

AVALIAÇÃO “IN VITRO” DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO METIL BENZENO SEC-BUTILA TIOSSULFONATO (MBSBT)

PEDRO HENRIQUE FLORES DA CRUZ¹; VITHOR PARADA GARCIA²;
MARCELLE MOURA SILVEIRA³; JULIANO ALEX ROEHR⁴; RODRIGO DE
ALMEIDA VAUCHER⁵; JANICE LUEHRING GIONGO⁶

¹Programa de Pós Graduação em Bioquímica e Bioprospecção UFPel –
pedronerdcruz9@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - UFPel- *paradavithor@gmail.com*

³Universidade Federal de Pelotas - UFPel- *marcellemsilveira@gmail.com*

⁴ Instituto Federal Sul Rio Grandense- IFSUL-*julianoroehrs@gmail.com*

⁵Universidade Federal de Pelotas - UFPel - *rodvaucher@hotmail.com*

⁶Universidade Federal do Rio Grande - *janicegiongo@hotmail.com*

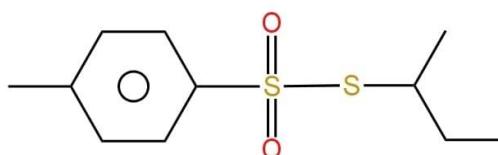
1. INTRODUÇÃO

A resistência bacteriana é uma grande ameaça para a saúde humana em escala mundial. Só no ano de 2019, bactérias resistentes foram responsáveis por 1,27 milhões de mortes. As principais espécies responsáveis por essas mortes são *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* (MURRAY *et al.* 2022).

Entre as formas de reduzir essa resistência, estão a melhora do saneamento básico, a utilização de vacinas, uso consciente de compostos antimicrobianos, seja na agricultura, pecuária ou medicina, melhores políticas sociais e globais e a pesquisa de novos compostos ou tecnologias capazes de eliminar esses microrganismos (HERNANDO-AMADO *et al.* 2019). Na pesquisa de novos ativos ou fármacos, uma via muito promissora são os compostos a base de enxofre. Entre esses, os que demonstram ação antimicrobiana, geralmente possuem uma ligação enxofre-enxofre, alguns desses compostos podem ser encontrados em plantas como alho e cebola e são estudadas desde a década de 60, já outros são sintéticos (BLUME *et al.* 2023).

Os compostos sintéticos contendo enxofre, já são utilizados em antimicrobianos como as sulfonamidas, tioéteres e penicilina (FENG *et al.*, 2016). Entretanto, novas moléculas sintéticas estão sendo amplamente estudadas e as principais são dissulfetos, tioossulfinatos e tioossulfonatos (BLUME *et al.* 2023). O metil benzeno sec-butila tioossulfonato (MBSBT) (Figura 1) é um composto promissor e pode ser uma alternativa a resistência bacteriana. Devido a isso, este trabalho objetivou estudar o seu potencial antimicrobiano, através da realização da concentração inibitória mínima e da concentração bactericida mínima.

Figura 1: MBSBT



2. METODOLOGIA

Bactérias:

Para este trabalho foram utilizadas as bactérias: *Acinetobacter baumannii* Atcc: 19606, *Enterobacter hormaechei* Atcc: 700323 *Enterococcus faecalis* Atcc: 51299, *Escherichia coli* Atcc: 25922, *Klebsiella pneumoniae* Newp 0083, *Pseudomonas aeruginosa* Atcc: 27853 e *Staphylococcus aureus* Atcc: baa 1026 todas disponíveis na bacterioteca do Laboratório de Pesquisa de Bioquímica e Biologia Molecular.

Soluções:

Para o presente estudo foi utilizado o composto MBSBT e 100 mg do mesmo foram adicionados a 1 ml de DMSO. Para a solução de inóculo bacteriano, foi utilizado 1mL de salina estéril sendo adicionadas colônias bacterianas até chegar a 0.5 na escala de MacFarland.

Disco-Difusão:

O método utilizado foi adaptado do CLSI-M100. Foi utilizado o agar Muller-Hinton (MH), previamente semeado com inóculo bacteriano a 0,5 da escala de MacFarland. Foram fixados discos de papel com 10 uL de solução de MBSBT e levados à estufa durante 20h. Após se realizou a leituras dos halos e os mesmos foram medidos em mm.

Concentração inibitória mínima (MIC):

Foram utilizadas placas estéreis de 96 poços, com aproximadamente 100 uL de caldo MH por poço, 10 uL do inóculo bacteriano a 0,5 da escala de MacFarland e foram adicionados também 100 uL de solução de MBSBT. Na sequência foi realizada diluição seriada. A última coluna da placa foi utilizada para os controles, no positivo apenas caldo MH e inóculo e no controle negativo apenas o caldo MH. A placa foi levada à estufa durante 20h e após o tempo estabelecido a MIC foi verificada, sendo considerada o último poço onde não é possível ver crescimento bacteriano.

