

Avaliação da sensibilidade de cepas de *Malassezia furfur* a imidas cíclicas

Edeltrudes de Oliveira Lima^{1*}, Lindomar F. Belém¹, Valdir Cechinel Filho², Rogério Corrêa²,
Ricardo J. Nunes³, Adriano Andricopulo³, Victor E. da Silva⁴

¹Laboratório de Micologia, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, ²Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas (NIQFAR), Universidade do Vale do Itajaí, ³Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, ⁴Laboratório de Microbiologia y Micologia/Facultad de Medicine, Universidad de Chile

Malassezia furfur (*Pityrosporum orbiculare*) é um fungo lipofílico, que está associado a pitiríase versicolor, foliculite, dermatite seborréica e atópica, fungemia e infecções sistêmicas. O tratamento é feito com soluções antimicóticas ou derivados imidazólicos, particularmente, o cetoconazol. Dentro das perspectivas de avaliação de novas alternativas para a terapêutica das infecções micóticas, determinou-se, nesse estudo, a atividade antifúngica de compostos imídicos. As imidas 3,4-dicloro-N-fenil-maleimida (6,3 µg/ml), 3,4-dicloro-N-benzil-maleimida (25 µg/ml) e 3,4-dicloro-N-fenil-propil-maleimida (20 µg/ml) foram os compostos que apresentaram melhor atividade inibitória contra as cepas de *M. furfur*.

Unitermos:

- *Malassezia furfur*
- Pitiríase versicolor
- Imidas

*Correspondência:

E.O.Lima.
Laboratório de Micologia
Departamento de Ciências
Farmacêuticas
Centro de Ciências da Saúde
Universidade Federal da Paraíba
58.059-9000 – Campus Universitário I
– João Pessoa-PB
E-mail: coordfar@ccs.ufpb.br

INTRODUÇÃO

O fungo *Malassezia furfur* (Robbin) Baillon, 1889 (*Pityrosporum orbiculare* Sabouraud) é um micorganismo lipofílico, considerado como agente etiológico da pitiríase versicolor (Dorn; Rohenert, 1977; Lacaz; Nagao, 1983; Leeming; Notman, 1987; Nogueira *et al.*, 1988; Guého *et al.*, 1996). Também, pode estar associado à foliculite, dermatite seborréica e atópica, psoríase, fungemia e infecções sistêmicas (Lopes *et al.*, 1994). É uma levedura que requer lipídio para seu desenvolvimento e faz parte da microbiota cutânea normal e do couro cabeludo (Faergemann; Fredriksson, 1979; 1980). A micose se caracteriza, clinicamente, como máculas bem delimitadas, descamação furfurácea e de cor variável, apresentando lesões hipocrômicas ou hiperocrômicas, isoladas ou conflu-

entes (Nogueira *et al.*, 1988; Esteves *et al.*, 1990; Borelli *et al.*, 1991). Estas lesões localizam-se com maior frequência no tronco, membros superiores, pescoço, couro cabeludo, áreas mais ricas em glândulas sebáceas e, também, nas unhas (Burke, 1961; Abraham *et al.*, 1987; Nogueira, *et al.*, 1988; Esteves *et al.*, 1990; Silva *et al.*, 1995).

A patogenicidade de *M. furfur*, geralmente, está relacionada com fatores predisponentes endógenos ou exógenos (Dom; Rohenert, 1977; Nogueira, 1988). Tais fatores incluem clima quente e úmido, que favorece a hiperoleosidade e a hiperidratação, predisposição genética (Faergemann; Fredriksson, 1979), má nutrição, avitaminoses, distúrbios endócrinos, uso de corticóides, gravidez e síndrome da deficiência imunológica adquirida - MDS (Burke, 1961; Faergemann, Fredriksson, 1979, 1980; Sodre, 1984; Nogueira *et al.*, 1988).

O diagnóstico da micose é realizado pela avaliação

do aspecto clínico das lesões e do diagnóstico micológico, por meio de exame direto e cultura do material biológico do paciente portador de pitiríase versicolor. A identificação do fungo é feita por meio dos parâmetros micromorfológicos das estruturas fúngicas e macromorfológicos das colônias, e também das provas fisiológicas incluindo reação de catalase, “teste de assimilação e precipitação com diferentes Tweens”, hidrólise de uréia, assimilação e fermentação de hidratos de carbono (Slooff, 1971; Crissey *et al.*, 1995; Silva *et al.*, 1996a; Guillot *et al.*, 1996).

