

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Insumos Farmacêuticos

Estudos sobre planejamento de tuberculostáticos potenciais derivados de dendron de ácido 2,2-*bis*-(hidroximetil)propiônico(*bis*-MPA) com associação de isoniazida e ibuprofeno: síntese e ensaio biológico do derivado de ibuprofeno

GABRIEL LUIS CARDOSO GRECO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos FCF-USP para obtenção do Título de Mestre.

Orientadora: **PROFA. TITULAR ELIZABETH IGNE FERREIRA**

São Paulo

2021

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Insumos Farmacêuticos

Estudos sobre planejamento de tuberculostáticos potenciais derivados de dendron de ácido 2,2-*bis*-(hidroximetil)propiônico(*bis*-MPA) com associação de isoniazida e ibuprofeno: síntese e ensaio biológico do derivado de ibuprofeno

GABRIEL LUIS CARDOSO GRECO

Versão Simplificada

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos FCF-USP para obtenção do Título de Mestre.

Orientadora: **PROFA. TITULAR ELIZABETH IGNE FERREIRA**

São Paulo

2021

Gabriel Luís Cardoso Greco

**Estudos sobre planejamento de tuberculostáticos potenciais
derivados de dendron de ácido 2,2-bis-
(hidroximetil)propiónico(*bis*-MPA) com associação de
isoniazida e ibuprofeno: síntese e ensaio biológico do derivado
de ibuprofeno**

Comissão Julgadora

da

Dissertação/Tese para obtenção do Título de Mestre

Prof^a. Dr^a. Elizabeth Igne Ferreira
Orientadora/presidente

1º. examinador

2º. examinador

3º. examinador

4º. examinador

São Paulo, _____ de _____ de 2021.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

G791e Greco, Gabriel Luis Cardoso
Estudos sobre planejamento de tuberculostáticos potenciais derivados de dendron de ácido 2,2-bis-(hidroximetil)propiônico(bis-MPA) com associação de isoniazida e ibuprofeno: síntese e ensaio biológico do derivado de ibuprofeno / Gabriel Luis Cardoso Greco. - São Paulo, 2021.
119 p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.
Departamento de Farmácia - Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos.
Orientador: Ferreira, Elizabeth Igne

1. Química Medicinal. 2. Latenciação. 3. Tuberculose. 4. Ibuprofeno. 5. Dendrimeros. I. T. II. Ferreira, Elizabeth Igne, orientador.

Dedicatórias

Primeiramente, gostaria de dedicar este trabalho aos meus pais, Antônio Inácio Greco e Cássia A. Cardoso Greco. Agradeço a vocês por me propiciarem toda educação e desenvolvimento necessário para chegar até aqui sempre repleto de muito amor e carinho. A realização deste projeto é uma vitória nossa. Obrigado por sempre me apoiarem em minhas decisões e por me guiarem nos momentos de desamparo. Vocês terão sempre o meu reconhecimento e minha gratidão eterna por tudo que vocês fizeram e ainda fazem por mim. EU AMO MUITO VOCÊS!

*“- Why do we fall master Bruce? So that we can learn to pick ourselves up.
- You still haven't given up on me?
- Never.”*

Batman Begins

À minha querida orientadora, Prof^ª Titular Elizabeth Igne Ferreira que, desde 2016 quando a conheci pessoalmente, abriu as portas da FCF-USP para mim e sempre me tratou com muita educação e carinho. Professora, se há uma pessoa que eu vou levar para o resto da minha vida é você, com certeza. Eu não seria 10% do pesquisador, eterno aprendiz e homem que hoje sou sem seus ensinamentos, orientações, conversas e puxões de orelha. Eu não tenho palavras para descrever o quão importante você é e sempre será na minha vida. Você sempre me inspirou a perseverar e boa parte do meu esforço e da minha evolução foram para retribuir a você toda confiança em mim depositada desde o primeiro dia. Meu eterno muito obrigado a você!

