso corporal foi mais eficaz do que as outras duas concentrações (10 e 15 mg/kg). MePhPyC demonstrou potencial como agente anticancerígeno em ambos os contextos, o de citotoxicidade *in vitro* e tratamento de tumor ascítico *in vivo* (KUMAR; PRIYA.; ARAVINDAKSHAN, 2021).

Dou e colaboradores (2022) descobriram uma série de novos inibidores da principal protease de SARS Cov_2 que são derivados do 2-(furan-2-ilmetileno)hidrazina-1-carbotioamida. A enzima SARS Cov-2 M^{pro} está envolvida no processo de replicação do vírus e resulta na maturação de pelo menos 12 proteínas não estruturais. A busca por similaridade levou à identificação do composto F8-S43 com o valor enzimático IC_{50} de 10,76 μM .

Os testes toxicológicos são uma etapa crítica no desenvolvimento de novos medicamentos. Após a seleção das moléculas mais promissoras, inicia-se uma etapa importantíssima, os testes toxicológicos não-clínicos. Testes *in silico* são frequentemente usados para prever a toxicidade e a atividade hemolítica *in vitro* fornece informações primárias sobre suas interações com as macromoléculas da membrana plasmática dos eritrócitos (LAVANDEIRA, 2014).

Com base nessas informações, esta pesquisa objetivou realizar triagem *in silico* usando o software admetSAR® para prever a toxicidade teórica e avaliar *in vitro* a atividade

citotóxica de quatro novas moléculas hidrazina-1-carbotioamidas em células sanguíneas humanas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Análise *in silico*

2.1.1 Teste toxicológico *in silico*

A análise da toxicidade teórica foi realizada utilizando o software admetSAR® que a partir de predições determina o potencial mutagênico de AMES, potencial carcinogênico, toxicidade em *Tetrahymena pyriformis*, toxicidade oral aguda, carcinogenicidade de classe III, e Dose Letal 50 (DL₅₀) em ratos. O estudo é baseado em triagem *in silico* dos parâmetros ADME/T (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) <http://lmmd.ecust.edu.cn/admetSar2> (CHENG *et al.*, 2012).

2.2 Análise *in vitro*

2.2.1 Moléculas

Os compostos foram sintetizados e cedidos pelo Laboratório de Desenvolvimento e Síntese de Fármacos (LDSF), no campus I da Universidade Estadual da Paraíba, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura. Conforme a Tabela 1, as hidrazina-1-carbotioamidas foram obtidas pelo tratamento de tiosemicarbazida com vários aldeídos

aromáticos. Em resumo, a reação foi feita com 100 miligramas de tiosemicarbazida (composto 1) e um equivalente dos aldeídos (composto 2) na presença de etanol e ácido acético à temperatura ambiente para produzir os compostos desejados. Informações sobre o rendimento das reações, estrutura molecular, massa molar, faixa de fusão, e nomenclaturas IUPAC (do inglês, *International Union of Pure and Applied Chemistry*), reveladas pelo software ACD/ChemSketch®, além do logP das hidrazina-1-carbotioamidas (calculados pelo ChewDraw®) podem ser conferidas na Tabela 1.

As moléculas foram solubilizadas, no momento da realização do teste de citotoxicidade em eritrócitos humanos, com 20% de DMSO e 4% de Tween 80 [v/v] numa concentração de 10 mg/mL. Essa solução mãe posteriormente foi diluída nas concentrações padronizadas para o teste: 50 µg/L, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 300 µg/mL e 400 µg/mL.

2.2.2 Hemácias humanas

Os eritrócitos humanos referentes aos tipos sanguíneos A, B e O foram oriundos de bolsas contendo concentrado de hemácias (CHM) de doadores saudáveis do Banco de Sangue do Hospital Universitário Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba. Essas bolsas seriam descartadas após o tempo regulamentar de estocagem em concordância com a RDC Nº 55 – ANVISA, de 11/12/2015, que dispõe sobre as boas práticas em tecidos humanos para uso terapêutico. O descarte foi realizado de acordo com as Normas de Segurança.

$$\% \text{ Hemólise} = \frac{\text{Absorbância teste (540nm)} \times 100}{\text{Abs. controle positivo (540nm)}}$$

(1)

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A previsão da toxicidade teórica das hidrazina-1-carbotioamidas pelo software admetSAR®, conforme Tabela 2, revelou não possuírem potencial mutagênico AMES, com valores de probabilidade de 0,60 para GL-02 e, de 0,54 para GL-04, GL-07 e GL-08; quanto ao potencial carcinogênico, o teste mostrou que teoricamente nenhum dos compostos testados apresenta efeitos carcinogênicos, todos com valor de 0,65.

