

# AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICOBACTERIANA DE PROTÓTIPOS DE ORIGEM ANIMAL, SEMISSINTÉTICA E SINTÉTICA PROMISSORES PARA O TRATAMENTO DA TUBERCULOSE

Yuri José de Albuquerque Silva<sup>1</sup>  
Lílian Maria Lapa Montenegro<sup>2</sup>  
Salvana Priscylla Manso Costa<sup>3</sup>

**Biomedicina**

## RESUMO

A tuberculose (TB) constitui um grave problema de saúde pública mundial, sendo considerada uma emergência global pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Segundo a OMS, estimou em 2014, 9,6 milhões de pessoas desenvolveram a TB com 1,5 milhões de mortes e 20,5% de casos de TB previamente tratados com Tuberculose Multidroga Resistente. O período de tratamento prolongado, atualmente, utilizado para a doença, somado a outros fatores tem resultado em cepas drogas resistentes. Uma busca constante por novas drogas que atuem potencialmente contra cepas multi/extensivamente droga resistente de *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) é necessária para os programas de controle dessa grande endemia. O objetivo do estudo é avaliar o potencial antimicobacteriano desses novos derivados sintético, semissintético e animal, frente à cepa de referência H<sub>37</sub>Rv (ATCC 27294). Os testes de atividade antimicrobiana dos derivados foram realizados através de determinação da Concentração Mínima Inibitória. Os ensaios revelaram que o grupo de compostos animal obtiveram uma moderada atividade antimicobacteriana; os compostos semissintéticos demonstraram uma boa atividade variando entre >256 a 32µg/mL; e os compostos sintéticos, sendo os mais promissores, foram os que apresentaram melhor atividade, com concentração variando entre 256 a ≤8µg/mL, ambos frente ao *Mtb*. Os candidatos a novos compostos conseguiram obter resultados positivos,

---

<sup>1</sup> Discente do Bacharelado em Biomedicina pela Faculdade Integrada de Pernambuco – FACIPE. E-mail: [yuri.albuquerque@outlook.com](mailto:yuri.albuquerque@outlook.com)

<sup>2</sup> Pesquisadora responsável do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – CPqAM/Fundação Oswaldo Cruz – Fiocruz. E-mail: [lilian@cpqam.fiocruz.br](mailto:lilian@cpqam.fiocruz.br)

<sup>3</sup> Professora Doutora da Faculdade Integrada de Pernambuco – FACIPE. E-mail: [salvanacosta@ymail.com](mailto:salvanacosta@ymail.com)

mostrando viabilidade de continuação dos testes de sinergismo entre drogas e citotoxicidade.

**Palavras-chave:** Micobactéria. Tuberculose. Antituberculose. Multidroga.

## **ABSTRACT**

Tuberculosis (TB) is a serious global public health problem, and is considered a global emergency by the World Health Organization (WHO). According to the World Health Organization estimated in 2014, 9.6 million people developed the TB with 1.5 million deaths and 20.5% of TB cases previously treated with Multidrug Resistant. The period of prolonged treatment currently used for the disease, added to other factors has resulted in drug resistant strains. A constant search for new drugs that act against potentially multi/extensively drug resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) is required for the programs that control large endemic disease. The objective of this study is to evaluate the potential of these new synthetic derivatives antimicobacteriano, semi-synthetic and animal against reference strain H37Rv (ATCC 27294). The tests of antimicrobial activity of the derivatives were carried out through determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC). The tests revealed that the animal compounds Group obtained a moderate antimicobacteriana activity; semisynthetic compounds have shown a good activity ranging from >256 to 32µg/mL; and synthetic compounds being the most promising, were the ones who presented best activity, with concentrations ranging from 256 to ≤8µg/mL, both front *Mtb*. Applicants for new compounds were able to achieve positive results, showing feasibility of continuation of the synergism between drug testing and cytotoxicity.

**Keywords:** Mycobacteria. Tuberculosis. Antituberculosis. Multidroga.

## **1 INTRODUÇÃO**

A Tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa de etiologia bacteriana, causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), conhecido como, o bacilo de Köch (BK), onde o sítio principal de desenvolvimento é o pulmão, porém pode afetar outras partes do corpo de um ser vivo destinada a cumprir uma função

vital. A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera a TB um problema extremamente sério de saúde pública no mundo, sendo a maior causa de morte por doença infecciosa em adultos. Em 2014, foi estimado que 9,6 milhões de pessoas desenvolveram tuberculose no mundo. Desses, um milhão e quinhentos mil (1,5 milhão) pacientes foram a óbito, e estimados 480.000 novos casos de multidroga resistentes (MDR-TB), com aproximadamente 190.000 mortes por resistência no mesmo ano (OMS, 2015).

A resistência aos medicamentos, está ligado, na maioria das vezes, ao ato de tomar a droga para o tratamento. A monorresistência é caracterizada a resistência a um fármaco antituberculose, polirresistência – resistência a dois ou mais fármacos antituberculose, exceto à associação de rifampicina (R) e isoniazida (H), multirresistência (MDR) é a resistência a pelo menos R e H juntas, resistência extensiva (XDR) – resistência a R e H, juntos, e a uma fluoroquinolona e um medicamento injetável de segunda linha (BRASIL, 2015) e extremely drug resistant (XXDR), ainda sem definição no Brasil, mas, de tradução literal, extremamente resistente as drogas (FARNIA, 2010).