“Life is not easy for any of us. But what of that? We must have perseverance and above all confidence in ourselves. We must believe that we are gifted for something and that this thing must be attained.”

Marie Curie

À minha namorada, Thaís Valente Vieira, por todo apoio e motivação nos momentos difíceis pelos quais passei. Por tornar toda minha caminhada mais alegre. Você é muito mais do que minha namorada, companheira, ou melhor amiga...você é tudo isso junto e mais um pouco, nos momentos bons e nos momentos ruins. Eu nunca vou desistir de lhe apoiar e de querer o seu melhor. Vou levar você no meu coração onde quer que eu vá.

Sei que a convivência comigo não é tão simples e, por isso, eu agradeço, pois são as pequenas atitudes diárias que fortalecem nosso sentimento. Não existem palavras que descrevam o quanto eu amo você; é uma tarefa mais árdua do que escrever qualquer dissertação ou artigo científico. Espero poder aproveitar tudo o que temos pela frente
ainda. Te amo muito!!

*“Seremos donos do nosso amanhã se estivermos unidos
Em sintonia com os nossos sonhos
Mesmo se não formos iguais
Pois não somos iguais
(...)”
Dona do meu pensamento, você, nossa história”*

Charlie Brown Jr.

Às minhas irmãs, Beatriz Greco e Raquel Greco, por toda cumplicidade durante esses meus 26 anos. Eu amo muito vocês duas e agradeço por todas às vezes que vocês salvaram minha vida...as vezes nem tanto (como aquele passeio de bicicleta na Disney em que vocês me deixaram sozinho com 4 anos rs). Às minhas avós Diolinda Cardoso e Maria José Cardoso, que sempre cuidaram de mim e hoje eu tenho a missão de retribuir todo esse carinho, meu muito obrigado, eu amo vocês. Aos meus tios Francisco Greco e Margarida Greco, que nunca serão esquecidos por mim e terão eternamente um lugar guardado em meu coração. Aos meus sobrinhos Lucas Greco Modesto e Sofia Greco Modesto que, estão no começo ainda de suas caminhadas, obrigado por trazerem alegria à nossa família. Por fim, ao meu falecido avô Virgílio Cardoso, eu queria muito que você pudesse ver essa conquista. Eu sinto muito a sua falta Vô, não virei jogador de futebol, mas espero poder orgulha-lo com o caminho que escolhi trilhar, eu te amo!

Family

Noun

Life's greatest blessing. A group that dreams, laughs, plays and loves together. Those whom you can always count on. Always present, not only in the good times. The most precious gift.

Agradecimentos

Ao Departamento de Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Ao Departamento de Imunologia do ICB-IV da Universidade de São Paulo.

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro.

Aos professores Dr. Jonas Gruber e Dr.^a Daniela Rando, pela discussão enriquecedora durante o exame de qualificação.

À professora Dr.^a Jeanine, de quem tive a oportunidade de receber seu conhecimento através de aulas e, principalmente, durante nossos seminários do LAPEN.

À Dr.^a Mônica Zannini, um anjo em minha vida, que me mostrou o caminho para que os objetivos fossem alcançados, fora todos os ensinamentos e discussões enigmáticas sem fim. Serei eternamente grato a você, Mônica.

Ao Prof. Dr. Mario Hirata, pela colaboração e parceria que tornou possível a obtenção dos resultados biológicos. À professora Dr.^a Maria Regina do ICB-IV do Departamento de Imunologia, também, pela parceria.

Aos doutorandos, Igor Santiago-Carvalho e Caio Bonfim por “toparem” e conduzirem os ensaios de atividade de inibição de crescimento e demais testes ainda por vir. Eu aprendi muito com nossas discussões e espero poder aprender muito mais.

