



Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG
Instituto de Ciências Biológicas - Departamento de Microbiologia

DANIELLE LETÍCIA DA SILVA

ATIVIDADE DE COMPOSTOS NATURAIS E SINTÉTICOS
CONTRA FUNGOS DE INTERESSE MÉDICO

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Aparecida de Resende Stoianoff

Co-orientadores: Prof. Dr. Ângelo de Fátima
Prof^a. Dr^a Cleide Viviane Buzanello Martins

BELO HORIZONTE
2013

DANIELLE LETÍCIA DA SILVA

**ATIVIDADE DE COMPOSTOS NATURAIS E SINTÉTICOS
CONTRA FUNGOS DE INTERESSE MÉDICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Microbiologia

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Maria Aparecida de Resende
Stoianoff
Universidade Federal de Minas Gerais.

Co-orientadores:

Prof. Dr. Ângelo de Fátima.
Universidade Federal de Minas Gerais.

Prof^a. Dr^a Cleide Viviane Buzanello Martins.
Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

BELO HORIZONTE

2013

Meus sinceros agradecimentos

- A Deus, por guiar meu caminho e permitir a concretização dos meus sonhos.
- Aos meus pais, Angela e Márcio, pelas provas cotidianas de amor incondicional, pelos valores morais transmitidos e por sempre apoiarem minhas escolhas.
- Aos meus irmãos, também pelo amor, incentivo e compreensão.
- À minha afilhada, Camila, pelos momentos de brincadeira e leveza proporcionados ao longo do doutorado.
- À Luna, que há nove anos me recebe com alegria invariavelmente todos os dias, e me faz abrir um sorriso mesmo nos dias mais difíceis.
- À Cidinha, que me recebeu no laboratório ainda no final da graduação, por ter me orientado e confiado em meu trabalho também no mestrado e no doutorado, pelas oportunidades oferecidas ao longo dos anos e pelo exemplo de ética profissional.
- Aos meus co-orientadores, Ângelo e Cleide, por se fazerem sempre presentes e disponíveis a ajudar ao longo destes quatro anos.
- Ao professor Daniel também pela disponibilidade de ajudar, em especial na experimentação animal.
- À Thais, pela convivência e ensinamentos fora e dentro do laboratório (também pela paciência quando eu dizia que queria fazer “só mais um teste” para ver se o experimento dava certo).
- À Lud Baltazar pela troca de confidências e por sempre “me dar uma luz” nos momentos difíceis, estando sempre disposta a ajudar.
- À Ju, pela paciência e prestatividade em ajudar, principalmente nos experimentos com animais.
- À Dri pela sinceridade e momentos de boas risadas.
- Às colegas do “Quarteto Fantástico”, também conhecido como “las mariposas”, pelos bons momentos vividos no laboratório e nas viagens.

- Aos demais colegas do Laboratório de Micologia, pela boa convivência diária e por mostrarem, na prática, o significado de “trabalho em equipe”.
- Ao Talles, por ceder de seu tempo às vésperas de sua defesa para colaborar com a análise histopatológica.
- À Luana, pelo auxílio com as dosagens de citocinas.
- Ao Cleiton, pela síntese das aldiminas testadas neste trabalho.
- À Luzia, por ceder a curcumina encapsulada e por sempre estar disposta a ajudar.
- A todos os professores do departamento, pelos ensinamentos em disciplinas e palestras.
- Aos membros das bancas examinadoras do projeto, exame de qualificação e defesa por terem prontamente aceito nosso convite e pelas considerações, que contribuíram para a melhoria do trabalho.
- Aos funcionários da secretaria, por serem sempre solícitos na resolução de eventuais problemas.
- À CAPES, pela bolsa concedida para a realização do doutorado.

“Eu atravesso as coisas – e no meio da travessia não vejo! – só estava era entretido na idéia dos lugares de saída e de chegada. Assaz o senhor sabe: a gente quer passar um rio a nado, e passa; mas vai dar na outra banda é num ponto muito mais embaixo, bem diverso do em que primeiro se pensou.”