Concentração bactericida mínima (MBC):

Na concentração bactericida mínima são semeados os poços da placa de 96 poços da MIC em ágar MH, e a MBC é a menor concentração onde não há crescimento bacteriano visível.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir de uma triagem frente a alguns importantes microrganismos, foi possível observar a capacidade antimicrobiana do MBSBT. Os resultados obtidos no Disco Difusão estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1:

Microrganismo	Halo (mm)
<i>A. baumannii</i>	10
<i>E. hormaechei</i>	10
<i>E. faecalis</i>	23
<i>E. coli</i>	10
<i>K. pneumoniae</i>	10
<i>P. aeruginosa</i>	10
<i>S. aureus</i>	35

Os microrganismos que foram utilizados para esse experimento foram definidos a partir de uma lista da OMS, chamada de ESKAPE, acrônimo para as seguintes bactérias: *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter spp.*. Estas bactérias são consideradas as mais resistentes e emergentes (HUEMER et al., 2020).

Com a verificação de ação do composto frente a todas as bactérias testadas, foram executados os ensaios de MIC e MBC. Os resultados são apresentados na tabela 2.

Tabela 2:

Microrganismo	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
<i>A. baumannii</i>	5,954	23,815
<i>E. hormaechei</i>	1,488	1,488
<i>E. faecalis</i>	0,186	0,372
<i>E. coli</i>	1,488	1,488
<i>K. pneumoniae</i>	5,954	11,907
<i>P. aeruginosa</i>	5,954	23,815
<i>S. aureus</i>	0,0930	0,186

Estudos que utilizaram o tiosulfonato propil propano do composto Phyto-L, derivado do alho, frente a diferentes cepas de *E. coli*, encontraram a MIC de 2,5 uL/mL contra aproximadamente 65% das cepas testadas, concentração de 1,5 uL/mL contra 34% das cepas totais e 5uL/mL contra as cepas restantes (D'ÁMICO et al., 2023). Estes resultados mostraram que esse grupo de composto vem sendo estudado e que possuem um efeito antimicrobiano.

Outro trabalho também demonstra o efeito do tiosulfonato propil propano frente a bactérias gram-negativas resistentes. Os pesquisadores encontraram valores de MIC frente a *K. pneumoniae*, *E. coli* e *A. baumannii* que variam entre 64-128 mg/L (PUERTO et al., 2024) o que corrobora com os resultados encontrados neste trabalho, demonstrando que compostos tiosulfonatos podem ser uma promissora fonte antimicrobiana.

Uma possível explicação para a inibição do crescimento bacteriano com a utilização desses compostos, se deve a capacidade dos tiosulfonatos serem antimetabólicos e ao reagirem com moléculas do grupo tiol, acabam gerando radicais livres que levam a destruição das bactérias (PUERTO et al., 2024; BLUME et al., 2023; D'ÁMICO et al., 2023).

4. CONCLUSÕES

Com o emergente problema da resistência bacteriana, a necessidade de novos compostos que podem se tornar futuros antimicrobianos, estimula as pesquisas nesta área. Com o presente trabalho foi possível concluir que o composto MBSBT possui concentrações capazes de gerar inibição do crescimento bacteriano, além de serem definidas as concentrações onde o composto passa a ser bactericida.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BLUME, L., LONG, T. E., TUROS, E. Applications and opportunities in using disulfides, thiosulfinate, and thiosulfonates as antibacterials. **International journal of molecular sciences**, Vol 24, pág 8659-8670, 2023.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 32nd ed. CLSI supplement M100 (ISBN 978-1-68440-135-2 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, 2022.

D'ÁMICO, F.; CASALINO, G.; DINARDO, F. R. et al. Antimicrobial efficacy of phyto-L, thiosulfonate from *Allium sp.* Containing supplement, against *Escherichia coli* strains from rabbits. **Veterinary sciences**, Vol 10, Nº 7, pág 411-422, 2023.

FENG, M., TANG, B., LIANG, S. H., et al. Sulfur containing scaffolds in drugs: synthesis and application in medicinal chemistry. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, Vol 16, pág 1200-1216, 2016.

HERNANDO-AMADO, S.; COQUE, T. M.; BAQUERO, F. et al. Defining and combating antibiotic resistance from One Health and Global Health perspectives. **Nature microbiology**, Vol 4, pág 1432-1442, 2019.

HUEMER, M.; SHAMBAT, S. M.; BRUGGER, S. D.; ZINKERNAGEL, A. S. Antibiotic resistance and persistence-implications for human health and treatment perspectives. **Embo reports**, V. 21, Nº 12, pág 510-534, 2020.

MURRAY, C. J. L.; IKUTA, K. J.; SHARARA, F. et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The Lancet**, Ed. 399, pág 629-655, 2022.

PUERTO, A. S.; COLLADO, L. C.; LAGRILLIERE, E. R. et al. Activity of propyl-propane-thiosulfinate and propyl-propane-thiosulfonate against carbapenem-resistant gram-negative bacteria. **Journal of pathology, microbiology and immunology**. Ed 132, pág 581-593, 2024.