

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

**Novos fármacos e alternativas terapêuticas para
o tratamento da tuberculose**

Manoela Guerra Leal

Porto Alegre, junho de 2010.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Faculdade de Farmácia
Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

**Novos fármacos e alternativas terapêuticas para o
tratamento da tuberculose**

Trabalho de Conclusão de Curso

Manoela Guerra Leal

Orientadora: Profa. Dra. Teresa Cristina Tavares Dalla Costa

Porto Alegre, junho de 2010.

Leal, Manoela

Novos fármacos e alternativas terapêuticas para o tratamento da tuberculose

Orientadora: Profa. Dra. Teresa Cristina Tavares Dalla Costa

Banca Examinadora: Profa. Dra. Vera Lúcia Eifler Lima (Faculdade de Farmácia-UFRGS)

Prof. Dr. Leandro Tasso (Curso de Farmácia-UCS)

Data da apresentação: 02/07/2010

Resumo

A tuberculose (TB) é uma enfermidade que afeta a população mundial há séculos. Porém, com o surgimento da resistência aos fármacos utilizados para seu tratamento e a co-infecção de pacientes com AIDS, há a preocupação da ocorrência de uma pandemia mundial. Há necessidade de novos fármacos, novos mecanismos de ação e alternativas terapêuticas para combater essa doença. Desde que o genoma do *M.tb* foi seqüenciado, estudos estão sendo realizados a fim de compreender o metabolismo desse microorganismo para, então, identificar potenciais alvos para o desenho de novos fármacos. A fase latente da doença é um outro problema relacionado à ressurgência da doença. Agora já se tem conhecimento de vários pontos-chaves na fisiologia desse evento, abrindo caminho para a síntese de novos compostos que atuem sobre essa fase. Além disso, já se conhece algumas vias metabólicas essenciais para o *M.tb*. como, por exemplo, a biossíntese de proteínas, da parede celular, de aminoácidos para os quais existem pesquisas com a finalidade de desenvolver inibidores para as enzimas que atuam nessas vias. Atualmente, alguns compostos estão em ensaios clínicos e mostram resultados promissores como, por exemplo, o TMC-207 e o PA-824. Uma alternativa terapêutica é considerar a utilização de medicamentos que, antes, eram específicos para outras doenças e, agora, conhece-se sua ação no tratamento da TB. Nesse contexto estão as fluorquinolonas MFX e GTX que mostram-se efetivas, principalmente quando associadas a outros fármacos. As rifamicinas são outra classe de fármacos, que para as cepas sensíveis a elas, mostram ser bem efetivas no tratamento da TB. Derivados da rifampicina estão sendo sintetizados para otimizar algumas características das moléculas e diminuir o tempo de tratamento. Entre elas destaca-se a rifapentina, rifabutina e o rifalazil. Para que essa doença seja erradicada é necessário que, cada vez mais, governos e indústrias farmacêuticas invistam na busca de novos mecanismos de ação e no desenvolvimento de novos fármacos.

Palavras-chave: tuberculose, novos fármacos, novos mecanismo de ação, resistência, *Mycobacterium tuberculosis*

Lista de Figuras

Figura 1 - Estruturas químicas dos fármacos de primeira linha anti-TB.....	7
Figura 2 - Influência do O ₂ e NO na ativação do sistema <i>DosR</i>	13
Figura 3 - Estrutura química do composto D157070.....	14
Figura 4 - Estrutura de promissoras moléculas com ação inibitória sobre a NAD sintetase...15	
Figura 5 - Estrutura química do AX20017.....	16
Figura 6 - Estrutura geral dos inibidores derivados da sulfonamidas.....	18
Figura 7 - Compostos em pesquisa e em desenvolvimento.....	19
Figura 8 - Estrutura do micotiol.....	20
Figura 9 - Estruturas químicas da rifabutina e rifapentina e rifalazil.....	20
Figura 10 - Estruturas químicas do moxifloxacino e do gatifloxacino.....	22
Figura 11 - Estrutura química do PA-824.....	24
Figura 12 - Estrutura química do OPC-67683.....	25
Figura 13 - Estrutura química do TMC-207.....	26
Figura 14 - Esquema de interações do TMC-207 e o sítio de ligação da ATP sintase.....	27
Figura 15 - Estrutura química do PNU-100480.....	28
Figura 16 - Estrutura química do SQ-109.....	29
Figura 17 - Estrutura química do LL-3858.....	29
Figura 18 - Principais fármacos em desenvolvimento e seu locais de ação no <i>M.tb</i>	30

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Fármacos utilizados no tratamento da TB e seus mecanismos de ação.....	9
Tabela 2 - Características requeridas para o desenvolvimento de novos fármacos.....	11

Sumário

1. Introdução.....	6
2. Metodologia.....	12
3. Novos alvos terapêuticos para o tratamento da tuberculose.....	12
3.1. Potenciais alvos na fase de latência.....	12
3.1.1. Ação sobre o DevR regulon.....	12
3.1.2. Inibição da isocitrato liase.....	14
3.1.3. Biossíntese de NAD.....	15
3.2. Potenciais alvos no <i>M.tb</i>	15
3.2.1. Serina/treonina quinases com alvos terapêuticos.....	15
3.2.2. Biossíntese da parede celular.....	17
3.2.3. Biossíntese de ácidos graxos.....	17
3.2.4. Biossíntese de aminoácidos.....	18
4. Novos fármacos para o tratamento da tuberculose.....	19
4.1. Rifamicinas: rifapentina, rifabutina, rifalazil.....	20
4.2. Fluorquinolonas: gatifloxacino e moxifloxacino.....	22
4.3. Nitroimidazóis: OPC-67683 e PA-824.....	23
4.4. Diarilquinolinas: TMC-207.....	26
4.5. Oxazolidinonas: PNU-100480.....	28
4.6. Etilenodiaminas: SQ-109.....	29
4.7. Pirróis: LL-3858.....	29
5. Conclusão.....	31
6. Referências.....	32

1. Introdução

A tuberculose (TB) é uma doença causada pelo microorganismo *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tb*), um bacilo aeróbico obrigatório que na sua forma ativa afeta principalmente os pulmões, mas em 25% dos casos, maioria crianças e pacientes imunodeprimidos, acaba invadindo o sistema circulatório e infectando outros órgãos.

Aproximadamente um terço da população mundial é contaminada pelo *M.tb*, a cada ano, 8,8 milhões de pacientes são diagnosticados com a forma ativa da doença¹ e cerca de 1,7 milhões de pessoas morrem por ano devido a essa enfermidade². O Brasil ocupa o 13º lugar no ranking dos 22 países que concentram 80% dos casos de TB no mundo, possuindo, atualmente, em torno de 50 milhões de pessoas infectadas, mas que não desenvolveram a doença. No país surgem 111 mil novos casos anualmente e 6 mil mortes são registradas³.

Um dos principais fatores que sustentam a atual epidemia mundial de TB é a expansão da imunodeficiência (HIV). Em torno de 9% dos novos casos de TB são em pacientes portadores do HIV. Pessoas infectadas somente com *M.tb* na forma latente possuem em torno de 10% a 20% de chances de desenvolver a doença durante toda a vida. No entanto, co-infectados com HIV apresentam 10% de chance de desenvolver a doença anualmente⁴. Esta infecção suprime o sistema imune e aumenta o risco de desenvolvimento da tuberculose ativa⁵, pois o baixo número de linfócitos CD4 leva à formação inadequada do granuloma. A ativação das células mononucleares durante a resposta imune do hospedeiro ocasiona a replicação acelerada do HIV, aumentando a carga viral nos tecidos onde, inicialmente, estava o *M.tb*, além de invadir a corrente sanguínea^{6,7}. O maior problema dos pacientes co-infectados é a descontinuação do uso dos medicamentos antiretrovirais (ART) e anti-tuberculose em virtude das interações medicamentosas e da toxicidade associada a esses medicamentos⁵.

O sistema imune do hospedeiro infectado com *M.tb* reage formando um granuloma que pára a multiplicação do bacilo, suprimindo a ameaça da doença ativa. O granuloma isolado adapta o metabolismo para um estado dormente, não multiplicativo, que acredita-se ser restrito de oxigênio, de nutrientes e de resposta imune. Entre esses, a depleção de oxigênio é o que tem sido mais abrangentemente estudado⁸. Dessa forma, a TB latente persiste por anos, podendo passar para a forma ativa caso o sistema imune do indivíduo infectado falhe

(pacientes imunodeprimidos)⁶. As necessidades metabólicas do *M.tb* durante a fase de latência não são totalmente conhecidas. Muitos estudos têm sido desenvolvidos para simular mais adequadamente o microambiente dentro do granuloma⁶. Porém, a maioria dos modelos animais utilizados atualmente são incapazes de simular adequadamente todas as características patológicas das fases ativa e latente da TB humana⁹.

A ação dos fármacos na fase de latência não é muito bem explicada, mas acredita-se que bacilos latentes devem possuir uma pequena demanda metabólica de precursores para manutenção e reparo da parede celular ou, então, as populações de bactérias possuem um intervalo entre as fases replicante e latente quando ocorre a ação dos fármacos⁹.

O tratamento dos indivíduos infectados por *M.tb* é realizado com os fármacos de primeira linha que incluem a isoniazida, a rifampicina, a pirazinamida e o etambutol ou estreptomicina² (figura 1). Esses fármacos fazem parte da DOTS (directly observed therapy short-course), estratégia desenvolvida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para otimizar a resposta e aderência ao tratamento, que dura em torno de 6 meses¹. Isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida são administrados, inicialmente, por dois meses a fim de eliminar as bactérias em todos os estágios de crescimento. O tratamento continua com a utilização de rifampicina e isoniazida por mais quatro meses para eliminar qualquer forma latente residual.

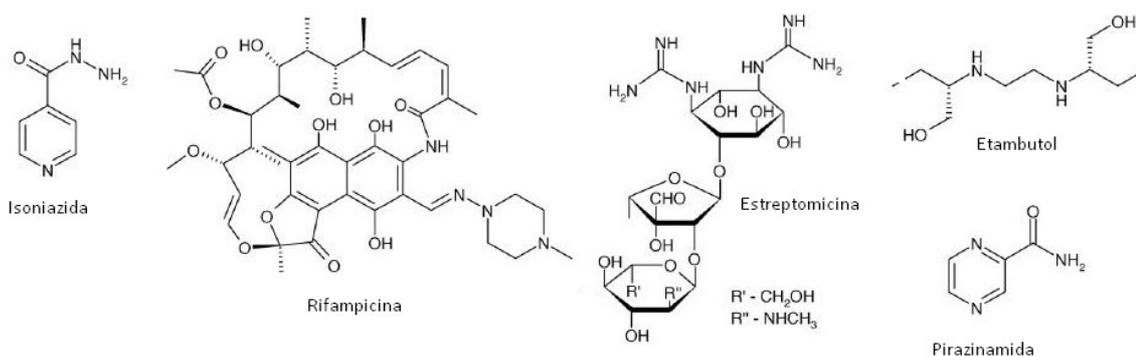


Figura 1. Estruturas químicas dos fármacos de primeira linha anti-TB

A **estreptomicina (ESM)**, descoberta em 1944, foi o primeiro antibiótico capaz de agir de maneira eficaz contra o *M.tb*³. Pertencente à classe dos aminoglicosídeos, interfere na síntese protéica, pois se liga a uma proteína ribossomal, causando a leitura errada do RNAm levando, assim, à síntese de uma proteína defeituosa¹¹. Após cinco anos do início da utilização dessa monoterapia, um teste clínico mostrou que o número de pacientes que respondiam

efetivamente ao tratamento estava diminuindo e a taxa de resistência a esse fármaco aumentando. Em virtude desse achado, introduziu-se o ácido p-aminosalicílico (PAS), um fármaco de segunda linha, e da isoniazida ao tratamento concomitante à estreptomicina. Essa combinação de fármacos foi o tratamento base para a tuberculose por uma década. Porém, em 1961, o ácido p-aminosalicílico foi substituído pelo etambutol (EMB), um fármaco melhor tolerado e com tempo de tratamento menor⁴. O **EMB** age de forma específica sobre as enzimas chave na biossíntese e polimerização de componentes da parede celular tais como o arabinano, arabinogalactano e o lipoarabinomanano. O **PAS** não tem seu mecanismo de ação totalmente elucidado, no entanto, atribui-se o seu efeito à inibição da síntese de ácido fólico, do metabolismo do ácido salicílico e do transporte de ferro no microorganismo¹⁰.

