

## USO DE TIOSSULFONATOS SINTÉTICOS COMO ALTERNATIVA TERAPÊUTICA PARA *Sporothrix brasiliensis*: ESTUDO *IN VITRO*

ISABELA DE SOUZA MORALES<sup>1</sup>; MARCELA BRANDÃO COSTA<sup>2</sup>; GLÁUCIA OLIVEIRA ISLABÃO<sup>3</sup>; JULIANO ALEX ROHERS<sup>4</sup>; ANGELITA DOS REIS GOMES<sup>5</sup>; RENATA OSÓRIO DE FARIA<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [isabelasmorales99@gmail.com](mailto:isabelasmorales99@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [marcelabc@hotmail.com.br](mailto:marcelabc@hotmail.com.br)

<sup>3</sup>Instituto Federal Sul-rio-grandense – [glauciaislabao@ifsul.edu.br](mailto:glauciaislabao@ifsul.edu.br)

<sup>4</sup>Instituto Federal Sul-rio-grandense - [julianoroehrs@ifsul.edu.br](mailto:julianoroehrs@ifsul.edu.br)

<sup>5</sup> Universidade Federal de Pelotas– [angelitagomes@gmail.com](mailto:angelitagomes@gmail.com)

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas– [renataosoriovet@gmail.com](mailto:renataosoriovet@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma micose zoonótica causada por fungos do complexo *Sporothrix schenckii* e acomete seres humanos e animais. Dentro desse complexo, *Sporothrix brasiliensis* tem emergido como a espécie de maior relevância epidemiológica devido à sua adaptação aos felinos, sendo o principal agente envolvido em surtos no Brasil (GREMIÃO et al., 2020). Na região Sul, a doença é considerada endêmica e sua distribuição crescente configura um desafio importante para a saúde pública (RODRIGUES et al., 2022; SANTOS et al., 2024).

A principal via de transmissão da esporotricose ocorre por meio da inoculação traumática do fungo através de mordidas e arranhões de gatos, considerados hospedeiros amplificadores da doença (LECCA et al. 2020, PAIVA et al, 2020). O antifúngico de eleição para o tratamento é o itraconazol, que é eficaz e amplamente utilizado na rotina clínica. Entretanto, seu uso exige administração prolongada, o que torna o tratamento oneroso e, em alguns casos, leva à ocorrência de refratariedade clínica, seja por falhas de absorção, imunossupressão ou baixa adesão terapêutica. Além disso, o uso contínuo favorece a seleção de cepas com resistência farmacológica, já documentada em *S. brasiliensis*, o que reforça a necessidade de alternativas terapêuticas seguras, eficazes e acessíveis (MAHAJAN, 2014, RODRIGUES et al., 2022).

Os tiosulfonatos são compostos presentes em plantas como alho, cebola e couve e destacam-se por suas propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias. Estruturalmente, esses compostos podem ser sintetizados em laboratório a um baixo custo, a partir da fórmula geral RS-O2-SR (LUBENETS et al., 2019). Os análogos sintéticos desses compostos possuem alta atividade antimicrobiana, associada à sulfenilação de grupos tiol em enzimas microbianas essenciais. Além disso, os tiosulfonatos apresentam baixa toxicidade em células animais, podendo representar uma alternativa para o tratamento de infecções fúngicas tanto superficiais quanto sistêmicas (SORLOZANO-PUERTO et al., 2020; FALCÓN-PIÑERO et al., 2021).

Diante desse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antifúngica *in vitro* de três derivados sintéticos de tiosulfonatos frente a isolados de *S. brasiliensis*. Ainda, foi realizada a análise da citotoxicidade em células animais, visando verificar a segurança dos compostos associada às doses terapêuticas.

## **2. METODOLOGIA**

### **2.1 Síntese e diluição dos compostos tiosulfonatos**

Foram avaliados três compostos (T5, T6 e T11) sintetizados no Laboratório de Química Orgânica do Instituto Federal Sul-Rio-Grandense. Os compostos foram solubilizados em DMSO e diluídos em meio RPMI-1640 (*Roswell Park Memorial Institute Medium*, Sigma-Aldrich<sup>®</sup>) até a obtenção das concentrações de teste. Foram contempladas dez diluições seriadas, variando de 25 µg/mL (poço 1) a 0,04 µg/mL (poço 10).