Para *Tetrahymena pyriformis* as moléculas apresentaram alta toxicidade teórica com probabilidade de 100%. Esse ensaio, quando realizado *in vitro*, é utilizado como um bioindicador para avaliar a toxicidade de substâncias químicas no meio ambiente; é realizado com o objetivo de estudar respostas fisiológicas e bioquímicas à presença de diferentes compostos químicos em *Tetrahymena pyriformis*, um protozoário ciliado (ROGERO *et al.*, 2003).

Para toxicidade oral aguda, a análise evidenciou classificação na categoria I para todos os compostos, segundo a USEPA - Agência de Proteção Ambiental Americana; 0,54 para GL-02 e, 0,5 para GL-04, GL-07 e GL-08, o que significa que a DL₅₀ é inferior ou igual a 50mg/kg, ou seja, a dose necessária de GL-02, de GL-04, de GL-07 e de GL-08 que mata 50% de uma população em teste é inferior a 50 mg/kg. As outras classificações II, III e IV contém,

respectivamente, os compostos com valores de DL₅₀ superiores a 50 mg/kg e inferior a 500 mg/kg, compostos com valores de DL₅₀ superiores a 500 mg/kg e inferior a 5000 mg/kg e compostos com DL₅₀ valores superiores a 5000 mg/kg.

A DL₅₀ teórica é de 3,4492 mol/kg para GL-04, GL-07 e GL-08, e 3,5566 mols/kg para GL-02; ou seja, os compostos analisados não apresentam capacidade genotóxica e nem carcinogênica teórica e exibem DL₅₀ teórica em torno de 3,5 mol/kg para toxicidade aguda em ratos. Um mol é uma unidade de medida de quantidade de substância, enquanto um miligrama é uma unidade de medida de massa. Portanto, a conversão entre as duas unidades depende da massa molar da substância em questão. A massa molar das hidrazina-1-carbotioamidas GL-04, GL-07 e GL-08 é 248,13 g/mol correspondendo a DL₅₀ de 857,2 mg/kg (0,8572 g/kg); a massa molar da GL-02 é 213,69 g/mol correspondendo a DL₅₀ 760,2 mg/kg (0,7602 g/kg). Para toxicidade oral em ratos, os compostos DL₅₀ oral entre 50 mg/kg a 5g/kg podem ser considerados como de média toxicidade (WONG, 2003).

Ao analisar a carcinogenicidade teórica de classe III, os valores foram entre 0,67 e 0,68, não apresentando risco. Qualquer dose igual ou inferior a 10 mg/kg de peso corporal por dia será classificada como “perigosa” para o corpo. Por outro lado, se a dose for superior a 50 mg/kg de peso corporal por dia, só será rotulada como “advertência” para um produto químico que não é cancerígeno. Isto sugere que mesmo doses baixas do produto químico podem representar uma ameaça à saúde, mas doses acima de 50

mg/kg de peso corporal por dia não têm efeito cancerígeno. Especificamente, para as hidrazina-1-carbotioamidas analisadas, os resultados

produziram uma classificação “não cancerígena” com valores que variam entre 67 e 68%.

Tabela 2 – Teste de toxicidade teórica das hidrazina-1-carbotioamidas usando o software admetSAR® *

