

Avaliação de uma série de substâncias sintéticas frente a micobactérias

Camilla de Lima Ruffini (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Ingrid Beatriz Campana, Katiany Rizzieri Caleffi Ferracioli, Rosilene Fressatti Cardoso, Fabio Vandresen, Regiane Bertin de Lima Scodro (Orientadora). Email: rblscodro@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Ciências da Saúde, Microbiologia/Microbiologia aplicada

Palavras-chave: Tuberculose; TB-MDR; tiossemicarbazonas

RESUMO

A tuberculose (TB), causada por bactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, é uma das principais causas de mortalidade a nível mundial. A TB resistente a múltiplos fármacos (MDR), caracterizada pela resistência simultânea à rifampicina e isoniazida, representa um desafio significativo no tratamento da doença, aumentando a necessidade de novos agentes terapêuticos. Neste contexto, as tiossemicarbazonas, substâncias conhecidas por suas propriedades antibacterianas e capacidade de formar complexos organometálicos, foram investigadas quanto à sua eficácia contra cepas de *M. tuberculosis*. Foi avaliada a concentração inibitória mínima (CIM) de uma série de tiossemicarbazonas sintéticas frente à cepa de referência *M. tuberculosis* H₃₇Rv e à linhagem de coleção 3614, utilizando a técnica de *resazurin microtiter assay plate* (REMA). As bactérias foram cultivadas em meio líquido Middlebrook 7H9 suplementado com OADC (Ácido Oleico, Albumina, Dextrose e Catalase) e incubadas a 35°C por 15 a 21 dias. A CIM da substância capaz de inibir o crescimento da bactéria foi determinada utilizando a metodologia REMA, no qual uma mudança de cor da resazurina indicou o crescimento bacteriano. Os resultados revelaram que, para a cepa H₃₇Rv, as CIMs variaram de <15 a 625 µg/mL, para a tiossemicarbazona 5 (TSC-5) sendo a mais ativa contra o bacilo (<15 µg/mL). Para a linhagem de *M. tuberculosis* 3614, as CIMs variaram de 3,9 a 625 µg/mL, novamente com a TSC-5 demonstrando a maior atividade (3,9 µg/mL). Esses resultados destacam o potencial das tiossemicarbazonas como agentes antimicrobianos contra *M. tuberculosis*, incluindo linhagem resistente, destacando a necessidade da realização de estudos mais aprofundados.

INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença causada por bactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis* e, até a pandemia de COVID-19, era a principal causa de morte por um único agente infeccioso, superando o HIV/AIDS. A evolução da doença está associada a fatores socioeconômicos, como pobreza, subnutrição, tabagismo, diabetes, consumo de álcool e, especialmente, a coinfeção com HIV (WHO, 2023). A TB resistente a múltiplos fármacos (MDR) ocorre quando a bactéria desenvolve resistência simultânea à rifampicina (RIF) e isoniazida (INH), os principais fármacos utilizados no tratamento da doença (Oliveira *et al.*, 2009). A linhagem de *M. tuberculosis* 3614, estudada neste trabalho, possui um perfil de resistência a múltiplos fármacos, incluindo INH, RIF, etambutol (EMB), etionamida (ETH) e estreptomicina (SM), classificando-a como um bacilo multirresistente.

Devido ao aumento das bactérias resistentes, o tratamento da TB tornou-se mais complicado e prolongado, o que reforça a necessidade de desenvolver novos agentes terapêuticos que possam encurtar e melhorar o tratamento de maneira mais eficaz. As tiossemicarbazonas, substâncias com propriedades químicas e biológicas significativas, têm despertado interesse na comunidade científica por sua capacidade de atuar como agentes antivirais, antiprotozoários, antitumorais e antibacterianos. Essas substâncias também são conhecidas por formar complexos organometálicos e por suas funções como inibidores de enzimas e de síntese de DNA (Tenório *et al.*, 2005). Com o objetivo de avaliar a atividade antimicrobiana de cinco tiossemicarbazonas análogas da isoniazida frente à cepa de referência de *M. tuberculosis* H₃₇Rv e à linhagem MDR 3614, neste estudo foi utilizada a metodologia *resazurin microtiter assay plate* (REMA).