A **isoniazida (INH)**, introduzida em 1952, é um pró-fármaco que origina um metabólito potente, que liga-se à proteína ACP redutase NADH-específica, capaz de oxidar os grupos protéicos que iriam atuar na síntese de ácido micólico¹⁰. Assim, a depleção desse ácido causa a morte da bactéria¹¹. A monoterapia de INH tem sido indicada para o tratamento da tuberculose latente⁵. A **pirazinamida (PZA)**, descoberta em 1954, é um pró-fármaco, derivado sintético da nicotinamida. É efetiva contra as formas latentes em ambientes ácidos como nos macrófagos. O fármaco é transformado pela enzima pirazinamidase em ácido pirazinóico que, em pHs baixos, inativa a biossíntese de um ácido graxo vital¹¹.

A **rifampicina (RIF)**, introduzida na terapêutica em 1967, representa a última nova classe de antibióticos de primeira linha. Liga-se à subunidade β da RNA polimerase-DNA dependente, inibindo a transcrição do RNAm e, conseqüentemente, a síntese de proteínas do *M.tb*¹¹. A RIF é um indutor das enzimas do citocromo P450, sobretudo a CYP3A4, ocasionando, portanto, interações com outros medicamentos que também são metabolizados por essas enzimas, principalmente os utilizados por portadores de HIV como os inibidores da protease e da transcriptase reversa. Essa interação faz com que a indução dessas enzimas aumente a metabolização dos inibidores da protease e da transcriptase reversa e, dessa forma, diminui a concentração e o efeito desses fármacos. Isso diminui a aderência ao tratamento, aumenta o avanço da doença e predispõe pacientes imunodeprimidos a um relapso da doença, além do desenvolvimento de resistência^{4,5}.

Como os fármacos usados no tratamento da TB estão sendo utilizados há mais de quarenta anos, ocorreu o desenvolvimento de cepas resistentes, devido ao uso descontinuado e/ou inadequado. A resistência é causada por mutações cromossômicas nos genes que

codificam os alvos dos fármacos. Resistência primária ocorre quando uma cepa de *M.tb* é transmitida a um hospedeiro e, essa já é resistente aos fármacos indicados. Entretanto, resistência adquirida ocorre quando as cepas tornam-se resistentes após exposição contínua ou inadequada aos fármacos. A resistência ocorre principalmente com a isoniazida e a rifampicina¹¹.

A emergência da multi-resistência aos tuberculostáticos (*multidrug-resistant* MDR-TB) e também da resistência extensiva aos tuberculostáticos (*extensively drug resistant* XDR-TB) é uma ameaça à saúde pública global. Estatísticas mostram que em torno de 69% dos pacientes curados da doença ativa e que foram submetidos a tratamentos assistidos por 18 meses apresentam tuberculose MDR. No entanto, apenas 1% dos casos de tuberculose MDR recebeu tratamentos adequados a essa condição. Combinações de fármacos de primeira e segunda linha são utilizadas para o tratamento da tuberculose MDR e XDR, de acordo com os testes de sensibilidade aos fármacos. Os fármacos de segunda linha geralmente são mais caros, menos efetivos, apresentam mais efeitos adversos, são mais tóxicos e são usados por períodos mais longos em comparação aos de primeira linha, além de não estarem disponíveis em todas as localidades⁵. Nessa classificação incluem-se os aminoglicosídeos (canamicina e amicacina), cicloserina, terizidona, etionamida, protionamida, capreomicina, ácido p-aminosalicílico e as fluorquinolonas (ofloxacino, levofloxacino, gatifloxacino e moxifloxacino). Na tabela 1 estão indicados os mecanismos de ação dos fármacos tuberculostáticos^{4,5}.

Tabela 1. Fármacos utilizados no tratamento da TB e seus mecanismos de ação.

Fármaco	Descrição Química	Classe	Mec. de Ação	Processo Biológico Inibido
INH	Ácido nicotínico hidrazida	1ª linha	Bactericida	Síntese de ácido micólico
RIF	Derivado rifamicina	1ª linha	Bactericida	Síntese de proteínas
PZA	Derivado nicotinamida	1ª linha	Bactericida	Desconhecido
EMB	Etileno diimino di-1-butanol	1ª linha	Bacteriostático	Síntese de lipídio e parede celular
RBU	Derivado rifamicina	2ª linha	Bactericida	Síntese de proteínas
ESM	Aminoglicosídeo	2ª linha	Bactericida	Síntese de proteínas
KAN/AMI	Aminoglicosídeo	2ª linha	Bactericida	Síntese de proteínas
CAP/VIO	Peptídeo cíclico	2ª linha	Bactericida	Síntese de proteínas
CIP/OFX	Fluorquinolona	2ª linha	Bacteriostático	Replicação do DNA
LFX	Fluorquinolona	2ª linha	Provavelmente Bactericida	Replicação do DNA
MFX/GFX	Novas fluorquinolonas	2ª linha	Bactericida	Replicação do DNA
ETH/PTH	Derivados ácido nicotínico	2ª linha	Bacteriostático	Síntese de ácido micólico
PAS	Ácido p-aminosalicílico	2ª linha	Bacteriostático	Desconhecido
CS	D-cicloserina	2ª linha	Bacteriostático	Síntese parede celular

TAC	Tiacetazona	2ª linha	Bacteriostático	Síntese de ácido micólico
CLR	Derivado eritromicina	3ª linha	Bactericida	Síntese de proteínas
AMX/CLA	β -lactâmico + inibidor β -lactamase	3ª linha	Bactericida	Síntese parede celular
CFZ	Clofazimina	3ª linha	Bacteriostático	Função da membrana celular
LZD	Derivado oxazolidinona	3ª linha	Bactericida	Síntese de proteínas

Adaptado de referência 4

Uma dificuldade adicional no tratamento da tuberculose é a resistência encontrada também aos fármacos de segunda linha, principalmente às fluorquinolonas, canamicina, amicacina e capreomicina².

Atualmente já se tem conhecimento dos genes envolvidos no desenvolvimento de resistência a esses medicamentos. Sabe-se que mutações envolvendo o gene que codifica a subunidade β da RNA polimerase–DNA dependente (*rpoB*) é o responsável pela resistência às rifamicinas¹². A resistência à PZA ocorre em mutações no gene *pncA* que codifica a pirazinamidase, enzima responsável pela ativação da PZA¹³. Os genes responsáveis pela resistência à ESM são os que codificam a proteína ribossomal a qual liga-se o fármaco (*rpsL*) e o que codifica a subunidade 16S rRNA do ribossomo (*rss*). Mutações nesses genes levam à resistência ao fármaco, que não interage adequadamente com seus sítios de ligação. A resistência à INH é resultado de mutações em vários genes da *M.tb*. Um desses genes é o *katG* que codifica a catalase-peroxidase, enzima responsável pela ativação da INH. Essas mutações fazem com que a enzima perca sua atividade. Outro gene indutor da resistência da INH é o *inhA* que codifica a proteína ACP redutase NADH-específica¹⁴. Mutações no gene *embB* que codifica uma arabinosiltransferase são responsáveis pela resistência ao etambutol¹⁵.

Pode-se concluir, pelo exposto, que a terapia atual apresenta falhas, sendo necessárias novas alternativas terapêuticas. Neste contexto, a busca de novos fármacos com novos mecanismos de ação, a fim de se contornar o problema de cepas resistentes, além de permitir tratamentos mais curtos, mais efetivos, menos tóxicos e com menos efeitos adversos, tem sido objeto de investigação¹. Na tabela 2 estão indicadas as propriedades requeridas para os novos fármacos tuberculostáticos.

Tabela 2. Características requeridas para o desenvolvimento de novos fármacos.

Características requeridas para novos fármacos anti-TB	
Simplificar ou reduzir duração do tratamento	Forte ação bactericida e atividade esterilizante
Toxicidade aceitável	Baixa incidência de efeitos adversos
Ativo contra MDR/XDR – TB	Sem resistência cruzada com fármacos de primeira linha
Poder ser utilizado em pacientes co-infectados com HIV	Interações mínimas com anti-retrovirais
Ativo contra a TB latente	Atividade contra bacilos latentes
	Não apresentar efeito tóxico com outros fármacos anti-TB
	Não apresentar efeito tóxico com fármacos anti-HIV

Adaptado de referência 1.

O rápido desenvolvimento de novos fármacos antituberculose, no entanto, apresenta obstáculos. O primeiro está relacionado à dificuldade na identificação de vários compostos com ação frente ao *M.tb*, visto que devem possuir atividade bactericida e esterilizante. O segundo, é que o mercado para esses fármacos é associado a lucros insuficientes, não atraindo o investimento das empresas farmacêuticas. O custo médio do desenvolvimento de um novo fármaco é de aproximadamente 115 a 240 milhões de dólares e as empresas farmacêuticas alegam que o tempo para retorno financeiro é muito grande para os antimicrobianos em geral. A fim de contornar a relutância das empresas farmacêuticas, organizações governamentais e não-governamentais têm investido na pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos. O governo dos Estados Unidos, em 2000, criou um consórcio firmando parcerias entre o setor público e privado resultando na Global Alliance for TB Drug Development (GATB), para financiar pesquisas na área^{1,4}.

Quando os candidatos a fármacos anti-TB chegam aos testes clínicos, surge outro empecilho: a falta da capacidade de conduzir esses testes com grande número de pacientes. Esses testes deveriam ser conduzidos em países onde há altos índices da doença, ou seja, os países em desenvolvimento. No entanto, a falta de infra-estrutura e pessoas adequadamente treinadas impede o bom andamento dos ensaios clínicos de fase III^{1,5}.

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho é realizar uma revisão da literatura contemplando os conhecimentos mais atuais sobre o microorganismo *Mycobacterium tuberculosis* enfocando, principalmente, os novos e potenciais mecanismos de ação para o desenvolvimento de fármacos, alternativas terapêuticas para contornar o problema da

resistência aos medicamentos atualmente disponíveis e as novas moléculas que estão em ensaios clínicos.

2. Metodologia

A revisão da literatura foi realizada no ISI Web of Science utilizando as seguintes palavras-chaves: *tuberculosis*, *tuberculosis new mechanism of action*, *novel mechanism of action*, *new targets to drugs*, *latent tuberculosis infection*, *tuberculosis new drugs*. Foram selecionados artigos a partir de 2005 de livre acesso. A seleção dos artigos baseou-se, inicialmente, na análise dos títulos. Foi dada preferência aos textos que abordavam a descoberta de novos compostos com atividade sobre o *M.tb*, de novos mecanismos de ação ou novas abordagens para desenvolvimento de fármacos. Artigos caracterizando a síntese de novos compostos distanciavam-se do objetivo do trabalho e, portanto, foram excluídos. A busca na literatura foi realizada no período de fevereiro a maio de 2010.

