

AVALIAÇÃO DE TIOSSEMICARBAZONAS E SEMICARBAZONAS FRENTE À *Mycobacterium tuberculosis*

Emanuelle Finatto Dala Rosa (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Eloísa Gibin Sampiron, Ana Paula Desiree de Oliveira, Andressa Lorena Ieque, Katiany Rizzieri Caleffi-Ferracioli, Fabio Vandresen, Regiane Bertin de Lima Scodro (orientadora) rblscodro@uem.br

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

Área e subárea: Microbiologia - Microbiologia Aplicada

Palavras-chave: tuberculose, tiossemicarbazonas, REMA

Resumo

A tuberculose (TB), patologia infectocontagiosa causada pelas bactérias pertencentes ao complexo *Mycobacterium tuberculosis*, por ser altamente transmissível, acarreta problemas de saúde a nível mundial. O tratamento da TB é feito por um período de 6 meses, utilizando basicamente quatro fármacos, sendo eles a rifampicina, etambutol, isoniazida e pirazinamida. O maior problema enfrentado atualmente é a resistência dos bacilos ao tratamento. Assim sendo, este estudo teve como objetivo, avaliar a atividade antimicobacteriana de uma série de tiossemicarbazonas e semicarbazonas frente à *M. tuberculosis*, por meio da técnica *resazurin microtiter assay plate*. De modo geral, as substâncias testadas apresentaram CIMs que variaram entre 7,8 e >250 µg/mL, com destaque para a substância (6) que apresentou CIM de 7,8 µg/mL. Atividades importantes foram encontradas pelas substâncias estudadas, demonstrando promissor potencial anti-TB.

Introdução

A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa causada por bactérias pertencentes ao complexo *Mycobacterium tuberculosis*. A TB continua entre as principais causas de morte no mundo, e a principal entre as doenças infecciosas. De acordo com o último relatório global da OMS sobre a tuberculose, no ano de 2019 cerca de 10 milhões de pessoas desenvolveram a doença e 1,4 milhão de pessoas morreram em decorrência da mesma (WHO, 2019). De modo geral, o esquema de tratamento da TB é composto por quatro fármacos, que juntos são capazes de levar à cura do paciente, sendo eles: rifampicina, etambutol, isoniazida e pirazinamida.

As tiossemicarbazonas e semicarbazonas são uma importante classe de compostos que vem sendo estudadas devido ao seu amplo perfil

farmacológico. As tiossemicarbazonas apresentam atividades importantes, como ação antitumoral, antiviral, antifúngica, antibacteriana e antimalárica. Enquanto as semicarbazonas mostram atividade como agentes antichagásicos, anticonvulsivantes, hipnóticos, pesticidas e herbicidas (BERALDO, 2004). Domagk *et al.* (1946) foi o primeiro a relatar algumas tiossemicarbazonas que possuíam atividade antituberculose *in vitro*, sendo que em alguns casos, a atividade se manifestou *in vivo* (ALAHARI *et al.*, 2009). Sendo assim, considerando que as semicarbazonas e tiossemicarbazonas se destacam por possuírem diversas atividades biológicas, e levando em conta os diversos problemas inerentes ao tratamento da TB, o objetivo desse trabalho foi estudar o potencial anti-TB de uma série de tiossemicarbazonas e semicarbazonas frente a *M. tuberculosis*.

Materiais e métodos

Para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) das tiossemicarbazonas frente a cepa padrão de *M. tuberculosis* H₃₇Rv utilizou-se o método *resazurin microtiter assay plate* (REMA) (PALOMINO *et al.*, 2002). Para este ensaio, a cepa padrão de *M. tuberculosis* H₃₇Rv foi cultivada em meio líquido Middlebrook 7H9 suplementado com 10% de ácido oleico, albumina, dextrose e catalase (OADC) (7H9-OADC), por 15 a 21 dias a 35°C.

Para determinar a CIM, foram utilizadas microplacas de 96 poços. Inicialmente, foram adicionados 100 µL de 7H9-OADC em cada orifício da microplaca. Em seguida, foi realizada uma diluição seriada das substâncias (250 a 0,95 µg/mL) e do fármaco controle isoniazida (0,01 a 1 µg/mL). Então, o crescimento bacteriano foi ajustado à escala 1 de McFarland, e em seguida foi realizada uma diluição 1:20. Após isso, 100 µL da bactéria foi adicionada a cada poço da microplaca. A placa foi, então, incubada por 7 dias a 35°C. Após incubação, adicionou-se 30 µL de resazurina (0,01%) em cada orifício da microplaca, e incubou-se novamente por mais 24h. A CIM foi considerada como a menor concentração da substância capaz de inibir crescimento bacteriano. Isso é analisado pela mudança na coloração da resazurina, de azul para rosa.

