



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de São José do Rio Preto

Paulo de Tarso da Costa

**Síntese, atividade antimicrobiana e toxicidade de curcuminoides  
tiofênicos**

São José do Rio Preto  
2024

Paulo de Tarso da Costa

**Síntese, atividade antimicrobiana e toxicidade de curcuminoides  
tiofênicos**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof. Dr. Luis Octavio Regasini  
Coorientadora: Prof. Dr. Margarete Teresa  
Gottardo de Almeida

São José do Rio Preto  
2024

C837s Costa, Paulo de Tarso da  
Síntese, atividade antimicrobiana e toxicidade de curcuminoides  
tiofênicos / Paulo de Tarso da Costa. -- São José do Rio Preto, 2024  
84 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),  
Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio  
Preto

Orientador: Luis Octavio Regasini

Coorientadora: Margarete Teresa Gottardo de Almeida

1. Microbiologia. 2. Antifúngico. 3. Curcumina. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade  
Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto.

Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Paulo de Tarso da Costa

**Síntese, atividade antimicrobiana e toxicidade de  
curcuminoides tiofênicos**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

**Comissão Examinadora**

Prof. Dr. Luis Octavio Regasini  
UNESP – Campus de São José do Rio Preto  
Orientador

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jupyraryara Jandyra de Carvalho Barros  
Universidade Federal de Catalão

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marcia Regina von Zeska Kress  
Universidade de São Paulo

São José do Rio Preto  
08 de Março de 2024

" Growin' like a Baobab tree

Of life on fertile ground, ancestors put me on game"

- KNOWLES, B. Black Parade (2019)

## AGRADECIMENTOS

O caminho para a elaboração deste trabalho não foi percorrido apenas por mim; longe disso. Uma imensa rede de apoio tornou possível que eu me tornasse o primeiro da minha família a cursar graduação e agora pós-graduação. A todos que caminharam ao meu lado nessa jornada, expresso minha profunda gratidão e dedico este trabalho ao nosso esforço coletivo.

À minha mãe, Alaides da Conceição Santos, cuja força admirável construiu a base para que eu pudesse receber a melhor educação e suporte possível.

À minha irmã, Adilene Santos Pereira, que esteve comigo desde o início e foi a primeira a me mostrar a importância da educação.

Ao meu irmão, Fernando Santos Pereira, que me viu crescer, me guiou e me apoiou até hoje.

Aos meus sobrinhos, Davi Miguel e Enzo Emanuel, que, apesar da distância, caminham comigo a cada passo.

Ao meu orientador, Dr. Luis Octávio Regasini, pela inspiração como profissional, pela amizade e pelos ensinamentos acadêmicos e pessoais. Ele me mostrou que o ponto de partida fala sobre a dificuldade do caminho, mas não sobre o destino.

À professora Dr<sup>a</sup> Jupyracyara Jandyra de Carvalho Barros, por fazer parte desta banca, mas também pela primeira oportunidade, pela amizade cultivada, pelo afeto compartilhado e por me inspirar com sua sabedoria e bondade, motivando-me todos os dias a ser a melhor pessoa que posso ser.

A todos os meus colegas do Laboratório de Antibióticos e Quimioterápicos que me acolheram, ensinaram, ajudaram e tornaram este trabalho possível - pessoas completamente diferentes e, ao mesmo tempo, igualmente especiais.

A Universidade Federal de Catalão (UFCat) e ao Laboratório de Bioquímica e Microbiologia (LABIM) pela minha formação e por todas as experiências que tornaram esse trabalho possível.

Ao IBILCE e todos seus funcionários.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”

## RESUMO

As infecções fúngicas representam um desafio global de saúde pública devido à sua ampla incidência e ao seu risco epidemiológico. A diversidade de agentes etiológicos dessas infecções impõe uma ameaça significativa à saúde e segurança alimentar em todo o mundo. Especialmente preocupante é a crescente incidência dessas infecções em indivíduos imunocomprometidos, destacando a necessidade urgente de desenvolvimento de agentes antifúngicos novos, especialmente contra as infecções sistêmicas, incluindo as do Sistema Nervoso Central, que enfrentam desafios devido à resistência aos fármacos. Neste contexto, a curcumina e os curcuminoides emergem como promissores devido às suas propriedades antimicrobianas, impulsionando a investigação de sua aplicabilidade clínica. Esse estudo teve como objetivo avaliar as propriedades químicas e biológicas de curcuminoides monocetônicos e sua potencial aplicação terapêutica. Os resultados revelaram que os análogos tiofênicos apresentaram maior viabilidade sintética em comparação aos análogos benzênicos, requerendo menos etapas de purificação. Além disso, não apresentaram atividade contra bactérias ácido lácticas (BAL), sem inibição do crescimento a 500 µg/mL. Os curcuminoides tiofênicos exibiram atividade antifúngica similar aos seus análogos benzênicos, com uma concentração mínima inibitória (CIM) contra *Candida albicans* (ATCC 14053), *Cryptococcus gattii* (Isolado Clínico) e *Trichophyton* sp. (Isolado Clínico) variando de 1,9 µg/mL a 62,5 µg/mL, sugerindo que esses análogos estabelecem uma relação bioisostérica clássica de anéis. Esses resultados destacam o potencial dos análogos tiofênicos como candidatos promissores para o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos, oferecendo características *druglikeness* adequadas, incluindo os parâmetros físico-químicos, farmacocinéticos e farmacodinâmicos.

**Palavras-chave:** Antifúngico. Curcumina. *Candida albicans*. *Cryptococcus gattii*. *Trichophyton* sp.

## ABSTRACT

Fungal infections represent a global public health challenge due to their widespread incidence and epidemiological risk. The diversity of etiological agents of these infections poses a significant threat to health and food safety worldwide. Of particular concern is the increasing incidence of these infections in immunocompromised individuals, highlighting the urgent need for the development of new antifungal agents, especially against systemic infections, including those of the Central Nervous System, which face challenges due to drug resistance. In this context, curcumin and curcuminoids emerge as promising due to their antimicrobial properties, driving research into their clinical applicability. This study aimed to evaluate the chemical and biological properties of monocetonic curcuminoids and their potential therapeutic application. The results revealed that thiophene analogs showed greater synthetic viability compared to benzene analogs, requiring fewer purification steps. Additionally, they showed no activity against lactic acid bacteria (LAB), with no growth inhibition at 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Thiophene curcuminoids exhibited antifungal activity similar to their benzene analogs, with a minimum inhibitory concentration (MIC) against *Candida albicans* (ATCC 14053), *Cryptococcus gattii* (Clinical Isolate), and *Trichophyton* sp. (Clinical Isolate) ranging from 1.9  $\mu\text{g}/\text{mL}$  to 62.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , suggesting that these analogs establish a classical bioisosteric ring relationship. These results highlight the potential of thiophene analogs as promising candidates for the development of new antifungal agents, offering suitable druglikeness characteristics, including physicochemical, pharmacokinetic, and pharmacodynamic parameters.

**Keywords:** Antifungal. Curcumin. *Candida albicans*. *Cryptococcus gattii*. *Trichophyton* sp.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Mecanismos de ação de antifúngicos.....	19
Figura 2: Estrutura molecular da curcumina.....	22
Figura 3:Classificação e diversidade da microbiota intestinal.....	28
Figura 4: Estrutura geral dos análogos benzênicos.....	31
Figura 5: Estrutura geral dos análogos tiofênicos.....	31
Figura 6: Gráfico Brain Or Intestinal Estimated Permeation Method (BOILED-Egg).....	40
Figura 7: Gráficos de sobrevivência de <i>Galleria mellonella</i> valores em mg/kg.....	54

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1: Propriedades físico-químicas da curcumina e curcuminoides.....	42
Quadro 1: Propriedades <i>druglikeness</i> e <i>leadlikeness</i> dos curcuminoides benzênicos e tiofênicos.....	44
Quadro 2: Inibição do Citocromo P450 (CYP).....	46
Tabela 2: Atividade de curcumina e curcuminoides contra fungos patogênicos expressa em Concentração Inibitória Mínima (CIM <sub>100</sub> ) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) com valores em µg/MI.....	48
Tabela 3: Atividade de curcumina e curcuminoides contra bactérias ácido lácticas expressa em Concentração Inibitória Mínima (CIM) com valores em µg/mL.....	53

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>5-FC</b>	5-flucitosina
<b>5-FU</b>	5-fluorouracila
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
<b>CCD</b>	Cromatografia em Camada Delgada
<b>CDC</b>	Centers for Disease Control and Prevention
<b>CIM</b>	Concentração Inibitória Mínima
<b>DTN</b>	Doenças Tropicais Negligenciadas
<b>gp-P</b>	Glicoproteína-P
<b>HOMO</b>	Highest Occupied Molecular Orbital
<b>IBP</b>	Inibidor de Bomba de Prótons
<b>IRAS</b>	Infecções Relacionadas a Assistência em Saúde
<b>LUMO</b>	Lowest Unoccupied Molecular Orbital
<b>LysM</b>	Lysin Motif
<b>MRS</b>	Man Rogosa & Sharp
<b>NLR</b>	NOD-like receptors
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>RAM</b>	Resistência Antimicrobiana
<b>RMN</b>	Ressonância Magnética Nuclear
<b>RRPs</b>	Receptores de Reconhecimento de Padrões
<b>SNC</b>	Sistema Nervoso Central
<b>TLR</b>	Toll-Like Receptors
<b>UTI</b>	Unidade de Terapia Intensiva

## LISTA DE SÍMBOLOS

<b>µg</b>	Micrograma
<b>mL</b>	Mililitro
<b>mmol</b>	Milimol
<b>L</b>	Litro
<b>µL</b>	Microlitro
<b>nm</b>	Nanômetro
<b>mg</b>	Miligrama
<b>kg</b>	Quilograma

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	13
1.1. OS FUNGOS .....	13
1.2. AS INFECÇÕES FÚNGICAS.....	14
1.3. OS ANTIFÚNGICOS E SEUS MECANISMOS DE AÇÃO.....	18
1.5. A CURCUMINA E CURCUMINOIDES COMO ANTIFÚNGICOS .....	22
1.6. O TIOFENO E O BIOISOSTERISMO DE ANÉIS.....	24
1.7. O MICROBIOMA E A MICROBIOTA HUMANA.....	25
2. JUSTIFICATIVA .....	29
3. OBJETIVOS .....	30
3.1. OBJETIVO GERAL .....	30
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	30
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	31
4.1. PLANEJAMENTO MOLECULAR DOS ANÁLOGOS SINTETIZADOS	31
4.2. SÍNTESE E PURIFICAÇÃO .....	32
4.2.1. SÍNTESE DOS ANÁLOGOS BENZÊNICOS (BEN-1 E BEN-2) .....	32
4.2.2. SÍNTESE DOS ANÁLOGOS TIOFÊNICOS (TIOF-1 –TIOF-3) .....	32
4.3. PREDIÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICA, FARMACOCINÉTICAS E <i>DRUGLIKENESS</i> UTILIZANDO SWISSADME ....	33
4.3.1. BRAIN OR INTESTINAL ESTIMATED PERMEATION METHOD (BOILED-EGG).....	33
4.4. TESTES DE SUSCETIBILIDADE <i>IN VITRO</i> PARA FUNGOS .....	34
4.4.1. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) 34	
4.4.2. TESTE DE SUSCETIBILIDADE PARA LEVEDURAS .....	35
4.4.3. TESTE DE SUSCETIBILIDADE PARA DERMATÓFITOS.....	35
4.4.4. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO FUNGICIDA MÍNIMA (CFM) 36	
4.5. BACTÉRIAS DO ÁCIDO LÁTICO (BAL).....	36
4.5.1. PADRONIZAÇÃO DO INÓCULO BACTERIANO.....	36
4.5.2. PREPARO DAS CONCENTRAÇÕES .....	37
4.5.3. ENSAIO ANTIBACTERIANO.....	37
4.5.4. USO DA COLORIMETRIA PARA DETECÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA .....	37
4.6. TOXICIDADE CONTRA LARVAS DE <i>GALLERIA MELLONELLA</i> .....	38
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	38

5.1.	SÍNTESE E PURIFICAÇÃO DOS CURCUMINOIDES.....	38
5.2.	IDENTIFICAÇÃO .....	39
5.3.	PREDIÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, FARMACOCINÉTICAS E <i>DRUGLIKENESS</i> .....	39
5.3.1.	BRAIN OR INTESTINAL ESTIMATED PERMEATION METHOD (BOILED-EGG).....	39
5.3.2.	PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS.....	41
5.3.3.	PROPRIEDADES <i>LEADLIKENESS</i> E <i>DRUGLIKENESS</i> DOS CURCUMINOIDES BENZÊNICOS E TIOFÊNICOS .....	43
5.3.4.	INIBIÇÃO DO CITOCROMO P450 (CYP).....	45
5.4.	ATIVIDADE ANTIFÚNGICA.....	48
5.5.	ATIVIDADE CONTRA MICRORGANISMOS PROBIÓTICAS .....	50
5.6.	TOXICIDADE EM <i>GALLERIA MELLONELLA</i> .....	53
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	56
	REFERENCIAS .....	57
	APÊNDICE A – ANÁLISE DOS ESPECTROS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DA SUBSTÂNCIA TIOF-1 .....	70
	APÊNDICE B – ANÁLISE DOS ESPECTROS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DA SUBSTÂNCIA TIOF-2 .....	74
	APÊNDICE C – ANÁLISE DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR TIOF-3 .....	77
	APÊNDICE D – ANÁLISE DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR BEN- 1 .....	80
	APÊNDICE E – ANÁLISE DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR BEN- 2 .....	82

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Os fungos

A quantidade de espécies fúngicas existentes não é um consenso científico, sendo que dados atuais estimam que o número de espécies esteja entre 11,7 e 13,2 milhões (WU et al., 2019), aproximadamente 625 estão relacionadas a infecção em vertebrados. De todas as espécies fúngicas, 200 podem desenvolver relações com humano, seja compondo sua microbiota ou desenvolvendo uma relação patogênica (FISHER et al., 2020a).

Os fungos constituem um clado verdadeiro e representam um grupo notavelmente diversificado de microrganismos uni ou multicelulares, eucariotos, enquadrados no Reino Fungi. A classificação mais recente destaca a existência de nove Filos distintos de fungos verdadeiros, sendo eles: Opisthosporidia, Chytridiomycota, Neocallimastigomycota, Blastocladiomycota, Zoopagomycota, Mucoromycota, Glomeromycota, Ascomycota e Basidiomycota. (NARANJO-ORTIZ; GABALDÓN, 2019).

Essa diversidade filogenética reflete a diversidade de formas e funções que os fungos assumem no reino biológico, abrangendo desde os microrganismos aquáticos até os fungos decompositores, micorrízicos, líquens e patogênicos (NARANJO-ORTIZ; GABALDÓN, 2019).

A abundância de fungos propicia uma diversidade de interações ecológicas com diversos organismos. As associações mutualísticas com plantas e algas resultam na formação de micorrizas e líquens, respectivamente. As micorrizas, associadas principalmente aos filios Glomeromycota e Basidiomycota, estabelecem relações simbióticas com as raízes das plantas, melhorando a absorção de nutrientes. Por sua vez, os líquens, formados pela simbiose entre fungos, frequentemente do filo Ascomycota, e algas ou cianobactérias, desempenham um papel vital na colonização de diversos ambientes e na fixação de nitrogênio atmosférico. Essas relações ilustram como a abundância fúngica contribui para a complexidade e equilíbrio dos ecossistemas (FISHER et al., 2020a).

Na natureza a maior parte dos microrganismos vivem em associações microbianas heterogêneas conhecidas como biofilmes, que geralmente apresentam composição altamente diversa de microrganismos, incluindo bactérias, fungos, protozoários e microalgas (LAGREE; MITCHELL, 2017).

A classificação desses microrganismos ocorre pelas suas características reprodutivas e morfológicas, contudo, os avanços recentes em biologia molecular tornaram a classificação dos fungos muito mais precisa e abrangente (NARANJO-ORTIZ; GABALDÓN, 2019).

Os fungos podem apresentar duas principais formas de crescimento, o crescimento hifal filamentoso e o crescimento leveduriforme, ambas as formas podem ocorrer em um mesmo organismo ditado por diversas características do meio extracelular, incluindo escassez de nutrientes, necessidade de acesso à novos ambientes, mudanças de temperatura e contato com o sistema imunológico de um hospedeiro (CULLEN; SPRAGUE, 2012).

Diversas formas de relações negativas com animais podem ocorrer, tais como o micetismo, proveniente da ingestão de cogumelos tóxicos; as micotoxicoses, resultantes da ingestão de alimentos contaminados por micotoxinas; e as micoses, caracterizadas pela infecção causada por microrganismos (FIRACATIVE, 2020).

## **1.2. As infecções fúngicas**

Desde os tempos mais remotos da humanidade, as doenças infecciosas possuem extrema importância para a saúde coletiva. Embora haja especulações sobre os agentes causadores, é incontestável afirmar que diversas epidemias e pandemias desempenharam e continuam a desempenhar um papel significativo quando se trata da saúde em escala global (SPYROU et al., 2019).

Nas últimas duas décadas, a expansão do acesso aos cuidados de saúde primários, as vacinas e de forma concomitante os progressos sociais no âmbito do saneamento básico, resultaram em uma marcante redução nos índices de morbidade e mortalidade relacionados a infecções do trato respiratório inferior e diarreicas (BAKER et al., 2022).

As infecções fúngicas apresentam ocorrência mundial, sua variedade de agentes etiológicos apresenta um risco epidemiológico abrangente, com consequências diretas à saúde pública, biossegurança alimentar e à biodiversidade, afetando inúmeras espécies altamente suscetíveis a essas infecções (CSNF, 2017).

Embora presentes em todo o mundo, as doenças infecciosas manifestam-se de maneira mais acentuada em países em desenvolvimento e com climas tropicais. Essa incidência é notadamente alta em populações rurais e em grupos



socioeconômicos marginalizados, categorizando muitas dessas infecções como doenças negligenciadas pelas companhias farmacêuticas e ações governamentais (NAZARETH et al., 2023).

Em 2020, a Organização Mundial da Saúde (OMS) elencou as 20 Doenças Tropicais Negligenciadas (DTN) mais relevantes da atualidade. Dentre elas, destacam-se o micetoma, a cromoblastomicose além de outras micoses profundas causadas por leveduras (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020).

Como um esforço para reafirmar a importância das micoses para a saúde mundial, a OMS apresentou um documento destacando os 19 patógenos fúngicos prioritários para a saúde, dentre eles estão quatro espécies do gênero *Candida* (*C. auris*, *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*) e duas do gênero *Cryptococcus* (*C. neoformans* e *C. gattii*) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022).

As micoses enfrentam desafios significativos em termos de pesquisa devido as lacunas taxonômicas, tratamentos ineficazes, epidemiologia e na descoberta de fármacos antimicóticos (COCK; VAN VUUREN, 2020; HYDE et al., 2020).

No contexto de infecções fúngicas graves, os indivíduos imunocomprometidos, bebês prematuros e pacientes diagnosticados com câncer estão mais suscetíveis a essas infecções em comparação com a população imunocompetente (SPELLBERG, 2011).

Em indivíduos imunocompetentes, as células de defesa do hospedeiro identificam infecções fúngicas por meio do reconhecimento de componentes como polissacarídeos e glicoproteínas presentes na parede celular, toxinas peptídicas secretadas pelos fungos e até mesmo amostras de material intracelular, como o DNA fúngico (BURSTEIN et al., 2020; SALAZAR; BROWN, 2018).

Ao serem detectados por Receptores de Reconhecimento de Padrões (RRPs), esses elementos desencadeiam uma série de respostas imunológicas. Essas respostas incluem a fagocitose, a ativação do *burst* oxidativo, caracterizado pela produção de espécies reativas de oxigênio, como o peróxido de hidrogênio, e a liberação de quimiocinas e citocinas, ampliando a defesa imunológica contra a infecção fúngica (BURSTEIN et al., 2020; SALAZAR; BROWN, 2018).

Dentro dos microrganismos que apresentam maior risco de resistência estão aqueles ligados às Infecções Relacionadas a Assistência em Saúde (IRAS), conhecidas como infecções nosocomiais ou hospitalares (CORDEIRO BAPTISTA et al., 2020), isso se dá ao fato de que elas ocorrem em ambientes de alta circulação

de microrganismos resistentes aos fármacos, e que as pessoas estão em um quadro clínico mais suscetível a desenvolver novas infecções (CABRAL; AG, 2019).

Dados demonstram que durante a pandemia de H1N1 aproximadamente 25% dos pacientes com a influenza chegaram a desenvolver IRAS de origem fúngica ou bacteriana (MACINTYRE et al., 2018). Estudo recente demonstra uma taxa entre 19,4% e 33,3% de infecção fúngica secundária em casos de COVID-19 (DU et al., 2020; VAN ARKEL et al., 2020). Os pacientes em unidades de terapia intensiva por problemas respiratórios graves, como foi observado abundantemente na pandemia de COVID-19, têm altos índices de complicações devido a infecções invasivas causadas por fungos oportunistas (GANGNEUX et al., 2020; KURRA et al., 2022; VAN DE VEERDONK et al., 2017).

As infecções oportunistas causadas por fungos são amplamente relatadas nos pacientes imunocomprometidos, nos quais uma série de fungos patogênicos apresentam suas complicações em estágios tardios da infecção (LIMPER et al., 2017). Alguns dos fungos frequentemente associados a condições oportunistas incluem *Blastomyces* spp. (blastomicose), *Paracoccidioides* spp. (paracoccidioidomicose), *Pneumocystis jirovecii* (pneumocistose), *Cryptococcus* spp. (criptococose), *Candida* spp. (candidemia), *Aspergillus* spp. (aspergilose) e *Histoplasma capsulatum* (histoplasmose). Esses fungos podem causar infecções sistêmicas, representando um desafio significativo nos cuidados aos pacientes imunocomprometidos (BROWN et al., 2012; PATHAKUMARI; LIANG; LIU, 2020; RAUTEMAA-RICHARDSON; RICHARDSON, 2017).

As infecções invasivas causadas por fungos, podem ter origem no pulmão como é o caso das infecções adquiridas por via respiratória causadas por espécies de *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Mucorales*, originária da microbiota devido ao extravasamento de microrganismo do intestino (candidíase) ou na pele causada principalmente por infecções por fungos dermatófitos (RAUTEMAA-RICHARDSON; RICHARDSON, 2017; WANG et al., 2021).

Enquanto manifestações recorrentes de infecções fúngicas no Sistema Nervoso Central (SNC), têm no gênero *Cryptococcus* a causa preponderante, representando aproximadamente 70% das incidências globais de meningite fúngica clinicamente diagnosticada. Subsequentemente, observa-se a coccidioidomicose (16,4%), a candidíase (7,6%) e a histoplasmose (6%) como etiologias relevantes nessas infecções (CHARALAMBOUS et al., 2018).

Dentro dos grupos de fungos infecciosos incluem-se os dermatófitos, que são fungos patogênicos queratinolíticos causadores de dermatofitoses em humanos e outros animais. Os dermatófitos são conhecidos desde 1841, quando David Gruby descreveu fungos que possuem a capacidade de se estabelecer principalmente na pele, cabelos e unhas (BEGUM et al., 2020; GRÄSER et al., 2018; VERMOUT et al., 2008).

Muitas infecções por dermatófitos se apresentam de forma assintomática, contudo, quando ocorre sua manifestação clínica, diversos sintomas cutâneos são recorrentes, como prurido, dor, descamação, formação de vesículas e eritema de grau leve a moderado. Esses sintomas podem ser agravados por fatores como idade, estado imunológico do paciente, profissão, condições climáticas e socioeconômicas (GNAT; ŁAGOWSKI; NOWAKIEWICZ, 2020; KATIRAEI et al., 2021).

Apesar de raras, as dermatofitoses invasivas podem ocorrer inclusive em indivíduos imunocompetentes, mas geralmente sua ocorrência é favorecida por imunossupressões, distúrbios linfoproliferativos, dermatofitoses de longo prazo, diabetes e casos de dermatite atópica, com o gênero *Trichophyton* sendo o mais recorrente causador dessas infecções graves (WANG et al., 2021).

As candidíases podem atingir de 3 a 4 órgãos, incluindo, rins (80%), coração, trato gastrointestinal e sistema nervoso central (RAUTEMAA-RICHARDSON; RICHARDSON, 2017). As infecções por *Candida* de maior morbidade ocorrem principalmente pela relação comensal desse microrganismo com o ser humano, que em casos de disbiose podem evoluir para uma relação patogênica (LI et al., 2022; ZEISE; WOODS; HUFFNAGLE, 2021).