MATERIAIS E MÉTODOS

A cepa padrão de *M. tuberculosis* H₃₇Rv e a linhagem 3614 foram cultivadas em meio líquido Middlebrook 7H9 suplementado com OADC a 35°C por 15 a 21 dias. As substâncias testadas foram sintetizadas e fornecidas pelo Prof. Dr. Fabio Vandresen, da UTFPR, e estocadas a -20°C em concentrações de 10.000 µg/mL. Para determinar a CIM, foi utilizada a técnica *resazurin microtiter assay plate* (REMA). Em microplacas de 96 poços, as substâncias 1, 2, 4 e 5 foram diluídas de 250 a 0,97 µg/mL, enquanto a substância 3 foi diluída de 1250 a 4,88 µg/mL, já a isoniazida foi usada como controle. As bactérias foram padronizadas e inoculadas nos poços, e o ensaio foi incubado por 7 dias a 35°C. Após a incubação, uma solução de 30 µL de resazurina foi adicionada para revelar o crescimento bacteriano. A resazurina, um indicador de oxidação-redução, foi utilizada para determinar a

viabilidade bacteriana. A concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a menor concentração da substância capaz de impedir a mudança de cor de azul para rósea, que indica a ausência do crescimento bacteriano (Palomino, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados alcançados através desse projeto estão descritos na tabela 1. O resultado da CIM para as substâncias testadas se mostrou promissor, sendo as substâncias TSC-4 e TSC-5 as que demonstraram maior atividade anti-*M. tuberculosis*, tanto para a cepa padrão quanto para *M. tuberculosis* 3614. Os resultados obtidos forneceram dados importantes sobre o potencial dessas tiossemicarbazonas como novos agentes terapêuticos no combate à TB, especialmente contra bacilos resistentes. Pertencentes a uma classe de quelantes metálicos, as tiossemicarbazonas são capazes de complexar metais iônicos como formas neutras ou carregadas através de enxofre e átomos de nitrogênio. Essa propriedade explica o caráter lipofílico do quelato, que acaba por favorecer a permeabilidade da membrana e confere maior atividade anti-TB, podendo ser o mecanismo de ação das substâncias testadas (Oliveira *et al.*, 2024).

Tabela 1. Concentração inibitória mínima (CIM) de uma série de tiossemicarbazonas análogas a isoniazida frente a cepa de referência de *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇R_v e 3614.

Substância	CIM para H ₃₇ R _v (µg/mL)	CIM para 3614 (µg/mL)
TSC-1	62,5	125
TSC-2	62,5	32,5
TSC-3	625	625
TSC-4	15	15
TSC-5	<15	3,9

CONCLUSÕES

Os resultados revelaram que, para a cepa de *M. tuberculosis* H₃₇R_v, a TSC-5 foi a mais ativa. Para a linhagem 3614, a TSC-5 também demonstrou maior atividade. Esses resultados destacam o potencial das tiossemicarbazonas como agentes antimicrobianos contra *M. tuberculosis*, incluindo linhagens MDR, sendo assim, fica evidenciado a necessidade de mais estudos abrangendo essas

substâncias e suas propriedades antibacterianas, bem como avaliar sua citotoxicidade.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Maringá e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Prof. Dr. Fabio Vandresen do Laboratório de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), *campus* Londrina pela cessão das substâncias químicas.

REFERÊNCIAS

OLIVEIRA, H. M. M. G. *et al.* Perfil epidemiológico de pacientes portadores de TB internados em um hospital de referência na cidade do Rio de Janeiro. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 35, n. 8, p. 780-787, 2009.

PALOMINO, J. C. *et al.* Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 46, n. 8, p. 2720-2722, 2002.

TENÓRIO, R. P. *et al.* Tiosemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. **Química Nova**, v. 28, p. 1030-1037, 2005.

WHO, World Health Organization. **Global tuberculosis report 2023**. Disponível em: <<https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2023>>. Acesso em: 29 ago. 2024.

OLIVEIRA, A. P. D. *et al.* Cytotoxicity and activity of thiosemicarbazones and semicarbazones in *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review. **Cuadernos de Educación y Desarrollo**, v. 16, n. 6, p. e4683-e4683, 2024.