A terapêutica da pitiríase versicolor ainda é feita com solução aquosa de hipossulfito de sódio a 40%, ácido tartárico a 3% ou com a associação de enxofre e ácido salicílico na concentração de 2 a 3%. E nas formas superficiais rebeldes e disseminadas da micose, o tratamento é feito com os derivados imidazólicos, particularmente, o cetoconazol. Também, tem se obtido êxito com fluconazol e itraconazol (Lacaz *et al.*, 1991; Crissey *et al.*, 1995;). Assim, há várias classes de fármacos eficazes na terapêutica tópica das infecções fúngicas superficiais, entre elas, a pitiríase versicolor. No entanto, esses produtos podem apresentar algumas desvantagens. Alguns são cosmeticamente desagradáveis, outros requerem aplicação estritamente regular, além de estarem associados a recidivas da micose e diversos efeitos adversos ao paciente (Barlow, 1976; Borelli *et al.*, 1991; Aste *et al.*, 1991), porém são tratamentos bastante onerosos.

O número de infecções causadas por fungos tem-se elevado a partir de 1980, como também as alternativas para o seu tratamento. Portanto, há necessidade de estudos envolvendo novos produtos que possam ser eficientes e utilizados como alternativa para a terapêutica das infecções fúngicas como aquela causada por *M. furfur*, considerado, na atualidade, microrganismo emergente (Aste *et al.*, 1991; Graybill, 1992; Hazen, 1995). Nesse sentido, tem sido estudada a atividade antifúngica de várias classes de compostos químicos, naturais ou seus modelos sintéticos, como alcalóides, flavonóides, taninos, saponinas, diterpenos, cumarinas e imidas sobre fungos filamentosos e leveduriformes (Giesbrecht *et al.*, 1987; Pathak *et al.*, 1991; Paulo *et al.*, 1992; Perrv; Foster, 1994; Favel *et al.*, 1994; Quetin-Leclerq *et al.*, 1995; Burapadaja; Bunchoo, 1995; Cechinel Filho, *et al.*, 1996).

Nos últimos anos, com o desenvolvimento das pesquisas nas áreas de química e farmacologia de plantas medicinais, tem sido viável elucidar de forma precisa e eficaz as estruturas moleculares de seus constituintes bioativos. Esse fato é importante, pois o interesse dos pesquisadores vem crescendo consideravelmente pelo grupo dos compostos sintéticos, em especial, daqueles que são análogos ou derivados dos metabólicos secundários

isolados de plantas e que podem ser utilizados na produção de fármacos seguros e eficientes (Cechinel Filho, Yunes, 1998). Confirmando estas investigações, estudos anteriores realizados com imidas cíclicas mostraram que vários compostos pertinentes a esta classe são eficazes contra distintos microrganismos patogênicos e oportunistas (Cechinel Filho *et al.*, 1994, 1996; Corrêa *et al.*, 1997; Andricopulo *et al.*, 1998; Lima *et al.*, 1999). No presente estudo, determinou-se atividade antifúngica de compostos imídicos incluindo maleimidas, naftalimidas e succinimidas contra *M. furfur*.

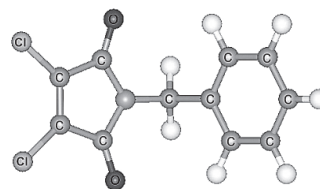
MATERIAL E MÉTODOS

Substâncias

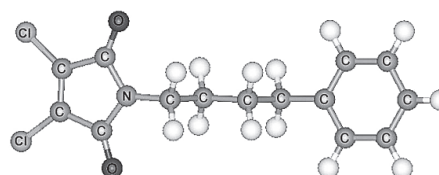
Foram selecionadas dez substâncias sintéticas – imidas cíclicas, cinco maleimidas: 3,4-dicloro-*N*-benzil-maleimida, 3,4-dicloro-*N*-fenil-butyl-maleimida, 3,4-dicloro-*N*-fenetil-maleimida, 3,4-dicloro-*N*-fenil-maleimida, 3,4-dicloro-*N*-fenil-propil-maleimida; duas naftalimidas: *bis-N*-benzil-naftalimida e *N*-fenil-naftalimida; três succinimidas: *N*-benzil-2 α ,6 α -diclorobicyclo[2.2.1]-hepta-4-eno[5,6-*C*]-succinimida; *N*-fenil-2 α , 6 α -di-clorobicyclo[2.2.1]-hepta-4-eno-[5,6-*C*]-succinimida e *N*-fenil-norborneno-succinimida. Tais compostos foram empregados em concentrações que variaram de 200 a 6,3 $\mu\text{g/mL}$ e solubilizados em 0,3 mL de dimetilsulfóxido (DMSO), equivalente a 10% do soluto, para que não houvesse interferência do soluto na biologia dos microrganismos (Cleland, Squires, 1991).

