

## **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA DA CURCUMINA INCORPORADA EM SCAFFOLD POLIMÉRICOS SOBRE A ESPÉCIE *SPOROTHRIX BRASILIENSIS***

Vitória Martins Cornieri (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Gabriela Franco de Oliveira Barbosa (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Isis Regina Capoci, Érika Seki Kioshima Cotica, Wilker Caetano, Patrícia de Souza Bonfim de Mendonça (Coorientador), Terezinha Inez Estivalet Svidzinski (Orientador), e-mail: [terezinha@email.com](mailto:terezinha@email.com).

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde/Maringá, PR.

**Área e sub-área do conhecimento: Microbiologia/Microbiologia Médica**

**Palavras-chave:** terapia fotodinâmica, micose subcutânea, antifúngico.

### **Resumo:**

A inativação fotodinâmica (IFD) é uma técnica que baseia-se na interação de uma luz emitida em comprimento de onda adequado com um composto fotossensibilizador (FS) que, na presença de oxigênio, produz espécies reativas de oxigênio que excitam este composto e promovem a transferência de elétrons e de energia e morte de um microrganismo ou a destruição de um tecido celular danificado. A esporotricose é uma micose subcutânea de grande impacto na vida social de humanos, com limitadas opções terapêuticas. Assim, este trabalho objetivou conhecer a atividade antifúngica da IFD associada à curcumina sobre *Sporothrix brasiliensis*. Os resultados mostraram que a IFD+curcumina pode ser promissora contra cepas de *Sporotrix* e uma vantajosa opção terapêutica para os casos de esporotricose humana e animal.

### **Introdução**

A inativação fotodinâmica (IFD) é uma metodologia que vem crescendo substancialmente nas últimas décadas. Considerada uma técnica inovadora, que consegue sensibilizar um tecido alvo ou outro organismo vivo, sendo seu princípio baseado na interação de uma luz emitida em determinado comprimento de onda e um composto não tóxico capaz de absorver essa luz (fotossensibilizador). Essa interação, na presença de oxigênio, resulta em espécies reativas do oxigênio pela excitação eletrônica do fotossensibilizador (FS), levando a uma transferência de elétrons e a consequente transferência de energia. Esse conjunto de reações é capaz de induzir a inviabilização celular, podendo causar a morte de microrganismos ou a destruição de um tecido celular danificado (Kwiatkowski S, et al. 2018)

A curcumina é um composto isolado da planta *Curcuma longa* L., originária do sudeste asiático, e muito utilizada como temperos, conservantes de alimentos, agente corante e até mesmo como formulações terapêuticas. A literatura exemplifica algumas das características farmacológicas que a curcumina pode

apresentar, dentre elas: anti-inflamatório e antioxidante atividade contra protozoários do gênero *Leishmania*, antibactericida de produtos alimentares, atividade antifúngica atuando sobre fungos dermatófitos e antiviral para o vírus da imunodeficiência humana. Devido a essas características farmacológicas, a curcumina vem sendo estudada em vários ensaios promissores, inclusive associado à inativação fotodinâmica como o fotossensibilizador necessário para a ocorrência da reação (APISARIYAKUL, A. *et al*, 1995).

A esporotricose é uma micose subcutânea causada por fungos do gênero *Sporothrix* de caráter zoonótico, pois além do ser humano, ela acomete animais, principalmente felídeos, que são os principais vetores de transmissão dessa infecção. A transmissão ocorre por arranhões ou mordidas desses animais, quando contaminados com esse fungo. Embora seja uma micose subcutânea, a esporotricose pode se manifestar clinicamente por outras formas em humanos, sendo que as mais frequentes são a cutânea e a linfocutânea, e as principais espécies causadoras dessa doença são *S. schenckii* e *S. brasiliensis*. As formas terapêuticas para o tratamento da esporotricose na forma cutânea, tanto em felídeos quanto em humanos, possuem muitos limitantes e variações em suas aplicabilidades, podendo levar à toxicidade celular ou resistência microbiana (GUIRADO, G. *et al.*, 2018). Dessa forma, pesquisas vêm sendo realizadas visando encontrar alternativas mais certeiras para o tratamento desta micose, sendo que a IFD é uma alternativa promissora e que vem ganhando destaque na comunidade para o tratamento de infecções fúngicas. Assim, em decorrência das características promissoras da curcumina e da fotodinâmica, muitas pesquisas associando esses dois componentes foram incentivadas, como uma metodologia para o tratamento de algumas infecções fúngicas, como a esporotricose. Em vista de uma metodologia alternativa, seria interessante a avaliação das propriedades antifúngicas desse tratamento.