3. Novos alvos terapêuticos para o tratamento da TB

A determinação da seqüência genômica do *M.tb* foi publicada somente em 1998. Desde então estão sendo estudadas as rotas metabólicas, enzimas, padrão de expressão de genes essenciais para a sobrevivência do microorganismo, etc. A partir dessas informações pode-se identificar alvos para o desenvolvimento de novos medicamentos, assim como a avaliação da regulação desses genes essenciais¹⁶.

3.1 Potenciais alvos na fase de latência

Muitos estudos estão sendo realizados a fim de avaliar os padrões de expressão dos genes essenciais para o crescimento e poder de infecção do *M.tb* em condições específicas em diferentes modelos de dormência.

3.1.1 Ação sobre o DevR regulon (dosR regulon)

Sabe-se que o *M.tb* pode adaptar seu metabolismo diante de variações ambientais como, por exemplo, a passagem da fase replicante do bacilo para a fase de latência. O mecanismo pelo qual essa adaptação ocorre parece ser explicado pela regulação de 53 genes pertencentes a um sistema de transdução de sinal conhecido como *DevR regulon*. Esses genes são induzidos quando o *DevR* é ativado. Entre esse genes, encontram-se oito envolvidos no transporte de elétrons e onze que estão envolvidos na síntese de triglicerídios e no metabolismo de carboidratos, sendo de extrema importância, visto que grande parte da

adaptação do *M.tb* para a fase de latência envolve a troca da fonte de carbono a partir da glicose para os ácidos graxos.

A identificação dos genes foi feita através da expressão diferencial desses genes em cepas virulentas e não virulentas de *M.tb* sob condições de hipóxia, que simula ambiente do granuloma, e de elevada concentração de óxido nítrico (NO), que simula o ambiente produzido pelos mecanismos de resposta imune do hospedeiro. Essas condições mostraram ativar o sistema *DevR* e adaptar o metabolismo do *M.tb* à fase de latência (figura 2).

Um mecanismo de ação a ser considerado leva em conta a importância que o sistema regulatório *DevR* possui sobre o metabolismo latente. Caso o *DevR* fosse interrompido, poderia, então, ocorrer um problema metabólico. A célula poderia sofrer expressão desregulada, aumento da demanda metabólica e insuficiência de nutrientes pelos quais poderia não se recuperar, levando a morte do microorganismo, um resultado conveniente para o tratamento da TB¹⁷.

Além desses genes, existem outros que influenciam de diversas formas o metabolismo durante essa fase adaptativa. Entre eles destacam-se os genes *devS* e *devT* que codificam proteínas quinases sensoras pertencentes aos sistemas regulatórios de resposta no *M.tb*. Esses sistemas são constituídos por uma proteína sensora: uma quinase ou histidina quinase (HPK) e por uma proteína reguladora de resposta (RR). As HPK são auto-fosforiladas em resposta a um sinal específico e então regulam a atividade da proteína RR e do *DevR*. Na falta ou na inibição dessas HPK, o sistema *DevR* não é ativado. Nesse contexto, um inibidor bifuncional ou uma combinação de compostos poderia atacar as proteínas quinases sensoras, bloqueando o sítio de ligação da *devR* ao seu local de ligação ao DNA, evitando a expressão desses genes, levando o microorganismo a voltar para sua forma ativa, tornando-se alvo para os fármacos anti-TB comumente utilizados^{17,18}.

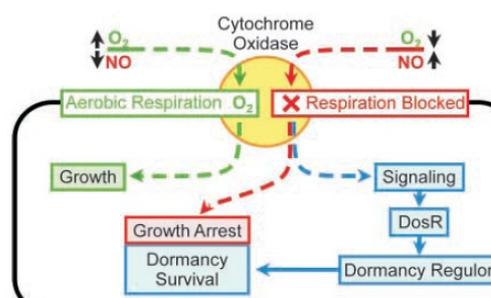


Figura 2. Influência do O₂ e NO na ativação do sistema *DevR*.

Além disso, durante a fase de latência, o NO liga-se de 150 a 500 vezes melhor às proteínas sensoras do que o oxigênio, explicando porquê baixos níveis de NO desencadeia, no microorganismo, um mecanismo de proteção em resposta aos intermediários reativos de nitrogênio que são gerados durante a resposta imune do hospedeiro. Nesse contexto, um alvo para o desenvolvimento de fármacos é a inibição da dihidrolipoamida acetiltransferase (Dlat), uma enzima que protege o bacilo desses intermediários reativos. Assim, fármacos inibidores da Dlat matariam seletivamente as formas latentes do *M.tb* em modelos de hipóxia e privação de nutrientes.

Um *screening* de compostos foi realizado e aqueles que se mostraram mais potentes na inibição da enzima foram as rodaninas (2-tioxi-tiazolidi-4-onas). A partir desses compostos, mais inibidores seletivos foram sintetizados e tiveram sua relação estrutura-atividade avaliada. O composto D157070 (figura 3) foi o que apresentou os resultados mais promissores, seguindo em testes específicos posteriores. Além disso, acredita-se que esse composto atinja mais de um alvo no *M.tb*, pois concentrações elevadas do composto foi encontrada no microorganismo.

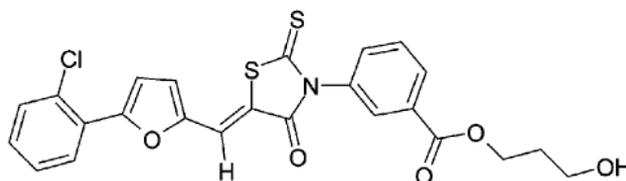


Figura 3. Estrutura química do composto D157070.

3.1.2 Inibição da Isocitrato liase

Como acredita-se que a fase de latência do *M.tb* está relacionada a um ambiente hipóxico, vias alternativas não oxidativas para produção de energia devem ser ativadas para a sobrevivência do microorganismo. Nesse contexto, aparece a isocitrato liase (ICL), uma enzima crucial no desvio do glioxilato para a produção de energia e da biossíntese micolipídica⁶. Em condições anaeróbicas, o nível dessa enzima, no *M.tb*, eleva-se. Essa enzima converte o acetilCoA originado pela oxidação dos ácidos graxos em succinato e posteriormente em glicose. Esse processo desvia os passos da oxidação do Ciclo de Krebs para a produção de energia na forma de NAD (nicotinamida adenina dinucleotídeo) a partir de ácidos graxos¹⁹.

Um *screening* inicial de compostos levando em consideração, primeiramente, atividade inibitória sobre a ICL e posteriormente o efeito sobre o crescimento e sobrevivência da micobactéria foi realizado por um grupo de pesquisadores. Dois compostos destacaram-se por apresentar atividade inibitória: o 3-nitropropionato e o 3-bromopiruvato. A partir de então, essas duas moléculas são candidatas para o desenho de estruturas derivadas para o desenvolvimento de novos fármacos anti-TB²⁰.

3.1.3 Biossíntese de NAD

Manter o balanço REDOX entre NAD/NADH dentro das células é de extrema importância para a sobrevivência do *M.tb*, principalmente em estado hipóxico, no qual aceptores de elétrons alternativos devem ser utilizados. Uma intervenção terapêutica que visa atingir esse balanço é a utilização de inibidores para as enzimas das duas rotas de síntese de NAD⁶.

Algumas moléculas inibidoras da NAD sintetase, enzima importante para a biossíntese de NAD, foram testadas e mostraram atividade bactericida até mesmo em *M.tb* latentes, entretanto testes posteriores não puderam ser conduzidos por causa da toxicidade dessas moléculas (figura 4). Em síntese, as rotas de biossíntese de NAD são um atrativo para o desenvolvimento de novos fármacos anti-TB²¹.

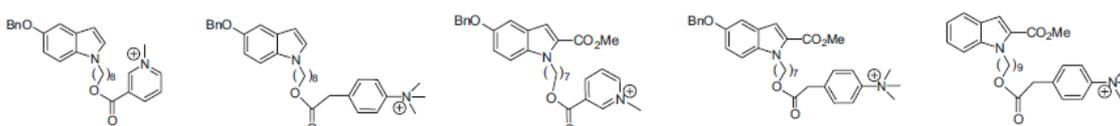


Figura 4. Estrutura de algumas moléculas promissoras com ação inibitória sobre a NAD sintetase.

3.2 Potenciais alvos no *M.tb in vitro*

3.2.1 Serina/treonina quinases como alvos terapêuticos

Proteínas quinases (PK) são uma ampla família de proteínas que catalizam a fosforilação de outras proteínas. A fosforilação dessas proteínas é responsável pela regulação celular, assim como a transdução de sinais na célula. Devido as suas funções de extrema importância, as PKs têm sido alvos de estudos para o desenvolvimento de novos fármacos que modulem suas funções²².

Nesse contexto, destacam-se as proteínas serina/treonina quinases que estão presentes em alta proporção no *M.tb*, comparadas com o sistema de histidinas quinases (HK) de resposta aos estímulos ambientais. Onze proteínas quinases dessa família foram identificadas no *M.tb* e nomeadas de PknA ao PknL.

Fernandez e colaboradores (2006) testaram o efeito de dezoito inibidores competitivos da ATP sobre a fosforilação da PknB, uma proteína essencial para o crescimento do microorganismo²³. Dois desse compostos, K-252a e K252b, derivados da staurosporina apresentaram IC₅₀ em torno de 0,1 µM. O K-252a inibiu o crescimento celular do *M.tb* com concentração inibitória mínima (CIM) de 20 µM. Além disso, Wehenkel e colaboradores mostraram que a mitoxantrona, um antineoplásico pertencente à família das antracenodionas, também é um inibidor competitivo da ATP, portanto possui atividade inibitória sobre o PknB capaz de inibir o crescimento celular do *M.tb* com CIM de 400 µM²⁴.

A PknG é considerada a responsável pelo controle da infecção micobacteriana. Ela não possui um domínio transmembrana, portanto acredita-se que ela está presente dentro dos macrófagos. A proteína exerce papel fundamental em manter os fagossomas intactos dentro dos macrófagos. Além disso, foi demonstrado que a inibição da enzima leva a degradação da micobactéria pela indução da fusão do fagossomo e do lisossomo no interior do macrófago, portanto, elimina a bactéria de dentro do macrófago. Um *screening* de compostos inibidores da PknG indicou que o composto tetrahydrobenzotiofeno (AX20017) mostrou agir especificamente na enzima com IC₅₀ de 0,39 µM (figura 5). Além disso, o AX20017 não apresentou atividade sobre as proteínas quinases humanas. Acredita-se que essa especificidade ocorre pois há uma combinação de resíduos hidrofóbicos próximos ao sítio de ligação do composto à enzima que não estão presentes nas outras proteínas quinases humanas^{25,26}.

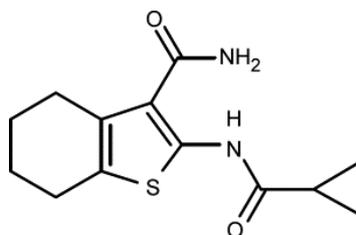


Figura 5. Estrutura química do AX20017.

A utilização de compostos inibidores da PknG, no entanto, exige a associação de fármaco com mecanismo de ação adicional após as bactérias serem liberadas de dentro do

macrófago, para que as mesmas sejam erradicadas. Para isso, deve-se atingir proteínas essenciais ao crescimento do microorganismo fora do macrófago. Nesse sentido, o *screening* de compostos capaz de inibir a PknG dentro do macrófago e, ao mesmo tempo, de inibir a PknB fora do macrófago, indicou que o AX20017 mostra esse perfil inibitório. Desse modo, o AX20017 é um protótipo para a síntese desse tipo de fármaco, sendo que até o momento o AX35510 e o AX14585 mostraram-se com propriedades satisfatórias^{25,26}.

