

MODIFICAÇÃO ESTRUTURAL DA ISONIAZIDA ATRAVÉS DA INSERÇÃO DE CADEIAS GRAXAS: ESTUDO DA ATIVIDADE ANTITUBERCULOSE.

SOARES, L. Karina;¹ RODRIGUES, O. Marieli;¹ MONTES D'OCA, G. Marcelo;¹ PIOVESAN, A. Luciana;¹ DA SILVA, A. Pedro.²

¹ Universidade Federal do Rio Grande - FURG; Escola de Química e Alimentos – EQA;

² Laboratório de Micobacteriologia, Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande, ksoares@furg.br

1 INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é um dos principais problemas de saúde pública no mundo, sendo que cerca de dois milhões de pessoas morrem por ano vítimas desta doença no planeta. ^{OPAS/OMS 2010} No que diz respeito a sua terapia farmacológica a isoniazida – ácido *iso*-nicotínico hidrazida (Figura 1) – é o fármaco sintético mais antigo a ser prescrito no tratamento da doença, descoberto em 1951. ^{Heym, B.; et al 1999} O uso deste medicamento ao longo dos anos gerou um quadro de resistência da micobactéria causadora da TB, *M. tuberculosis*, ao tratamento, sendo as formas multirresistentes da *M. tuberculosis* consideradas grandes desafios científicos na área de doenças infecciosas. ^{Silva, P. E.; et al 2007} Diante desta realidade, fica evidente o alerta para a necessidade de mobilização premente para a descoberta de novos fármacos mais potentes e eficazes, com menos possibilidade de resistência bacteriana. Acredita-se que a modificação estrutural da isoniazida através da inserção de cadeias graxas promova o aumento da susceptibilidade do *M. tuberculosis*. ^{MOHAMAD, S.; et al 2004} O grupo do Laboratório Kolbe de Síntese Orgânica, vem investigando a síntese de compostos graxos nitrogenados e sua atividade como agentes antituberculose. Resultados preliminares obtidos com amidas graxas demonstraram atividade tuberculostática considerável frente a cepas de *M. tuberculosis*, os ensaios biológicos foram realizados nas linhagens celulares H₃₇Rv, 35338 (resistente a rifampicina) e 35822 (resistente a Isoniazida), atingindo excelente resultados. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho é a síntese de novos derivados da isoniazida contendo cadeias graxas (Esquema 1) e a investigação da atividade tuberculostática destes compostos utilizando o método *REMA* (*Resazurin Microtitre Assay*)

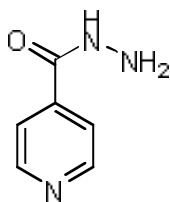
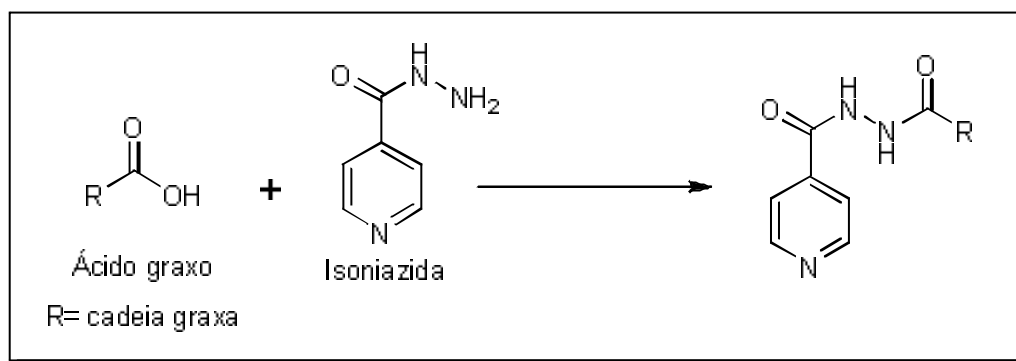


