

Atividade antibacteriana de novos 1,3,4 tiadiazóis derivados do (-)-canfeno: avaliação *in vitro*

Pedro Henrique Rodrigues do Amaral (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Beatriz Cardoso de Freitas, Fabio Vandresen, Regiane Bertin de Lima Scodro, Rosilene Fressatti Cardoso, Katiany Rizzieri Caleffi-Ferracioli, Vera Lucia Dias Siqueira (Orientadora), e-mail: vldsiqueira@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá/ Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina

Microbiologia/ Microbiologia Aplicada

Palavras-chave: Atividade antibacteriana, Derivados tiadiazólicos, Canfeno.

Resumo:

Opções para o tratamento de infecções humanas, em especial as relacionadas à assistência à saúde (IRAS) estão diminuindo, em grande parte devido ao aumento da resistência bacteriana aos antimicrobianos. Diante disso, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar *in vitro* a atividade antibacteriana de novos compostos 1,3,4 tiadiazóis derivados do (-)-canfeno frente à bactérias Gram positivas e Gram negativas comumente envolvidas em infecções humanas. A metodologia de microdiluição em caldo foi empregada para a avaliação da concentração inibitória mínima (CIM). Três dos 11 compostos avaliados apresentaram atividade antibacteriana nas concentrações testadas. O composto TDZ-2-OH foi o mais ativo, com uma CIM de 31,25 µg/mL para *Enterococcus faecalis*. Nenhum composto foi ativo contra as bactérias Gram negativas testadas. Embora mais estudos devam ser realizados visando a caracterização da ação inibitória sobre o crescimento de bactérias Gram positivas, os compostos 1,3,4 tiadiazóis derivados do (-)-canfeno podem representar uma esperança na busca por novos antimicrobianos.

Introdução:

Infecções bacterianas, em especial as relacionadas à assistência à saúde (IRAS), têm se tornado um problema de saúde pública, principalmente devido ao aumento do período de hospitalização e conseqüentemente do custo do tratamento. Opções para o tratamento destas infecções estão diminuindo, particularmente devido ao aumento da resistência bacteriana aos antimicrobianos (CASSIR et. al., 2014).

Embora a resistência antimicrobiana emergja gradualmente, a velocidade em que os antibacterianos estão sendo desenvolvidos é muito menor. Desta

forma, a busca por novos compostos com atividade antibacteriana continua sendo imprescindível. A otimização de moléculas com potencial antimicrobiano tem sido alvo de pesquisa nos últimos anos e a síntese química tem contribuído com diversos compostos com atividade biológica. O canfeno, um monoterpene bicíclico encontrado em diversas espécies de plantas, tem sido utilizado como precursor sintético para formação de tiadiazólicos com potencial antimicrobiano.

Estudos prévios, mostraram que novos compostos 1,3,4 tiadiazóis são promissores agentes antimicrobianos (KAMAL et al., 2011). Entretanto, como é de nosso conhecimento, este é o primeiro trabalho realizado para investigar o potencial antibacteriano de novos 1,3,4 tiadiazóis derivados do canfeno.

Materiais e métodos:

Foram testadas bactérias referência-laboratorial (American Type Culture Collection – ATCC) Gram positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC® 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212 e *Bacillus cereus* ATCC® 11778) e Gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853, *Salmonella* Thymurium ATCC® 14028, *Aeromonas hydrophila* ATCC® 7966, *Escherichia coli* ATCC® 25922). A 3ª geração de cada bactéria ATCC foi estocada na bacterioteca do setor de Bacteriologia Médica (LEPAC/UEM) em caldo triptona de soja (TSB - Difco-Becton Dickinson, Sparks, EUA) com 15% de glicerol (Merck – Darmstadt, Alemanha) a - 80°C. No dia anterior ao teste as referidas bactérias foram reativadas por repique em TSB por 4 h e subsequente plaqueamento em ágar triptona de soja por 18 h.

Os compostos tiadiazólicos derivados do (-)-canfeno (Tabela 1) foram sintetizados e gentilmente fornecidos pelo Departamento de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, sob a responsabilidade do professor Dr Fábio Vandressen.