3.2.2 Biossíntese da parede celular

A parede celular das micobactérias é composta de três tipos de macromoléculas: os peptidoglicanos, os arabinogalactanos e os ácidos micólicos. As enzimas responsáveis pela biossíntese desses compostos não são encontradas nos mamíferos, por isso, pode-se investigar a parede celular como alvo para o desenvolvimento de novos fármacos. Nesse contexto, inibidores das enzimas fundamentais para a biossíntese de peptidoglicano estão sendo desenvolvidos.

A alanina racemase (Alr) é um piridoxal 5'-fosfato (PLP) responsável pela primeira reação da biossíntese dos arabinogalactanos: a catalização da racemização da L-alanina em D-alanina, componente de alta prevalência na biossíntese de peptidoglicanos. A D-cicloserina, um fármaco de segunda linha no tratamento da TB é um potente inibidor da alanina racemase. Entretanto, seu uso é restrito em virtude de seus graves efeitos adversos como a toxicidade do sistema nervoso central^{22,27,28}.

Nesse contexto, inibidores da Alr são uma estratégia terapêutica para inibir a síntese dos arabinogalactanos, causando a morte do microorganismo. Alguns análogos da D-alanina foram testados e apresentaram atividade inibitória, entretanto, esses compostos não mostraram ser específicos para essa enzima, pois agiram sobre outras PLPs, algumas até mesmo encontradas em humanos²⁷.

3.2.3 Biossíntese de ácidos graxos

Metiltransferases são enzimas que introduzem modificações nas cadeias de meromicolatos para produção de ácido micólico. No *M.tb* foram identificadas quatro dessas enzimas. Uma delas, a Hma codificada pelo gene *mmaA4*, é a única enzima responsável pela produção de micolatos oxigenados no microorganismo. Em um modelo de roedores infectados, constatou-se que uma mutação nesse gene atenuava a expressão da Hma restringindo o crescimento celular do *M.tb*. Nesse sentido, surge um alvo terapêutico para a

inibição do crescimento do *M.tb*: o desenvolvimento de inibidores de um co-fator comum a todas essas metiltransferases, o S- adenosil metionina, a fim de bloquear a atividade das metiltransferases bacterianas e, conseqüentemente, a produção de ácido micólico. Alguns análogos desse co-fator, como o A9145c e a sinefungina, mostraram ser inibidores efetivos das metiltransferases de bactérias *in vitro*, mostrando a possibilidade de utilização dessa via metabólica como alvo terapêutico para o desenvolvimento de novos fármacos^{16,29,30}.

3.2.4. Biossíntese de aminoácidos

A síntese de aminoácidos tem sido uma boa alternativa para o desenvolvimento de novos fármacos para doenças em que o microorganismo não seja capaz de utilizar aminoácidos do organismo hospedeiro. Nesse sentido, inibidores da enzima dihidropicolinato redutase (DHDP redutase), responsável pela obtenção do aminoácido lisina a partir do aspartato, no *M.tb*, tem sido identificados e representam uma alvo alternativo para o tratamento da TB. Essa via é importante pois, além de fornecer precursores para a síntese de proteínas, o produto resultante dessa via, o ácido diaminopimélico, é incorporado aos peptideoglicanos^{16,31}. Dessa forma, duas vias metabólicas do microorganismo ficariam afetadas dificultando a multiplicação do *M.tb*. Num *screening* por inibidores da DHDP redutase, compostos derivados da família das sulfonamidas mostraram ser os mais potentes entre as moléculas testadas (figura 6). Entretanto, devido a sua disponibilidade limitada, esses compostos foram abandonados³¹.

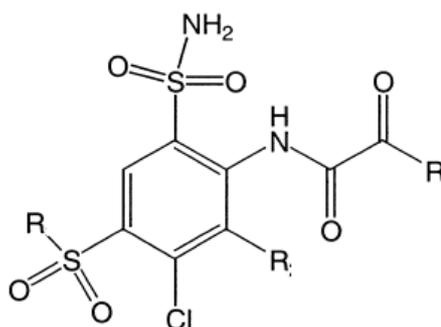


Figura 6. Estrutura geral dos inibidores derivados das sulfonamidas.

Uma outra abordagem a ser considerada para o desenvolvimento de novos fármacos é a patogênese da doença. A liquefação do tecido pulmonar necrosado para a formação de cavidades é um passo importante para a propagação da doença para outros indivíduos. Nesse contexto, a interrupção dos processos de liquefação desse tecido e a formação de cavidades,

seria uma forma de intervenção terapêutica para conter o bacilo que, dessa forma, não iria se propagar quando o indivíduo doente tossisse³².

4. Novas drogas para o tratamento de TB

Conforme dados publicados pela *STOP TB Partnership Working Group on New Drugs* (STPTB), o cenário mundial para o desenvolvimento e pesquisas de novos agentes anti-TB tem aumentado significativamente. Atualmente, existem fármacos promissores em avaliação clínica para o tratamento da TB. Alguns desses fármacos já eram utilizados para tratamento de outras doenças, mas agora se verifica a utilização deles como tuberculostáticos. Também há os fármacos que foram especificamente desenvolvidos para essa finalidade⁵. No portfólio global organizado pelo STPTB que contabiliza os estudos nessa área, estão registrados 15 compostos em desenvolvimento, sendo 9 em fase clínica e 6 em fase pré-clínica, tendo mais 28 projetos em outros estágios de desenvolvimento³³ (figura 7).

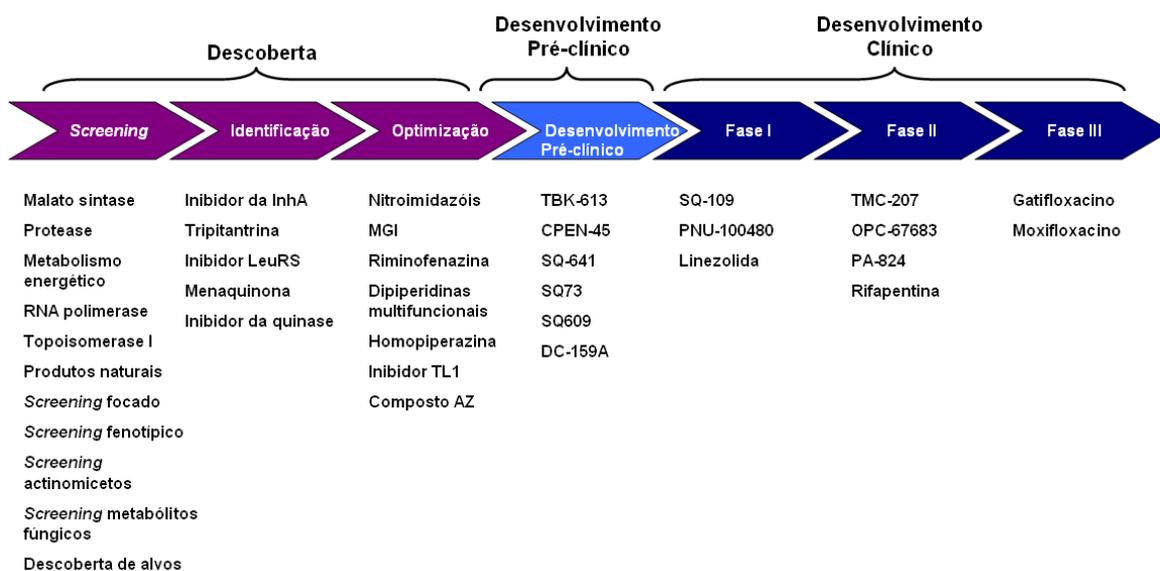


Figura 7. Panorama geral de compostos em pesquisa e em desenvolvimento a partir de informações compiladas pela STPTB. Adaptado de referência 4.

Muitos produtos naturais também têm sido investigados para o combate ao *M.tb*, entre eles pode se destacar o **micotiol (figura 8)**, um composto promissor, isolado pela primeira vez na forma de dissulfeto a partir do *Streptomyces sp.* e sintetizado pela primeira vez em 2004, é um tiol de baixo peso molecular encontrado em actinomicetos. Acredita-se que ele atue como antioxidante, mantendo o meio intracelular livre de agentes alquilantes e outras toxinas. Em função de suas características, o micotiol tem sido utilizado como modelo para síntese racional de novos compostos para o combate à TB. Um análogo simplificado do

micotiol foi obtido a partir de glicosamina paracetilada e analisado como substrato para o *M.tb* na enzima amidase micotiol S-conjugada demonstrando possuir boa afinidade³.

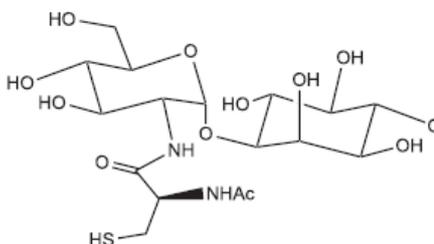


Figura 8. Estrutura do micotiol

4.1 Rifamicinas: rifapentina, rifabutina, rifalazil

As rifamicinas são provenientes de produtos naturais e foram isoladas em 1957. São seletivos e potentes inibidores da RNA polimerase bacteriana, enzima chave na transcrição do DNA. Três representantes semi-sintéticos dessa classe são utilizados no tratamento de várias doenças microbianas infecciosas. São eles a rifapentina (RFP), rifabutina (RFB) e o rifalazil (RFL) (figura 9).

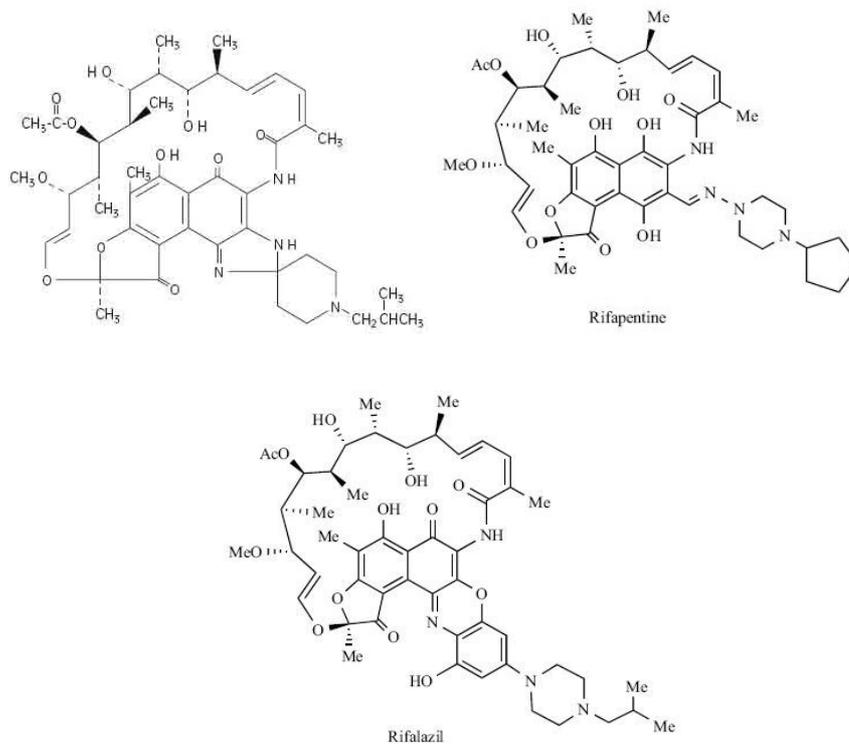


Figura 9. Estruturas químicas da rifabutina e rifapentina e rifalazil respectivamente.