### **2.2 Preparação dos inóculos e teste de suscetibilidade**

Foram utilizados 19 isolados de *Sporothrix brasiliensis* armazenados na micoteca do Laboratório de Micologia Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (MicVet – UFPel), 16 oriundos de felinos, dois caninos e um humano.

Os testes seguiram o método de microdiluição em caldo padronizado pelo documento M38-A2 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2008) com adaptações para *Sporothrix sp.*, como segue: para o preparo do inóculo, as colônias foram cultivadas em ágar Cérebro-Coração (BHI, BBL<sup>TM</sup>) a 37 °C por 5 dias, suspensas em solução salina estéril e ajustadas à escala 0,5 de McFarland ( $\approx 1-5 \times 10^6$  UFC/mL) por espectrofotometria a 530 nm (80–82% T; 0,09–0,11 A). As suspensões foram então diluídas em caldo RPMI (1:50) antes da distribuição em microplacas de 96 poços.

Os ensaios foram conduzidos em triplicata, com diluições seriadas dos fármacos e adição do inóculo. As placas foram incubadas a 37 °C por 48 h, sendo a concentração inibitória mínima (CIM) determinada por leitura visual. Para a concentração fungicida mínima (CFM), alíquotas dos poços correspondentes foram semeadas em ágar Sabouraud-Dextrose (BBL<sup>TM</sup>) e incubadas a 37 °C por até 72 h. O itraconazol (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>) foi utilizado como controle positivo nas concentrações de 0,03–16 µg/mL (WALLER et al., 2021).

### **2.3 Teste de citotoxicidade**

A viabilidade celular foi avaliada em células CRFK (epitélio renal felino) e L929 (fibroblastos murinos), cultivadas em microplacas de 96 poços, pelo método de Mosmann (1983). O composto T11 foi testado em 11 concentrações seriadas, diluído em Meio Essencial Mínimo (MEM; Sigma-Aldrich<sup>®</sup>). As placas foram incubadas a 35 °C, 5% CO<sub>2</sub>, por 24 h, e a absorbância medida a 490 nm em leitora de microplacas. Considerou-se viabilidade celular adequada quando  $\geq 90\%$ .

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os derivados de tiosulfonatos T5, T6 e T11 apresentaram atividade antifúngica contra *Sporothrix brasiliensis*, com a concentração capaz de inibir 50% dos isolados (CIM<sub>50</sub>) variando entre 0,78–1,56 µg/mL, conforme observado na Tabela 1. A concentração mínima para inibição de 90% dos isolados (CIM<sub>90</sub>) foi

superior a 25 µg/mL, o que indica eficácia limitada frente a isolados resistentes. Ainda assim, os compostos destacaram-se pelo perfil fungicida, especialmente T11, que apresentou CFM equivalente à CIM em 63% dos isolados.

Tabela 1 – CIM<sup>50</sup> e CIM<sup>90</sup> dos compostos T5, T6, T11 e do controle Itraconazol frente a isolados de *Sporothrix brasiliensis*

Composto	CIM50 (µg/mL)	CIM90 (µg/mL)
Itraconazol	0,25 – 0,5	4
T11	~0,78	>25
T6	~1,56	>25
T5	~1,56	>25

Quando comparados ao itraconazol, que apresentou maior potência (CIM<sub>50</sub>= 0,25–0,5 µg/mL; CIM<sub>90</sub> = 4 µg/mL), os tiosulfonatos mostraram menor abrangência, mas não deixam de representar uma alternativa promissora, especialmente considerando a diversidade estrutural dessa classe química e a possibilidade de otimização de radicais com impacto direto sobre a bioatividade (BOLIBRUKH et al., 2015; LUBENETS et al., 2019). Estudos prévios já indicaram que esses compostos podem interagir com enzimas dependentes de tiol e induzir estresse oxidativo, sugerindo múltiplos mecanismos de ação, como perturbação de membranas e interferência na biossíntese de ergosterol, semelhantes ou complementares aos azóis (CAPUOZOÒ et al., 2017; LUBENETS et al., 2018). Além disso, a ação antimicrobiana já observada em isolados sensíveis pode ser potencializada através do uso combinado com itraconazol e outros antifúngicos já estabelecidos no mercado, através da técnica de sinergismo (BIDAUD et al., 2021; CORDISCO et al., 2024).

A análise de citotoxicidade de T11 demonstrou que 50% da viabilidade celular (IC<sub>50</sub>) foi reduzida em concentrações superiores às concentrações inibitórias, o que sugere compatibilidade com o uso terapêutico inicial. No entanto, é fundamental a realização de testes *in vivo* para avaliar aspectos relacionados à farmacocinética, segurança e eficácia dos compostos.