Ao envolver o SNC, as candidemias apresentam aumento significativo na morbidade e mortalidade, isso se dá principalmente devido à falta de tratamentos eficientes contra essas infecções (SÁNCHEZ–PORTOCARRERO et al., 2000). A anfotericina B associada a flucitosina tem sido a opção terapêutica para o tratamento de infecções fúngicas associadas ao SNC, contudo, devido ao rápido desenvolvimento de resistência a flucitosina, discute-se o futuro dessa associação (LOYSE et al., 2013).

Quando se trata dos azóis, todos exibem uma disponibilidade limitada no SNC para um tratamento eficaz, exceto o voriconazol, que se destaca como uma opção

promissora no cenário terapêutico dessas infecções (SCHWARTZ, 2005; SCHWARTZ; REISMAN; TROKE, 2011).

Desta maneira, é de suma importância a investigação dos antifúngicos existentes principalmente em associações e a busca de possíveis fármacos novos com capacidade de combater essas infecções tanto de forma localizada quanto sistêmica (ASHLEY, 2019).

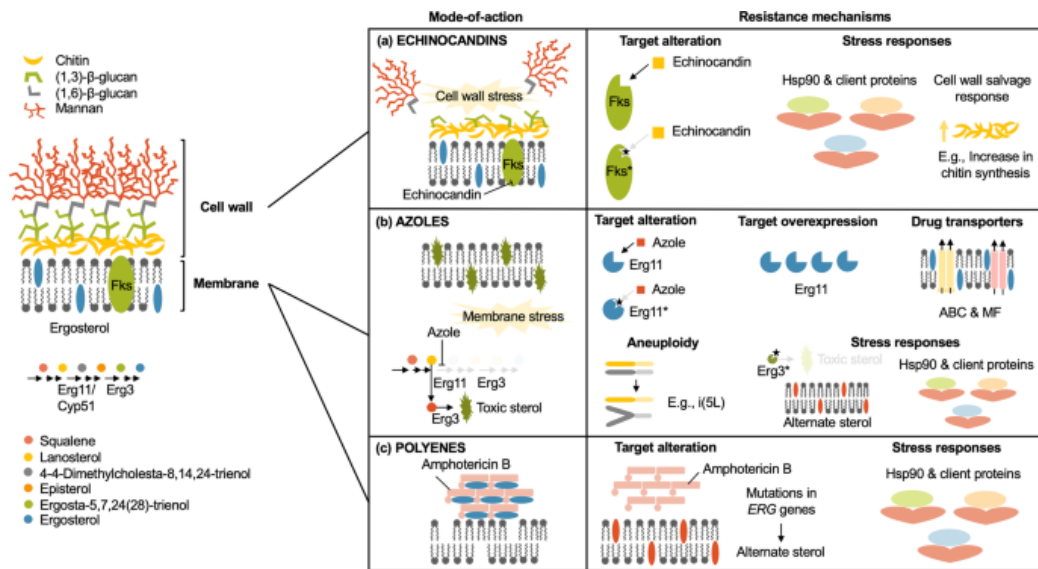
### **1.3. Os antifúngicos e seus mecanismos de ação**

Um agente antimicrobiano é uma classe de fármacos que tem a capacidade de matar, inibir a proliferação ou reduzir a quantidade de microrganismos em um meio. Os fármacos antimicrobianos são considerados grandes descobertas científicas do século XX que permitiram o tratamento de doenças infecciosas que até então eram a maior causa de morte no mundo (PUNJATAEWAKUPT; NAPAVICHAYANUN; ARAMWIT, 2019).

Uma das maiores dificuldades relacionada aos antimicóticos está sua seletividade, uma vez que há similaridade estrutural e metabólica entre células eucarióticas como é o caso da célula fúngica e a célula animal. Dessa forma, os alvos dos fármacos antifúngicos acabam apresentando homólogos nas células de mamíferos, causando efeitos adversos ao hospedeiro (NICOLA et al., 2019; SALAZAR et al., 2020).

Existem diversas classes de fármacos antimicóticos, com mecanismos de ação diferentes, contudo, três são comumente utilizadas no tratamento de infecções fúngicas sistêmicas, azóis, polienos e equinocandinas representados na Figura 1 (LEE; ROBBINS; COWEN, 2023; SALAZAR et al., 2020).

Figura 1: Mecanismos de ação de antifúngicos.



Fonte: (LEE; ROBBINS; COWEN, 2023)

Dentre polienos convencionais destaca-se a anfotericina B e a nistatina, que são fármacos altamente lipossolúveis, penetrando com facilidade a bicamada fosfolipídica se ligando ao ergosterol, criando poros e comprometendo a seletividade da membrana plasmática. Além da nefrotoxicidade, tem sido relatadas altas taxas de reincidência da infecção devido ao desenvolvimento de resistência a esses antimicóticos (PAI; GANAVALLI; KIKKERI, 2018; SALAZAR et al., 2020; ZHU et al., 2021).

Os azóis são uma grande classe de fármacos antimicóticos, sendo composta por imidazóis e triazóis, tendo como principal representante o fluconazol. Os azóis são *N*-heterociclos de 5 membros que a décadas são utilizados no tratamento de infecções fúngicas tópicas e sistêmicas (LEE; ROBBINS; COWEN, 2023a). Com o passar dos anos novos azóis entraram no mercado farmacêutico, exibindo maior eficácia e menor toxicidade, incluindo itraconazol e terconazol (SHAFIEI et al., 2020). Contudo, esses fármacos apresentam limitações devido ao efeito fungistático contra *Candida* em concentrações terapêuticas e de toxicidade alta devido a inibição da atividade de diversas enzimas hepáticas do citocromo P450 (HOEKSTRA et al., 2014; SHAPIRO; ROBBINS; COWEN, 2011). Esse grupo de fármacos tem como alvo a inibição da lanosterol-14 $\alpha$ -desmetilase, codificada pelo gene *ERG11* para leveduras e *CYP51* em filamentosos, que está envolvida na biossíntese do ergosterol, o qual compõe apenas em membranas fúngicas e de alguns

protozoários, de maneira que a célula passa a acumular esteróis intermediários tóxicos na membrana plasmática, afetando diretamente sua permeabilidade (SALAZAR et al., 2020).

As equinocandinas são o grupo de fármacos recentes na classe dos antifúngicos, como é o caso da caspofungina, anidulafungina e micafungina, e duas novas substâncias apresentadas recentemente rezafungina e biafungina que demonstram bastante potencial devido sua maior potência antifúngica e menor toxicidade. Esses fármacos atuam nas subunidades catalíticas das enzimas  $\beta$ -1,3-glucanases, inibindo diretamente a síntese da parede celular que é composta por aproximadamente 50% de glucanos, facilitando a citólise (SALAZAR et al., 2020; SZYMAŃSKI et al., 2022).

Contudo, o uso irracional de fármacos, associado com fatores ambientais, clínicos e mecanismos evolutivos dos microrganismos tem tornado esses agentes cada vez menos eficientes contra variados tipos de organismos infecciosos, principalmente os multirresistentes (DE OLIVEIRA et al., 2020; FOUNOU; FOUNOU; ESSACK, 2017).

#### **1.4.A resistência fúngica**

A resistência antimicrobiana (RAM) acontece quando os microrganismos mantem sua capacidade de crescimento e disseminação na presença de agentes antimicrobianos. Esse processo tem ocorrido de maneira bastante acelerada e atualmente está entre as maiores preocupações para a saúde pública mundial (DADGOSTAR, 2019; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015).

Considerando a RAM, os fungos foram excluídos como possíveis ameaças a saúde pública por décadas, apenas em 2019, *Candida auris* entrou para o relatório de resistência antimicrobiana como microrganismo de ameaça urgente publicado pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) dos EUA, isso se dá ao fato de que apenas recentemente se observou que patógenos fúngicos, assim como as bactérias, podem desenvolver resistência como resposta à pressão seletiva exercida pelos antimicrobianos (FISHER et al., 2020, 2022; RODRIGUES; NOSANCHUK, 2020).

A resistência pode ocorrer *in vivo* quando ocorre a exposição prolongada do patógeno a um antifúngico durante o processo de farmacoterapia (BALLARD et al.,

2018) ou na natureza quando o fungo patogênico é exposto à agentes antifúngicos presentes no ambiente (VERWEIJ et al., 2020).

A resistência pode ter diversos mecanismos dependendo do microrganismo, do fármaco e das condições apresentadas (SHAPIRO; ROBBINS; COWEN, 2011). A alteração do alvo do fármaco é um mecanismo comum que leva à resistência antifúngica adquirida. A resistência aos azóis é amplamente reconhecida, ocorrendo por alterações nos genes que codificam a lanosterol-14 $\alpha$ -desmetilase, principalmente *C. albicans*, mais de 140 substituições de aminoácidos da proteína Erg11 foram relatadas (MARICHAL et al., 1999; MORIO et al., 2010).

Além disso, a resistência pode ser atribuída aos mecanismos de efluxo, em que o fungo é capaz de bombear o antifúngico para o meio extracelular, reduzindo sua eficácia. Essa característica pode ser aprimorada em microrganismos resistentes (VERWEIJ et al., 2020).

Existem duas famílias de proteínas que atuam de maneiras distintas para o efluxo de xenobióticos em células fúngicas. A superfamília dos transportadores ABC (*ATP-binding cassette*) por meio de transporte ativo utiliza a hidrólise do ATP para executar a expulsão de agentes com potencial efeito antifúngico, enquanto a superfamília do facilitador principal (MFS) são transportadores secundários que se utiliza da força motriz de prótons através da membrana plasmática. Ambas são diretamente relacionadas a resistência aos azóis (CANNON et al., 2009; LEE; ROBBINS; COWEN, 2023b).

Geneticamente, os fungos possuem uma plasticidade genômica muito acentuada, de tal forma que esses microrganismos podem se adaptar a inúmeras adversidades do ambiente, incluindo a presença de antimicrobianos, pela expressão exacerbada, repressão ou alteração de uma característica (LEE; ROBBINS; COWEN, 2023a).

A resistência aos antifúngicos é um problema crescente e é uma ameaça à saúde pública, especialmente para os pacientes imunocomprometidos e em regiões com alta incidência de infecções fúngicas. Por isso, é fundamental a realização de estudos que visem entender melhor os mecanismos de resistência e desenvolver novas estratégias terapêuticas para o tratamento das infecções resistentes (FISHER et al., 2022; FOUNOU; FOUNOU; ESSACK, 2017; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015).

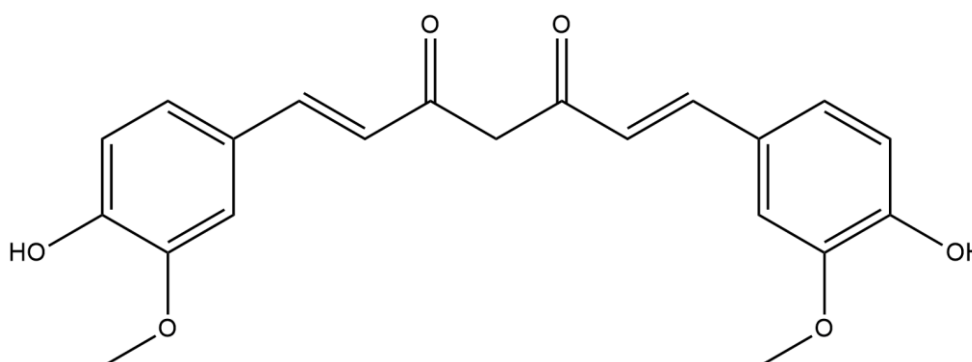
Diante do aumento da resistência aos antimicrobianos, há uma grande necessidade de se buscar novos fármacos com atividade antimicrobiana. Nesse sentido, torna-se crucial a descoberta de substâncias que possam superar as adaptações de resistência, abrangendo uma ampla variedade de espécies de fungos, e que sejam menos tóxicos ao hospedeiro (FISHER et al., 2022; NICOLA et al., 2019; ZARRINFAR et al., 2021).

### 1.5. A curcumina e curcuminoides como antifúngicos

Durante toda a existência humana é possível observar a utilização de plantas medicinais no tratamento de doenças. Com o avanço científico, os produtos naturais e seus análogos vêm ganhando cada vez mais espaço no universo terapêutico, principalmente no tratamento de doenças infecciosas e câncer (ATANASOV et al., 2021).

A curcumina (1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona) é uma das principais substâncias dos rizomas de *Curcuma longa* L., popularmente conhecida como cúrcuma ou açafrão-da-terra, sendo uma especiaria muito utilizada na culinária mundial. A curcumina é uma substância fenólica, pouco hidrossolúvel e apresenta diversas atividades terapêuticas (AHSAN et al., 2020).

Figura 2: Estrutura molecular da curcumina.



Fonte: autoria própria

A utilização de cúrcuma nas medicinas tradicionais chinesa e indiana remonta há milhares de anos, com diversas aplicações: tosse inflamatórias, doenças respiratórias, gripe, sinusite, distúrbios hepáticos, artrite, problemas digestórios, queimaduras entre outros inúmeros benefícios (AKABERI; SAHEBKAR; EMAMI, 2021).



As atividades da curcumina envolve ações contra diversas doenças infectocontagiosas e inflamatórias, devido às suas propriedades antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória (KHARAT; MCCLEMENTS, 2019; MUNEKATA et al., 2021). Quando se trata de novos antifúngicos, a curcumina e os curcuminoides demonstram uma atividade promissora, além de um alto índice de seletividade (ANWAR et al., 2022).

Estudos recentes demonstram o potencial inibitório da curcumina contra diversos gêneros de fungos patogênicos, incluindo *Rhizopus*, *Candida*, *Paracoccidioides*, *Trichophyton* e *Microsporum* (DONG et al., 2021; PRAJAPATI et al., 2021; ROCHA et al., 2021; ZARRINFAR et al., 2021).

Em estudos com diversos fungos patogênicos humanos foi possível observar a ação da curcumina em relação aos fármacos de referência, apresentando concentrações inibitórias mínimas de 32 vezes menores que o fluconazol contra cepa isolada de *Paracoccidioides brasiliensis* MG05 (0,5 µg/mL) e 4 vezes menores contra *P. brasiliensis* Pb18 e B339 (2 µg/mL) (MARTINS et al., 2008).

Contra leveduras, incluindo diversas espécies de *Candida* isoladas de pacientes HIV-positivos, a curcumina apresentou atividade maior que o fluconazol na inibição da adesão dessas leveduras no epitélio bucal humano (MARTINS et al., 2008).

Quando se trata de curcuminoides sintéticos, observou-se que análogos monocetônicos demonstraram valores de CIM 62,5 µg/mL contra *Candida albicans* ATCC 10231 e *Candida krusei* ATCC 90878 (UD DIN et al., 2017). Nesse mesmo sentido, pode-se destacar compostos ainda mais promissores quando testados contra *C. albicans*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* e *C. neoformans* com valores de CIM entre 6,2 e 25 µg/mL (NAGARGOJE et al., 2020).

Ao comparar a curcumina, os curcuminoides monocetônicos apresentam aumento da fotoestabilidade, aumento da potência, desaceleração da metabolização e aumento da absorção, sendo mais vantajosos em aplicações farmacêuticas do que a curcumina (OLIVERA et al., 2012; VIGATO et al., 2022).

Várias terapias fotodinâmicas são empregadas para aprimorar o efeito antifúngico da curcumina e curcuminoides, isso ocorre devido a propriedades fotoexcitáveis que ativam essas substâncias, aumentando seu efeito contra patógenos fúngicos (DOVIGO et al., 2011a, 2011b, 2013).

Deste modo, pode-se afirmar que curcuminoides monocetônicos representam um promissor grupo de substâncias com atividade antifúngica descrita contra diversos gêneros fúngicos patogênicos de humanos e animais.

### 1.6. O tiofeno e o bioisosterismo de anéis

Em química medicinal, o bioisosterismo é uma das principais estratégias no planejamento de novas substâncias bioativas, sendo amplamente utilizado para otimizar as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas. Segundo Lipinski, bioisósteros são "*grupos ou moléculas que possuem semelhanças químicas e físicas, produzindo propriedades biológicas amplamente similares*" (LIPINSKI, 1986).

Uma definição mais atual de bioisósteros enquadra todos as moléculas ou grupos que possuam formas, volumes e distribuição de elétrons aproximada, exibindo propriedades físico-químicas e biológicas semelhantes (EL-SHERSHABY et al., 2021).

Os bioisósteros podem ser categorizados como clássicos quando apresentam semelhanças em características fundamentais, como o número de átomos, a contagem de elétrons de valência e o grau de insaturação. Por outro lado, são considerados não-clássicos quando as semelhanças são mais singulares, abrangendo aspectos como  $pK_a$  comparável, potenciais eletrostáticos, bem como orbitais de fronteira (HOMO e LUMO) com energias similares (DICK; COCKLIN, 2020).

Entre os diversos grupos bioisostéricos clássicos temos a equivalência de anéis, onde anéis equivalentes tendem a apresentar atividades semelhantes em sistemas biológicos, são exemplos de anéis bioisósteros: -O-, -S-, -CH<sub>2</sub>- (tetraidrofurano, tetraidrotiofeno, ciclopentano), -CH=, -N= (benzeno, piridina) e -CH=CH-, -S- (benzeno, tiofeno) (DICK; COCKLIN, 2020; MEANWELL, 2011).

Por ser uma das táticas de planejamento molecular mais aplicadas em química medicinal vários exemplos da literatura trazem a aplicação de bioisosterismo em diversas moléculas com as mais distintas indicações terapêuticas (EL-SHERSHABY et al., 2021; LIPINSKI, 1986; MEANWELL, 2011).

O anel tiofênico apresenta uma nuvem de elétrons que o confere reatividade semelhante ao benzeno (RUSU et al., 2023). Estudos estruturais do tiofeno como potencial grupo toxicofórico não forneceram alertas conclusivos. No entanto, é

conhecido que diversos processos metabólicos oxidativos podem transformar tiofenos em intermediários eletrofílicos e instáveis, como S-óxidos, epóxidos e ácidos sulfênicos(DANG et al., 2017).

Embora existam exceções, é relatado uma maior tendência de toxicidade dos análogos tiofênicos, sendo moléculas de grande interesse de atividade antimicrobiana e anticâncer (MARTIN-SMITH; REID, 1959).

Investigações acerca do potencial antimicrobiano de derivados chalcônicos contendo anel tiofênico apresentaram uma CIM de 0,313 µg/mL contra *C. albicans* (MAZIMBA, 2015). Outro experimento observou o potencial antibacteriano de derivados de 2-aminotiofênicos contra *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, com valores de CIM entre 12,5 e 50 µg/mL (PRASAD et al., 2017).

### **1.7.O microbioma e a microbiota humana**

Os mamíferos vivem em uma associação coevolutiva bastante íntima com uma infinidade de microrganismos comensais e residentes que ocupam as mais diversas regiões anatômicas (WANG; KASPER, 2014)

De modo geral, tanto as mucosas quanto a pele dos animais apresentam uma composição microbiana ampla e diversificada. A composição dos microrganismos desempenha um papel crucial em vários aspectos relacionados à saúde, incluindo, mas não se limitando a, infecções oportunistas, equilíbrio do sistema imunológico, inflamações e predisposição a doenças neurodegenerativas e câncer (ALTHANI et al., 2016; MARTINO et al., 2022).

A microbiota desempenha um papel fundamental na manutenção da saúde do hospedeiro, sendo que esses microrganismos produzem ativamente metabólitos responsáveis pela modulação do sistema imune, assim como ocupam o habitat não permitindo a instalação de espécies invasoras e possíveis patógenos. Além disso o termo “eixo intestino-cérebro-pele” e sua relação com a homeostase vêm sendo destacados pela comunidade científica. Doenças como dermatite atópica, acne vulgar, psoríase, rosácea e melasma estão intrinsecamente relacionadas a fatores emocionais e ao desequilíbrio microbiano da pele e do intestino (BURSTEIN et al., 2020; KALIL et al., 2020; WHITE et al., 2014).

Por atuar como primeira barreira imunológica contra agressões do ambiente assim como contra os microrganismos patogênicos, a pele se torna um importante nicho ecológico, onde uma microbiota rica e diversa desenvolve inúmeras relações interespecíficas, que podem ser harmônicas ou desarmônicas (BURSTEIN et al., 2020; PELUZIO; MARTINEZ; MILAGRO, 2021).

Deste modo a pele está em constante interação com microrganismos, muitos deles em uma relação comensal com o hospedeiro, onde é positiva para o microrganismo e neutra para o hospedeiro, bem como ocorrem relações mutualísticas onde ambos os indivíduos são beneficiados (BURSTEIN et al., 2020; KALIL et al., 2020; WHITE et al., 2014; YOO et al., 2020).

A pele, por ser suscetível a diversas infecções fúngicas, evidencia de maneira clara o papel fundamental desempenhado pela microbiota. Essa comunidade microbiana não apenas ocupa esse nicho ecológico de maneira essencial, mas age como uma barreira, prevenindo a colonização por microrganismos patogênicos (ALTHANI et al., 2016; BYRD; BELKAID; SEGRE, 2018).

A microbiota intestinal estabelece uma ligação íntima entre hospedeiro e microrganismo, sendo que a relação entre diversidade microbiana e a saúde do hospedeiro é bastante evidenciada (MODI; COLLINS; RELMAN, 2014; RINNINELLA et al., 2019; YOO et al., 2020)

Quando se aborda a interação entre microrganismos e seres humanos, há ampla discussão sobre quando exatamente essa relação se inicia. Alguns argumentam que ocorre durante o parto, enquanto outros sugerem que a exposição se inicia dentro do útero materno. Independentemente do momento preciso, é inegável que o contato entre animais e microrganismos é estabelecido nos primórdios da vida e persiste ao longo de todo o curso existencial (MARTINO et al., 2022; RODRÍGUEZ et al., 2015).

Essa relação coevolutiva apesar de sempre existir é altamente sensível a mudanças do meio, como o consumo de alimentos processados, mudanças nos hábitos alimentares e o uso de medicamentos (LEONG et al., 2018).

O uso de antimicrobianos e sua alteração na microbiota tem clara relação com controle de infecções secundárias (BOSSO; MAULDIN; SALGADO, 2010), obesidade, doenças inflamatórias, doenças autoimunes a médio ou longo prazo (GLASSNER; ABRAHAM; QUIGLEY, 2020; LEONG et al., 2018) e a produção de vitaminas B solúveis (cobalamina, tiamina, piridoxina, biotina, folato, ácido

nicotínico, ácido pantotênico), vitamina K e ácido láctico (DAS; BABAEI; NIELSEN, 2019; LEBLANC et al., 2011).

Estudos recentes demonstram que mesmo fármacos sem ação antimicrobiana como metformina, inibidores de bomba de prótons (IBPs), laxantes, estatinas, antidepressivos e opioides, podem ter efeito intenso na composição e na função da microbiota intestinal (FORSLUND et al., 2015; FREEDBERG et al., 2015).

O uso de antimicrobianos tem diversas consequências à diversidade microbiana intestinal, entre elas o aumento da concentração de ácido siálico livre derivado do hospedeiro, o que favorece o crescimento de populações de microrganismos oportunistas, sendo diretamente relacionado ao desenvolvimento de colites por *Clostridium difficile* e infecções por *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* (MODI; COLLINS; RELMAN, 2014; NG et al., 2013; STEVENS et al., 2011).

Do mesmo modo que a diminuição da diversidade microbiana intestinal está diretamente relacionada a diminuição da expressão intestinal da proteína RegIII- $\gamma$ , que atua no controle da população de *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE) e consequentemente no seu extravasamento para a corrente sanguínea (BRANDL et al., 2008).

