

FÁRMACOS NO COMBATE À TUBERCULOSE: PASSADO, PRESENTE E FUTURO

Marcus Vinícius Nora de Souza* e Thatyana Rocha Alves Vasconcelos

Fundação Oswaldo Cruz, Far-Manguinhos, Rua Sizenando Nabuco, 100, 21041-250 Rio de Janeiro - RJ

Recebido em 23/6/04; aceito em 15/10/04; publicado na web em 17/2/05

DRUGS AGAINST TUBERCULOSE: PAST, PRESENT AND FUTURE. Approximately every minute, somewhere in the world four people die from tuberculosis (TB), an infection of *Mycobacterium tuberculosis* with about 3 million deaths per year. In spite of these problems, unfortunately, it is about 40 years that a novel drug was last introduced on the market. Due to the rapid spread of multi-drug resistant TB strains, resistant against all major anti-tuberculosis drugs, and the recent resurgence of the incidence of tuberculosis in association with the human immunodeficiency virus (HIV) infection and AIDS, we need urgently the development of new drugs to fight tuberculosis. This is covered in the present article.

Keywords: tuberculosis, drugs, antibacterial.

INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença contagiosa grave, com relatos de médicos na Grécia e na Roma antiga e, atualmente, acredita-se que esta doença já era conhecida também no antigo Egito, já que pesquisadores encontraram lesões de tuberculose em múmias¹. No entanto, somente em 1882 a bactéria responsável pela doença, a *Mycobacterium tuberculosis*, foi isolada pelo cientista alemão Robert Koch; em sua homenagem, o bacilo da tuberculose ficou conhecido como bacilo de Koch (BK)¹.

No decorrer do século XIX e até meados do século XX, era uma doença comum entre artistas e intelectuais, sendo relacionada a um estilo de vida boêmio considerada, uma “doença romântica”¹.

A TB é transmitida basicamente pelo ar e pode atingir todos os órgãos do corpo, porém como o BK se reproduz e se desenvolve rapidamente em áreas do corpo com muito oxigênio, o pulmão é o principal órgão atingido pela doença². O espirro ou tosse de uma pessoa infectada joga no ar cerca de dois milhões de bacilos que permanecem em suspensão durante horas. Os sintomas da tuberculose, geralmente, são tosse crônica, febre, suor noturno, dor no tórax, anorexia (perda de apetite) e adinamia (falta de disposição)^{3,4}. Os exames usados na tentativa do diagnóstico de certeza são a baciloscopia do escarro, a radiologia do tórax, o teste tuberculínico (PPD), que evidencia o contato prévio com o bacilo e a cultura do escarro ou outros líquidos em meio apropriado¹.

A tuberculose continua sendo um grave problema de saúde pública, especialmente em países em desenvolvimento, voltando a ocupar papel de destaque entre as principais doenças infectocontagiosas. Muitos foram os fatores que contribuíram para isso, podendo-se destacar a desigualdade social, os aglomerados populacionais, os movimentos migratórios, o envelhecimento da população, o aparecimento cada vez mais comum de cepas de bacilos resistentes aos fármacos conhecidos e o surgimento, na década de 80, da “Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA)” ou “Acquired Immuno Deficiency Syndrome (AIDS)”.

DADOS ESTATÍSTICOS

Atualmente a tuberculose mata no mundo aproximadamente

3,0 milhões de pessoas por ano, incluindo mais adultos que a AIDS, a malária e as doenças tropicais combinadas. Estima-se que cerca de 1,7 bilhões de indivíduos em todo o mundo estejam infectados pelo *M. tuberculosis*, o que corresponde a 30% da população mundial⁵, sendo que em países pobres, a estimativa é que 70% da população esteja infectada pelo bacilo de Koch, com cerca de 2,8 milhões de mortes por tuberculose e 7,5 milhões de novos casos. Já nos países ricos esse número é menor que 10%, com uma estatística anual de mais de 400.000 novos casos e cerca de 40.000 mortes⁵. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), uma imensa tragédia poderá ocorrer nas próximas duas décadas, com quase um bilhão de pessoas infectadas e mais de 35 milhões de mortes³⁻⁵.