Molécula	Parâmetros	Toxicidade	Probabilidade**
GL-02	Potencial mutagênico AMES	Não é tóxico	0,60
	Potencial carcinogênico	Não cancerígeno	0,65
	Toxicidade (<i>Tetrahymena pyriformis</i>)	Alta toxicidade	1,00
	Toxicidade oral aguda	I	0,54
	Carcinogenicidade de classe III	Não carcinogênico	0,67
GL-04	Potencial mutagênico AMES	Não é tóxico	0,54
	Potencial carcinogênico	Não cancerígeno	0,65
	Toxicidade (<i>Tetrahymena pyriformis</i>)	Alta toxicidade	1,00
	Toxicidade oral aguda	I	0,51
	Carcinogenicidade de classe III	Não carcinogênico	0,68
GL-07	Potencial mutagênico AMES	Não é tóxico	0,54
	Potencial carcinogênico	Não cancerígeno	0,65
	Toxicidade (<i>Tetrahymena pyriformis</i>)	Alta toxicidade	1,00
	Toxicidade oral aguda	I	0,51
	Carcinogenicidade de classe III	Não carcinogênico	0,68
GL-08	Potencial mutagênico AMES	Não é tóxico	0,54
	Potencial carcinogênico	Não cancerígeno	0,65
	Toxicidade (<i>Tetrahymena pyriformis</i>)	Alta toxicidade	1,00
	Toxicidade oral aguda	I	0,51
	Carcinogenicidade de classe III	Não carcinogênico	0,67

*admetSAR® pesquisa propriedades ADME/T: Absorção, Distribuição, Metabolização, Excreção, Toxicidade.

**Quanto mais próximo de 1, maior a probabilidade de apresentar efeito.

Fonte: Elaborada pelos autores

O ensaio hemolítico *in vitro* utilizando espectrofotômetro representa um teste fácil e eficaz para a medição quantitativa da hemólise. É um teste barato, rápido e reprodutível, portanto pode diminuir o uso de animais experimentais para testes *in vivo* (FARAG; ALAGAWANY,

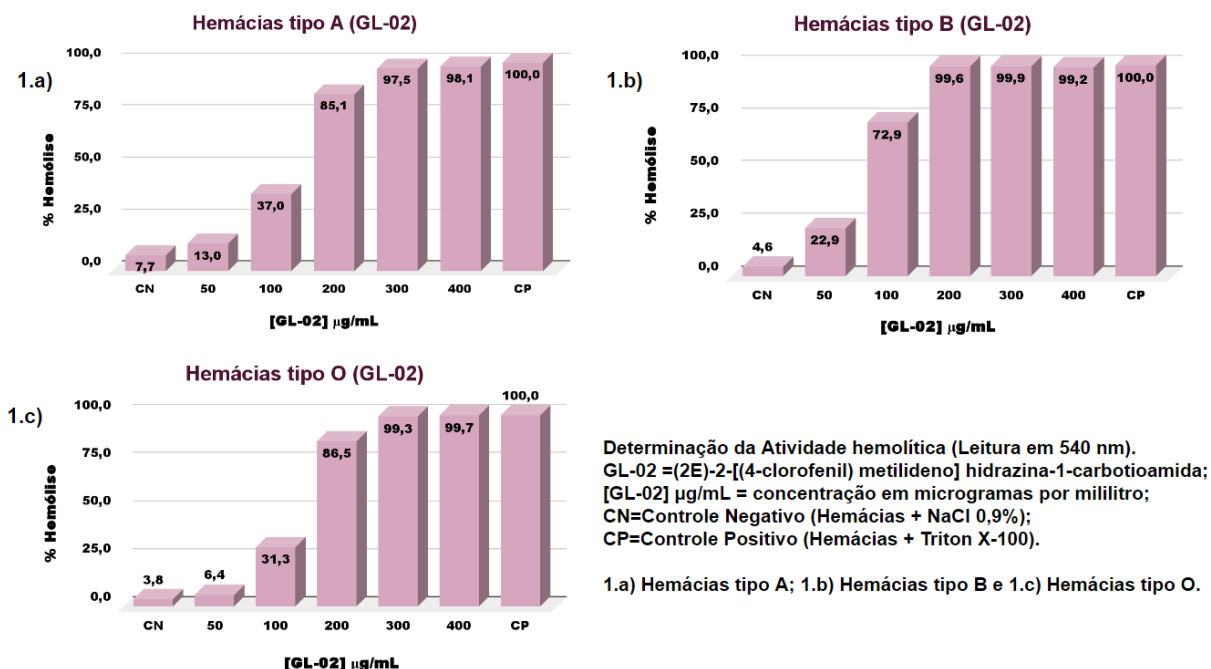
2018). Os resultados referentes a citotoxicidade das hidrazina-1-carbotioamidas estão nos gráficos 1(a-c), 2(a-c), 3(a-c) e 4(a-c).