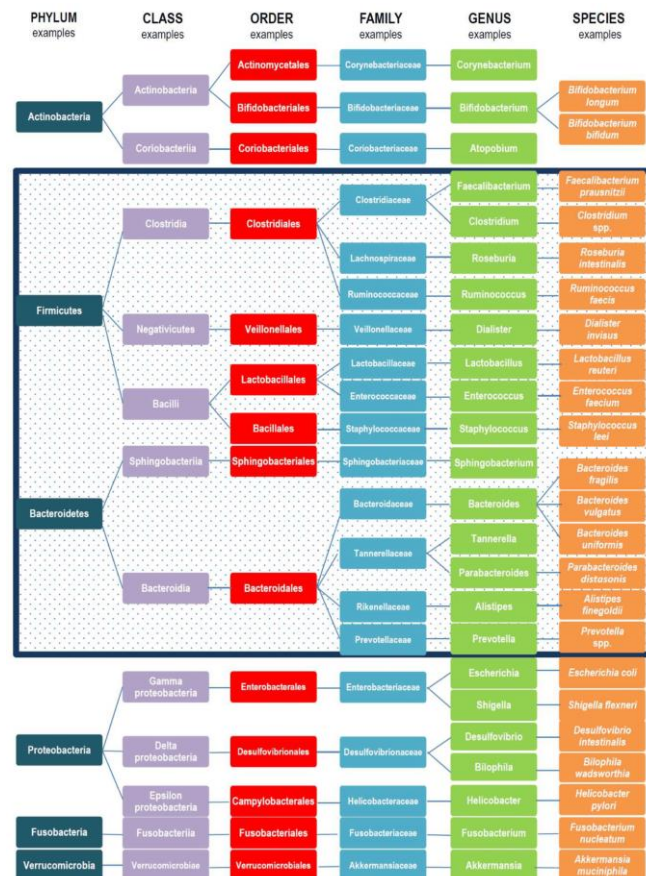
Em termos gerais, qualquer disbiose, seja relacionada aos hábitos ou induzida por medicamentos, pode resultar em sérios impactos na saúde do indivíduo. Em casos mais graves, e bastante comuns, a disbiose pode desencadear respostas desreguladas a infecções, disfunção de órgãos e riscos de vida. (KREZALEK et al., 2016).

A caracterização da disbiose, marcada pela redução da diversidade microbiana normal, contribui para um comprometimento significativo da saúde, podendo levar ao aumento da permeabilidade da mucosa intestinal, aumentando a passagem de microrganismos do lúmen intestinal para a corrente sanguínea, favorecendo o desenvolvimento de sepse. A mudança de um microbioma saudável para um patobioma é intrinsecamente relacionada com o desenvolvimento dessa condição (KREZALEK et al., 2016).

Quando exploramos a diversidade do microbioma intestinal, observamos que os filos Firmicutes e Bacteroidetes constituem aproximadamente 90% de da diversidade microbiana residente (Figura 3). De modo que, no contexto dos probióticos, os gêneros *Lactobacillus* (atualmente separado em *Lactobacillus*,

*Levilactobacillus* e *Lacticaseibacillus*) e *Bifidobacterium* destacam-se como os mais prevalentes, sendo o primeiro predominante durante a fase adulta e o segundo durante a primeira infância (RINNINELLA et al., 2019).

Figura 3: Classificação e diversidade da microbiota intestinal.



Fonte: (RINNINELLA et al., 2019)

A definição contemporânea de probiótico caracteriza esses microrganismos como agentes vivos que, ao serem consumidos em quantidade adequada, exercem efeitos benéficos na saúde, estendendo-se para além dos benefícios nutricionais (GUARNER, 1998).

O entendimento atual revela a conexão entre a alteração da microbiota intestinal e cutânea e o surgimento de uma ampla gama de doenças, abrangendo desde infecciosas até autoimunes e inflamatórias. Além disso, evidências respaldam os efeitos benéficos associados ao uso específico de probióticos para a promoção da saúde (WIEËRS et al., 2020).

A terapia com antimicrobianos perturba diretamente a diversidade microbiana intestinal, de modo que a área da farmacomicrobiômica vem demonstrando cada vez mais sua importância em elucidar o papel da microbiota intestinal em fatores como biodisponibilidade, transformações enzimáticas, bioatividade e toxicidade contribuindo para a eficácia e segurança dos fármacos (AZIZ et al., 2018).

Sendo assim, se torna de suma importância que novas substâncias bioativas sejam seletivas quanto a microbiota intestinal, contribuindo de maneira significativa para sua segurança e diminuindo o risco de desenvolvimento de comorbidades relacionadas a terapia por antimicrobianos.

## **2. JUSTIFICATIVA**

A busca por novos agentes antifúngicos é uma necessidade no campo da saúde, dada a crescente incidência de infecções fúngicas, especialmente em indivíduos imunocomprometidos. A resistência aos antifúngicos existentes e os desafios associados ao tratamento eficaz dessas infecções destacam a urgência na identificação e desenvolvimentos de alternativas terapêuticas.

A resistência aos fármacos é um desafio global no tratamento das infecções fúngicas. Em 2022 a OMS divulgou a primeira lista de fungos que ameaçam a saúde pública. Nessa lista se destaca a resistência aos antifúngicos como uma ameaça crescente e emergente, especialmente no tratamento de pacientes imunocomprometidos, como os HIV-positivos e transplantados (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022).

A abordagem de descoberta de novos agentes antifúngicos implica a exploração de compostos inovadores que possam superar as limitações dos tratamentos convencionais. A compreensão mais aprofundada dos mecanismos de resistência fúngica e a evolução das cepas patogênicas destacam a necessidade de estratégias terapêuticas inovadoras.

Nesse contexto, os produtos naturais surgem como uma abordagem promissora contra esse problema eminente. A curcumina e curcuminoides vêm demonstrando que podem apresentar um caminho quanto a pesquisa de fármacos novos, não apenas respondendo aos desafios clínicos presentes, mas contribuindo para a preparação para futuras emergências fúngicas.

O trabalho de Polaquini destacou três curcuminoides com atividade anti-*Candida in vitro*, e características químicas como a maior estabilidade e acessibilidade sintética quando comparados a curcumina, sendo nomeadas no presente trabalho como **Ben-1** e **Ben-2** e **Tiof-2**. Tais substâncias apresentaram valores de CIM entre 7,4 e 31,2  $\mu\text{mol/L}$  contra diversas espécies do gênero *Candida* (POLAQUINI, 2019). Tais resultados abriram caminhos para a investigação do efeito antifúngico de amplo espectro dessas substâncias assim como novos análogos e discussões relacionadas a sua segurança.

Dessa forma, o presente trabalho se encoraja a partir resultados obtidos por Polaquini, para investigar a atividade antifúngica *in vitro* de análogos tiofênicos, estruturalmente relacionados àqueles avaliados previamente pelo grupo. Além disso, a presente dissertação busca substâncias com características relacionadas a sua toxicidade e seletividade, principalmente interação com microrganismos que compõe a microbiota intestinal e suas propriedades *druglikeness*.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo geral

Investigar bioisósteros de curcuminoides fenólicos contra diversos fungos patogênicos, analisando possíveis aspectos físico-químicos e farmacocinéticos e sua toxicidade.

#### 3.2. Objetivos específicos

- Sintetizar, purificar e identificar curcuminoides tiofênicos;
  
- Predição de propriedades físico-químicas e farmacocinéticas das substâncias baseado em avaliações *in silico*.
  
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima e Concentração Fungicida Mínima dos análogos contra *Candida albicans* (ATCC 14053), *Cryptococcus gattii* (Isolado Clínico), *Trichophyton* sp. (Isolado Clínico);
  
- Observar sua atividade contra microrganismos probióticos com o objetivo de avaliar a seletividade;



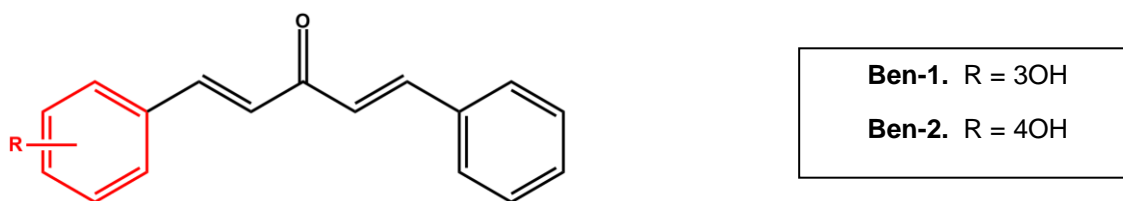
-Analisar toxicidade no modelo *in vivo* *Galleria mellonella*.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Planejamento molecular dos análogos sintetizados

O trabalho de Polaquini apresentou as substâncias benzênicas substituídas pelo grupo hidroxila em *meta* (**Ben-1**) e *para* (**Ben-2**) com atividade antifúngica contra cinco espécies de *Candida* e baixa toxicidade em larvas e *Galleria mellonella* (POLAQUINI, 2019). (Figura 4).

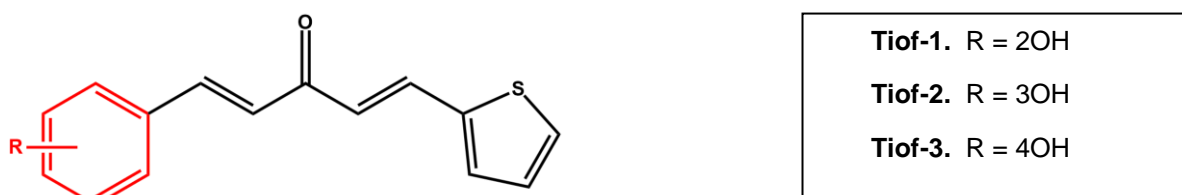
Figura 4: Estrutura geral dos análogos benzênicos antifúngicos reportados por (POLAQUINI, 2019)



Fonte: autoria própria.

Com base no conceito de bioisosterismo clássico (LIPINSKI, 1986) foram planejados uma série de análogos tiofênicos com modificações no anel benzênico. Diante desse planejamento variou-se a posição da hidroxila nas posições *orto* (**Tiof-1**), *meta* (**Tiof-2**) e *para* (**Tiof-3**) (Figura 5).

Figura 5: Estrutura geral dos análogos tiofênicos.



Fonte: autoria própria.

## 4.2. Síntese e purificação

### 4.2.1. Síntese dos análogos benzênicos (Ben-1 e Ben-2)

Os dois compostos benzênicos (**Ben-1** e **Ben-2**), foram sintetizados por meio de uma etapa empregando reação de condensação aldólica (CAO et al., 2012). Em dois balões reacionais, foram adicionados benzilideneacetona (3 mmol), solubilizados em 10 mL de etanol. Posteriormente, adicionou-se o respectivo 3-hidroxi- ou 4-hidroxibenzaldeído (3,2 mmol), e em seguida, gotejou-se lentamente uma solução de NaOH (2,25 mol/L). A reação foi mantida por *overnight*, permitindo o consumo parcial dos reagentes limitantes e a observação de subprodutos. Ao final da reação, o meio reacional foi acidificado até pH 5, sendo vertido em gelo. O produto bruto foi mantido em geladeira por após 24 horas, não havendo a formação de precipitado. A solução foi submetida à partição líquido-líquido utilizando como fase orgânica hexano e acetato de etila (6:4) obtendo um material oleoso.

Foram necessárias duas etapas de purificação por cromatografia em coluna. A primeira envolveu cromatografia em coluna de gel de sílica, com fase móvel hexano e acetato de etila (7:3). A segunda separação foi realizada por cromatografia de permeação em gel (Sephadex® LH-20) utilizando etanol como fase móvel. Ambas as substâncias foram obtidas como um material sólido de coloração amarela.

As reações e a reunião das frações provenientes das colunas cromatográficas foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada de gel de sílica, sendo as cromatoplasmas reveladas em lâmpadas ultravioleta com comprimentos de onda de 254 e 365 nm, e com anisaldeído sulfúrico, seguida de aquecimento.

### 4.2.2. Síntese dos análogos tiofênicos (Tiof-1 –Tiof-3)

Os três compostos tiofênicos (**Tiof-1 –Tiof-3**), foram sintetizados por meio de duas etapas empregando reações de condensação aldólica (CAO et al., 2012).

**Primeira etapa:** Em um balão reacional sob banho de gelo foram adicionados os respectivos 2-, 3- e 4- hidroxibenzaldeídos (3 mmol), solubilizados em 10 mL de acetona. Em seguida, adicionou-se 1 mL de solução de NaOH (2,25 mol/L) ao meio reacional. Após 4 horas, observou-se que houve a conversão total do aldeído de partida, tendo como resultado o intermediário desejado. Ao final da reação, o meio reacional foi acidificado até pH 5, sendo vertido em gelo para induzir a precipitação.

A solução heterogênea foi filtrada após 24 horas obtendo um precipitado amarelo pálido.

**Segunda etapa:** Em um balão reacional, foram adicionados os respectivos intermediários (1 mmol), solubilizados em 10 mL de etanol. Posteriormente, adicionou-se 2-tiofeno-carboxaldeído (1,2 mmol), e em seguida, gotejou-se lentamente uma solução de NaOH (2,25 mol/L). Após 3 horas, as reações foram encerradas com o consumo total dos reagentes limitantes. Ao final da reação, o meio reacional foi acidificado até pH 5, sendo vertido em gelo para induzir a precipitação. A solução heterogênea foi filtrada após 24 horas obtendo um precipitado amarelo intenso. O precipitado (produto bruto) foi submetido a purificações por coluna cromatográfica de gel de sílica, com fase móvel hexano, acetato de etila e acetona (8:1:1).

As reações e a reunião das frações provenientes das colunas cromatográficas foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada de gel de sílica, sendo as cromatoplasmas reveladas em lâmpadas ultravioleta com comprimentos de onda de 254 e 365 nm, e com anisaldeído sulfúrico, seguida de aquecimento.

Para a identificação da estrutura dos curcuminoides tiofênicos (**Tiof-1 – Tiof-3**) foram utilizadas as técnicas de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de  $^1\text{H}$ ) e Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze (RMN de  $^{13}\text{C}$ ). Os espectros de RMN foram anexados como apêndice.

#### **4.3. Predição das propriedades físico-química, farmacocinéticas e *druglikeness* utilizando SwissADME**

A plataforma online do Instituto Suíço de Bioinformática, conhecida como SwissADME® ([//www.swissadme.ch/](http://www.swissadme.ch/)), foi empregada para prever as propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e *druglikeness* das substâncias. Os códigos estruturais SMILES foram inseridos na caixa de entrada da ferramenta disponível na página da web, e os resultados foram gerados de maneira autônoma pela ferramenta (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017).

##### **4.3.1. Brain Or Intestinal Estimated Permeation Method (BOILED-Egg)**

A ferramenta SwissADME® utiliza o modelo chamado Brain Or Intestinal Estimated Permeation Method (BOILED-Egg), o qual emprega parâmetros físico-químicos. Esses parâmetros incluem a lipofilicidade, determinada pelo coeficiente de

partição *n*-octanol/água ( $\log P$ ), e a polaridade molecular, representada pela área da superfície polar (PSA). A ferramenta utiliza essas informações para classificar as substâncias com base em sua capacidade de permeação pela mucosa intestinal e barreira hematoencefálica (BHE) (DAINA; ZOETE, 2016).

A partir desses parâmetros é gerado um gráfico em que as substâncias representadas na área amarela indicam boa permeabilidade intestinal e BHE. As substâncias na área branca mostram boa absorção intestinal, mas não penetram bem pela BHE. As substâncias presentes na área cinza não possuem penetração adequada (DAINA; ZOETE, 2016).

Além disso, substâncias representadas como um ponto vermelho não têm afinidade com a glicoproteína P (gp-P), a qual é uma importante bomba de efluxo de xenobióticos do SNC para a corrente sanguínea. As substâncias representadas como um ponto azul têm alta interação com a gp-P e a torna em baixa concentração no SNC (DAINA; ZOETE, 2016).

#### **4.4. Testes de suscetibilidade *in vitro* para fungos**

A atividade antifúngica dos compostos foi avaliada por meio de ensaios de susceptibilidade contra *Candida albicans*, *Cryptococcus gattii*, *Trichophyton* sp.. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Pesquisa em Microbiologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) com a supervisão do Professor Dr. Anderson Assunção Andrade.

##### **4.4.1. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)**

Os perfis de suscetibilidade dos fungos aos compostos foram determinados pelo método de microdiluição em caldo de acordo com os documentos do CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) para leveduras (M27-A3 e M27-S4) e dermatófitos (M38-A2) (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2008a, 2008b, 2008c), utilizando meio de cultura RPMI 1640 (Himedia Laboratories ®, Mumbai, Índia) tamponado (pH 7,0) com ácido morfolinopropanosulfônico à 0,165 mol/L (MOPS; Sigma-Aldrich ®). Todos os testes foram realizados em duplicata, em dois experimentos independentes. O fluconazol (Pfizer ®, Guarulhos, São Paulo, Brasil) foi utilizado como controle positivo.

A CIM foi determinada visualmente como a menor concentração da substância que foi capaz de inibir completamente o crescimento fúngico em relação ao controle positivo. Para o fluconazol, foi definida como a menor concentração capaz de inibir 50% do crescimento fúngico.

#### **4.4.2. Teste de suscetibilidade para leveduras**

Leveduras foram subcultivadas em ágar Sabouraud dextrose (ASD; Himedia Laboratories ®) com cloranfenicol (50 mg/L; Ariston ®, São Paulo, Brasil) e incubadas em estufa à temperatura de  $36\text{ °C} \pm 1$ . Foram realizados dois cultivos de cada amostra antes do cultivo final de 24 horas utilizado para o teste. Colônias foram suspensas em salina estéril (0,85%) e a suspensão ajustada para  $1$  a  $5 \times 10^6$  UFC/mL por contagem em câmara de Neubauer e análise espectrofotométrica (BEL Photonics ®) no comprimento de onda de 530 nm para transmitância de 85%.

Em seguida, a suspensão foi diluída 1:50 em salina estéril, e depois diluída novamente 1:20 em meio RPMI 1640, resultando em uma suspensão contendo  $1$  a  $5 \times 10^3$  UFC/mL. Dessa suspensão, 100 µL foram adicionados em cada poço da placa de microtitulação contendo 100 µL previamente preparados por diluições seriadas dos compostos em diferentes concentrações (variando de 62,5 a 0,48 µg/mL), resultando em uma concentração final fúngica de  $0,5$  a  $2,5 \times 10^3$  UFC/mL. Em todas as placas foi incluído o fluconazol como controle positivo, além dos controles de crescimento (inóculo fúngico sem tratamento) e negativo (somente meio de cultura). As placas foram incubadas para leitura a  $36\text{ °C} \pm 1$  por 24 horas.

#### **4.4.3. Teste de suscetibilidade para dermatófitos**

Os dermatófitos previamente cultivados em ASD, foram subcultivados em ágar batata dextrose (ABD; Himedia Laboratories ®) em tubo inclinado e incubados a  $28\text{ °C}$  por 4 dias.

Após o período de incubação, as colônias foram cobertas com salina estéril (0,85%) e suas superfícies raspadas com a ponta de uma pipeta Pasteur de vidro estéril. Em seguida, a suspensão de conídios e de fragmentos hifais foi filtrada em gaze estéril e a sua densidade foi ajustada em espectrofotômetro, ao comprimento de onda de 520 nm para uma transmitância de 70 a 72%, levando à obtenção de uma suspensão contendo de  $2$  a  $4 \times 10^6$  UFC/mL. A concentração de conídios foi

confirmada pelo cultivo da suspensão em ASD e posterior contagem das colônias após a incubação a 28 °C, até que as mesmas se tornassem visíveis. A suspensão foi diluída 1:50 em meio RPMI 1640 e, em seguida, 100 µL foram adicionados em cada poço da placa de microtitulação contendo 100 µL previamente preparados por diluições seriadas dos compostos em diferentes concentrações (62,5 a 0,48 µg/mL), resultando na concentração final de conídios 2 a 4 × 10<sup>4</sup> UFC/mL. As placas foram incubadas para leitura a 28 °C por 4 dias.

#### **4.4.4. Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM)**

A determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM) foi realizada por meio da semeadura com alça de Drigalski em ASD de 10 µL dos poços que não mostraram crescimento visível nos ensaios da determinação da CIM, além dos poços de controles positivo e negativo. A CFM foi definida como a menor concentração dos compostos testados que promoveu uma redução do crescimento fúngico igual ou superior a 99,9% em relação ao inóculo original do controle positivo, após incubação das placas por 24 h a 37 °C para leveduras ou a 28 °C por quatro dias para dermatófitos (CANTÓN et al., 2003).

#### **4.5. Bactérias do ácido láctico (BAL)**

A avaliação da atividade antibacteriana dos compostos foi realizada por meio ensaios de susceptibilidade contra bactérias probióticas. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Bioquímica e Microbiologia (LABIM) da Universidade Federal de Catalão (UFCat) com a supervisão da Professora Dra. Jupyracyara Jandyra de Carvalho Barros.

##### **4.5.1. Padronização do inóculo bacteriano**

Foram empregados como modelo de bactérias probióticas *Lactobacillus acidophilus* - LA85 (Jiangsu Wecare Biotechnology, China), *Levilactobacillus brevis* - LB01 (Wecare Probiotics, China), *Lacticaseibacillus casei* - LC111/04 (Florien, Bélgica) e *Bifidobacterium bifidum* - BBi32 (Wecare Probiotics, China). Todos os cultivos foram mantidos a 37 °C por 24 horas. Após esse processo, foi ajustada a turbidez da solução comparando com a solução padrão de 0,5 McFarland que

equivale à  $10^8$  UFC/mL (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2023) com adaptações.

#### **4.5.2. Preparo das concentrações**

As diferentes substâncias, inicialmente, foram preparadas em caldo MRS estéril, diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) a 1% estéril, na concentração estoque de 1000 µg/mL.

#### **4.5.3. Ensaio antibacteriano**

Em condições assépticas e em diferentes placas de 96 poços, foram conduzidos os ensaios com as bactérias probióticas, utilizando como meio de cultura caldo Man Rogosa & Sharp (MRS).

Foram dispostas 10 diluições seriadas (colunas de 1 à 10), sendo testadas em triplicata. Como controle positivo, foi utilizado o caldo estéril com norfloxacina, enquanto o controle veículo constituiu-se de caldo estéril (1 % DMSO v/v). O primeiro poço foi adicionado 100 µL de solução estoque com 100 µL de meio de cultura estéril, a partir dessa foram executadas diluições seriadas nas concentrações: 500, 250, 125, 62,5, 31,2, 15,6, 7,8, 3,9, 1,9 e 0,97 µg/mL. Em cada um dos poços foram adicionados 5 µL do inóculo microbiano correspondente.

#### **4.5.4. Uso da colorimetria para detecção da atividade antibacteriana**

Cada poço com as diluições dos compostos recebeu 10 µL do corante estéril azul de metileno 0,1%. No que se refere aos lactobacilos, as placas foram seladas com filme plástico de parafina (Bemis®), incubadas a 37 °C por 72 horas e, posteriormente, o resultado foi expresso em microrganismos sensíveis aos compostos testados (coloração azul-esverdeado) e resistentes (coloração verde claro). Foi considerada como CIM aquela de menor valor, na qual não foi evidenciado indicação de crescimento bacteriano (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2023).

#### 4.6. Toxicidade contra larvas de *Galleria mellonella*

A avaliação de toxicidade das substâncias foi realizada no Laboratório de Expressão Gênica e Proteômica de Fungos Filamentosos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP) com supervisão da Professora Dra. Marcia Regina von Zeska Kress.

A toxicidade de **Tiof-1**, **Tiof-2**, **Tiof-3** e fluconazol foi avaliada utilizando larvas de *G. mellonella*, um modelo não-vertebrado, seguindo procedimentos previamente estabelecidos (IGNASIAK; MAXWELL, 2017). Cada substância foi testada em grupos de 5 larvas no sexto estágio de desenvolvimento, com peso entre 200 e 250 mg, colocadas em placas de Petri (60 mm x 15 mm). As doses testadas para cada substância variaram de 0,55 mg/kg a 5,57 mg/kg. Os grupos de controle incluíram etanol a 99,9% (controle positivo), DMSO a 40% (controle veículo), água destilada (controle negativo) e larvas não tratadas.

O experimento foi realizado ao longo de três dias independentes. Cinco microlitros de cada tratamento foram injetados no hemocélio das larvas por meio da última *proleg* direita usando uma microseringa Hamilton modelo 7000.5 KH. Após a injeção, as larvas foram mantidas a 37 °C sem alimento. As avaliações foram conduzidas a cada 24 horas ao longo de um período de 5 dias, com pré-pupas sendo removidas diariamente para adiar a metamorfose.

A análise de sobrevivência foi realizada utilizando a metodologia de Kaplan-Meier, e a significância estatística foi determinada usando o teste de log-rank (Mantel-Cox). O software GraphPad Prism versão 9.3.0 para Windows (San Diego, Califórnia, EUA) foi utilizado para análise dos dados.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Síntese e purificação dos curcuminoides

Os compostos sintetizados foram obtidos como sólidos de coloração amarela brilhante, aspectos característicos de curcuminoides (AHSAN et al., 2020; SUETH-SANTIAGO et al., 2015).

