



SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-*Mycobacterium tuberculosis* DO TRANS-2-FENILAMINOCICLOEXANOL E SEUS DERIVADOS

Marcelo Santos Almeida (PIBIC/FA-UEM), Diego Alberto dos Santos Yamazaki (PG), Mariana Aparecida Lopez-Ortiz (PG), Regiane Bertin de Lima Scodro (Co-orientadora), Gisele de Freitas Gauze (Orientadora)
e-mail: gfgbandoch@uem.br

Universidade Estadual de Maringá/Departamento de Química
Universidade Estadual de Maringá/ Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina

Ciências Exatas e da Terra, Química

Palavras-chave: aminoálcool, alquilação, *Mycobacterium tuberculosis*

Resumo

Mycobacterium tuberculosis (Mtb) é o agente causador da tuberculose (TB) e o surgimento de bactérias resistentes têm agravado o combate a esta doença levando a inúmeras mortes em todo o mundo. Os compostos derivados do *trans*-2-fenilaminocicloexanol demonstraram uma eficiente atividade anti-*Mycobacterium tuberculosis*, portanto são estruturas interessantes para o desenvolvimento de antimicobacterianos mais potentes.

Introdução

A tuberculose (TB) é causada por *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) e acomete principalmente os pulmões, sendo a segunda principal causa de morte a partir de doenças infecciosas em todo o mundo (Haydel, 2010). Além disso, o surgimento contínuo de cepas multirresistentes (MDR) e de cepas com resistência estendida (XDR) de Mtb, juntamente com a coinfeção com o vírus HIV (AIDS) em pacientes imunocomprometidos, tem agravado o combate a esta doença (Haydel, 2010). Diante disso, a busca por novas classes de agentes antimicobacterianos vem sendo intensificada. O etambutol (EMB) foi sintetizado em 1960 por Wilkinson e col., porém somente em 1968 foi empregado no tratamento da TB e apresenta



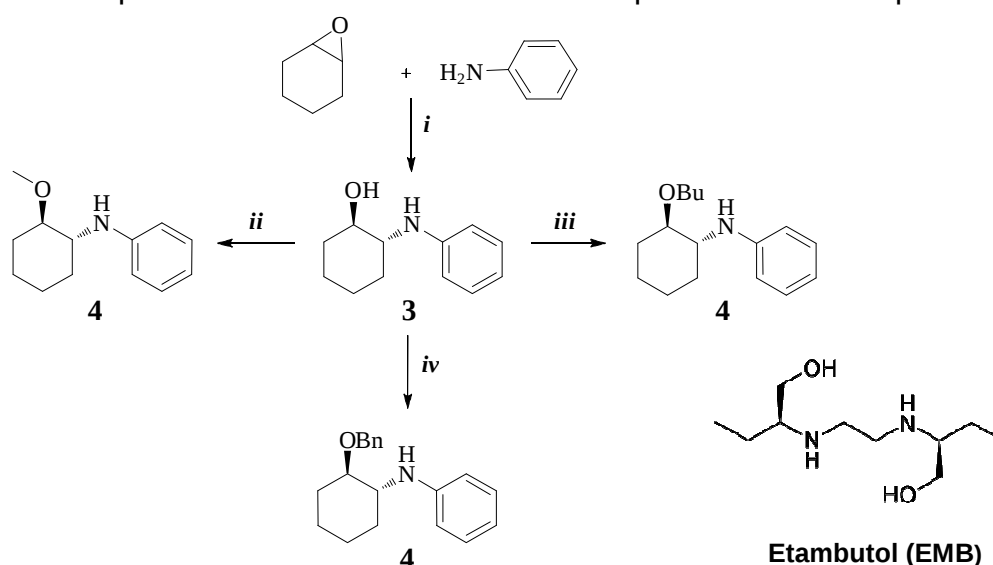


concentração inibitória mínima (CIM) para *Mtb* de 1-5 $\mu\text{g/ml}$ (Shepherd, *et al.* 1996). Baseado na estrutura do EMB, esse estudo tem como objetivo sintetizar e avaliar a atividade anti-*Mycobacterium tuberculosis* do *trans*-2-fenilaminocicloexanol e seus derivados.

Materiais e métodos

Síntese dos compostos

O *trans*-2-fenilaminocicloexanol (**3**) e seus derivados (**4a-c**) foram obtidos em duas etapas de acordo com a rota sintética apresentada no Esquema 1.



i) H_2O , 60 °C, 24 h. ii) Na^+/THF , 60 °C, 4 h; CH_3I , 2 h, 60 °C. iii) Na^+/THF , 60 °C, 4 h; BuBr , 4 h, 60 °C. iv) Na^+/THF , 60 °C 4 h; BnCl , 24 h, 60 °C.

