

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: “Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais”

ISSN: 1983-8174

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE HETEROCICLOS NITROGENADOS EM CEPAS MULTIRRESISTENTES

José Bezerra de Araújo Neto¹, Maria Milene Costa da Silva², Cícera Laura Roque Paulo², Ricardo Gomes dos Santos Nunes², Cícera Datiane de Moraes Oliveira-Tintino³, Luiz Everson da Silva⁴, Sandro Lucio Mireski⁵, Michele Caroline Nasato⁵, Saulo Relison Tintino⁶

Resumo: O presente trabalho objetivou avaliar a atividade antibacteriana e modificadora da ação de antibióticos de compostos heterocíclicos nitrogenados em cepas multirresistentes. Para o ensaio de concentração inibitória mínima (CIM), realizou-se a microdiluição em caldo, utilizando os compostos: 7-Acetamido-1,8-naftiridin-4(1H)-ona e 3-trifluormetil-N-(5-cloro-1,8-naftiridin-2-il)-benzenosulfonamida com cepas multirresistentes de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Nos ensaios da atividade modificadora de antibióticos, testou-se os compostos citados, em concentração sub-inibitória (CIM/8), associados a norfloxacin, ofloxacin e lomefloxacin. Os compostos não demonstraram atividade antibacteriana direta (CIM \geq 1024 $\mu\text{g/ml}$). Porém, quando associados às fluoroquinolonas, diminuíram a concentração dos antibióticos, exceto 3-trifluormetil-N-(5-cloro-1,8-naftiridin-2-il)-benzenosulfonamida que associada à lomefloxacin em *P. aeruginosa* não alterou sua concentração. Conclui-se que os heterociclos nitrogenados podem ser aliados na antibioticoterapia, driblando a resistência bacteriana.

Palavras-chave: Sinergismo. Fluoroquinolonas. Resistência Bacteriana.

1. Introdução

Globalmente enfrenta-se um quadro crítico que é a resistência bacteriana a múltiplos antibióticos. As bactérias podem ter mecanismos intrínsecos de resistência, decorrentes de caracteres estruturais e funcionais próprios, ou mecanismos adquiridos, resultantes de mutações em genes cromossômicos e transferência horizontal de genes (BLAIR et al., 2015). Entre as bactérias multirresistentes mais recorrentes clinicamente, estão: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (WOODFORD et al., 2011; RICE, 2006).

Diante da ocorrência de bactérias multirresistentes, são demandados novos compostos que possuam eficiência na atividade antibacteriana. Assim, uma das classes de compostos que possuem atividade biológica e é utilizada para fins terapêuticos é a dos compostos heterocíclicos (NASATO, 2017). Os

1 Universidade Regional do Cariri, e-mail: jose.bezerra456@gmail.com

2 Universidade Regional do Cariri - URCA

3 Universidade Federal do Pernambuco - UFPE

4 Universidade Federal do Paraná - UFPR

5 Fundação Universidade Regional de Blumenau - FURB

6 Universidade Regional do Cariri, e-mail: saulorelison@gmail.com

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: “Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais”

ISSN: 1983-8174

heterociclos constituem uma classe de compostos de grande importância para a vida, compondo mais da metade de todos os compostos conhecidos, com ênfase para fármacos, vitaminas e princípios ativos em plantas e organismos marinhos (SILVA, 2006).

Dentre os compostos com atividade biológica, que são promissores agentes farmacêuticos, 62% referem-se a heterocíclicos, destes, 91 % possuem nitrogênio (SILVA, 2012). Assim, entre os compostos heterocíclicos nitrogenados estão as naftiridinas, que como enunciado por Litvinov (2004), as naftiridinas, também chamadas de piridopiridinas, são compostos heterocíclicos diazanaftalênicos que possuem um átomo de nitrogênio em cada anel, tendo como compostos precursores as naftiridinonas.

2. Objetivo

Avaliar a atividade antibacteriana e modificadora da ação de antibióticos de compostos heterocíclicos nitrogenados em cepas multirresistentes.

