

ATIVIDADE DE DERIVADOS DE BENZOHDRAZIDA EM *Staphylococcus aureus* E *Escherichia coli*

Jordana Cardoso¹, Fábio Vandressen², Regiane Bertin de Lima Scodro¹, Katiany Rizzieri Caleffi-Ferracioli¹ (Orientadora).
e-mail: katianyrcf@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá/ Centro de Ciências da Saúde/ Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina/ Maringá, PR. Departamento de Química/ Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Área: Ciências biológicas; **Subárea:** Microbiologia

Palavras-chave: benzohidrazida, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

Resumo:

As infecções por *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* têm chamado atenção pela sua alta patogenicidade e devido ao aumento da resistência desses microrganismos aos antimicrobianos disponíveis, tornando-se cada vez mais necessário o estudo de novos fármacos. Com isso, novos compostos de origem natural ou sintética têm sido pesquisados com o objetivo de driblar a resistência bacteriana. Neste sentido, os compostos derivados de benzohidrazida têm sido objeto de estudo por apresentar importantes ações biológicas e grande versatilidade, além de terem sido relatadas atividades antimicrobianas desses compostos na literatura. Portanto, nosso trabalho teve como objetivo, avaliar a atividade *in vitro* de compostos derivados de benzohidrazidas em cepas padrões de *S. aureus* e *E. coli*. A concentração inibitória mínima (CIM) de 15 compostos derivados de benzohidrazida nas cepas *S. aureus* e *E. coli* foi determinada pelo método de microdiluição em caldo. A CIM obtida para todos os derivados de benzohidrazidas estudados contra *S. aureus* e *E. coli* foi superior a 500 ug/ml. Em estudos realizados com os mesmos compostos em *Mycobacterium tuberculosis* em nosso laboratório, uma atividade antimicrobiana seletiva para este bacilo foi observada. Dessa forma, orientado por esta triagem inicial, novos compostos deverão ser sintetizados e avaliados contra diferentes perfis bacterianos.

Introdução

As infecções bacterianas ocorridas tanto na comunidade como no ambiente hospitalar preocupam o sistema de saúde e são causa importante de morbidade e mortalidade entre os pacientes (BARTASH et al., 2017).

As bactérias *S. aureus* e *E. coli* são normalmente encontrados em nossa microbiota residente, mas também apresentam alta patogenicidade. Estudos

recentes mostram que tais bactérias têm apresentado uma resistência cada vez maior a diversos fármacos devido ao uso indiscriminado dos mesmos. Isso gera um aumento na dificuldade de tratamento destas infecções, e um aumento da necessidade do surgimento de novas opções terapêuticas.

Novos compostos de origem natural ou sintética têm sido pesquisados com o objetivo de driblar a resistência bacteriana. Neste sentido, as benzohidrazidas são moléculas classificadas como bases de Schiff e têm sido muito estudadas por sua grande versatilidade e por apresentarem ações biológicas importantes (TIAGO et al., 2015). Ademais, atividades antimicrobianas também já foram relatadas na literatura (BERMEJO et al., 1999). Assim, o estudo da atividade destes compostos em bactérias comumente isoladas em infecções humanas torna-se uma estratégia na busca por novos fármacos principalmente para tratamento de casos de multirresistência bacteriana.

Dado o exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar a atividade *in vitro* de derivados de benzohidrazidas em cepas padrões de *S. aureus* e *E. coli*.

Materiais e métodos

Foram utilizados e testados 15 compostos derivados de benzohidrazida, com diferentes modificações estruturais na molécula (Dados não publicados). Os compostos deste estudo foram nomeados como R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10, R11, R12, R13, R14 e R15. Os compostos foram testados na concentração inicial de 100 µg/ml e posteriormente foi realizada diluição seriada, sendo sua atividade testada sobre as bactérias *E. coli* (ATCC 25922) e *S. aureus* (ATCC 29213).

As CIMs dos compostos foram determinadas pelo método de microdiluição em caldo usando Muller Hinton Broth com ajuste de cátions (CAMHB, Difco Laboratories, Sparks, MD, EUA) segundo recomendação do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015). Os isolados foram reativados em TSB (Difco Laboratories) por 2-6 h a 35±2°C, seguido de plaqueamento em Tryptic Soy Agar (TSA - Difco Laboratories) por até 24 h a 35±2°C. O inóculo foi preparado pela comparação com a escala 0,5 de McFarland e diluído até a concentração final de aproximadamente 5,0 x 10⁵ UFC/mL. Após 18 h de incubação a menor concentração com nenhum crescimento visível, revelado através do revelador cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC), foi considerada como CIM. O antibiótico ciprofloxacino (Sigma-Aldrich) foi utilizado como controle das reações com MICs pré-determinadas conforme orientações CLSI.

Resultados e Discussão

A CIM obtida para todos os compostos testados contra *S. aureus* e *E. coli* foi superior a 500 µg/ml (Tabela 1). Valores de CIM e outros dados previamente obtidos no laboratório de Bacteriologia Médica contra *M. tuberculosis* também estão apresentados na Tabela 1 a fim de propiciar uma discussão mais elaborada. O composto 10 foi o que apresentou um melhor índice de seletividade (IS) contra o bacilo da tuberculose.