Resultados e Discussão

A busca por novos fármacos para o tratamento anti-TB é essencial, visto o longo tempo de administração dos medicamentos, e os frequentes casos de resistência já relatados. Dessa forma, ao longo dos últimos anos, tem acontecido um aumento considerável na busca por novas substâncias anti-TB que possam integrar o esquema de tratamento dessa doença.

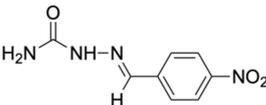
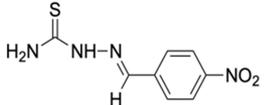
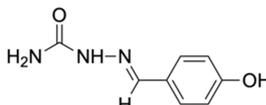
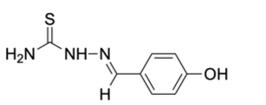
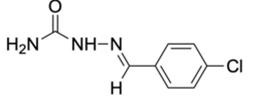
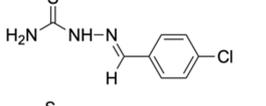
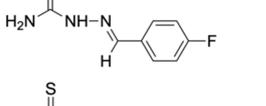
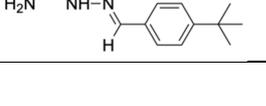
Os resultados das CIMs das tiossemicarbazonas estão descritos na tabela 1. Algumas das substâncias testadas apresentaram atividades importantes. De modo geral, as CIMs variaram entre 7,8 e 250 µg/mL. O melhor resultado foi obtido para a substância (6) cuja CIM foi de 7,8 µg/mL.

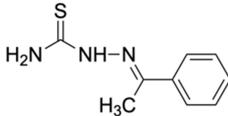
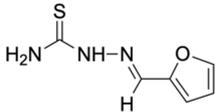
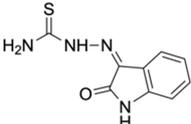
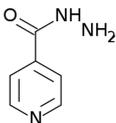
Por outro lado, as substâncias (4) e (8) com CIMs de 15,6 µg/mL e a substância (2) (CIM 31,25 µg/mL), também apresentaram resultados promissores. Já as substâncias (10), (12), (14) e (16) não apresentaram atividade na maior concentração testada. Avaliando os resultados das semicarbazonas, as substâncias (1), (3) e (5) também não apresentaram atividade na maior concentração testada (CIM >250 µg/mL).

Em relação às tiossemicarbazonas (2), (4), (6) e (8), que apresentaram atividades promissoras, podemos observar que a tiossemicarbazona (6) apresenta o radical cloro. Além disso, os resultados encontrados são similares aos de outros autores. Souza *et al.* (2018), reportaram a atividade de uma série de tiossemicarbazonas, com valores de CIM que variaram entre 3,9 a >250 µg/mL, corroborando a possível atividade promissora das substâncias aqui estudadas.

Tendo em vista os problemas inerentes ao tratamento, novos estudos serão feitos para determinar a CIM de novas tiossemicarbazonas que apresentem resultados promissores e que possam ser eficazes inibindo o crescimento do bacilo.

Tabela 1: Concentração inibitória mínima (CIM) de tiossemicarbazonas frente à *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv.

Substâncias	Estrutura química	Concentração inibitória mínima (µg/mL)
(1)		>250
(2)		31,25
(3)		>250
(4)		31,25
(5)		>250
(6)		7,8
(8)		15,6
(10)		>250

(12)		>250
(14)		>250
(16)		>250
Isoniazida		0,03

Conclusões

Neste estudo, quatro substâncias mostraram atividade promissora para tratamento frente a *M. tuberculosis*, sendo assim sendo candidatos potenciais à novos fármacos anti-TB. Novos estudos devem ser realizados para avaliar de maneira mais profunda a atividade dessas substâncias.

Agradecimentos

Agradeço à minha orientadora pela oportunidade e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Referências

WHO. World Health Organization. (2019). **Global tuberculosis report 2019**.

BERALDO, H. **Semicarbazonas e tiosemicarbazonas: o amplo perfil farmacológico e usos clínicos**. Química Nova, v. 27, n. 3, p. 461–471, 2004.

ALAHARI, A. et al. **Mycolic acid methyltransferase, MmaA4, is necessary for thiacetazone susceptibility in *Mycobacterium tuberculosis***. Molecular Microbiology, v. 71, n. 5, p. 1263–1277, 2009.

PALOMINO, J.C. et al. **Resazurin Microtiter Assay Plate: Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis***. Antimicrob. Agents Chemother., v. 46, n. 8, p. 2720–2722, 2002.

SOUZA, M.R.P. et al. **Synthesis of novel (-)-Camphene- based thiosemicarbazonas and evaluation of anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity**. Nat. Prod. Res ,p.1-6, 2018.