3. Metodologia

Foram utilizados os compostos: 7-Acetamido-1,8-naftiridin-4(1H)-ona e 3-trifluorometil-N-(5-cloro-1,8-naftiridin-2-il)-benzenosulfonamida e as fluoroquinolonas: lomefloxacina, norfloxacina e ofloxacina, adquiridas da SIGMA Chemical Co., St. Louis, U.S.A. E as cepas multirresistentes: *Escherichia coli* EC-06, *Staphylococcus aureus* SA-10 e *Pseudomonas aeruginosa* PA-24, fornecidas pelo Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular.

Para a realização da CIM, foram preparados tubos Eppendorf contendo 900 µl do meio de cultura líquido BHI (Brain Heart Infusion) a 10% e 100 µl do inóculo de cada cepa. O conteúdo foi distribuído em placas de microdiluição de 96 poços, sendo adicionados 100 µl em cada poço, em sentido alfabético. A microdiluição seriada foi realizada utilizando-se 100 µl dos compostos, até o penúltimo poço, de modo que a concentração variou de 512 a 8 µg/ml.

Para os testes de ação modificadora de antibióticos, em cada tubo Eppendorf utilizou-se 1162 µl de BHI 10%, 150 µl do inóculo de cada cepa e um volume de cada composto correspondente à concentração sub-inibitória (CIM/8 = 128 µg/ml). Os controles de modulação foram preparados utilizando-se apenas 1350 µl do meio BHI 10% e 150 µl do inóculo. O conteúdo dos tubos foi distribuído em placas de microdiluição de 96 poços, 100 µl em cada poço, em sentido numérico. A microdiluição foi realizada com 100 µl de cada antibiótico, até o penúltimo poço, de modo que a concentração variou de 512 a 0,5 µg/ml.

Todos os testes foram realizados em triplicata e as placas incubadas em estufa bacteriológica por 24h a 37 °C. Em ambos os ensaios, após o período de 24h realizou-se a leitura com a resazurina. A análise estatística dos resultados dos testes foi realizada utilizando-se o programa estatístico GraphPad Prism 5.0.

4. Resultados

A atividade antibacteriana dos compostos: 7-Acetamido-1,8-naftiridin-4(1H)-ona e 3-trifluorometil-N-(5-cloro-1,8-naftiridin-2-il)-benzenosulfonamida, obtida no teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM), contra as cepas

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"

ISSN: 1983-8174

multirresistentes de *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*, indicaram uma concentração ≥ 1024 $\mu\text{g/ml}$, não havendo relevância clínica na concentração demonstrada. Entretanto, quando associados aos antibióticos, os compostos demonstraram sinergismo, diminuindo a concentração das fluoroquinolonas capaz de inibir o desenvolvimento bacteriano (Figuras 01 e 02).

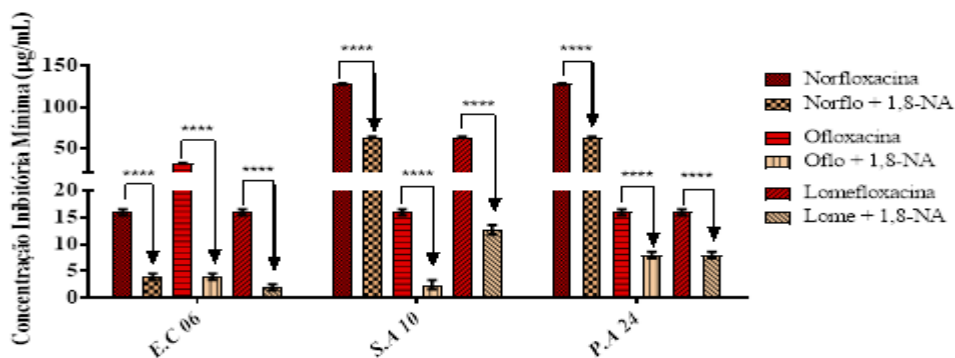


Figura 01. Atividade modificadora de antibióticos de 7-Acetamido-1,8-naftiridin-4(1H)-ona (1,8-NA) com norfloxacin, ofloxacin e lomefloxacin contra *E. coli* 06, *S. aureus* 10 e *P. aeruginosa* 24.