Aos meus colegas de LAPEN, Charles, Rodrigo, João, Soraya, Marina, Diego, Bruna, Lucas, Renan e Marcos que, durante esse período, me ajudaram muito e, principalmente, me acolheram muito bem. Aos meus colegas de LAPEN que foram entrando ao longo do tempo, Lucas, Pone, Bia, Cecília, Cinthya, Sara. Boas-vindas aos novos integrantes da família LAPEN: Erick, Alice, Felipe, Gabriela, Valquiria e Denise, ansioso para conhecê-los pessoalmente assim que for possível.

Aos amigos do LAPESSB que fiz nessa caminhada, Mauricio, Nuno, Thais, Vitor e Karina.

Ao meu amigo Natan por todo suporte e ensinamentos, sempre com muita paciência e didática.

Aos meus amigos de graduação, que tornaram todo caminho mais prazeroso, Guilherme, Thaís, Júlia, Larissa, Kaylani, Levi e Mayra.

Aos meus fieis amigos de caminhada, Allan, Pituca (Pedro Henrique), Ronaldo, Derek, Pedro Toledo, Rafael, Lucas Lopes, Gustavo Villani, Caio Ribau, Daniel Zaghi, Yuri Andrade, Guilherme, Matheus Tosta, Bruno Fernandes e Murilo.

Às minhas amigas Milena Fidalgo, Isabel Bacellar, Yasmin Barja, Izah Barja, Maria Luísa, Luma, Nathália, Jéssica, Carolina e Giovana.

A todos meus amigos e amigas que ficaram de fora dessa lista, mas, de alguma forma, contribuíram com o meu crescimento durante esse período.

À família Valente e família Vieira por todo suporte, motivação e por me receberem de braços abertos como um de vocês. Obrigado por tudo!

Aos funcionários da Universidade de São Paulo, Kelma e David, por todo suporte.

*“I sit beside the fire and think
of all that I have seen,
of meadow-flowers and butterflies
in summer that have been;*

*Of yellow leaves and gossamer
in autumns that there were,
with morning mist and silver sun
and wind upon my hair.*

*I sit beside the fire and think
of how the world will be
when winter comes whitout a spring
that I shall ever see.*

*For still there are so many things
that I have never seen:
in every wood in every spring
there is a different green.*

*I sit beside the fire and think
of people long ago,
and people who will see a world
that I shall never know.*

*But all the while I sit and think
of times there were before,
I listen for returning feet
and voices at the door.”*

The Fellowship of the Ring – J.R.R. Tolkien

Resumo

GRECO, G.L.C. **Estudos sobre planejamento de tuberculostáticos potenciais derivados de dendron de ácido 2,2-bis-(hidroximetil)propiónico(bis-MPA) com associação de isoniazida e ibuprofeno: síntese e ensaio biológico do derivado de ibuprofeno.** 2021. 91p. Dissertação de mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) e envolve, principalmente, graves problemas pulmonares. No entanto, pode-se alojar em outros tecidos. A terapia atual da TB tem duração mínima de seis meses e é composta por duas fases de tratamento. Durante o tratamento é comum os pacientes sentirem desconfortos como: náusea, vômito, cefaleia, desconforto abdominal entre outros, devido aos efeitos adversos provocados pelos medicamentos. A taxa de abandono e a coinfeção por HIV constituem preocupação mundial no tratamento da TB, uma vez que o HIV, por envolver diminuição da imunidade, facilita a infecção e a manifestação da doença pelo *M. tuberculosis*. Já o abandono do tratamento pode resultar em resistência das micobactérias aos fármacos, dificultando o processo de cura e aumentando os riscos de morte. Ante esse cenário, há necessidade de se introduzir novos fármacos tuberculostáticos. Dentre os métodos de modificação molecular de compostos bioativos utilizados com o intuito de aprimorar a respectiva eficácia e introduzir novas alternativas terapêuticas, destaca-se a latenciação. Esse processo possui como principal objetivo o aprimoramento das propriedades farmacêuticas, farmacocinéticas e, indiretamente, das farmacodinâmicas. Já os dendrímeros são macromoléculas com diversas aplicações biológicas, entre elas a utilização como transportador de fármacos na latenciação. Por outro lado, o reposicionamento de fármacos oferece um caminho mais rápido e de menor custo, quando comparado ao método tradicional de descoberta de novos compostos bioativos, sendo, assim, estratégia válida na busca de novos tratamentos para a TB. Face ao exposto, este projeto teve por objetivo inicial desenvolver pró-fármaco e fármaco dirigido, com manose como grupo diretor, derivado de dendron (*bis*-MPA), com associação de isoniazida e ibuprofeno. Este último é consagrado como anti-inflamatório e, desta forma, constitui-se em reposicionamento para a TB. Ademais, a associação desses fármacos tem o propósito de oferecer dois mecanismos distintos de ação, resultando em sinergismo além de seletividade, diminuindo os efeitos adversos dos fármacos envolvidos e minimizando o surgimento de micobactérias resistentes. Dos compostos planejados, obtiveram-se, nesse trabalho, os intermediários como succinilisoniazida, *bis*-MPA protegido e o dendron de ibuprofeno. Os compostos obtidos foram analisados por RMN ¹H e ¹³C e alguns deles no IV. O intermediário de ibuprofeno também foi caracterizado através de RMN bidimensional. Este intermediário foi submetido a ensaios *in vitro*, entre eles, ensaios que demonstraram atividade bactericida em cepas H₃₇RV em concentrações de 26 nM – 208 nM.

