

SÍNTESE DE 2-TRANS-AMINOCICLOEXANOIS E SEUS DERIVADOS BENZILADOS COMO POTENCIAIS AGENTES ANTI-MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Julia Poletto (PIBIC/CNPq-UEM), Diego Alberto dos Santos Yamazaki (PG),
Eloisa Gibin Sampiron (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: Síntese, atividade, *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, ocasionando inúmeras mortes em todo o mundo. Neste contexto, os aminoálcoois e seus derivados são estruturas interessantes para o desenvolvimento de novos potenciais agentes antimicobacterianos. Dessa forma, dando continuidade aos estudos já desenvolvidos pelo nosso grupo de pesquisa, o presente trabalho teve como objetivo a síntese, caracterização e a avaliação da atividade anti-*Mycobacterium tuberculosis* de *trans*-2-aminocicloexanois, bem como de seus respectivos derivados benzilados. Os compostos foram obtidos com rendimentos que variaram de 48 a 52% e os ensaios de atividade mostraram valores de CIM superiores a 250 µg/mL.

Introdução

A tuberculose (TB) é uma doença pulmonar infecciosa, causada pelas espécies patogênicas de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), sendo a segunda principal causa de morte a partir de doenças infecciosas em todo o mundo. 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. Deste modo, os pesquisadores têm procurado compreender os mecanismos de resistência aos medicamentos, levando a uma busca intensificada por novas classes de agentes antimicobacterianos. O etambutol (EBM), sintetizado por Wilkinson e col. (MIC de 10 mM) faz parte da primeira linhagem de fármacos utilizada no tratamento da TB. Isto se deve, em parte, à toxicidade muito baixa e aos poucos efeitos colaterais

causados por este medicamento. Além disso, o EBM apresenta inibição da biossíntese da parede celular micobacteriana.

Em nosso grupo de pesquisa, vem sendo realizados estudos da atividade antimicobacteriana do *trans*-2-fenilaminocicloexanol e seus derivados. Os resultados preliminares mostraram que o composto benzilado apresentou uma melhor atividade inibitória para a cepa virulenta H37Rv. Dessa forma, dando continuidade a estes estudos, o presente trabalho teve como objetivo a síntese, caracterização e a avaliação da atividade anti-*Mycobacterium tuberculosis* de *trans*-2-aminocicloexanois, bem como de seus respectivos derivados benzilados.

Materiais e métodos

Síntese dos aminoálcoois (2a-d).

Em um balão de duas bocas, equipado com condensador de refluxo e agitador magnético, foram adicionados 49 mmol de óxido de cicloexeno e 51 mmol da amina cíclica em 100 mL de água destilada. A reação foi mantida sob agitação vigorosa a 60 °C por 14 horas. Após este período deixou-se a mistura reacional atingir a temperatura ambiente. Em seguida, a mistura foi basificada com uma solução 5 M de hidróxido de sódio até pH 12 e extraída com acetato de etila (3x30 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente removido em evaporador rotatório. O produto obtido foi seco sob vácuo a temperatura ambiente.

Síntese dos derivados benzilados (3a-d)

Em um balão de 125 mL, equipado com condensador de refluxo e atmosfera de N₂, dissolveu-se 12 mmol do aminoálcool (2a-d) em 70 mL de THF anidro e em seguida adicionou-se 24 mmol de NaH. Aqueceu-se a mistura a 80 °C por, aproximadamente, 4 horas. Após este tempo, adicionou-se 24 mmol de brometo de benzila. Esta mistura ficou sob refluxo por 16 horas. Esperou-se a reação atingir a temperatura ambiente, adicionou-se 5 mL de água destilada, rotaevaporou-se o THF da mistura reacional e extraiu-se com diclorometano (3x30 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro. O solvente foi rotaevaporado e o composto foi deixado sob vácuo.