Esquema 1 – Síntese do *trans*-2-fenilaminocicloexanol e seus derivados

Atividade anti-*Mycobacterium tuberculosis*

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pelo método de REMA (*Resazurin Microtiter Assay Plate*) descrito por Palomino e col. (Palomino, *et al.* 2002) As concentrações do *trans*-2-fenilaminocicloexanol e seus derivados variaram de 250 a 1,9 $\mu\text{g/mL}$, utilizando a isoniazida como fármaco de referência na concentração de 1,0 a 0,007 $\mu\text{g/mL}$.





Resultados e Discussão

Na primeira etapa, o composto **3** foi preparado por aminólise do óxido de cicloexeno com anilina em água na ausência de catalisador e purificado por recristalização utilizando hexano/acetato de etila, com rendimento de 72%. Os resultados da reação de derivação do composto **3** são apresentados na Tabela 1. Para evitar a *N*-alquilação, reagiu-se o composto **3** com sódio metálico para a preparação do alcóxido e posteriormente com iodeto de metila, brometo de butila e cloreto de benzila para a obtenção dos compostos **4a**, **4b** e **4c**, respectivamente. Devido à menor reatividade do cloreto de benzila em relação aos outros haletos de alquila, foi necessário um período de tempo maior (24 h) para a conversão completa. Os compostos **4a** e **4b** foram purificados por cromatografia em coluna, enquanto o composto **4c** foi purificado por recristalização em hexano.

Tabela 1 – Resultados da derivação do trans-2-fenilaminocicloexanol

Composto	Tempo (h)	Aspecto físico	Rendimento (%)
4a	2	Líquido amarelo	90
4b	4	Líquido amarelo	77
4c	24	Sólido marrom	91

Para avaliar a atividade antimicobacteriana dos compostos sintetizados foi realizado ensaio de REMA utilizando a isoniazida como fármaco de referência. Na Tabela 2 estão os valores de CIM para cada composto em diferentes cepas da *M. tuberculosis*.

Tabela 2 – Concentração Inibitória Mínima (CIM) da derivação do trans-2-fenilaminocicloexanol

<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	3	4a	4b	4c
CIM (µg/mL)				
H37Rv^a	250	>250	250	125
3614^b	125	>250	62,5	31,25

^a Cepa sensível padrão: *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv (ATCC 27294).





^b Isolado clínico de *M. tuberculosis* multirresistente à isoniazida; etambutol; estreptomicina; etionamida e rifampicina.

Analisando os resultados de CIM, podemos observar que no geral os compostos em estudo apresentaram uma melhor atividade inibitória na cepa multirresistente (3614) do que na cepa padrão (H37Rv) da *M. tuberculosis*. Podendo-se destacar os compostos **4b** e **4c** que apresentaram maior atividade inibitória para o isolado clínico de *M. tuberculosis* com CIM de 62,5 e 31,25 µg/mL, respectivamente.

Conclusões

Foram sintetizados dois derivados inéditos do *trans*-2-fenilaminocicloexanol (**4b** e **4c**) com bons rendimentos. Os compostos em estudos apresentaram uma melhor atividade inibitória para a cepa multirresistente (3614) do que na cepa padrão (H₃₇Rv) da *M. tuberculosis*, destacando o derivado benzilado (**4c**) como o mais ativo da série. Esses resultados são bastante promissores já que o isolado clínico de *M. tuberculosis* é resistente aos fármacos isoniazida, etambutol, estreptomicina, etionamida e rifampicina. Assim os novos derivados são potencialmente interessantes para o desenvolvimento de antimicobacterianos mais potentes.

Agradecimentos

UEM, Fundação Araucária.

Referências

Haydel, S. E. Extensively drug-resistant tuberculosis: a sign of the times and an impetus for antimicrobial discovery. **Pharmaceuticals**, v. 3, n. 7, p. 2268-2290, 2010.

Palomino, J. C.; Martín, A.; Camacho. M.; Guerra, H., Swings, J.; Portaels, F. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrob. Agents Chemother**, v. 46, n. 8, p. 2720-2722, 2002.

Shepherd, R. G.; Baughn, C.; Cantrall, M. L., Goodstein, B.; Thomas, J. P.; Wilkinson, R. G. Structure-activity studies leading to ethambutol, a new type of antituberculous compound. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v. 135, n. 2, p. 668-710, 1966.