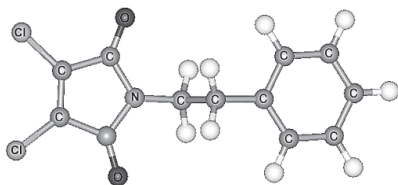
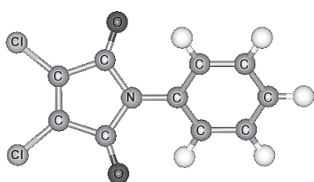
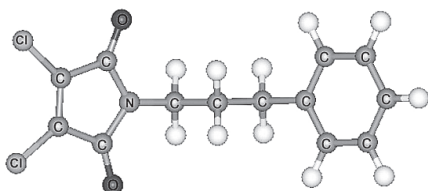
• Maleimidas

3,4-dicloro-*N*-benzil-maleimida

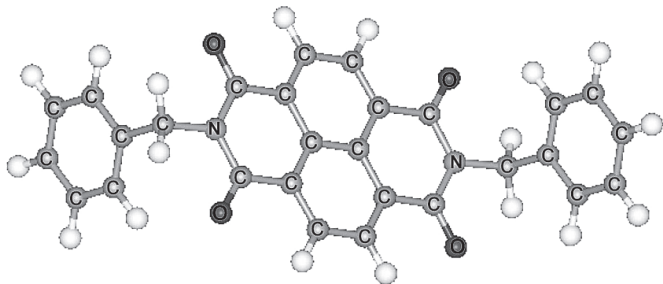
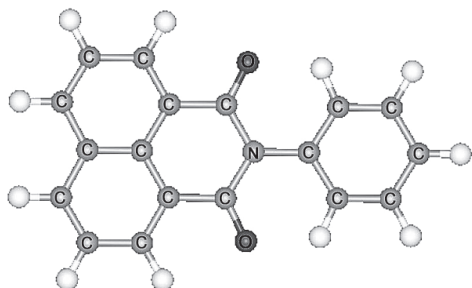


3,4-dicloro-*N*-fenil-butyl-maleimida

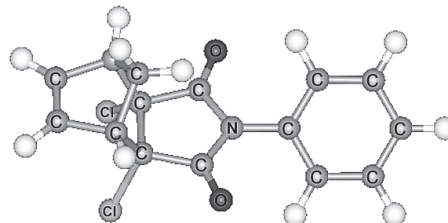


3,4-dicloro-*N*-fenetil-maleimida3,4-dicloro-*N*-fenil-maleimida3,4-dicloro-*N*-fenil-propil-maleimida

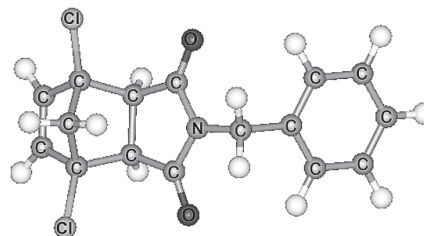
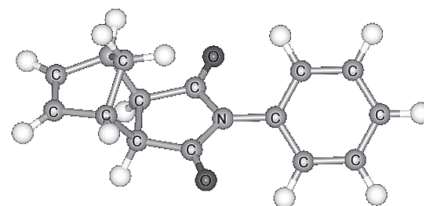
- *Naftalimidas*

Bis-*N*-benzil-naftalimida*N*-fenil-naftalimida

- *Succinimidas*

N-fenil-2 α ,6 α -diclorobiciclo [2.2.1] hepta-4-eno[5,6-*C*]-succinimida

- *Succinimidas*

N-benzil-2 α ,6 α -diclorobiciclo [2.2.1]-hepta-4-eno[5,6-*C*]-succinimida*N*-fenil-norborneno-succinimida

Microrganismos

Foram selecionadas vinte cepas de *M. furfur* isoladas e identificadas a partir de materiais biológicos de pacientes portadores de infecções micóticas superficiais, sugestivas de pitiríase versicolor. A identificação foi feita a partir do estudo da macro e micromorfologia e das características fisiológicas (Faergemann, Fredriksson, 1980; Lacaz, Nagao, 1983; Silva, 1995; Silva *et al.*, 1996,a,b; Guillot, 1996).

Meios de Cultura

O meio de cultura usado para os ensaios microbiológicos foi agar Sabouraud dextrose (ASD) a 2%, preparado conforme as instruções do fabricante (Difco

Laboratories Ltd.) mais bile de boi a 10%, adicionado de óleo de oliva a 1%. Este meio foi distribuído em alíquotas de 21 mL, em tubos de ensaios (18 x 180 mm), esterilizados em autoclave a 121 °C, durante 15 minutos.

