

4.03.02. Farmácia/Farmacognosia

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E MODULATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Psidium* sp

Victor Juno Alencar Fonseca^{1*}, Isadora Maria de Oliveira Fonseca¹, André Luiz de Araújo Silva², Henrique Douglas Melo Coutinho⁴, Galberto Martins da Costa⁴, Aracelio Viana Colares³

1. Estudantes de IC do curso de Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, UNILEÃO,
2. Biomédico, Centro Universitário Leão Sampaio, UNILEÃO.
3. Centro Universitário Leão Sampaio, UNILEÃO / Orientador
4. URCA – Departamento de Química Biológica

Resumo:

Ao passo do desenvolvimento de novos fármacos, por meio de produtos naturais ou sintéticos bioativos, os fungos desenvolveram seus mecanismos de resistência frente aos antifúngicos utilizados atualmente. Fungos do gênero *Candida*, como *Candida albicans* e *Candida tropicalis*, são de grande relevância clínica e médica por possuírem uma mortalidade de 30 a 50%. O Araçá (*Psidium* sp.) é utilizado na medicina popular através de suas folhas, cascas e entrecasas e seu gênero (*Psidium*) já demonstrou atividade antioxidante e antimicrobiana. Assim, este trabalho buscou avaliar o efeito antifúngico do óleo essencial da folha de Araçá (*Psidium* sp.). Foram realizados testes da C.I.M e concentração fungicida mínima do *Psidium* sp. e do Fluconazol, além da modulação de ambos. Depois foram calculadas as devidas IC₅₀ e curva de viabilidade celular. Os resultados mostram que o óleo essencial de *Psidium* sp. apresentou atividade inibitória contra fungos em associação com Fluconazol.

Palavras-chave: *Psidium* sp. Óleo Essencial. Anti-*Candida*.

Introdução:

O Brasil possui uma ótima posição geográfica e clima tropical, fatores que são muito importantes no âmbito dos produtos naturais, pois, as plantas nestas localidades possuem até quatro vezes mais componentes ativos quando comparadas com outras de outros climas (PINTO et al., 2002; CAVALCANTI et al., 2012), o que confere ao país uma verdadeira vocação para a pesquisa em produtos naturais.

Ao passo do desenvolvimento de novos fármacos, através de produtos naturais ou sintéticos bioativos, os fungos caminham desenvolvendo seus mecanismos de resistência frente aos antifúngicos utilizados atualmente. Razão dessa acelerada resistência é o reflexo do uso sem prescrição médica, doses acima e abaixo do

recomendado e outros fatores durante décadas (KOK et al., 2015). Alguns dos mecanismos de resistência já evidenciados são mecanismos moleculares, e outros mecanismos frente às classes das Equinocandinas, Azóis e Polienos (KOTACZKOWSKA; KOTACZKOSKI, 2016).

Fungos do gênero *Candida* como *Candida albicans* e *Candida tropicalis*, são de grande relevância clínica e médica. Habitam normalmente mucosas, trato geniturinário e gastrointestinal e só costumam gerar infecções em casos de pacientes imunodeficientes ou se o ambiente se tornar favorável (FINDEL; MITCHELL, 2011).

Casos de candidemia por *Candida albicans* possuem uma mortalidade de 30 a 50% (SADBERRY, 2011). *Candida tropicalis* já possui relatos de resistência frente ao Fluconazol, 5-Fluorocitosina e as Equinocandinas (KOTACZKOWSKA, KOTACZKOSKI, 2016). Assim, evidenciando que os casos de infecção por fungos, especialmente pelas espécies de *Candida*, são de grande preocupação.

O Araçá (*Psidium* sp.) é utilizado na medicina popular através de suas folhas, casca e entrecasca. Dentre muitos nomes, ele é conhecido como Goiabeiro ou Araçá de Veado (FRANZON et al., 2009). O gênero *Psidium* já demonstrou atividades biológicas, como atividade antioxidante (ZAPATA, CORTES, ROJANO, 2013) e antimicrobiana (VOSS-RECH et al., 2011; ALVARENGA et al., 2015; ALVARENGA et al., 2016).

Assim, este trabalho teve por objetivo, avaliar o efeito antifúngico do óleo essencial da folha de Araçá (*Psidium* sp.).