Figura 1: Isoniazida



Esquema 1: Síntese dos derivados graxos de Isoniazida.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Dentro dos objetivos propostos, foram sintetizados cinco novos derivados graxos da isoniazida, a partir da rota sintética ilustrada no Esquema 1. Os reagentes são obtidos comercialmente e purificados para garantir o êxito das reações. Os equipamentos utilizados para a síntese dos compostos estão disponíveis no laboratório, dentre eles, placa de aquecimento e agitação magnética, evaporador rotatório e bomba de vácuo. Para o acoplamento entre a isoniazida e os ácidos graxos – ácidos palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1), linoleico (C18:2) e ricinoleico (C18:1,OH) – foram testadas metodologias sintéticas clássicas encontradas na literatura. Dentre as metodologias para a síntese de compostos graxos nitrogenados, inicialmente foi utilizado o uso de Dimetilaminopiridina (DMAP), o Diciclohexilcarbodiimida (DCC) como agente de acoplamento, a partir dos ácidos graxos e da isoniazida.⁵ Posteriormente foi escolhida uma metodologia sob condições mais brandas e de purificação mais fácil, a qual utiliza a reação entre o respectivo ácido graxo e cloreto de oxalila sob catálise de dimetilformamida (DMF), em diclorometano como solvente. A mistura de reação permaneceu à temperatura ambiente sob agitação constante por 12 horas. Após, a isoniazida foi adicionada e a mistura de reação permaneceu à temperatura ambiente e agitação constante até que a cromatografia em camada fina indicasse o término da reação. Após o isolamento por extração líquido-líquido, os produtos foram purificados por coluna cromatográfica utilizando sílica gel como fase estacionária.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira metodologia utilizada, a partir do uso de DCC e DMAP, apresentou tempo de reação de 24 horas e a etapa de purificação foi dificultada pela formação dos co- e subprodutos reacionais, de difícil separação. Estes, além de dificultar a purificação, reduziam os rendimentos, que variaram de 30 – 70%. Já na segunda metodologia utilizada, a partir do uso de cloreto de oxalila e DMAP, os tempos de reação foram menores, e a etapa de purificação foi facilitada, pois não houve a formação dos co- e subprodutos. Ademais, a partir desta metodologia foram obtidos rendimentos de bons a excelentes (60 – 95%), com alto grau de pureza. Os novos derivados graxos da isoniazida foram caracterizados por ponto de fusão, espectrometria de infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN 1H) e carbono (RMN ^{13}C). Os dados encontrados nas análises de caracterização mostraram o comportamento esperado para este tipo de compostos. Os novos

derivados foram levados a ensaios da atividade anti-tuberculose utilizando o método *REMA*, através de colaboração com o Prof. Dr. Pedro Almeida da Silva da Faculdade de Medicina, laboratório de Microbacteriologia, da Universidade Federal do Rio Grande. Testes preliminares com os compostos sintetizados, purificados e caracterizados, mostraram excelentes resultados e estão em fase de confirmação dos resultados. Já o trabalho de síntese de novos derivados graxos da isoniazida está em fase de síntese de novos derivados a partir de cadeias poli-insaturadas, para incrementar o estudo da variação estrutural.

4 CONCLUSÃO

Após otimização da metodologia de síntese, os novos derivados graxos da isoniazida foram obtidos em rendimentos de bons a excelentes (60 – 95%), através de uma metodologia simples e de fácil purificação. As estruturas de todos os novos derivados foram caracterizadas por ponto de fusão, IV, RMN ¹H e RMN ¹³C. A partir de resultados preliminares de atividade anti-tuberculose, utilizando o método *REMA* – em fase de confirmação – foi verificada a modificação estrutural do fármaco isoniazida através da inserção de cadeias graxas à molécula pode levar a candidatos a protótipos de novos fármacos. Os novos protótipos sintetizados podem vir a contribuir para o desenvolvimento de novos medicamentos que possam futuramente ser usados no tratamento da tuberculose.

5 REFERÊNCIAS

D'Oca, C. R. M., Lopes, C. R., Correa, R. C., Marinho, T. G., Coelho, T., Silva, P. A., D'Oca, M. G. M. **Síntese de novas amidas graxas: Estudo da influência da variação estrutural na atividade antituberculose.** (Dissertação de Mestrado em Química Tecnológica e Ambiental). Universidade Federal do Rio Grande – FURG (março de 2010).

Gilani, S. J. **Bioorg. Med. Chem. Lett.** 20, 4762-4765 (2010).

Heym, B.; Saint-Joanis, B.; Cole, S. T. **Tubercle and Lung disease**, 79(4), 267-271 (1999)

MOHAMAD, S.; IBRAHIM, P.; SADIKUN, A. **Susceptibility of Mycobacterium tuberculosis to isoniazid and its derivative, 1- isonicotinyl-2-nonanoyl hydrazine: investigation at cellular level.** *Tuberculosis*, 84, 56-62 (2004).

Organização Pan-Americana da Saúde, Organização Mundial da Saúde, OPAS/OMS (2010).

Silva, P. E. A.; Aínsa, J. A. **Drugs and drug interactions.** In: Palomino, J. C.; Leão, S. C.; Ritacco, V., Eds.; *Tuberculosis, From basic science to patient care* (2007). .