Inóculo

O inóculo foi preparado a partir de culturas mantidas em ASD a 1%, mais bile de boi a 10%, adicionado com óleo de oliva durante 10 dias à temperatura ambiente (Chin Lü, 1971; Odds, 1989), e padronizado em solução de cloreto de sódio a 0,85% esterilizada (Casals, 1979; Plempel, 1986). Foi comparado com a solução de sulfato de bário do tubo 0,5 da escala de Mc Farland e efetuada contagem celular na câmara de Neubauer. Essa suspensão foi ajustada para 90% T (530 nm) no espectrofotômetro (LEITZ -PHOTOMETER 340-800), contendo aproximadamente 106 UFC/mL (Casals, 1979; Fromtling *et al.*, 1983; Drutz, 1987).

Metodologia: Difusão em Meio Sólido

Em placas estéreis, de 15 x 90 mm, depositou-se 1 mL de suspensão de cada microrganismo em NaCl a

0,85%, padronizada pelo tubo 0,5 da escala de Mc Farland. Em seguida, adicionaram-se 21 mL do meio sólido fundido a 50 °C. Quando solidificado, foram feitas cavidades com cânula de vidro, de 8 x 6 mm de diâmetro. Depositaram-se 50 mL de cada substância em suas diferentes concentrações. Controles foram feitos com o antifúngico cetoconazol (200 mg) e para cada cepa em estudo. As placas foram incubadas à temperatura ambiente, durante 10 dias (Casals, 1979; Mc Ginnis, 1980; Amato Neto *et al.*, 1994; Mims *et al.*, 1995).

Os ensaios foram feitos em duplicata e o resultado final foi determinado pela média dos halos de inibição, sendo considerados positivos, aqueles com diâmetros igual ou superior a 10 mm.

RESULTADOS

Os resultados da avaliação antifúngica das maleimidias, naftalimidias e succinimidias encontram-se registrados na Tabela 1. Dentre as dez imidas testadas, seis apresentaram atividade biológica contra cepas de *M. furfur*.

No grupo das maleimidias, a substância 3,4-dicloro-N-fenil-maleimida até a concentração de 200 mg/mL, não produziu inibição sobre o crescimento de *M. furfur*. No

TABELA 1 - Resultados das médias (n³ 2) dos halos de inibição (mm) da concentração inibitória mínima (CIM) de maleimidias, naftalimidias e succinimidias contra cepas de *Malassezia furfur*, por difusão em meio sólido.

Produto	C. I. M (µg/mL)	Cepas de <i>M. furfur</i>																			
		01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
3,4-dicloro-N-benzil-maleimida	25	12	14	17	12	15	12	15	15	15	12	11	10	15	10	12	10	12	12	10	10
3,4-dicloro-N-fenil-butil-maleimida	50	15	13	15	13	12	13	16	12	14	14	18	13	15	15	13	11	13	15	10	13
3,4-dicloro-N-fenil-maleimida	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3,4-dicloro-N-fenil-propil-maleimida	6,3	15	16	15	10	10	16	14	12	15	14	13	14	16	15	18	10	14	14	13	13
3,4-dicloro-N-fenil-butil-maleimida	25	12	17	15	12	15	15	18	20	15	13	10	10	12	13	13	0	13	13	0	11
Bis-N-benzil-naftalimida	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
N-fenil-naftalimida	100	12	13	13	12	12	13	12	13	17	11	13	12	14	12	12	14	0	0	12	14
N-benzil-2a,6a-diclorobicyclo [2.2.1.]-hepta-4-eno-[5,6-c] succimida	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
N-fenil-2a,6a-diclorobicyclo [2.2.1.]-hepta-4-eno-[5,6-c] succimida	50	11	12	15	13	10	10	13	10	0	10	0	10	11	15	10	10	11	10	10	10
N-fenil-morbornemo-succimida	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Controle do fungo		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Controle com cetoconazol (200 µg/mL)		34	37	37	34	35	34	25	32	38	30	27	34	33	34	33	31	33	34	31	28

+ : Crescimento do fungo no meio de cultura isento dos compostos e do cetoconazol.

entanto, este microrganismo foi sensível às demais maleimidas. Merece realce o composto 3,4-dicloro-*N*-fenil-maleimida, pois até a concentração de 6,3 mg/mL, produziu efeito inibitório contra o fungo, com halos de inibição, em média, de 14 mm de diâmetro. As imidas 3,4-dicloro-*N*-benzil-maleimida e 3,4-dicloro-*N*-fenil-propil-maleimida, a 25 mg/mL, apresentaram atividade antitúngica, inibindo o crescimento, respectivamente, de 20 (100%) e 18 (90%) cepas de *M. furfur*; sendo os valores médios dos halos de inibição foram entre 12 a 20 mm de diâmetro.

