

Avaliação da atividade antibacteriana de compostos químicos da classe Selenitriazóis e Selenilquinolinas contra *Pseudomonas aeruginosa*

MARCELLE OLIVEIRA GARCIA^{1a}; BEATRIZ BOHNS PRUSKI^{2a}; DANIELLE DA SILVA TRENTIN^{2b}; DIEGO ALVES^{2a}; RICARDO FREDERICO SCHUMACHER^{2a}; DAIANE DRAWANZ HARTWIG^{3a}

^{1a}Universidade Federal de Pelotas – marcelle_garcia@hotmail.com

^{2a}Universidade Federal de Pelotas – biapruski@gmail.com

^{2b}Universidade Federal do Rio Grande do Sul – danistrentin@gmail.com

^{2a}Universidade Federal de Pelotas – diego.alves@ufpel.edu.br

^{2a}Universidade Federal de Pelotas – ricardo.schumacher@ufpel.edu.br

^{3a}Universidade Federal de Pelotas – daianehartwig@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de fármacos eficientes no combate a infecções bacterianas revolucionou o tratamento médico, ocasionando a redução drástica da mortalidade causada por doenças microbianas (RANG; DALE; RITTER, 2001). Por outro lado, a disseminação do uso indiscriminado de antibacterianos fez com que as bactérias desenvolvessem mecanismos de escape a estes agentes, com consequente aparecimento de resistência. O fenômeno da resistência bacteriana impõe sérias limitações às opções para o tratamento de infecções bacterianas, representando uma ameaça para a saúde pública (VARALDO, 2002). Existem várias bactérias envolvidas em infecções nosocomiais. *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria ubíqua, patógeno oportunista e que apresenta capacidade de aderir às superfícies formando biofilme (DAVIES, 2003). Diversos isolados clínicos de *P. aeruginosa* apresentam multirresistência a fármacos, e este patógeno é uma das principais causas de infecção hospitalar em todo o mundo, ocupando o primeiro lugar entre os patógenos hospitalares relacionados à pneumonia em unidades de terapia intensiva no Brasil (ROSSI, 2011).

Sendo considerado um problema de saúde pública, se faz necessário o desenvolvimento de estratégias eficientes para controle das infecções causadas por este micro-organismo. Na busca por novas alternativas terapêuticas no tratamento de infecções nosocomiais, podemos destacar os compostos químicos da classe dos triazóis, que têm despertado muito interesse por possuírem uma ampla gama de aplicações, pois possuem uma variedade de atividades biológicas, dentre elas, antifúngica e antibacteriana (YUKSEK et al., 1997; KAHVECI et al., 2008; SUN et al., 2015). Outra classe de compostos químicos que recebe destaque é das quinolinas, descritas como promissoras em termos de propriedades farmacológicas (NIRALWAD; SHINGARE, 2011). Neste sentido, este trabalho teve por objetivo investigar a atividade antibacteriana de compostos químicos contendo os núcleos triazol e quinolina, e ligados a estes, um grupo orgânico de selênio, contra *P. aeruginosa* ATCC 27853.

2. METODOLOGIA

Foi utilizada cepa de *P. aeruginosa* ATCC 27853 da bacterioteca do Laboratório de Biologia Molecular de Micro-organismos, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, do Instituto de Biologia da Universidade Federal de

Pelotas (UFPel). As cepas foram cultivadas em Brain Heart Infusion (BHI) Agar durante 16-18 h à 37°C. A partir deste cultivo foi preparado um inóculo em solução estéril de NaCl 0,9%, de acordo com a escala 1,0 de Mc Farland (3×10^8 CFU/mL), e 80 µL desta suspensão, 116 µL de caldo de triptona de soja (TSB) e 4 µL dos compostos teste diluídos em DMSO (concentrações finais variando de 9 a 500 mg/mL e 2% de DMSO) foram adicionados às placas de 96 cavidades, e estas incubadas por 16-18 h à 37°C. A atividade antibacteriana foi avaliada como a diferença entre a densidade óptica a 630 nm (DO_{630}) no fim (24h) e no início (0h) do período de incubação e as médias aritméticas foram corrigidas para cada composto (subtraindo a DO_{630} sem inóculo da DO_{630} com inóculo para cada tempo de incubação), evitando assim, possível interferência de mudança de cor e/ou precipitação dos compostos ao longo do tempo de incubação.

