

Atividade biológica de compostos e seiva da planta *Hymenaea coubaril* sobre leveduras e fungos filamentosos.

Maysa Paula da COSTA, Maria do Rosário Rodrigues SILVA, Cecília Maria Alves de OLIVEIRA, Carolina Rodrigues COSTA, Orionalda de Fátima Lisboa FERNANDES
Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública – UFG
maysa_paula@yahoo.com.br

Palavras-chave: *Hymenaea coubaril*, Dermatófitos, *Cryptococcus* spp.

INTRODUÇÃO

Calixto (2005) afirma que cerca de 30% de todos os medicamentos disponíveis como terapêutica são derivados de produtos naturais (plantas, microrganismos e animais). Selecionar espécies vegetais e investigar quanto ao potencial farmacológico é uma tarefa árdua e as pesquisas acerca de extratos de plantas mistura o conhecimento popular ao científico em busca de fitomedicamentos a fim de proporcionar uma melhor assistência à saúde humana (Klein et al. 2009; Melo et al. 2009).

A espécie *Hymenaea courbaril* Linnaeus var. *stilbocarpa* (conhecida popularmente como jatobá, jatobá-da-mata, fava-doce, farinheira) pertencente ao gênero *Hymenaea*, família Caesalpiniaceae, ordem Fabales, uma representante importante da flora brasileira que apresenta grande porte representa o objetivo deste trabalho.

Gonçalves et al. (2005), verificaram que *H. courbaril* apresenta atividade antimicrobiana contra *Proteus mirabilis* e *Staphylococcus aureus*. Fernandes et al. (2005) descreveram que o extrato da entrecasca, o extrato hidroalcolico, as soluções aquosas dos extratos e a seiva liofilizada de *H. courbaril*, apresentam atividade antimicrobiana contra *Bacillus stearothermophilus*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*. A planta é conhecida por conter terpenos e compostos fenólicos, os quais provavelmente sejam os responsáveis pela suas características antimicrobianas.

Neste trabalho a atividade de *H. courbaril* será verificada para leveduras do gênero *Cryptococcus* e fungos filamentosos como os dermatófitos. O gênero *Cryptococcus* constituído de *C. neoformans* var. *grubii* (sorotipo A) e var. *neoformans* (sorotipo D) e ainda, *C. gattii* sorotipos B e C produz lesões nos diferentes órgãos do hospedeiro, atingindo principalmente o sistema nervoso central

(Bose et al. 2003; Lin 2009). As dermatofitoses causadas por fungos filamentosos queratinofílicos, os dermatófitos, representados pelos gêneros *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton* podem produzir lesões cutâneas graves que normalmente são recidivantes (Nweze 2010; Peres et al. 2010).

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Isolados

Este trabalho foi realizado com 31 isolados sendo 15 de *Cryptococcus* procedentes de material de líquido céfalo raquidiano de pacientes do Hospital de Doenças Tropicais de Goiás, e 16 de dermatófitos obtidos de pacientes do Hospital das Clínicas da UFG. Isolados de *Cryptococcus* foram identificados segundo Kurtzman e Fell (1998), enquanto os dermatófitos foram submetidos a exame direto com KOH, cultivo em ágar Sabouraud dextrose, ágar batata e através de microcultivo em lâmina.

2. Teste de suscetibilidade *in vitro*

Todos os isolados foram submetidos a teste de microdiluição em caldo usando os documentos M38-A2 e M27-A3 propostos pelo CLSI (2008) com algumas modificações, onde se verificou a concentração inibitória mínima de extratos de *Hymenea courbaril* e de alguns compostos desta planta sobre o complexo *C. neoformans* e dermatófitos. Cepas padrão de *Candida parapsilosis* ATCC 22019 e *C. neoformans* sorotipo D ATCC 28957 foram utilizadas como controle.

Inicialmente foram realizadas triagens com as seivas e os compostos de *H. courbaril* com concentrações variáveis de 512 a 1 µg/mL para 10 isolados (5 de dermatófitos e 5 de *Cryptococcus*) e posteriormente de acordo com os resultados obtidos procedeu-se o teste de suscetibilidade de seiva branca e do composto APJ02 para 31 isolados (15 de dermatófitos e 16 de *Cryptococcus*) usando-se concentrações que variaram de 128 a 0,25 µg/mL.

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi verificada pela menor concentração da planta capaz de inibir o crescimento do microrganismo, sendo que o período de incubação para *C. neoformans* foi de 72 horas a uma temperatura de 36°C e para os dermatófitos de 7 dias a temperatura ambiente.

3. Preparo das suspensões

As células de *C. neoformans* foram suspensas em solução de salina 0,85% medidas no espectrofotômetro a uma transmitância de 85% em λ de 530nm que

corresponde a aproximadamente a 1×10^6 UFC/mL (documento M27-A2 do CLSI 2008).

Para dermatófitos, as colônias foram cobertas com 5 ml de solução salina estéril (0,85%), e as suspensões foram feitas, raspando-se suavemente a superfície com a ponta de uma pipeta Pasteur, gerando uma mistura de fragmentos de conídios e hifas (Santos et al. 2006). As densidades destas suspensões foram ajustadas com espectrofotômetro em um comprimento de onda de 520 nm até um nível de transmissão de 70 a 72% (documento M38-A2 do CLSI 2008).

RESULTADOS

Os testes de suscetibilidade *in vitro* mostraram que o composto APJ-02 e a seiva branca foram os que apresentaram melhor atividade sobre os isolados de *C. neoformans* e de dermatófitos. A tabela 1 mostra os valores de CIM, CIM50 e CIM90 da seiva branca de *H. coubaril* e do composto APJ02 sobre todos os isolados estudados.