As 20 cepas de *M. furfur* foram completamente resistentes à naftalimida *bis-N*-benzil-naftalimida. Por outro lado, 18 delas (90%) apresentaram sensibilidade a *N*-fenil-naftalimida na concentração de 100 mg/mL, com halos de inibição, em média, de 13 mm de diâmetro.

Com relação às succinimidas, todas as cepas de *M. furfur* foram resistentes à *N*-benzil-2 α ,6 α -diclorobiciclo[2.2.1.]hepta-4-eno-[5,6-*c*]succinimida e *N*-fenil-norborneno-succinimida, em suas diversas concentrações. Somente a *N*-fenil-2 α ,6 α -dicloro[2.2.1.]hepta-4-eno-[5,6-*c*]succinimida, na concentração de 50 μ g/mL, inibiu o crescimento de 18 (90%) das cepas fúngicas, produzindo halos de inibição com 11 mm de diâmetro.

DISCUSSÃO

M. furfur é responsável pela pitiríase versicolor, micose crônica superficial e que se caracteriza, clinicamente, como lesões descamativas com ou sem prurido e localizadas em vários sítios anatômicos. É diagnosticada no mundo inteiro, mas muito mais freqüentemente nos países de clima tropical e subtropical. Outros fatores inerentes ao hospedeiro contribuem na freqüência da dermatomicose, incluindo a predisposição genética (Faergeman, Fredriksson, 1979), distúrbios endócrinos nos uso intensivo de corticóides, antimicrobianos, gravidez, má nutrição, pacientes imunocomprometidos (Burke, 1961; Faergeman, Fredrikson, 1979, 1980; Sodré *et al.*, 1984; Hazen, 1995). O tratamento é baseado na correção dos fatores predisponentes e no uso de antifúngicos, mais especificamente dos derivados imidazólicos, os quais muitas vezes podem produzir efeitos indesejáveis, (Hazen, 1995; Crissey *et al.*, 1995). Nesse sentido, muitas investigações vêm sendo realizadas na busca de novos produtos naturais ou sintéticos com atividade antifúngica contra fungos leveduriformes e/ou filamentosos. Dessa forma, efetuou-se avaliação antifúngica bem como a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) dos compostos sintéticos imídicos similares ao alcalóide filantimida, obtido da espécie vegetal *Phyllanthus sellowianus*, contra 20 cepas do fungo *M. furfur*.

O perfil de sensibilidade das cepas de *M. furfur* frente às maleimidas, naftalimidas e succinimidas foi diversificado para cada grupo de substância. O fungo foi sensível a 4 maleimidas das 5 testadas, incluindo 3,4-dicloro-*N*-benzil-maleimida, 3,4-dicloro-*N*-fenil-butil-maleimida, 3,4-dicloro-*N*-fenil-maleimida e 3,4-dicloro-*N*-fenil-propil-maleimida, as quais inibiram o crescimento do fungo produzindo halos de inibição superiores a 10 mm. Merece realce os resultados obtidos com a 3,4-dicloro-*N*-benzil-maleimida, uma vez que tal composto inibiu o crescimento das 20 cepas de *M. furfur* na concentração inibitória mínima de 25 μ g/mL. São dados compatíveis com aqueles obtidos anteriormente, em que se tem observado a atividade antibacteriana e antifúngica de compostos sintéticos como maleimidas, succinimidas e dicloromaleimidas contra bactérias, fungos leveduriformes e filamentosos (Cechinel Filho *et al.*, 1994; 1996; Corrêa *et al.*, 1997; Andricopulo *et al.*, 1998; Lima *et al.*, 1999). Esses autores observaram o potencial de atividade farmacológica das imidas cíclicas no processo de inibição sobre o crescimento de bactérias Gram-negativas como *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*, bem mais resistentes que microrganismos Gram-positivos como *Staphylococcus aureus* e leveduras do gênero *Candida*. Portanto, os resultados da atividade dos compostos imídicos frente às cepas de *M. furfur* ampliam as perspectivas e o potencial antifúngico das maleimidas.

Com relação aos dados da atividade antifúngica das naftalimidas e succinimidas, as cepas de *M. furfur* apresentaram menos sensibilidade em comparação às maleimidas. Somente as substâncias *N*-fenil-naftalimida e *N*-fenil-2 α ,6 α -diclorobiciclo[2.2.1.]hepta-4-eno-[5,6-*c*]succinimida, a 100 e 50 μ g/mL, respectivamente, inibiram o crescimento de 18 cepas do fungo. Ainda assim, são resultados promissores, pois leveduras do gênero *Candida* foram totalmente resistentes a tais compostos (Dantas *et al.*, 2000), ao contrário do que ocorreu com as espécies *E. coli* e *S. aureus* (Cechinel Filho *et al.*, 1994).

