

# IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

## XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



### INVESTIGAÇÃO ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DO EXTRATO AQUOSO DE *Crotalaria breviflora*

Natalia Correia Aguiar<sup>1</sup>, Maria Flaviana Bezerra Moraes Braga<sup>2</sup>, Maria Keliane Alves de Sousa<sup>3</sup>, Jailson Renato de Lima Silva<sup>4</sup>, Thalyta Julyanne Silva de Oliveira<sup>5</sup>, Elayne Eally Silva de Oliveira Moraes<sup>6</sup>, Larisse Bernardino dos Santos<sup>7</sup>, Adrielle Rodrigues Costa<sup>8</sup>, Antonia Eliene Duarte<sup>9</sup>

#### Resumo:

Este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica do extrato aquoso da *Crotalaria breviflora*, por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM). Os ensaios microbiológicos foram realizados pelo método de microdiluição, em triplicata e os resultados foram expressos como média de repetições, utilizando two way ANOVA, seguido de Post hoc de Bonferroni. O extrato não exibiu efeito significativo para a espécie *C. krusei*, ou seja, não potencializou o efeito do fluconazol no ensaio em associação com o extrato, tampouco na inibição do crescimento CIM.

**Palavras-chave:** Atividade antimicrobiana. Plantas medicinais. Fabaceae. *Candida*.

## 1. INTRODUÇÃO

---

1 Graduanda no curso de ciências biológicas – bacharelado, Universidade Regional do Cariri, e-mail: nataliacorreiaaguiar010201@gmail.com

2 Professora Orientadora Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular - PPBM/URCA e do Programa de Pós-Graduação em Química Biológica - PPQB/URCA (Mestrado e Doutorado). Universidade Regional do Cariri, e-mail: flavianamoraisb@yahoo.com.br

3 Graduada no curso de ciências biológicas – bacharelado, Universidade Regional do Cariri, e-mail: kellyanealves15@hotmail.com

4 Graduando no curso de ciências biológicas – licenciatura, Universidade Regional do Cariri, e-mail: jailsonslrj@outlook.com

5 Graduanda no curso de ciências biológicas – bacharelado, Universidade Regional do Cariri, e-mail: julyannebiologia@gmail.com

6 Graduanda no curso de ciências biológicas – bacharelado, Universidade Regional do Cariri, e-mail: elayneeally2@outlook.com

7 Graduanda no curso de ciências biológicas – bacharelado, Universidade Regional do Cariri, e-mail: larissebernardinno@gmail.com

8 Programa de Pós-graduação PPBM-programa de Bioprospecção Molecular, Universidade Regional do Cariri, e-mail: adrielle.arc@hotmail.com

9 Laboratório de Biotoxicologia- BIOTOX, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Regional do Cariri, e-mail: duarte105@yahoo.com.br

# IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

## XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



O Brasil é um país que tem maior biodiversidade, desse modo tendo o maior índice de espécies para fins medicinais (Albuquerque et al., 2007; Maciel et al., 2002). O uso destes vegetais como forma medicinal é um método popular amplamente utilizado por populações com baixa renda, por método cultural ou até mesmo pela escassez de recursos econômicos, visando a obtenção de fármacos para tratar de certas enfermidades.

A atividade antimicrobiana de extratos de plantas, óleos essenciais e seus componentes vem rendendo interesses que contribuem para diferentes pesquisas, centralizadas principalmente no campo da medicina e terapêutica. Este interesse é justificado pelo aumento da resistência aos antimicrobianos sintéticos comerciais por patógenos associados a doenças infecciosas (Reichling et al. 2009).

Nesse contexto destaca-se o gênero *Crotalaria*, que se caracteriza dentre outros gêneros dessa tribo por apresentar espécies nativas do Brasil. (Flores & Miotto 2005). A espécie *Crotalaria breviflora* pertencendo ao gênero *Crotalaria*, é uma planta da família Fabaceae. Apesar de reconhecido efeito tóxico do gênero, algumas espécies são usadas na medicina popular (Penalosa et al., 2008)

## 2. OBJETIVO

Avaliar a atividade antifúngica do extrato aquoso da espécie *Crotalaria breviflora*.

## 3. METODOLOGIA

O material vegetal foi coletado no mês de março, numa área rural no distrito de Monte Alverne, Brasil, e identificado e depositado no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima da Universidade Regional do Cariri – URCA.

# IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

## XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



As partes vegetais foram lavadas e expostas para secar a sombra. O solvente para obtenção do extrato aquoso foi preparado a partir de água destilada. Após 72 horas, o material recebeu dupla filtração de algodão separando a parte líquida da sólida, sendo então submetido à rota evaporador para liberação do solvente aquoso.

As cepas utilizadas foram do tipo padrão e obtidas do Oswaldo Cruz Coleção Cultura (FIOCRUZ) do Instituto Brasileiro de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS). Foram inoculadas em Ágar Sabouraud Dextrose (SDA, KASVI) e incubadas por 24 h a 37 ° C. As leveduras foram transferidas para tubos de ensaio, cada um contendo 3 mL de solução salina estéril (0,9%). Na análise micromorfológica, o Agar de Dextrose de Batata (PDA) foi deletado e utilizado o ágar bacteriológico.

Água destilada foi usada para diluir o extrato aquoso e o antifúngico fluconazol (Cápsula; Prati donaduzzi, Brasil) que foi usado como droga referência. A solução do produto foi pesando 0,15 g do extrato e diluindo este em 9 mL de água, assim como para o fluconazol. (Stoppa, Casemiro, Vinholis, Cunha, Silva, Martins, et al., 2009).