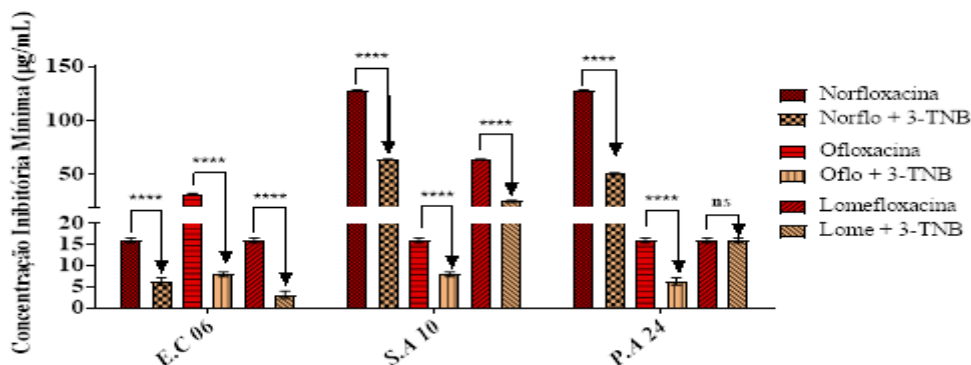


Figura 02. Atividade modificadora de antibióticos de 3-trifluormetil-N-(5-cloro-1,8-naftiridin-2-il)-benzenosulfonamida (3-TNB) com norfloxacin, ofloxacin e lomefloxacin contra *E. coli* 06, *S. aureus* 10 e *P. aeruginosa* 24.

Os compostos heterocíclicos nitrogenados, por seu amplo espectro de ação, têm concentrados muitos estudos de bioatividade, mostrando um importante valor na química medicinal. Portanto, os heterociclos nitrogenados podem ter um importante papel na síntese de novos compostos, os quais já mostraram apresentar grande potencial para a análise da relação entre a suas estruturas moleculares com a atividade biológica associada. Assim como as transformações necessárias na estrutura química desses compostos, para se obter maior eficácia na atividade terapêutica (NASATO, 2017).

Os resultados obtidos por Abu-Melha et al. (2019) em seu estudo, que buscou avaliar o potencial antimicrobiano de heterociclos sintéticos que

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: “Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais”

ISSN: 1983-8174

continham nitrogênio em sua estrutura, corroboram os resultados da CIM do presente trabalho. Pois a ação antibacteriana direta com relevância clínica (HOUGHTON et al., 2007), não foi detectada em cepas bacterianas gram-positivas e gram-negativas.

Tendo em vista os mecanismos de ação dos antibióticos associados aos compostos testados, o efeito sinérgico observado nos ensaios da atividade modificadora de antibióticos de 7-Acetamido-1,8-naftiridin-4(1H)-ona e 3-trifluormetil-N-(5-cloro-1,8-naftiridin-2-il)-benzenosulfonamida (Figuras 01 e 02), encontra justificativa, principalmente, na relação estabelecida entre a estruturas químicas e o modo de ação destes compostos com as dos antibióticos associados, mais uma vez trazendo à tona o viés dos heterociclos nitrogenados.

De modo que a 7-Acetamido-1,8-naftiridin-4(1H)-ona, uma naftiridinona, é um composto heterocíclico empregado na síntese de 1,8-naftiridinas, classe à qual pertence a 3-trifluormetil-N-(5-cloro-1,8-naftiridin-2-il)-benzenosulfonamida (GARCIA, 2009). E foi a partir da 1,8-naftiridina que foi sintetizado o ácido nalidíxico, composto pioneiro das quinolonas, que com a inserção do flúor deu origem ao grupo das fluoroquinolonas (BREHMER, 2002).

Conforme apresentado por Singh et al. (2015), em seu estudo sobre um derivado da 1,5-naftiridinona, estes compostos podem inibir a topoisomerase bacteriana, causando a morte do organismo. Dentre outros estudos envolvendo as atividades biológicas do sistema da 1,8-naftiridina, Leonard et al. (2002), descreveu o potencial antimicrobiano desses compostos. A combinação com a sulfonamida, amplamente utilizada no combate a bactérias, potencializa seu espectro de ação antibacteriana (MARTINEZ et al., 2019).