A sensibilidade de *M. furfur* ao grupo das imidas cíclicas, em especial, às maleimidas, constitui fato muito importante. Primeiramente, *M. furfur* é considerado um microrganismo emergente (Hazen, 1995) e, nem sempre, sensível aos antifúngicos disponíveis no mercado farmacêutico, exceção feita aos derivados imidazólicos, em particular ao cetoconazol (Crissey *et al.*, 1995). Em segundo lugar, os estudos realizados em busca de novos antifúngicos direcionados ao gênero *Malassezia* são escassos e limitados. O fato de as maleimidas apresentarem a maior atividade inibitória já era previsível, pois em geral, são consideradas mais ativas do que as naftalimidas e succinimidas. Conforme estudos realizados por Cechinel Filho *et al.* (1996), Corrêa *et al.* (1997), Andricopulo *et al.*

(1998), Cechinel Filho e Yunes (1998), Dantas *et al.* (2000), esta atividade pode estar relacionada com a dupla ligação do anel imídico, ou ao átomo de N próximo ao anel benzeno, que pode acarretar uma interação eletrônica entre a molécula e o microrganismo testado. Portanto, a determinação da CIM dos compostos imídicos contra cepas de *M. furfur* amplia mais ainda as perspectivas na busca de produtos de origem natural e/ou sintética potentes, que possam ser utilizados na produção de fármacos eficientes para tratamento de infecções fúngicas produzidas por microrganismos oportunistas e emergentes.

ABSTRACT

Sensibility of evaluations of *Malassezia furfur* strains at cyclic imides

Malassezia furfur (Pityrosporum orbiculare) is a lipophilic microorganism and it has also been associated with pityriasis versicolor, folliculitis, seborrheic and atopic dermatitis, fungemia and systemic infections. The treatment comprehends antimicrotics or imidazol derivatives solutions, specially cetoconazol. With purpose of evaluating new alternatives to the therapeutics of mycosis infections, the antifungal activity of cyclic imides was determined in the present study. The imides 3,4-dichloro-N-phenylmaleimide (6,3 µg/ml), 3,4-dichloro-N-benzyl-maleimide (25 µg/mL) and 3,4-dichloro-N-phenyl-propyl-maleimide (25 µg/mL) were the compounds which produced the best activities of inhibition against strains of *M. furfur*.

UNITERMS: *Malassezia furfur*. Pityriasis versicolor. Imides

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMATO NETO, V., LEVI, G. C., LOPES, H. V., MENDONÇA, J. S., BALDY, J. L. S. *Antibióticos na Prática Médica*. 4 ed. São Paulo: Rocco. 1994. Número de páginas.
- ABRAHAM, Z., BERDERLY, A., LEFLER, E. *Pityrosporum orbiculare* in children. *Mykosen*, Berlim, v. 30, p. 581-583, 1987.
- ANDRICOPULO, A. D., YUNES, R. A., NUNES, R. J., SAVI, A. O. S., CORREA, R., CRUZ, A. B., CECHINLL FILHO. V. Síntese e atividade antibacteriana de imidas cíclicas: 3,4-dicloro-maleimidias e 3-cloro-4-substituída maleimidias. *Quím. Nova*, São Paulo, n. 21, p. 573-577, 1998.
- ASTE, N., PAU, M., PINNA, A. L., COLOMBO, M. D., BIGGIO, P. Clinical efficacy and tolerability of terbinafine in patients with pityriasis versicolor. *Mykoses*, Berlim, v 34, p.353-357, 1991.
- BARLOW, A. J. Recent advances in fungus diseases. *Inf. J. Dermatol.*, Philadelphia, v. 15, n. 6, p. 418-424, 1976.
- BORELLI, D., JACOBS, P. H., NALL, L. Tinea versicolor: epidemiologic, clinical and therapeutic aspects. *J. Am. Acad. Dermatol.*, New York, v. 25, p. 300-305, 1991.
- BURKE, R. Tinea versicolor: susceptibility and experimental infection in human beings. *J. Invest. Dermatol.*, St. Malden, v. 36. p. 389-402, 1961.
- BURAPADAJA, S., BUNCHOO, A. Antimicrobial activity of tannins from *Terminalia citrina*. *Planta Med.*, Stuttgart, v. 61, p. 365-366, 1995.
- CLEELAND, R., SQUIRES, E. Evaluation of new antimicrobials in vitro and in experimental animal infections. In: LORIAN, V. M. D., ed. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1991. p. 739-789.
- CHIN LÜ, Y. In vitro study of pyrrolnitrin. *J. Am. Med. Assoc.*, Chicago, v. 70 n. 8, p. 19-22, 1971.
- CASALS, J. B. Tablet sensitivity testing of pathogenic fungi. *J. Clin. Pathol.*, London, v. 32, p. 719-722, 1979.
- CECHINEL FILHO, V., QUEIROZ, E. F., LIMA, E. O., PINHEIRO, T. R., NUNES, R. J., YUNES, R. A. Síntese de N-alkuilfenilmaleimidias e N-alkuilarilmaleimidias com atividade antifúngica. *Quím. Nova*, São Paulo: v.19, p. 590, 1996.
- CECHINEL FILHO, V., YUNES, R. A. Estratégia para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais, conceitos sobre modificação estrutural para a otimização da atividade. *Quím. Nova*, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.
- CORRÊA, R., ROSA, R. W., CRUZ, A. B., SAVI, A. O. S., CECHINEL FILHO, V., NUNES, R. J. Synthesis and antibacterial activity of citraconimides. *Pharm. Sci.*, London, v. 2, p. 353-355, 1997.
- CRISSEY, J. T., LANG, H., PARIS, L. C. *Manual of medical mycology*. Cambridge: Balckwell Science, 1995. p. 106-110.