As sínteses das substâncias **Ben-1** e **Ben-2** apresentaram rendimentos globais de 31% e 35%, respectivamente. Em trabalho desenvolvido por Polaquini os rendimentos foram de 52% e 66%, respectivamente (POLAQUINI, 2019).



As sínteses das substâncias **Tiof-1**, **Tiof-2** e **Tiof-3** apresentaram rendimentos globais de 52%, 75% e 71%, respectivamente. É relevante destacar que esses três análogos são inéditos, conforme verificado por meio da pesquisa realizada na plataforma *CAS SciFinder-n da Chemical Abstracts Service* em 15/01/2024.

## **5.2. Identificação**

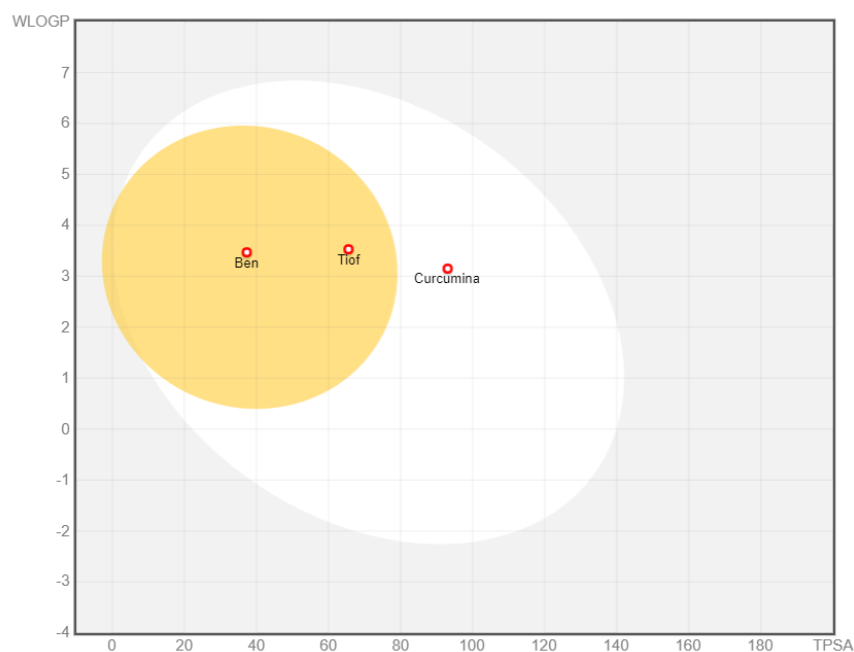
Todos os curcuminoides tiveram sua confirmação estrutural e pureza confirmadas por Ressonância Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  (Apêndices de A até E). A presença de 4 dupletos com constante de acoplamento entre 15,5 e 16,0 Hz no espectro de hidrogênio, os quais foram atribuídos aos hidrogênios H- $\alpha$  e H- $\beta$ , caracterizam a identidade monocetônica  $\alpha,\beta$ -insaturada dos curcuminoides benzênicos e tiofênicos.

## **5.3. Predição das propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e *druglikeness***

### **5.3.1. Brain Or Intestinal Estimated Permeation Method (BOILED-Egg)**

Com base em características físico-químicas das substâncias o modelo computacional SwissADME construiu um gráfico BOILED-Egg (Figura 6) com suas propriedades  $\log P$  e TPSA.

Figura 6: Gráfico Brain Or Intestinal Estimated Permeation Method (BOILED-Egg)



Fonte: autoria própria.

A curcumina ficou localizada na região branca e grafada em vermelho, apresentando potencial absorção intestinal, fraco potencial em transpor a BHE e incapacidade de ser substrato da gp-P.

Ao contrário da curcumina, os curcuminoides monocetônicos demonstraram uma elevada capacidade de atravessar a BHE, além de serem prontamente absorvidos pelo intestino.

A unidade  $\beta$ -dicetona confere à curcumina uma significativa instabilidade química e metabólica (ANAND et al., 2008). No entanto, formulações como nanopartículas poliméricas, micelas, transportadores peptídicos, ciclodextrinas e dispersões sólidas, contendo curcumina podem apresentar alta absorção intestinal, surgindo como abordagens promissoras para superar essa restrição (MOHAMED et al., 2017; MOHANTY; SAHOO, 2010).

Embora seja comum presumir que substâncias pequenas tenham fácil acesso à BHE, a prática revela que, entre as substâncias bioativas, 100% das moléculas grandes e 98% das pequenas não conseguem penetrar eficientemente essa barreira (PARDRIDGE, 2005). Devido perda da dicetona, os curcuminoides monocetônicos apresentaram a capacidade não apenas de transpor a BHE, mas também de manter concentrações altas no SNC por não ser substrato da gp-P (MOHAMED et al., 2017; SCHINKEL, 1999).

Compostos bioativos que não são substratos de gp-P como os curcuminoides monocetônicos são promissores para atuação no SNC, como agentes antitumorais, antimicrobianos, antirretrovirais e antidepressivos (SCHINKEL, 1999).

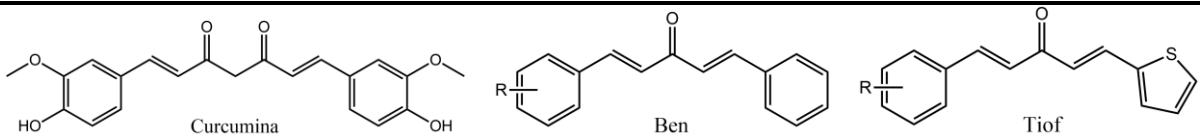
Por um outro lado, a gp-P desempenha um papel crucial como uma segunda barreira de defesa no SNC, proporcionando proteção contra toxinas. Nesse contexto, substâncias que não se configuram como substratos para essa proteína podem manifestar maiores níveis de neurotoxicidade (LÖSCHER; FRIEDMAN, 2020).

A característica de permeabilidade e manutenção no SNC torna os curcuminoides substâncias promissoras em relação ao tratamento de infecções fúngicas invasivas, como candidemias, criptococose e dermatofitoses invasivas (LI et al., 2022; LOYSE et al., 2013; WANG et al., 2021).

### **5.3.2. Propriedades físico-químicas**

As propriedades físico-químicas de uma substâncias preditas pelo SwissADME podem ser um importante fator para se considerar suas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas, (Tabela 1) (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017).

Tabela 1: Propriedades físico-químicas da curcumina e curcuminoides.



COD	Ben-1	Ben-2	Tiof-1	Tiof-2	Tiof-3	Curcumina
R	<i>m</i> -OH	<i>p</i> -OH	<i>o</i> -OH	<i>m</i> -OH	<i>p</i> -OH	-
log <i>P</i> consensus	3,44	3,43	3,43	3,3	3,3	3,03
XLOGP3	4,01	3,94	3,99	3,48	3,48	3,2
log <i>S</i> (SILICOS-IT)	-4,47	-4,47	-3,74	-3,74	-3,74	-4,45
MM (Da)	250,29	250,29	256,32	256,32	256,32	368,38
Área de superfície total (Å <sup>2</sup> )	37,30	37,30	65,54	65,54	65,54	93,06
PB (%)	56	56	56	56	56	56
NROT	4	4	4	4	4	8

COD = Código; R = Substituinte; MM = Massa molecular; PB = Pontuação de biodisponibilidade; NROT = Número de ligações rotacionáveis

Fonte: Autoria própria.

Certas propriedades físico-químicas são capazes de interferir diretamente em suas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas (ASHLEY, 2019). Uma massa molecular inferior a 450 Da e não ser substrato da gp-P são características amplamente desejadas para substâncias usadas em tratamento de infecções no SNC. Todos os curcuminoides monocetônicos apresentam essas características, o que poderia os levar a uma maior concentração no SNC, diferente da curcumina que tem dificuldade de atravessar a BHE (ASHLEY, 2019; NAU; SÖRGEL; EIFFERT, 2010; RANKOVIC, 2015).

A biodisponibilidade predita emprega os parâmetros físico-químicos da molécula para prever a probabilidade de que a substância demonstre pelo menos 10% de biodisponibilidade ao ser administrada via oral em ratos (MARTIN, 2005). Todas as substâncias exibem uma probabilidade de 56% de alcançar 10% de biodisponibilidade oral, um valor comparável aos fármacos como o fluconazol e o omeprazol, seguindo a mesma análise.

Entre outros motivos, uma grande barreira para o uso terapêutico da curcumina é a sua baixa solubilidade em água (MOHAMED et al., 2017; SUETH-SANTIAGO et al., 2015).

O  $\log S$ , determinado pela ferramenta Silicos-it, é uma estimativa da hidrossolubilidade de moléculas, baseando-se em sua estrutura molecular. Quanto maior o valor de  $\log S$ , maior é a solubilidade da substância em água. A curcumina e os curcuminoides benzênicos possuem valores de  $\log S$  entre -4,47 e -4,45, sendo classificados como moderadamente solúveis. Os curcuminoides tiofênicos apresentam potencial de maior hidrossolubilidade, com um valor de  $\log S$  de -3,74, classificado como substâncias solúveis.

### **5.3.3. Propriedades *leadlikeness* e *druglikeness* dos curcuminoides benzênicos e tiofênicos**

As propriedades de *leadlikeness* referem-se às características desejáveis em substâncias líderes que aparentam ser promissoras no estudo de novos fármacos. As características empregadas para esse trabalho foram massa molecular (MM) entre 250 e 350 Da, coeficiente de partição *n*-octanol/água (XLOGP3) menor ou igual a 3,5 e número de ligações rotacionáveis (NROT) menor ou igual a 7 (TEAGUE et al., 1999).

As propriedades *druglikeness* envolve um conceito fundamental na pesquisa de fármacos que se refere à avaliação de quão semelhante uma molécula é aos compostos farmacêuticos convencionais. Diversas características físico-químicas são utilizadas como parâmetro de comparação variando para cada autor e biblioteca de compostos estudada.

Lipinski, baseado na comparação com banco de dados de fármacos de uso oral pela companhia farmacêutica Pfizer® desenvolveu o padrão conhecido como Regra dos Cinco, estabelecendo cinco critérios para a adequação de substâncias, incluindo massa molecular abaixo de 500 Da,  $\log P$  menor que 5, até 5 sítios doadores de hidrogênio, e até 10 sítios aceitadores de hidrogênio (LIPINSKI et al., 2001).

A proposta de Ghose, destaca critérios alternativos baseada na lista de fármacos da companhia farmacêutica Amgen®. Destacando os seguintes critérios de similaridade com fármacos, faixa de massa molecular entre 160 e 480 Da,  $\log P$

menor que 5,6, refratividade molar entre 40 e 130 e número de átomos entre 20 e 70 (GHOSE; VISWANADHAN; WENDOLOSKI, 1999).

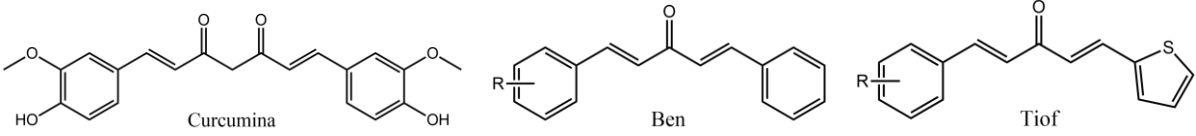
Os parâmetros estabelecidos por Veber foram baseados em substâncias da quimioteca da GlaxoSmithKline®, e se concentram em características que envolvem a limitação e até 10 ligações rotacionáveis, área de superfície polar topológica (TPSA) até 140 Å<sup>2</sup> ou 12 ou menos sítios doadores somados a sítios aceptores de hidrogênio (VEBER et al., 2002).

As regras de Egan, elaboradas por John B. Egan, complementam a avaliação de *druglikeness* com critérios adicionais. Incluem a restrição área de superfície polar topológica menor que 131,6 Å<sup>2</sup> e se baseando em cálculos estatísticos do modelo Cerius2 4.0 AlogP98 (EGAN; MERZ; BALDWIN, 2000).

A regra de Muegge está relacionada com a quantidade e a diversidade de pontos farmacofóricos presentes em uma molécula (MUEGGE; HEALD; BRITTELLI, 2001).

No quadro 2, estão apresentadas diversas regras *druglikeness* e *leadlikeness* aplicadas a curcumina e aos curcuminoides benzênicos e tiofênicos, segundo o SwissADME.

Quadro 1: Propriedades *druglikeness* e *leadlikeness* dos curcuminoides benzênicos e tiofênicos

							
COD	R	Lipinski	Ghose	Veber	Egan	Muegge	Leadlikeness
Ben-1	<i>m</i> -OH	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não, 1 violação
Ben-2	<i>p</i> -OH	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não, 1 violação
Tiof-1	<i>o</i> -OH	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não, 1 violação
Tiof-2	<i>m</i> -OH	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Tiof-3	<i>p</i> -OH	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Curcumina	-	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não, 2 violações

COD = Código; R = Substituinte.

Fonte: Autoria própria.

Curcuminas e curcuminoides apresentam compatibilidade com todas as metodologias de *druglikeness*, o que os torna estruturalmente muito semelhantes a moléculas já estabelecidas no uso farmacêutico.

Uma substância líder (*lead compound*) apresenta características promissoras para a pesquisa de novos candidatos à fármacos ainda em fases preliminares de triagem de substâncias bioativas (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017).

Algumas características recomendadas para compostos que têm potencial para serem utilizados como substâncias líderes incluem: uma massa molecular situada entre 250 e 350 Da, um log *P* inferior a 3,5 e um número de ligações rotacionáveis menor que 7 (TEAGUE et al., 1999).

As substâncias **Ben-1**, **Ben-2** e **Tiof-1** apresentaram o log *P* calculado pela ferramenta XLOGP3 maior que o desejado para uma possível substância líder.

A curcumina apresenta peso molecular e log *P* fora do padrão desejado para um *lead*, corroborando suas insuficiências farmacocinéticas e farmacodinâmicas

Os curcuminoides **Tiof-2** e **Tiof-** se enquadram em todas as características desejadas para um *lead*, mostrando maior vantagem quando comparado a curcumina e aos análogos benzênicos.

#### 5.3.4. Inibição do Citocromo P450 (CYP)

Em animais, o citocromo P450 (CYP) refere-se a uma superfamília de enzimas hepáticas essenciais para o metabolismo de grande parte dos xenobióticos, incluindo fármacos, toxinas e compostos endógenos (NEBERT; RUSSELL, 2002).

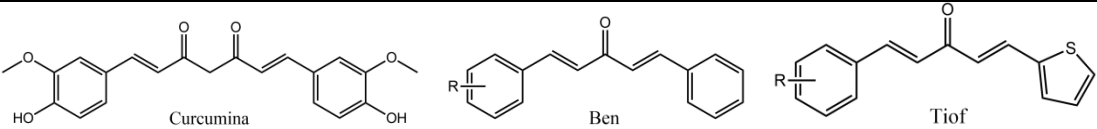
Por meio de reações de biotransformação, essas enzimas tornam as substâncias químicas mais solúveis em água e facilitam sua excreção (NEBERT; RUSSELL, 2002). De maneira geral, a maior parte dos xenobióticos, incluindo os fármacos, tem alta transformação pelas enzimas de metabolismo de fase 1, incluindo principalmente as CYP (MCDONNELL; DANG, 2013).

Deste modo, é de suma importância conhecer a interação entre fármacos e CYP, que é um importante fator de interação medicamentosa, podendo estar relacionado a amplificação de efeitos adversos, devido à menor depuração e acúmulo da substância ou de seus metabólitos (KIRCHMAIR et al., 2015; MCDONNELL; DANG, 2013; NEBERT; RUSSELL, 2002).

Sugere-se que uma parcela significativa, variando de 50% a 90%, das substâncias terapêuticas atuais são processadas pelas cinco principais isoformas enzimáticas, nomeadamente CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 e CYP3A4 (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017; DI, 2014).

No (Quadro 2) estão relacionadas as possíveis inibições das principais enzimas da família CYP baseado em predições do SwissADME® (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017).

Quadro 2: Inibição do Citocromo P450 (CYP) pelos curcuminoides benzênicos e tiofênicos

						
COD	R	Inibidor CYP1A2	Inibidor CYP2C19	Inibidor CYP2C9	Inibidor CYP2D6	Inibidor CYP3A4
Ben-1	<i>m</i> -OH	Sim	Sim	Sim	Não	Não
Ben-2	<i>p</i> -OH	Sim	Sim	Sim	Não	Não
Tiof-1	<i>o</i> -OH	Não	Sim	Sim	Não	Não
Tiof-2	<i>m</i> -OH	Não	Sim	Sim	Não	Não
Tiof-3	<i>p</i> -OH	Não	Sim	Sim	Não	Não
curcumina	-	Não	Não	Sim	Não	Sim

COD = Código; R = Substituinte; CYP = Citocromo P450.

Fonte: Autoria própria.

As micotoxinas são metabólitos secundários produzidos diversos gêneros de fungos filamentosos, principalmente *Alternaria*, *Aspergillus*, *Claviceps*, *Fusarium* e *Penicillium*. Essas toxinas são diretamente relacionadas a intoxicações alimentares e causam intoxicações por meio da inalação e contato com a pele, apresentando alto risco para a saúde mesmo em baixas concentrações (WEN; MU; DENG, 2016).

Até o momento, foram identificadas aproximadamente 400 micotoxinas com efeito tóxico pronunciado. Entre elas, destacam-se as principais categorias, como tricotecenos, ocratoxinas, aflatoxinas, zearalenona, fumonisinas, patulina e citrinina. Essas substâncias são reconhecidas por desempenhar um papel significativo em diversas micotoxicoses, abrangendo aspectos relevantes para a saúde humana,



veterinária e a agricultura (ADEBO et al., 2021; FUNG; CLARK, 2004; HAMAD et al., 2023).

O contato prolongado com micotoxinas tem como efeitos mais comuns sobre a saúde dos animais: nefrotoxicidade, hepatotoxicidade, imunossupressão, carcinogenicidade e teratogenicidade (JANIK et al., 2020).

Em nível celular as micotoxinas podem levar a diversos distúrbios celulares, entre eles, estresse oxidativo, apoptose, morte celular, danos ao DNA e parada do ciclo celular (WEN; MU; DENG, 2016).

Embora o mecanismo subjacente ainda não seja completamente esclarecido, é observado que muitas micotoxinas têm a capacidade de induzir a expressão de isoformas de enzimas pertencentes ao complexo CYP, incluindo notavelmente CYP1A2, CYP2C9 e CYP3A4. Essas enzimas desempenham um papel crucial na biotransformação dos metabólitos tóxicos associados a essas micotoxinas (AYED-BOUSSEMA et al., 2012; BAHARI et al., 2014; WEN; MU; DENG, 2016).

Das três enzimas envolvidas diretamente no metabolismo das micotoxinas duas delas são inibidas pelas substâncias **Ben-1** e **Ben-2**, as isoformas CYP1A2 e CYP2C9, o que pode relacionar seu uso a longo prazo a menor eficiência de biotransformação de micotoxinas e conseqüentemente sua maior toxicidade. As substâncias **Tiof-1**, **Tiof-2** e **Tiof-3** demonstram potencial inibitório apenas da isoforma CYP2C9, demonstrando menor potencial interferência na metabolização dessas toxinas.

O antifúngico voriconazol atua como um potente inibidor e substrato da isoforma CYP2C19, estando notavelmente vinculado à ocorrência de fototoxicidade, manifestada por eritemas, queilites e bolhas. Relatos indicam que a exposição prolongada ao voriconazol está associada ao desenvolvimento de carcinomas de células escamosas e melanomas. Dessa maneira, sua coadministração com outros inibidores de CYP2C19, como os curcuminoídes monocetônicos, poderiam intensificar os efeitos adversos (MORICE et al., 2010; RIAHI; COHEN, 2011; SHEU et al., 2015).

Diversas interações medicamentosas estão associadas às principais isoformas do sistema enzimático CYP. O fármaco imatinibe, utilizado no tratamento de diversos tipos de câncer, como leucemia mieloide crônica e tumores estromais gastrointestinais, é um substrato da CYP3A4, tornando-o particularmente suscetível a interações medicamentosas (KIRCHMAIR et al., 2015).

Antifúngicos azólicos podem aumentar em concentrações de plasmáticas de imatinibe, uma vez que atuam como inibidores dessa enzima, levando a maior concentração desse antitumoral o que está diretamente relacionado a reações adversas e toxicidade (KIRCHMAIR et al., 2015; LEWIS, 2011; MCDONNELL; DANG, 2013).

Das substâncias submetidas à predição de interação com CYP, apenas a curcumina está relacionada a CYP3A4, todos os curcuminoides monocetônicos não apresentaram essa relação de inibição, o que sugere menor possibilidade de interações medicamentosas no nível metabólico.

#### 5.4. Atividade antifúngica

A atividade antifúngica da curcumina e dos análogos benzênicos e tiofênicos foi investigada contra *C. albicans*, *C. gattii* e *Trichophyton* sp. (Tabela 2).

Tabela 2: Atividade antifúngica de curcumina e curcuminoides contra fungos patogênicos expressa em Concentração Inibitória Mínima (CIM<sub>100</sub>) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) com valores em µg/mL

COD	R	CA		CG		TS	
		CIM <sub>100</sub>	CFM	CIM <sub>100</sub>	CFM	CIM <sub>100</sub>	CFM
Ben-1	<i>m</i> -OH	>62,5	>62,5	3,9	ND	15,6	62,5
Ben-2	<i>p</i> -OH	>62,5	>62,5	15,6	15,6	31,2	62,5
Tiof-1	<i>o</i> -OH	>62,5	>62,5	3,9	3,9	1,9	7,8
Tiof-2	<i>m</i> -OH	>62,5	>62,5	7,8	7,8	7,8	15,6
Tiof-3	<i>p</i> -OH	>62,5	>62,5	7,8	15,6	7,8	>62,5
curcumina	-	>62,5	>62,5	15,6	15,6	31,2	62,5
FLU	-	0,5	-	4,0	-	32,0	-

COD = Código; R = Substituinte; FLU = Fluconazol 50%; CA = *Candida albicans* (ATCC 14053); CG = *Cryptococcus gattii* (Isolado Clínico); TS = *Trichophyton* sp. (Isolado Clínico); CIM<sub>100</sub> = Concentração Inibitória Mínima; CFM = Concentração Fungicida Mínima; ND = Não determinado.

Fonte: Autoria própria.

As atividades antifúngicas da *Curcuma longa* são abundantemente exploradas na literatura científica. Os mais diversos tipos de extrato desse rizoma, óleo de cúrcuma e substâncias isoladas foram amplamente testados contra uma grande variedade de fungos patogênicos e decompositores de importância em segurança de alimentos (ZOROFCHIAN MOGHADAMTOUSI et al., 2014).

*C. albicans* habita diversos nichos no corpo humano como microrganismo comensal, processos de disbioses, em particular ocorridos no intestino por antibioticoterapia de amplo espectro, apresentam alto risco de desenvolvimento de infecções invasivas por esse microrganismo, acarretando infecções com alto índice de mortalidade (D'ENFERT et al., 2021; LI et al., 2022).

Estudo explorando as atividades da curcumina contra uma variedade de fungos patogênicos demonstrou que a CIM contra *C. albicans* (ATCC 18804) foi de 64 µg/mL, valor maior que o testado no presente trabalho (MARTINS et al., 2008).

Contudo, a literatura traz diversos exemplos, nos quais a curcumina e curcuminoides quando associadas a fotoexcitação apresenta aumento na atividade antifúngica principalmente no tratamento de candidíase oral, obtendo CIM entre 7,4 µg/mL devido ao efeito fototóxico dos curcuminoides (DOVIGO et al., 2011a, 2011b, 2013; MELO et al., 2023).

As atividades da curcumina contra *C. gattii* são bastante promissoras, sendo possível observar uma CIM<sub>80</sub> igual a 19,8 µg/mL, corroborando os resultados obtidos no presente trabalho. O mesmo trabalho demonstrou que a associação de curcumina e fluconazol teve alta influência na diminuição da carga fúngica e do dano pulmonar em camundongos, assim como alta influência na sobrevivência dos camundongos devido a eliminação completa de células fúngicas no SNC (DA SILVA et al., 2016).

Diferente da curcumina, os curcuminoides benzênicos e tiofênicos parecem apresentar alta capacidade de passagem pela barreira hematoencefálica e manutenção no cérebro, o que pode ser característica muito promissora para o tratamento de infecções no SNC.