## Materiais e Métodos

### *Microrganismos*

Foi utilizado uma cepa de *Sporothrix brasiliensis* cedida do Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos (Lapclin-Dermzoo). A amostra foi reativada Sabouraud Dextrose Agar (SDA) e incubada a 25°C por 72h.

### *Fotossensibilizantes e fonte de luz*

A curcumina foi sintetizada pelo Núcleo de Pesquisa em Sistemas Fotodinâmicos (NUPESF) da Universidade Estadual de Maringá. Para ativar o fotossensibilizador foi utilizado uma placa de luz de LED (*Light Emitting Diode*) ultravioleta.

### *Teste de inativação fotodinâmica da curcumina livre e formulada*

A curcumina (CUR) livre foi testada nas concentrações de 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,56; 0,78; 0,39; 0,19 e 0,09  $\mu\text{M}$ , com inóculo fúngico  $10^6$  UFC/mL. Antes da irradiação, a placa foi incubada por 15 minutos em câmara úmida a 25°C no escuro.

Em seguida, foi irradiada com LED azul (450 nm) a 10, 15 e 20 J/cm<sup>2</sup>. Controles escuros (inóculo com CUR sem irradiação) e claros (inóculo irradiado, mas sem CUR) foram avaliados. Em seguida, foi determinada a concentração fungicida mínima (CFM): a avaliação qualitativa foi realizada transferindo o conteúdo dos poços de cada concentração de CUR para placas de Petri contendo SDA, que foram incubadas por 5 dias a 25°C. Alíquotas de todos os poços também foram cultivadas para avaliação quantitativa da viabilidade fúngica. CFM foi definida como a menor concentração de CUR capaz de reduzir  $\geq 3 \log_{10}$  UFC em relação ao crescimento do grupo controle irradiado sem CUR (C). Para a formulação contendo curcumina, foi testado na CFM determinada anteriormente. Para isso, o inóculo 10<sup>6</sup>UFC/mL foi adicionado em placa juntamente com a formulação e incubado 15 minutos associado posteriormente a irradiação com LED azul 15 J/cm<sup>2</sup>. O CFM da formulação foi determinado de acordo com os critérios acima.

## Resultados e Discussão

A Figura 1 faz uma síntese dos resultados obtidos dos ensaios da inativação fotodinâmica com curcumina livre. A Figura 1A, mostra de forma qualitativa que a curcumina (CE, controle escuro – fungo+curcumina-luz) e a luz (CC, controle claro, fungo-curcumina+luz) não apresentaram atividade antifúngica contra *S. brasiliensis*, uma vez que todos os testes mostraram crescimento fúngico semelhante ao controle positivo (C+, fungo sem curcumina e luz). A avaliação da melhor fluência de luz para os testes, mostrou na Figura 1B que 15J/cm<sup>2</sup> apresenta melhor custo benefício para aplicação da IFD+CUR. E na Figura 1C,D mostram de forma quantitativa (C) e qualitativa (D) que a IFD+CUR (15J/cm<sup>2</sup>) inibem completamente o crescimento fúngico na concentração de 1.56µM, e reduz de forma estatisticamente significativa em 0,78 µM ( $p < 0.05$ , *test t*, programa Graphpad Prism 8.0).

