



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE
CURSO BACHARELADO EM FARMÁCIA

ÂNDERSON DE VASCONCELOS PINTO

**POTENCIAL MODULADOR DE MONOTERPENOS SOBRE A SENSIBILIDADE
DE DERMATÓFITOS A TERBINAFINA**

CUITÉ – PB

2019

ÂNDERSON DE VASCONCELOS PINTO

**POTENCIAL MODULADOR DE MONOTERPENOS SOBRE A
SENSIBILIDADE DE DERMATÓFITOS A TERBINAFINA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de farmácia da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde (CES), Unidade Acadêmica de Saúde, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia

Orientador: Prof. Dr. Fillipe de Oliveira Pereira

CUITÉ-PB

2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE

P659p Pinto, Ânderson de Vasconcelos.

Potencial modulador de monoterpenos sobre a sensibilidade de dermatófitos a terbinafina. / Ânderson de Vasconcelos Pinto – Cuité: CES, 2019.

50 fl.

Monografia (Curso de Bacharelado em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2019.

Orientador: Fillipe de Oliveira Pereira.

1. Antifúngico. 2. Dermatófitos. 3. Resistência. 4. Bombas de efluxo. 4. Monoterpenos. I. Título.

Biblioteca do CES – UFCG

CDU 615.282

Responsabilidade Rosana Amâncio Pereira – CRB 15 – 791

ÂNDERSON DE VASCONCELOS PINTO

**POTENCIAL MODULADOR DE MONOTERPENOS SOBRE A SENSIBILIDADE
DE DERMATÓFITOS A TERBINAFINA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de farmácia da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Fillipe de Oliveira Pereira

APROVADO EM: 13 / 11 / 2019

BANCA EXAMINADORA:

Fillipe de Oliveira Pereira

Prof. Dr. Fillipe de Oliveira Pereira

(Orientador/UAS/CES/UFCG)

José Alexandre de Sousa Luís

Prof. Dr. José Alexandre de Sousa Luís, Doutor

(Examinador/UAS/CES/UFCG)

Shellygton Lima da Silva

Shellygton Lima da Silva

(Examinador/ Doutorando)

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por proporcionar grandes coisas em minha vida; dedico também aos meu pais, meus irmãos, avós, minha namorada e toda minha família em geral por toda força, apoio e incentivo que recebi desde sempre, para nunca desistir durante os momentos mais difíceis que passei.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por ser meu refúgio, minha fortaleza nos momentos mais difíceis e por sua infinita bondade e misericórdia. Agradeço a Ele por todas as oportunidades que me proporcionou na vida e pelas coisas grandiosas que tem reservado para mim.

Agradeço de todo coração aos meus pais, meus irmãos, meus avós maternos e paternos, tios e tias, enfim... toda minha família, por todo carinho, amor, compreensão, incentivo e por todo esforço que foi feito para mim desde pequenino. Vocês foram uma base muito importante para que eu nunca parasse na caminhada.

Agradeço também a Eliane Santos, minha amada, pois foi sem sombra de dúvidas o maior presente que Cuité e a vida me deu e com ela também recebi uma segunda família que me abraçou e me acolheu com todo carinho.

Agradeço ao meu orientador professor Fillipe de Oliveira por todos os ensinamentos passados, pela paciência e atenção comigo, pela oportunidade de trabalhar na pesquisa ajudando no meu desenvolvimento acadêmico. Agradeço também a todos os meus colegas do grupo de pesquisa GPFungos.

Agradeço ao meu grupo de sempre: Zefirino André, Wedja Marcelino e Fábria Rafaella, amigos que vou levar para o resto da vida e que ocupam lugar especial. Agradeço também a minha turma e todas as pessoas com quem pude conviver durante meus estágios supervisionados.

Agradeço a todos os amigos que pude fazer nesse meu breve tempo em Cuité e a todas as pessoas que de forma direta ou indireta contribuíram para que eu chegasse até aqui e concluir mais uma etapa em minha vida.

*‘Não são os grandes homens que transformam o mundo, mas sim os fracos e
pequenos nas mãos de um grande Deus’`
(Hudson Taylor)*

RESUMO

As dermatofitoses são infecções que acometem os tecidos queratinizados como cabelo, unhas e extrato córneo da pele, de humanos e animais, causadas por fungos denominados dermatófitos. Estes fungos estão divididos em três gêneros: *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*. *Microsporum* e *Trichophyton* estão entre os gêneros de fungos dermatófitos causadores de *tinea capitis* (couro cabeludo). A terbinafina, uma alilamina, é amplamente utilizada no tratamento das dermatofitoses. No entanto, o aparecimento de fungos resistentes impulsiona estudos com produtos naturais dentre eles os monoterpenos, presentes em óleos essenciais e que apresentam diversidade de atividade biológica inclusive a antifúngica. Estes podem se apresentar como novos agentes moduladores da sensibilidade fúngica por inibição de bombas de efluxo na membrana plasmática. Neste estudo, foi analisada a atividade moduladora dos monoterpenos Terpinoleno e Dihidrojasmona sobre a resistência de *Microsporum canis* LM 216, *Trichophyton Interdigitale* H6 e *Trichophyton interdigitale* $\Delta mdr2$ a terbinafina. A concentração inibitória mínima (CIM) da drogas-teste foi determinada por microdiluição. Os efeitos das drogas-teste sobre a funcionalidade da membrana plasmática (liberação de K^+) foi realizada. Posteriormente, a CIM da terbinafina foi determinada em concentrações subinibitórias dos monoterpenos (ensaio de modulação). Por fim, um estudo de associação foi realizado com terbinafina e monoterpenos (*checkerboard*). Dihidrojasmona foi mais potente que Terpinoleno porque apresentou menores valores de CIM (12 $\mu\text{g/mL}$, 256 $\mu\text{g/mL}$ e 32 $\mu\text{g/mL}$). Todos os fungos foram sensíveis a terbinafina a partir de 1 $\mu\text{g/mL}$. Todas as drogas-teste aumentaram a liberação de K^+ ($p < 0,05$), afetando a funcionalidade da membrana plasmática. Dihidrojasmona modulou a resistência de todas cepas testadas frente a terbinafina; e Terpinoleno modulou a resistência apenas de *M. canis* LM216 e *T. interdigitale* $\Delta mdr2$. Os monoterpenos testados mostraram potencial antifúngico e modulador da sensibilidade das cepas testadas a terbinafina e a associação entre as drogas mostrou-se sinérgica.

Palavras-chave: Antifúngico, Dermatófitos, Resistência, bombas de efluxo, monoterpenos.

ABSTRACT

Dermatophytes are infections that affect the keratinized tissues such as hair, nails and horny skin extract of humans and animals, caused by fungi called dermatophytes. These fungi are divided into three genera: *Microsporum*, *Trichophyton* and *Epidermophyton*. *Microsporum* and *Trichophyton* are among the genera of dermatophyte fungi that cause tinea capitis (scalp). Terbinafine, an allylamine, is widely used in the treatment of dermatophytosis. However, the emergence of resistant fungi imposes studies with natural products among the monoterpenes, present in essential oils and presenting a diversity of biological activities, including antifungals. These may be presented as novel fungal sensitivity modulating agents by inhibiting plasma membrane flow pumps. In this study, the modulating activity of monoterpenes terpinolene and dihydrojasnone on the resistance of *Microsporum canis* LM 216, *Trichophyton Interdigitale* H6 e *Trichophyton interdigitale* Δ mdr2 to terbinafine was analyzed. The minimum inhibitory concentration (MIC) of test drugs was determined by microdilution. The effects of test drugs on plasma membrane functionality (K^+ release) were performed. Subsequently, a terbinafine MIC was determined at subinhibitory monoterpene concentrations (modulation assay). Finally, an association study was performed with terbinafine and monoterpenes (checkerboard). Dihydrojasnone was more potent than Terpinolene because it had lower MIC values (12 μ g / mL, 256 μ g / mL and 32 μ g / mL). All fungi used in termination from 1 μ g / mL. All test drugs increased K^+ release ($p < 0.05$), affecting plasma membrane functionality. Dihydrojasnone modulates the resistance of all strains tested in front of terbinafine; and Terpinolene models the resistance only of *M. canis* LM216 and *T. interdigitale* Δ mdr2. The monoterpenes tested have an antifungal potential and a modulator of the sensitivity of the tested strains to terbinafine and the association between the drugs shown to be synergistic.

Key words: Antifungal, Dermatophytes, Resistance, efflux pumps, monoterpenes.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Macromorfologia de <i>Microsporium canis</i>	18
Figura 2: Micromorfologia de <i>Microsporium canis</i>	19
Figura 3: Estrutura química da Terbinafina.....	20
Figura 4: Estrutura química de alguns terpenos com os resíduos de isopreno em destaque, exemplificando a “regra do isopreno”	22
Figura 5: Representação esquemática das duas rotas metabólicas referente à síntese de terpenos/terpenoides: via do mevalonato e via do 1-desoxixilulose-5-fosfato (DXP)	23
Figura 6: Estrutura química do Terpinoleno	24
Figura 7: Estrutura química da Dihidrojasmona	25
Figura 8: Taxa de liberação de ions K^+ de <i>Microsporium canis</i> LM 216 na ausência (controle) e presença de SDS, terbinafina, terpinoleno e dihidrojasmona	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Óleos essenciais que apresentam atividade antifúngica e/ou antibacteriana e microrganismos inibidos..... 24

Tabela 2– Valores de concentração inibitória mínima (CIM) de Terpinoleno, Dihidrojasmona, terbinafina e clorpromazina frente a dermatófitos..... 29

Tabela 3– Valores de concentração inibitória mínima (CIM) de terbinafina isolada e combinada com Terpinoleno (1/4CIM), Dihidrojasmona (1/4CIM) e clorpromazina (1/4CIM) frente a dermatófitos.....32

Tabela 4– Efeitos das associações de terbinafina e terpinoleno ou dihidrojasmona frente a cepa de *Microsporum canis* LM 216.....28

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Mg	Microgramas
μL	Microlitros
AB	Ágar batata
ABC	Transportadores de cassete de ATP
CES	Centro de Educação e Saúde
CIM 1/2	Concentração subinibitória
CIM 1/4	Concentração subinibitória
CIM 1/8	Concentração subinibitória
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DMSO	Dimetilsulfóxido
FPP	Farnesil pirofosfato
GPP	Geranil pirofosfato
IPP	Isopentenil pirofosfato
MFS	(<i>major facilitator superfamily</i>) superfamília do facilitador principal
mL	Mililitros
RPMI	Roswell Park Memorial Institute

UAS	Unidade Acadêmica de Saúde
UFC	Unidades formadoras de colônias
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande
UV	Ultravioleta

Sumário

1.INTRODUÇÃO	15
2.OBJETIVOS	17
2.1Objetivo geral.....	17
2.2Objetivos específicos.....	17
3.FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
3.1Dermatofitoses e principais agentes etiológicos	18
3.2Tratamento das dermatofitoses e a resistência a antifúngicos	20
3.3Considerações sobre terpenos	22
4.MATERIAL E MÉTODO	27
4.1Local de estudo	27
4.2Drogas-teste.....	27
4.3Cepas fúngicas	27
4.4Inóculo	27
4.5Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)	28
4.6Liberação de K+	28
4.7Estudo do efeito modulador da atividade antifúngica	28
4.8Estudo de associação entre drogas	29
4.9Análise estatística.....	29
5.RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
6.CONCLUSÃO.....	36
REFERÊNCIAS	

1. INTRODUÇÃO

As dermatofitoses são infecções fúngicas que acometem os tecidos queratinizados como cabelo, unhas e extrato córneo da pele, de humanos e animais, causadas por fungos denominados dermatófitos (KHOSRAVI; SHOKRI; VAHEDI, 2016; DALLA LANA et al., 2015). Tem se tornado de extrema relevância para a saúde pública e veterinária, pois aumentaram significativamente a ocorrência e a gravidade nas últimas décadas, levando a altas taxas de morbidade entre os pacientes, incluindo indivíduos imunocomprometidos (FUENTEFRIA et al., 2017; LOPES; PINTO; SALGUEIRO, 2017). Estes fungos estão divididos em três gêneros: *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton* (GADZALSKI; CIESIELSKA; STĄCZEK, 2016).

Dentre as drogas de uso clínico, os azóis, alilaminas e a griseoufulvina são as mais comumente utilizadas no tratamento das infecções dermatofíticas (MARTINS, 2015). A terbinafina é uma alilamina de amplo espectro que tem sido utilizada na terapia de infecções por dermatófitos, especialmente com condições crônicas, ela atua inibindo seletivamente a enzima esqualeno epoxidase, bloqueando a biossíntese de ergosterol e levando a um acúmulo de esqualeno que é tóxico para fungos e interfere nas funções da membrana celular (SOARES et al., 2013; DOLTON et al., 2014; YAMADA et al., 2017).

Deve-se considerar que os tratamentos com terbinafina envolvem uma exposição prolongada à droga, o que poderia favorecer a seleção de cepas resistentes e explicar essa alta frequência de resistência. O principal mecanismo em dermatófitos parece ser o de bombas de efluxo, devido à expressão dos genes da superfamília transportadores do tipo ABC (*ATP-binding cassette*) (SOARES et al., 2013; GADZALSKI; CIESIELSKA; STĄCZEK, 2016; YAMADA et al., 2017).

Diante disso, os produtos naturais têm se mostrado uma importante ferramenta de pesquisa e desenvolvimento de novas drogas antifúngicas ou moduladoras da resistência a antifúngicos conhecidos (DANIELLI et al., 2017). Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos de baixo peso molecular extraídas de diversas partes das plantas, possuindo os monoterpenos como os principais constituintes e exibindo uma grande diversidade química e atividade biológica, que incluem seus efeitos sobre o crescimento fúngico (ARECO et al., 2014; RAUT; KARUPPAYIL, 2014; BIASI-GARBIN et al., 2016).

Neste estudo, foram utilizados dois monoterpenos quanto ao seu potencial antifúngico e modulador da sensibilidade de dermatófitos a terbinafina. Estes tiveram suas atividades registradas na forma de patente.

O Terpinoleno é um monoterpeno monocíclico de característica lipofílica encontrado em óleos essenciais de várias espécies de pinheiros e outras plantas como *Manilla elemi*, *Nectranda elaiophora* e *Dacrydium colensoi* (SOWNDHARARAJAN et al. 2015; TURKEZ et al., 2015). Existem poucos estudos sobre a sua atividade farmacológica, no entanto, este exibe atividade repelente (LAZNIK; TRDAN, 2016), aumenta os efeitos nematocidas do safrol (ANDRÉS et al., 2017), associado com diclofenaco reduz hipernocicepção, além de ser um constituinte químico de óleos essenciais que possuem propriedades como analgésicos e antiinflamatórios (MACEDO et al., 2016).

O Dihidrojasmona também é um monoterpeno monocíclico, está presente no extrato da casca de *Koelreuteria paniculata* e nas flores de *Carissa spinarum* L., por possuir odores frescos, frutados, amadeirado e de jasmim, tem sua importância na indústria de perfumes como bases e fragrâncias em cosméticos (GLISZCZYŃSKA et al., 2015; YANG et al., 2017; ANSARI; T PATIL, 2018).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Investigar a atividade moduladora de Terpinoleno e Dihidrojasmona sobre sensibilidade de cepas de dermatófitos a terbinafina.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) de Terpinoleno e Dihidrojasmona e do antifúngico terbinafina frente às cepas ensaiadas.
- Avaliar o efeito dos monoterpênos e antifúngicos sobre a membrana plasmática das cepas ensaiadas.
- Determinar a CIM de terbinafina na presença de concentrações subinibitórias dos terpenos frente às cepas ensaiadas.
- Verificar o efeito da associação dos terpenos com terbinafina frente às cepas ensaiadas.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Dermatofitoses e principais agentes etiológicos

As dermatofitoses ou tíneas são micoses cutâneas causadas por fungos queratinofílicos que têm a capacidade de invadir o estrato córneo da pele, cabelo e unhas de humanos, animais e outros mamíferos. Esses fungos são denominados dermatófitos e compreendem diversas espécies e variedades agrupadas em três gêneros: *Epidermophyton*, *Trichophyton* e *Microsporum*. Além disso, são divididos em 3 grupos de acordo com seu habitat: antropofílico (associado ao homem), zoofílico (associado a animal) e geofílico (habitat do solo) (FOSS et al., 2014; WHITE et al., 2014; CHINNAPUN, 2015; LEAL PINTO et al., 2019).

As manifestações clínicas podem variar de acordo com o estado imunológico do hospedeiro, apresentando lesões típicas que variam de acordo com a área afetada do corpo e podem ser leve ou até lesões supurativas e inflamatórias. As etiologias dessas infecções variam de acordo com a região geográfica, clima, idade, fatores predisponentes e socioeconômicos enquanto que a transmissão pode ser direta (humano para humano, animal para humano e do solo para humano) ou indireta (LEAL PINTO et al., 2019; LEITE JUNIOR et al., 2014). As dermatofitoses podem ser classificadas com base no local afetado, utilizando a denominação *tinea* seguida do sítio anatômico onde se localiza a infecção, também em latim. Por exemplo: *tinea capitis* (cabeça), *tinea faciei* (face), *tinea barbae* (barba), *tinea corporis* (corpo), *tinea manus* (mão), *tinea cruris* (virilha), *tinea pedis* (pé) e *tinea unguium* (unha) (SAHOO; MAHAJAN, 2016).

As infecções por dermatófitos afetam aproximadamente 40% da população mundial e são responsáveis por 30% de todas as dermatomicoses (LEITE JUNIOR et al., 2014). Esses fungos colonizam 30%-70% dos seres humanos sem causar doença e, embora não seja fatal, essas micoses estão entre os doenças transmissíveis mais comuns dos seres humanos desde a antiguidade, trazendo considerável interesse social e gastos em saúde (CHINNAPUN, 2015; FOSS et al., 2014; WHITE et al., 2014). Segundo estudos epidemiológicos realizados no Nordeste do Brasil, a pele glabra era a maior fonte de dermatomicoses (30,11%) e observou-se alta incidência de *T. tonsurans* nos casos de micoses superficiais; *Tinea corporis* e *Tinea capitis* eram os quadros clínicos mais prevalentes de dermatofitoses, presente em 31,8% dos casos.

Microsporum canis é um fungo zoofílico de distribuição mundial, encontrado em animais selvagens e domésticos, sendo o gato o hospedeiro mais importante

(PASQUETTI et al., 2017). É o principal agente causador da *tinea capitis*, uma infecção do couro cabeludo, folículos pilosos e parte intermediária da pele, tendendo a afetar principalmente crianças pequenas, resultando em perda de cabelo e eritema (FERGUSON; FULLER, 2017). As dermatofitoses em indivíduos com infecção pelo HIV parecem se manifestar com lesões atípicas, disseminadas e mais graves, sendo isolados agentes etiológicos menos comuns nesses indivíduos como *Microsporum spp.* (COSTA et al., 2015).

Microsporum canis é um fungo patógeno causador de *tinea capitis*, em especial a microsporose, um tipo caracterizado por intenso comichão no couro cabeludo, pápulas escamosas vermelhas ao redor das hastes capilares e cabelos quebrando. Essa dermatofitose é altamente contagiosa e facilmente transmitida entre animais e humanos via contato físico direto ou indireto com materiais contaminados, sendo a infecção fúngica cutânea mais comum em crianças (mais prevalente entre 3 e 7 anos de idade) (MAO et al., 2014).

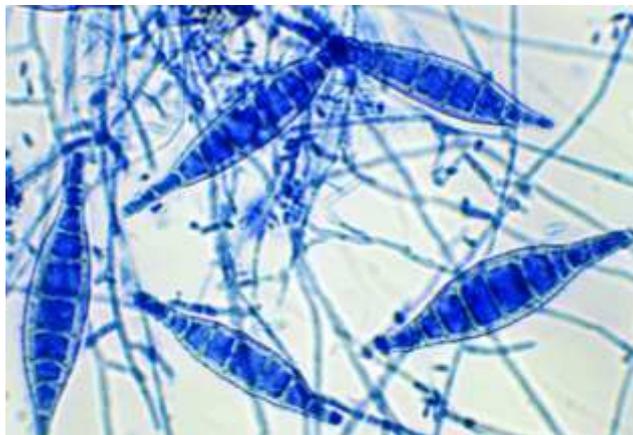
Quanto a suas características, *Microsporum canis* apresenta uma colônia branca filamentosa penugenta (lembrando a penugem das aves) com sulcos e aspecto raiado, e reverso cor amarelo canário ou alaranjado. Na figura 1 e 2, é mostrado o aspecto da colônia no anverso, reverso e o perfil da colônia onde observam-se hifas subindo na parede do tubo como pelo de gato (DE OLIVEIRA, 2014).

Figura 1: Macromorfologia de *Microsporum canis*.



Fonte: MYCOLOGY ONLINE (2019).

Figura 2: Micromorfolgia de *Microsporum canis*.

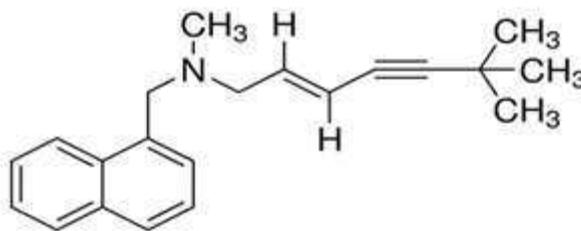


Fonte: MYCOLOGY ONLINE (2019).

3.2 Tratamento das dermatofitoses e a resistência a antifúngicos

Dentre alguns agentes de uso clínico, os azóis, alilaminas e a griseofulvina são as mais comumente utilizadas no tratamento das infecções dermatofíticas (MARTINS, 2015). A Terbinafina é um antifúngico sintético do grupo das Alilaminas que possui a capacidade de interferir especificamente na etapa inicial da biossíntese dos esteróis fúngicos, agindo como inibidor não competitivo da enzima esqualeno-epoxidase. Dessa forma, leva a uma deficiência de ergosterol e acúmulo intracelular de esqualeno, prejudicando a organização da membrana plasmática, permeabilidade celular, diminuindo o crescimento e resultando em morte fúngica (REZENDE et al., 2017).

Os fármacos antifúngicos disponíveis no mercado estão agrupados em poucas classes químicas e, muitas vezes, com espectro de ação restrito. Além disso, o sucesso no tratamento com antifúngicos pode ser prejudicado porque as dermatofitoses geralmente são associadas com elevada recidiva e resistência às drogas (PERES et al., 2010; MICELI et al., 2011).

Figura 3: Estrutura química da Terbinafina

Fonte: SIGMA-ALDRICH, 2019.

Assim como outros micro-organismos, as células fúngicas possuem uma grande habilidade de desenvolver resistência a compostos antifúngicos. Os fungos desenvolvem mecanismos de resistência, principalmente pelos seguintes mecanismos gerais: redução do acúmulo da droga no ambiente intracelular; diminuição da afinidade da droga pelo seu alvo; modificações no seu metabolismo que reduzem os efeitos danosos das drogas; superexpressão da molécula alvo; inativação das drogas. Muitas vezes, a associação de vários mecanismos está envolvida nesta resposta do micro-organismo às drogas (VANDEPUTTE et al., 2012). Os mecanismos bioquímicos que contribuem para o fenótipo de resistência são principalmente modificações moleculares nas enzimas alvo das drogas, alta expressão de bombas de efluxo e alteração na permeabilidade ou captação da droga. Os diversos mecanismos variam de acordo com a cepa, a droga ou condições ambientais (DEISING et al., 2008; PERES et al., 2010).

As bombas de efluxo são expressas em todas as células, cuja atividade confere proteção às células dos efeitos tóxicos de diversos agentes químicos. Geralmente, uma determinada bomba reconhece uma grande diversidade de substratos baseadas em suas propriedades físicas, por isso, elas podem mediar a resistência a múltiplas drogas em fungos (UGHACHUKWU; UNEKWE, 2012). A resistência é frequentemente atribuída à ação de bombas pertencentes a duas classes principais que também diferem entre si pelo mecanismo de transporte utilizado: transportadores do tipo ABC (*ATP-binding cassette*) e superfamília do facilitador principal (MFS ou *major facilitator superfamily*) (COSTA et al., 2014; PRASAD; RAWAL, 2014).

Os transportadores do tipo ABC (*ATP-binding cassette*) estão entre as principais bombas de efluxo envolvidas em mecanismos de resistência a múltiplas drogas. Elas são proteínas integrais de membrana (ATPases), altamente conservadas, que utilizam a

energia oriunda do ATP (trifosfato de adenosina) para transportar diversos tipos de substratos diferentes pela membrana contra seu gradiente eletroquímico (DEISING et al., 2008; UGHACHUKWU; UNEKWE, 2012).

Em estudos sobre os mecanismos de resistência de *T. rubrum*, dois transportadores do tipo ABC, TruMDR1 e TruMDR2, se mostraram importantes no processo. Além de que mutações no gene alvo da esqualeno epoxidase sugere fortemente que uma alteração estrutural na proteína pode estar envolvida na susceptibilidade reduzida de cepas de *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton interdigitale* à terbinafina (GADZALSKI; CIESIELSKA; STĄCZEK, 2016; SOARES et al., 2013; YAMADA et al., 2017).

Neste contexto, drogas que atuam sobre bombas de efluxo como inibidores competitivos ou não-competitivos são ferramentas de grande potencial para reverter o desenvolvimento de resistência a drogas mediada por bombas e melhorar a eficácia contra micro-organismos pela co-administração desses inibidores com agentes antimicrobianos. Entre os conhecidos inibidores de bombas em células eucarióticas humanas, fúngicas ou procarióticas, as drogas do grupo das fenotiazinas como clorpromazina são bem estudadas (UGHACHUKWU; UNEKWE, 2012; WILLERS et al., 2016).

Embora a clorpromazina seja usada como uma droga antipsicótica, ela vem demonstrando interessante ação antifúngica frente a diversas espécies de leveduras e fungos filamentosos (VITALE et al., 2007; GALGÓCZY et al., 2010). Além disso, o potencial de drogas da classe fenotiazinas, incluindo o fármaco clorpromazina, como agente modulador da resistência microbiana a antibacterianos e antifúngicos foi comprovado em estudos *in vitro* desenvolvidos por outros pesquisadores (KOLACZKOWSKI et al., 2003; COUTINHO et al., 2008). Seus efeitos estão envolvidos com a inibição de proteínas e enzimas ligantes de cálcio em células eucarióticas e procarióticas, normalmente relacionadas com a produção de energia. A maioria dessas proteínas está associada à membrana plasmática, desse modo, clorpromazina pode atuar como agentes inibidores de bombas de efluxo (TEGOS et al., 2011).

3.3 Considerações sobre terpenos

O uso de produtos naturais é certamente uma das estratégias mais bem sucedida na descoberta de novos fármacos, envolvendo a participação das ciências biológicas,

farmacêuticas, médicas e a química (NEWMAN; CRAGG, 2007). Os produtos naturais como plantas medicinais têm se apresentado com um papel importante no esforço para identificar novos agentes antifúngicos.

Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, com baixo peso molecular, geralmente odoríferas e líquidas encontradas nas folhas, resinas, frutos, flores, troncos e outras partes das plantas; eles são caracterizados pelos componentes majoritários (dois, três ou mais) que são geralmente responsáveis por determinadas atividades biológicas. O modo de ação dessas substâncias é complexo e não envolve apenas um mecanismo, isso pode ser explicado devido à mistura de inúmeros compostos que apresentam sinergismo entre si. Seus componentes apresentam grande variabilidade química e entre esses, os terpenos merecem destaque (FLORES; BECK; DA SILVA, 2016; SIMÕES; SPITZER, 2007; BAKKALI et al., 2008).

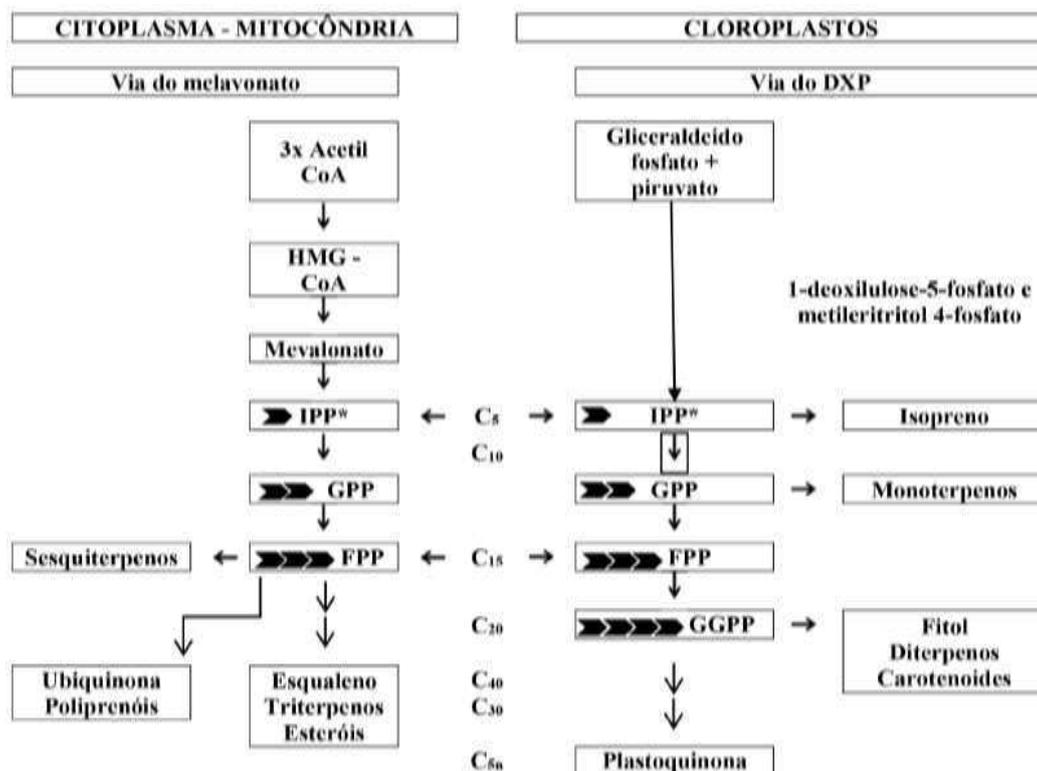
Os diferentes terpenos são metabólitos secundários derivados de duas rotas metabólicas distintas para sua biossíntese: a via do mevalonato e a via do 1-desoxixilulose-5-fosfato (DXP) (figura 5). São basicamente estruturados em blocos de cinco carbonos – unidades de isopreno (C_5H_8) – normalmente, ligadas entre si pela ordem “cabeça-a-cauda” (figura 4). A classificação se dá de acordo com a quantidade de unidades isoprênicas que sua estrutura possui em: hemiterpenos (C_5), monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), triterpenos (C_{30}) e tetraterpenos (C_{40}) e além desta, os terpenos podem ser sub-classificados em termos do grau de ciclização da sua molécula em: acíclicos (moléculas abertas), monocíclicos ou bicíclicos (FLORES; BECK; DA SILVA, 2016; KANDI, 2015).

Figura 4: Estrutura química de alguns terpenos com os resíduos de isopreno em destaque, exemplificando a “regra do isopreno”.



Fonte: FELIPE; BICAS (2017).

Figura 5: Representação esquemática das duas rotas metabólicas referente à síntese de terpenos/terpenoides: via do mevalonato e via do 1-desoxilulose-5-fosfato (DXP).



*IPP ou DMAPP. IPP: isopentenil pirofosfato; DMAPP: dimetilalil pirofosfato. GPP: geranyl pirofosfato; FPP: farnesil pirofosfato.

Fonte: FELIPE; BICAS (2017).

O mecanismo de ação antifúngica dos monoterpenos ainda não foi completamente esclarecido, no entanto, essas substâncias apresentam um amplo espectro de ação contra fungos, bactérias e vírus. Atualmente, é descrito na literatura que os terpenos possuem a sua capacidade de interação com as membranas, levando a alteração na seletividade e na permeabilidade delas, além de agir através da ligação ao ergosterol causando desestabilização das membranas fúngicas e inibição da esporulação. De forma geral, a perda da integridade pode causar alterações na função da membrana levando à atividade antifúngica (FLORES; BECK; DA SILVA, 2016; MIRON et al., 2014).

O Terpinoleno é um monoterpeno monocíclico de característica lipofílica com massa molecular 136,23 g/mol (C₁₀H₁₆) encontrado como componente majoritário de óleos essenciais de plantas como *Artemisia dracunculus*, *Melaleuca alternifolia* e *Piper nigrum* que exibem atividade antibacteriana contra diversas bactérias. Vale lembrar que

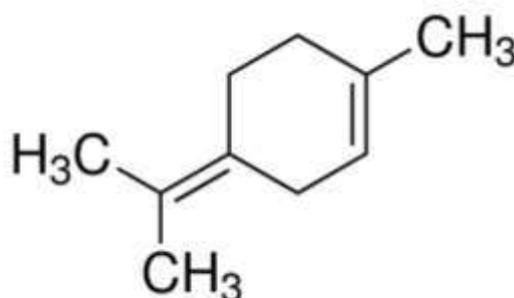
o óleo de *Melaleuca alternifolia* também apresenta ação antifúngica contra diversas espécies de fungos inclusive dermatófitos (Tabela 1). O óleo de *Origanum majorana* também contém esse monoterpreno (GUERRA-BOONE et al., 2015; SHARMA et al., 2014; SWAMY; AKHTAR; SINNIAH, 2016).

Tabela 1: Óleos essenciais que apresentam atividade antifúngica e/ou antibacteriana e microrganismos inibidos.

Óleos essenciais	Microrganismos
<i>Artemisia dracunculus</i>	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Piper nigrum</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i>
<i>Melaleuca alternifolia</i>	<i>Fusarium</i> spp., <i>Malassezia furfur</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i> , <i>Microsporum</i> <i>canis</i> , <i>M. gypseum</i> , <i>Trichophyton</i> <i>mentagrophytes</i> , <i>T. rubrum</i> , e <i>T.</i> <i>Tonsurans</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus</i> <i>epidermidis</i>

Fonte: GUERRA-BOONE et al., 2015; SHARMA et al., 2014; SWAMY; AKHTAR; SINNIAH, 2016.

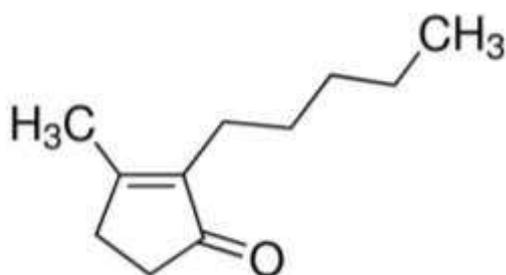
Figura 6: Estrutura química do Terpinoleno



Fonte: SIGMA-ALDRICH, 2019.

Dihidrojasmona, com peso molecular 166,26 g/mol ($C_{11}H_{18}O$) também é classificado como monoterpene monocíclico e não há relatos na literatura de sua atividade antifúngica. Ele está presente no extrato da casca de *Koelreuteria paniculata* e nas flores de *Carissa spinarum* L. Possui aroma forte e duradouro de jasmim e aroma forte e suave de frutas, por isso é frequentemente usado como fragrância em cosméticos (ANSARI; T PATIL, 2018; YANG et al., 2017).

Figura 7: Estrutura química da Dihidrojasmona



Fonte: SIGMA-ALDRICH, 2019.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1 Local de estudo

O trabalho foi realizado no Laboratório de Bioquímica e no Laboratório de Microbiologia, ambos da UAS/CES/UFCG.

4.2 Drogas-teste

Terpinoleno, Dihidrojasmona, terbinafina e clorpromazina foram adquiridos da Sigma-Aldrich® (Brasil). As soluções foram preparadas no momento de execução dos testes, dissolvendo-os primeiramente em 100 µL dimetilsulfóxido (DMSO) a 100% e utilizando água destilada esterilizada em quantidade suficiente para obter a concentração inicial de 1024 µg/mL. A partir desta concentração, foram feitas diluições seriadas em razão de dois até alcançar concentrações inferiores utilizando o próprio meio RPMI 1640.

4.3 Cepas fúngicas

Para os ensaios de atividade antifúngica, foram utilizadas as seguintes cepas: *Microsporum canis* LM 216, obtida da coleção do Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal da Paraíba; *T. interdigitale* H6 (ATCC MYA-3108) e seu derivado $\Delta mdr2$ que foi obtido por um método de inativação (FACHIN et al., 2016), cedidas pelo Departamento de Genética, Faculdade de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Todas as cepas foram mantidas em tubos de ensaio contendo ágar batata dextrose inclinado sob refrigeração (28°C) no Laboratório de bioquímica do CES (UFCG).

4.4 Inóculo

As cepas fúngicas foram inicialmente cultivadas em agar batata dextrose (Difco®) a 28°C por 7 dias. As recentes colônias fúngicas foram cobertas com solução salina estéril (NaCl 0,9 %), e as suspensões feitas por suaves agitações com auxílio de uma pipeta de transferência. As densidades das suspensões de cada cepa foram ajustadas em espectrofotômetro a 520 nm para um valor de 70-72% de transmitância, a qual corresponde a um inóculo de aproximadamente $0,5 - 5 \times 10^6$ unidades formadoras de

colônias em 1 mL (UFC/mL) (CLSI, 2008 SANTOS et al., 2006; BARROS et al., 2006).

4.5 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

A determinação da CIM das drogas-teste foi realizada pela técnica de microdiluição, utilizando placas de microtitulação contendo 96 cavidades com fundo chato (CLSI, 2008; SANTOS; HAMDAN, 2005). Em cada linha da placa, foram adicionados 100 µL das drogas-teste duplamente concentradas diluídas em RPMI 1640. Em cada cavidade da placa, foram adicionados 100 µL do inóculo previamente preparado, diluído em Caldo Sabouraud Dextrose na proporção 1:50. Um controle fúngico foi realizado substituindo as drogas-teste por solução salina esterilizada (controle de crescimento). Um controle de esterilidade também foi realizado, colocando-se apenas o meio de cultura, sem o inóculo. Para verificar a ausência de interferência nos resultados pelo DMSO utilizado na preparação das soluções, foi feito um controle com DMSO na concentração usada para a solubilização das drogas acrescido do inóculo e do meio de cultura. As placas foram seladas e incubadas a 28°C por até 7 dias para a realização da leitura. A CIM é definida como a menor concentração das drogas capaz de inibir 100% o crescimento fúngico observado nas cavidades (SANTOS; HAMDAN, 2005).

4.6 Liberação de K⁺

A concentração de íons potássio (K⁺) livres no inóculo fúngico foi mensurada após sua exposição às CIM das drogas-teste a 28°C. Após o período de incubação (4 h e 8 h), a concentração de K⁺ extracelular foi medida por procedimentos de turbidimetria usando Kits de dosagem de K⁺ (Doles ®, Goiânia, Brazil), em espectrofotômetro UV 5100. Experimentos controle sem as drogas-teste foram realizados de forma semelhante. Dodecil sulfato de sódio (SDS) a 2% foi usado como composto referência capaz de induzir liberação de K⁺ devido sua ação surfactante (SOUZA et al., 2010).

4.7 Estudo do efeito modulador da atividade antifúngica

Para avaliar se as drogas-teste modulam de forma positiva ou negativa a ação dos antifúngicos frente às cepas testadas, foi empregado o método proposto por Coutinho et al. (2008). Os valores de CIM de terbinafina foram determinados na ausência e na presença de concentrações subinibitórias dos monoterpênicos (1/4CIM) ou clorpromazina

(1/4CIM), pela técnica de microdiluição. A clorpromazina foi usada como um controle positivo, por se um inibidor de bomba de efluxo. As placas foram seladas e incubadas a 28°C por até 7 dias para a realização da leitura.

4.8 Estudo de associação entre drogas

O efeito da associação do terpinoleno e dihidrojasmona com o antifúngico foi determinado pela técnica de *checkerboard*, utilizando placas de microtitulação contendo 96 cavidades com fundo chato. Diluições das soluções das drogas-teste (1/8CIM, 1/4CIM, CIM/2, CIM, CIM×2, CIM×4 e CIM×8) foram feitas em RPMI 1640. Após isto, uma alíquota de 50 µL da terbinafina foi adicionada nos poços da placa no sentido vertical e, em seguida, 50 µL de uma determinada diluição de terpeno foram adicionados no sentido horizontal da placa, ambas com concentrações ajustadas. Por fim, foram adicionados 100 µL do inóculo diluído 1:50 em Caldo Sabouraud Dextrose. Desta maneira, foram obtidas misturas de diversas concentrações de ambas as drogas. As placas foram seladas e incubadas a 28°C por até 7 dias para a realização da leitura das CIMs. Na perspectiva de avaliar a atividade das associações de drogas, o índice da concentração inibitória fracionada (ICIF) foi calculada através da soma: CIFA + CIFB, onde A representa o terpeno e B as drogas comerciais. O CIFA = CIMA combinado/CIMA sozinho, enquanto que o CIFB= CIMB combinado/CIMB sozinho. O ICIF foi interpretado da seguinte maneira: sinergismo (< 0,5), aditividade (0,5-1,0), indiferença (> 1,0 e < 4,0) ou antagonismo (> 4,0) (LEWIS et al., 2002; CORREA-ROYERO et al., 2010).

4.9 Análise estatística

Todos os ensaios foram realizados em triplicata. Os valores de CIM foram expressos em valor modal dos resultados. Os resultados do ensaio de liberação de K⁺ foram expressos como média ± desvio padrão (DP). A avaliação estatística destes resultados foi feita empregando-se o teste t (student) não pareado para determinar diferenças significantes, quando um valor de p<0,05.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de CIM para todas as drogas-teste estão expressos na tabela 1. Dihidrojasmona foi mais potente que terpinoleno porque apresentou valores de CIM menores. *M. canis* LM216 foi mais resistente a dihidrojasmona, terbinafina e clorpromazina quando comparada às demais cepas ensaiadas. Todas as cepas testadas foram mais sensíveis a terbinafina do que aos monoterpenos, com valores de CIM variando de 0,5 a 1 µg/mL. *M. canis* LM216 e *T. interdigitale* H6 mostraram maior resistência ao terpinoleno por se tratarem de cepas clínicas que já foram expostas à fármacos. O crescimento foi detectado quando todas as cepas foram cultivadas na ausência de drogas, o que confirmou a viabilidade dos inóculos fúngicos. O DMSO não inibiu o crescimento fúngico na concentração testada.

Tabela 2– Valores de concentração inibitória mínima (CIM) de terpinoleno, dihidrojasmona, terbinafina e clorpromazina frente a dermatófitos.

CEPAS	CIM (µg/mL)*			
	Terpinoleno	Dihidrojasmona	Terbinafina	Clorpromazina
<i>Microsporum canis</i> LM 216	1024	512	1	2
<i>Trichophyton interdigitale</i> H6	1024	256	0,5	0,5
<i>Trichophyton interdigitale</i> Δ <i>mdr2</i>	128	32	0,5	1

*Valores modais de três experimentos.

Fonte: dados da pesquisa

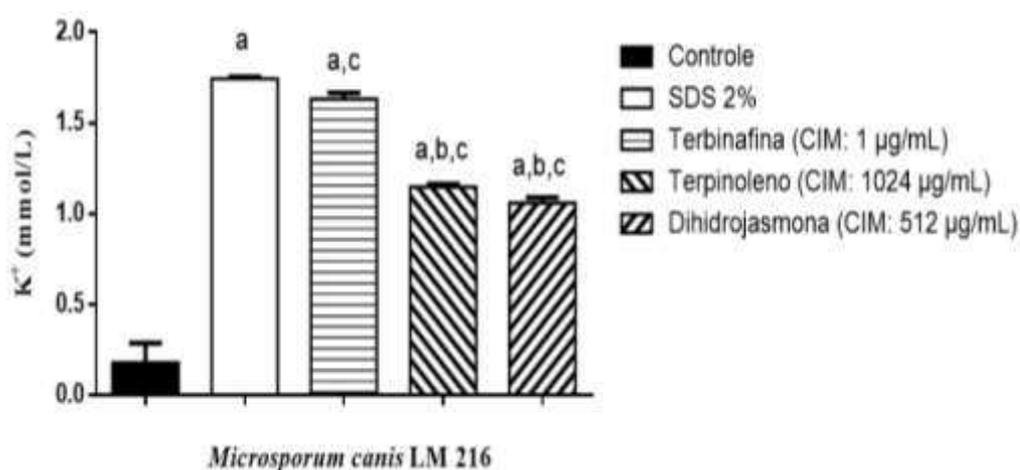
Dentre os terpenos estudados, constatou-se o potencial antifúngico contra *M. canis* e *T. interdigitale*. Dentre eles o que se mostrou mais potente foi o dihidrojasmona, uma substância encontrada no óleo de laranja bergamota (*Citrus bergamia*) e nas flores de *Carissa spinarum* L. É utilizado como aromarizante na indústria, porém não há relatos na literatura de sua ação antifúngica (ANSARI; PATIL, 2018). Enquanto diversos estudos afirmam que terpinoleno é um dos componentes majoritários de óleos essenciais com atividade antifúngica e antibacteriana como óleo de *Melaleuca*

alternifolia que apresentou inibição contra diversos fungos: *C. albicans*, *C. neoformans*, *Epidermophyton floccosum*, *Fusarium* spp., *Microsporium canis*, *M. gypseum*, *Penicillium* spp., *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum*, *T. tonsurans*, *Trichosporon* spp. - e assim como o óleo de *Artemisia dracunculus* também inibiu várias bactérias, entre elas *E. coli*, *S. aureus* e *S. epidermidis*. Os óleos essenciais possuem sua eficácia diante de diversos patógenos devido a presença de diferentes tipos de compostos entre eles aldeídos, fenólicos e terpenos (SWAMY; AKHTAR; SINIAH, 2016).

A hidrofobicidade dos óleos voláteis altera a permeabilidade da membrana citoplasmática, facilitando a permeação antifúngica na célula (FUENTEFRÍA et al., 2017). Miron et al. (2014) relatou que alguns terpenos podem se ligar ao ergosterol e causar uma desestabilização subsequente das membranas celulares dos fungos. Com a perda da integridade da membrana pode causar alterações na sua função, o que é responsável pela atividade antifúngica. O presente estudo mostrou que ambos alteraram a funcionalidade da membrana, como sugerido por outros autores.

Considerando isto, foi investigado o possível efeito das drogas-teste sobre a funcionalidade da membrana plasmática. Para tanto, foi realizado o ensaio de liberação de K^+ para avaliar o efeito sobre a membrana plasmática da cepa de *M. canis* LM 216 após sua exposição às CIM das drogas-teste (Figura 8). Visivelmente não houve diferença estatística na taxa de liberação de K^+ causada pelos terpenos. Todas as drogas-teste aumentaram a liberação de K^+ quando comparadas ao controle (ausência de drogas) ($p < 0,05$).

Figura 8: Taxa de liberação de ions K^+ de *Microsporium canis* LM 216 na ausência (controle) e presença de SDS, terbinafina, terpinoleno e dihidrojasmona.



a= quando comparado com o controle ($p < 0,05$); b= quando comparado com a terbinafina ($p < 0,05$); c= quando comparado com o dodecil sulfato de sódio (SDS) ($p < 0,05$).

Fonte: dados da pesquisa.

O potássio é um íon vital para muitos processos fisiológicos, que vão desde a manutenção do pH intracelular, síntese de proteínas até ativação de enzimas em fungos filamentosos. É encontrado em maior quantidade dentro das células e, portanto, o seu desequilíbrio intracelular eventualmente causa a morte devido a alterações na fisiologia do microrganismo, no crescimento celular, morfologia e desenvolvimento (SHANTAPPA et al., 2013). O terpinoleno e dihidrojasmona por serem lipossolúveis causaram efeitos sobre a membrana plasmática de *M. canis* LM216 levando a liberação intracelular de potássio da célula. Isso foi evidenciado pela diferença significativa na concentração extracelular desse íon entre a suspensão fúngica exposta as drogas e o controle ($p < 0,05$).

Partindo deste pressuposto, a alteração na atividade da membrana plasmática pode induzir modificações na atividade de proteínas de membrana. Com base nisto, verificamos a possibilidade de terpinoleno e dihidrojasmona modularem a sensibilidade dos dermatófitos à terbinafina por ação sobre bombas de efluxo.

No ensaio de modulação da sensibilidade fúngica, determinou-se a CIM de terbinafina na presença de concentrações subinibitórias das drogas-teste (terpinoleno, dihidrojasmona e clorpromazina), como pode ser visualizado na tabela 2. Em *M. canis* LM 216 e *T. interdigitale* $\Delta mdr2$, a CIM de terbinafina diminuiu na presença dos monoterpênicos ($0,0625 \mu\text{g/mL}$). A clorpromazina modulou seletivamente a sensibilidade de *M. canis* LM 216 e *T. interdigitale* H6 a terbinafina, uma vez que é um fármaco bloqueador de bombas de efluxo. Isto não foi evidenciado com a cepa *T. interdigitale* $\Delta mdr2$.

T. interdigitale H6 é um isolado clínico que expressa genes que codificam bombas de efluxo e no presente estudo teve sua sensibilidade a terbinafina modulada por dihidrojasmona. *T. Interdigitale* $\Delta mdr2$ é uma linhagem *knockout* na qual o gene que codifica para uma proteína do tipo ABC é interrompido, resultando em um mutante mais sensível a várias drogas inclusive a terbinafina (MARTINS, 2015). Essa linhagem foi utilizada no estudo para determinar o poder modulador dos monoterpênicos e reafirmar a capacidade de bloqueio de bombas pela clorpromazina. O terpinoleno e

dihidrojasmona modularam a sensibilidade dessa cepa à terbinafina, no entanto, clorpromazina foi incapaz de modular esta sensibilidade, possivelmente por não expressar o transportador ABC em questão.

Tabela 3: Valores de concentração inibitória mínima (CIM) de terbinafina isolada e combinada com terpinoleno (1/4CIM), dihidrojasmona (1/4CIM) e clorpromazina (1/4CIM) frente a dermatófitos.

CEPAS	CIM isolada ($\mu\text{g/mL}$)	CIM combinada ($\mu\text{g/mL}$)		
		(Terpinoleno)	(Dihidrojasmona)	(Clorpromazina)
<i>Microsporium</i> <i>canis</i> (LM 216)	1	0,0625	0,0625	0,25
<i>Trichophyton</i> <i>interdigitale</i> (H6)	0,5	0,5	0,0625	0,25
<i>Trichophyton</i> <i>interdigitale</i> ($\Delta\text{mdr}2$)	0,5	0,0625	0,0625	0,5

*Valores modais de três experimentos.

Fonte: dados da pesquisa

Proteínas que fazem efluxo de drogas antifúngicas ocasionam resistência a múltiplas drogas. Este seria um dos principais mecanismos de resistência aos fármacos usados atualmente na terapêutica, incluindo terbinafina. Em relação à classe mais utilizada na terapia antifúngica os principais mecanismos de resistência incluem mutação e desregulação da molécula alvo, alteração da via biossintética do ergosterol e o aumento do efluxo de drogas devido a ativação de bombas, resultando na pequena quantidade de droga no local de ação. Os transportadores do tipo ABC (*ATP-binding cassette*) são uma das maiores superfamílias de proteínas. Os membros deste grupo são transportadores transmembranas que utilizam da energia oriunda da hidrólise do ATP para translocar um vasto número de substratos que vão desde pequenos íons inorgânicos

até moléculas grandes, conferindo resistência a drogas em procariontes e eucariontes (GADZALSKI et al., 2016).

Segundo Scorzoni et al. (2017), o aumento na expressão dos genes de transportadores ABC foi relatado em *T. rubrum* na presença de azóis e parece ser o principal mecanismo de resistência em dermatófitos inclusive a outros antifúngicos, como terbinafina, anfotericina B e griseofulvina. A terbinafina é uma alilamina utilizada como droga de primeira linha na terapia de infecções por dermatófitos e segundo alguns autores (SINGH et al., 2018; YAMADA, et al., 2017), o mecanismo molecular de resistência de *T. rubrum* e *T. interdigitale* tem sido predominantemente atribuído a mutações pontuais no gene alvo da esqualeno epoxidase (SQLE) uma enzima chave na via biossintética do ergosterol levando a substituições simples de aminoácidos. Considerando que os monoterpenos interferem na funcionalidade da membrana plasmática, foi investigado se estes modulam a sensibilidade dos fungos à terbinafina por inibição da atividade de bombas de efluxo. Neste ensaio, usou-se a clorpromazina como controle positivo, pois é uma droga inibidora de bombas de efluxo amplamente utilizada com esta finalidade. É uma forma indireta de identificar o envolvimento de bombas de efluxo na resistência fúngica (BARRETO et al., 2014).

Os monoterpenos e clorpromazina modularam a sensibilidade de *M. canis* LM216 a terbinafina e com base nisso, foi determinado o estudo da associação *in vitro* entre a terbinafina e os monoterpenos frente a *M. canis* LM216 pela técnica de *checkerboard*. Ambas as drogas baixaram seus valores de CIM quando combinadas de CIM para 1/8CIM. Com isto, a associação de cada um dos dois monoterpenos com terbinafina ocorreu de forma sinérgica.

Tabela 4. Efeitos das associações de terbinafina e terpinoleno ou dihidrojasmona frente a cepa de *Microsporum canis* LM 216.

Drogas	CIM	CIM	ICIF (Tipo de interação)
	isolada	combinada	
Terbinafina	1	0,125	0,25 (Sinergismo)
Terpinoleno	1024	128	
Terbinafina	1	0,125	0,25 (Sinergismo)
Dihidrojasmona	512	64	

CIM, concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$); ICIF, índice da concentração inibitória fracionada.

Fonte: dados da pesquisa

O resultado mostrou uma relação de sinergismo para ambas as drogas, apresentando melhores efeitos quando combinadas. Segundo Carrillo-Muñoz et al. (2014) sinergia entre drogas antifúngicas é uma interação positiva quando duas ou mais drogas podem desenvolver um efeito cumulativo. A terapia atual usada para o tratamento das dermatofitoses é muitas vezes tóxica a longo prazo, onerosa e de eficácia limitada, o que justifica o sucesso da associação com produtos naturais que fornecem uma base para a pesquisa e descoberta de novas drogas (SOARES, et al., 2013).

6. CONCLUSÃO

Esta pesquisa é de grande relevância para o meio científico, tendo em vista que até o presente momento não existe relatos na literatura de estudos sobre o potencial antifúngico dos terpenos terpinoleno e dihidrojasmona sobre isolados clínicos de dermatófitos *M. canis* e *T. interdigitale* resistentes à terbinafina.

As drogas testadas exibiram atividade antifúngica, modulando a resistência das cepas de dermatófitos e mostrando sinergismo na associação à terbinafina. Sugere-se que os mesmos alteraram a resistência das cepas por meio de uma desestabilização da membrana plasmática, interferindo em sua funcionalidade, e possivelmente não interferiu na atividade de bombas de efluxo. Os monoterpenos se ligam às moléculas de ergosterol e/ou se difundem na membrana, ocasionando desestabilização da membrana e facilitando a ação da terbinafina. Embora tenha permitido uma melhor compreensão da atividade desses compostos naturais, se faz necessário novos estudos que busquem aplicação clínica e eficácia desta combinação.

Por fim, considerando o potencial tecnológico deste estudo e a eficiência das substâncias testadas, este trabalho possibilitou a geração de duas patentes. Ambas foram registradas no dia 20 de março de 2019, com número de registro BR 10 2019 005468 9 e BR 10 2019 005476 0, intituladas: Dihidrojasmona como agente antifúngico e potencializador da ação de antifúngicos convencionais e Terpinoleno como potencializador da ação de fármacos antifúngicos convencionais, respectivamente.

REFERÊNCIAS

ANDRES, M. F.; ROSSA, G. E.; CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F.; SANTANA, O.; DÍAZ, C. E.; GONZALEZ-COLOMA, A. Biocidal effects of *Piper hispidinervum* (Piperaceae) essential oil and synergism among its main components. **Food and Chemical Toxicology**, v. 109, p. 1086-1092, 2017.

ANSARI, I.; T PATIL, D. A brief review on phytochemical and pharmacological profile of *Carissa Spinarum L.* **Asian J Pharm Clin Res**, v. 11, n. 9, p. 12-18, 2018.

ARECO, V. A.; FIGUEROA, S.; COSA, M. T.; DAMBOLENA, J. S.; ZYGADLO, J. A.; ZUNINO, M. P. Effect of pinene isomers on germination and growth of maize. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 55, p. 27-33, 2014.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BARRETO, H. M.; DE LIMA, I. S.; COELHO, K. M. R. N.; OSÓRIO, L. R.; MOURÃO, R. A.; DOS SANTOS, B. H. C.; COUTINHO H. D. M.; DE ABREU, A. P. L.; DE MEDEIROS, M. G. F.; CITÓ, A. M. G. L.; LOPES, J. A. D. Effect of *Lippia origanoides* HBK essential oil in the resistance to aminoglycosides in methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 6, n. 5, p. 560-564, 2014.

BARROS, M. E. S; SANTOS, D. A.; HAMDAN, J. S. *In vitro* methods for antifungal susceptibility testing of *Trichophyton* spp. **Mycological Research**, v. 110, n. 11, p. 1355-1360, 2006.

BIASI-GARBIN, R. P.; DEMITTO, F. O.; AMARAL, R. C. R.; FERREIRA, M. R. A.; SOARES, L. A. L.; SVIDZINSKI, T. I. E.; BAEZA, L. C.; YAMADA-OGATTA, S. F. Antifungal potential of plant species from Brazilian Caatinga against dermatophytes. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 58, n. 18, 2016.

CARRILLO-MUÑOZ, A. J.; FINQUELIEVICH, J.; TUR-TUR, C.; ERASO, E.; JAUREGIZAR, N.; QUINDÓS, G.; GIUSIANO, G. Combination antifungal therapy: A strategy for the management of invasive fungal infections. **Rev Esp Quimioter**, v. 27, n. 3, p. 141-158, 2014.

CHINNAPUN, D. Virulence factors involved in pathogenicity of dermatophytes. **Walailak Journal of Science and Technology (WJST)**, v. 12, n. 7, p. 573-580, 2015.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved standard M38-A**. v. 22, n. 16, Clinical and Laboratory Standards Institute, Pennsylvania, United States of America, 2008.

CORREA-ROYERO, J. TANGARIFE, V.; DURÁN, C.; STASHENKO, E.; MESA-ARANGO, A. *In vitro* antifungal activity and cytotoxic effect of essential oils and extracts of medicinal and aromatic plants against *Candida krusei* and *Aspergillus fumigatus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 5, p. 734-741, 2010.

COSTA, C.; DIAS, P. J.; SÁ-CORREIA, I.; TEIXEIRA, M. C. MFS multidrug transporters in pathogenic fungi: do they have real clinical impact?. **Frontiers in physiology**, v. 5, p. 197, 2014.

COSTA, J. E. F.; NEVES, R. P.; DELGADO, M. M.; LIMA-NETO, R. G.; MORAIS, V. M. S.; COELHO, M. R. C. D. Dermatophytosis in patients with human immunodeficiency virus infection: Clinical aspects and etiologic agents. **Acta tropica**, v. 150, p. 111-115, 2015.

COUTINHO, H. D.; COSTA, J. G. M.; LIMA, E. O.; SILVA, V. S. F.; SIQUEIRA-JÚNIOR J. P. Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. **Chemotherapy**, v. 54, p. 328-330, 2008.

DALLA LANA, D. F.; DONATO, R. K.; BÜNDCHEN, C.; GUEZ, C. M.; BERGAMO, V. Z.; DE OLIVEIRA, L.F.S.; MACHADO, M.M.; SCHREKKER, H.S.;

FUENTEFRIA, A.M. Imidazolium salts with antifungal potential against multidrug-resistant dermatophytes. **Journal of applied microbiology**, v. 119, n. 2, p. 377-388, 2015.

DANIELLI, L. J.; PIPPI, B.; SOARES, K. D.; DUARTE, J. A.; MACIEL, A. J.; MACHADO, M. M.; OLIVEIRA, L. F. S.; BORDIGNON, S. A. L.; FUENTEFRIA, A. M.; APELA, M. A. Chemosensitization of filamentous fungi to antifungal agents using *Nectandra* Rol. ex Rottb. species essential oils. **Industrial crops and products**, v.102, p. 7-15, 2017.

DE OLIVEIRA, J. C. Diagnóstico micológico por imagens. 1ª edição. Rio de Janeiro: il. col., 2014.

DEISING, H. B.; REIMANN, S.; PASCHOLATI, S. F. Mechanisms and significance of fungicide resistance. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n. 2, p. 286-295, 2008.

DIHYDROJASMONE. **Merck**, 2019. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/w376302?lang=pt®ion=BR>>. Acesso em: 7 de dez. de 2019.

DOLTON, M. J.; PERERA, V.; PONT, L. G.; MCLACHLAN, A. J. Terbinafine in combination with other antifungal agents for treatment of resistant or refractory mycoses: Investigating optimal dosing regimens using a physiologically based pharmacokinetic model. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 58, n. 1, p.48-54, 2014.

FACHIN, A. L.; FERREIRA-NOZAWA, M. S.; MACCHERONI, W. J. R.; MARTINEZ-ROSSI, N. M. Role of the ABC transporter TruMDR2 in terbinafine, 4-nitroquinoline N-oxide and ethidium bromide susceptibility in *Trichophyton rubrum*. **Journal of Medical Microbiology**. v. 55, p. 1093-1099, 2006.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nov na Esc**, v. 39, n. 2, p. 120-30, 2017.

FERGUSON, L.; FULLER, L. C. Spectrum and burden of dermatophytes in children. **Journal of Infection**, v. 74, p. S54-S60, 2017.

FLORES, F. C.; BECK, R. C.; DA SILVA, C. B. Essential oils for treatment for onychomycosis: a mini-review. **Mycopathologia**, v. 181, n. 1-2, p. 9-15, 2016.

FOSS, S. R.; NAKAMURA, C. V.; UEDA-NAKAMURA, T.; CORTEZ, D. A. G.; ENDO, E. H.; DIAS FILHO, B. P. Antifungal activity of pomegranate peel extract and isolated compound punicalagin against dermatophytes. **Annals of clinical microbiology and antimicrobials**, v. 13, n. 1, p. 32, 2014.

FUENTEFRIA, A. M.; PIPPI, B.; DALLA LANA, D. F.; DONATO, K. K.; DE ANDRADE, S. F. Antifungals discovery: an insight into new strategies to combat antifungal resistance. **Letters in applied microbiology**, v. 66, n. 1, p. 2-13, 2017.

GADZALSKI, M.; CIESIELSKA, A.; STĄCZEK, P. Bioinformatic survey of ABC transporters in dermatophytes. **Gene**, v. 576, n. 1, p. 466-475, 2016.

GALGÓCZY, L.; BÁCSI, A.; HOMA, M.; VIRÁGH, M.; PAPP, T.; VÁGVÖLGYI, C. *In vitro* antifungal activity of phenothiazines and their combination with amphotericin B against different *Candida* species. **Mycoses**. v. 54, n. 6, p. 737-43, 2011.

GLISZCZYN'SKA, A.; GŁADKOWSKI, W.; DANCEWICZ, K.; GABRYS, B. Enantioselective microbial hydroxylation as a useful tool in the production of jasmonate derivatives with aphid deterrent activity. **Current microbiology**, v. 71, n. 1, p. 83-94, 2015.

GUERRA-BOONE, L.; ALVAREZ-ROMÁN, R.; SALAZAR-ARANDA, R.; TORRES-CIRIO, A.; RIVAS-GALINDO, V. M.; DE TORRES, N. W.; GONZÁLEZ, G.; PÉREZ-LÓPEZ, L. A. Antimicrobial and antioxidant activities and chemical characterization of essential oils of *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*, and *Origanum majorana* from northeastern México. **Pak. J. Pharm. Sci.**, v. 28, n.1, p.363-369, 2015.

KANDI, S.; GODISHALA, V.; RAO, R.; RAMANA, K. V. Biomedical significance of terpenes: an insight. **Biomed Biotechnol**, v. 3, p. 8-10, 2015.

KHOSRAVI, A. R.; SHOKRI, H.; VAHEDI, G. Factors in etiology and predisposition of adult tinea capitis and review of published literature. **Mycopathologia**, v. 181, n. 5-6, p. 371-378, 2016.

KOLACZKOWSKI, M.; MICHALAK, K; MOTOHASHI, N. Phenothiazines as potent modulators of yeast multidrug resistance. **International Journal of Antimicrobial Agents**. n. 22, p. 279-283, 2003.

LAZNIK, Ž.; TRDAN, S. Attraction behaviors of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) to synthetic volatiles emitted by insect damaged potato tubers. **Journal of chemical ecology**, v. 89, n. 4, p. 977–984, 2016.

LEAL PINTO, S. M.; HERRERA SANDOVAL, L. V.; VARGAS, L. Y. In vitro susceptibility of *Microsporum* spp. and mammalian cells to *Eugenia caryophyllus* Essential oil, eugenol and semisynthetic derivatives. **Mycoses**, v. 62, n. 1, p. 41-50, 2019.

LEITE JUNIOR, D. P.; AMADIO, J. V. R. S.; SIMÕES, S. A. A.; ARAÚJO, S. M.; SILVA, N. M. R.; ANZAI, M. C.; HAHN, R. C. Dermatophytosis in military in the central-west region of Brazil: literature review. **Mycopathologia**, v. 177, n. 1-2, p. 65-74, 2014.

LEWIS, R. E.; DIEKEMA, D. J.; MESSER, S. A.; PFALLER, M. A.; KLEPSE M. E. Comparison of Etest, chequerboard dilution and time–kill studies for the detection of synergy or antagonism between antifungal agents tested against *Candida* species. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 49, p. 345–351, 2002.

LOPES, G.; PINTO, E.; SALGUEIRO, L. Natural products: an alternative to conventional therapy for dermatophytosis?. **Mycopathologia**, v. 182, n. 1-2, p. 143-167, 2017.

MACEDO, E. M. A.; SANTOS, W. C.; SOUSA NETO, B. P.; LOPES, E. M.; PIAUILINO, C. A.; CUNHA, F. V. M.; SOUSA, D. P.; OLIVEIRA, F. A.; ALMEIDA, F. R. C. Association of terpinolene and diclofenac presents antinociceptive and anti-inflammatory synergistic effects in a model of chronic inflammation. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 49, n. 7, 2016.

MAO, L.; ZHANG, L.; LI, H.; CHEN, W.; WANG, H.; WU, S.; GUO, C.; LU, A.; YANG, G.; AN, L.; ABLIZ, P.; MENGA, G. Pathogenic fungus *Microsporium canis* activates the NLRP3 inflammasome. **Infection and immunity**, v. 82, n. 2, p. 882-892, 2014.

MARTINS, M. P. **Expressão Comparativa de Genes em Dermatófitos durante o Processo de Interação com Moléculas do Hospedeiro e em Resposta a Agentes Antifúngicos**. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP. 2015. 157 f.

MICELI, M. H.; DÍAZ, J. A.; LEE, S. A. Emerging opportunistic yeast infections. **Lancet Infectious Diseases**, v. 11, p. 142-151, 2011.

MICROSPORUM. **Mycology online**, 2019. Disponível em: < <https://tecnoblog.net/247956/referencia-site-abnt-artigos/> >. Acesso em: 06 de dez. de 2019.

MIRON, D.; BATTISTI, F.; SILVA, F. K.; LANA, A. D.; PIPPI, B.; CASANOVA, B.; GNOATTO, S.; FUENTEFRÍA, A.; MAYORGA, P.; SCHAPOVAL, E. E. S. Antifungal activity and mechanism of action of monoterpenes against dermatophytes and yeasts. **Revista Brasileira de farmacognosia**, v. 24, n. 6, p. 660-667, 2014.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 3, p. 461-77, 2007.

PASQUETTI, M.; MIN, A. R. M.; SCACCHETTI, S.; DOGLIERO, A.; PEANO, A. Infection by *Microsporium canis* in Paediatric Patients: A Veterinary Perspective. **Veterinary sciences**, v. 4, n. 3, p. 46, 2017.

PERES, N. T. A.; MARANHÃO, F. C. A.; ROSSI, A.; MARTINEZ-ROSSI, N. M. Dermatophytes: Host-pathogen interaction and antifungal resistance. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, p. 657-67, 2010.

PRASAD, R.; RAWAL, M. K. Efflux pump proteins in antifungal resistance. **Frontiers in pharmacology**, v. 5, p. 202, 2014.

RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 250-264, 2014.

REZENDE, C.; SEGURA, R.; RIVA, S. B. M.; CASTRO, V. C. O. MECANISMOS DE AÇÃO DOS ANTIFÚNGICOS. **Revista UNIFEV: Ciência & Tecnologia**, v. 2, p. 222-236, 2017.

SAHOO, A. K.; MAHAJAN, R. Management of tinea corporis, tinea cruris, and tinea pedis: A comprehensive review. *Indian Dermatol Online J.* v. 7, n.2, p. 77–86, 2016.

SANTOS, D. A.; BARROS, M. E. S.; HAMDAN, J. S. Establishing a method of inoculum preparation for susceptibility testing of *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 1, p. 98-101, 2006.

SANTOS, D. A.; HAMDAN, J. S. Evaluation of Broth Microdilution Antifungal Susceptibility Testing Conditions for *Trichophyton rubrum*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 4, p. 1917-1920, 2005.

SCORZONI, L.; PAULA E SILVA, A. C. A.; MARCOS, C. M.; ASSATO, P. A.; DE MELO, W. C. M. A.; DE OLIVEIRA, H. C.; COSTA-ORLANDI, C. B.; MENDESGIANNINI, M. J. S.; FUSCO-ALMEIDA, A. M. Antifungal therapy: new advances in the understanding and treatment of mycosis. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 36, 2017.

SHANTAPPA, S.; DHINGRA, S.; HERNÁNDEZ-ORTIZ, P.; ESPESO, E. A.; CALVO, A. M. Role of the zinc finger transcription factor SltA in morphogenesis and sterigmatocystin biosynthesis in the fungus *Aspergillus nidulans*. **PLoS One**, v. 8, n. 7, p. e68492, 2013.

SHARMA, A.; SHARMA, V.; KUMAWAT, T. K.; SETH, R. A review on antidermatophytic efficiency of plant essential oils. **Int. J. Pure Appl. Biosci**, v. 2, n. 6, p. 265-278, 2014.

SILVA-ROCHA, W. P.; DE AZEVEDO, M. F.; CHAVES, G. M. Epidemiology and fungal species distribution of superficial mycoses in Northeast Brazil. **Journal de mycologie medicale**, v. 27, n. 1, p. 57-64, 2017.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER. Óleos voláteis. In: **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 6. ed, 2007.

SINGH, A.; MASIH, A.; KHURANA, A.; SINGH, P. K.; GUPTA, M.; HAGEN, F.; MEIS, J. F.; CHOWDHARY, A. High terbinafine resistance in *Trichophyton interdigitale* isolates in Delhi, India harbouring mutations in the Squalene epoxidase (SQLE) gene. **Mycoses**, p.1-8, 2018.

SOARES, L.A.; SARDI, J. C. O.; GULLO, F. P.; PITANGUI, N. S.; SCORZONI, L.; LEITE, F. S.; GIANNINI, M. J. S. M.; ALMEIDA, A. M. F. Anti dermatophytic therapy: prospects for the discovery of new drugs from natural products. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 4, p. 1035-1041, 2013.

SOUZA, E. L.; BARROS, J. C.; OLIVEIRA, C. E. V.; CONCEIÇÃO, M. L. Influence of *Origanum vulgare* L. essential oil on enterotoxin production, membrane permeability and surface characteristics of *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Food Microbiology**. v. 137, p. 308–311, 2010.

SOWNDHARARAJAN, K.; CHO, H.; YU, B.; KIM, S. Effect of olfactory stimulation of isomeric aroma compounds, (+)-limonene and terpinolene on human

electroencephalographic activity. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 7, n. 6, p. 561-566, 2015.

SWAMY, M. K.; AKHTAR, M. S.; SINNIHAH, U. R. Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: an updated review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016, p. 1-21, 2016.

SWAMY, M. K.; AKHTAR, M. S.; SINNIHAH, U. R. Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: an updated review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016, p. 1-21, 2016.

TEGOS, G. P.; HAYNES, M.; STROUSE, J. J.; KHAN, M. M.; BOLOGA, C. G.; OPREA, T. I.; SKLAR, L. A. Microbial efflux pump inhibition: tactics and strategies. **Current Pharmaceutical Design**. v. 17, n. 13, p. 1291-1302, 2011.

TERBINAFINE HYDROCHLORIDE. **Merck**, 2019. Disponível em: <<https://tecnoblog.net/247956/referencia-site-abnt-artigos/>>. Acesso em: 7 de dez. de 2019.

TERPINOLENE. **Merck**, 2019. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/terpinolene1362358662911?lang=pt®ion=BR>>. Acesso em: 7 de dez. de 2019.

TURKEZ, H.; AYDIN, E.; GEYIKOGLU, F.; CETIN, D. Genotoxic and oxidative damage potentials in human lymphocytes after exposure to terpinolene in vitro. **Cytotechnology**, v. 67, n. 3, p. 409-418, 2015.

UGHACHUKWU, P. O.; UNEKWE, P. C. Efflux pump-mediated resistance in chemotherapy. **Annals of Medical and Health Sciences Research**. v. 2, n. 2, p 191-198, 2012.

VANDEPUTTE, P.; FERRARI, S.; COSTE, A. T. Antifungal resistance and new strategies to control fungal infections. **International Journal of Microbiology**, v. 2012, p. 1-26, 2012.

VITALE, R. G.; AFELTRA, J.; MEIS, J. F.; VERWEIJ, P. E. Activity and post antifungal effect of chlorpromazine and trifluoperazine against *Aspergillus*, *Scedosporium* and zygomycetes. **Mycoses**. v. 50, n. 4, p. 270-276, 2007.

WHITE, T. C.; FINDLEY, K.; DAWSON JR., T. L.; SCHEYNIUS, A.; BOEKHOUT, T.; CUOMO, C. A.; XU, J.; SAUNDERS, C. W. Fungi on the skin: dermatophytes and Malassezia. **Cold spring harbor perspectives in medicine**, v. 4, n. 8, p. a019802, 2014.

WILLERS, C.; WENTZEL, J. F.; DU PLESSIS, L. H.; GOUWS, C.; HAMMAN, J. H. Efflux as a mechanism of antimicrobial drug resistance in clinical relevant microorganisms: the role of efflux inhibitors. **Expert opinion on therapeutic targets**, v. 21, n. 1, p. 23-36, 2016.

YAMADA, T.; MAEDA, M.; ALSHAHNI, M. M.; TANAKA, R.; YAGUCHI, T.; BONTEMS, O.; SALAMIN, K.; FRATTI, M.; MONOD, M. Terbinafine resistance of *Trichophyton* clinical isolates caused by specific point mutations in the squalene epoxidase gene. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 61, n. 7, p. e00115-17, 2017.

YANG, Y.; ZHENG, D.; ZHAO, Y.; WANG, T.; YANG, Y.; PEN, W. Analysis of Components in *Koelreuteria Paniculata*. **Caribbean Journal of Science**, v. 50, n. 1, p. 13-18, 2017.



Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2019 005468 9

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 2

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE - PB

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 05055128000176

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: AV. APRIGIO VELOSO, 882 - UNIVERSITÁRIO

Cidade: Campina Grande

Estado: PB

CEP: 58429900

País: Brasil

Telefone: (83) 2011601

Fax: (83) 21011601

Email: nitt@ufcg.edu.br

Nome: ÂNDERSON DE VASCONCELOS PINTO

CPF: 10942035488

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Estudante de Graduação

Endereço: Sítio Rapador

Cidade: Alagoa Grande

Estado: PB

CEP: 58388-000

País: BRASIL

Telefone: (83) 996 836 132

Fax:

Email: andersonpinto00@outlook.com

Inventor 4 de 6

Nome: JOSENILDO CÂNDIDO DE OLIVEIRA

CPF: 10341559466

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Estudante de Graduação

Endereço: Rua Ozael Ferreira de Melo, Nº 39

Cidade: Cuité

Estado: PB

CEP: 58175-000

País: BRASIL

Telefone: (83) 996 110 329

Fax:

Email: josenildooliver@rocketmail.com

Inventor 5 de 6

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): Dihidrojasmona como agente antifúngico e potencializador da ação de antifúngicos convencionais.

Resumo: A presente invenção descreve um processo para obtenção de produtos antifúngicos para controle de dermatofitoses em humanos e animais, sendo composta pelo produto natural dihidrojasmona e várias combinações de dihidrojasmona e terbinafina. O aparecimento de fungos resistentes impulsiona estudos com produtos naturais que podem se apresentar como novos agentes moduladores da sensibilidade fúngica. Assim, a associação de a associação de dihidrojasmona com terbinafina pode levar à redução de suas concentrações efetivas para inibição do crescimento fúngico e tratamento, o que seria um ganho para a saúde de seres humanos e animais. Portanto, a presente invenção oferece uma alternativa inovadora de um produto natural que apresenta atividade antifúngica na forma isolada e atividade sinérgica quando associada à terbinafina em concentrações subinibitórias.



Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2019 005476 0

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 2

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE - PB

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 05055128000176

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: AV. APRIGIO VELOSO, 882 - UNIVERSITÁRIO

Cidade: Campina Grande

Estado: PB

CEP: 58429900

País: Brasil

Telefone: (83) 2011601

Fax: (83) 21011601

Email: nitt@ufcg.edu.br

Nome: ÂNDERSON DE VASCONCELOS PINTO

CPF: 10942035488

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Estudante de Graduação

Endereço: Sitio Rapador

Cidade: Alagoa Grande

Estado: PB

CEP: 58388-000

País: BRASIL

Telefone: (83) 996 836 132

Fax:

Email: andersonpinto00@outlook.com

Inventor 4 de 6

Nome: JOSENILDO CÂNDIDO DE OLIVEIRA

CPF: 10341559466

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Estudante de Graduação

Endereço: Rua Ozael Ferreira de Melo, N° 39

Cidade: Cuité

Estado: PB

CEP: 58175-000

País: BRASIL

Telefone: (83) 996 110329

Fax:

Email: josenildooliver@rocketmail.com

Inventor 5 de 6

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): Terpinoleno como potencializador da ação de fármacos antifúngicos convencionais

Resumo: A presente invenção descreve um processo para obtenção de produtos antifúngicos para controle de dermatofitoses em humanos e animais, sendo composta pelo produto natural terpinoleno e várias combinações de terpinoleno e terbinafina. As dermatofitoses se apresentam como uma das micoses mais prevalentes em todo o mundo. Atualmente é relatado alto índice de resistência fúngica, o que justifica a busca de produtos naturais que possam se apresentar como novos agentes moduladores da ação de antifúngicos convencionais. Assim, a associação de terpinoleno com terbinafina pode levar à redução de suas concentrações efetivas para inibição do crescimento fúngico e tratamento. Portanto, a presente invenção oferece uma alternativa inovadora de um produto natural que apresenta atividade antifúngica na forma isolada e atividade sinérgica quando associada à terbinafina em concentrações subinibitórias.