Um dos principais problemas da rifampicina no tratamento da TB é o longo tempo de tratamento. Em virtude disso, vem sendo considerada a substituição desse composto por outros da mesma classe que mostraram potencialmente encurtar o tempo de tratamento. A **rifapentina** foi descoberta em 1965, mas apenas em 1998 teve seu uso aprovado pelo U.S Food and Drug Administration (FDA) para o tratamento de doenças pulmonares. Ela é um análogo mais potente e de meia-vida mais longa que a RIF. Seu mecanismo de ação é o mesmo que as demais rifamicinas, portanto, não exerce atividade sobre os microorganismos resistentes à RIF. Elas inibem a síntese do RNA bacteriano pois se ligam à subunidade β da RNA polimerase-DNA dependente. Assim como a RIF, esse fármaco é indutor das enzimas do citocromo P450, porém em menor extensão, causando o inconveniente da interação com outros fármacos³⁴. Em um estudo clínico fase I constatou-se que a RFP causa auto-indução enzimática³⁵.

Estudo realizado em roedores na Johns Hopkins University sugeriu que a substituição da RIF pela RFP mantendo a posologia padrão de tratamento poderia encurtar drasticamente o tempo de tratamento. Outro estudo realizado pelo mesmo grupo, também em roedores, mostrou que a combinação de RFP, MFX e PZA administrado diariamente ou três vezes por semana diminuiu o tempo de tratamento de seis para três meses³⁶.

A RFP também está sendo considerada para ser utilizada em um regime de tratamento para TB latente. Um regime de doses semanais de RFP, MFX e INH dado a roedores por três meses mostrou ser mais efetivo que o regime de doses diárias de INH por 6 meses³⁷.

Estudos clínicos estão sendo conduzidos para assegurar a eficácia de altas doses de RFP, administradas uma ou duas vezes por semana, associada à MFX e a eficácia de doses diárias de RFP com o regime padrão empregado para fármacos de primeira linha em encurtar o tempo de tratamento⁵.

A rifabutina, comparada com as demais rifamicinas, é um fraco indutor das enzimas do citocromo P450, por isso é indicada, principalmente, para regime de tratamento de pacientes co-infectados com avançada infecção de HIV. Entretanto, não há muitos estudos clínicos avaliando esse grupo de pacientes³⁸.

Outra rifamicina que foi sintetizada com o intuito de melhorar a atividade contra o *M.tb* foi o **rifalazil** (RLZ), também conhecido como KRM1648 ou benzoxazinorifamicina. Esse fármaco apresenta tempo de meia-vida longo, além de apresentar maior atividade, *in*

vitro e *in vivo*, que a RIF e a RFB. O uso do RLZ é restrito a cepas não resistentes às rifamicinas. Um estudo preliminar fase I em humanos mostrou que doses de 10 mg e 25 mg são seguras e que doses acima de 100 mg podem desencadear sintomas de gripe e diminuir a contagem de leucócitos e plaquetas no sangue. Além disso, não mostrou ser mais eficaz que a RIF. Até o momento, nenhum estudo clínico fase II foi realizado para avaliar o uso do RLZ para o tratamento da tuberculose³².

4.2 Fluorquinolonas: gatifloxacino e moxifloxacino

As fluorquinolonas moxifloxacino (MFX) e o gatifloxacino (GFX) (figura 10) estão sendo investigadas para o tratamento da TB. As fluorquinolonas são antimicrobianos de amplo espectro e que exercem sua atividade terapêutica ao agir sobre a DNA girase, enzima com atividade sobre a replicação, a transcrição e o reparo do DNA. Têm ampla distribuição por todo organismo e principalmente no interior das células, por isso sua eficácia contra a micobactéria intracelular. Esses fármacos são muito promissores em encurtar o tempo de duração do tratamento anti-TB pois apresentam baixas CIMs, alta atividade bactericida e são mais potentes frente às antigas fluorquinolonas utilizadas como segunda linha no tratamento da MDR-TB, como o ofloxacino e o ciprofloxacino. Os dois fármacos estão em fase clínica III para avaliação como tuberculostáticos^{1,39,40,41}.

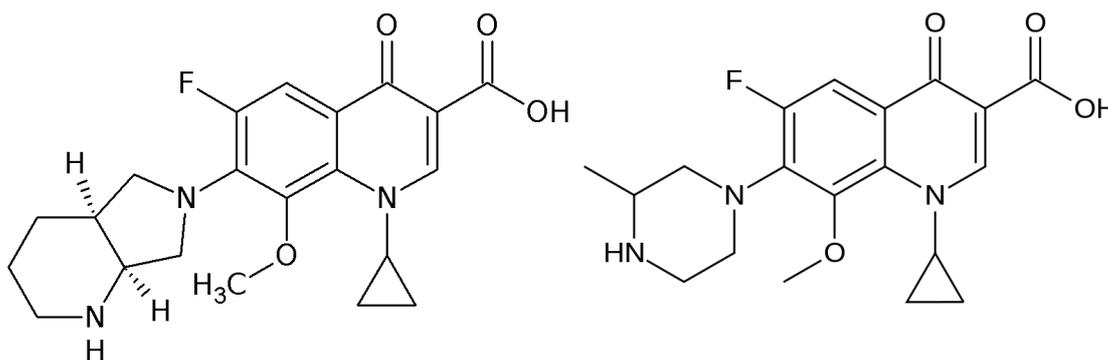


Figura 10. Estruturas químicas do MFX e do GFX.

MFX possui um grupamento metóxi na posição 8 e possui atividade contra bactérias gram-positivas e gram-negativas incluindo as anaeróbias. A dose diária aprovada para o MFX é de 400 mg. Ele age inibindo a DNA girase, uma enzima necessária para a manutenção do superespiralamento do DNA, impedindo, assim, a replicação cromossomal. Pouco se sabe a respeito da tolerância a longo prazo em pacientes com TB. Efeitos adversos hepatológico e

dermatológico raros, porém graves, foram relacionados ao uso de MFX no tratamento de outras enfermidades. No entanto, nenhum estudo sobre os efeitos adversos em pacientes infectados com TB foi realizado¹.

Estudos realizados *in vitro* e em roedores evidenciaram o aumento da atividade bactericida do MFX e da isoniazida quando co-administrados. Já estudos avaliando a atividade bactericida *in vitro* mediante a administração concomitante do MFX com etambutol mostrou que esse diminui em 80% a eficácia do MFX^{42,43}.

Um estudo clínico recentemente iniciado compara o regime padrão no tratamento da tuberculose frente a um regime de dois meses de RIF, INH, PZA e MFX seguido de mais 2 meses de RIF, INH e MFX e a outro regime de dois meses de RIF, MFX, PZA e EMB seguido de mais 2 meses de RIF e MFX. Já a associação de dois fármacos de elevada meia-vida, MFX com rifapentina, um composto pertencente à classe das rifamicinas, está sendo investigada no estudo nomeado RIFAQUIN^{42,44,45,46}. A associação desses dois fármacos está sendo usada no tratamento da TB latente. Resultados de um estudo em roedores com TB latente mostram que combinação de MFX e rifapentina em doses semanais por 3 meses foi tão efetiva quanto a monoterapia de INH por 6 meses³⁷.

O **GFX** também possui as características favoráveis do MFX para a utilização no tratamento da TB. Entretanto, esses dois fármacos apresentam resistência cruzada. Essa resistência está relacionada a mutações graduais nos genes *gyrA* e *gyrB* da *M.tb* que determina a resistência à quinolona^{47,48,49}.

Estudos *in vitro* e em roedores mostrou o aumento da atividade da isoniazida e da rifampicina quando adicionada de GFX. Esse aumento foi ainda maior quando a PZA foi adicionada a esse regime de tratamento^{50,51,52}. O GFX demonstrou ter atividade bactericida semelhante *in vitro* e *in vivo* contra o *M.tb* comparada à atividade bactericida da RIF ao mesmo microorganismo⁵³.

A possibilidade da substituição do etambutol pelo GFX e do etambutol ou isoniazida pelo MFX para a diminuição do tempo de tratamento para quatro meses estão sendo avaliados em estudos clínicos de fase III^{54,55}.

4.3 Nitroimidazóis: PA-824 e OPC-67683

Os nitroimidazóis são uma classe de compostos que possuem atividade contra a micobactéria e estão em estudos clínicos de fase 2. São estruturalmente relacionados ao metronidazol. Essa classe se subdivide em duas outras: os nitroimidazo-oxazinas e os nitroimidazo-oxazóis. São representantes dessas subclasses o PA-824 (figura 11) e o OPC-67683 (figura 12), respectivamente. Esses compostos mostram atividade em cepas resistentes e sensíveis, o que indica a existência de um novo mecanismo de ação. Apesar de ainda não bem compreendido, parece que essas moléculas exercem atividade antimicobacteriana através da biorredução do farmacóforo nitroimidazol. Acredita-se que os intermediários químicos originados durante esse processo são os responsáveis por essa atividade. Ambas sub-classes mostram ter atividade tanto em condições aeróbicas como em anaeróbicas, cada uma por um mecanismo diferente⁵⁶.

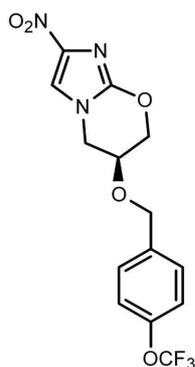


Figura 11. Estrutura química do PA-824.

O **PA-824** é originado de um precursor com potencial mutagênico, o CGI – 17341, entretanto, ele não apresenta esse potencial. Por ser um pró-fármaco necessita da ação da glicose-6-fosfato desidrogenase do *M.tb* e da coenzima F₄₂₀, um cofator que fornece elétrons, para ser transformado em sua forma ativa através de uma reação de redução do grupo NO₂. Na forma ativa esse composto, através de um mecanismo duplo, inibe a síntese de proteínas e dos lipídios da parede celular⁵⁶. O composto possui longa meia-vida, alta taxa de distribuição nos tecidos e não apresenta interações significativas com os fármacos metabolizados pelas enzimas do CYP450⁵⁷. Além disso, doses únicas de 50 mg a 1000 mg foram aplicadas em voluntários sadios para análise da segurança e tolerabilidade e mostraram ser bem toleradas. Já na avaliação de doses múltiplas de 1000 mg foi constatado o aumento moderado, porém reversível, do nível de creatinina. Esse efeito não demonstrou ser relevante em estudos

posteriores (M. Spigelman, apresentado no 1st International Workshop on Clinical Pharmacology of Tuberculosis Drugs, Toronto, Canada, 2008).

A resistência a essa droga está associada a mutações nos genes *fbiA*, *fbiB* e *fbiC*, responsáveis pela síntese da coenzima F₄₂₀ e mutações no gene Rv3547, que codifica uma enzima com função ainda desconhecida^{58,59}.

Estudos em roedores mostram que PA-824 possui atividade bactericida similar em doses equipotentes à INH, durante a fase inicial da terapia⁶⁰. A atividade esterilizante de um tratamento utilizando PA-824, MFX e PZA foi avaliada em roedores e mostrou ser melhor do que um regime terapêutico contendo RIF, INH e PZA. Essa análise indica a possibilidade de incorporação desse composto a um regime livre de RIF para o tratamento de microorganismos MDR⁶¹. Outro estudo em roedores possibilitou demonstrar a alta atividade sobre as formas latentes do *M.tb* quando combinado com MFX.

