POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE DERIVADOS AZÓLICOS E ANÁLOGOS DE CURCUMINA FRENTE A *Pseudomonas aeruginosa*

DÉBORAH TROTA FARIAS DE ALBERNAZ[1]; KAMILA FURTADO DA CUNHA[2]; BRUNO NUNES DA ROSA[3]; CLÁUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA[4]; DAIANE DRAWANZ HARTWIG[5]

[1]*Universidade Federal de Pelotas – trotadeborah@gmail.com*
[2]*Universidade Federal de Pelotas – kamilafurtado1@hotmail.com*
[3]*Universidade Federal de Pelotas – brunondrosa@gmail.com*
[4]*Universidade Federal de Pelotas – claudiochemistry@gmail.com*
[5]*Universidade Federal de Pelotas – daianehartwig@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

Os micro-organismos resistentes à múltiplas drogas (RMD) são um dos principais problemas de saúde pública da atualidade (VAN DUIN e PETERSON, 2016). A resistência aos antimicrobianos surge naturalmente ao longo do tempo, entretanto, o uso indiscriminado dessas substâncias corrobora para acelerar o processo, dificultando o tratamento das infecções causadas por esses micro-organismos (WHO, 2020). As doenças infecciosas causadas por bactérias RMD estão entre as principais causas de morbidade e mortalidade no mundo, sendo *Pseudomonas aeruginosa* uma das espécies mais associadas a essas enfermidades (WHO, 2018).

P. aeruginosa é um patógeno oportunista, gram-negativo, frequentemente relacionado ao âmbito hospitalar, podendo ser encontrado em superfícies, em cateteres, equipamentos de diálise, pias, entre outros. Essa espécie afeta majoritariamente pacientes imunocomprometidos e com queimaduras, acarretando infecções mais graves, evoluindo para infecções no sistema respiratório, urinário, tecidos moles e bacteremia (MURRAY, 2017). *P. aeruginosa*, além de apresentar resistência intrínseca a diferentes classes de antimicrobianos, possui a capacidade de facilmente adquirir resistência às substâncias as quais é exposta, tornando-se um patógeno de difícil tratamento (VAN DUIN e PETERSON, 2016).

Considerando a escassez de alternativas terapêuticas para o tratamento de infecções por *P. aeruginosa*, a busca por um antimicrobiano eficaz que apresente ação frente à essa espécie e que seja seguro, é urgente (PANG, et al., 2019). Nesse contexto, moléculas bioativas como os tiazóis e as curcuminas se destacam, devido à sua síntese utilizando química limpa, com altos rendimentos e que garante a sua reprodutibilidade (PIZZUTI, 2009). Além disso, esses compostos apresentam propriedades farmacológicas dos azóis e das curcuminas, como ação anti-inflamatória, anticâncer e antimicrobiana (MERT, et al., 2014; KOTHA e LUTHRIA, 2019; TESSMANN et al., 2017), tornando-se uma alternativa em potencial para o combate às bactérias RMD.

Dado o exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a ação *in vitro* de moléculas sintéticas derivadas do composto pirazólico 1-tiocarbamoil-3,5-diaril-4,5-di-hidro-1H e de moléculas análogas da curcumina, frente a cepa padrão de *P. aeruginosa* ATCC 27853.

2. METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Bacteriologia e Bioensaios (LaBBio), Departamento de Microbiologia e Parasitologia (DMP),

Instituto de Biologia (IB), Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Foram avaliadas duas moléculas sintéticas derivadas do composto pirazólico 1-tiocarbamoil-3,5-diaril-4,5-di-hidro-1H, tiazóis intitulados 2c e 2d, e duas moléculas sintéticas análogas da curcumina, intituladas 5e e 7e, conforme figura 1. A partir das mesmas, foram preparadas soluções estoques em DMSO (99,9%) (Sigma- Aldrich ®) e posteriormente avaliadas frente a cepa padrão de *P. aeruginosa* ATCC 27853, pertencente a bacterioteca do laboratório.