O Brasil ocupa o 13º lugar no ranking dos 22 países que concentram 80% dos casos de TB do mundo. De acordo com os dados oficiais do Ministério da Saúde, no Brasil existem atualmente cerca de 50 milhões de pessoas infectadas com o bacilo de Koch, mas que não desenvolveram a doença, com contaminação de mais de 1 milhão de pessoas a cada ano pelo contato com os doentes⁶. Anualmente surgem no Brasil, aproximadamente, 111 mil novos casos e ocorrem 6 mil mortes, sendo o Rio de Janeiro o estado com o maior número de casos⁵. As estatísticas nacionais e internacionais não deixam dúvida e servem de alerta para o problema. Devido ao fato de serem os países pobres e em desenvolvimento as maiores vítimas, pouco se tem investido no combate a esta doença⁶.

HISTÓRICO DOS FÁRMACOS NO COMBATE À TUBERCULOSE

A descoberta dos fármacos no combate à tuberculose pode ser associada ao primeiro antibiótico a que o homem teve acesso, a penicilina (Figura 1), descoberta serendipicamente em 1928 por Alexander Fleming numa cultura do fungo *Penicillium*, um tipo de mofo de cor verde, sendo considerado um dos maiores acontecimentos científicos do século XX⁷. No entanto, foram necessários 13 anos para aparecer no mercado a primeira forma injetável para uso terapêutico, em 1941. Apesar da penicilina ser um fármaco extremamente eficaz contra diversas doenças, e a primeira defesa real contra infecções causadas por bactérias, mostrou-se curiosamente ineficaz contra a tuberculose.

Foram necessários quinze anos após a importante descoberta de Fleming para que Selman Waksman descobrisse, em 1944, a

*e-mail: marcos_souza@far.fiocruz.br

estreptomicina (SM) (Figura 1), produzida também por um microorganismo, a bactéria *Streptomyces griseus*, que foi o primeiro antibiótico capaz de atuar de maneira eficaz no combate à tuberculose⁸.

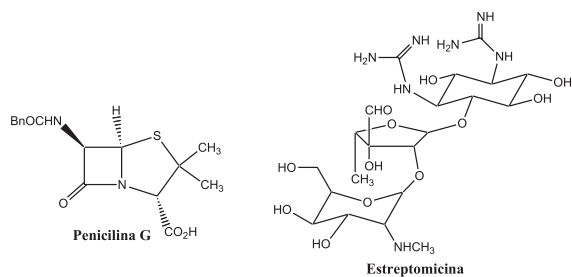


Figura 1. Antibióticos pioneiros em terapêutica no combate à tuberculose: penicilina G, ineficaz, e estreptomicina, primeiro fármaco eficaz contra *Mycobacterium tuberculosis*

Após a descoberta da SM, novos fármacos foram utilizados com sucesso, destacando-se a isoniazida (INH), em 1952; a rifampicina (RPM), em 1965; o etambutol (EMB), sintetizado em 1960, empregado somente em 1968 e a pirazinamida (PZA), sintetizada em 1936, porém só utilizada em 1970⁹ (Figura 2).

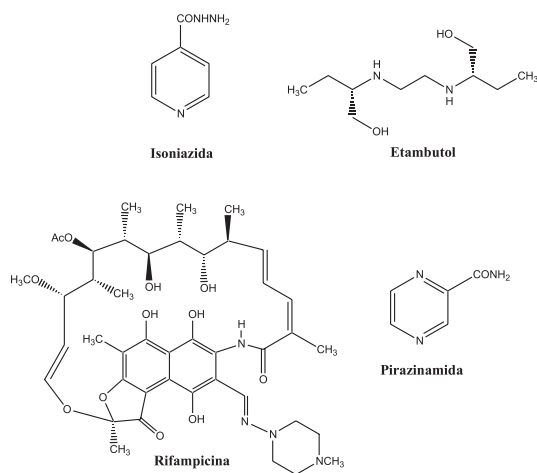


Figura 2. Fármacos comumente utilizados no tratamento da TB

Os fármacos comumente chamados de primeira escolha são a primeira opção no tratamento, podendo ser empregados com sucesso na grande maioria dos pacientes e incluem a INH, RPM, PZA e EMB. É importante ressaltar que o isômero utilizado em clínica é o (S,S)-etambutol, uma vez que o (R,R)-etambutol causa cegueira. Os fármacos conhecidos como de segunda escolha são normalmente utilizados em caso de falência aos fármacos de primeira escolha, administrando-se a SM e a etionamida, ou devido à resistência do bacilo, empregando-se diferentes tipos de canamicinas, isoladas de *Streptomyces kanamyceticus*, cicloserina, ácido *p*-aminosalicílico (PAS), amicacina, etionamida, tioacetazona, clorofazimina e terizidona (Figura 3)⁹.