- DANTAS, Z. M. R., LIMA, E. O., VASCONCELOS FILHO, P. A., CECHINEL-FILHO, V. Susceptibilidade *in vitro* de espécies de *Candida* à maleimidias, naftalimidias e succimidias. *Rev. Bras. Farm.*, Rio de Janeiro, v. 81, n. 1/2, p. 31-35, 2000.
- DORN M., ROHENERT, K. Dimorphism of *Pityrosporum orbiculare* in a defined culture medium. *J. Invest. Dermatol.*, St. Malden, v. 69, p. 244-248, 1977.
- DRUTZ, D. J. *In vitro* antifungal susceptibility testing and measurement of levels of antifungal agents in body fluids. *Rev. Infect Dis.*, Chicago, v. 9, n. 2, p. 392-397, 1987.
- ESTEVEZ, J. A., CABRITA, J. D., NOBRE, G. N. *Micologia Médica*. Lisboa: Fund. Calouste Gulbenkian, 1990. p. 375-389.
- FAERGEMANN, J., FREDRIKSSON, T. Tinea vesicolor with regard to sycorrhic dermatitis: na epidemiologic investigation. *Arch. Dermatol.*, Washington, v. 115, p. 966-968, 1979.
- FAERGEMANN, J., FREDRIKSSON, T. Age incidence of *Pityrosporum orbiculare* on human skin. *Acta. Dermatol. Vener.*, Massachusetts, v. 60, p. 531-533, 1980.
- FAERGEMANN, J., FREDRIKSSON, T. Experimental infection in rabbits and humans with *Pityrosporum orbiculare* and *P. ovale*. *J. Invest. Derm.*, St. Malden, v. 77, p. 318, 1981.
- FAVEL, A., STEINMETZ, M. D., REGLI, P., VITAL-OLLIVIER, E. ELIAS, R. BALANSARD, G. *In Vitro* Antifungal activity of triterpenoid saponins. *Planta Med.*, Stuttgart, v. 60, p. 50-53, 1994.
- FRONTLING, R. A., PUI-YU, H., SHADOMY, S. *In vitro* inhibitory activities of 2 new orally absorbable imidazole derivatives: BAYn 7133 and BAYi 913. *Sabouraudia*, Edinburgh, v. 21, p. 179-184, 1983.
- GIESBRECHT, A. M., DAVINO, S. C., BARBOSA, R. C. C., PAULA, C. R. *In Vitro* Study of the antibiotic activity of diterpenes. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, São Paulo, v. 20, p. 807-810, 1987.
- GRAYBILL, J. R. Future directions of antifungal Chemotherapy. *Clin. Infect. Dis.*, Chicago, v. 14, n. 1, p. 5170-5181, 1992.
- GUÉHO, E., MIDGLEY, G., GUILLOT, J. The genus *Mallassezia* with description of four new species. *Antoine van Lewwenhoek* (verificar o nome do periódico), Netherlands, v. 69: p. 337-335, 1996.
- GUILLOT, J., GUÉHO, E., LESOURD, M., MIDGLEY, G., CHÉVRIER, G., DUPONT, B. Identification of *Malassezia* species. A practical approach. *J. Mycol. Med.*, Paris, v. 6, p. 103-110, 1996.
- HAZEN, K. C. New and emerging yeast pathogens. *Clin. Microbiol. Rev.*, Chicago, v. 8, n. 4, p. 462-478, 1995.
- LACAZ, C. S., NAGAO, M. T. Isolamento de *Malassezia furfur*. *An. Bras. Dermatol.*, Rio de Janeiro, v. 58, p. 241-244, 1983.
- LACAZ, C. S., PORTO, E., MARTINS, J. E. C. *Micologia Médica*. 8 ed. São Paulo: Sarvier, 1991. p. 129-212.
- LEEMING, J. P., NOTMAN, F.H. Improved methods for isolation and enumeration of *Malassezia furfur* from human skin. *J. Clin. Microbiol.*, Washington, v. 25, n. 10, p. 2017-2019, 1987.
- LIMA, E. O., QUEIROZ, E. F., ANDRICOPULO, A. D., NUNES, R. J., YUNES, R. A., CORREA, R., CECHINEL FILHO, V. Evaluation of antifungal activity of N-arylmaleimides and N-phenylalkyl-3,4-dichloromaleimides. *Bul. Soc. Chil. Quím.*, Concepción, v. 44, n. 2, p. 185-189, 1999.
- LOPES, J. O., ALVES, S. H., BENEVENGA, J. P., ENCARNAÇÃO, C. S. Nodular infection of the hair caused by *Malassezia furfur*. *Mycopathologia*, The Hague, v. 125, p. 149-159, 1994.
- Mc GINNIS, M. R. *Laboratory Handbook of Medical Mycology*. New York: Academic Press, 1980. p. 411-446.
- MIMS, C. A., WILLIAMS D., PDAYFAIR, J. *Microbiologia Médica*. São Paulo: Editora Manole, 1995. Cap. 35. páginas?
- NOGUEIRA, M. C. M., COSTA, R. O., SUDO, L., PORTO, J. A. *Malassezia furfur* (na pitiríase versicolor em sádios). *An. Bras. Derm.*, Rio de Janeiro, v. 63 supl. 1, p. 229-234, 1988.