No Brasil, a TB é uma das principais causas de morbimortalidade, ocupando o 16º lugar entre os 22 países responsáveis por 80% do total de casos no mundo. O país notificou 68.467 novos casos de TB em 2014, sendo que mais de 80% apresentaram a forma clínica pulmonar e, destes, 65,2% eram bacilíferos. O estado de Pernambuco registrou em 2013, 4.255 casos (taxa de incidência = 45,9), sendo o 4º estado do Brasil com maior taxa de incidência (BRASIL, 2014; OMS, 2013; SVS, 2013).

A TB pode apresentar dois estágios, a forma ativa da doença, onde a pessoa está contaminada e transmitindo a doença. Nesta forma o paciente libera no ar até três mil (3.000) partículas infectantes, quando fala, tosse ou espirra (MENDOZA-TICONA, 2012). O outro estágio, a infecção latente, caracteriza-se por ausência de sinais clínicos. A relação da TB latente está cada vez mais frequente, devido ao grande número de infecção por HIV, no qual o paciente torna-se imunodeprimido e a doença se manifesta (SIQUEIRA, 2012).

A imunização com a vacina BCG é o primeiro contato contra a TB nas formas miliar e meníngea. O tratamento para novos casos, ou caso de recidiva da

tuberculose sensível, deve seguir o esquema básico preconizado para adultos e adolescentes maiores de 10 anos de idade (BRASIL, 2006).

O esquema primário preconizado consiste na ingestão de 150mg de Rifampicina (R), 75mg de Isoniazida (H), 400mg de Pirazinamida (Z) e 275mg de Etambutol (E), sendo administrada em dois (02) comprimidos para pacientes com 20 a 35 Kg; três (03) comprimidos 36 a 50 Kg; e quatro (04) comprimidos para pacientes com mais de 50 Kg, isso durante os dois primeiros meses. Os últimos quatro meses – fase de manutenção, consiste na administração de uma (01) cápsula de Rifampicina de 300mg com 200mg de Isoniazida para pacientes com peso entre 20 a 35 Kg; para a faixa de 36 a 50 Kg a ingestão de duas (02) cápsulas, uma contendo 300mg de Rifampicina e 200mg de Isoniazida e outra contendo 150mg de Rifampicina e 100mg de Isoniazida; e para pacientes acima de 50Kg são ingeridas duas (02) cápsulas de Rifampicina 300mg e 200mg de Isoniazida (BRASIL, 2011).

O diagnóstico precoce e o tratamento adequado são essenciais para a eficácia dos programas públicos de controle da TB, os quais buscam curar os doentes e evitar a transmissão da doença. O tratamento inadequado ou a não aderência pelo paciente, quer seja por abandono ou efeitos adversos da medicação são importantes fatores de risco para o desenvolvimento da resistência na tuberculose. O tempo durante o qual a cadeia de transmissibilidade é mantida tem sido apontado como um dos principais fatores de perpetuação da doença (HUF; KRITSKI; 2012).

Os principais fatores atribuídos ao desafio global da tuberculose incluem a incidência de cepas de *M. tuberculosis* (Mtb) resistentes para as mais eficazes drogas anti-TB de primeira e segunda linhas. A imunossupressão, devido a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), tem contribuído com o aumento da incidência da TB no mundo. O crescimento populacional de co-infectados TB-HIV (cerca de um milhão e cem mil dos que desenvolveram TB em 2013, eram HIV-positivos (13%)), e indivíduos imunocomprometidos/imunossuprimidos, tal como a diabetes. A co-infecção TB-HIV está comumente ligada ao desenvolvimento da multirresistência (BARBOSA & LEVINO, 2013; AHMAD & MOKADDAS, 2014).

A TB-MDR é uma forma da doença que não responde as duas drogas do tratamento (Rifampicina e Isoniazida), em simultâneo, os dois mais poderosos fármacos de primeira linha das drogas antituberculose. O tratamento dos doentes acometidos com tuberculose resistente (Multidroga Resistente - MDR e Extremamente Resistente - XDR) é prolongado e dispendioso. E a expectativa de cura é menor que nos esquemas convencionais (SANTHOSHA, 2007).

Casos de TB-MDR e de TB-XDR podem resultar tanto de infecções primárias com cepas drogas resistentes ou de tratamento inadequado, produzindo taxas de mortalidade muito elevadas. Além disso, a ocorrência de interações droga-droga, exclui a co-administração de algumas drogas antituberculose com outras medicações usadas em doenças crônicas, tal como a AIDS (SHEHZAD et al., 2013). Portanto, é necessário e importante a busca de novas e eficientes drogas antituberculose, para ser administradas como estratégia de controle nessa grande epidemia (WHO, 2014).