Palavras-chave: Tuberculose; dendrímeros; latenciação; reposicionamento; ibuprofeno.

Abstract

GRECO, G.L.C. **Design and evaluation of potential tuberculostatic analogues of 2,2-Bis(hydroxymethyl)propionic acid (*bis*-MPA) with association of ibuprofen and isoniazid: synthesis and biological evaluation of ibuprofen analogue.** 2021. 91p. Dissertação de mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

Tuberculosis (TB) is an infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) that mainly affects the lung tissue. Currently, tuberculosis chemotherapy can last for at least 6 months and is divided in two stages. During the treatment patients can develop some side adverse effects caused by the drugs used like nausea, emesis, headache and abdominal pain, which can lead to the treatment dropout. Co-infection with HIV and treatment dropout rate are two concerning problems worldwide. The HIV leads to immunosuppression, which can facilitate the infection and also the manifestation of the disease caused by the *Mtb*. On the other hand, incomplete treatment can lead to resistant forms of TB that are more lethal and difficult to cure. New drugs and treatment options are needed to overcome these problems. Molecular modification of bioactive compounds can be a way out to introduce new drug candidates. Latentiation is a method of molecular modification that can increase the efficacy of bioactive candidates. This method consists of the enhancement of pharmaceutical properties, pharmacokinetics and indirectly the pharmacodynamic properties. Dendrimers are known for being macromolecules with a vast range of biological application such as drug delivery in latentiation. In addition, drug repositioning offers a faster and inexpensive drug development, when compared with the traditional method of discovering new drug candidates, which is a logical alternative since TB is strongly associated with poverty. Against this background this project had the initial purpose of developing a targeted drug and prodrug derived of *bis*-MPA dendron with association of isoniazid and ibuprofen repositioning utilizing mannose as director group. Furthermore, the association between ibuprofen and isoniazid had the purpose to provide two distinct mechanism of action with selectivity reducing the side effects issue and also the upcoming of *Mtb* resistant strains. Among the planned compounds of this project, three different intermediaries were obtained and analyzed by ¹H and ¹³C NMR and some of them by infrared spectroscopy. The ibuprofen intermediary was also characterized by two-dimensional NMR. *In vitro* evaluation revealed that the ibuprofen intermediary was active against H₃₇RV *Mtb* strain in concentrations ranging from 26 nM to 208 nM.

Keywords: Tuberculosis; dendrimers; pro drug; ibuprofen; repositioning.