Tabela 1: Concentração inibitória mínima (CIM) dos compostos derivados de benzohidrazida contra três diferentes cepas bacterianas

Concentração inibitória mínima (µg/ml)					
Compostos					
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>*Mycobacterium tuberculosis H37RV</i>	IC ₅₀	Índice de seletividade
R1	>500	>500	>500	ND	ND
R2	>500	>500	>500	ND	ND
R3	>500	>500	>500	ND	ND
R4	>500	>500	>500	ND	ND
R5	>500	>500	>500	ND	ND
R6	>500	>500	>500	ND	ND
R7	>500	>500	31,25	53,5±3,5	1,7
R8	>500	>500	250	45,0±5,0	0,2
R9	>500	>500	7,8	22,7±3,4	2,9
R10	>500	>500	7,8	18,5±0,5	2,4
R11	>500	>500	>1000	92,5±12,5	0,1
R12	>500	>500	125	55,7±9,9	0,4
R13	>500	>500	31,25	117,5±7,5	3,8
R14	>500	>500	125	127,5±7,5	1,0
R15	>500	>500	62,5	89,5±0,5	1,4
Ciprofloxacino	0,5	0,008			

*Dados obtidos nas pesquisas realizadas e gentilmente cedidos pelas alunas Eloísa Gibin e Liliani Silva. IC₅₀: Concentração que inibiu 50% das células Vero; Índice de seletividade: IC₅₀/MIC; *Mycobacterium tuberculosis* H37RV; *Staphylococcus aureus* ATCC: 29213; *Escherichia coli* ATCC: 25922; Fármaco de referência nas reações: Ciprofloxacino.

Observou-se que os resultados da atividade antimicrobiana da gama de compostos derivados de hidrazidas testados contra *S. aureus* e *E. coli* foram superiores a 500 µg/ml, o que inviabiliza a utilização dos mesmos, nas estruturas propostas, como opções terapêuticas no tratamento de infecções causadas por essas bactérias. Lopez-Torres, Zani e Mendiola (2011) realizaram uma investigação semelhante da atividade antimicrobiana de compostos com hidrazona e ligantes benzil bis (benzoilhidrazona) pelo método de diluição em caldo para bactérias Gram positivas (*S. aureus*) e Gram negativas (*E. coli*) e os resultados foram semelhantes aos nossos.

Além disso, estudos realizados no mesmo laboratório, com os mesmos compostos, verificaram a ação antimicrobiana em *M. tuberculosis* e mostraram uma CIM baixa para a maioria dos compostos. Nesse sentido, uma vez que estes compostos mostraram maior seletividade para o bacilo em relação à célula do hospedeiro (ensaio de citotoxicidade Tabela 1) e que apresentaram um espectro de atividade mais promissor contra micobactérias, vale ressaltar que se uma vez

incorporado no tratamento contra tuberculose estes compostos possivelmente não terão atividade contra bactérias da microbiota do hospedeiro, o que se mostra interessante.

Embora os resultados obtidos nesse estudo não tenham demonstrado uma atividade antimicrobiana satisfatória contra *S. aureus* e *E. coli*, novos derivados de benzohidrazidas com outras mudanças na estrutura química serão sintetizados e avaliados contra diferentes perfis bacterianos na busca por melhores atividades.

Conclusões

Os derivados de benzohidrazida estudados não apresentam atividade antimicrobiana satisfatória contra *E. coli* e *S. aureus*. Orientado por esta triagem inicial, novos compostos deverão ser sintetizados e avaliados contra diferentes perfis bacterianos busca por melhores atividades.

Agradecimentos

Agradeço a todos do laboratório de Bacteriologia em especial as alunas Eloísa Gibin e Liliani Silva pelo auxílio na discussão dos dados obtidos.

Referências

Bartash R, Nori P. **Beta-lactam combination therapy for the treatment of Staphylococcus aureus and Enterococcus species bacteremia: A summary and appraisal of the evidence.** Int J Infect Dis [Internet]. 2017 Oct;63:7–12. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1201971217301984>

Bermejo MR, Fondo M, González AM, Hoyos OL, Sousa A, McAuliffe CA, et al. **Electrochemical synthesis and structural characterisation of transition metal complexes with 2,6-bis(1-salicyloylhydrazonoethyl)pyridine, H4daps.** J Chem Soc Dalton Trans [Internet]. 1999;(13):2211–8. Available from: [http://xlink.rsc.org/?DOI=a902018g\(1\)](http://xlink.rsc.org/?DOI=a902018g(1))

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests; Approved Standard, tenth edition – CLSI document M07-A10. CLSI, Wayne, Pennsylvania; 2015

El-Gammal OA. **Mononuclear and binuclear complexes derived from hydrazone Schiff base NON donor ligand: Synthesis, structure, theoretical and biological studies.** Inorganica Chim Acta [Internet]. 2015 Aug;435:73–81. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0020169315003060>

TIAGO, F. S. **Descrição teórica de complexos de metais de transição com ligantes hidrazona com potencial aplicação farmacológica.** Dissertação de doutorado. Universidade de Brasília, Instituto de Química, Programa de Pós-graduação em Química. 2015.