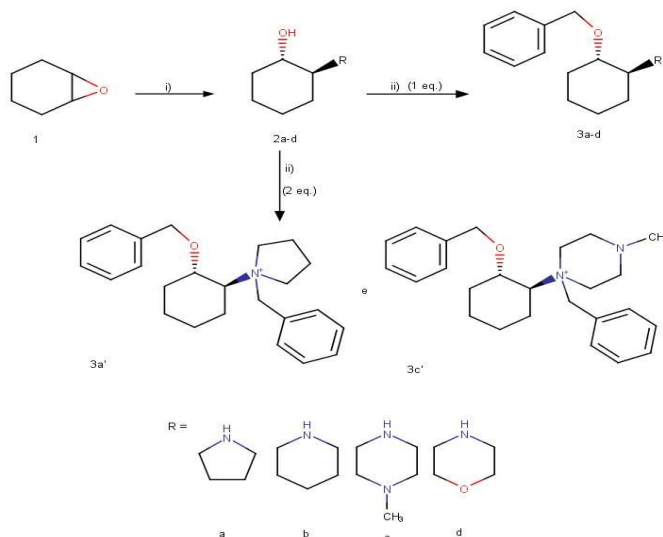
Atividade anti-*Mycobacterium tuberculosis*

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 µg/mL, utilizando a isoniazida como fármaco de referência na concentração de 1,0 a 0,007 µg/mL.

Resultados e Discussão

A obtenção dos 2-*trans*-aminocicloexanois e seus derivados benzilados foi realizada em duas etapas, partindo do óxido de cicloexeno, de acordo com o

Esquema 1. A caracterização dos compostos foi realizada a partir da análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C .



Reagentes e condições: (i) amina cíclica, H_2O , 60°C , 14h; (ii) NaH/THF, 80°C , 8h e brometo de benzila, 16h.

Esquema 1. Rota sintética para a obtenção dos 2-*trans*-aminocicloexanois e seus derivados benzilados

Na primeira etapa, os aminoalcoóis (**2a-d**) foram preparados por aminólise do óxido de cicloexeno com as respectivas aminas cíclicas em água e sem catalisador, seguindo a metodologia descrita por Bonollo e col. Uma vez que a abertura do epóxido é estereosseletiva, esta metodologia forneceu somente o isômero *trans*, conforme pode ser observado nos espectros de RMN de ^1H . Os compostos foram obtidos puros com bons rendimentos (Tabela 1).

Tabela 1. Rendimentos, características físicas e concentração Inibitória mínima (CIM) dos compostos sintetizados

Composto	Rendimento (%)	Características Físicas	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (CIM $\mu\text{g/mL}$) ^a
2a	85	Líquido marrom	>250
2b	89	Líquido viscoso amarelado	>250
2c	53	Sólido branco amorfo	>250
2d	67	Líquido viscoso amarelado	>250
3a'	52	Sólido branco	250
3c'	48	Sólido branco	>250

^a Resultados obtidos em pH 6 e 7.

Na obtenção dos derivados benzilados, verificou-se por meio de dados espectroscópicos de RMN de ^1H , que a metodologia empregada levou a formação dos compostos dibenzilados. Foram obtidos dois compostos dibenzilados, o 1- (2- (benziloxi) ciclo-hexil) -1-fenil-pirrolidin-1-ium (**3a'**) e o 1- (2- (benziloxi) ciclo-hexil) -4-metil-1-fenilpiperidin-1-ium (**3c'**), com rendimentos de 52% e 48%, respectivamente. O alcóxido foi gerado no meio reacional com o intuito de aumentar a reatividade do átomo de oxigênio dos aminoálcoois frente ao brometo de benziladesfavorecendo assim a substituição no nitrogênio nucleofílico. Sugere-se que o excesso de brometo de benzila adicionado tenha possibilitado a substituição tanto no oxigênio quanto no nitrogênio.

Dessa forma, para que os compostos alvo do projeto fossem obtidos, fez-se as reações utilizando um equivalente do brometo de benzila, a temperatura ambiente. No entanto, não foi verificada formação de produto. Outras metodologias estão sendo testadas para obtenção dos derivados monobenzilados desejados.

Conclusões

Os aminoálcoois foram sintetizados com bons rendimentos e devidamente caracterizados. Entre os derivados benzilados, a metodologia empregada favoreceu a síntese de compostos dibenzilados, sendo que novas tentativas de síntese e purificação dos demais compostos da série estão sendo realizadas.

Agradecimentos

CNPq, PIBIC, UEM.

Referências

BONOLLO, S.; FRINGUELLI, F.; PIZZO, F.; VACCARO, L. A green route to β -amino alcohols via the uncatalyzed aminolysis of 1,2-epoxides by alkyl- and arylamines, **Green Chem**, v. 8, p. 960-964, 2006.

PALOMINO, J. C.; MARTIN, 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.