As hemácias humanas são isotônicas quando em solução de cloreto de sódio a 0,9%.

Em relação aos glóbulos vermelhos, a citotoxicidade pode ser avaliada por ensaios que medem a hemólise, ou seja, a ruptura das células e a liberação de hemoglobina. A membrana

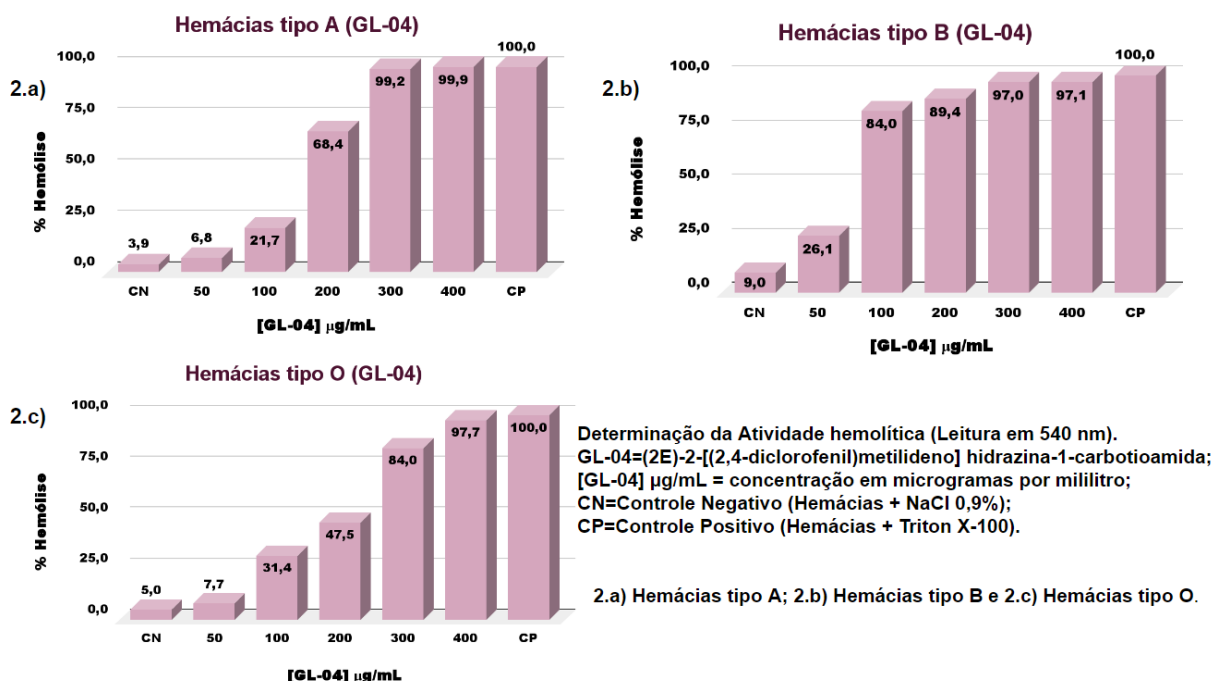
celular das hemácias é semelhante a de outros tipos de célula, é uma bicamada lipídica que contém dois tipos de proteínas de membrana: integral e periférica.

Gráficos 1.a, 1.b e 1.c. – Avaliação da citotoxicidade de diferentes concentrações de GL-02 em eritrócitos humanos dos tipos sanguíneos A, B e O.