O curcuminóide **Ben-1** apresentou o menor valor de CFM (3,9 µg/mL) entre as substâncias testadas, a CIM<sub>100</sub> é comparável ao controle fluconazol (4,0 µg/mL). Resultado semelhante foi apresentado pelos curcuminoides tiofênicos **Tiof-1**, **Tiof-2** e **Tiof-3**.

Estudos demonstraram que diversas preparações de cúrcuma produzidas na Tailândia exibiram atividades antifúngicas diferentes, sendo demonstrado que o óleo de açafrão apresentou propriedades antifúngicas mais acentuadas do que os extratos etanólicos. Além disso, comparativamente, o óleo recém extraído e o óleo com 18 meses de extração demonstraram concentração inibitória contra fungos dermatófitos de 7,8 e 7,2 mg/mL, respectivamente, o que evidenciou que não apenas a curcumina, mas outros curcuminoides presentes na planta conferem suas atividades biológicas (WUTHI-UDOMLERT et al., 2000).

Quando aplicado *in vivo* os resultados demonstraram que curcuminoides presentes no óleo de açafrão (diluição 1: 80) com aplicação dérmica levaram a melhora de lesões dermatofíticas após 2 a 5 dias e ao desaparecimento das lesões após 6 a 7 dias (APISARIYAKUL; VANITTANAKOM; BUDDHASUKH, 1995).

Estudos mais recentes demonstram que a formulação de  $\gamma$ -ciclodextrina ligada a 15% de curcuminoides (65%-82% de curcumina, 15%-25% de desmetoxicurcumina e 2%-7% de bisdemetoxicurcumina) tem atividade inibitória quando irradiado com luz visível (comprimento de onda 420 nm, 45 J/cm<sup>2</sup>), a mesma formulação apresenta inibição de crescimento significativamente menor quando não associada com fotoexcitação. Resultados demonstram que terapias fotoquímicas com curcuminoides podem apresentar um caminho promissor para futuros tratamentos de dermatofitoses causadas por *T. rubrum* (BRASCH et al., 2020).

Os curcuminoides tiofênicos demonstram atividade significativamente maior contra *Trichophyton* sp. podendo destacar a substância **Tiof-1** com hidroxila *orto* posicionada que apresenta valores de CIM<sub>100</sub> e CFM iguais a 1,9  $\mu$ g/mL e 7,8  $\mu$ g/mL, respectivamente. Em comparação à curcumina e **Ben-2**, **Tiof-1** apresentou CIM<sub>100</sub> 16,4 vezes inferior e CFM 8 vezes inferior. Também vale destacar que a mudança de posição da hidroxila nas substâncias **Tiof-2** e **Tiof-3** apresenta decréscimo na atividade, contudo, as substâncias com hidroxilas *meta* e *para* posicionadas gerou substâncias com potência maior que a curcumina, **Ben-1** e **Ben-2**.

### 5.5. Atividade contra microrganismos probióticas

A interação curcumina e probióticos já é discutida, incluindo estudos *in vivo*, que demonstraram que os benefícios da curcumina e dos probióticos destacando efeitos sinérgicos em doenças intestinais e sistêmicas.

As atividades da cúrcuma e curcumina contra BAL foram exploradas na ciência de alimentos, principalmente pela aplicação desse nutracêutico como conservante natural. Suas atividades antioxidante, antimicrobiana contra microrganismos patogênicos e de preservação da integridade de probióticos a tornam um interessante composto para formulações alimentares (HAN et al., 2021; SU et al., 2021)

Estudo recente de BUNIEWSKA-OLEJNIK et al., (2023) avaliou o efeito do extrato padronizado de cúrcuma NOMICU® L-100 e extrato padrão de cúrcuma como conservante para iogurte. O estudo demonstrou a manutenção da população *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-2 nos níveis recomendados para produtos lácteos (7–9 log UFC/g).

Um estudo adicional revelou que uma parcela significativa da curcumina e dos curcuminoides sofre metabolismo por bactérias intestinais durante o processo de fermentação. Nesse contexto, aproximadamente 37% da curcumina, 16% da desmetoxicurcumina e 15% da *bis*-desmetoxicurcumina podem ser transformados em por bactérias, como *Escherichia fergusonii* (ATCC 35469) e *E. coli* (ATCC 8739 e DH10B). Esse processo resulta na formação predominante de metabólitos como dihidrocurcumina, tetrahidrocurcumina e ácido ferúlico. (TAN et al., 2014). Esses metabólitos apresentam alta atividade antioxidante e não parecem demonstrar efeitos antimicrobianos (ALVAREZ-RICARDO et al., 2023; HWANG et al., 2022).

A biotransformação realizada por bactérias intestinais, pode explicar a baixa atividade antibacteriana da curcumina e dos curcuminoides monocetônicos em probióticos.

Uma das principais problemáticas do uso da curcumina por via oral é sua baixa solubilidade em água e conseqüentemente baixa absorção e disponibilidade, contudo é importante destacar que os metabólitos gerados pelo metabolismo de primeira passagem ainda podem apresentar atividade biológica mesmo em baixas concentrações (SCAZZOCCHIO; MINGHETTI; D'ARCHIVIO, 2020).

Estudos com camundongos apresentaram altas concentrações no lúmen intestinal quando administradas por via oral, tornando a curcumina e curcuminoides interessantes reguladores de microbiota, equilibrando populações de microrganismos comensais, patogênicos e probióticos (FENG et al., 2017; LI et al., 2021; ZHANG et al., 2017).

Em camundongos a administração de curcumina demonstrou o favorecimento de bactérias probióticas incluindo espécies de *Lacticaseibacillus* e *Bifidobacterium* associada com a redução das comunidades das famílias *Prevotellaceae*, *Coriobacterales*, *Enterobacteria* e *Rikenellaceae*, altamente associadas ao surgimento de doenças sistêmicas incluindo colite, doença inflamatória intestinal e câncer de colorretal (MCFADDEN et al., 2015; OHNO et al., 2017; SHEN; LIU; JI, 2017).

Outro estudo recente demonstrou o tratamento com fluconazol não afetou diretamente a abundância bacteriana do microbioma intestinal, contudo, teve efeito significativo na diversidade microbiana, onde os Filos *Bacteroidetes*, *Deferribacteres*, *Patescibacteria* e *Tenericutes* tem a diversidade amplamente reduzida, enquanto os Filos *Firmicutes* e *Proteobacteria* tem sua diversidade aumentada (HENG; JIANG; CHU, 2021).

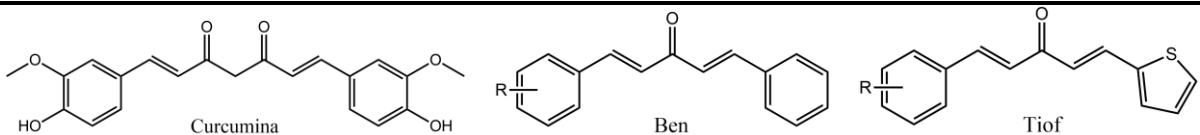
O uso de antifúngicos leva a uma reestruturação do microbioma intestinal, onde tal variação está diretamente relacionada a quadros agudos e crônicos de colite (ILIEV et al., 2012).

A disbiose intestinal principalmente causada pela terapia com antimicrobianos de amplo espectro demonstra ser pré-requisito para infecções de alta mortalidade por *C. albicans* (HOGENAUER et al., 1998; LI et al., 2022).

É importante salientar que *C. albicans* e BAL dividem o mesmo nicho metabólicos, bactérias do gênero *Lactobacillus* desenvolvem relação antagonista contra *C. albicans* de modo que terapias combinando curcuminoides e BAL podem apresentar efeito sinérgico evitando a disbiose por *C. albicans* (VAN OGTROP et al., 1991; ZEISE; WOODS; HUFFNAGLE, 2021).

Os efeitos inibitórios da curcumina e dos curcuminoides monocetônicos em bactérias ácido lácticas (BAL) foram apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Atividade de curcumina e curcuminoides contra bactérias ácido lácticas expressa em Concentração Inibitória Mínima (CIM) com valores em µg/mL.

					
COD	R	LA	LB	LC	BB
Ben-1	<i>m</i> -OH	>500	>500	>500	>500
Ben-2	<i>p</i> -OH	>500	>500	>500	>500
Tiof-1	<i>o</i> -OH	>500	>500	>500	>500
Tiof-2	<i>m</i> -OH	>500	>500	>500	>500
Tiof-3	<i>p</i> -OH	>500	>500	>500	>500
curcumina	-	>500	>500	>500	>500
NOR	-	0,025	0,025	0,025	0,025

COD = Código; R = Substituinte; NOR = Norfloxacin; LA = *Lactobacillus acidophilus* (LA85); LB = *Levilactobacillus brevis* (LB01); LC = *Lacticaseibacillus casei* (LC111/04); BB = *Bifidobacterium bifidum* (BBi32).

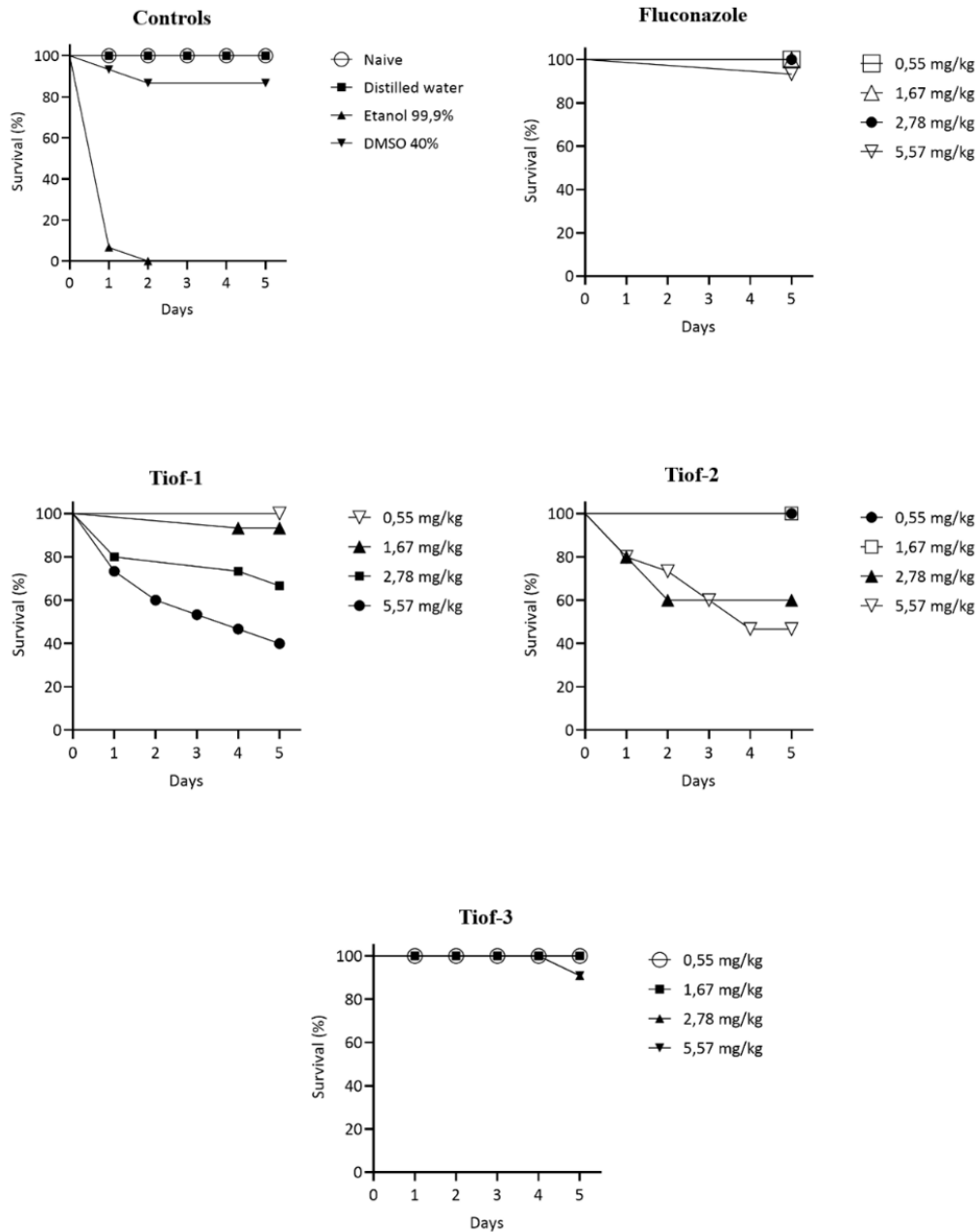
Fonte: Autoria própria.

Tanto a curcumina quanto os curcuminoides monocetônicos não inibiram o crescimento das BAL, com valores de CIM > 500 µg/mL. Tais resultados demonstram que os curcuminoides benzênicos e tiofênicos propostos no presente trabalho podem apresentar efeitos semelhantes aos apresentados em diversos estudos *in vivo* pela curcumina, principalmente os relacionados a regulação da microbiota intestinal.

### 5.6. Toxicidade em *Galleria mellonella*

A sobrevivência das larvas de *G. mellonella* frente aos curcuminoides foram demonstradas na (Figura 7).

Figura 7: Gráficos de sobrevivência de *Galleria mellonella* valores em mg/kg.



Fonte: autoria própria.

As larvas não tratadas e aquelas administradas com água destilada apresentaram sobrevivência total ao longo de todo o período experimental. Por outro lado, o grupo submetido à injeção de etanol a 99,9% manifestou mortalidade a partir do primeiro dia após a exposição e com efeito letal total ao final do segundo dia. As larvas tratadas com 0,55 mg/kg, 1,67 mg/kg, 2,78 mg/kg e 5,57 mg/kg de **Tiof-1** apresentaram porcentagens de sobrevivência de 100%, 93,3%, 66,66% e 40%,



respectivamente. Apenas a dose mais alta testada (5,57 mg/kg ou 312 µg/mL) foi considerada tóxica para *G. mellonella*.

Da mesma forma, houve uma taxa de sobrevivência de 46,66% das larvas tratadas com 5,57 mg/kg (312 µg/mL) de **Tiof-2** sendo considerada a única concentração tóxica nesse modelo.

Nos tratamentos com **Tiof-3**, todas as concentrações testadas demonstraram alto índice de sobrevivência, não apresentando toxicidade para *G. mellonella* nas concentrações testadas. Dessa forma, **Tiof-3** mostrou-se o curcuminoide tiofênico menos tóxico da série preparada.

O fluconazol comumente utilizado no tratamento de infecções fúngicas também não apresentou toxicidade para as larvas nas mesmas concentrações.

A falta de indução de mortalidade em 60% das larvas em doses menores que 2000 mg/kg classifica substâncias como não tóxicas dentro deste modelo (IGNASIAK; MAXWELL, 2017).

Estudos utilizando o modelo *G. mellonella* demonstrou a segurança da utilização tanto da curcumina como do extrato de *C. longa* em concentração 200 µg/mL e 100 mg/mL, respectivamente, com taxa de sobrevivência acima de 90% (MARQUES MECCATTI et al., 2022).

Contudo estudos mostram tolerabilidade em doses altas de curcumina, até 8 gramas ao dia para pacientes em tratamento oncológico (DHILLON et al., 2008; KANAI et al., 2011)

O trabalho de Polaquini demonstrou que doses menores ou igual a 50 mg/kg de **Ben-1** causou uma taxa de sobrevivência superior a 60%, sendo assim não apresenta toxicidade nesse modelo (POLAQUINI, 2019).

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados indicaram os curcuminoides monocetônicos como substâncias promissoras na busca de novos antifúngicos, devido a característica de boa permeação intestinal e BHE, sendo promissora no tratamento de infecções sistêmicas e no SNC. O efeito ausente contra bactérias probióticas (BAL) da microbiota intestinal contribuiu para sua segurança e seletividade, oferecendo características *druglikeness* em termos físico-químicos, farmacocinéticos e farmacodinâmicos.

Todos os curcuminoides tiofênicos apresentaram atividade antifúngica similar aos curcuminoides benzênicos, confirmando a relação bioisotérica clássica de anéis (benzeno-tiofeno), destacando a atividade antifúngica de **Tiof-1** contra *Trichophyton* sp, *C. albicans* e *C. gattii*.

Os resultados de toxicidade contra larvas de *G. mellonella* demonstraram alta sobrevivência das larvas mesmo quando expostas a concentrações acima da CIM (obtida nos ensaios antifúngicos), o que sugere baixa toxicidade nessas concentrações. Destacando o curcuminóide **Tiof-3** que mesmo nas concentrações mais altas manteve alto índice de sobrevivência das larvas.

Tais resultados destacaram a viabilidade de curcuminoides monocetônicos como possíveis agentes antifúngicos, principalmente os curcuminoides tiofênicos.

## REFERENCIAS

- ADEBO, O. A. et al. A review on novel non-thermal food processing techniques for mycotoxin reduction. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 56, n. 1, p. 13–27, 13 jan. 2021.
- AHSAN, R. et al. A comprehensive review on physiological effects of curcumin. **Drug Research**, v. 70, n. 10, p. 441–447, 3 out. 2020.
- AKABERI, M.; SAHEBKAR, A.; EMAMI, S. A. Turmeric and curcumin: from traditional to modern medicine. Em: [s.l: s.n.]. p. 15–39.
- ALTHANI, A. A. et al. Human Microbiome and its Association With Health and Diseases. **Journal of Cellular Physiology**, v. 231, n. 8, p. 1688–1694, ago. 2016.
- ALVAREZ-RICARDO, Y. et al. Synthesis, characterization, theoretical studies and antioxidant and cytotoxic evaluation of a series of Tetrahydrocurcumin (THC)-benzylated derivatives. **Journal of Molecular Structure**, v. 1273, p. 134355, fev. 2023.
- ANAND, P. et al. Curcumin and cancer: An “old-age” disease with an “age-old” solution. **Cancer Letters**, v. 267, n. 1, p. 133–164, ago. 2008.
- ANWAR, S. K. et al. Curcumin nanoparticles: the topical antimycotic suspension treating oral candidiasis. **Odontology**, 1 abr. 2022.
- APISARIYAKUL, A.; VANITTANAKOM, N.; BUDDHASUKH, D. Antifungal activity of turmeric oil extracted from *Curcuma longa* (Zingiberaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 49, n. 3, p. 163–169, dez. 1995.
- ASHLEY, E. D. Antifungal Drugs: Special Problems Treating Central Nervous System Infections. **Journal of Fungi**, v. 5, n. 4, p. 97, 11 out. 2019.
- ATANASOV, A. G. et al. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 20, n. 3, p. 200–216, 28 mar. 2021.
- AYED-BOUSSEMA, I. et al. Effect of Aflatoxin B<sub>1</sub> on Nuclear Receptors PXR, CAR, and AhR and Their Target Cytochromes P450 mRNA Expression in Primary Cultures of Human Hepatocytes. **International Journal of Toxicology**, v. 31, n. 1, p. 86–93, 12 jan. 2012.
- AZIZ, R. K. et al. Drug pharmacomicrobiomics and toxicomicrobiomics: from scattered reports to systematic studies of drug–microbiome interactions. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 14, n. 10, p. 1043–1055, 3 out. 2018.
- BAHARI, A. et al. Cytochrome P450 isoforms are differently up-regulated in aflatoxin B<sub>1</sub>-exposed human lymphocytes and monocytes. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 36, n. 1, p. 1–10, 30 fev. 2014.
- BAKER, R. E. et al. **Infectious disease in an era of global change**. **Nature Reviews Microbiology** Nature Research, , 1 abr. 2022.
- BALLARD, E. et al. In-host microevolution of *Aspergillus fumigatus*: a phenotypic and genotypic analysis. **Fungal Genetics and Biology**, v. 113, p. 1–13, abr. 2018.

BEGUM, J. et al. **Recent advances in the diagnosis of dermatophytosis.** *Journal of Basic Microbiology* Wiley-VCH Verlag, , 1 abr. 2020.

BOSSO, J. A.; MAULDIN, P. D.; SALGADO, C. D. The association between antibiotic use and resistance: the role of secondary antibiotics. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, v. 29, n. 9, p. 1125–1129, 10 set. 2010.

BRANDL, K. et al. Vancomycin-resistant enterococci exploit antibiotic-induced innate immune deficits. *Nature*, v. 455, n. 7214, p. 804–807, 24 out. 2008.

BRASCH, J. et al. Clinical isolates of *Trichophyton rubrum* are completely inhibited by photochemical treatment with a  $\gamma$ -cyclodextrin formulation of curcuminoids. *Mycoses*, v. 63, n. 4, p. 369–375, 4 abr. 2020.

BROWN, G. D. et al. Hidden Killers: Human Fungal Infections. *Science Translational Medicine*, v. 4, n. 165, 19 dez. 2012.

BUNIEWSKA-OLEJNIK, M. et al. The influence of curcumin additives on the viability of probiotic bacteria, antibacterial activity against pathogenic microorganisms, and quality indicators of low-fat yogurt. *Frontiers in Nutrition*, v. 10, 3 abr. 2023.

BURSTEIN, V. L. et al. Skin immunity to dermatophytes: from experimental infection models to human disease. *Frontiers in Immunology*, v. 11, 2 dez. 2020.

BYRD, A. L.; BELKAID, Y.; SEGRE, J. A. The human skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, v. 16, n. 3, p. 143–155, 15 mar. 2018.

CABRAL, J.; AG, R. Blue light disinfection in hospital infection control: advantages, drawbacks, and pitfalls. *Antibiotics*, v. 8, n. 2, p. 58, 7 maio 2019.

CANNON, R. D. et al. Efflux-mediated antifungal drug resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 22, n. 2, p. 291–321, abr. 2009.

CANTÓN, E. et al. Minimum fungicidal concentrations of amphotericin B for bloodstream *Candida* species. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 45, n. 3, p. 203–206, mar. 2003.

CAO, B. et al. Synthesis of the pyridinyl analogues of dibenzylideneacetone (pyr-dba) via an improved Claisen–Schmidt condensation, displaying diverse biological activities as curcumin analogues. *Org. Biomol. Chem.*, v. 10, n. 6, p. 1239–1245, 2012.

PRASAD, K. C. et al. Synthesis of some novel 2-aminothiophene derivatives and evaluation for their antimicrobial activity. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, v. 7, n. 1, p. 01–07, 1 jan. 2017.

CHARALAMBOUS, L. T. et al. Prevalence, healthcare resource utilization and overall burden of fungal meningitis in the United States. *Journal of Medical Microbiology*, v. 67, n. 2, p. 215–227, 1 fev. 2018.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. M38-A2 Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standard-Second Edition. 2008a.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. M27 -S4 Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. 2008b.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. M27-A3 Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard-Third Edition. 2008c.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **M100 - Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 33rd Edition**. Disponível em: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>. Acesso em: 3 fev. 2024.

COCK, I. E.; VAN VUUREN, S. F. **A review of the traditional use of southern African medicinal plants for the treatment of fungal skin infections**. *Journal of Ethnopharmacology* Elsevier Ireland Ltd, , 6 abr. 2020.

CORDEIRO BAPTISTA, K. C. et al. Infecções hospitalares por *Candida* sp. em pacientes internados em UTI. *Revista Gestão e Saúde*, v. 2, n. 22, 2020.

CULLEN, P. J.; SPRAGUE, G. F. The Regulation of Filamentous Growth in Yeast. *Genetics*, v. 190, n. 1, p. 23–49, 1 jan. 2012.

DA SILVA, D. L. et al. Curcumin enhances the activity of fluconazole against *Cryptococcus gattii* induced cryptococcosis infection in mice. *Journal of Applied Microbiology*, v. 120, n. 1, p. 41–48, jan. 2016.

DADGOSTAR, P. Antimicrobial Resistance: Implications and Costs. *Infection and Drug Resistance*, v. Volume 12, p. 3903–3910, dez. 2019.

DAINA, A.; MICHELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, p. 42717, 3 mar. 2017.

DAINA, A.; ZOETE, V. A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. *ChemMedChem*, p. 1117–1121, 2016.

DANG, N. LE et al. Computational Approach to Structural Alerts: Furans, Phenols, Nitroaromatics, and Thiophenes. *Chemical Research in Toxicology*, v. 30, n. 4, p. 1046–1059, 17 abr. 2017.

DAS, P.; BABAEI, P.; NIELSEN, J. Metagenomic analysis of microbe-mediated vitamin metabolism in the human gut microbiome. *BMC Genomics*, v. 20, n. 1, 12 mar. 2019.

