AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE NOVOS DERIVADOS ACIL-HIDRAZONAS

Renata Zacanini Milani (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Beatriz Cardoso de Freitas, Pedro Henrique Rodrigues do Amaral, Fábio Vandresen, Regiane Bertin de Lima Scodro, Katiany Rizzieri Caleffi Ferracioli, Vera Lúcia Dias Siqueira (Orientador), e-mail: vldsiqueira@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Ciências biológicas e Microbiologia

Palavras-chave: bactérias, concentração inibitória mínima (CIM), acil-hidrazonas.

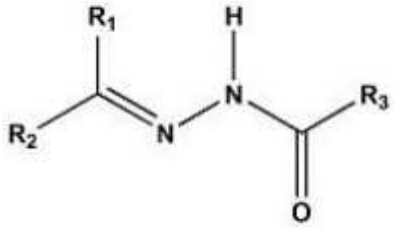
Resumo:

Opções para o tratamento de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) estão diminuindo, em especial 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 derivados sintéticos de 3,5-dinitrobenzoico-N-acil-hidrazona frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas comumente envolvidas em IRAS. A metodologia de microdiluição em caldo foi empregada para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM). Foram avaliados um total de 18 compostos contra cepas padrão e isolados clínicos das diferentes espécies bacterianas testadas. Os compostos R15, R16, R17 e R19 apresentaram atividade antibacteriana pouco significativa (CIM entre 125 e 250 µg/mL) frente a isolados clínicos de *Enterococcus faecalis*. Os demais compostos não exibiram atividade antibacteriana nas concentrações testadas. Embora os resultados dos experimentos com os derivados 3,5-dinitrobenzoico-N-acilhidrazonas não se mostraram promissores no combate a bactérias Gram positivas e Gram negativas comumente envolvidas em IRAS, estudos adicionais visando alterações estruturais nesses derivados poderiam contribuir para a melhoria de sua atividade antibacteriana.

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 consequentemente do custo do tratamento. Opções terapêuticas para estas infecções estão diminuindo, em especial devido ao aumento da resistência bacteriana aos antimicrobianos. Desta forma, a busca por novos compostos com atividade antimicrobiana continua sendo muito importante (RELLO et al., 2019).

As N-acil-hidrazonas (NAHs) fazem parte de uma importante classe de compostos caracterizados por uma estrutura do tipo R1R2C=NNHCOR3 e têm sido muito estudadas por sua grande versatilidade e por apresentarem ações biológicas importantes (ROLLAS AND KÜÇÜKGÜZEL, 2007), sendo, portanto, objetos de estudos de diferentes vertentes de pesquisa**.** Atividades antimicrobianas já foram relatadas na literatura, inclusive importante atividade antibacteriana (GUIMARÃES et al., 2017).



Estrutura genérica das hidrazonas

Desta forma, o objetivo desse projeto foi determinar a CIM dos novos derivados sintéticos de 3,5-dinitrobenzoico-N-acil-hidrazonas para cepas controles ATCC de *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213)*, Enterococcus* spp. (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883). Posteriormente, também foram determinadas as CIMs dos seguintes isolados clínicos: *Staphylococcus aureus* (1305), *Enterococcus faecalis* (886), *Escherichia coli* (1302), *Klebsiella pneumoniae* (13125150) e *Pseudomonas aeruginosa* (1524).

Materiais e métodos

Compostos

Foram testados 18 derivados 3,5-dinitrobenzoico-N-acil-hidrazonas, sintetizados e fornecidos pelo Departamento de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) *campus* Londrina, sob responsabilidade do professor Dr. Fábio Vandresen. Os compostos foram diluídos em Dimetilsulfóxido (DMSO - AMRESCO) para se obter soluções-estoque contendo 10.000 µg/ml.

Amostras bacterianas

Foram testadas cepas padrão-laboratorial ATCC de *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213)*, Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), bem como isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* (IC-1305), *Enterococcus faecalis* (IC-886), *Escherichia coli* (IC-1302), *Klebsiella pneumoniae* (IC-1312) e *Pseudomonas aeruginosa* (IC-1524).

Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

As CIMs dos compostos foram determinadas pelo método de microdiluição em caldo usando MHB (Muller Hinton Broth) com ajuste de cátions (CAMHB, Difco Laboratories, Sparks, MD, EUA) segundo recomendação do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI-2018). Foram realizadas diluições seriadas dos derivados das N-acil-hidrazonas, de maneira a se conseguir concentrações variando de 500 a 0,49 µg/ml. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 e o antimicrobiano oxacilina foram utilizados como controles. Todas as determinações foram realizadas em duplicata.

Resultados e Discussão

Resultados promissores, relatados na literatura, com derivados de acil-hidrazonas apresentando atividade antimicrobiana (NASTASÂ et al., 2015; GUIMARÃES et al., 2017) motivou a síntese e avaliação da atividade de novos derivados 3,5-dinitrobenzoico-N-acil-hidrazonas contra bactérias Gram positivas e Gram negativas comumente envolvidas em IRAS.

Em estudo previamente realizado em nosso laboratório os derivados acil-hidrazonas apresentaram resultados bastante promissores contra Mycobacterium tuberculosis, com CIMs variando de 0,12 a 250 µg/mL e alto índice de seletividade (Dados em publicação)

Dos 18 derivados 3,5-dinitrobenzoico-N-acil-hidrazona apenas 4 (R15, R16, R17 e R19) apresentaram ação inibitória contra o isolado clínico de *Enterococcus faecalis*, os demais compostos não foram capazes de inibir o crescimento das bactérias Gram positivas e Gram negativas nas concentrações avaliadas (Tabela 1).

Tabela 1: Concentração Inibitória Mínima (CIM) de novos derivados 3,5-dinitrobenzoico-N-acil-hidrazona para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (cepas padrão-laboratorial ATCC e isolados clínicos).

Compostos	*Staphylococcus aureus* ATCC/IC	*Enterococcus faecalis* ATCC/IC	*Escherichia coli* ATCC/IC	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC/IC	*Klebsiella pneumoniae* ATCC/IC
	CIMs (µg/ml)				
R1	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500
R2	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500
R3	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500
R4	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500
R5	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500
R6	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500
R7	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500
R8	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500
R9	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500
R10	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500
R11	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500
R13	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500
R14	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500

R15	>500/>500	>500/125	>500/>500	>500/>500	>500/>500
R16	>500/>500	>500/250	>500/>500	>500/>500	>500/>500
R17	>500/>500	>500/250	>500/>500	>500/>500	>500/>500
R18	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500	>500/>500
R19	>500/>500	>500/250	>500/>500	>500/>500	>500/>500

ATCC: *American type culture collection*; IC: isolado clínico. Não houve composto com a numeração 12.

Conclusões

Embora os resultados dos experimentos com os derivados 3,5-dinitrobenzoico-N-acilhidrazonas não se mostraram promissores no combate a bactérias Gram positivas e Gram negativas comumente envolvidas em IRAS, estudos adicionais, visando alterações estruturais nesses derivados, poderiam contribuir para a melhoria de sua atividade antibacteriana.

Agradecimentos

Ao Laboratório de Bacteriologia Médica do LEPAC/DAB/UEM, à minha orientadora e à Fundação Araucária

Referências

CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; 11th Edition. **CLSI standard M07**. Wayne, PA: USA, 2018.

GUIMARÃES, D. G.; ROLIM, L. A.; GONSALVES, A. A.; ARAÚJO, C. R. M. Investigação do Potencial Biológico de Hidrazonas Obtidas Sinteticamente na Última Década (2006-2016): Uma Revisão Sistemática**. Revista Virtual de Química**, v9, p. 2551-2592, 2017.

NASTASĂ, C; BRINDUSA, T; DUMA, M; BENEDEC, D; ONIGA, O. New Hydrazones Bearing Thiazole Scaffold: Synthesis, Characterization, Antimicrobial, and Antioxidant Investigation**. Molecules**, v.20, p. 17675-17683, 2015.

RELLO, J.; PARISELLA, F.R.; PEREZ, A**.** Alternatives to antibiotics in an era of difficult-to-treat resistance: new insights. **Expert Review of Clinical Pharmacology**, v. 12, n. 7, p 635-642, 2019.

ROLLAS, S.; KÜÇÜKGÜZEL, S.G. Biological activities of hydrazone derivatives**. Molecules,** v. 12, p. 1910-1939, 2007.