Dois compostos foram avaliados: um da classe dos selenitriazóis e um da classe das selenilquinolinas. A concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a menor concentração de composto capaz de restringir o crescimento bacteriano para um nível mais baixo do que 0,07 de DO_{630} . Diluições seriadas da CIM foram preparadas e semeadas em placas de ágar Muller-Hinton (MH). Após incubação (16-18 h, 37°C), a contagem foi realizada e o número de unidades formadoras de colônias por mililitros (UFC/ml) foi determinado a fim de avaliar a viabilidade das células bacterianas.

Com base nos dados obtidos na CIM um estudo cinético da atividade antibacteriana foi realizado. Neste ensaio concentrações relativas à CIM, 1/2 CIM, 1/4 CIM e 1/8 CIM foram avaliadas nas mesmas condições descritas acima. A DO_{630} foi medida às 0, 3, 6, 24, 30, 48,52 e 72 h de incubação. Foi feita a leitura da DO_{630} e as médias aritméticas foram corrigidas para cada composto (subtraindo a DO_{630} sem inóculo da DO_{630} com inóculo para cada tempo de incubação), evitando assim, possível interferência de mudança de cor e/ou precipitação dos compostos ao longo do tempo de incubação. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão (DP) de 4 cavidades para cada concentração de composto e para cada tempo de incubação.

Todos os ensaios foram realizados em triplicata e os dados analisados nos softwares Epi Info 6 (Centres for Disease Control, USA) e Prism 5 (Graphpad, USA). O teste *t* de Student foi utilizado para determinar diferença significativa entre os ensaios e o controle não tratado, com nível de significância $P < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para os dois diferentes compostos demonstraram uma CIM de 190 µg/ml para o composto da classe dos selenitriazóis e 320 µg/ml para o da classe das selenilquinolinas. Estes compostos tiveram efeito bacteriostático, determinado na contagem de UFC (na CIM) para a bactéria tratada durante 24 h, ou seja, as contagens (UFC/mL) dos tratamentos foram equivalentes as do controle (bactéria não tratada). Esta atividade bacteriostática dos compostos inibe a curva de crescimento bacteriana, mas as células ainda se mantêm viáveis.

Com base nos resultados da CIM foi feito um estudo cinético da atividade antibacteriana dos dois compostos em diferentes tempos de incubação (Figura 1). Neste experimento, existiu significativa diminuição do crescimento bacteriano para o composto da classe das selenilquinolinas ($P < 0,001$), em comparação com o controle de crescimento não tratado. Nos tempos 24 e 30 h de incubação, todas as quatro concentrações de composto testadas (320, 160, 80 e 40 µg/ml) inibiram o

crescimento de *P. aeruginosa*, sendo que os tratamentos nas concentrações de 320 e 160 µg/ml evidenciavam efeito bacteriostático já nas 6 h de incubação. Este composto da classe das selenilquinolinas na maior concentração testada (320 µg/ml) permaneceu inibindo o crescimento bacteriano até o final do estudo de cinética (72 h). Já o seleniltriazol, testado nas concentrações de 190, 95, 48 e 24 µg/ml, apresentou significativa diferença em seu crescimento somente no tempo 30 h para a concentração de 95 µg/ml ($P < 0,001$), em relação ao controle não tratado. Contudo, as leituras das OD_{630} feitas em 24 h estão bem acima do obtido na CIM, sugerindo que não houve repetibilidade dos ensaios.