Embora a eficácia frente a isolados resistentes permaneça como limitação, os tiosulfonatos destacam-se como antifúngicos alternativos, sobretudo T11, visto que agentes farmacológicos fungicidas estão associados a melhores resultados clínicos no tratamento de infecções sistêmicas. Ainda assim, são necessários estudos mais aprofundados sobre o mecanismo de ação desses compostos, além de testes de combinação e estudos pré-clínicos abrangentes.

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados observados evidenciam o potencial antifúngico dos compostos T5, T6 e T11 frente a *Sporothrix brasiliensis*, com destaque para a atividade fungicida e perfil de citotoxicidade compatível com o uso terapêutico apresentado por T11. Ainda que os valores elevados de CIM<sub>90</sub> demonstrem limitação no seu uso isolado contra cepas resistentes, os tiosulfonatos configuram uma nova perspectiva para o tratamento da esporotricose, desde que submetidos a estudos

mais específicos, como testes de sinergismo e ensaios *in vivo* que confirmem sua aplicabilidade clínica.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIDAUD, A. et al. Techniques for the assessment of in vitro and in vivo antifungal combinations. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 2, p. 113, 2021.
- BOLIBRUKH, K., POLOVKOVYCH, S., KHOUMERI, O., et al. (2015). Synthesis and anti-platelet activity of thiosulfonate derivatives containing quinone moiety. **Scientia Pharmaceutica**, 83(2), 221-231. <https://doi.org/10.3797/scipharm.1411-14>
- CORDISCO, E. et al. Combined Antifungal Effect of Plant Extracts and Itraconazole Against *Candida albicans*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 34, n. 1, p. 102-110, 2024.
- FALCÓN-PIÑERO, A. et al. Antifungal activity of propyl-propane-thiosulfinate (PTS) and propyl-propane-thiosulfonate (PTSO) from *Allium cepa* against *Verticillium dahliae*: In vitro and in planta assays. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 9, p. 736, 2021.
- GREMIÃO, I. D. F. et al. Guideline for the management of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* and literature revision. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 107–124, 1 mar. 2020.
- LECCA, L. O. et al. Associated factors and spatial patterns of the epidemic sporotrichosis in a high density human populated area: a cross-sectional study from 2016 to 2018. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 176, p. 104939, 2020.
- LUBENETS, V., HAVRYLIAK, V., PYLYPETS, A., & NAKONECHNA, A. (2018). Changes in the spectrum of proteins and phospholipids in tissues of rats exposed to thiosulfonates. **Regulatory Mechanisms in Biosystems**, 9(4), 495–500. <https://doi.org/10.15421/021874>
- LUBENETS, V.; STADNYTSKA, N.; BARANOVYCH, D. et al. Thiosulfonates: The Prospective Substances against Fungal Infections. In: LORETO, E.S.; Tondo, J.S.M. **Fungal Infection**. Londres: IntechOpen, 2019. Cap. 6, p. 1204-1239.
- MAHAJAN, Vikram K. Sporotrichosis: an overview and therapeutic options. **Dermatology Research and Practice**, v. 2014, n. 1, p. 272376, 2014.
- PAIVA, M. T. et al. Spatial association between sporotrichosis in cats and in human during a Brazilian epidemics. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 183, p. 105125, 2020.
- RODRIGUES, A. M.; GONÇALVES, S. S.; DE CARVALHO, J. A.; BORBA-SANTOS, L. P.; ROZENTAL, S.; CAMARGO, Z. P. D. Current progress on epidemiology, diagnosis, and treatment of sporotrichosis and their future trends. **Journal of Fungi**, Basel, v. 8, n. 8, p. 776, 2022.
- SANTOS, A. R.; MISAS, E.; MIN, B. et al. Emergence of zoonotic sporotrichosis in Brazil: a genomic epidemiology study. **Lancet Microbe**, Londres, v. 5, p. e282–e290, 2024.
- SORLOZANO-PUERTO, A. et al. Antibacterial and antifungal activity of propyl-propane-thiosulfinate and propyl-propane-thiosulfonate, two organosulfur compounds from *Allium cepa*: In vitro antimicrobial effect via the gas phase. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 1, p. 21, 2020.
- WALLER, S. B. et al. Susceptibility and resistance of *Sporothrix brasiliensis* to branded and compounded itraconazole formulations. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 1, p. 155-162, 2021.