Metodologia:

As folhas da espécie *Psidium* sp. foram coletadas na fazenda Barreiro Grande, na Chapada do Araripe, no município de Crato, Ceará. Uma exsicata foi depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima – HCDAL da Universidade Regional do Cariri –

URCA.

A extração do óleo essencial de *Psidium sp.* foi realizada utilizando-se sistema de arraste de vapor, e coletado em um aparelho doseador tipo Cleavenger, modificado por Gottlieb & Magalhães (1960).

O preparo da solução inicial do óleo foi efetuado pesando-se 10 mg do óleo e diluindo em 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO – Merck, Darmstadt, Alemanha), para a obtenção de uma concentração inicial. A partir desta concentração, foi realizada diluição em água destilada estéril a fim de atingir a concentração de 16.384 µg/mL (solução teste).

Os microorganismos utilizados nos testes de sensibilidade aos produtos naturais foram obtidos do Laboratório de Micologia (LM) da Universidade Federal da Paraíba – UFPB e do Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular (LMBM) da Universidade Regional do Cariri – URCA. Foram utilizadas duas linhagens padrão de leveduras (CA 40006 e 77 CT 40042 e 23). O fluconazol foi utilizado como droga de referência no teste de modulação do fármaco comercial.

Todas as linhagens foram inicialmente mantidas em tubos de ensaio contendo Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) inclinado, sob refrigeração (8 °C), no Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular - LMBM da Universidade Regional do Cariri. Para os testes da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM), na preparação do inóculo dos fungos, inicialmente os isolados foram cultivados em meio ASD vertido em placa de Petri a 37 °C por 24 horas (*overnight*). A partir destas, foram preparadas suspensões dos microrganismos em tubos contendo 3 mL de solução estéril (NaCl a 0,9 %). Em seguida, essas suspensões foram agitadas com auxílio do aparelho vortex e a turbidez foi comparada e ajustada por comparação com a suspensão de sulfato de bário do tubo 0,5 da escala de McFarland, a qual corresponde a um inóculo de aproximadamente 105 unidades formadoras de colônias/mL – UFC/mL. (SOUZA et al., 2007).

A determinação da CIM do óleo foi realizada pela técnica de microdiluição, utilizando placas contendo 96 cavidades com fundo chato e em triplicata (ELLOF, 1998; SOUZA et al., 2007). Em cada orifício da placa foi adicionado 100 µL do meio líquido de Caldo Sabouraud Dextrose (CSD) duplamente concentrado. Para distribuição na placa de microdiluição foram preparados tubos *ependorf*® contendo cada um deles com 1,5 mL de solução contendo 1350 µL de CSD duplamente concentrado e 150 µL da

suspensão fúngica. A placa foi preenchida no sentido numérico adicionando-se 100 µL desta solução em cada poço (placa de 96 poços) e em seguida procedendo-se a microdiluição seriada com a solução de 100 µL do produto natural. A revelação da CIM foi feita pela observação da turbidez provocada pelo crescimento.

Resultados e Discussão:

O óleo essencial de *Psidium sp.* foi testado contra duas cepas de *Candida tropicalis* (CT) e duas de *Candida albicans* (CA), onde uma das cepas era de isolado clínico (CT 23 e CA 77) e outra cepa do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (CT INCQS 40042 e CA INCQS 40006).

Os valores da IC₅₀ do FCZ frente a CA INCQS 40006 foi de 16 µg/mL, e para CA 77 foi de 8 µg/mL. Quando ambos foram testados com OEPsp, houve efeito antagônico.

Em ambas as cepas de *Candida tropicalis*, o FCZ+OEPsp apresentou atividade antagônica.

Nos testes fungistáticos, a cepa CA INCQS 40006 sobre ação do FCZ+OEPsp apresentou potencial sinérgico, enquanto que a cepa CA 77 demonstrou ação antagônica.

Já para a CT INCQS 40042, o FCZ somente inibiu o crescimento concentração de 8192 µg/mL e quando associado o FCZ com o OEPsp a concentração diminuiu para 4096 µg/mL.

No teste com a CT 23 o FCZ sozinho não conseguiu inibir o crescimento nas concentrações testadas. Somente quando associado ao OEPsp a inibição do crescimento da CT ocorreu na concentração de 8192 µg/mL.