Sabe-se que associação entre estruturas químicas como fármacos e substâncias isoladas, pode resultar na redução da bioatividade de fármacos, por exemplo, por competição pelo sítio de ligação ao microorganismo, quando a ligação de um inibe a dos restantes (BRUNTON et al., 2008). Isso pode explicar o resultado da combinação do antibiótico lomefloxacina com a naftiridina: 3-trifluormetil-N-(5-cloro-1,8-naftiridin-2-il)-benzenosulfonamida, em *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 02), não chegando a haver um efeito antagônico, mas um resultado neutro do composto testado.

5. Conclusão

Conclui-se que os compostos heterocíclicos testados: 7-Acetamido-1,8-naftiridin-4(1H)-ona e 3-trifluormetil-N-(5-cloro-1,8-naftiridin-2-il)-benzenosulfonamida, não se apresentam como produtos eficazes no combate à infecções bacterianas por ação direta em cepas multirresistentes de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, pois a concentração necessária pode apresentar toxicidade mais elevada. No entanto, percebe-se que a associação dos compostos com os antibióticos da classe das fluoroquinolonas apresentou resultados satisfatórios, na maior parte dos ensaios, podendo auxiliar a driblar a resistência bacteriana a antibióticos.

6. Agradecimentos

À Universidade Regional do Cariri – URCA pelo financiamento da pesquisa.

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: “Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais”

ISSN: 1983-8174

7. Referências

- ABU-MELHA, S. *et al.* Synthesis and Biological Evaluation of Some Novel Thiazole-Based Heterocycles as Potential Anticancer and Antimicrobial Agents. **Molecules**, v. 24, n. 539, p. 01-15, 2019.
- BLAIR, J. M. A. *et al.* Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nature Reviews**, v. 13, p. 42-52, 2015.
- BREHMER, M. C. **Síntese e reatividade das cloro 1,6- e 1,5-naftiridinas e o estudo de suas potencialidades**. 2002. 91f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- BRUNTON, L. *et al.* **Goodman & Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics**. McGraw-Hill, San Diego, California, 2008.
- GARCIA, D. N. **Síntese e avaliação leishmanicida e tripanocida de derivados de 1,8 naftiridinas**. 2009. 71f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Universidade Regional de Blumenau, Blumenau.
- HOUGHTON, P. J. *et al.* Uses and abuses of in vitro tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. **J Ethnopharmacol.**, v. 110, n. 03, p. 391-400, 2007.
- LEONARD, J. T. *et al.* Synthesis and pharmacological activities of 1,8-naphthyridine derivatives. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 25, n. 6, p. 798-802, jun. 2002.
- LITVINOV, V. P. Chemistry and biological activities of 1,8-naphthyridines. **Russian Chemical Reviews**, v. 73, n. 07, p. 637-669, 2004.
- MARTINEZ, S. R. *et al.* Identification of the potential biological target of N-benzenesulfonyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline compounds active against gram-positive and gram-negative bacteria. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, p. 01-10, 2019.
- NASATO, M. C. **1,8-naftiridinas sulfonamídicas: obtenção, caracterização e avaliação antiprotozoária e antifúngica**. 2017. 133 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Regional de Blumenau, Blumenau.
- RICE, L. B. Antimicrobial resistance in gram-positive bacteria. **The American Journal of Medicine**, v. 119, p. 511-519, 2006.
- SILVA, A. D. **Síntese e Caracterização de Sulfonamidas Piridínicas e 1,8-Naftiridinas com Potencial Biológico**. 2012. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica). Fundação Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, 2012.
- SILVA, L. E. **Heterociclos Aromáticos Nitrogenados - Síntese e Potencial Quimioterápico**. 2006. Tese (Doutorado em Química Orgânica). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.
- SINGH, S. B. Tricyclic 1,5-naphthyridinone oxabicyclooctane-linked novel bacterial topoisomerase inhibitors as broad-spectrum antibacterial agents-SAR of left-hand-side moiety (Part-2). **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, n. 09, p. 1381-1385, 2015.
- WOODFORD, N. *et al.* Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. **FEMS Microbiol Rev**, v. 35, 736–755, 2011.