Novas drogas candidatas devem encurtar o tratamento padrão da tuberculose e serem suficientemente eficazes contra o TB-MDR. Embora vários compostos estejam atualmente em fases avançadas de ensaio clínico, durante os últimos 40 anos, nenhum composto foi introduzido no mercado para tratamento da tuberculose. Contudo, nos últimos anos, pesquisas científicas no desenvolvimento de novas drogas anti-TB têm sido enfaticamente produzidas. Atualmente, alguns compostos estão em fase de desenvolvimento clínico, enquanto outros estão em fase de investigação pré-clínica, na tentativa da descoberta de novas moléculas para serem usadas no tratamento da doença (SHEHZAD et al., 2013).

No estudo de novas drogas antituberculose, o principal objetivo é obter moléculas que apresentem melhores propriedades físico-químicas e conseqüentemente aumentem a eficácia e segurança do protótipo e sejam capazes de diminuir o tempo de tratamento, causar menos toxicidade aos pacientes e limitar o surgimento de resistência (COLE, 2002).

Diante disso, foram analisados os compostos protótipos derivados de animal (veneno de cobra – *Crotalus durissus cascavella* e *Bothrops erythromelas*),

semissintéticos (derivados cumarínicos) e sintéticos (derivados tiofênicos), cujo estudos prévios mostraram uma boa atividade antimicrobiana (Toyama et al. 2005; Missio e col. 2009; Kery et al. 2015). Além de implantar uma nova técnica de ensaio antimicobacteriano, mais rápido e confiável, conforme Palomino e col. (2002) e Gama et al. (2010). Este trabalho busca encontrar um composto protótipo como alternativa terapêutica no combate da Tuberculose.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 Local e período do estudo

O estudo foi realizado no Laboratório de Imunoepidemiologia, no Departamento de Imunologia do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM) – Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), no período de julho de 2015 a abril de 2016.

### 2.2 Compostos teste

Foram utilizadas cinquenta e seis (56) substâncias no ensaio de atividade antimicobacteriana *in vitro*, sendo dividido em três grupos de compostos: animal (7 compostos), semissintético (21 compostos) e sintético (28 compostos).

O composto animal foi obtido dos venenos de serpentes *Crotalus durissus cascavella* (cascável-de-quatro-ventas) e *Bothrops erythromelas* (jararaca-da-seca), em parceria com a Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) e Universidade Federal de Pernambuco – Centro Acadêmico de Vitória (UFPE-CAV).

Os derivados cumarínicos, semissintéticos, são compostos fenólicos formados, estruturalmente, por um anel de benzeno fusionado a um anel  $\alpha$ -pirona (BORGES et al. 2005), foram obtidos através de procedimentos padrões de O-alquilados, O-acetilação e Nitração (ARAÚJO et al. 2013) conseguidos em parceria com a Universidade Estadual da Paraíba (EUPB).

E a classe de substâncias sintéticas – tiofênicos, no qual trata-se de uma molécula solúvel em água, aroma imitante ao benzeno e incolor, de forma pentagonal, no qual, seu heterociclo, contém uma molécula de enxofre e dupla

ligação nas posições 2 e 4 formando o anel aromático (OLIVEIRA, 2010). Esses compostos foram recebidos em parceria com a Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