Tabela 1. Série de 1,3,4 tiadiazóis derivados do (-)-canfeno

Número	Composto	Substância
(6a)	Benza	Benzaldeído-1,3,4-tiadiazol derivado do (-)-canfeno
(6b)	TDZ P-F	4-fluor-benzaldeído-1,3,4-tiadiazol derivado do (-)-canfeno
(6f)	TDZ 4-Br	4-bromo-benzaldeído-1,3,4-tiadiazol derivado do (-)-canfeno
(6g)	TDZ 4-CH ₃	4-metil-benzaldeído-1,3,4-tiadiazol derivado do (-)-canfeno
(6h)	TDZ 4-NO ₂	4-nitro-benzaldeído-1,3,4-tiadiazol derivado do (-)-canfeno
(6i)	TDZ 3-NO ₂	3-nitro-benzaldeído-1,3,4-tiadiazol derivado do (-)-canfeno
(6j)	TDZ 2-NO ₂	2-nitro-benzaldeído-1,3,4-tiadiazol derivado do (-)-canfeno
(6k)	TDZ N(CH ₃) ₂	4-dimetilamino-benzaldeído-1,3,4-tiadiazol derivado do (-)-canfeno
(6l)	TDZ 4-CF ₃	4-trifluorometil-benzaldeído-1,3,4-tiadiazol derivado do (-)-canfeno
(6m)	TDZ 2-OH	2-hidroxi-benzaldeído-1,3,4-tiadiazol derivado do (-)-canfeno
(6n)	TDZ 2-F	2-fluor benzaldeído-1,3,4-tiadiazol derivado do(-)- canfeno

As CIMs dos compostos foram determinadas pelo método de microdiluição em caldo usando MHB com ajuste de cátions (CAMHB) segundo recomendação do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2018). *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 e o antibiótico meropenem (lote 09405C-1, AstraZeneca, Cotia, Brasil) foram utilizados como controles. Todas as determinações foram realizadas em duplicata.

Resultados e discussão:

Os resultados da atividade inibitória dos compostos tiadiazólicos derivados do (-)-canfeno sobre o crescimento de diversas espécies bacterianas, comumente envolvidas em infecções humanas, estão apresentados na tabela 2.

Embora estudos já tenham avaliado a atividade antimicrobiana de compostos sintéticos 1,3,4 tiadiazólicos (KAMAL et. al., 2011), este trabalho é o primeiro a avaliar o potencial antibacteriano de 1,3,4 tiadiazóis derivados do (-)-canfeno.

Neste trabalho, dos 11 compostos 1,3,4 tiadiazóis derivados do (-)-canfeno testados o composto TDZ 2-OH mostrou ser um eficaz agente antibacteriano contra *Enterococcus faecalis*, com uma CIM igual a 31,25 µg/mL. Os derivados TDZ N(CH₃)₂ e TDZ 4-CH₃ também apresentaram atividade inibitória contra *S. aureus* (CIM = 125 µg/mL) e *E. faecalis*, (CIM = 125 µg/mL), respectivamente.

Os compostos testados não apresentaram ação inibitória sobre bactérias Gram negativas nas concentrações testadas (CIM ≥ 500 µg/mL).

Tabela 2: Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) de compostos 1,3,4 tiadiazóis derivados do (-)-canfeno contra bactérias referência-laboratorial (ATCC®) Gram-positivas e Gram-negativas.

COMPOSTOS	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>B. cereus</i> ATCC 11778	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>A. hydrophila</i> ATCC 7966	<i>S. Thymurium</i> ATCC 14028
	CIM (µg/mL)						
Benza	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
TDZ P-F	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
TDZ 4-Br	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
TDZ 4-CH ₃	>500	125	>500	>500	>500	>500	>500
TDZ 4-NO ₂	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
TDZ 3-NO ₂	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
TDZ 2-NO ₂	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500

TDZ N(CH ₃) ₂	125	250	>500	>500	>500	>500	>500
TDZ 4-CF ₃	>500	>500	250	>500	>500	>500	>500
TDZ 2-OH	>500	31,25	>500	>500	>500	>500	>500
TDZ 2-F	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500

Nota: ATCC: American Type Culture Collection;

Conclusão:

O composto TDZ 2-OH apresentou uma importante ação contra *E faecalis*. Entretanto, mais estudos necessitam ser realizados para melhor definir a ação antibacteriana dos novos 1,3,4 tiadiazóis derivados do (-)-canfeno.

Agradecimentos:

À Fundação Araucária pela concessão da Bolsa de Pesquisa de Iniciação científica.

Referências

1. CASSIR, N., ROLAIN, JM, BROUQUI, P. A new strategy to fight antimicrobial resistance: the revival of old antibiotics. **Front Microbiol.**, v. 20, p. 5-551, 2014.
2. CLSI. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; 11th Edition.** CLSI standard M07. Wayne, PA: USA, 2018.
3. KAMAL, M., SHAKYA, A.K., JAWAID, T. 1,3,4-Thiadiazole as Antimicrobial agent: A Review. **Intern J Biomed Res.** v. 2, p. 41-61, 2011.