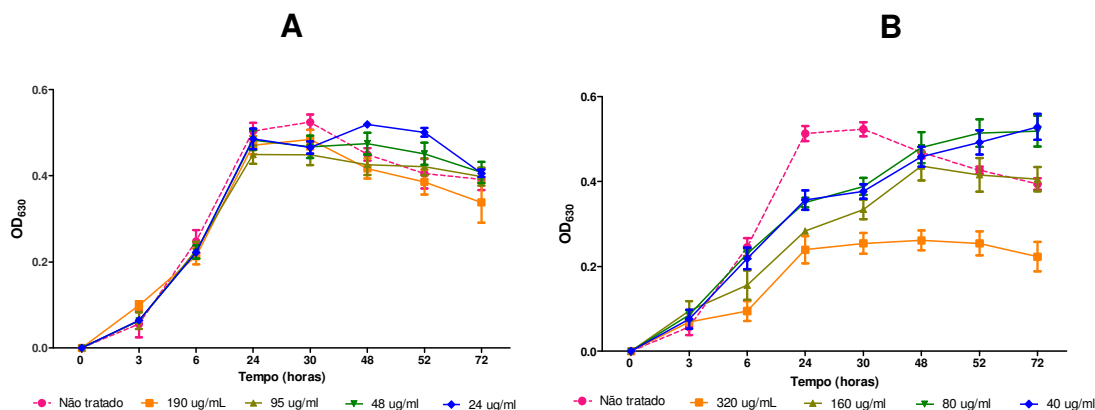


Figura 1: Cinética da atividade antibacteriana de dois diferentes compostos químicos obtida para *P. aeruginosa*. (A) Seleniltriazol. (B) Selenilquinolina.

4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos nesse estudo, podemos concluir que ambos compostos testados demonstraram atividade antibacteriana com inibição no crescimento bacteriano (bacteriostática), embora o composto da classe das selenilquinolinas foi mais eficaz contra *P. aeruginosa* ATCC 27853 quando comparado ao da classe dos seleniltriazóis. Estes achados indicam o potencial antibacteriano de compostos químicos da classe das selenilquinolinas contra *P. aeruginosa*, criando perspectiva para a realização de mais estudos microbiológicos, conduzidos inclusive com isolados clínicos, e para a obtenção de novos compostos derivados desta classe química.

5. REFERÊNCIAS

- DAVIES, D. Understanding biofilm resistance to antimicrobial agents. **Nature Reviews Drug Discovery**, London, n. 2, p. 114-122, 2003.
- KAHVEC, B.; OZIL, M.; MENTESE, E.; BEKIRCAN, O.; BURUK, K. Microwave assisted synthesis and antifungal activity of some new 1H-1,2,4-triazole derivatives. **Journal Organic Chemistry**, Russian, v.44, p.1816-1820, 2008.
- NIRALWAD, K.S.; SHNGATE, B.B.; SHINGARE, M.S. An expeditious room temperature stirring method for the synthesis of isoxazolo [5,4-b] quinolinas. **J. Korean Chem. Soc.**, Coréia, v. 55, n. 5, p. 805-807, 2011.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. **Farmacologia**. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2001.

ROSSI, F. The challenges of antimicrobial resistance in Brazil. **Clinical Infectious Diseases**, São Paulo, v.52, n. 9, p. 1138-1143, 2011.

SUN, N.; JIN, J.; HE, F. Microwave Assisted Synthesis, Antifungal Activity, and DFT Study of Some Novel Triazolinone Derivatives. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1- 7, 2015.

TRENTIN, D.S.; SILVA, D.B.; AMARAL, M.W.; ZIMMER, K.R.; SILVA, M.V.; LOPES, N.P.; GIORDANI, R.B.; MACEDO, A.J. Tannins possessing bacteriostatic effect impair *Pseudomonas aeruginosa* adhesion and biofilm formation. **PlosOne**, v.8, p. 1-13, 2013.

VARALDO, P. E. Antimicrobial resistance and susceptibility testing: an evergreen topic. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Itália, v. 50, n. 1, p. 1-4, 2002.

YUKSEK, H.; DEMIRBAS, A.; IKIZLER, A.; JOHANSSON, C.B.; CELIK, C.; IKIZLER, A.A. Synthesis and antibacterial activities of some 4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones. **Arzneimittel-Forschung**, Lisboa, v.47, n.4, p.405-409, 1997.