

ATIVIDADE DE NOVAS SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS EM MICOBACTÉRIAS

Jonathan Sanches Rosa (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Maria Luiza Froes da Motta Dacome; Gisele de Freitas Gauze; Regiane Bertin de Lima Scodro; Vera Lucia Dias Siqueira; Katiany Rizzieri Caleffi Ferracioli, Rosilene Fressatti Cardoso (Orientador), e-mail: rfcardoso@uem.br.

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

Área: Microbiologia (21200009) e sub-área: Bacterologia (21201021)

Palavras-chave: compostos sintéticos, micobactérias não tuberculosas, resistência.

Resumo:

As micobactérias não tuberculosas estão dispersas na natureza, diferentemente das espécies do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, agentes da tuberculose, e são responsáveis em causar doenças em diversos sítios anatômicos humanos e animais denominada de micobacterioses. O uso de fitoterápicos e o desenvolvimento de novas substâncias sintéticas como recurso terapêutico vem crescendo mundialmente e a pesquisa nesta área pode levar à descoberta de novas substâncias que possam servir como protótipo para o desenvolvimento de novos fármacos. A atividade de hidrazonas e derivados oxadiazólicos têm sido estudados por nosso grupo de pesquisa contra micobactérias tuberculosas e não tuberculosas. O objetivo desta pesquisa foi avaliar e determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) da hidrazona (4K) e oxadiazólico N-acilhidrazona (O-OAN) em algumas espécies de micobactérias não tuberculosas. A CIM foi determinada pelo método Resazurin Broth Microdilution Assay (REBMA) utilizando resazurina como indicador de crescimento bacteriano. A CBM foi determinada pelo cultivo de 100 µL presente nos orifícios correspondente a CIM e valores > CIM das microplacas, em Mueller Hinton ágar. A CIM das substâncias 4K e O-OAN variaram de 62,5 a >250 µg/mL e 3,9 a >250 µg/mL e CBM de 125 a > 250 µg/mL e 15,8 a >250 µg/mL, respectivamente. O composto oxadiazólico N-acilhidrazona se mostrou mais ativo e promissor como protótipo para estudos adicionais para o desenvolvimento de novos fármacos anti-micobacterioses.

Introdução

As micobactérias não tuberculosas (MNT) estão dispersas na natureza, diferentemente das espécies do complexo *Mycobacterium tuberculosis* que apresentam patogenicidade variável e estão entre as causas de morbidade e mortalidade no mundo (BARRETO *et al.*, 2000). As doenças causadas por MNT tem aumentado há alguns anos sua incidência em pacientes imunocomprometidos bem como em imunocompetentes. Além disso, a emergência de multirresistência destes

microrganismos têm trazido grandes dificuldades no tratamento das infecções causadas por MNT (CAMPOS, H. S. 2000). A utilização de plantas com ação medicinal é uma das alternativas mais antigas de tratamento farmacológico existente. O uso de fitoterápicos e o desenvolvimento de novas substâncias sintéticas como recurso terapêutico vem crescendo mundialmente e a pesquisa nesta área pode levar à descoberta de novas substâncias que possam servir como protótipo para o desenvolvimento de novos fármacos. Nesse sentido, a atividade de hidrazonas e derivados oxadiazólicos têm sido estudados por nosso grupo de pesquisa contra micobactérias tuberculosas e não tuberculosas. Sendo assim o objetivo deste estudo foi avaliar e determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) da hidrazona (4K) e oxadiazólico N-acilhidrazona (O-OAN) em algumas espécies de micobactérias não tuberculosas.