PROBLEMAS RELACIONADOS AOS FÁRMACOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO DA TUBERCULOSE

Por não estarem mais protegidos por patentes, os fármacos de primeira escolha, INH, RPM, PZA e EMB (Figura 2) apresentam baixo custo, cerca de US\$20 para um período de seis meses de

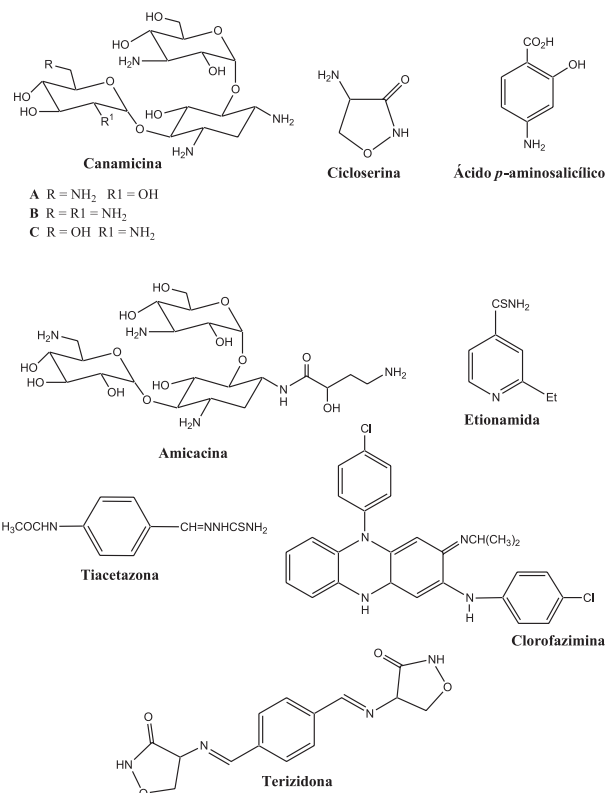


Figura 3. Fármacos conhecidos como de segunda escolha no tratamento da TB

tratamento. Todavia, um grande problema na utilização destes fármacos é a duração do tratamento, de seis a doze meses, o número de doses e efeitos colaterais como náuseas, vômitos, icterícia, perda de equilíbrio, asma, alterações visuais, diminuição da audição, neuropatia periférica e até cegueira. Outro grande problema na utilização de tais fármacos são os pacientes portadores de bacilos multiresistentes, cada vez mais frequentes, consequência de poucos e antigos medicamentos disponíveis no mercado e dos fracassos na cura da doença, seja por abandono ou erros na administração dos medicamentos. Devido a estes e outros problemas como infecções oportunistas causadas por micobactérias ou vírus, é necessário buscar novos fármacos mais eficazes, capazes de serem administrados por períodos de tempo mais longos, por ex., uma vez por semana e com menores efeitos colaterais.

FLUORQUINOLONAS, UMA NOVA E POTENTE CLASSE DE COMPOSTOS NO COMBATE À TUBERCULOSE

Fluorquinolonas são atualmente uma importante classe de antimicrobianos sintéticos que têm sido objeto de intensos estudos^{10,11}. Essa classe de compostos tem atualmente destacada importância no combate a diferentes tipos de bactérias, sendo os únicos agentes antimicrobianos sintéticos a competirem com as β -lactamas em uso clínico^{10,11}. Devido ao seu amplo espectro de atividade antimicrobiana, as fluorquinolonas têm sido utilizadas com sucesso no combate à tuberculose, estando sob investigação como fármacos de primeira escolha¹².

A história das fluorquinolonas está diretamente relacionada ao ácido nalidíxico, uma quinolona com interessante atividade antibacteriana, que foi sintetizada e patenteada em 1962 por Lescher e colaboradores (Figura 4)¹³. A descoberta do ácido nalidíxico apresentou importantes indicações de que esta classe de compostos

poderia ser empregada no combate a infecções bacterianas, o que foi confirmado no final da década de 1970, quando se identificou que a introdução de um átomo de flúor em posição C-6 e um grupo piperazila em posição C-7 conferiam um amplo e potente espectro de atividade antibacteriana, destacando-se o norfloxacin (Figura 4), que foi patenteado em 1978, e foi a primeira fluorquinolona que apresentou potente atividade antibacteriana^{10,11}.