### 2.3 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) em meio líquido

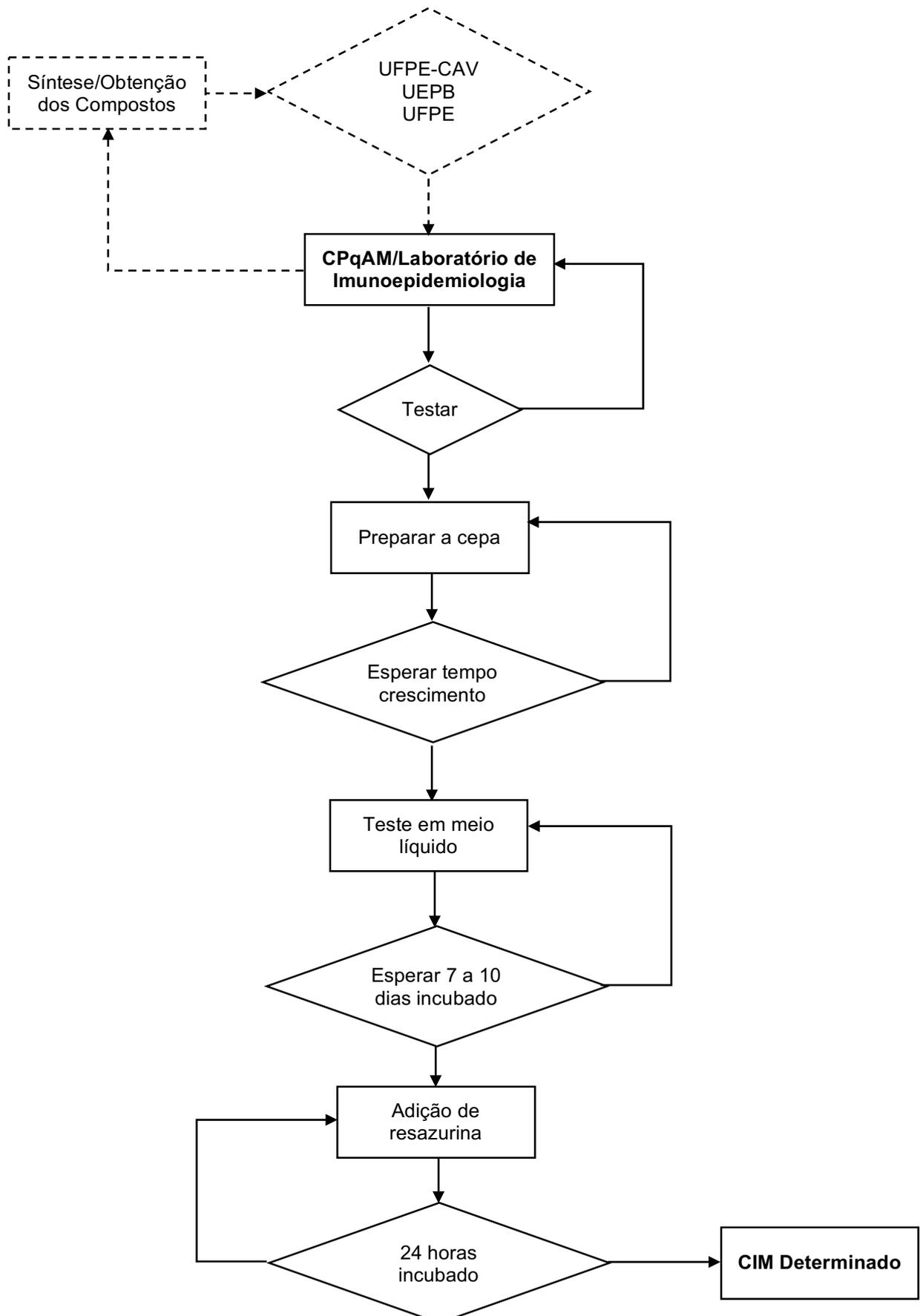
O ensaio de atividade antimicobacteriana de concentração inibitória mínima foi realizado com algumas alterações, conforme descrito por Gama et al. (2010) e Palomino e col. (2002).

A atividade antimicobacteriana contra o bacilo foi determinada através da menor concentração do agente capaz de inibir o crescimento bacteriano. Este teste foi realizado através da técnica de ensaio em microplaca, na qual foi utilizada a resazurina, oxirredutor, como indicador de crescimento bacteriano. Realizou-se o preparo da solução mãe dos compostos, no qual foi dissolvido em Dimetilsufóxido (DMSO), ficando com a concentração de 1024µg/mL, que, posteriormente, foram diluídas para uma concentração menor, a solução de trabalho. O meio de cultivo líquido Middlebrook 7H9 Broth Base (Sigma-Aldrich®) foi preparado conforme protocolo contido no rótulo do produto e enriquecida com caldo Middlebrook OADC (BD BBL™). A cepa de referência H<sub>37</sub>Rv (ATCC 27294) foi posta em meio líquido por 7 dias a 37° C, onde favorece o crescimento bacteriano, tornando mais rápido, no qual foi removido uma alíquota para preparo do inóculo, contendo a concentração de 3 x 10<sup>8</sup> bactérias/mL, equivalente a escala nº 1 de McFarland.

O ensaio em microplaca de 96 poços em “U” continha água ultrapura na primeira e última linhas e primeira e última colunas, para conservar o ambiente estéril do experimento assim que for posta em incubação e não ocorra evaporação do conteúdo. Os poços de teste foram preenchidos com 100µL de meio líquido. A partir da solução de trabalho, foi removido uma alíquota de 100µL e diluída em série na microplaca, desprezando 100µL do último poço para que ao término os poços permaneçam com o mesmo volume inicial. As concentrações dos compostos testes variaram de 256 a 8µg/mL, conforme patente publicada por Missio (2009), com 1% de DMSO no primeiro poço. O Ethambutol (EMB) foi utilizado como droga de referência. Com a padronização bacteriana, foi adicionado 100µL do inóculo nos poços testes. Porém, não

ultrapassando o volume final do meio líquido mais composto teste e inóculo bacteriano, totalizando 200µL. Mantendo na estufa por 7 a 10 dias, a 37° C, verificando-se a turbidez. Após esse período, foi adicionado 30µL de resazurina a 0,01% como indicador de crescimento. A resazurina é um corante azul, o próprio fracamente fluorescente até que seja irreversivelmente reduzido para o colorido e altamente vermelho fluorescente rosa resorufina. Posteriormente a adição da resazurina as microplacas foram postas em estufa novamente, onde permaneceram por 24 horas a 37° C. A leitura é visual, verificando onde houve a mudança de coloração para rosa resorufina, o que indica que houve uma redução da oxidação.