Tabela 1. Concentração inibitória mínima da seiva branca e do composto APJ02 de *H. coubaril* sobre isolados de *C. neoformans* e de dermatófitos

Isolados	Concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$)					
	Seiva branca			APJ02		
	variação	CIM50	CIM90	variação	CIM50	CIM90
Leveduras						
<i>C. neoformans</i>	8 - 256	32	256	8-256	32	128
<i>C. gattii</i>	128-256	128	256	128-256	128	256
Dermatófitos						
<i>T. rubrum</i>	32-128	64	128	4-64	32	64
<i>T. mentagrophytes</i>	32-128	64	128	32-128	32	128
<i>M. gypseum</i>	64-128	128	128	64-128	128	128

DISCUSSÃO

Os efeitos hepatonefrotóxicos, a baixa eficácia dos medicamentos atualmente utilizados como antifúngicos e a resistência dos fungos a estas terapias têm incentivado a busca por novos tratamentos. A pesquisa de substâncias derivadas de plantas tem sido considerada uma fonte promissora de agentes antimicrobianos, com o intuito de descobrir compostos mais efetivos e menos tóxicos.

Vários experimentos têm demonstrado atividade de compostos e derivados de plantas para os fungos como os dermatófitos e para leveduras como *C. neoformans*. A atividade antifúngica do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* contra *T. mentagrophytes* mostrou valores de CIM de 312 µg/ml, enquanto a CFM foi de 2500 µg/ml (Pereira *et al.* 2011). Valores de CIM de 31,2 µg/ml foram encontrados para extratos da esponja marinha *Haliclona exigua* para *C. neoformans* e *T. mentagrophytes* (Lakshmi *et al.* 2010). Em nossos resultados, verificaram-se valores muito baixos de CIM, sendo que a seiva bruta e o composto APJ02 de *H. courbaril* foi capaz de inibir o crescimento deste fungo em concentrações que variaram de 32 a 128 µg/ml, sugerindo que esta planta é muito ativa para esta espécie. O estudo da atividade antimicrobiana de *H. courbaril* para fungos parece ser escassa, no entanto experimentos com bactérias têm demonstrado atividade antibacteriana *in vitro*. *H. courbaril* é capaz de inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* na concentração de 350 µg/ml (Martins *et al.* 2010).

CONCLUSÃO

Os resultados encontrados neste estudo são relevantes e promissores, pois mostram que esta planta apresenta uma boa atividade biológica para fungos, visto que produtos com esta concentração podem ser considerados de grande valor para posteriores estudos farmacológicos.

REFERÊNCIAS

- Bose I, Reese AJ, Ory JJ, Janbon G, Doering TL. 2003. **A Yeast under Cover: the Capsule of *Cryptococcus neoformans***. Eukaryotic Cell. v.2, n. 4, p. 655–663.
- Calixto, J.B., 2005. **Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America**. Journal of Ethnopharmacology 100, 131–134.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**. 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, 3rd ed. Approved standard. CLSI M27-A3(28). Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Clinical and Laboratory Standards Institute**. 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard, 2nd ed. CLSI document M38-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Fernandes TT, Santos, Alik TF 2005. **Atividade antimicrobiana das plantas *Plathymenia reticulata*, *hymenaea courbaril* e *Guazuma ulmifolia***. Rev. Patol. Trop. v.34, n. 2, p.113-122.

Gonçalves AL, Alves Filho A, Menezes H 2005. **Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas.** Inst. Biol. São Paulo. v.72, n.3, p.353-358.

Klein T, Longhini R, Bruschi ML, Mello JCP. 2009 **Fitoterápicos: um mercado promissor.** Revista Ciência Farmacológica Básica Aplicada. v.30, n.3, p.241-248.

Kurtzman CP, Fell JW 1998. The Yeasts, a taxonomic study. Elsevier 4° ed., p. 77-100.

Lakshmi V, Mishra SK, Srivastava S, Chaturvedi A, Srivastava MN, Shukla PK. 2010. **Antifungal activity of marine sponge *Haliclona exigua* (Krikpatrick).** Journal de Mycologie Médicale. v.20, p.31-35.

Lin X. 2009. **Cryptococcus neoformans: Morphogenesis, infection, and evolution.** Infection, Genetics and Evolution. v.9, p.401–416.

Martins CHG, Souza FR, Fonseca C, Casemiro LA, Furtado NAJC, Ambrosio SR, Cunha WR. 2010. **Determinação *in vitro* da Atividade Antibacteriana dos Extratos Brutos da Casca e Polpa Farinácea de *Hymenaea courbaril* L.** Investigaçao. v.10, p.37-43.

Melo RR, Araújo ERS, Silva AAL, Randau KP, Ximenes ECPA. 2009. **Características farmacobotânicas, químicas e biológicas de *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & I. M. Perry.** Rev. Bras. Farm. v.90, n.4, p.298-302.

Nweze EI. 2010. **Dermatophytosis among children of Fulani/Hausa herdsman living in southeastern Nigeria.** Revista Iberoamericana de Micología. v.27, n.4, p.191–194.

Pereira FO, Wanderley PA, Viana FAC, Lima RB, Sousa FB, Santos SG, Lima EO. 2011. **Effects of *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor essential oil on the growth and morphogenesis of *Trichophyton mentagrophytes*.** Braz. J. Pharm. Sci. [online]. v.47, n.1, p. 145-153.

Peres NTA, Maranhão FCA, Rossi A, Martinez-Rossi NM. 2010. **Dermatófitos: interação patógeno-hospedeiro e resistencia a antifúngicos.** An Bras Dermatol. v.85, p.657-67.

Santos DA, Barros MES, Hamdan JS. 2006. **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.