Após a importante descoberta do norfloxacin, inúmeras fluorquinolonas foram sintetizadas e avaliadas, merecendo destaque o ciprofloxacino, o ofloxacin, levofloxacino, o sparfloxacino, o galifloxacino e o moxifloxacino (Figura 4)¹⁰, as quais possuem um amplo espectro de atividade contra vários microorganismos patogênicos, em seres humanos e animais, resistentes aos aminoglicosídeos, penicilinas, cefalosporinas, tetraciclina e outros antibióticos. Essa eficácia está diretamente ligada ao seu mecanismo de ação, baseado na inibição da DNA girase bacteriana, uma enzima essencial envolvida na replicação, transcrição e reparação do DNA bacteriano^{13,14}.

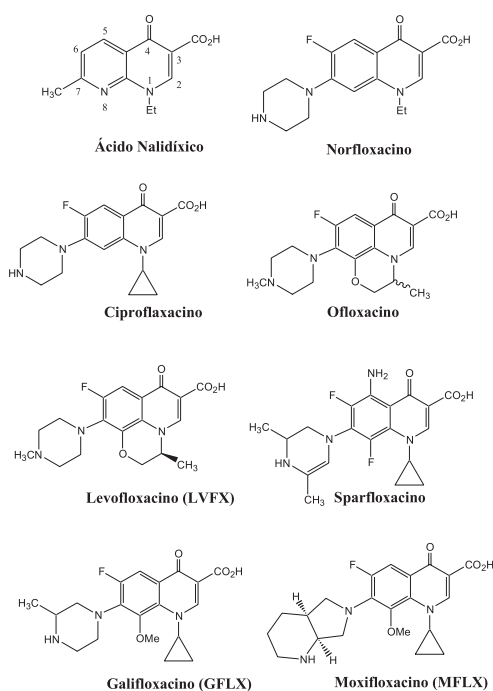


Figura 4. Estrutura do ácido nalidíxico, protótipo para o desenvolvimento de fluorquinolonas, norfloxacina e principais fluorquinolonas disponíveis no mercado

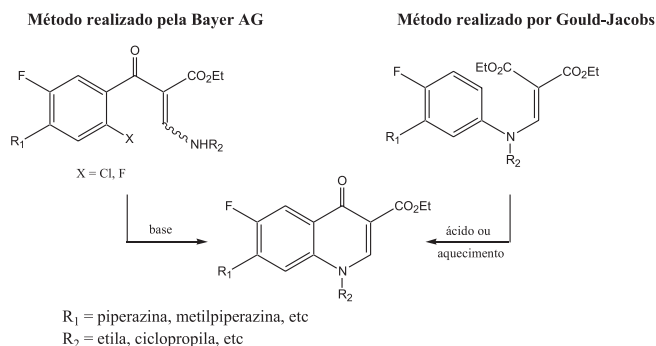
Atualmente, estas fluorquinolonas (Figura 4 e Tabela 1)¹¹ têm sido usadas no tratamento de tuberculose primária, nos casos em que há resistência aos fármacos INH, RMP, PZA e EMB (Figura 2), estando sob investigação como fármacos de primeira escolha.

Tabela 1. Concentração inibitória mínima das fluorquinolonas contra *Mycobacterium tuberculosis*

Fluorquinolona	CIM ($\mu\text{g/mL}$)
Ciprofloxacino	0,5 - 4,0
Ofloxacino	1,0 - 2,0
Sparfloxacino	1,0
Levofloxacino	0,2 - 0,5
Galifloxacino	0,2 - 0,5
Moxifloxacino	0,12 - 0,5

ESTRATÉGIA GERAL QUE PERMITE A OBTENÇÃO DE DIFERENTES FLUORQUINOLONAS

Basicamente, existem duas principais estratégias descritas na literatura para a construção do anel quinolônico.¹⁵ A primeira delas foi desenvolvida por químicos da Bayer AG, sendo o anel quinolônico formado pela ciclização de intermediários 3-aminoacrilatos-2-(2-halobenzoil)¹⁶ (Esquema 1). A outra estratégia sintética é conhecida como ciclização de Gould-Jacobs¹⁷, que é baseada na ciclização térmica ou catalisada, em meio ácido, de malonatos anilinoetilênicos (Esquema 1). Essas estratégias sintéticas permitem a introdução de diferentes substituintes nas posições C-2, C-5, C-6, C-7, C-8 e N-1 do anel quinolônico e a síntese de novos compostos dessa classe, com o objetivo de se obter fármacos mais eficazes¹⁸.