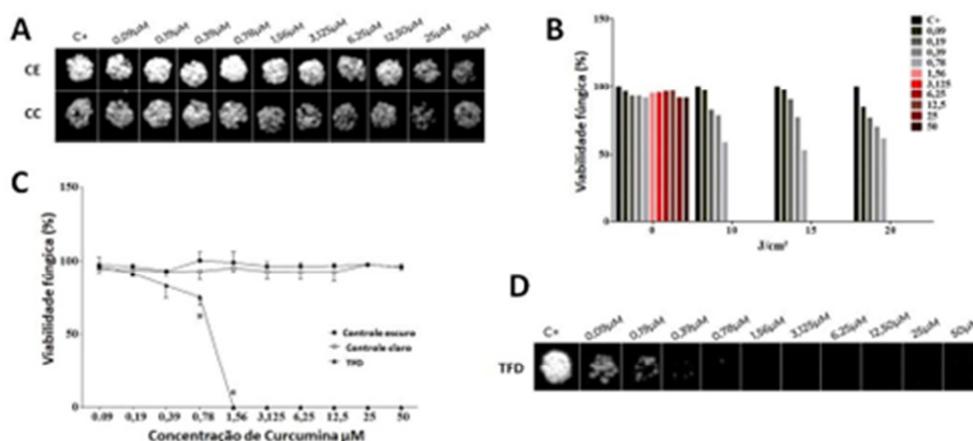


Figura 1. Avaliação da atividade antifúngica da Curcumina associada a Terapia da Fotodinâmica.

Estes resultados mostram eficiente atividade antifúngica da IFD+curcumina sobre cepa de *S. brasiliensis*. A IFD já foi testada sobre *Sporothrix* spp. com a utilização de outros fotossensibilizadores, como azul de metileno e ácido 5-aminolevulínico, com

resultados satisfatórios (Legabão BC, et al., 2022). A formulação com curcumina teve atividade inibitória sobre o crescimento fúngico, inibindo aproximadamente 1log, ou seja 10x, o crescimento fúngico, com diferença estatisticamente significativa ( $p < 0.05$ , *test t student*) em relação ao controle positivo. Estes resultados mostram promissores e em concordância com a literatura que mostrou eficiência antifúngica da curcumina em formulações como demonstrado por Santezi C., et al., 2021.

## Conclusões

Os resultados deste trabalho mostra que a inativação fotodinâmica utilizando a curcumina pode ser um eficiente antifúngico contra espécies de *Sporothrix*, e incentiva novas pesquisas em ensaios pré-clínicos para avaliação da doença esporotricose e o tratamento por essa nova alternativa terapêutica.

## Agradecimentos

Agradecemos aos integrantes do Laboratório de Micologia Médica/ UEM, pelo apoio na realização do projeto, a Fundação Araucária - agência de fomento do trabalho e ao Núcleo de Pesquisa em Sistemas Fotodinâmicos (NUPESF).

## Referências

APISARIYAKUL, A. et al. Antifungal activity of turmeric oil extracted from *Curcuma longa*. *Journal of Ethnopharmacology*, 49 (3):163-169, 1995;

GUIRADO, G. M. P et al. Analysis of laser therapy effects in *Sporothrix schenckii* inactivation in vivo. *Research on Biomedical Engineering*, v. 34, n. 2, p. 93-101, 2018;

Legabão B. C, Fernandes J. A, Barbosa G. F. O, Bonfim-Mendonça P. S, Svidzinski TIE. The zoonosis sporotrichosis can be successfully treated by photodynamic therapy: A scoping review. *Acta Trop.* 2022 Apr; 228:10634.

Santezi C, Reina B. D, Annunzio S. R, Calixto G, Chorilli M, Dovigo L. N. Photodynamic potential of curcumin in bioadhesive formulations: optical characteristics and antimicrobial effect against biofilms. *Photodiagnosis Photodyn.* 2021 Sep; 29 (35): 02416.

Kwiatkowski S, Knap B, Przystupski D, Saczko J, Kędzierska E, Knap-Czop et al. Photodynamic therapy - mechanisms, photosensitizers and combinations. *Biomed Pharmacother.* 2018 Oct; 106: 1098–107.