O **OPC-67683** é um pró-fármaco inibidor da síntese do ácido micólico por bloquear a síntese de duas sub-classes: os ácidos metóxi e cetomicólico, diferentemente da INH, que inibe a síntese de todas as subclasses. Ainda não se conhece a ação desse composto sobre a inibição da síntese de proteínas ou outros alvos da *M.tb*. Apresenta atividade sobre cepas de *M.tb* sensíveis e resistentes a fármacos e não evidencia o desenvolvimento de resistência cruzada com os fármacos utilizados na terapia de primeira linha contra a TB. Cepas de *M.tb* resistentes ao OPC-67683 não metabolizam o pró-fármaco para sua forma ativa. Apresenta longa meia-vida não sofre metabolização pelas enzimas do CYP. Assim como no PA-824, mutações no gene Rv3547 do *M.tb*, que se acredita ser o responsável pela codificação da enzima chave para ativação do OPC-67683, fazem com que o composto não seja metabolizado para sua forma ativa⁶². A segurança e a tolerância a essa molécula foram analisadas, no qual se administrou 400 mg do fármaco em voluntários saudáveis e nenhum efeito adverso grave foi reportado¹.

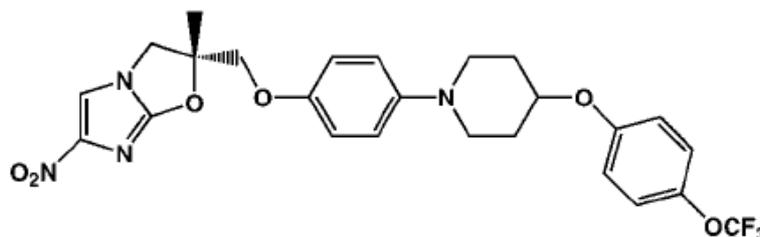


Figura 12. Estrutura química do OPC-67683.

A atividade do fármaco foi analisada em roedores imunodeprimidos e sugere que ele possa ser utilizado no regime de tratamento de pacientes co-infectados com TB/HIV. Além disso, a combinação do OPC-67683 com fármacos de primeira linha não apresentou interações antagonistas e mostrou ter efeito sinérgico com RIF e EMB *in vitro*. A ação esterilizante e o potencial dessa molécula em encurtar o tempo de tratamento foram testadas em roedores a partir da combinação com RIF e PZA por dois meses, seguida da combinação com RIF por mais dois meses. Esse regime terapêutico eliminou totalmente as bactérias presentes nos pulmões num período de quatro meses⁶². A droga também mostrou atividade esterilizante superior à INH e semelhante à RIF em modelos *in vitro*⁶³.

4.4 Diarilquinolinas: TMC-207

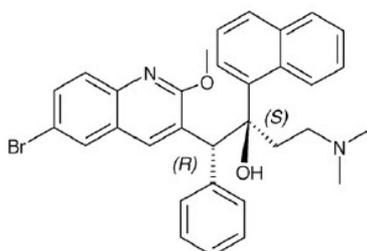


Figura 13. Estrutura química do TMC-207.

O desenvolvimento de moléculas pertencentes à classe das diarilquinolinas ocorreu a partir de um screening com vários compostos ativos contra o *M.tb*. A partir dos resultados, as moléculas mais promissoras seguiram para estudos *in vivo*. Entre essas moléculas encontra-se o TMC-207, também conhecido como R207910, o qual encontra-se em fase II de estudos clínicos (figura 13). Essa molécula possui ação inibitória sobre a enzima ATP sintase da *M.tb*. Estudos de modelagem molecular da ATP sintase do *M.tb* sugerem o provável sítio de ligação do TMC-207 e seu mecanismo de ação. Em condições normais, a cadeia lateral da Arg-168 presente na subunidade a da enzima adota uma conformação estendida que alcança o resíduo Glu-161 na subunidade c com a finalidade de realizar a transferência de elétrons. A aproximação do TCM-207 ao sítio de ligação da enzima leva à mudança de conformação da subunidade c, fazendo com que o resíduo de Arg-186 se compacte e leve à subunidade c da enzima a rotar 30° (figura 14). Desse modo, essa molécula simula a cadeia lateral da Arg-186, impedindo a transferência de elétrons⁶⁴.

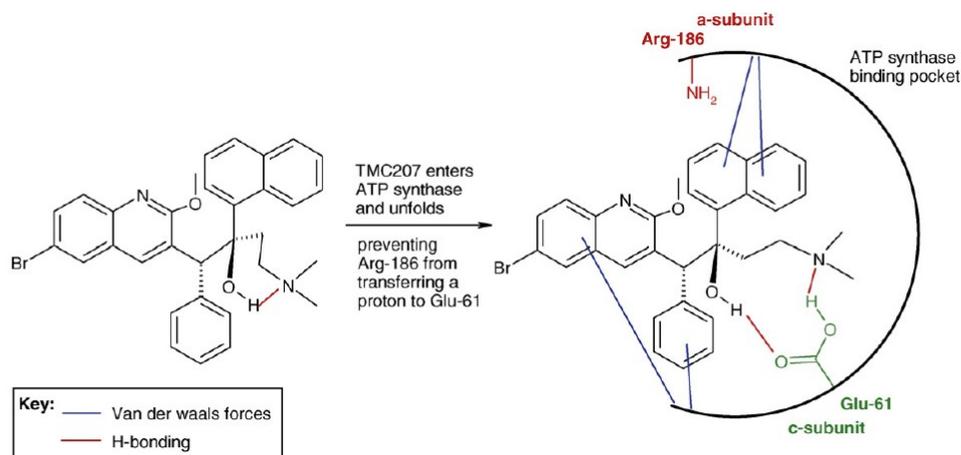


Figura 14. Diagrama indicando as interações do TMC-207 e o sítio de ligação da ATP sintase.

Tal mecanismo de ação é vantajoso, pois a semelhança das proteínas resultantes do gene responsável pela expressão da subunidade C da ATP sintase (*atpE*) na micobactéria e em humanos é pequena. Dessa forma, a molécula é específico para atingir somente as enzimas da micobactéria^{2,4,5,11,65}. Por isso, resistência cruzada com os fármacos utilizados atualmente no tratamento da TB não é esperado, pois o alvo do TMC-207 é diferente dos alvos desses fármacos. A molécula tem mostrado atividade semelhante com cepas MDR. As bactérias que se mostram resistentes à molécula, em estudos *in vitro*, sofrem mutações no gene que codifica a subunidade C da ATP sintase (*atpE*)⁶⁵.

Essa molécula apresenta uma meia-vida longa de aproximadamente 24h em humanos e é metabolizado pela citocromo P450. Portanto, ocorre interação com a RIF, indutora dessa enzima, reduzindo em 50% a concentração plasmática do TMC-207, como mostrado num estudo em roedores. Nesse sentido, o objetivo primário do desenvolvimento de regimes de tratamento com a utilização TMC- 207 é a exclusão da RIF¹. Contraditoriamente um estudo recente, também em roedores, demonstrou que a eficácia da molécula, mesmo tendo sua exposição reduzida pela metade, mostrou significativa atividade, abrindo um questionamento sobre a relevância dessa interação⁶⁶. No entanto, interações com INH e PZA não foram observadas¹. A molécula mostrou-se segura e sem efeitos adversos significativos em um estudo realizado com voluntários saudáveis, aos quais foram administradas dose única de 700 mg da droga e doses múltiplas de 400 mg⁶⁵.

A molécula mostrou-se ativa contra as fases de latência e de multiplicação do *M.tb* indicando que pode ser utilizado para diminuir o tempo de tratamento tanto para as cepas sensíveis quanto para as MDR⁶⁷. A interação dessa molécula com a rifapentina, que também possui meia vida longa, deve ser avaliada para a possível associação a fim de diminuir a frequência de doses durante o tratamento¹. Estudo clínico com a finalidade de avaliar a segurança e a eficácia da combinação do TMC-207 com os fármacos de segunda linha utilizados no regime padrão para a MDR-TB está sendo conduzido¹¹.

4.5 Oxazolidinonas: PNU – 100480

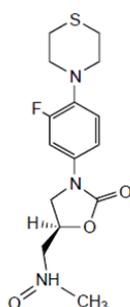


Figura 15. Estrutura química do PNU-100480.

Oxazolidinonas são uma nova classe de compostos com atividade antimicrobiana e exercem essa atividade através da inibição da síntese de proteínas, pois ligam-se a subunidade 70S do ribossomo bacteriano. Pertencem a essa classe a linezolida, o único composto com uso aprovado, que apresenta modesta atividade contra *M.tb*⁶⁸. Díaz e Royos (2002) descobriram que a associação da linezolida com fluorquinolonas é capaz de combater, *in vitro*, o *M.tb* resistente às outras classes de medicamentos de maneira eficaz e em baixas concentrações⁶⁹.

O **PNU-100480** (figura 15) é um análogo da linezolida e apresenta atividade anti-*M.tb* *in vitro*, sutilmente maior e atividade bactericida significativamente aumentada em roedores, comparada à linezolida⁷⁰.

A eficácia de um regime contendo PNU-100480, MFX e PZA foi testada e mostrou ser mais ativa que o regime utilizando a combinação de RIF, INH e PZA. Esse resultado sugere a utilização desse composto para diminuir o tempo de tratamento para combater cepas suscetíveis e resistentes ao fármacos anti-TB convencionais⁶⁸.

4.6 Etilenodiaminas: SQ-109

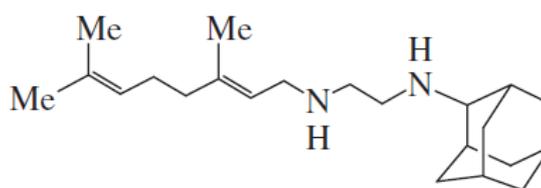


Figura 16. Estrutura química do SQ-109.

A molécula 1,2-etilenodiamina, também conhecida como **SQ-109** (figura 16), é um análogo diamina do fármaco de primeira linha etambutol e possui atividade *in vitro* contra cepas de *M.tb*, incluindo as resistentes a EMB, INH e RIF⁷¹. No entanto, o mecanismo de ação do SQ-109 parece ser diferente do seu análogo, pois cepas resistentes ao EMB são sensíveis ao SQ-109. Sabe-se que o composto inibe a síntese da parede celular da micobactéria, mas não é conhecido o mecanismo específico pelo qual esse evento ocorre, embora especula-se que ele age sobre dois alvos distintos no *M.tb*. Além disso, acredita-se que a resistência é causada por mutações em dois genes e por isso a frequência dela é baixa⁷².

A molécula é um pró-fármaco, apresenta atividade bactericida sinérgica com INH e RIF e não apresenta interações antagonistas com fármacos de primeira linha. O efeito sinérgico apresentado entre SQ-109 e a RIF parece ser explicado pela indução do citocromo P450 pela RIF, aumentando a ativação do SQ-109 para metabólitos oxidados. Em adição, o composto parece induzir seu próprio metabolismo. EMB e PZA não mostraram influência sobre a atividade do SQ-109, já a estreptomicina apresentou efeito aditivo sobre a atividade.

Atualmente esta molécula está em fase clínica I e, conforme resultados preliminares, efeitos adversos não foram relatados, e doses múltiplas administradas a voluntários saudáveis foram bem toleradas^{71,72}.

4.7 Pirróis: LL-3858

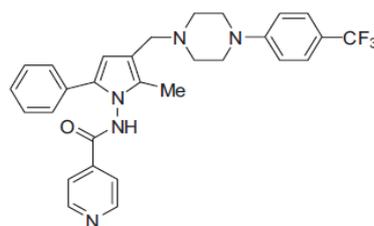


Figura 17. Estrutura química do LL-3858.