Esquema 1. Duas principais estratégias de síntese para a preparação de fluorquinolonas

OXAZOLIDINONAS, UMA NOVA E POTENTE CLASSE DE ANTIBACTERIANOS

Nos últimos sete anos, oxazolidinonas têm recebido especial atenção como uma nova classe de potentes antibacterianos com ampla atividade contra bactérias Gram-positivas e anaeróbicas. O primeiro medicamento desta classe de compostos aprovado nos Estados Unidos é o Zyvox® (linezolida)¹⁹ (Figura 5), que tem sido amplamente utilizado no tratamento de infecções graves Gram-positivas. A linezolida tem também apresentado promissores resultados, tanto *in vitro* como *in vivo*, contra *M. tuberculosis*. Uma importante descoberta realizada por Rodriguez e colaboradores²⁰ é a combinação da linezolida com fluorquinolonas, que foram capazes de combater, de maneira eficaz e em baixa concentração, a *M. tuberculosis* resistente a outras classes de medicamentos.

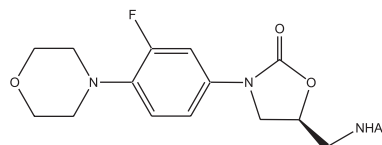


Figura 5. Estrutura do Zyvox® (linezolida)

PRODUTOS NATURAIS NO COMBATE À TUBERCULOSE

Produtos naturais têm sido também investigados na luta contra a tuberculose, podendo-se destacar, atualmente, dois promissores produtos, o micotiol (Figura 6) e a dioproteína B (Figura 7).

Micotiol

Micotiol é um tiol de baixo peso molecular encontrado em actinomicetos, incluindo micobactérias como *Mycobacterium tuberculosis* e estreptomicetos, foi isolado pela primeira vez como dissulfeto a partir de *Streptomyces sp. AJ9463*²¹ e sintetizado, pela primeira vez em 2004, por Rosazza e colaboradores²². Acredita-se que este composto atua como antioxidante como a glutatona, mantendo o meio intracelular livre de agentes alquilantes e outras toxinas em bactérias Gram-positivas. Devido às suas propriedades, o micotiol é um bom ponto de partida o “design” síntese de novos fármacos no combate à tuberculose, como exemplo pode-se citar a síntese do análogo simplificado **8** do micotiol (Esquema 2), realizada por Knapp e colaboradores²³. Este composto **8** foi avaliado como substrato para *Mycobacterium tuberculosis* na enzima amidase micotiol S-conjugada, apresentando boa afinidade, 7500 nmol min⁻¹ mg-proteína⁻¹ versus 14200 nmol min⁻¹ mg-proteína⁻¹ para o micotiol, fornecendo importantes indicações para a construção racional de novos fármacos no combate à tuberculose.

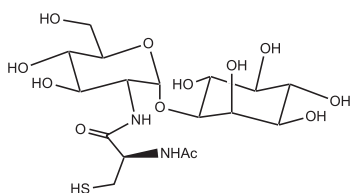


Figura 6. Estrutura do micotiol

A síntese do análogo **8** foi realizada a partir da glicosamina peracetilada **1** que, em presença do reagente do Lawesson forneceu o intermediário **2** com um rendimento quantitativo. Subseqüentemente, este intermediário foi hidrolisado após a utilização do ácido trifluoracético (TFA), produzindo o tiol **3** com um rendimento quantitativo. Em seguida, o intermediário **4** foi obtido, utilizando-se cicloexeno e AIBN, azobis(isobutironitrila) como iniciador radicalar com um rendimento de 79% e, após esta etapa de síntese, a desproteção dos grupos acetatos foi realizada em presença de hidrazina com um rendimento de 84%, fornecendo assim o intermediário **5**. Após o acoplamento peptídico com o *N*-Boc-*S*-acetilcisteína em 82% de rendimento e hidrólise dos grupos Boc e acetil, o análogo **8** do micotiol foi obtido com um rendimento quantitativo em duas etapas (Esquema 2).

Dioproteína B

O composto natural dioproteína B (Figura 7)²⁴, isolado de cultura de fungos *Diaporthe sp* BBC6140 por Dettrakul e colaboradores, apresentou uma potente atividade na inibição do *M. tuberculosis* com uma concentração inibitória mínima (MIC) de 3,1 µg mL⁻¹.