DE OLIVEIRA, D. M. P. et al. Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 33, n. 3, 17 jun. 2020.

D'ENFERT, C. et al. The impact of the Fungus-Host-Microbiota interplay upon *Candida albicans* infections: current knowledge and new perspectives. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 45, n. 3, 5 maio 2021.

DHILLON, N. et al. Phase II Trial of Curcumin in Patients with Advanced Pancreatic Cancer. *Clinical Cancer Research*, v. 14, n. 14, p. 4491–4499, 15 jul. 2008.

- DI, L. The role of drug metabolizing enzymes in clearance. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, v. 10, n. 3, p. 379–393, 7 mar. 2014.
- DICK, A.; COCKLIN, S. Bioisosteric Replacement as a Tool in Anti-HIV Drug Design. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 3, p. 36, 28 fev. 2020.
- DONG, H. et al. Synergistic antifungal effects of curcumin derivatives as fungal biofilm inhibitors with fluconazole. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 97, n. 5, p. 1079–1088, 5 maio 2021.
- DOVIGO, L. N. et al. Investigation of the Photodynamic Effects of Curcumin Against *Candida albicans*. **Photochemistry and Photobiology**, v. 87, n. 4, p. 895–903, 13 jul. 2011a.
- DOVIGO, L. N. et al. Susceptibility of clinical isolates of *Candida* to photodynamic effects of curcumin. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 43, n. 9, p. 927–934, 17 nov. 2011b.
- DOVIGO, L. N. et al. Curcumin-mediated photodynamic inactivation of *Candida albicans* in a murine model of oral candidiasis. **Medical Mycology**, v. 51, n. 3, p. 243–251, abr. 2013.
- DU, Y. et al. Clinical features of 85 fatal cases of COVID-19 from Wuhan: A retrospective observational study. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 201, n. 11, p. 1372–1379, 1 jun. 2020.
- EGAN, W. J.; MERZ, KENNETH M.; BALDWIN, J. J. Prediction of Drug Absorption Using Multivariate Statistics. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, n. 21, p. 3867–3877, 1 out. 2000.
- EL-SHERSHABY, M. H. et al. From triazolophthalazines to triazoloquinazolines: A bioisosterism-guided approach toward the identification of novel PCAF inhibitors with potential anticancer activity. **Bioorg. Med. Chem**, v. 42, p. 116266, 2021.
- FENG, W. et al. Modulation of gut microbiota contributes to curcumin-mediated attenuation of hepatic steatosis in rats. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1861, n. 7, p. 1801–1812, jul. 2017.
- FIRACATIVE, C. Invasive fungal disease in humans: are we aware of the real impact? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 115, 2020.
- FISHER, M. C. et al. Threats posed by the fungal kingdom to humans, wildlife, and agriculture. **mBio**, v. 11, n. 3, 30 jun. 2020a.
- FISHER, M. C. et al. Threats Posed by the Fungal Kingdom to Humans, Wildlife, and Agriculture. **mBio**, v. 11, n. 3, 30 jun. 2020b.
- FISHER, M. C. et al. Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, n. 9, p. 557–571, 29 set. 2022.
- FORSLUND, K. et al. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. **Nature**, v. 528, n. 7581, p. 262–266, 10 dez. 2015.

FOUNOU, R. C.; FOUNOU, L. L.; ESSACK, S. Y. **Clinical and economic impact of antibiotic resistance in developing countries: A systematic review and meta-analysis.** *PLoS ONE* Public Library of Science, , 1 dez. 2017.

FREEDBERG, D. E. et al. Proton Pump Inhibitors Alter Specific Taxa in the Human Gastrointestinal Microbiome: A Crossover Trial. *Gastroenterology*, v. 149, n. 4, p. 883-885.e9, out. 2015.

FUNG, F.; CLARK, R. F. Health Effects of Mycotoxins: A Toxicological Overview. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, v. 42, n. 2, p. 217–234, 5 jan. 2004.

GANGNEUX, J. P. et al. Invasive fungal diseases during COVID-19: We should be prepared. *Journal de Mycologie Médicale*, v. 30, n. 2, p. 100971, 1 jun. 2020.

GHOSE, A. K.; VISWANADHAN, V. N.; WENDOLOSKI, J. J. A Knowledge-Based Approach in Designing Combinatorial or Medicinal Chemistry Libraries for Drug Discovery. 1. A Qualitative and Quantitative Characterization of Known Drug Databases. *Journal of Combinatorial Chemistry*, v. 1, n. 1, p. 55–68, 12 jan. 1999.

GLASSNER, K. L.; ABRAHAM, B. P.; QUIGLEY, E. M. M. The microbiome and inflammatory bowel disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 145, n. 1, p. 16–27, jan. 2020.

GNAT, S.; ŁAGOWSKI, D.; NOWAKIEWICZ, A. Major challenges and perspectives in the diagnostics and treatment of dermatophyte infections. *Journal of Applied Microbiology*, v. 129, n. 2, p. 212–232, 26 ago. 2020.

GRÄSER, Y. et al. **New insights in dermatophyte research.** *Medical Mycology* Oxford University Press, , 1 abr. 2018.

GUARNER, F. Probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, v. 39, n. 3, p. 237–238, 17 fev. 1998.

HAMAD, G. M. et al. A review of recent innovative strategies for controlling mycotoxins in foods. *Food Control*, v. 144, p. 109350, fev. 2023.

HAN, J. et al. Effects of food matrix and probiotics on the bioavailability of curcumin in different nanoformulations. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 101, n. 13, p. 5627–5635, 25 out. 2021.

HENG, X.; JIANG, Y.; CHU, W. Influence of Fluconazole Administration on Gut Microbiome, Intestinal Barrier, and Immune Response in Mice. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 65, n. 6, 18 maio 2021.

HOEKSTRA, W. J. et al. Design and optimization of highly-selective fungal CYP51 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 24, n. 15, p. 3455–3458, ago. 2014.

HOGENAUER, C. et al. Mechanisms and Management of Antibiotic-Associated Diarrhea. *Clinical Infectious Diseases*, v. 27, n. 4, p. 702–710, out. 1998.

HWANG, H.-J. et al. Ferulic Acid as a Protective Antioxidant of Human Intestinal Epithelial Cells. **Antioxidants**, v. 11, n. 8, p. 1448, 26 jul. 2022.

HYDE, K. D. et al. The numbers of fungi: is the descriptive curve flattening? **Fungal Diversity**, v. 103, n. 1, p. 219–271, 1 jul. 2020.

IGNASIAK, K.; MAXWELL, A. Galleria mellonella (greater wax moth) larvae as a model for antibiotic susceptibility testing and acute toxicity trials. **BMC Research Notes**, v. 10, n. 1, p. 428, 29 dez. 2017.

ILIEV, I. D. et al. Interactions Between Commensal Fungi and the C-Type Lectin Receptor Dectin-1 Influence Colitis. **Science**, v. 336, n. 6086, p. 1314–1317, 8 jun. 2012.

JANIK, E. et al. Molecular Aspects of Mycotoxins—A Serious Problem for Human Health. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 21, p. 8187, 31 out. 2020.

KALIL, C. L. P. V. et al. Use of probiotics in dermatology - review. **Surgical and Cosmetic Dermatology**, v. 12, n. 3, p. 208–214, 2020.

KANAI, M. et al. A phase I/II study of gemcitabine-based chemotherapy plus curcumin for patients with gemcitabine-resistant pancreatic cancer. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 68, n. 1, p. 157–164, 22 jul. 2011.

KATIRAEI, F. et al. Molecular identification and antifungal susceptibility patterns of dermatophytes isolated from companion animals with clinical symptoms of dermatophytosis. **Journal of Veterinary Research**, v. 65, n. 2, p. 175–182, 23 abr. 2021.

KHARAT, M.; MCCLEMENTS, D. J. Recent advances in colloidal delivery systems for nutraceuticals: A case study – Delivery by Design of curcumin. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 557, p. 506–518, dez. 2019.

KIRCHMAIR, J. et al. Predicting drug metabolism: experiment and/or computation? **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 14, n. 6, p. 387–404, 24 jun. 2015.

KREZALEK, M. A. et al. The Shift of an Intestinal “Microbiome” to a “Pathobiome” Governs the Course and Outcome of Sepsis Following Surgical Injury. **Shock**, v. 45, n. 5, p. 475–482, maio 2016.

KURRA, N. et al. Opportunistic Infections in COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Cureus**, 31 mar. 2022.

LAGREE, K.; MITCHELL, A. P. Fungal Biofilms: Inside Out. **Microbiology Spectrum**, v. 5, n. 2, 10 mar. 2017.

LEBLANC, J. G. et al. B-Group vitamin production by lactic acid bacteria – current knowledge and potential applications. **Journal of Applied Microbiology**, v. 111, n. 6, p. 1297–1309, 1 dez. 2011.

LEE, Y.; ROBBINS, N.; COWEN, L. E. Molecular mechanisms governing antifungal drug resistance. **npj Antimicrobials and Resistance**, v. 1, n. 1, p. 5, 17 jul. 2023a.



- LEE, Y.; ROBBINS, N.; COWEN, L. E. Molecular mechanisms governing antifungal drug resistance. **npj Antimicrobials and Resistance**, v. 1, n. 1, p. 5, 17 jul. 2023b.
- LEONG, K. S. W. et al. Antibiotics, gut microbiome and obesity. **Clinical Endocrinology**, v. 88, n. 2, p. 185–200, 20 fev. 2018.
- LEWIS, R. E. Current Concepts in Antifungal Pharmacology. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 86, n. 8, p. 805–817, ago. 2011.
- LI, H. et al. Interactions between *Candida albicans* and the resident microbiota. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, 20 set. 2022.
- LI, R. et al. The Therapeutic Efficacy of Curcumin vs. Metformin in Modulating the Gut Microbiota in NAFLD Rats: A Comparative Study. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 555293, 14 jan. 2021.
- LIMPER, A. H. et al. Fungal infections in HIV/AIDS. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 11, p. e334–e343, nov. 2017.
- LIPINSKI, C. A. Chapter 27. Bioisosterism in Drug Design. Em: [s.l: s.n.]. p. 283–291.
- LIPINSKI, C. A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 46, n. 1–3, p. 3–26, mar. 2001.
- LÖSCHER, W.; FRIEDMAN, A. Structural, Molecular, and Functional Alterations of the Blood-Brain Barrier during Epileptogenesis and Epilepsy: A Cause, Consequence, or Both? **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 2, p. 591, 16 jan. 2020.
- LOYSE, A. et al. Flucytosine and cryptococcosis: Time to urgently address the worldwide accessibility of a 50-year-old antifungal. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, n. 11, p. 2435–2444, 2013.
- MACINTYRE, C. R. et al. The role of pneumonia and secondary bacterial infection in fatal and serious outcomes of pandemic influenza a(H1N1)pdm09 11 Medical and Health Sciences 1103 Clinical Sciences 11 Medical and Health Sciences 1117 Public Health and Health Services. **BMC Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, 7 dez. 2018.
- MARICHAL, P. et al. Contribution of mutations in the cytochrome P450 14 $\alpha$ -demethylase (Erg1p, Cyp51p) to azole resistance in *Candida albicans*. **Microbiology**, v. 145, n. 10, p. 2701–2713, 1 out. 1999.
- MARQUES MECCATTI, V. et al. Curcuma longa L. Extract and Photodynamic Therapy are Effective against *Candida* spp. and Do Not Show Toxicity In Vivo. **International Journal of Dentistry**, v. 2022, p. 1–6, 1 jul. 2022.
- MARTIN, Y. C. A Bioavailability Score. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 48, n. 9, p. 3164–3170, 1 maio 2005.
- MARTINO, C. et al. Microbiota succession throughout life from the cradle to the grave. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, n. 12, p. 707–720, 29 dez. 2022.

MARTINS, C. V. B. et al. Curcumin as a promising antifungal of clinical interest. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 63, n. 2, p. 337–339, 19 nov. 2008.

MARTIN-SMITH, M.; REID, S. T. Biological Activity in Compounds Possessing Thiophen Rings. **Journal of Medicinal and Pharmaceutical Chemistry**, v. 1, n. 6, p. 507–564, 1 dez. 1959.

MAZIMBA, O. Antimicrobial activities of heterocycles derived from thienylchalcones. **Journal of King Saud University - Science**, v. 27, n. 1, p. 42–48, jan. 2015.

MCDONNELL, P. B. A. M.; DANG, P. B. C. H. Basic Review of the Cytochrome P450 System. **Journal of the Advanced Practitioner in Oncology**, v. 4, n. 4, 1 ago. 2013.

MCFADDEN, R.-M. T. et al. The Role of Curcumin in Modulating Colonic Microbiota During Colitis and Colon Cancer Prevention. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 21, n. 11, p. 2483–2494, 1 nov. 2015.

MEANWELL, N. A. Synopsis of Some Recent Tactical Application of Bioisosteres in Drug Design. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, n. 8, p. 2529–2591, 28 abr. 2011.

MELO, N. J. DE et al. Natural versus synthetic curcuminoids as photosensitizers: Photobleaching and antimicrobial photodynamic therapy evaluation. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 42, p. 103495, jun. 2023.

MODI, S. R.; COLLINS, J. J.; RELMAN, D. A. Antibiotics and the gut microbiota. **Journal of Clinical Investigation**, v. 124, n. 10, p. 4212–4218, 1 out. 2014.

MOHAMED, S. A. et al. Chemical modification of curcumin: Solubility and antioxidant capacity. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 3, p. 718–724, 4 mar. 2017.

MOHANTY, C.; SAHOO, S. K. The in vitro stability and in vivo pharmacokinetics of curcumin prepared as an aqueous nanoparticulate formulation. **Biomaterials**, v. 31, n. 25, p. 6597–6611, set. 2010.

MORICE, C. et al. Multifocal Aggressive Squamous Cell Carcinomas Induced by Prolonged Voriconazole Therapy: A Case Report. **Case Reports in Medicine**, v. 2010, p. 1–5, 2010.

MORIO, F. et al. Screening for amino acid substitutions in the Candida albicans Erg11 protein of azole-susceptible and azole-resistant clinical isolates: new substitutions and a review of the literature. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 66, n. 4, p. 373–384, 1 abr. 2010.

MUEGGE, I.; HEALD, S. L.; BRITTELLI, D. Simple Selection Criteria for Drug-like Chemical Matter. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 12, p. 1841–1846, 1 jun. 2001.

MUNEKATA, P. E. S. et al. Health benefits, extraction and development of functional foods with curcuminoids. **Journal of Functional Foods**, v. 79, p. 104392, abr. 2021.

NAGARGOJE, A. A. et al. Quinoline based monocarbonyl curcumin analogs as potential antifungal and antioxidant agents: synthesis, bioevaluation and molecular docking study. **Chemistry & Biodiversity**, v. 17, n. 2, 22 fev. 2020.

NARANJO-ORTIZ, M. A.; GABALDÓN, T. Fungal evolution: diversity, taxonomy and phylogeny of the Fungi. **Biological Reviews**, v. 94, n. 6, p. 2101–2137, 29 dez. 2019.

NATURE. Correction: Stop neglecting fungi. **Nature Microbiology**, v. 2, n. 9, p. 17123, 31 jul. 2017.

NAU, R.; SÖRGEL, F.; EIFFERT, H. Penetration of Drugs through the Blood-Cerebrospinal Fluid/Blood-Brain Barrier for Treatment of Central Nervous System Infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 23, n. 4, p. 858–883, out. 2010.

NAZARETH, R. A. D. DE et al. Multiple causations of hospitalizations due to mycoses in a Brazilian region: from anthropogenic to climate factors. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 1, p. e17712138702, 7 jan. 2023.

NEBERT, D. W.; RUSSELL, D. W. Clinical importance of the cytochromes P450. **The Lancet**, v. 360, n. 9340, p. 1155–1162, out. 2002.

NG, K. M. et al. Microbiota-liberated host sugars facilitate post-antibiotic expansion of enteric pathogens. **Nature**, v. 502, n. 7469, p. 96–99, 1 out. 2013.

NICOLA, A. M. et al. Antifungal drugs: new insights in research & development. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 195, p. 21–38, mar. 2019.

OHNO, M. et al. Nanoparticle curcumin ameliorates experimental colitis via modulation of gut microbiota and induction of regulatory T cells. **PLoS ONE**, v. 12, n. 10, 1 out. 2017.

OLIVERA, A. et al. Inhibition of the NF- $\kappa$ B signaling pathway by the curcumin analog, 3,5-Bis(2-pyridinylmethylidene)-4-piperidone (EF31): Anti-inflammatory and anti-cancer properties. **International Immunopharmacology**, v. 12, n. 2, p. 368–377, fev. 2012.

PAI, V.; GANAVALLI, A.; KIKKERI, N. Antifungal resistance in dermatology. **Indian Journal of Dermatology**, v. 63, n. 5, p. 361, 2018.

PARDRIDGE, W. M. The blood-brain barrier: Bottleneck in brain drug development. **NeuroRX**, v. 2, n. 1, p. 3–14, jan. 2005.

PATHAKUMARI, B.; LIANG, G.; LIU, W. Immune defence to invasive fungal infections: A comprehensive review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 130, p. 110550, out. 2020.

PELUZIO, M. DO C. G.; MARTINEZ, J. A.; MILAGRO, F. I. **Postbiotics: metabolites and mechanisms involved in microbiota-host interactions. Trends in Food Science and Technology** Elsevier Ltd, , 1 fev. 2021.

POLAQUINI, C. R. **Análogos Monocetônicos de Curcumina: Planejamento, Síntese e Atividades Antibacteriana e Antifúngica.** [s.l.: s.n.].

PRAJAPATI, J. et al. Unravelling the antifungal mode of action of curcumin by potential inhibition of CYP51B: A computational study validated in vitro on mucormycosis agent, *Rhizopus oryzae*. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 712, p. 109048, nov. 2021.

PUNJATAEWAKUPT, A.; NAPA VICHAYANUN, S.; ARAMWIT, P. **The downside of antimicrobial agents for wound healing.** *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* Springer Verlag, , 22 jan. 2019.

RANKOVIC, Z. CNS Drug Design: Balancing Physicochemical Properties for Optimal Brain Exposure. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 58, n. 6, p. 2584–2608, 26 mar. 2015.

RAUTEMAA-RICHARDSON, R.; RICHARDSON, M. D. Systemic fungal infections. *Medicine*, v. 45, n. 12, p. 757–762, dez. 2017.

RIAHI, R. R.; COHEN, P. R. Voriconazole-Associated Phototoxicity. *Dermatology Online Journal*, v. 17, n. 2, 1 fev. 2011.

RINNINELLA, E. et al. What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. *Microorganisms*, v. 7, n. 1, p. 14, 10 jan. 2019.

ROCHA, O. B. et al. In vitro and in silico analysis reveals antifungal activity and potential targets of curcumin on *Paracoccidioides* spp. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 52, n. 4, p. 1897–1911, 1 dez. 2021.

RODRIGUES, M. L.; NOSANCHUK, J. D. Fungal diseases as neglected pathogens: A wake-up call to public health officials. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 14, n. 2, p. e0007964, 20 fev. 2020.

RODRÍGUEZ, J. M. et al. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microbial Ecology in Health & Disease*, v. 26, n. 0, 2 fev. 2015.

RUSU, A. et al. The Role of Five-Membered Heterocycles in the Molecular Structure of Antibacterial Drugs Used in Therapy. *Pharmaceutics*, v. 15, n. 11, p. 2554, 29 out. 2023.

SALAZAR, F.; BROWN, G. D. Antifungal Innate Immunity: A Perspective from the Last 10 Years. *Journal of Innate Immunity*, v. 10, n. 5–6, p. 373–397, 2018.

SALAZAR, S. B. et al. An overview on conventional and non-conventional therapeutic approaches for the treatment of candidiasis and underlying resistance mechanisms in clinical strains. *Journal of Fungi*, v. 6, n. 1, p. 23, 10 fev. 2020.

SÁNCHEZ-PORTOCARRERO, J. et al. The central nervous system and infection by *Candida* species. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 37, n. 3, p. 169–179, jul. 2000.

SCAZZOCCHIO, B.; MINGHETTI, L.; D'ARCHIVIO, M. Interaction between Gut Microbiota and Curcumin: A New Key of Understanding for the Health Effects of Curcumin. *Nutrients*, v. 12, n. 9, p. 2499, 19 ago. 2020.

SCHINKEL, A. H. **P-Glycoprotein, a gatekeeper in the blood-brain barrier** *Advanced Drug Delivery Reviews*. [s.l.: s.n.].

SCHWARTZ, S. Improved outcome in central nervous system aspergillosis, using voriconazole treatment. *Blood*, v. 106, n. 8, p. 2641–2645, 15 out. 2005.

- SCHWARTZ, S.; REISMAN, A.; TROKE, P. F. The efficacy of voriconazole in the treatment of 192 fungal central nervous system infections: a retrospective analysis. **Infection**, v. 39, n. 3, p. 201–210, 22 jun. 2011.
- SHAFIEI, M. et al. History of the development of antifungal azoles: a review on structures, SAR, and mechanism of action. **Bioorganic Chemistry**, v. 104, p. 104240, nov. 2020.
- SHAPIRO, R. S.; ROBBINS, N.; COWEN, L. E. Regulatory Circuitry Governing Fungal Development, Drug Resistance, and Disease. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 75, n. 2, p. 213–267, jun. 2011.
- SHEN, L.; LIU, L.; JI, H. F. Regulative effects of curcumin spice administration on gut microbiota and its pharmacological implications. **Food & Nutrition Research**, v. 61, 2017.
- SHEU, J. et al. Voriconazole phototoxicity in children: A retrospective review. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 72, n. 2, p. 314–320, fev. 2015.
- SPELLBERG, B. Vaccines for invasive fungal infections. **F1000 Medicine Reports**, v. 3, 1 jul. 2011.
- SPYROU, M. A. et al. **Ancient pathogen genomics as an emerging tool for infectious disease research**. **Nature Reviews Genetics** Nature Publishing Group, , 1 jun. 2019.
- STEVENS, V. et al. Cumulative Antibiotic Exposures Over Time and the Risk of Clostridium difficile Infection. **Clinical Infectious Diseases**, v. 53, n. 1, p. 42–48, 1 jul. 2011.
- SU, J. et al. High-internal-phase emulsions (HIPEs) for co-encapsulation of probiotics and curcumin: enhanced survivability and controlled release. **Food & Function**, v. 12, n. 1, p. 70–82, 2021.
- SUETH-SANTIAGO, V. et al. Curcumin, the golden powder from turmeric: insights into chemical and biological activities. **Química Nova**, 2015.
- SZYMAŃSKI, M. et al. Echinocandins – structure, mechanism of action and use in antifungal therapy. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 37, n. 1, p. 876–894, 31 dez. 2022.
- TAN, S. et al. Degradation of Curcuminoids by in Vitro Pure Culture Fermentation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 45, p. 11005–11015, 12 nov. 2014.
- TEAGUE, S. J. et al. The Design of Leadlike Combinatorial Libraries. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 38, n. 24, p. 3743–3748, 16 dez. 1999.
- UD DIN, Z. et al. Crystal structures, in-silico study and anti-microbial potential of synthetic monocarbonyl curcuminoids. **Journal of Molecular Structure**, v. 1144, p. 529–534, set. 2017.
- VAN ARKEL, A. L. E. et al. **COVID-19-associated pulmonary aspergillosis**. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine** American Thoracic Society, , 1 jul. 2020.

VAN DE VEERDONK, F. L. et al. **Influenza-associated aspergillosis in critically ill patients. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**American Thoracic Society, , 15 ago. 2017.

VAN OGTROP, M. L. et al. Modulation of the intestinal flora of mice by parenteral treatment with broad-spectrum cephalosporins. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 35, n. 5, p. 976–982, maio 1991.

VEBER, D. F. et al. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 12, p. 2615–2623, 1 jun. 2002.

VERMOUT, S. et al. **Pathogenesis of dermatophytosis. Mycopathologia**, nov. 2008.

VERWEIJ, P. E. et al. The one health problem of azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: current insights and future research agenda. **Fungal Biology Reviews**, v. 34, n. 4, p. 202–214, dez. 2020.

VIGATO, A. A. et al. Monoketonic Curcuminoid-Lidocaine Co-Deliver Using Thermosensitive Organogels: From Drug Synthesis to Epidermis Structural Studies. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 2, 1 fev. 2022.