João Guimarães Rosa, 1956

RESUMO

É crescente a incidência das infecções fúngicas nas últimas décadas. O limitado número de antifúngicos disponíveis associado à resistência cada vez mais comum a eles tornam importante a busca por novos compostos com atividade antifúngica. A curcumina, um composto isolado do açafrão, apresenta atividade anti-inflamatória, antitumoral e antimicrobiana. Porém, não é hidrossolúvel e tem baixa biodisponibilidade. As aldiminas (bases de Schiff) são compostos com atividades biológicas descritas, mas poucos estudos se direcionam à atividade antifúngica. Foram avaliadas as atividades da curcumina, curcumina encapsulada em goma arábica e aldiminas contra fungos de interesse médico. A curcumina apresentou atividade contra diversos fungos. Apesar de apresentar atividade contra algumas espécies, a curcumina encapsulada não foi mais ativa que o composto puro. A maioria dos compostos apresentou atividade fungicida. A interação da curcumina com fluconazol *in vitro* foi do tipo indiferente. A curcumina foi eficaz na inibição da viabilidade dos biofilmes em concentrações de 2 a 4 vezes a concentração inibitória mínima (CIM), inibindo também a biomassa de *C. gattii* na sua CIM. A curcumina encapsulada inibiu significativamente atividade e biomassa dos biofilmes em, no máximo, duas vezes a CIM. Entre as aldiminas destacaram-se aquelas que possuem hidroxila na posição orto da imina, em especial **GQOB 3D3** (CIM de até 2 µg/ml). **GQOB 3E6** e **GQOB 3D3** foram as mais eficazes em inibir a viabilidade dos biofilmes, enquanto **GQOB 3E3** foi a menos eficaz. De maneira geral, a biomassa dos biofilmes foi mais sensível às aldiminas, sendo inibida na maioria das vezes em sua CIM. A aldimina **GQOB 3D3** foi a que se mostrou menos tóxica a células VERO (IC₅₀ > 250 µg/ml), sendo selecionada para teste em modelo murino de criptococose, tendo, porém, se mostrado tóxica aos animais. Por outro lado, a curcumina, fluconazol e a combinação de ambos foram capazes de reduzir a carga fúngica nos pulmões e cérebro dos animais, assim como melhorar o estado geral dos mesmos no teste de avaliação do comportamento. A curcumina, portanto, se mostrou um promissor agente contra a criptococose. Estudos posteriores são necessários para a determinação dos melhores parâmetros de sua administração.

ABSTRACT

Curcumin showed activity against several fungi. Despite showing activity against some species, encapsulated curcumin was not more active than the pure compound. Most of the compounds showed fungicidal activity. The combination of curcumin and fluconazole *in vitro* was indifferent. It was also evaluated the interference of the compounds in biomass and viability of biofilm of *Cryptococcus* spp. It was found that curcumin is effective in inhibiting the viability of the biofilms in concentrations from 2 to 4 times the minimal inhibitory concentration (MIC), also inhibiting the biomass *C. gattii* in their MIC. The encapsulated curcumin significantly inhibited biofilm biomass and activity in, at most, twice the MIC. Among the aldimines, **GQOB 3E6** and **GQOB 3D3** were the most effective in inhibiting the viability of the biofilm, while GQOB 3E3 was less effective. In general, the biomass of biofilm was most sensitive to aldimines, being inhibited most times in their MIC. The aldimine **GQOB 3D3** was the least toxic to VERO cells ($IC_{50} >250 \mu\text{g/ml}$) and were selected for testing in a murine model of cryptococcosis. However, this molecule showed to be toxic to animals. On the other hand curcumin, fluconazole and the combination of both were able to reduce fungal load in the lungs and brains of animals, as well as improving the general state of the same in the behavioral evaluation test. Curcumin, therefore, showed to be a promising agent against cryptococcosis. Further studies are needed to determine the best parameters for its administration.