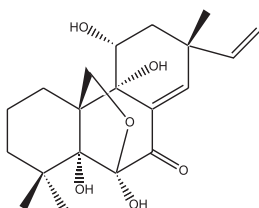
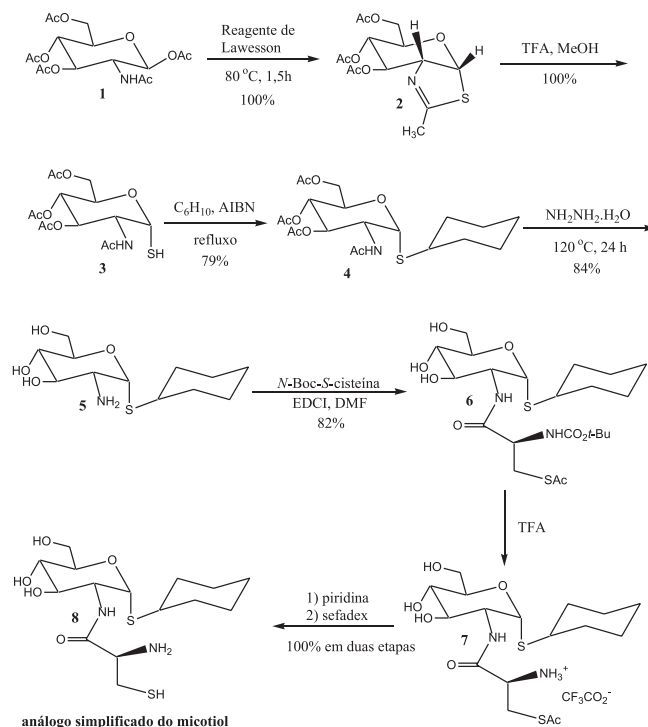


Figura 7. Estrutura do composto natural dioproteína B



Esquema 2. Síntese de um análogo simplificado do micotiol

COMPLEXO BIS(BENZOIL-HIDRAZONATO)2,6-DIACETILPIRIDINA NÍQUEL (II)

A utilização de complexos metálicos tem sido também uma estratégia utilizada na tentativa de obtenção de novos fármacos no tratamento da tuberculose. Por exemplo, Bottari e colaboradores mostraram que o complexo bis(benzoil-hidrazonato)2,6-diacetilpiridina níquel (II) (Figura 8) possui potente atividade contra o *M. tuberculosis*, com uma concentração inibitória mínima (MIC) de 0,025 µg mL⁻¹, sendo dez vezes mais ativo que a rifampicina e de potência igual à isoniazida²⁵. Bottari demonstrou também que a presença do metal é de fundamental importância para a atividade do complexo, conferindo-lhe maior lipofilicidade, já que o ligante sem a presença do metal foi completamente inativo contra *M. tuberculosis*.

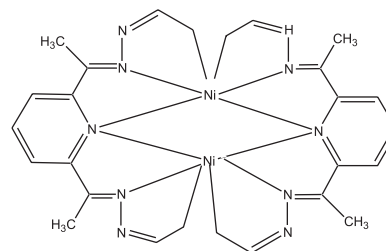


Figura 8. Estrutura do complexo bis(benzoil-hidrazonato)2,6-diacetilpiridina níquel (II)

CONCLUSÃO

Apesar da tuberculose ser uma doença antiga, existem atualmente poucos e antigos medicamentos utilizados em seu tratamento, apresentando diversos problemas, como efeitos indesejados, tratamento prolongado e surgimento de microorganismos resistentes,

sendo um importante problema de saúde pública mundial. No entanto, por ser uma doença considerada negligenciada, comum principalmente em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, a tuberculose tem recebido pouca atenção por parte das multinacionais e centros de pesquisa na busca e produção de novos medicamentos. Por isto, faz-se necessária a busca de novos fármacos capazes de apresentarem menores efeitos indesejados, maior eficácia, menor tempo de tratamento e custo reduzido.