**FIGURA 1 – Fluxograma da metodologia resumida adotada no desenvolvimento do projeto.**



### 3. RESULTADO E DISCUSSÃO

#### 3.1 Implantação de técnica de sensibilidade em meio líquido

A técnica realizada, anteriormente, pelo laboratório para sensibilidade às drogas pelo *M. Tuberculosis*, eram ensaios em meio sólidos do tipo Löwenstein-Jensen (LJ) contendo a droga. E os resultados eram obtidos entre 28 a 42 dias. Além disso, essa análise é padronizada para drogas anti-TB de primeira linha, no qual suportam a alta temperatura necessária para coagular o meio LJ. Sendo assim, há necessidade de uma nova técnica que proporcione uma maior confiabilidade e repetibilidade do experimento e que não interfira na atividade da molécula a ser testada, como também, possa obter um resultado mais rápido (BRASIL, 2008).

O meio de cultura líquido, Middlebrook 7H9, é o mais indicado, pois, é bastante enriquecido que os do tipo sólido. Podendo obter os resultados em até 10 dias não interferindo nas conformações químicas das moléculas candidatas a novos fármacos (INDIA, 2009).

#### 3.2 Atividade dos compostos

Os compostos derivados do veneno de serpentes mostraram uma atividade antimicobacteriana. Porém, os valores obtidos foram muito altos para inibir o crescimento bacteriano.

No entanto, nenhum trabalho com *Bothrops erythromelas* (jararaca-da-seca) relacionado a atividade antibacteriana tinha sido registrado até o momento da conclusão deste trabalho. Contudo, um outro trabalho publicado por Toyama et al. (2005) mostrou que uma proteína purificada da *Crotalus durissus cascavella* (cascavel-de-quatro-ventas) obteve uma concentração inibitória mínima de 2,39µg/mL contra a *Leishmania amazonensis* e também conseguiu inibir o crescimento de bactérias gram-positivas e gram-negativas (*Staphylococcus mutans* e *Xanthomonas axonopodis. pv. passiflorae*).

Os derivados cumarínicos semissintéticos mostraram-se promissores. Esse composto possui um amplo potencial biológico, onde suas ações farmacológicas mostraram-se eficazes no combate da TB.

Estudos apontam que essas lactonas, as cumarinas, têm uma boa ação antibacteriana, conforme Thati (2007). Assim como modificações estruturais na molécula, aumenta ainda mais sua eficiência na ação bactericida, principalmente contra o complexo *Mycobacterium tuberculosis* (KERI, 2015). E em outros estudos apontam ações antifúngica (ARAÚJO et al., 2013), antibacteriana (HAMDI et al., 2012), anti-inflamatória (ONUMA et al., 2011) entre outras.

A classe de compostos que apresentou melhores resultados foi o grupo Tiofênicos. Os derivados mostram-se eficaz ao inibir o crescimento da bactéria *in vitro* frente a cepa padrão da coleção de cultura tipo américa (ATCC). Estes resultados apresentados corroboram com a patente publicada por Missio e colaboradores (2009), em que uma série de derivados tiofênicos foram testados e apresentaram resultados satisfatórios frente a uma proteína Quinase Serina/Treonina, onde essa fosforilação reversível de proteínas em resíduos de serina e treonina, catalisada por quinases e fosfatases desempenha papel chave na regulação do crescimento e na diferenciação celular da *Micobactéria tuberculosis*.

A tabela 1 representa os resultados da concentração inibitória mínima dos compostos de origem animal, semissintético e sintético frente ao *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv. E o quadro 1 representa a estrutura molecular dos compostos mais ativos frente ao *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os compostos de origem semissintética foram um dos mais promissores, mostrando uma boa atividade antimicobacteriana. Já os compostos sintéticos foram os que obtiveram os melhores resultados.

Em ambos compostos, a perspectiva é a continuação do estudo através dos testes de grau de hemólise, sinergismo entre drogas, citotoxicidade, determinação do mecanismo de ação e ensaios frente a cepas multidroga resistente, devem ser realizados de forma a garantir a eficácia e segurança desses novos protótipos de fármacos antituberculose.

Em vista dos resultados apresentados, entendemos que o composto de origem animal, apesar de ter sido realizado o teste apenas com cinco compostos, os mesmos tiveram ação bactericida. Porém, o processo de obtenção do composto, deixou claro que biotecnologicamente torna-se inviável, mostrando-se inviável para continuação dos testes.

**TABELA 1 – Concentração Inibitória Mínima dos compostos animal, semissintéticos e sintéticos frente ao *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv.**

<b>COMPOSTO</b>	<b>CIM (µg/mL)</b>
<b>Veneno de Serpente</b>	
<i>Croatalus durissus cascavella</i> - Pool1	>512
<i>Bothrops erythromelas</i> - Pool 1	128
<i>Bothrops erythromelas</i> - Pool 2	128
<i>Bothrops erythromelas</i> - Pool 3	128
<i>Bothrops erythromelas</i> - Pool 4	128
<b>Cumarinas</b>	
CUM-01	>256
CUM-02	>256
CUM-03	128
CUM-04	256
CUM-05	128
*CUM-06	64
CUM-07	128
CUM-08	256
CUM-09	128
CUM-10	128
UMB-01	128
UMB-02	256
*UMB-04	32
UMB-06	128
UMB-07	256
UMB-08	256
UMB-10	256
UMB-12	256