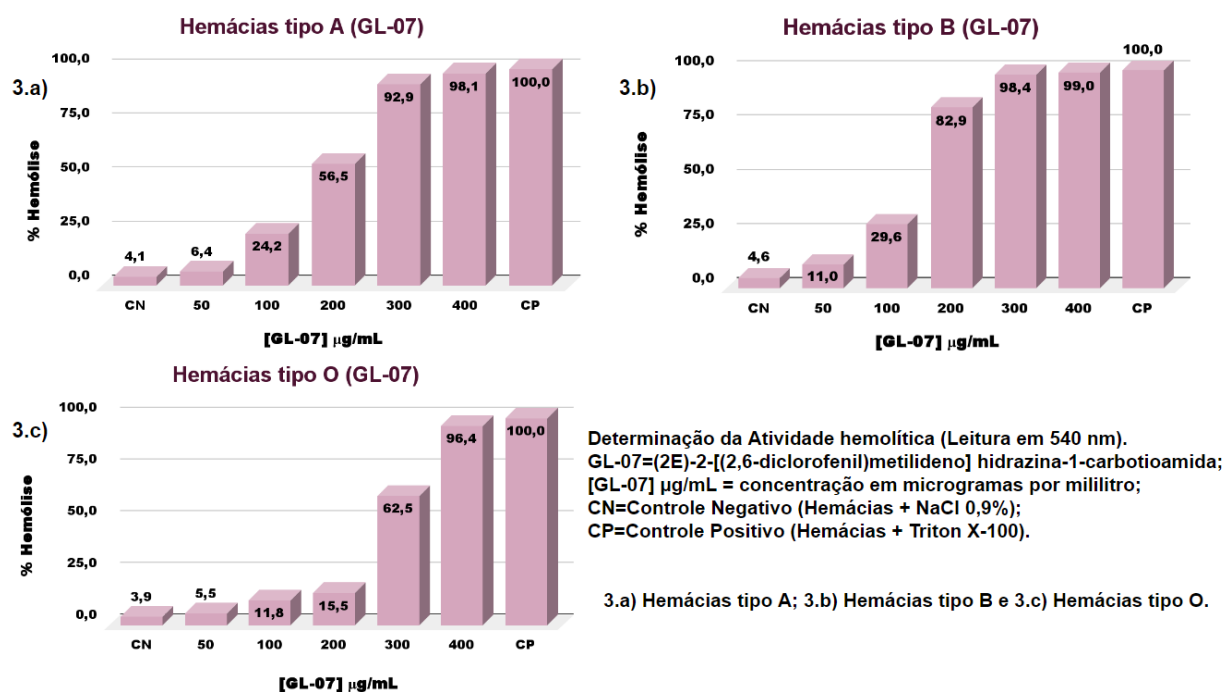
Fonte: Gráficos elaborados pelos autores no Google Planilhas

Gráficos 2.a, 2.b e 2.c. – Avaliação da citotoxicidade de diferentes concentrações de GL-04 em eritrócitos humanos dos tipos sanguíneos A, B e O.



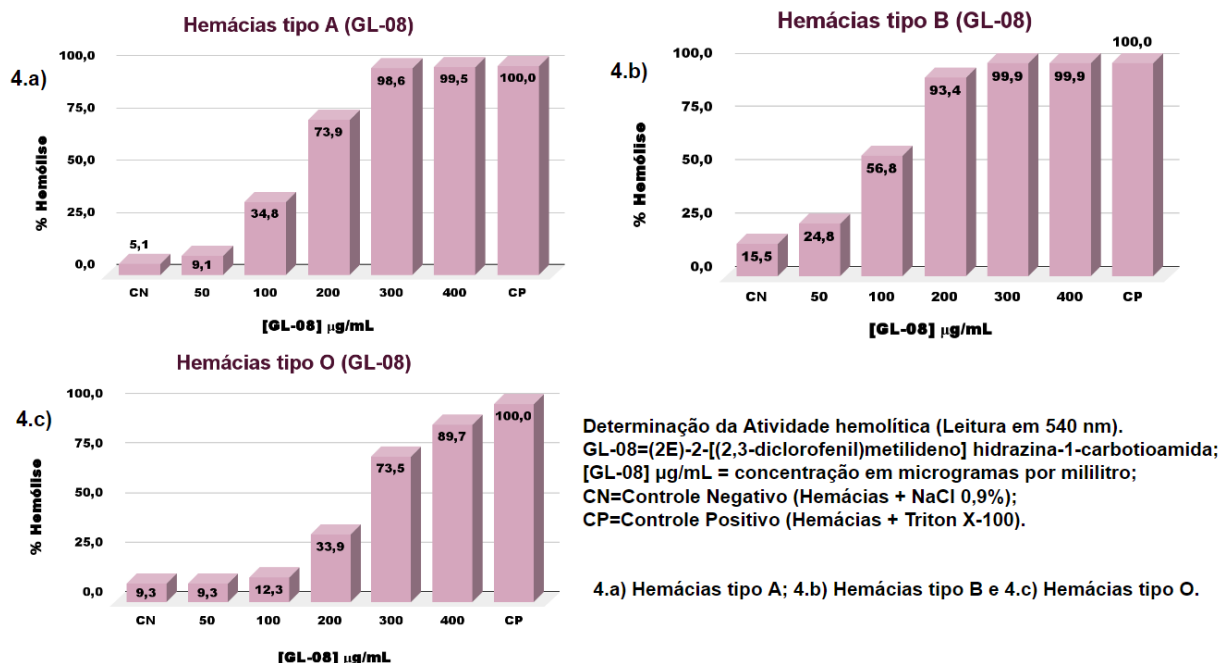
Fonte: Gráficos elaborados pelos autores no Google Planilhas