REFERÊNCIAS

1. <http://www.fiocruz.br/ccs/glossario/tuberculose.htm>, acessada em Junho 2004; Munch, R.; *Microb. Infect.* **2003**, *69*, 74; Kaufmann, S. H. E.; *Tuberculosis* **2003**, *83*, 86.
2. <http://www.nib.unicamp.br/svol/artigo14.htm>, acessada em Junho 2004; Smith, D. V.; Sharma, V.; Sacchetti, J. C.; *Tuberculosis* **2004**, *84*, 45.
3. <http://www.saude.sp.gov.br/html/turbec.htm>, acessada em Junho 2004.
4. http://www.lincx.com.br/lincx/orientacao/doencas/aspectos_tuberculose.html, acessada em Junho 2004.
5. Coker, R. J.; *Public Health* **2003**, *117*, 281.
6. <http://www.funasa.gov.br/pub/GVE/PDF/GVE0534.pdf>, acessada em Junho 2004.
7. <http://www.anbiojovem.org.br/historia04.htm>, acessada em Junho 2004.
8. <http://www.iqsc.usp.br/iqsc/ensino/pet/docs/monoTATI.PDF>, acessada em Junho 2004.
9. Frieden, T. R.; Driver, C. R.; *Tuberculosis* **2003**, *83*, 82.
10. Appelbaum, P. C.; Hunter, P. A.; *Int. J. Antimicrob. Agents* **2000**, *16*, 5.
11. De Souza, M. V. N.; De Almeida, M. V.; Da Silva, A. D.; Couri, M. R. C.; *Curr. Med. Chem.* **2003**, *10*, 21.
12. Ginsburg A. S.; Grosset, J. H.; Bishai, W. R.; *Lancet* **2003**, *3*, 432; Tomioka, H.; Sato, K.; Shimizu, T.; Sano, C.; *J. Infect.* **2002**, *44*, 160.
13. Lescher, G. Y.; Froelich, E. D.; Gruet, M. D.; Bailey, J. H.; Brundage, R.P.; *J. Med. Pharmaceut. Chem.* **1962**, *5*, 1063.
14. Barrett, J. F.; Sutcliffe, J. A.; Gootz, T. D.; *Antimicrob. Agents Chemother.* **1990**, *34*, 1; Christian, J. S.; *Infect. Dis. Update* **1996**, *3*, 87.
15. Radl, S.; Bouzard, D.; *Heterocycles* **1992**, *34*, 2143.
16. Grohe, K. J.; Heitzer, H.; *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, *29*.
17. Gould, R. J.; Jacobs, W. A.; *J. Am. Chem. Soc.* **1939**, *61*, 2890.
18. Conrad, M.; Limpach, L.; *Ber.* **1887**, *20*, 944.
19. Clemett, D.; Markhan, A.; *Drugs* **2000**, *59*, 815; Fung, H. B.; Kirschenbaum, H. L.; Ojofeitimi, B. O.; *Clin. Ther.* **2001**, *23*, 356.
20. Diaz, J. C. R.; Ruiz, M.; Royo, L. G.; *Int. J. Antimicrob. Agents* **2003**, *21*, 354.
21. Sakuda, S.; Zhou, Z. Y.; Yamada, Y.; *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1994**, *38*, 1347; Spies, H. S. C.; Steenkamp, D. J.; *Eur. J. Biochem.* **1994**, *224*, 203; Fahey, R. C.; *Annu. Rev. Microbiol.* **2001**, *55*, 333; Blanchard, J. S.; Patel, M. P.; *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 11538.
22. Lee, S.; Rosazza, J. P. N.; *Org. Lett.* **2004**; Gammon, D. W.; Hunter, R.; Steenkamp, D. J.; Mudzunga, T. T.; *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *13*, 2045; Nicholas, G. M.; Eckman, L. L.; Kovac, P.; Quintero, S.; Bewley, C. A.; *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 2641; Jardine, M. A.; Spies, H. S. C.; Nakambule, C. M.; Gammon, D. W.; Steenkamp, D. J.; *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 875.
23. Knapp, S.; Gonzalez, S.; Myers, D. S.; Eckman, L. L.; Bewley, C. A.; *Org. Lett.* **2002**, *4*, 4337.
24. Dettrakul, S.; Kittakoop, P.; Isaka, M.; Nopichai, S.; Suyarnsestakorn, C.; Tanticharoen, M.; Thebtaranonth, Y.; *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *13*, 1253; Barlocco, D.; Barret, D.; Langston, S.; Pérez, M. J. P.; Walker, M.; Weidner, A.; *DDT* **2003**, *12*, 557.
25. Bottari, B.; Maccari, R.; Monforte, F.; *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 2203; Khasnobis, S.; Escuyer, V. E.; Chatterjee, D.; *Expert Opin.*, **2002**, *6*, 21.