Na busca por compostos com atividade contra a micobactéria, alguns derivados do pirrol foram desenvolvidos. Entre eles encontra-se o **LL-3858**, um análogo da INH, que está em estudos clínicos de fase I (figura 17). Não se sabe qual o mecanismo de ação dessa molécula, entretanto acredita-se que não seja nenhum mecanismo utilizado pelos fármacos dos regimes terapêuticos atuais, pois esse composto apresenta atividade contra as cepas resistentes a esses fármacos.

O LL-3858, num estudo em roedores, diminuiu a carga de *M.tb* de maneira mais extensiva que a INH. Regimes de tratamento de doze semanas da droga administrada junto com INH, com ou sem PZA, esterilizou os pulmões e baço de todos ratos administrados. A tolerância desse composto está sendo investigada e dados farmacocinéticos em humanos não são conhecidos até o momento¹.

Abaixo encontra-se um esquema geral com os sítios de ação dos principais fármacos em estudos clínicos (figura 18).

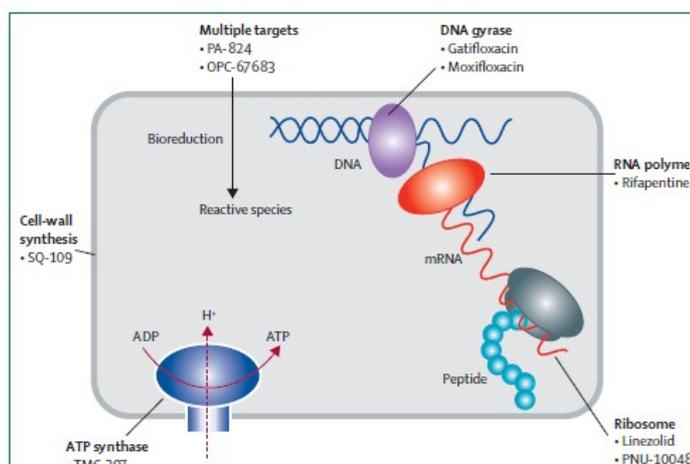


Figura 18. Os principais fármacos em desenvolvimento e seu locais de ação no *M.tb*. Adaptado de referência 4.

5. Conclusão

O surgimento da resistência aos fármacos comumente utilizados no tratamento da TB e o problema da co-infecção de pacientes com TB/HIV mostram a necessidade do desenvolvimento de novos compostos com atividade contra o *M.tb*. Ultimamente, tem aumentado o número de drogas que estão em pesquisas clínicas para o tratamento da TB. Muitas dessas drogas são descobertas buscando atingir alvos específicos como, por exemplo, inibidores de enzimas e vias metabólicas, as quais passaram a ser melhores compreendidas após o sequenciamento do DNA do microorganismo na década passada. Além disso, muitos fármacos inicialmente utilizados no tratamento de outras enfermidades são introduzidos no tratamento da TB após estudos demonstrando sua efetividade frente o *M.tb* como, por exemplo, a linezolida e as fluorquinolonas MFX e GFX. Uma estratégia para sintetizar compostos com ação sobre o *M.tb* baseia-se na otimização de moléculas já existentes mas que, por alguma razão, não são utilizadas como, por exemplo, as rifamicinas.

É necessário que empresas farmacêuticas invistam cada vez mais em pesquisas para que doenças como a tuberculose não sejam a causa da morte de milhões de pessoas anualmente e a preocupação dos governos e órgãos de saúde em pleno século XXI, quando já temos tecnologia e conhecimento suficiente para erradicar essas doenças.

6. Referências

1. Boogaard, J.V.D.; Kibiki, G.S.; Kisanga, E.R.; Boeree, M.J.; Aarnoutse, R.E. New Drugs against Tuberculosis: Problems, Progress, and Evaluation of Agents in Clinical Development. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, p.849-862, 2009.
2. Rivers, E.C.; Mancera, R.L. New anti-tuberculosis drugs in clinical trials with novel mechanism of action. **Drug Discovery Today**, v.13, p.1090-1098, 2008
3. Souza, M.V.N.; Vasconcelos, T.R.A. Fármacos no combate à tuberculose: passado, presente e futuro. **Química Nova**. v. 28, p. 678 – 682, 2005
4. Zhenkun, M.; Lienhardt, C. Toward an Optimized therapy for tuberculosis? Drugs in Clinical Trials and in Preclinical Development. **Clinics in Chest Medicine**.v.30 , p.755-768, 2009.
5. Zhenkun, M.; Lienhardt, C.; McIlleron, H.; Wang, X. Global tuberculosis drug development pipeline: the need and the reality. **The Lancet**, v.375, p. 2100-2109, 2010.
6. Murphy, D.J.; Brown J.R. Novel drug target strategies against *Mycobacterium tuberculosis*. **Current Opinion in Microbiology**, v.11, p.422-427, 2008.
7. Ghebreyesus, T.A.; Kazatchkine, M.; Sidibé, M; Nakatani, H. Tuberculosis and HIV: time for an intensified response. **The Lancet**. v.75, p.1757-1758, 2010.
8. Voskuil; M.I., Schnappinger D.; Visconti K.C.; Harrell, M.I.; Dolganov, G.M.; Sherman, D.R.; Schoolnik, G.K. Inhibition of respiration by nitric oxide induces a *Mycobacterium tuberculosis* dormancy program. **The Journal of Experimental Medicine**, v.198, p.705-713, 2003.
9. Young, D.B.; Gideon, H.P.; Wilkinson, R.J. Eliminating latent tuberculosis. **Trends in Microbiology**. v.17, p.183-188, 2009.
10. Coll, P.. Fármacos com actividad frente a *Mycobacterium tuberculosis*. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**. v.27, p.474-480, 2009.
11. Ahmad, S.; Mokaddas, E. Recent advances in the diagnosis and treatment of multidrug-resistant tuberculosis. **Respiratory Medicine**. v. 103, p.1777-1790, 2009.
12. Williams, D. L. L.; Spring, L.; Collins, L. P.; Miller, L. B.; Heifets, P. R. J. Gangadharam, T. Contribution of *rpoB* mutations to development of rifamycin cross-resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrob. Agents Chemother**, v. 42, p.1853-1857, 1998.
13. Scorpio, A.; Zhang, Y. Mutations in *pncA*, a gene encoding pyrazinamidase/nicotinamidase, cause resistance to the antituberculous drug pyrazinamide in tubercle bacillus. **Nature Medicine**, v.2, p.662-667, 1996.
14. Vilcheze, C.; Wang, F.; Arai, M. et al. Transfer of a point mutation in *Mycobacterium tuberculosis inhA* resolves the target of isoniazid. **Nature Medicine**, v.12, p.1027-1029, 2006.

15. Starks, A.M.; Gumusboga, A.; Plikaytis, B.B.; Shinnick, T.M.; Posey, J.E. Mutations at embB codon 306 are an important molecular indicator of ethambutol resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrob Agents Chemother**, v.53, p.1061-1066, 2009.
16. Mdluli, K.; Spigelman, M. Novel targets for tuberculosis drug discovery. **Current Opinion in Pharmacology**, v.6, p. 459-467, 2006.
17. Murphy DJ, Brown JR: Identification of gene targets against dormant phase *Mycobacterium tuberculosis* infections. **BMC Infect Dis**, v.7, p.84, 2007.
18. Roberts, D.; Reiling, P.; Wisedchaisri, G.; Wim, G. J. H.; Sherman D.R. Two Sensor Kinases Contribute to the Hypoxic Response of *Mycobacterium tuberculosis*. **The Journal of Biological Chemistry**, v.279, n.22, p.23082–23087, 2004.
- X. Bryk. R *et al.* Selective Killing of Nonreplicating Mycobacteria. **Cell Host & Microbe**, v.3, p. 137–145, 2008.
19. Riska, P.F.; Carleton, S. Latent Tuberculosis: Models, Mechanisms, and Novel Prospects for Eradication. **Seminars in Pediatric Infectious Diseases**, v.13, p-263-272, 2002.
20. Sharma, V.; Sharma, S.; Bentrup, K.H.; McKinney, J.D.; Russell, D.G.; Jacobs, W.R.; Sacchettini, J.C. Structure of isocitrate lyase, a persistence factor of *Mycobacterium tuberculosis*. **Nature Structural Biology**, v. 7, p. 663-668, 2000.
21. Boshoff, H.; Xu, X.; Tahlan, K.; Dowd, C.S.; Pethe, K.; Camacho, L.R.; Park, T.H.; Yun, C.S.; Schnappinger, D.; Ehrt S *et al.* Biosynthesis and recycling of nicotinamide cofactors in *Mycobacterium tuberculosis*: an essential role for NAD in non-replicating bacilli. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 283, p.19329-19341, 2008.
22. Schreiber, M.; Res, I.; Matter, A. Protein Kinases as antibacterial targets. **Current Opinion in Cell Biology**, v.21, p.325-330, 2009.
23. Fernandez, P.; Saint-Joanis, B.; Barilone, N.; Jackson, M.; Gicquel, B.; Cole, S.T.; Alzari, P.M. The Ser/Thr protein kinase PknB is essential for sustaining mycobacterial growth. **Journal of Bacteriology**, v. 188, p.7778-7784, 2006.
24. Wehenkel, A.; Fernandez, P.; Bellinzoni, M.; Catherinot, V.; Barilone, N., Labesse, G.; Jackson, M.; Alzari, P.M. The structure of PknB in complex with mitoxantrone, an ATP-competitive inhibitor, suggests a mode of protein kinase regulation in mycobacteria. **FEBS Lett**, v.580, p.3018-3022, 2006.
25. Scherr, N.; Honnappa, S.; Kunz, G.; Mueller, P.; Jayachandran, R.; Winkler, F.; Pieters, J.; Steinmetz, M.O. Structural basis for the specific inhibition of protein kinase G, a virulence factor of *Mycobacterium tuberculosis*. **The Proceedings of the National Academy of Sciences Online USA**, v. 104, p.2151-12156, 2007.
26. Szekely, R.; Waczek, F.; Szabadkai, I.; Nemeth, G.; Hegymegi-Barakonyi, B.; Eros, D.; Szokol, B.; Pato, J.; Hafenbradl, D.; Satchell J *et al.* A novel drug discovery concept for

tuberculosis: inhibition of bacterial and host cell signalling. **Immunology Letters**, v. 116, p.225-231, 2008.

27. LeMagueres, P.; Im, H.; Ebalunode, J.; Strych, U.; Benedik, M.J.; Briggs, J.M.; Kohn, H.; Krause, K.L. The 1.9 Å crystal structure of alanine racemase from *Mycobacterium tuberculosis* contains a conserved entryway into the active site. **Biochemistry**, v.44, p.1471-1481, 2005.

28. Copie, V.; Faraci, W.S.; Walsh, C.T.; Griffin, R.G. Inhibition of Alanine Racemase by Alanine Phosphonate: Detection of an Imine Linkage to Pyridoxal 5 ϕ -Phosphate in the Enzyme Inhibitor Complex by Solid-State ^{15}N Nuclear Magnetic Resonance. **Biochemistry** v.27, p. 4966-4970, 1988.

29. Boissier, F.; Bardou, F.; Guillet, V.; Uttenwiler-Joseph, S.; Daffe, M.; Quemard, A.; Mourey, L. Further insight into Sadenosylmethionine- dependent methyltransferases: structural characterization of Hma, an enzyme essential for the biosynthesis of oxygenated mycolic acids in *Mycobacterium tuberculosis*. **J Biol Chem.**, v. 281, p.4434-4445, 2006.