WANG, R. et al. Invasive dermatophyte infection: A systematic review. **Mycoses**, v. 64, n. 4, p. 340–348, 9 abr. 2021.

WANG, Y.; KASPER, L. H. The role of microbiome in central nervous system disorders. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 38, p. 1–12, maio 2014.

WEN, J.; MU, P.; DENG, Y. Mycotoxins: cytotoxicity and biotransformation in animal cells. **Toxicology Research**, v. 5, n. 2, p. 377–387, 1 mar. 2016.

WHITE, T. C. et al. Fungi on the skin: dermatophytes and malassezia. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 4, n. 8, p. a019802–a019802, 1 ago. 2014.

WIEËRS, G. et al. How Probiotics Affect the Microbiota. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 9, 15 jan. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global action plan on antimicrobial resistance**. [s.l.: s.n.].

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Ending the neglect to attain the Sustainable Development GoalsA road map for neglected tropical diseases 2021–2030**. [s.l.: s.n.].

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action**. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>. Acesso em: 3 fev. 2024.

WU, B. et al. Current insights into fungal species diversity and perspective on naming the environmental DNA sequences of fungi. **Mycology**, v. 10, n. 3, p. 127–140, 3 jul. 2019.

WUTHI-UDOMLERT, M. et al. Antifungal activity of *Curcuma longa* grown in Thailand. **The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health**, v. 31 Suppl 1, p. 178–82, 2000.

YOO, J. Y. et al. **Gut microbiota and immune system interactions. Microorganisms** MDPI AG, , 1 out. 2020.

ZARRINFAR, H. et al. Antifungal activities of curcuminoids and difluorinated curcumin against clinical dermatophyte isolates. *Em: [s.l: s.n.]*. p. 101–107.

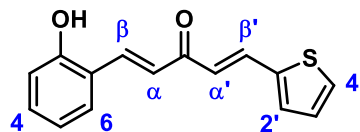
ZEISE, K. D.; WOODS, R. J.; HUFFNAGLE, G. B. Interplay between *Candida albicans* and Lactic Acid Bacteria in the Gastrointestinal Tract: Impact on Colonization Resistance, Microbial Carriage, Opportunistic Infection, and Host Immunity. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 34, n. 4, 15 dez. 2021.

ZHANG, Z. et al. Effect of Curcumin on the Diversity of Gut Microbiota in Ovariectomized Rats. **Nutrients 2017, Vol. 9, Page 1146**, v. 9, n. 10, p. 1146, 19 out. 2017.

ZHU, C. et al. Artemisinin elevates ergosterol levels of *Candida albicans* to synergise with amphotericin B against oral candidiasis. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 58, n. 3, p. 106394, set. 2021.

ZOROFCHIAN MOGHADAMTOUSI, S. et al. A Review on Antibacterial, Antiviral, and Antifungal Activity of Curcumin. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–12, 2014.

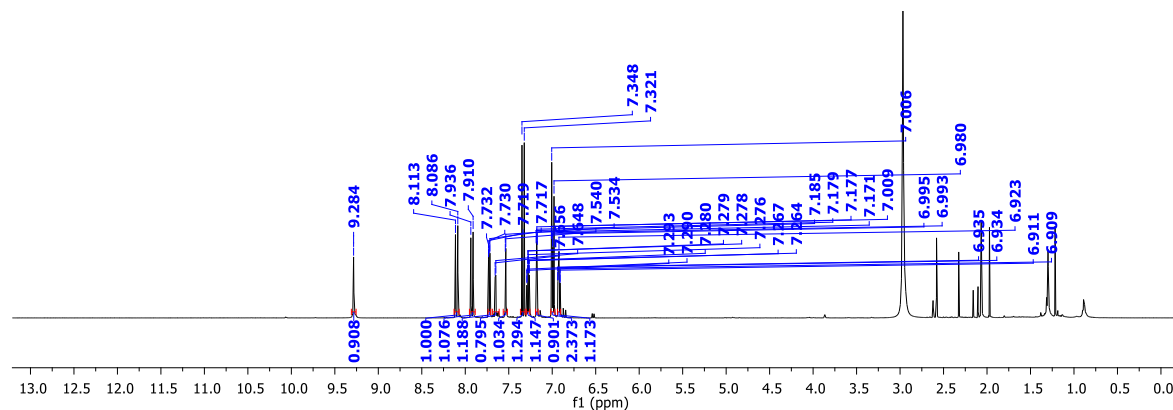
## APÊNDICE A – Análise dos Espectros de Ressonância Magnética Nuclear da Substância Tiof-1



**RMN de  $^1\text{H}$**  (600 MHz, acetona- $d_6$ )  $\delta$  9,28 (s, 1H), 8,10 (d,  $J = 16,0$  Hz, 1H), 7,92 (d,  $J = 15,7$  Hz, 1H), 7,72 (dd,  $J = 7,8, 1,6$  Hz, 1H), 7,65 (d,  $J = 5,0$  Hz, 1H), 7,54 (d,  $J = 3,6$  Hz, 1H), 7,33 (d,  $J = 16,1$  Hz, 1H), 7,28 (ddd,  $J = 8,2, 7,3, 1,7$  Hz, 1H), 7,18 (dd,  $J = 5,0, 3,6$  Hz, 1H), 7,00 (dd,  $J = 7,8, 1,3$  Hz, 2H), 6,99 (d,  $J = 15,8$  Hz, 2H), 6,94 – 6,90 (m, 1H).

**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  188,34 (s), 157,60 (s), 140,30 (s), 138,27 (s), 135,67 (s), 132,89 (s), 132,34 (s), 130,50 (s), 129,22 (s), 128,90 (s), 125,51 (s), 124,96 (s), 121,83 (s), 119,89 (s), 116,73 (s).

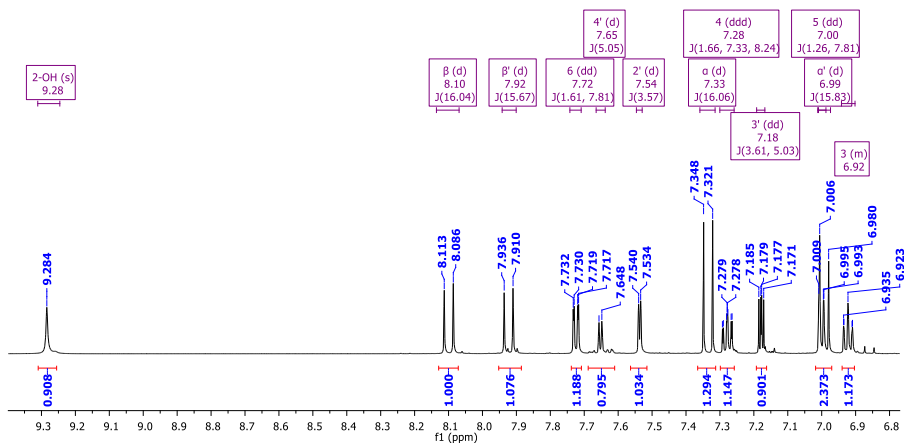
### 4.1) Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de Tiof-1, 600 MHz, acetona- $d_6$ .



### 4.2) Ampliação do espectro de RMN de $^1\text{H}$ de Tiof-1, 600 MHz, acetona- $d_6$ . Região: 6,8 – 9,3 ppm.

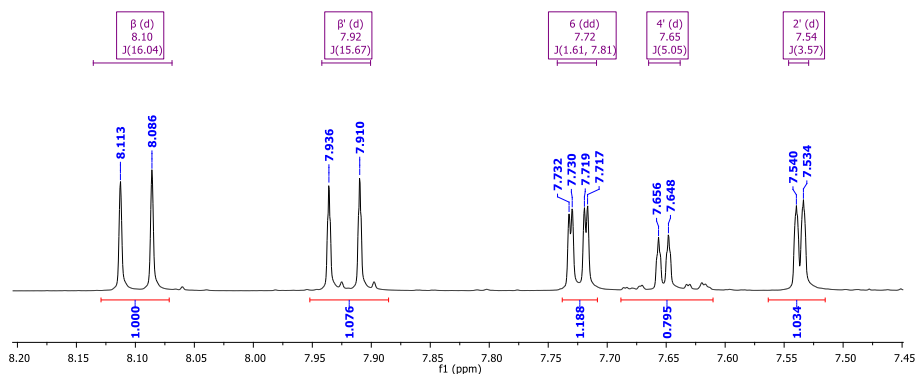


RMN Hidrogenio  
Prof. Luis Octavio, amostra Paulo, PT-2OH (? mg) em Acetone-d<sub>6</sub>  
25.0 C



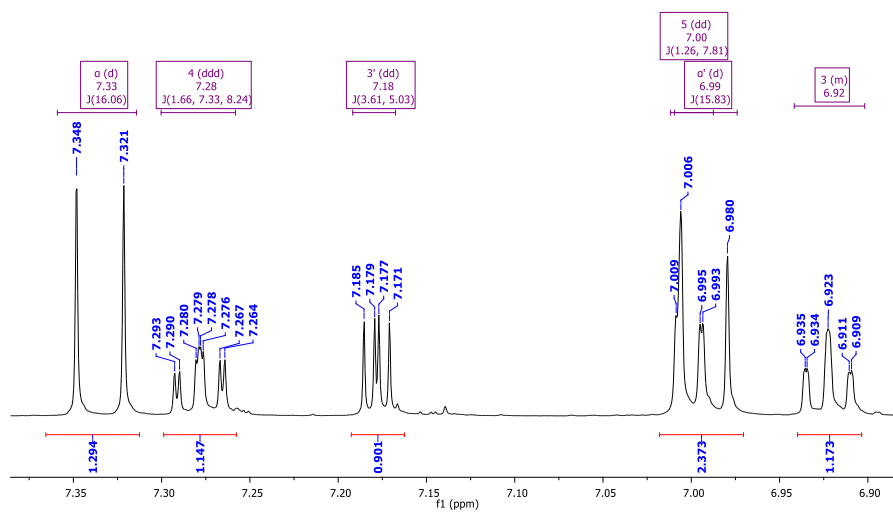
#### 4.3) Ampliação do espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **Tiof-1**, 600 MHz, acetona-d<sub>6</sub>. Região: 7,45 – 8,2 ppm.

RMN Hidrogenio  
Prof. Luis Octavio, amostra Paulo, PT-2OH (? mg) em Acetone-d<sub>6</sub>  
25.0 C

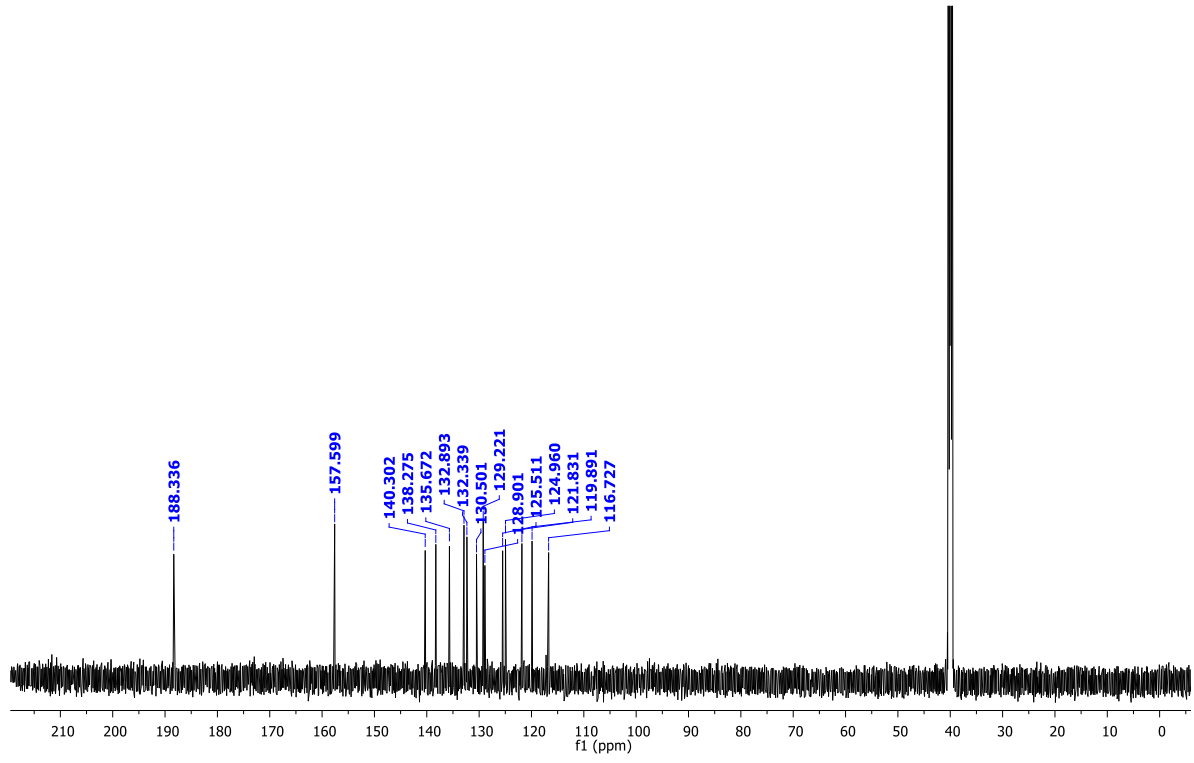


#### 4.4) Ampliação do espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **Tiof-1**, 600 MHz, acetona-d<sub>6</sub>. Região: 6,9 – 7,35 ppm.

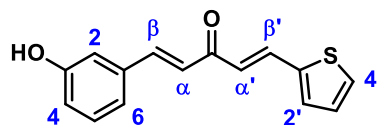
RMN Hidrogenio  
Prof. Luis Octavio, amostra Paulo, PT-2OH (? mg) em Acetone-d6  
25.0 C



4.5) Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **Tiof-1**, 151 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ .



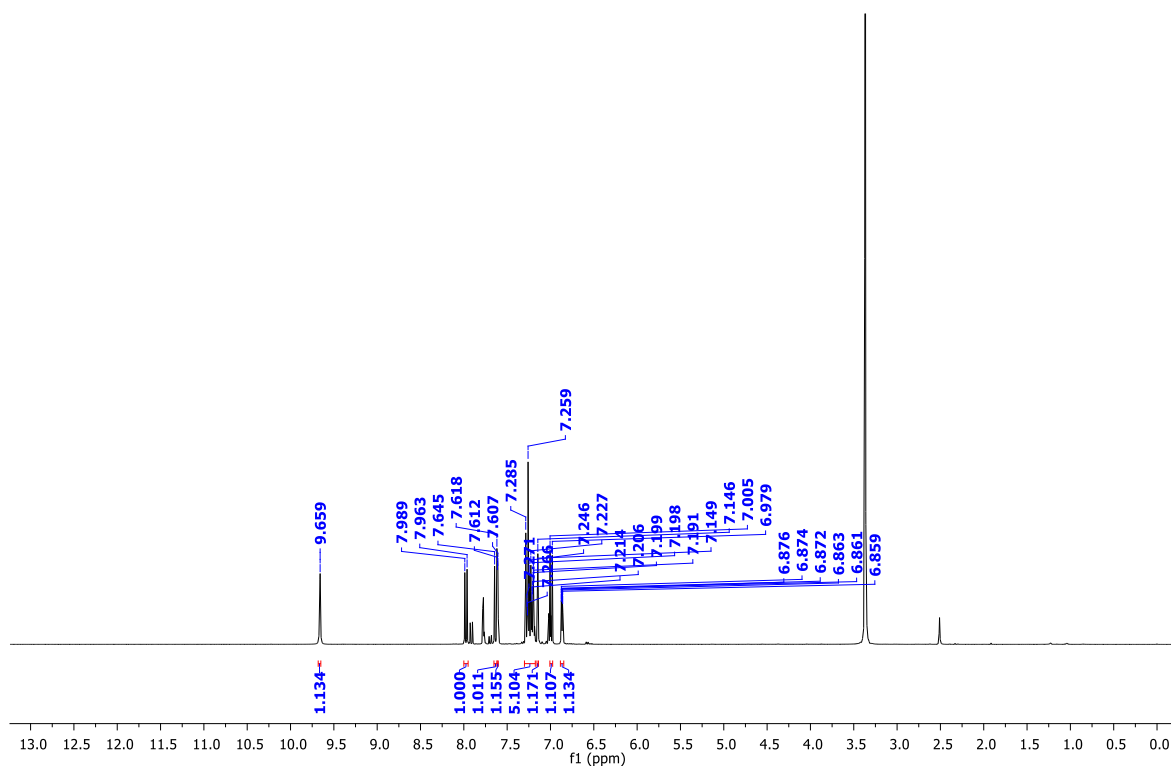
## APÊNDICE B – Análise dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear da substância Tiof-2



**RMN de  $^1\text{H}$**  (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  9,66 (s, 1H), 7,98 (d,  $J = 15,7$  Hz, 1H), 7,63 (d,  $J = 16,0$  Hz, 1H), 7,61 (d,  $J = 3,2$  Hz, 1H), 7,27 (d,  $J = 16,0$  Hz, 2H), 7,30 – 7,17 (m, 5H), 7,15 (d,  $J = 1,7$  Hz, 1H), 6,99 (d,  $J = 15,7$  Hz, 1H), 6,89 – 6,85 (m, 1H).

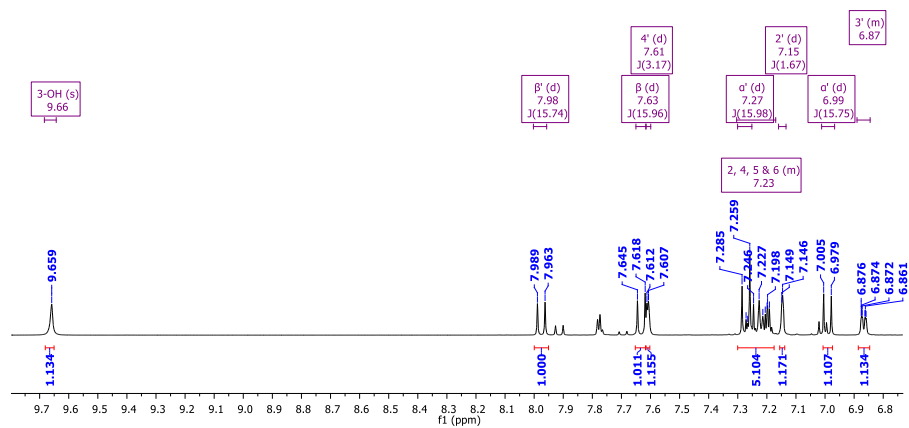
**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (151 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  188,40 (s), 158,15 (s), 143,18 (s), 140,20 (s), 136,43 (s), 136,16 (s), 133,04 (s), 130,72 (s), 130,45 (s), 129,26 (s), 125,76 (s), 124,97 (s), 120,15 (s), 118,21 (s), 115,31 (s).

3.1) Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **Tiof-2**, 600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ .



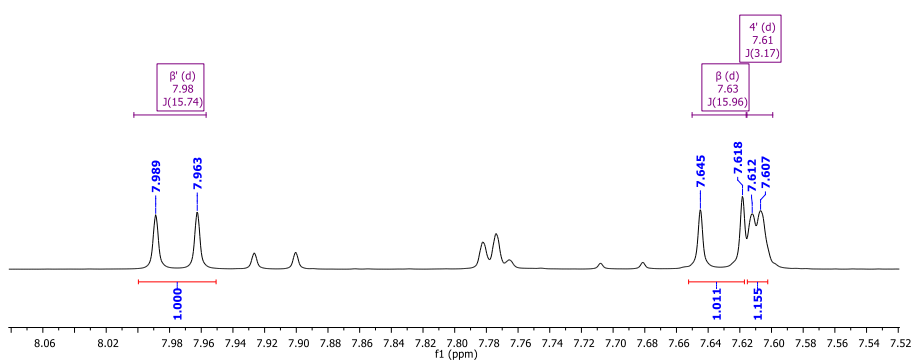
3.2) Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **Tiof-2**, 600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ . 6,8 – 9,7 ppm.

RMN Hidrogenio  
 Prof. Luis Octavio, amostra Paulo, PT-3OH (5.8 mg) em DMSO-d<sub>6</sub>  
 25.0 C



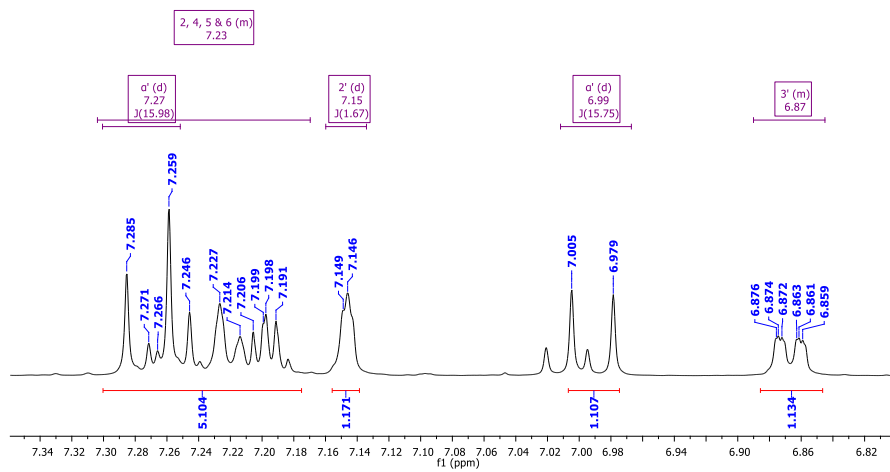
### 3.3) Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **Tiof-2**, 600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>. 7,52 – 8,06 ppm.

RMN Hidrogenio  
 Prof. Luis Octavio, amostra Paulo, PT-3OH (5.8 mg) em DMSO-d<sub>6</sub>  
 25.0 C

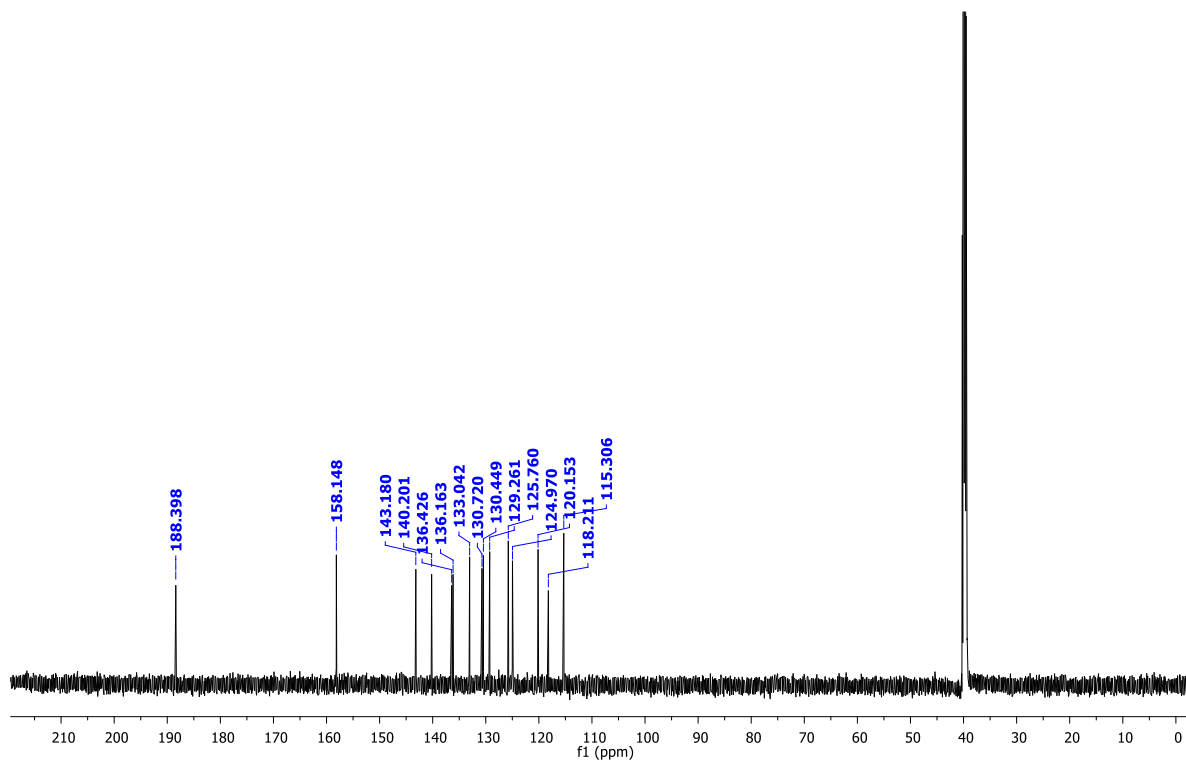


### 3.4) Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **Tiof-2**, 600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>. 6,82 – 7,34 ppm.