O inóculo bacteriano foi preparado a partir da suspensão de culturas recentes (18-24h) em solução salina (0,9%), sendo sua concentração ajustada a 10^4 UFC.mL^{-1} para a realização dos testes. A concentração mínima inibitória (CMI) foi determinada através da técnica de microdiluição em caldo (CLSI, 2020). Foram feitas diluições de razão dois das moléculas em caldo BHI (*Brain and Hearth Infusion* - Kasvi ®) acrescido de DMSO 5% variando as concentração de 1 à 1024 µg.mL^{-1}. Em seguida, foram adicionados 50 µL do inóculo bacteriano e as placas incubadas à 37ºC por 24h. Foram utilizados como controles o meio de cultivo sem inóculo bacteriano (negativo), meio de cultivo acrescido de inóculo (positivo) e um controle de esterilidade das moléculas. Após o período de incubação, foram adicionados 10 µL de Resazurina 0,02% (Sigma-Aldrich ®), como indicador de viabilidade celular, em todos os poços da placa.

A determinação da concentração mínima bactericida (CMB) foi realizada a partir dos resultados da CMI, onde foram coletadas alíquotas dos poços que apresentaram inibição do crescimento bacteriano e inoculadas em placas contendo Ágar BHI. As placas foram incubadas à 37ºC por 24h, para avaliar se as concentrações se mostraram bacteriostáticas ou bactericidas. Todos os testes foram realizados em triplicata.

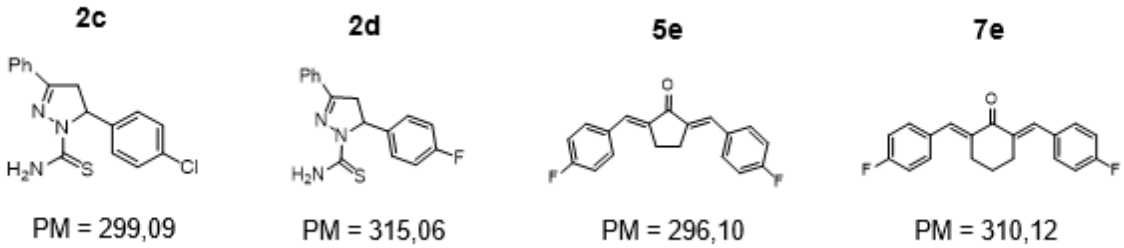

Figura 1. Estrutura química e peso molecular dos compostos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos foi possível verificar que nenhuma das quatro moléculas sintéticas avaliadas apresentou ação bactericida nas concentrações testadas. Já o efeito bacteriostático foi verificado nas quatro moléculas, nas concentrações de 750 e 1024 µg.mL^{-1}. Os resultados podem ser visualizados na tabela 1.

Tabela 1: Resultados da CMI e CMB para a cepa padrão de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Molécula	CMI (µg.mL^{-1})	CMB (µg.mL^{-1})
2c	1024	-
2d	750	-
5e	750	-
7e	750	-

CMI: Concentração Mínima Inibitória; CMB: Concentração Mínima Bactericida; -: >1.024.

A atividade de compostos derivados tiazólicos frente a bactérias gram-negativas, como *P. aeruginosa* e *Escherichia coli,* já foi demonstrada em estudos anteriores (RIZK et al., 2017), que ao avaliarem seis moléculas tiazólicas encontraram CMI para essas espécies em concentrações inferiores as observadas em nosso estudo, sendo elas 25, 50 e 100 $\mu g.mL^{-1}$.

As propriedades farmacológicas dos derivados tiazólicos são amplamente disseminadas e estão presentes na terapêutica desde o surgimento das penicilinas, tendo sua atividade associada ao anel heterocíclico presente em sua estrutura química. Esses compostos demonstraram ação frente a diferentes micro-organismos como *Aspergillus niger*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *E. coli*, tornando-se um alvo promissor na busca por novos antimicrobianos (ALTHAGAFI, EL-METWALY e FARGHALY, 2019).