**Tabela 1 – Concentração Inibitória Mínima dos compostos sintéticos, semissintéticos e animal frente ao *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv.**

(Continuação)

<b>COMPOSTO</b>	<b>CIM (µg/mL)</b>
*UNO <sub>2</sub> -01	64
UNO <sub>2</sub> -02	128
UNO <sub>2</sub> -03	>256
6CN-10	>256
<b>Tiofênicos</b>	
TN5-01	>256
TN5-02	>256
TN5-03	>256
TN5-04	>256
TN5-05	>256
TN5-06	>256
TN5-07	>256
TN6-01	>256
TN6-02	>256
TN6-03	>256
TN6-04	>256
TN6-05	>256
TN6-06	>256
TN6-07	>256
*TN7-01	16
TN7-02	>256
TN7-03	>256
TN7-04	>256
TN7-05	>256

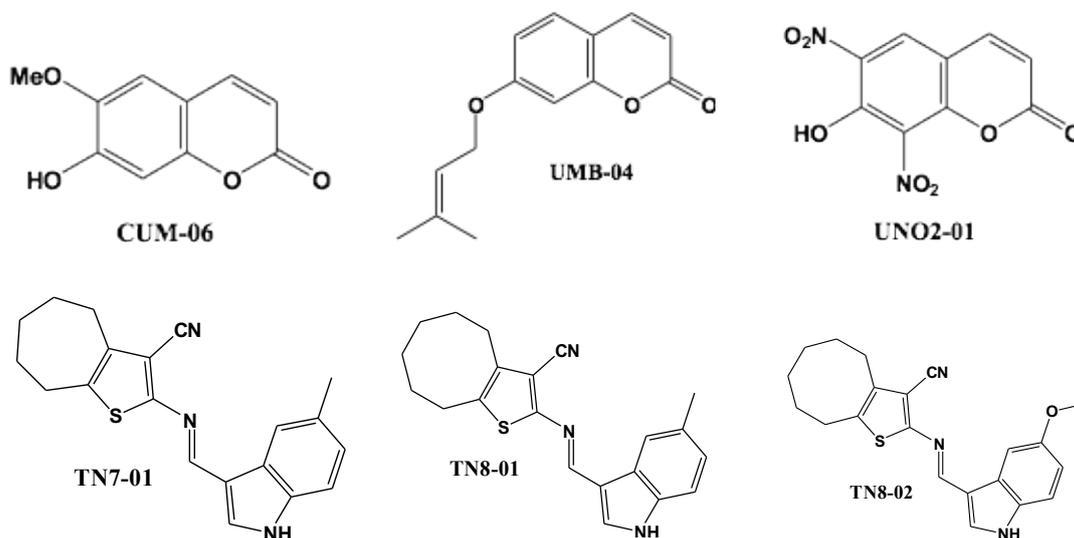
**Tabela 1 – Concentração Inibitória Mínima dos compostos sintéticos, semissintéticos e animal frente ao *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv.**

(Continuação)

<b>COMPOSTO</b>	<b>CIM (µg/mL)</b>
TN7-06	>256
TN7-07	>256
*TN8-01	≤8
*TN8-02	16
TN8-03	>256
TN8-04	>256
TN8-05	>256
TN8-06	>256
TN8-07	>256
<b>Droga de referência</b>	
Ethambutol (EMB)	1

\* Compostos que apresentaram os melhores resultados.

**FIGURA 2 – Estrutura molecular dos compostos mais ativos frente ao *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv.**



## REFERÊNCIAS

AHMAD S.; MOKADDAS E. Current status and future trends in the diagnosis and treatment of drug- susceptible and multidrug-resistant tuberculosis. **Journal of Infection and Public Health**, vol. 7, p.75-91, 2014.

ARAÚJO, R. S. A.; GUERRA, F. Q. S.; LIMA, E. O.; et al. Synthesis, structure-activity relationships (SAR) and in silico studies of coumarin derivatives with antifungal activity. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 14, p. 1293-1309, 2013.

ALOOF-HIRSCH; DE VRIES; BERGER. The direct lytic factor of cobra venom: purification and chemical characterization. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure**, v. 154, n.1, p. 53-60, 22 jan. 1968. ISSN 0005-2795.

BARBOSA, E. L.; LEVINO, A. Análise da coinfeção TB/HIV como fator de desenvolvimento da tuberculose multidroga resistente: uma revisão sistemática. **Rev Pan-Amaz Saude**. v. 4, n. 4, p. 57-66. 2013