Gráficos 3.a, 3.b e 3.c. – Avaliação da citotoxicidade de diferentes concentrações de GL-07 em eritrócitos humanos dos tipos sanguíneos A, B e O.



Fonte: Gráficos elaborados pelos autores no Google Planilhas

Gráficos 4.a, 4.b e 4.c.– Avaliação da citotoxicidade de diferentes concentrações de GL-08 em eritrócitos humanos dos tipos sanguíneos A, B e O.



Fonte: Gráficos elaborados pelos autores no Google Planilhas

A concentração lítica mínima (CLM) é a menor concentração do produto teste capaz de lisar 100% dos eritrócitos (LEE *et al.*,1999). Para todos os compostos analisados neste estudo a concentração de 300 µg/mL foi a CLM para a grande maioria dos testes realizados.

Após testar as moléculas sintéticas, diluídas em concentrações que variam de 50 a 400 µg/mL, em contato com suspensão de hemácias; e incubar em condições padronizadas; observou-se que na concentração de 200 µg/mL ocorreu hemólise em mais de 50% dos eritrócitos nos três tipos sanguíneos (A, B e O) em comparação com os controles negativos. O resultado foi semelhante para as quatro hidrazina-1-carbotioamidas analisadas.

O coeficiente de partição de um fármaco (LogP) é a medida de sua distribuição em um sistema de fase lipofílica/hidrofílica, e indica sua capacidade de penetrar sistemas biológicos

multifásicos. Valores muito elevados podem manter as moléculas retidas na membrana, devido a sua alta lipossolubilidade. Todas as hidrazina-1-carbotioamidas do estudo tem LogP maior que zero, indicando que as moléculas são lipofílicas e que a interação com os lipídeos de membrana pode ter favorecido a hemólise. O valor de logP para GL-02 é 2,26; o valor de logP para GL-04, GL-07 e GL-08 é 2,81, calculados pelo *ChemDraw*, um editor de moléculas.

Apesar do risco potencial de hemólise, existem medicamentos que são amplamente utilizados na medicina devido aos significativos benefícios alcançados. A penicilina, que é um antibiótico, e a metildopa, que é um anti-hipertensivo, podem causar hemólise autoimune, na qual o sistema imunológico ataca seus próprios glóbulos vermelhos, o que pode ocorrer em concentrações clínicas (RIOS, 2020). A

quinina, um fármaco antimalárico, também pode causar lise de eritrócitos durante o tratamento.

Sousa (2019) sintetizou e detectou que o derivado tiossemicarbazônico acridínicos GLCL-04 apresentou inibição de 83,7% frente às células HL-60 na concentração de 50 μ M e; apresentou também maior poder citotóxico frente ao teste de hemólise, o que corrobora com os resultados encontrados nesta pesquisa com as hidrazina-1-carbotioamidas testadas (GL-02, GL-04, GL-07 e GL-08), sendo uma característica típica de compostos anticâncer, por apresentar uma toxicidade elevada para células normais. A nomenclatura do GLCL-04 é (E)-N-(acridin-9(10H)-ilideno)-2-(2,4-dicloro-benzilideno)hidrazinacarbotioamida.