- ODDS, F. C. Laboratory evaluation of antifungal agents: a comparative study of five imidazole derivatives of clinical importance. *J. Antimicrob. Chemoter.*, Oxford, v. 6, p. 749-761, 1980.
- PATHAK, D., PATHAK, K., SINGLA, A. K. Flavonoids as medicinal agents – Recent advances. *Fitoterapia*, Milano, v. 62, n. 5, p. 371-389, 1991.
- PAULO, M. Q., BARBOSA FILHO, J. M., LIMA, E. O., MAIA, R. F., BARBOSA, R. C. B. B. C., KAPLAN, M. A. C. Antimicrobial activity of benzyloisoquinoline alkaloids from *Annona salzmanii* D.C. *J. Ethnopharmacol.*, Lausanne, v. 36, p. 39-41, 1992.
- PERRY, N. B., FOSTER, L. M. Antiviral and Antifungal flavonoids, plus a triterpene, from *Hebe cupressoides*. *Planta Med.*, Stuttgart, v. 60, p. 491-492, 1994.
- PLEMPEL, M., BERGI, D., BUCHEL, D. B., ARBINK, D. Test methods for antifungal agents – A critical review. *Mykosen*, Berlin, v. 30, n. 1, p. 28-34, 1986.
- QUETIN-LECLERCQ, J. FAVEL, A., BALANSARD, G. REGLI, P., ANGENOT, L. Screening for *in vitro* Antifungal activities of some indole alkaloids. *Planta Med.*, Stuttgart, v. 61, 475-477, 1995.
- SILVA, V. Associação de *Malassezia furfur* com patologias com componente seborréico. São Paulo, 1995. 125 p. [Dissertação de Mestrado em Biologia Celular, Universidade Federal de São Paulo].
- SILVA, V., FISCHMAN, O. ZAROR, L. Importancia del exam microscopio directo semi-quantitativo en el diagnostico de *Malassezia furfur*. *Rev. Ibero-americana de Micologia*, Bilbao, v. 13, p. 90-92, 1996a.
- SILVA, V., TILIA, C. FISCHMAN, O. Skin colonization by *Malassezia furfur* in healthy children up to 15 years old. *Mycopathologia*, The Hague, v. 132, p. 143-145, 1996b.
- SLOOFF, W.C. *Pityrosporum* Sabouraud. In: *The Yeasts*. A taxonomic study. North-Holland: Publishing Co., 1971. p. 1167-1186. Verificar: local de publicação e Editora.
- SODRÉ, C. T., ASSIS, T. L., AZULAY, R. D. Pitiríase versicolor. *An. Bras. Dermatol.*, Rio de Janeiro, v. 59, p. 245-280, 1984.

Recebido para publicação em 18 de julho de 2001.