BORGES, F.; ROLEIRA, F.; MILHAZES, N.; et al. Simple coumarins and analogues in medicinal chemistry: Occurrence, synthesis and biological activity. **Current Medicinal Chemistry**. v. 12, p. 887-916, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doenças Infecciosas e Parasitárias: guia de bolso**. 8 ed. Brasil: Ministério da Saúde. 2006. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/doencas\\_infecciosas\\_parasitaria\\_guia\\_bolso.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/doencas_infecciosas_parasitaria_guia_bolso.pdf)>. Acesso em: 24 de ago. 2015. ISSN 0102-311X.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. 7º ed. **Tuberculose**. Brasil: Ministério da Saúde. 2011. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_vigilancia\\_epidemiologica\\_7ed.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_epidemiologica_7ed.pdf)>. Acesso em: 24 de ago. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de Vigilância em Saúde**. 1º ed. Brasil: **Ministério da Saúde**. 2014. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2014/novembro/27/guia-vigilancia-saude-linkado-27-11-14.pdf>>. Acesso em: 24 de ago. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde, Portal da Saúde. **Situação Epidemiológica – Dados**. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o->

ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/741-secretaria- svsvigilancia-de-a-a-z/tuberculose/11485-situacao-epidemiologica-dados>. Acesso em: 10 abr 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico – Detectar, tratar e curar: desafios e estratégias brasileiras frente à tuberculose. **Ministério da Saúde**, v. 46, n. 9. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual nacional de vigilância em saúde. **Departamento de Vigilância Epidemiológica**: Brasília, 436 p. 2008.

FARNIA, P.; MASJEDI, M. R.; MERZA, M. A.; et al. Growth and cell-division in extensive (XDR) and extremely drug resistant (XXDR) tuberculosis strains: transmission and atomic force observation. **Int J Clin Exp Med**, v. 3, n. 4 p. 308-314. 2010.

FRANZBLAU, S. G.; DEGROOTE, M. A.; CHO, S. H.; et al. Comprehensive analysis of methods used for the evaluation of compounds against Mycobacterium tuberculosis. **Tuberculosis**, v. 92, n. 6, p. 453–488, 2012. Elsevier Ltd.

GAMA, F. H. S.; DETONI, I. R.; TORRES, J. C.; VICENTE, F. R. C.; LOURENÇO, M. C. S. Síntese de derivados do ácido salicílico e estudo da atividade antituberculose. **Perspectiva da Ciência e Tecnologia**, Rio de Janeiro, v.2, n.1/2, 2010.

HAMDI, N.; AL-AYED, A. S.; SAID, R. B.; et al. Synthesis and characterization of new thiazole derivatives bearing a coumarin nucleus and their cytotoxic activity. **Molecules**. v. 17, p. 9335-9347, 2012.

HUF G.; KRITSKI A. Avaliação da utilidade clínica de novos testes diagnósticos em tuberculose: o papel dos ensaios clínicos pragmáticos. **J Bras Pneumol**, vol. 38, n. 2, p. 237-245, fev. 2012.

INDIA. Central TB Division. Directorate General of Health Services. Ministry of Health and Family Welfare. Revised national TB control programme training manual for Mycobacterium tuberculosis culture & drug susceptibility testing. **Nirman Bhawan**: New Delhi, 76 p. 2009.

KERI, R. S.; SASIDHAR, B. S.; NAGARAJA, B. M.; SANTOS, M. A. Recent progress in the drug development of coumarin derivatives as potent antituberculosis agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 100, p. 257-269, 2015.

LORIAN, V. Antimicrobial combinations. **Antibiotics in Laboratory Medicine**. Lippincott Williams & Wilkins. p.365–440, 2005.

LUCAS R.; ÚBEDA A.; PAYÁ M.; ALVES M.; OLMO E.d; LÓPEZ J.L.; FELICIANO A.S. Synthesis and enzyme inhibitory activities of a series of lipidic diamine and aminoalcohol on cytosolic and secretory phospholipases A2. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 10, p. 285-88, 2000.

LUO, X.; PIRES, D.; AÍNSA, J. A.; et al. Zanthoxylum capense constituents with antimycobacterial activity against Mycobacterium tuberculosis in vitro and ex vivo within human macrophages. **Journal of ethnopharmacology**, v. 146, n. 1, p. 417–22, 2013.

JEYACHANDRAN; RAMESH; SRIRAM; SENTHILKUMAR; YOGEE SWARI. Synthesis and in vitro antitubercular activity of 4-aryl/alkylsulfonylmethylcoumarins as inhibitors of Mycobacterium tuberculosis. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, n. 14, p. 4807-4809, 15 jul. 2012. ISSN 0960-894X.

MENDOZA-TICONA. Tuberculosis como enfermedad ocupacional. **Revista peruana de medicina experimental y salud pública**, v. 29, n. 2, p. 232-236, jun. 2012. ISSN 1726-4634.

MISSIO; GERALD; KOUL; CHOIDAS; BANHEGYI; GREFF; KERI; MARKO; ORFI; PATO; WACZEK. 4,5,6,7-tetrahydrobenzo[b] thiophene derivatives and methods for medical intervention against mycobacterial infections. **US Patent App.** 10/510,791, US20090018149 A1. 9 abr. 2003, 15 jan. 2009, United States Patent Application.

OLIVEIRA, T. B. Síntese, elucidação estrutural e avaliação biológica de novos derivados tiazolidínicos e cicloalquil-tiofênicos. 2010. 63 f. (**Dissertação em Ciências Farmacêuticas**) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2010.