TYAGI, et al. (2015) realizou um estudo da atividade bactericida da curcumina para diferentes bactérias gram-negativas, como *P. aeruginosa* e *E. coli*, e gram-positivas, como *Enterococcus fecalis* e *S. aureus*. Os autores observaram que a atividade do composto está relacionada com sua propriedade de causar danos na integridade da membrana bacteriana.

4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que as moléculas derivadas do composto 1-tiocarbamoil-3,5-diaril-4,5-di-hidro-1H, os tiazóis 2c e 2d, e as moléculas análogas da curcumina, 5e e 7e, apresentaram ação inibitória frente a cepa padrão de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Entretanto, apesar de se considerar essas moléculas promissoras, alterações químicas em suas estruturas podem melhorar seu efeito. Além disso, novos estudos serão desenvolvidos buscando avaliar a atividade dessas moléculas frente a outros micro-organismos, e também sua citotoxicidade, a fim de garantir seu uso terapêutico seguro.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTHAGAFI, Ismail; EL-METWALY, Nashwa; FARGHALY, Thoraya A. New series of thiazole derivatives: synthesis, structural elucidation, antimicrobial activity, molecular modeling and MOE docking. **Molecules**, v. 24, n. 9, p. 1741, 2019.

CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards
CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. Institute; 2020.

EMAM, Dalia R. et al. Synthesis and evaluation of curcuminoid analogues as antioxidant and antibacterial agents. **Molecules**, v. 22, n. 6, p. 971, 2017.

Global Health Estimates 2016: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2016. Geneva, World Health Organization; 2018.

KOTHA, Raghavendhar R.; LUTHRIA, Devanand L. Curcumin: biological, pharmaceutical, nutraceutical, and analytical aspects. **Molecules**, v. 24, n. 16, p. 2930, 2019.

MERT, Samet et al. Synthesis, structure–activity relationships, and in vitro antibacterial and antifungal activity evaluations of novel pyrazole carboxylic and dicarboxylic acid derivatives. **European journal of medicinal chemistry**, v. 78, p. 86-96, 2014.

MURRAY, Patrick R.; ROSENTHAL, Ken S.; PFALLER, Michel A. **Microbiologia Médica**. 8° edição, Rio de Janeiro: Elsevier, 2017. 848 p.

PANG, Zheng et al. Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa: mechanisms and alternative therapeutic strategies. **Biotechnology advances**, v. 37, n. 1, p. 177-192, 2019.

PIZZUTI, L. PIOVESAN, L. A.; FLORES, A. F. C.; QUINA, F. H.; PEREIRA, C. M. P. Environmentally friendly sonocatalysis promoted preparation of 1-thiocarbamoyl3,5-diaryl-4,5-dihydro-1H-pyrazoles. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.16, p. 728- 731, 2009.

RIZK, Ola H.; SHAABAN, Omaima G.; WAHAB, Abeer E. Abdel. Synthesis of oxadiazolyl, pyrazolyl and thiazolyl derivatives of thiophene-2-carboxamide as antimicrobial and anti-HCV agents. **The Open Medicinal Chemistry Journal**, v. 11, p. 38, 2017.

TESSMANN, Josiane Weber et al. Antitumor potential of 1-thiocarbamoyl-3, 5-diaryl-4, 5-dihydro-1H-pyrazoles in human bladder cancer cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 94, p. 37-46, 2017.

TYAGI, Poonam et al. Bactericidal activity of curcumin I is associated with damaging of bacterial membrane. **PloS one**, v. 10, n. 3, p. e0121313, 2015.

VAN DUIN, David; PATERSON, David L. Multidrug-resistant bacteria in the community: trends and lessons learned. **Infectious Disease Clinics**, v. 30, n. 2, p. 377-390, 2016.

WHO. **Antimicrobial resistance**. World Health Organization, 31 jul. 2020. Acessado em 14 set. 2020. Online. Disponível em: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance