

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E FOTODINÂMICA DE NOVOS COMPOSTOS MONOCURCUMINOIDES SINTÉTICOS

MILENA MATTES CERVEIRA¹; ANALICE BARCELLOS BALHEGO⁴, ANDRESSA DE OLIVEIRA BLANKE HELLWIG³, THOBIAS TONIOLI DE SOUZA⁴, JANICE LUEHRING GIONGO⁵; RODRIGO DE ALMEIDA VAUCHER⁶

¹*Universidade Federal de Pelotas – cerveiramm@gmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – analiceisabel@hotmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – andressa-banke@hotmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – thobias.toniolo@gmail.com*

⁵*Universidade Federal de Pelotas – janicegiongo@hotmail.com*

⁶*Universidade Federal de Pelotas – rodvaucher@hotmail.com*

1. INTRODUÇÃO

As infecções microbianas estão emergindo como um grande problema de saúde (MEDINA; PIEPER, 2016), devido a tratamentos recorrentes, utilização incorreta de fármacos, cirurgias e/ou sistema imunológico debilitado, não apenas colocando em risco a saúde do homem como também aumentando os custos de tratamento (COMISSION, 2011). Uma vez que os micro-organismos podem se tornar resistentes aos fármacos utilizadas para os tratamentos, estes se tornam por vezes inviáveis, e o patógeno pode persistir no hospedeiro, aumentando os riscos de saúde e de contaminação de terceiros (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018).

Como uma alternativa para a medicina tradicional, o estudo de fitoquímicos tem sido amplamente explorado (MODY; ATHAMNEH; SELEEM, 2020). A curcumina é um polifenol presente na cúrcuma, um tempero conhecido derivado da planta *Curcuma longa*, um rizoma indiano da família do gengibre (Zingiberacea) (FAROOQUI; FAROOQUI, 2019). Apesar de biologicamente ativa, a curcumina possui baixa biodisponibilidade devido a sua má absorção no organismo, necessitando de grandes doses diárias para obter uma boa resposta terapêutica e, consequentemente, aumentando os riscos de efeitos adversos como a toxicidade (TRIGO GUTIERREZ et al., 2017).

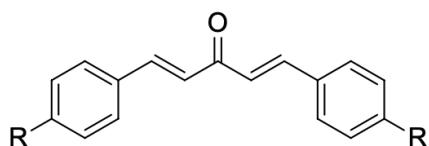
De forma a ultrapassar essas limitações, diferentes estratégias já foram propostas para melhorar a biodisponibilidade e bioatividade da curcumina, dentre elas a inserção em nanopartículas (KANG et al., 2020), o uso de adjuvantes terapêuticos (BOLAT et al., 2020) e as modificações na estrutura química (CARAPINA DA SILVA et al., 2019). Dessa forma, este trabalho teve como objetivo bestudar a atividade antimicrobiana e a atividade fotodinâmica de monocurcuminoides sintéticos através da avaliação em diferentes cepas de micro-organismos.

2. METODOLOGIA

Cinco compostos (CN 63, 58, CN 59, CN 67, CN 77 e POWDER) foram estudados, a partir da síntese de CARAPINA et al., (2019) (Figura 1) e previamente preparados em uma solução estoque de 1000 µM em 0.5% DMSO. A curcumina foi utilizada como controle positivo, e foi denominada como SIGMA. A cúrcuma, conhecida como tempero, e adquirida em comércio local, foi designada como POWDER. Para o estudo da atividade antimicrobiana, foram utilizadas as bactérias

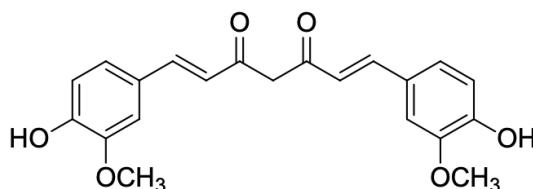
Aeromonas hydrophila (*A. hydrophila*) (isolado clínico), *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 8733, e uma levedura, *Candida albicans* (*C. albicans*) ATCC 24433, ajustadas para a concentração de 0.5 na escala McFarland de turbidez, equivalente a 1.5×10^8 CFU/mL.

A



CN 58: R = Cl
CN 59: R = CH₃
CN 63: R = OCH₃
CN 67: R = H
CN 77: R = F

B



Natural-occurring curcumin (Keto form)

Figura 1: Estrutura química dos monocurcuminoides (A) e da curcumina (B).

A determinação da Concentração Inibitória Mínima (MIC) foi realizada de acordo com a técnica de microdiluição, contendo 100 μ L de caldo Mueller-Hinton e 10 μ L do inóculo do micro-organismo, por 24h a 37°C. Considerou-se a MIC a menor concentração em que não houve crescimento. Os valores de MIC foram considerados de acordo com a bioatividade, como segue: sem bioatividade: MIC > 1000 μ g/ml; leve: MIC = 501 - 1000 μ g/ml; moderada: MIC = 126 - 500 μ g/ml; boa: MIC = 26 - 125 μ g/ml; forte: MIC = 10 - 25 μ g/ml; muito forte: MIC < 10 μ g/ml. Os testes foram realizados em duplicata.

A atividade fotodinâmica (aPDT) também foi executada de acordo com a técnica de microdiluição. Os compostos foram testados nas concentrações da MIC, 2x MIC e $\frac{1}{2}$ MIC, em 100 μ L de caldo Mueller-Hinton e 10 μ L do inóculo. As amostras foram mantidas, inicialmente, a 30 min no escuro, a temperatura ambiente, seguido de 30 min de exposição a luz ultravioleta (< 300 nm), e subsequente foram incubadas a 37°C por 24h. Foram adicionados de 50 μ L de TTC (5 mg/mL) e manteve-se uma incubação de 37°C por 1h e posterior leitura a 540 nm. Os testes foram realizados em duplicata.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os compostos testados apresentaram atividade antimicrobiana, como demonstrado na Tabela 1. Os valores de MIC variaram entre muito fortes a inexistentes. A cúrcuma comercial apresentou o mesmo valor de MIC para as três cepas de micro-organismos. Ainda que maiores que o controle positivo (SIGMA), confirma a presença da atividade antimicrobiana presente no tempero. Até o momento da realização dos estudos, não foram encontrados valores de referência na literatura para os compostos monocurcuminoides testados neste estudo.

Tabela 1 – Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos diferentes compostos nos micro-organismos ($\mu\text{g/mL}$)

Micro- -organismo	Tratamentos					
	CN 59	CN 63	CN 67	CN 77	SIGMA	POWDER
<i>A. Hydrophila</i>	nf*	nf*	3.75	35	11.25	37.5
<i>E. coli</i>	130	4.69	30	130	11.25	37.5
<i>C. albicans</i>	4.06	4.69	60	140	22.5	37.5

*nf: valor não encontrado dentro das concentrações testadas

A aPDT demonstrou resultados interessantes. Por um lado, alguns compostos foram capazes de quase abolir o crescimento de micro-organismos em conjunto com a luz ultravioleta, como demonstrado para *E. coli* na Figura 2. De acordo com DE OLIVEIRA et al. (2018), a combinação de curcumina com a luz UV-A reduziu a contaminação cruzada de *E. coli* em 5 log CFU/mL. ZHENG et al. (2020) reportaram que a curcumina é um composto que, quando exposto a luz azul, pode exercer efeito bactericida, interferindo no sistema *quórum sensing*. No entanto, o tratamento de *C. albicans* com CN 63 em todas as concentrações favoreceu o crescimento comparado ao grupo controle, como ocorreu para *A. hydrophila* no tratamento com 1x MIC de SIGMA. Compostos com propriedades antioxidantes podem aumentar o crescimento microbiano, pois agem como uma barreira contra a luz ultravioleta (DE OLIVEIRA et al., 2018).

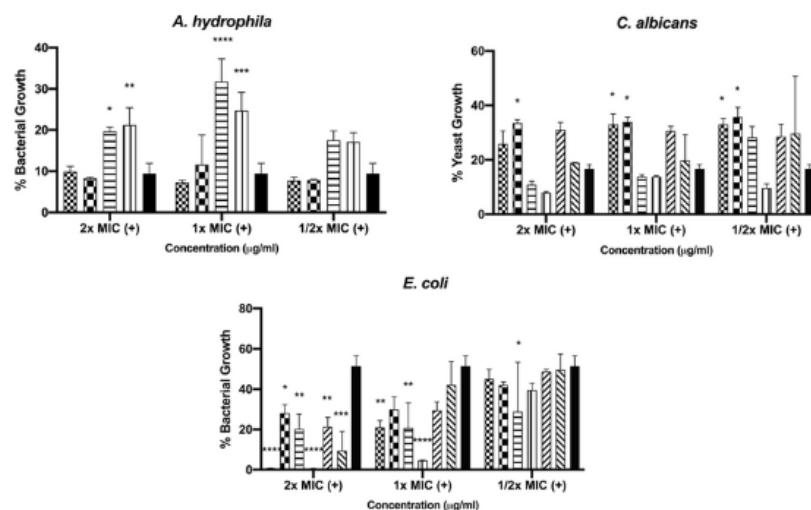


Figura 2: Terapia fotodinâmica utilizando luz ultravioleta (< 300 nm).

4. CONCLUSÕES

Os testes microbiológicos demonstraram uma boa atividade dos monocurcumoides frente a diferentes micro-organismos, indicando um amplo espectro de ação, e a atividade fotodinâmica foi satisfatória para algumas cepas, especialmente para o impedimento do crescimento de *E. coli*.

Somado a isso, até o momento da realização dos estudos, não foram encontrados outros artigos na literatura que avaliassem a atividade antimicrobiana dessas moléculas, indicando um estudo inédito e de alto impacto, visto que as moléculas apresentaram um efeito promissor frente a um grande problema de saúde pública.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOLAT, Zeynep Busra et al. Curcumin- and Piperine-Loaded Emulsomes as Combinational Treatment Approach Enhance the Anticancer Activity of Curcumin on HCT116 Colorectal Cancer Model. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, [s. l.], v. 8, n. February, p. 1–21, 2020.
- CARAPINA DA SILVA, Caroline et al. Antiparasitic activity of synthetic curcumin monocarbonyl analogues against *Trichomonas vaginalis*. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 111, n. December 2018, p. 367–377, 2019.
- COMISSION, EUROPEAN. Plano de ação contra a ameaça crescente da resistência antimicrobiana COM 748 (2011). Brussels. Disponível em: <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A52011DC0748>>. Acesso em: 29 jul. 2022.
- DE OLIVEIRA, Erick F. et al. Antimicrobial activity of curcumin in combination with light against *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria innocua*: Applications for fresh produce sanitation. **Postharvest Biology and Technology**, [s. l.], v. 137, p. 86–94, 2018.
- FAROOQUI, Tahira; Akhlaq A. Farooqui. Curcumin: Historical Background, Chemistry, Pharmacological Action, and Potential Therapeutic Value. **Curcumin for Neurological and Psychiatric Disorders**, [s. l.], p. 23–44, 2019.
- MEDINA, Eva; PIEPER, Dietmar Helmut. Tackling threats and future problems of multidrug-resistant bacteria. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, [s. l.], v. 398, p. 3–33, 2016.
- MODY, Deepansh; ATHAMNEH, Ahmad I. M.; SELEEM, Mohamed N. Curcumin: A natural derivative with antibacterial activity against *Clostridium difficile*. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, [s. l.], v. 21, p. 154–161, 2020.
- TRIGO GUTIERREZ, Jeffersson Krishan et al. Encapsulation of curcumin in polymeric nanoparticles for antimicrobial Photodynamic Therapy. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 12, n. 11, 2017.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Antimicrobial resistance**. 2018. Disponível em: <<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>>. Acesso em: 23 jul. 2022.
- ZHENG, Dantong et al. Antibacterial Mechanism of Curcumin: A Review. **Chemistry & Biodiversity**, [s. l.], v. 17, n. 8, 2020.