30. Pugh, C.S.; Borchardt, R.T. Effects of S-adenosylhomocysteine analogues on vaccinia viral messenger ribonucleic acid synthesis and methylation. **Biochemistry**, v.21, p.1535-1541, 1982.

31. Paiva, A.M.; Vanderwall, D.E.; Blanchard, J.S.; Kozarich, J.W.; Williamson, J.M.; Kelly, T.M. Inhibitors of dihydrodipicolinate reductase, a key enzyme of the diaminopimelate pathway of *Mycobacterium tuberculosis*. **Biochim Biophys Acta**, v.1545, p.67-77, 2001.

32. Zhang, Y.; Post-Martens, K.; Denkin, S. New drug candidates and therapeutic targets for tuberculosis therapy. **Drug Discovery Today**, v. 11.p. 21-27, 2006.

33. Stop T.B. Partnership working group on new drugs. Working group TB drug R&D portfolio. Webpublication.Disponível em : http://www.stoptb.org/wg/new_drugs/projects.asp.

34. Munsiff, S.S.C.; Kambili, S.D. Ahuja. Rifapentine for the treatment of pulmonary tuberculosis. **Clin. Infect. Dis.** v.43, p.1468–1475, 2006.

35. Dooley, K.C.; Flexner, J.; Hackman, Peloquin CA, Nuermberger, E.; Chaisson, R.E.; Dorman, S.E. Repeated administration of high-dose intermittent rifapentine reduces rifapentine and moxifloxacin plasma concentrations. **Antimicrob. Agents Chemother**, v.52, p.4037–4042, 2008.

36. Rosenthal, I.M.; Williams, K.; Tyagi, S. et al. Potent twice weekly rifapentine-containing regimens in murine tuberculosis. **Am J Respir Crit Care Med**, v.178, n.9,p.989–993, 2008.

37. Nuermberger, E.; Tyagi, S.; Williams, K.N.; Rosenthal, I.; Bishai, W.R.; Grosset, J. H. Rifapentine, moxifloxacin, or DNA vaccine improves treatment of latent tuberculosis in a mouse model. **Am. J. Respir. Crit. Care Med**, v. 172, p.1452–1456, 2005.

38. Davies, G.; Cerri, S.; Richeldi, L. Rifabutin for treating pulmonary tuberculosis. **Cochrane Database Syst Rev.**, v.52. p.1025–1028, 2007.

39. Ginsburg, A.S.; Grosset, J.H.; Bishai, W.R. Fluoroquinolones, tuberculosis, and resistance. **Lancet Infect. Dis.** v. 3, p.432–442, 2003.
40. Sulochana, S.; Rahman, F.; Paramasivan; C.N. In vitro activity of fluoroquinolones against *Mycobacterium tuberculosis*. **J Chemother**, v.17, p.169–173, 2005.
41. Alvarez-Freites, E.J.; Carter, J.L.; Cynamon, M.H. In vitro and in vivo activities of gatifloxacin against *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial Agents Chemother**, v.46, p.1022–1025, 2002.
42. Lounis, N.; Bentoucha, A.; Truffot-Pernot, C.; Ji, B.; O'Brien, R.J.; Vernon, A.; Roscigno G.; Grosset, J. Effectiveness of once-weekly rifapentine and moxifloxacin regimens against *Mycobacterium tuberculosis* in mice. **Antimicrob. Agents Chemother.** v.45, p.3482–3486, 2001.
43. Nuermberger, E. L.; Yoshimatsu, T.; Tyagi, S.; O'Brien, R.J.; Vernon, A.N.; Chaisson R.E.; Bishai, W.R.; Grosset, J. H. Moxifloxacin containing regimen greatly reduces time to culture conversion in murine tuberculosis. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.** v.169, p.421–426, 2004.
44. Rosenthal, I. M.; Williams, K.; Tyagi, S.; Peloquin, C.A.; Vernon, A.A.; Bishai, W. R.; Grosset, J.H.; Nuermberger, E.L. Potent twice-weekly rifapentine-containing regimens in murine tuberculosis. **Am. J. Respir. Crit. Care Med**, v.174, p.94–101, 2006.
45. Rosenthal, I. M.; Williams, K.; Tyagi, S.; Peloquin, C.A.; Vernon, A.A.; Bishai, W. R.; Grosset, J.H.; Nuermberger, E.L. 2. Weekly moxifloxacin and rifapentine is more active than the Denver regimen in murine tuberculosis. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.** v.172, p.1457–1460, 2005.
46. Veziris, N.; Lounis, N.; Chauffour, A; Truffot-Pernot, C.; Jarlier, V. Efficient intermittent rifapentine-moxifloxacin containing short-course regimen for treatment of tuberculosis in mice. **Antimicrob. Agents Chemother**, v.49, p.4015–4019, 2005.
47. Alangaden, G.J.; Lerner, S.A. The clinical use of fluoroquinolones for the treatment of mycobacterial diseases. **Clin. Infect. Dis.**, v. 25, p. 1213–1221, 1997.
48. Ginsburg, A. S.; Grosset, J. H.; Bishai, W.R.. Fluoroquinolones, tuberculosis, and resistance. **Lancet Infect. Dis.** v.3, p.432–442, 2003.
49. Kam, K.M.; Yip, C.W.; Cheung, T.L.; Tang, H.S.; Leung, O.C.; Chan, M.Y. Stepwise decrease in moxifloxacin susceptibility amongst clinical isolates of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*: correlation with ofloxacin susceptibility. **Microb. Drug Resist.** v.12, p.7–11, 2006.
50. Cynamon, M.; Sklaney, M. R.; Shoen, C. Gatifloxacin in combination with rifampicin in a murine tuberculosis model. **J. Antimicrob. Chemother**, v.60, p.429–432, 2007.
51. Kubendiran, G.; Paramasivan C. N.; Sulochana S.; Mitchison, D.A. Moxifloxacin and gatifloxacin in an acid model of persistent *Mycobacterium tuberculosis*. **J. Chemother**, v.18, p.617–623, 2006.

52. Lu, T.; Drlica, K. In vitro activity of C-8-methoxy fluoroquinolones against mycobacteria when combined with anti-tuberculosis agents. **J. Antimicrob. Chemother**, v.52, p.1025-1028, 2003.
53. Alvarez-Freites, E.J.; Carter, J.L.; Cynamon, M.H. In vitro and in vivo activities of gatifloxacin against *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial Agents Chemother**, v.46, p.1022–1025, 2002.
54. Rustomjee, R.; Lienhardt, C.; Kanyok, T. et al. A phase II study of the sterilising activities of ofloxacin, gatifloxacin and moxifloxacin in pulmonary tuberculosis. **Int J Tuberc Lung Dis**, v. 12, p. 128–138, 2008.
55. Dorman, S.E.; Johnson, J.L.; Goldberg, S. et al. Tuberculosis Trials Consortium. Substitution of moxifloxacin for isoniazid during intensive phase treatment of pulmonary tuberculosis. **Am J Respir Crit Care Med**, v.180, p.273–280, 2009.
56. Stover, C.K.; Warren, P.; Van Deventer, D.R et al. A small-molecule nitroimidazopyran drug candidate for the treatment of tuberculosis. **Nature**, v.405,p.962–966, 2000.
57. Nuermberger, E. et al. Combination chemotherapy with the nitroimidazopyran PA-824 and first-line drugs in a murine model of tuberculosis. **Antimicrob. Agents Chemother**, v. 50, p.2621–2625, 2006.
58. Choi, K.P.; Bair, T.B; Bae, Y.M.; Daniels, L. Use of transposon Tn5367 mutagenesis and a nitroimidazopyran-based selection system to demonstrate a requirement for *fbiA* and *fbiB* in coenzyme F420 biosynthesis by *Mycobacterium bovis* BCG. **J. Bacteriol**, v.183, p.7058–7066, 2001.
59. Choi, K.P.; Kendrick, N.; Daniels, L. Demonstration that *fbiC* is required by *Mycobacterium bovis* BCG for coenzyme F420 and FO biosynthesis. **J. Bacteriol**, v.184, p.2420–2428, 2002.
60. Tyagi, S.; Nuermberger, E.; Yoshimatsu, T. et al. Bactericidal activity of the nitroimidazopyran PA-824 in a murine model of tuberculosis. **Antimicrobial Agents Chemother**. v.49.n.6, p.2289–2293, 2005.
61. Nuermberger, E.; Tyagi, S.; Tasneen, R.; Williams, K. N., Almeida, D.; Rosenthal, I.; Grosset, J.H. Powerful bactericidal and sterilizing activity of a regimen containing PA-824, moxifloxacin, and pyrazinamide in a murine model of tuberculosis. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v.52, p.1522– 1524, 2008.
62. Matsumoto, M.; Hashizume, H.; Tomishige, T.; Kawasaki, M.; Tsubouchi, H.; Sasaki H.; Shimokawa, Y.; Komatsu, M. OPC-67683, a nitrohydro-imidazooxazole derivative with promising action against tuberculosis in vitro and in mice. **PLoS Med**. v.3, p.2131–2144, 2006.
63. Saliu, O. Y.; Crismale, C.; Schwander, S. K.; Wallis, R.S. Bactericidal activity of OPC-67683 against drug-tolerant *Mycobacterium tuberculosis*. **J. Antimicrob. Chemother**. v.60, p.994–998, 2007.

64. Matsumoto, M. et al. OPC-67683, a nitro-dihydro-imidazooxazole derivative with promising action against tuberculosis in vitro and in mice. **PLoS Méd**, v.3, n.11, p.2131-2143, 2006.
65. Andries, K. et al. A diarylquinoline drug active on the ATP synthase of Mycobacterium tuberculosis. **Science**, v.307, p.223–227, 2005.
66. Lounis, N.; Gevers, T.; Van Den Berg, J.; Andries, K. Impact of the interaction of R207910 with rifampin on the treatment of tuberculosis studied in the mouse model. **Antimicrob. Agents Chemother.** v.52, p.3568– 3572, 2008.
67. Lounis, N.; Veziris, N.; Chauffour, A.; Truffot-Pernot, C.; Andries, K.; Jarlier, V. Combinations of R207910 with drugs used to treat multidrug-resistant tuberculosis have the potential to shorten treatment duration. **Antimicrob Agents Chemother**, v.50, p.3543-3547, 2006.
68. Williams, K.N.; Stover, C.K.; Zhu, T. et al. Promising antituberculosis activity of the oxazolidinone PNU-100480 relative to that of linezolid in a murine model. **Antimicrobial Agents Chemother**, v.53, n.4, p.1314-1319, 2009.
69. Diaz, J.C.R.; Ruiz, M.; Royo, L. G.; **Int. J. Antimicrob. Agents**, v.21, p. 354, 2003.
70. Cynamon, M.H., Klemens, S.P.; Sharpe, C.A et al. Activities of several novel oxazolidinones against Mycobacterium tuberculosis in a murine model. **Antimicrobial Agents Chemother**, v.43, n.5, p. 1189–1191, 1999.
71. Protopopova, M. et al. Identification of a new antitubercular drug candidate, SQ109, from a combinatorial library of 1,2-ethylenediamines. **J. Antimicrob. Chemother**, v.56, p.968–974, 2005.
72. Chen, P.; Gearhart J.; Protopopova, M.; Einck, L.; Nacy, C.A. Synergistic interactions of SQ109, a new ethylene diamine, with front-line antitubercular drugs in vitro. **J. Antimicrob. Chemother**, v.58, p.332–337, 2006.