Este ensaio foi realizado usando o método de microdiluição em caldo em 96 poços pratos. Cada poço foi preenchido com 100 µL de MSC contendo 10% de inóculo fúngico e 100 µL do produto natural (16.384 µg / mL) ou fluconazol. As concentrações nos poços variaram de 8 a 8,192 µg / mL. Todos os testes foram realizados em triplicatas e as placas foram incubadas a 37 ° C 24 h, e postas a leitura em um espectrofotômetro ELISA (Thermoplate®). Utilizando-se dos resultados para determinar a curva de viabilidade celular e a CIM do óleo essencial.

Para este ensaio, a ponta de uma haste estéril foi inserida em cada poço da placa testada (exceto para o controle de esterilidade), a haste foi levada para uma placa de Petri contendo SDA. Após 24 horas de incubação, as placas foram inspecionadas para a formação de colônias de *Candida* (Ernst, Messer, & Pfaller,

# IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

## XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



1999, com modificações). A concentração em que não houve crescimento de colônia fúngica foi considerado o extrato aquoso MFC.

O extrato foi utilizado em concentração sub-inibitória (MFC / 16), de acordo à metodologia utilizada por Coutinho et al. (2008) com pequenas modificações. As placas foram preenchidas com 100  $\mu$ L de meio + inóculo + óleo seguido de microdiluição com 100  $\mu$ L de fluconazol na concentração de 16.384  $\mu$ g / mL. A mistura foi adicionada ao primeiro poço de cada coluna para ser submetida a diluições em concentrações que variam de 8,192 a 8  $\mu$ g / mL. O último poço foi destinado como controle de crescimento fúngico. Controles de diluição para o óleo essencial (onde substituído o inóculo) e controles de esterilidade médios foram realizados. O CIM do fluconazol também foi determinado para fins comparativos. As placas foram incubadas a 37° C durante 24 horas. A leitura foi realizada em aparelho espectrofotômetro ELISA (Thermoplate®) e para análise estatística, foi utilizado o programa GraphPad Prism, versão 5.0.

### 4. RESULTADOS

Os resultados deste estudo para o extrato isolado de *C. brevisflora* indicam que não houve redução do crescimento da estirpe fúngica. O extrato em associação com o fluconazol não exibiram alterações significativas do crescimento de *Candida krusei* quando comparados ao controle positivo.

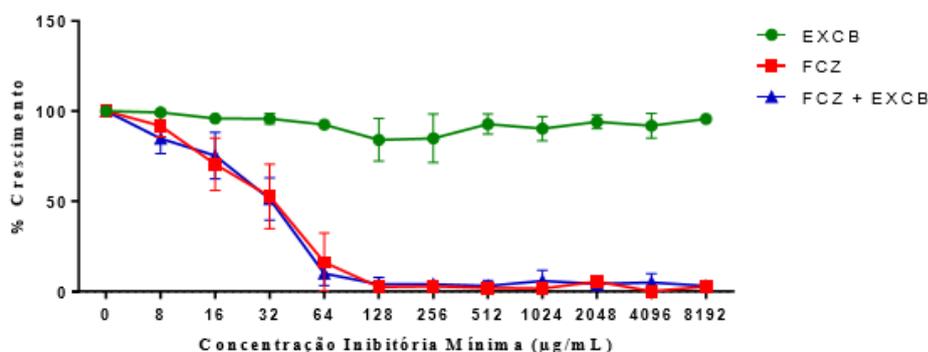


Figura 1. Crescimento inibitório mínimo do extrato aquoso de *C. brevisflora*.

# IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

## XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



### 5. CONCLUSÃO

O extrato aquoso das folhas não apresentou efeito significativo, para a espécie de *C. krusei*, ou seja, não potencializou o efeito do fluconazol no ensaio de modulação, tampouco na inibição do crescimento CIM. Contudo, estudos desta natureza possuem importância relevante na triagem de fármacos com a capacidade de potencializar a ação de drogas de primeira escolha.

### 6. REFERÊNCIAS

COUTINHO, Henrique DM et al. In vitro anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA strains. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 670-675, 2008.

DE ALBUQUERQUE, Ulysses Paulino et al. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. **Journal of ethnopharmacology**, v. 114, n. 3, p. 325-354, 2007.

ECKER, Assis et al. High-sucrose diet induces diabetic-like phenotypes and oxidative stress in *Drosophila melanogaster*: Protective role of *Syzygium cumini* and *Bauhinia forficata*. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 89, p. 605-616, 2017.

ERNST, Erika J. et al. In vitro pharmacodynamic properties of MK-0991 determined by time-kill methods. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 33, n. 2, p. 75-80, 1999.

FLORES, A.S. & MIOTTO, S.T.S. 2005. Aspectos fitogeográficos das espécies de *Crotalaria* L. (Leguminosae – Faboideae) na região Sul do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, 19(2): 245-249.

PEÑALOZA, Giann C.; PELÁEZ, Carlos A. Evaluation of biological activity of *Crotalaria juncea* extracts through a *Drosophila melanogaster* model. **Vitae**, v. 15, n. 2, 2008.

REICHLING, Jürgen et al. Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties—an overview. **Complementary Medicine Research**, v. 16, n. 2, p. 79-90, 2009.

STOPPA, Marcos Aurélio et al. Estudo comparativo entre as metodologias preconizadas pelo CLSI e pelo EUCAST para avaliação da atividade antifúngica. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 498-502, 2009.