Conclusões:

O óleo essencial de *Psidium sp.* apresentou um potencial para inibir o crescimento das cepas utilizadas de *Candida albicans* e *Candida tropicalis* e melhorou a ação do Fluconazol nesse sentido. Porém o efeito fungicida do Óleo Essencial de *Psidium sp.* foi muito baixo quando comparado com o FCZ adicionalmente ao óleo.

Até o momento ainda não foi possível a identificação da espécie. Sendo este um passo necessário para o prosseguimento dos testes com a planta, além de estudos acerca da composição química e outros estudos mais específicos quanto as ações deste óleo essencial.

Referências bibliográficas

- ALVARENDA, F. Q. et al. Atividade Antinociceptiva e Antimicrobiana da Casca do Caule de *Psidium Cattleianum* Sabine, **Revista brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, Volume 17, Número 04, Julho de 2015.
- ALVARENGA, F. Q. et al. Atividade antimicrobiana *in vitro* das folhas de araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) contra micro-organismos da mucosa oral, **Revista de Odontologia da UNESP**, Volume 45, Número 03, Junho de 2016.
- CASTRO, M. R. et al. Essential oil of *Psidium cattleianum* leaves: Antioxidant and antifungal activity, **Pharmaceutical Biology**, Volume 53, Número 02, Novembro de 2014.
- CAVALCANTI, Y. W. et al. Atividade Antifúngica de Extratos Vegetais Brasileiros sobre Cepas de *Candida*, **Revista brasileira de Ciências da Saúde**, João Pessoa, v.16, n.01, Março de 2012.
- ELLOF, J. N. A sensitive and quick microplate method to determined the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. **Plant Med.**v.1, n.1, 1998.
- FASOLA, T. R., OLOYEDE, G. K., APONJOLOSUN, B. S., Chemical composition, toxicity and antioxidant activities of essential oils of stem bark of nigerian species of guava (*Psidium guajava* linn.), **EXCLI Journal**, Volume 10, Número 01, Março de 2011.
- FINKEL, J. S.; MITCHELL, A. P.; Genetic Control of *Candida albicans* biofilm development, **Nature Reviews Microbiology**, Pittsburg, v.09, n.02, Fevereiro de 2011.
- FRAZON, R. C. et al., **Araçás do gênero Psidium**: Principais Espécies, Ocorrências, Descrição e Usos. 1º edição. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2009.
- GOTTLIEB, O. R.; MAGALHÃES, M. T. Modified distillation trap. **Chemist Analyst**, v. 49, p. 114, 1960.
- GUTIÉRREZ, R. M. P., MITCHELL, S., SOLIS, R. V., *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology, **Journal of Ethnopharmacology**, Volume 117, Número 01, Fevereiro de 2008.
- JOSEPH, B et al., Bio-active compounds in essential oil and its effects of antimicrobial, cytotoxic activity from the *Psidium guajava* (L.) leaf, **Advanced Biotechnology Journal**, Volume 09, Número 01, Abril de 2010.
- KOK, E. T. et al. Resistance to Antibiotics and Antifungal Medicinal Products: Can Complementary and Alternative Medicine Help Solve the Problem in Common Infection Diseases? The Introduction of a Dutch Research Consortium, **Evidence-based Complementary And Alternative Medicine**, Leiden, Volume 2015, Número 01, Agosto de 2015.
- PINTO, A. C. et al. Produtos Naturais: Atualidade, Desafios e Perspectivas. **Química Nova**, Rio de Janeiro, Volume 25, Número 01, Maio de 2002.
- SOUSA, R. G. et al. Atividade anti-helmíntica de plantas nativas do continente americano: uma revisão, **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, Volume 15, Número 02, Janeiro de 2013.
- SOUZA E L. et al.. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. **Food Control**, v.1, n.1,2007.
- VOSS-RECH, D. et al. Atividade antibacteriana de extratos vegetais sobre sorovares de *Salmonella*, **Ciência Rural**, Santa Maria, Volume 41, Número 02, Fevereiro de 2011.
- ZAPATA K., CORTES F. B. ROJANO B. A. Polifenoles y Actividad Antioxidante del Fruto de Guayaba Agría (*Psidium araca*). **Información Tecnológica**. Medellín, Volume 25, Número 05, Junho de 2013.