Materiais e Métodos

O composto 4K foi obtido pela da síntese de N-acilidrazona utilizando como blocos precursores a carbohidrazida. Já o seu derivado oxadiazol (O-AON) foi obtido pela reação de ciclização oxidativa intramolecular da N-acilidrazona. A atividade inibitória antimicobacteriana de 4K e do O-AON foram avaliados em nove espécies (e sub espécies) de micobactérias não tuberculosas (MNT) como: MNT de crescimento rápido - *M. smegmatis mc² 155*; *M. smegmatis*; *M. abscessus ATCC 19977*; *M. abscessus subspecies abscessus*; *M. abscessus subspecies massiliense*; *M. abscessus subspecies bolletti* e *M. fortuitum* e MNT de crescimento lento - *M. kansasii* e *M. avium subspecies avium*) por meio da metodologia de Resazurin Broth Microdilution Assay- REBMA (CASTILHO *et al.*, 2015). A CIM foi determinada como a menor concentração da substância capaz de inibir o crescimento micobacteriano. A CBM foi determinada pelo cultivo de 100 µL presente nos orifícios correspondente a CIM e valores > CIM das microplacas, em ágar Mueller Hinton (MHA). Ciprofloxacino foi utilizado como fármaco padrão e controle dos ensaios.

Resultados e Discussão

De forma geral para as MNTs estudadas, a CIM da substância 4K variou de 62,5 a >250 µg/mL e a CBM de 125 a >250 µg/mL e a CIM da substância O-AON variou de 3,9 a >250 µg/mL e a CBM de 15,8 a >250 µg/mL (Tabela 1).

O derivado oxadiazólico O-AON se mostrou mais ativo do que a hidrazona em micobactérias não tuberculosas. As CIMs <10 µg/mL são promissoras na pesquisa para novos fármacos (GARCIA *et al.*, 2012), tais como 3,9 e 7,8 para *M. smegmatis mc²155*, *M. abscessus subsp. abscessus*, *M. abscessus subsp. massiliense* e *M. fortuitum*.

Tabela 1: Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) da substância 4K e O-OAN em micobactérias não tuberculosas (MNT).

Micobactéria	CIM (µg/mL)	CBM	CIM (µg/mL)	CBM
	4K	4k	O-OAN	O-OAN
Crescimento rápido				
<i>M. smegmatis mc²155</i>	62,5	250	3,9	125
<i>M. smegmatis</i>	125	250	31,25	>250
<i>M. abscessus ATCC1977</i>	>250	>250	15,8	>250
<i>M. abscessus subsp. abscessus</i>	250	250	7,8	250
<i>M. abscessus subsp. massiliense</i>	125	>250	7,8	>250
<i>M. abscessus subsp. bolletti</i>	250	>250	62,5	>250
<i>M. fortuitum</i>	62,5	>250	7,8	15,8
Crescimento lento				
<i>M. kansasii</i>	125	125	31,2	250
<i>M. avium subsp. avium</i>	>250	>250	>250	>250

Conclusões

O composto O-OAN, oxadiazólico *N*-acilhidrazona, se mostrou mais ativo do que o 4K e novos estudos estão sendo desenvolvidos para que possam servir como protótipo para o desenvolvimento de novos fármacos anti-micobacterioses.

Agradecimentos

Agradeço ao CNPq pela Bolsa PIBIC/ CNPq /UEM e a Fundação Araucária. A professora Gisele do DQI-UEM pela síntese das substâncias estudadas e de modo especial à professora Dra. Rosilene ter aceitado ser minha orientadora e a professora Dra. Katiany que me coorientou. Agradeço a todos que me auxiliaram e ajudaram no desenvolvimento deste projeto de pesquisa.

Referências

BARRETO, Angela Maria Werneck; CAMPOS, Carlos Eduardo Dias. Micobactérias " não tuberculosas" no Brasil. Boletim de Pneumologia Sanitária, v. 8, n. 1, p. 23-32, 2000. Disponível em <http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-460X2000000100004&lng=pt&nrm=iso>. acessos em 01 set. 2022.

CAMPOS, Hisbello S. Manejo da doença micobacteriana não-tuberculosa. **Boletim de Pneumologia Sanitária**, v. 8, n. 2, p. 39-50, 2000. Disponível em

<http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-460X2000000200006&lng=pt&nrm=iso>. acessos em 01 set. 2022.

CASTILHO, Aline Lemes et al. Detection of drug susceptibility in rapidly growing mycobacteria by resazurin broth microdilution assay. **Journal of microbiological methods**, v. 111, p. 119-121, 2015.

GARCÍA, Abraham et al. Recent advances in antitubercular natural products. **European journal of medicinal chemistry**, v. 49, p. 1-23, 2012.