Organização Mundial da Saúde. **Global tuberculosis report 2013**. 2013. Disponível em:

<[http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/index.html](http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/index.html)>. Acesso em: 10 abr 2016.

ONUMA, K.; SUENAGA, Y.; SAKAKI, R.; et al. Development of a quantitative bioassay to assess preventive compounds against inflammation-based carcinogenesis. **Nitric Oxide-Biology and Chemistry**. v. 25, p. 183-194. 2011.

Organização Mundial da Saúde. Drug-resistant TB SUPPLEMENT GLOBAL TUBERCULOSIS REPORT 2014. **Supplement: to the Global tuberculosis report 2014**, Genebra, 32 p., dez. 2014. Disponível em: <[http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/gtbr14\\_supplement\\_web\\_v3.pdf](http://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr14_supplement_web_v3.pdf)>. Acesso em: 24 de jun. 2015.

Organização Mundial da Saúde. **Global tuberculosis report 2015**. 2015. Disponível em: <[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/191102/1/9789241565059_eng.pdf)>. Acesso em: 10 abr 2016.

PALOMINO, Juan-Carlos; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrob. Agents Chemother**. Vol. 46, n. 8, 2002.

SETHUMADHAVAN; THERUVATHIL; RANGASAMY; PARUTHAPARA. Hepatoprotective activity of chitosan against rifampicin and rifampicina-induced toxicity in experimental rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 572, n. 1, p. 69-73, oct. 2007.

SHEHZAD A.; REHMAN G.; UL-ISLAM M.; KHATTAK W.A.; LEE Y.S. Challenges in the development of drugs for the treatment of tuberculosis. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n.1, p.74-81, 2013.

SIQUEIRA, K. Z.; MENDONÇA, S. A.; PENEDO, C. C. Indicação da prova tuberculínica e infecção latente da tuberculose em HIV-positivos, Município de Blumenau, Estado de Santa Catarina, Brasil, 2004-2009. **Epidemiol. Serv. Saúde**. Brasília, v. 21, n. 4 p. 635-644. 2012.

SVS – Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, Brasil. **Boletim Epidemiológico**, vol 44, 2013. Disponível em: <<http://www.vigilanciaemsaude.ba.gov.br/sites/default/files/Boletim-Tuberculose-2014.pdf>>. Acesso em: 04 jan 2015.

THATI, B.; NOBLE, A.; ROWAN, R.; CREAVENT, B. S.; WALSH, M.; McCANN, M.; EGAN, D.; KAVANAGH, K. Mechanism of action of coumarin and silver(I)-coumarin complexes against the pathogenic yeast *Candida albicans*.

**Toxicology in vitro**, v. 21, n. 5, p. 801-808, 2007.

TOYAMA, M. H.; TOYAMA, D. O.; PASSERO, L. F. D.; LAURENTI, M. D.; COBERTT, C. E.; TOMOKANE, T. Y.; FONSECA, F. V.; ANTUNES, E.; JOAZEIRO, P. P.; BERIAM, L. O. S.; MARTINS, M. A. C.; MONTEIRO, H. S. A.; FONTELES, M. C. Isolation of a new L-amino acid oxidase from *Crotalus durissus cascavella* venom. **Toxicon**, Vol. 47, p. 47-57, 2006.

ZIGNOL; GEMERT; FALZON; SISMANIDIS; GLAZIOU; FLOYD; RAVIGLIONE. Surveillance of anti-tuberculosis drug resistance in the world: an updated analysis, 2007-2010. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 90, p. 111-119, fev. 2012. ISSN 0042-9686.

## ANEXO – ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CURSO -TCC

### ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CURSO - TCC

Ao 10º dia do mês de maio, às 19:30h, no Auditório I da Faculdade Integrada de Pernambuco - FACIPE, campus Saúde, o aluno **Yuri José de Albuquerque Silva**, defendeu, perante Banca Examinadora, o Trabalho de Curso intitulado **Avaliação da atividade antimicobacteriana de prtótipos de origem animal, semissintética e sintética promissores para o tratamento da tuberculose**, para obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina. A avaliação pela Banca Examinadora, formada pelos Professores: **Salvana Priscylla Manso Costa**, **Leonardo de Aquino Linhares** e **Mariana Aragão Matos Donato** para o aluno foi 9,3, sendo assim, considerado o aluno aprovado pela Banca Examinadora. A nota do aluno foi condicionada à entrega do trabalho, com as devidas alterações até a data de 30 de maio de 2016, até às 17 h.

Assinatura do (a) Professor (a) 1º Examinador (a) / Presidente: Salvana Costa

Assinatura do (a) Professor (a) 2º Examinador (a): Leonardo de Aquino Linhares

Assinatura do (a) Professor (a) 3º Examinador (a): Mariana A. M. Donato

**Obs.:** O trabalho definitivo, com as devidas alterações sugeridas pela Banca Examinadora, deverá ser entregue duas cópias da versão corrigida do Trabalho de Conclusão de Curso, em formato de PDF e com as devidas assinaturas, em um CD identificado na biblioteca da unidade de Saúde – Caxangá e outro CD identificado na coordenação do curso.