A determinação da citotoxicidade é um passo importante no desenvolvimento de medicamentos para garantir que os candidatos a fármacos sejam seguros e eficazes para uso em humanos, ao mesmo tempo que minimiza o risco do paciente e atende aos requisitos regulamentares (DIAS, 2018). Atualmente, a síntese de compostos orgânicos constitui uma importante parte no processo de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A previsão da toxicidade teórica das hidrazina-1-carbotioamidas analisadas, GL-02, GL-04, GL-07 e GL-08, pelo software admetSAR®, revelou que teoricamente não possuem potencial mutagênico AMES e nem potencial carcinogênico. A análise da toxicidade oral aguda teórica evidenciou classificação na categoria I; sendo a DL_{50} teórica em ratos para

GL-02 igual a 760,2 mg/kg, e para GL-04, GL-07 e GL-08 igual a 857,2 mg/kg; considerada como alta toxicidade. Na carcinogenicidade de classe III teórica todas apresentaram resultado de não carcinogênico.

De acordo com os resultados pode-se observar que as carbotioamidas testadas (GL-02, GL-04, GL-07 e GL-08) apresentaram citotoxicidade frente aos eritrócitos humanos, dos tipos A, B e O, quando testadas *in vitro*.

É importante notar que a citotoxicidade é um efeito colateral indesejado que pode ocorrer com muitos compostos químicos, incluindo medicamentos. Felizmente, novos estudos sugerem que as hidrazina-1-carbotioamidas podem ser candidatos a antitumorais, anti-SARS Cov-2, inibidor de tirosinase e inibidor de *h*-NTPDase3. Apesar da citotoxicidade observada em hemácias, é importante continuar a investigar esses compostos para entender melhor suas propriedades e potencial terapêutico.

REFERÊNCIAS

AFZAL, S. *et al.* Functionalized Oxindolin Hydrazine Carbothioamide Derivatives as Highly Potent Inhibitors of Nucleoside Triphosphate Diphosphohydrolases. **Front. Pharmacol.**, Lausana, v.11, p.1-18, 2020.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 55, de 11 de dezembro de 2015. **Dispõe sobre as Boas Práticas em Tecidos humanos para uso terapêutico**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 14 de dezembro de 2015, p. 238.

BEGUN, Z. *et al.* Identification of thienopyrimidine glycinates as selective inhibitors for *h*-NTPDases. **Bioorg Chem**, Amsterdam, v.129, p.1061-96, 2022.

ÇAPAN, I. *et al.* Synthesis, DFT Study, Molecular Docking and Drug-Likeness Analysis of the New Hydrazine-1-Carbothioamide, Triazole and Thiadiazole Derivatives: Potential Inhibitors of HSP90. **ChemistrySelect**, Weinheim, v.6, n.23, p.5838-5846, 2021.

CHENG.L. *et al.* AdmetSAR: a comprehensive source and free tool for assessment of chemical ADMET properties. **J Chem Inf Model**, American Chemical Society, v. 52, n. 11, p.3099-3105, 2012.

DIAS, G. T. **Avaliação da toxicidade in silico e das atividades hemolítica, antioxidante e antibacteriana in vitro das formas óleo essencial e óleo essencial microencapsulado de *Lippia pedunculosa***. 2018. 82f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Farmácia) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.

DOU, X. *et al.* Discovery of 2-(furan-2-ylmethylene)hydrazine-1-carbothioamide derivatives as novel inhibitors of SARS-CoV-2 main protease. **Eur. J. Med. Chem.**, Elsevier, v. 238, p.1-16, 2022.

FARAG, M.R.; ALAGAWANY, M. Erythrocytes as a biological model for screening of xenobiotics toxicity, **Chemico-Biological Interactions**, Amsterdam, v. 279, p. 73-83, 2018.

HOSSEINPOOR, H. *et al.* A Series of Benzylidenes Linked to Hydrazine-1-carbothioamide as Tyrosinase Inhibitors: Synthesis, Biological Evaluation and Structure-Activity Relationship. **Chem Biodivers**, Weinheim, v.17, n.8, p.1-12, 2020.

LAVANDEIRA, F.M.F. **Ensaios toxicológicos pré-clínicos na avaliação da segurança de novos fármacos**. 2014. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2014.

LEE, S.H. *et al.* In vitro antifungal susceptibilities of *Candida albicans* and other fungal pathogens to polygodial, a sesquiterpene dialdehyde. **Planta Med.**, Stuttgart, v. 65, p. 204-208, 1999.