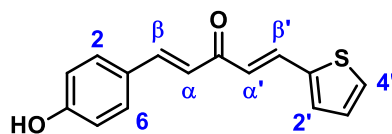
RMN Hidrogenio  
 Prof. Luis Octavio, amostra Paulo, PT-3OH (5.8 mg) em DMSO-d<sub>6</sub>  
 25.0 C



### 3.5) Espectro de RMN de <sup>13</sup>C de Tiof-2, 150 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>.



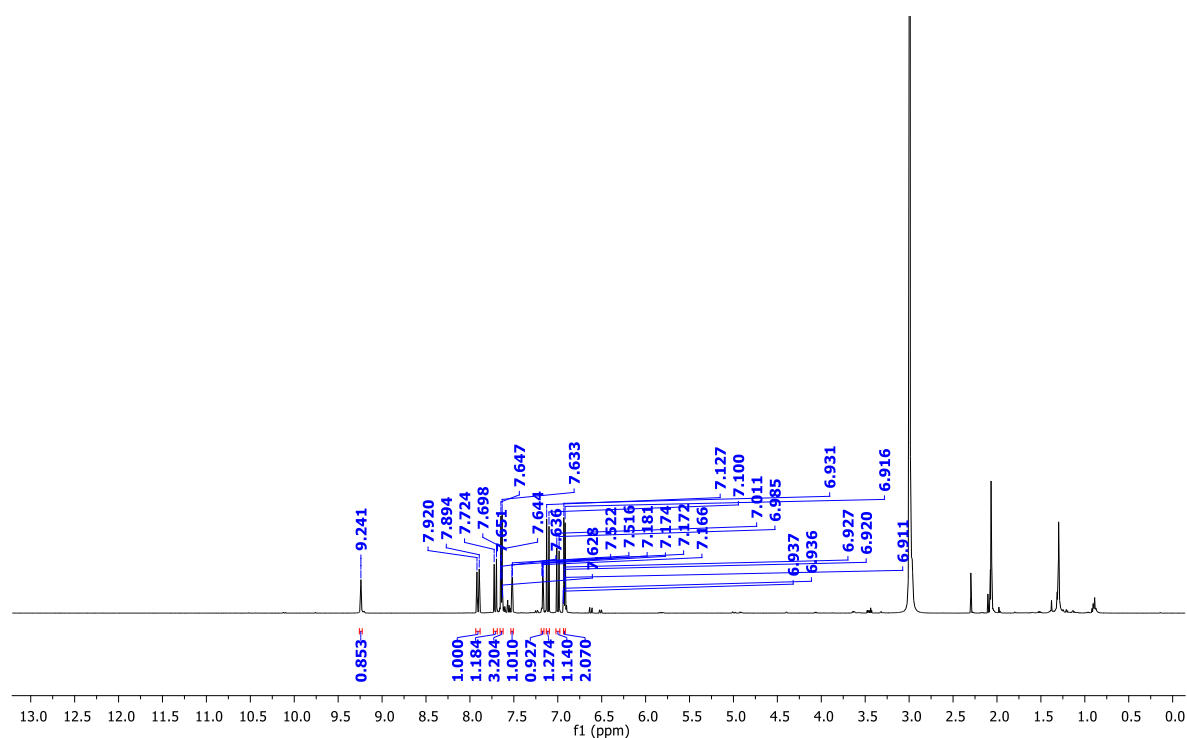
## APÊNDICE C – Análise de Ressonância Magnética Nuclear Tiof-3



**RMN de  $^1\text{H}$**  (600 MHz, Acetone)  $\delta$  9,24 (s, 1H), 7,91 (d,  $J = 15,6$  Hz, 1H), 7,71 (d,  $J = 15,9$  Hz, 1H), 7,66 – 7,62 (m, 4H), 7,52 (d,  $J = 3,6$  Hz, 1H), 7,17 (dd,  $J = 5,1, 3,6$  Hz, 1H), 7,11 (d,  $J = 15,9$  Hz, 1H), 7,00 (d,  $J = 15,6$  Hz, 1H), 6,94 – 6,91 (m, 3H).

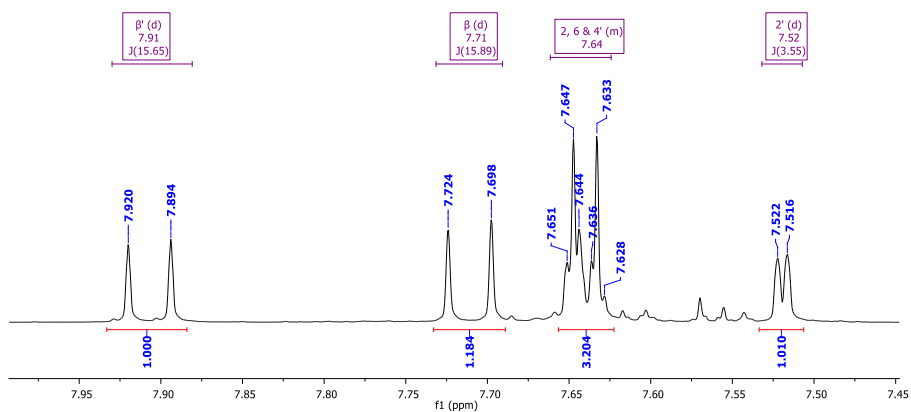
**RMN de  $^{13}\text{C}$**  (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  188,10 (s), 160,47 (s), 143,40 (s), 140,34 (s), 135,41 (s), 132,75 (s), 131,14 (s), 130,39 (s), 129,20 (s), 126,21 (s), 125,22 (s), 122,75 (s), 116,34 (s).

5.1) Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **Tiof-3**, 600 MHz, acetona- $d_6$ .



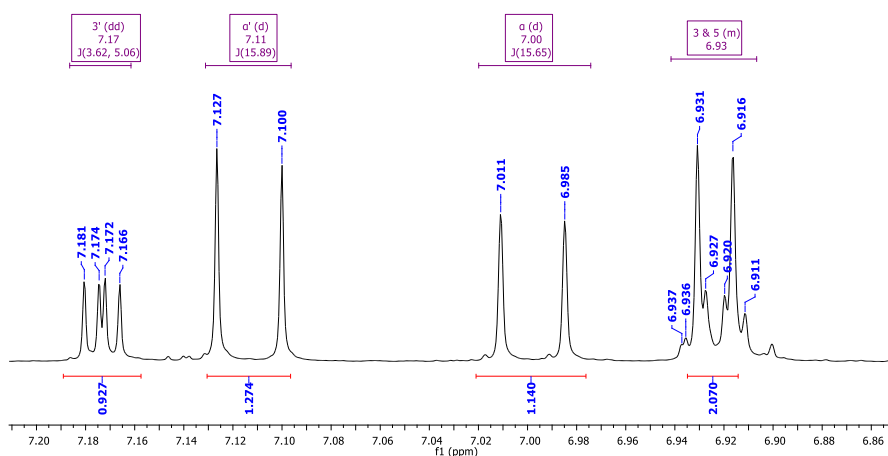
5.2) Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **Tiof-3**, 600 MHz, acetona- $d_6$ . 7,45 – 7,95 ppm.

RMN Hidrogenio  
 Prof. Luis Octavio, amostra Paulo, PT-4OH (5.8 mg) em Acetone- $d_6$   
 25.0 C



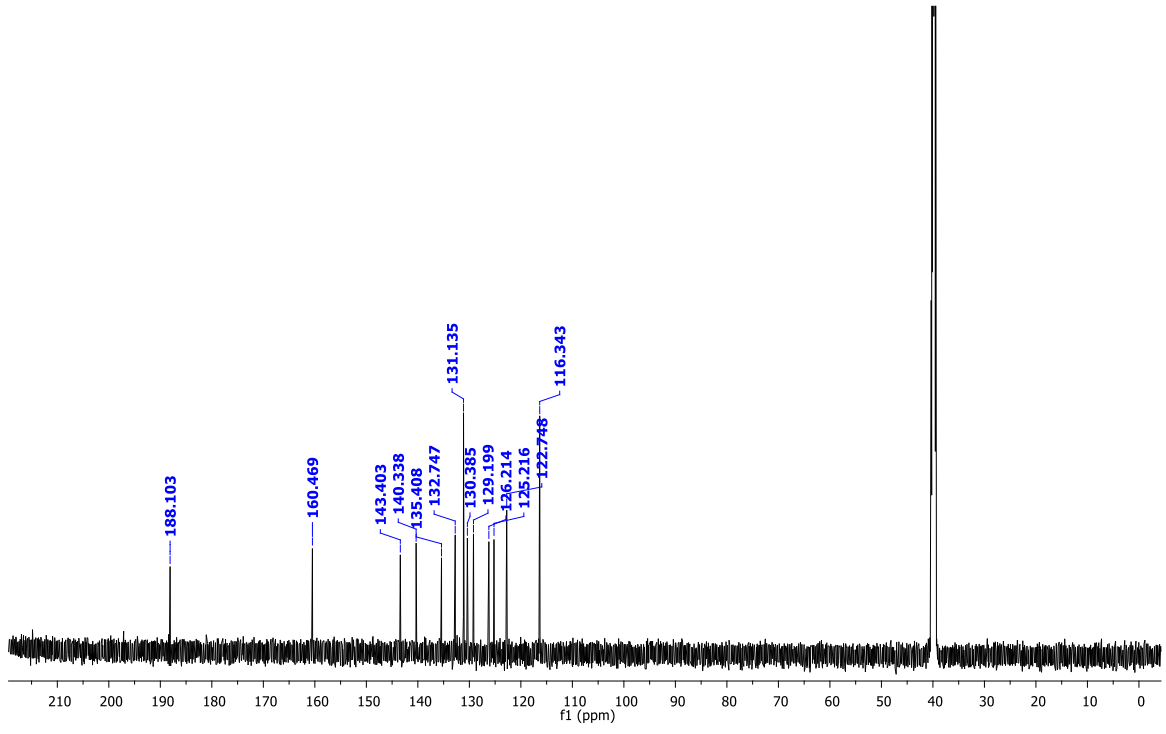
### 5.3) Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de **Tiof-3**, 600 MHz, acetona- $d_6$ . 6,86 – 7,2 ppm.

RMN Hidrogenio  
 Prof. Luis Octavio, amostra Paulo, PT-4OH (5.8 mg) em Acetone- $d_6$   
 25.0 C

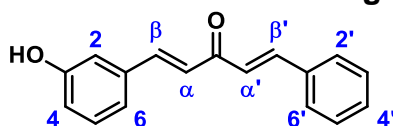


### 5.4) Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ de **Tiof-3**, 150 MHz, DMSO- $d_6$ .



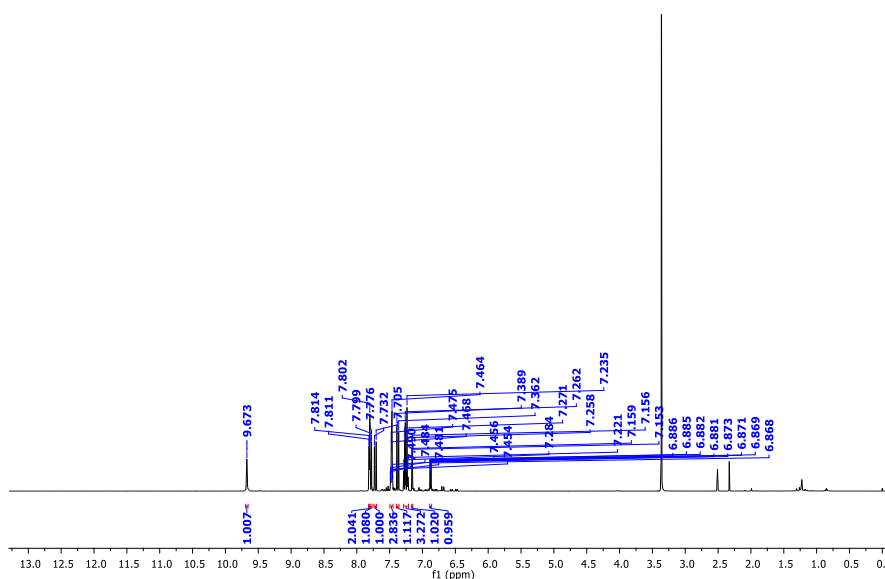


## APÊNDICE D – Análise de Ressonância Magnética Nuclear Ben-1



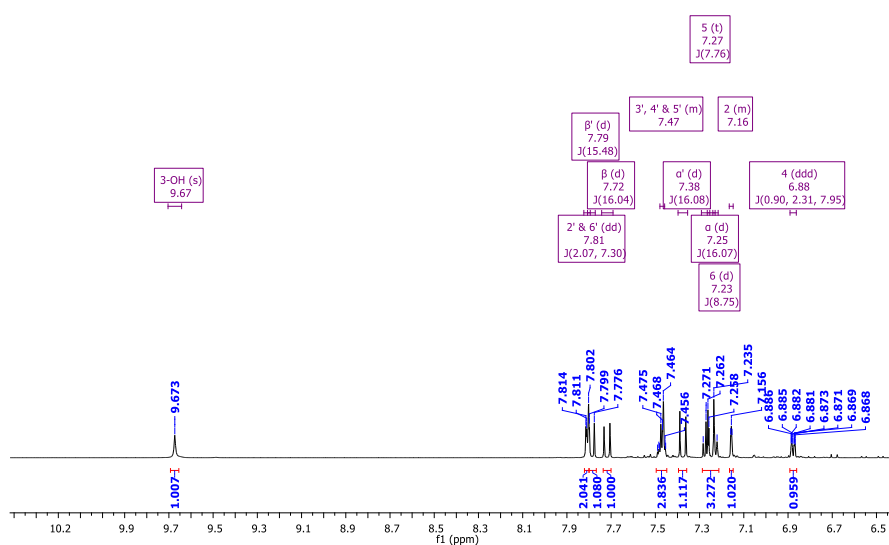
**RMN de  $^1\text{H}$**  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9,67 (s, 1H), 7,81 (dd,  $J = 7,3, 2,1$  Hz, 2H), 7,79 (d,  $J = 15,5$  Hz, 2H), 7,72 (d,  $J = 16,0$  Hz, 1H), 7,48 – 7,46 (m, 2H), 7,38 (d,  $J = 16,1$  Hz, 1H), 7,27 (t,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 7,25 (d,  $J = 16,1$  Hz, 2H), 7,23 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H), 7,17 – 7,15 (m, 1H), 6,88 (ddd,  $J = 8,0, 2,3, 0,9$  Hz, 1H).

2.1) Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **Ben-1**, 600 MHz, DMSO- $d_6$ .



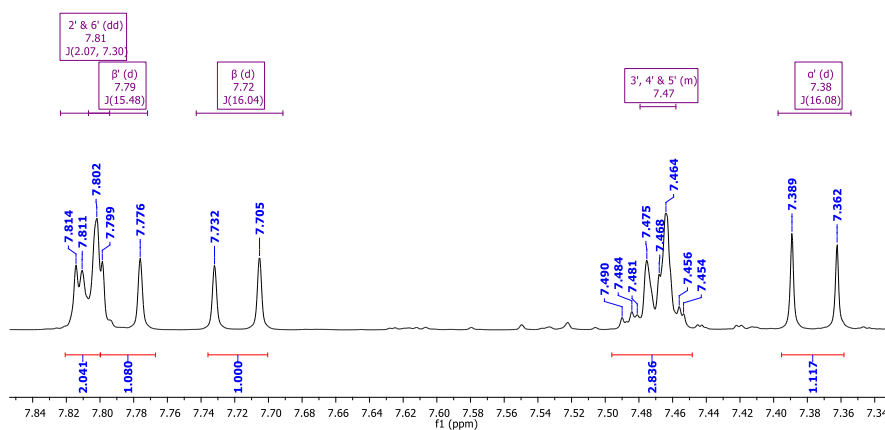
2.2) Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **Ben-1**, 600 MHz, DMSO- $d_6$ . 6,5 – 10,2 ppm.

RMN Hidrogenio  
Prof. Luis Octavio, amostra Paulo, Pol-3OH (7.4 mg) em DMSO-d6  
25.0 C

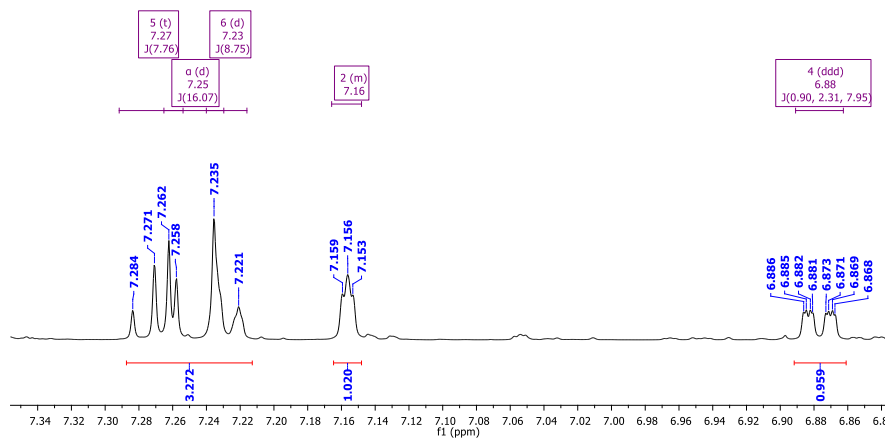


2.3) Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **Ben-1**, 600 MHz, DMSO- $d_6$ . 7,34 – 7,84 ppm.

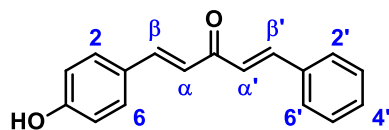
RMN Hidrogenio  
 Prof. Luis Octavio, amostra Paulo, Pol-3OH (7.4 mg) em DMSO- $d_6$   
 25.0 C

2.4) Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **Ben-1**, 600 MHz, DMSO- $d_6$ . 6,84 – 7,34 ppm.

RMN Hidrogenio  
 Prof. Luis Octavio, amostra Paulo, Pol-3OH (7.4 mg) em DMSO- $d_6$   
 25.0 C

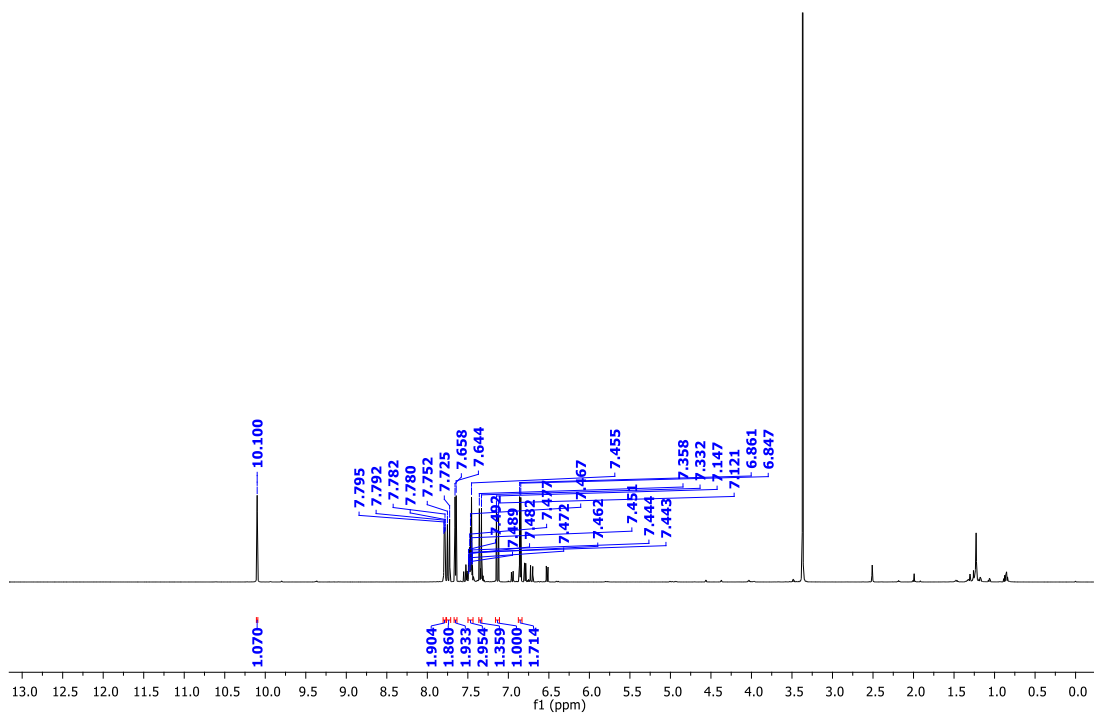


## APÊNDICE E – Análise de Ressonância Magnética Nuclear Ben-2



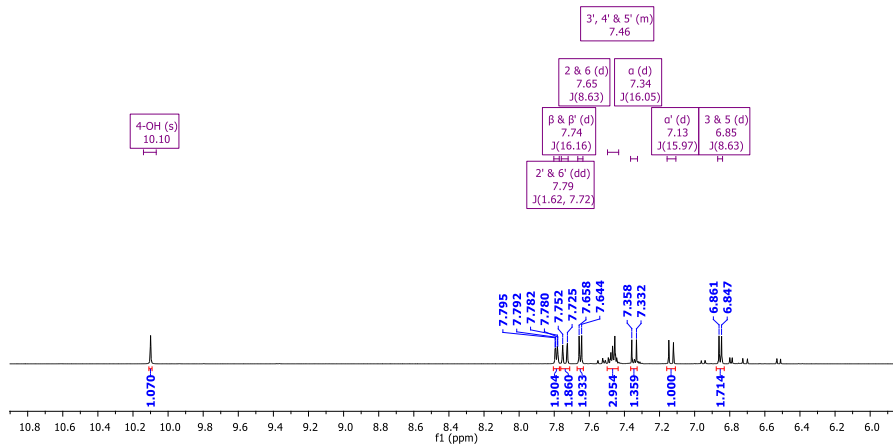
**RMN de  $^1\text{H}$**  (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  10,10 (s, 1H), 7,79 (dd,  $J = 7,7, 1,6$  Hz, 2H), 7,74 (d,  $J = 16,2$  Hz, 2H), 7,65 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,50 – 7,43 (m, 3H), 7,34 (d,  $J = 16,1$  Hz, 1H), 7,13 (d,  $J = 16,0$  Hz, 1H), 6,85 (d,  $J = 8,6$  Hz, 1H).

1.1) Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **Ben-2**, 600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ .



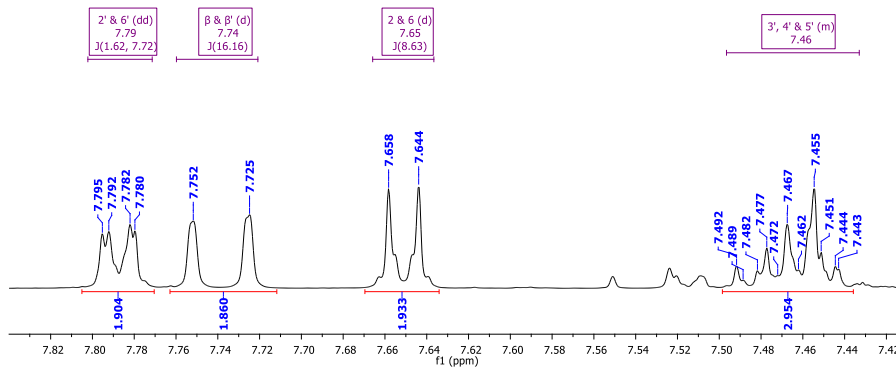
1.2) Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **Ben-2**, 600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ . 6,0 – 10,8 ppm.

RMN Hidrogenio  
 Prof. Luis Octavio, amostra Paulo, Pol-4OH (5.5 mg) em DMSO-d<sub>6</sub>  
 25.0 C



1.3) Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **Ben-2**, 600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>. 7.42 – 7.82 ppm.

RMN Hidrogenio  
 Prof. Luis Octavio, amostra Paulo, Pol-4OH (5.5 mg) em DMSO-d<sub>6</sub>  
 25.0 C



1.4) Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **Ben-2**, 600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>. 6.84 – 7.36 ppm.

RMN Hidrogenio  
Prof. Luis Octavio, amostra Paulo, Pol-4OH (5.5 mg) em DMSO-d6  
25.0 C