LÓCIO, L.L. *et al.* O uso da tiossemicarbazida no planejamento de fármacos antimicrobianos. In: II Congresso Brasileiro de Ciências da Saúde, 2017, Campina Grande. **Anais II Combracis**, Campina Grande: UEPB, p.1-8, 2017.

KUMAR, K.S; PRIYA, N.P.; ARAVINDAKSHAN, K.K. Synthesis, Crystal Structure, and In Vitro Cytotoxic, Antitumor And Antimicrobial Evaluation of a New Pyrazole Derivative N-3,5-Trimethyl-Nphenyl-1-H-Pyrazole-1-Carbothioamide. **Pharm. Chem. J.**, Londres, v.54, p.1079-1086, 2021.

RANGEL, M. *et al.* Hemolytic activity in extracts of the diatom *Nitzschia*. **Toxicon**, Oxford, Vol. 35, No. 2, p. 305 309, 1997.

RIOS, J.O. ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE INDUZIDA POR FÁRMACOS. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, Rio de Janeiro, v.42 n.S2, 2020.

ROGERO. S.O. *et al.* Teste in vitro de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. **Mat. Res.**, São Paulo, v. 6, n. 3, p. 317-320, 2003.

SCHRADER, J. Ectonucleotidases as bridge between the ATP and adenosine world: reflections on Geoffrey Burnstock. **Purinergic Signalling**, Londres, v.18, p.193-198, 2022.

SILVÉRIO, M.D.O.; CASTRO, C.F.S.; MIRANDA, A.R. Avaliação da atividade antioxidante e inibitória da tirosinase das folhas de *Dipteryx alata* Vogel (Baru). **Rev. bras. plantas med.**, Maringá, v.15, n.1, p.59-65, 2013.

SOUSA, G. L. S. **Síntese e avaliação do potencial antitumoral de novos derivados tiossemicarbazônicos-acridínicos**. 2019. 240f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Química - PPGQ) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2019.

WONG, Anthony. Centro de Assistência Toxicológica do Hospital das Clínicas de São Paulo (CEATOX). Palestrante do Seminário de Urgências Toxicológicas em Salvador/ BA. Toxicologista Alerta para o alto índice de intoxicação no Brasil. Matéria publicada no **Notícias On-line** em 30 de abril de 2003.

Zilka Nanes Lima

Farmacêutica, doutoranda em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos - UFPB. Professora de Microbiologia Clínica no Departamento de Farmácia, UEPB, campus I.

Ricardo Olímpio de Moura

Farmacêutico, doutor em Ciências Biológicas - UFPE. Professor de Química Farmacêutica no Departamento de Farmácia, UEPB, campus I.

Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz

Farmacêutica, médica, doutora em Produtos Naturais e Bioativos – UFPB. Professora Titular no Departamento de Farmácia – UFPB, campus I.

Abrahão Alves de Oliveira Filho

Farmacêutico, doutor em Produtos Naturais e Bioativos. Professor Adjunto da unidade acadêmica de ciências da saúde – UFCG, campus Patos.

Fábio Correa Lima Nepomuceno

Fisioterapeuta, especialista em Fisioterapia na UTI – Redentor, mestre em Ciências das Religiões – UFPB, doutor em Desenvolvimento e Inovações Tecnológicas em Medicamentos – UFPB. Professor do Centro Universitário de João Pessoa -UNIPÊ.

Fernanda Patrícia Torres Barbosa

Nutricionista, doutora em Desenvolvimento e Inovações Tecnológicas em Medicamentos – UFPB. Docente do Curso de Bacharelado em Nutrição da UNIFACISA, Campina Grande, Paraíba.

Inácio Ricardo Alves Vasconcelos

Farmacêutico, mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, UFPB. Doutorando em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos (UFPB)

Misael de Azevedo Teotônio Cavalcanti

Farmacêutico. Mestrando em Ciências Farmacêuticas – UEPB.

Luis Augusto Pereira Silva

Enfermeiro, especialista em Microbiologia. Mestrando em Saúde Pública - UEPB.

Hilzeth de Luna Freire Pessoa

Bióloga, doutora em Produtos Naturais e Bioativos – UFPB. Professora do Departamento de Biologia Molecular na UFPB.
