

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: “Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação”

***Cynophalla flexuosa*: EFEITO CONTRA FUNGO OPORTUNISTA**

Fernanda Santos Sousa Costa¹, Naiza Saraiva Farias², Antonia Thassya Lucas dos Santos³, Gerson Javier Torres Salazar⁴, Maria Flaviana Bezerra Morais Braga⁵.

Resumo: Haja vista o emergente impasse relacionado à resistência de micro-organismos patógenos oportunistas como *Candida albicans* às terapias medicamentosas usuais, desponta a necessidade de perscrutar novas alternativas terapêuticas, com ênfase no potencial farmacológico associado a substâncias de origem vegetal. *Cynophalla flexuosa* apresenta-se como espécie forrageira, amplamente utilizada na medicina popular. Nesse estudo, buscou-se avaliar a atividade antifúngica do extrato hidroetanólico das folhas de *C. flexuosa* sobre *C. albicans*, tanto de forma intrínseca quando combinado ao fluconazol. A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada a partir do método de microdiluição em caldo. A ação inibitória do extrato ocorreu em altas concentrações, com CIM igual ou superior a 4096 µg/mL. A união do extrato vegetal ao antifúngico sintético mostrou-se antagônica, sendo contraindicada a consorciação dessas substâncias. O efeito do extrato de *C. flexuosa* contra *C. albicans* não apresenta relevância clínica, tendo em vista que seriam necessárias concentrações muito elevadas para se verificar alguma atividade.

Palavras-chave: *Candida albicans*. Capparaceae. Resistência microbiana. Fluconazol. Antagonismo.

1. Introdução

O gênero *Candida* é composto por cerca de 200 espécies, das quais muitas são capazes de habitar diferentes sistemas do corpo humano de forma comensal ou infecciosa. Estudos apontam que uma parcela significativamente alta dos indivíduos saudáveis portam leveduras de *Candida* como parte da sua microbiota normal. Entretanto, por se tratar de um patógeno oportunista, podem ocorrer infecções micóticas superficiais ou invasivas em pacientes com sistema imunológico comprometido (QADIR; ASIF, 2019; ROMO; KUMAMOTO, 2020).

1 Universidade Regional do Cariri, email: fernandass.costa@urca.br

2 Universidade Regional do Cariri, email: naiza.farias@urca.br

3 Universidade Regional do Cariri, email: thassyalucas@hotmail.com

4 Universidade Regional do Cariri, email: timotygertor@yahoo.com

5 Universidade Regional do Cariri, email: flaviana.morais@urca.br

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: “Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação”

Do ponto de vista clínico e epidemiológico, as espécies de *Candida* com maior destaque são: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* e *Candida krusei* (LO *et al.*, 2015). Todavia, *Candida albicans* é frequentemente citada como a mais patogênica, devido a sua sobrepujante ocorrência em infecções humanas (DADAR *et al.*, 2018) e índices elevados de morte em circunstâncias de septicemia (SILVA. *et al.*, 2015).

A terapia eletiva nos casos de candidíase invasiva abrange agentes fungistáticos sintéticos azólicos, baseados nos núcleos imidazol ou triazol, dentre os quais se destaca o fluconazol (LO *et al.*, 2015; CHUDZIK *et al.*, 2015). Contudo, diversas pesquisas têm inferido a preponderância de cepas de *C. albicans* resistentes a esse fármaco (RODRÍGUEZ, 2019; SANGIARD, 2017; VIEIRA; SANTOS, 2017), justificando a busca por terapias alternativas.

Cynophalla flexuosa (L.) J. Presl, cujo sinônimo taxonômico é *Capparis flexuosa*, pertence à família Capparaceae, (L.), sendo vulgarmente conhecida como feijão-bravo. Trata-se de uma espécie comum do semiárido brasileiro, com porte arbustivo-arbóreo de até 4 metros de altura, possuindo ramos eretos, glabros e folhas que medem aproximadamente 7–9 × 3,8–4,7 centímetros (SOARES NETO, 2020). Para além de sua importância na alimentação animal durante os períodos de seca, *C. flexuosa* possui significativa relevância na medicina popular, sendo empregada no tratamento de diversos males como febre, tosse, pneumonia, reumatismo, gripe, dor de dente, doenças venéreas e vermes, além da sua aplicação como depurativo e emenagogo (AGRA *et al.*, 2007; ALMEIDA, 2004; ARAÚJO *et al.*, 2011; RIBEIRO *et al.*, 2014).

Ante o exposto, o presente estudo se justifica mediante a clara necessidade de se avaliar o potencial farmacológico de espécies com valor etnobiológico, ressaltando a urgente demanda por novas terapias antifúngicas que possam substituir ou auxiliar a terapêutica convencional no combate a patógenos resistentes.

2. Objetivo

Investigar o potencial farmacológico do extrato hidroetanólico de *Cynophalla flexuosa* (L.) J. Presl sozinho e consorciado ao fluconazol frente à *Candida albicans*.

3. Metodologia

O material vegetal *C. flexuosa* foi selecionado de forma randômica e submetido à identificação botânica pelo Herbário da Universidade Regional do Cariri. A exsicata da espécie encontra-se depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima - HCDAL/URCA sob número 13257. Um total de 414.0 g de folhas frescas de *C. flexuosa* picadas foi adicionado a uma mistura extrativa de água: etanol (3:7) em temperatura ambiente, permanecendo

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

protegida do ar e luz por um período de 72 h, após o qual foi filtrada e concentrada em um rotavaporador (Q-344B - Quimis - Brasil - 40 rpm, 60 °C). O Dimetil sulfóxido (DMSO, Merck, Darmstadt, Alemanha) foi utilizado para a diluição do Extrato Hidroetanólico de *C. Flexuosa* (EHECF) e o Fluconazol (Capsule-Flucomed), diluído em água, foi empregado como referência.

A linhagem padrão de *C. albicans* (CA INCQS 40006) foi adquirida da Coleção Cultura do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz. Após a inoculação das cepas em Sabouraud Dextrose Agar (SDA, KASVI) e posterior incubação por 24h a 37°C, pequenas alíquotas foram transferidas para tubos de ensaios de 3 mL de solução estéril salina a 0,9%, tendo sua turbidez comparada segundo escala de Mc Farland (NCCLS, 2002).

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada mediante método de microdiluição de caldo em placas de 96 poços. Cada poço foi preenchido com 100 µL de caldo Dextrose Sabouraud (SDB, HIMEDIA) duplo concentrado contendo 10% de inóculo fúngico e 100 µL do EHECF ou fluconazol a 4096 µg/mL foi adicionado ao primeiro poço e microdiluído em concentrações que variaram de 2 a 2048 µg/mL. Na atividade combinada o extrato, em concentração subinibitória (Concentração matriz ou CM/16), foi associado ao fluconazol que foi microdiluído. Os testes foram realizados em triplicata e as placas submetidas à incubação a 37 °C por 24 h e posteriormente lidas num espectrofotômetro em 630 nm. (JAVADPOUR *et al.*, 1996; COUTINHO *et al.*, 2008).

4. Resultados

No que concerne à atuação intrínseca do Extrato Hidroetanólico (EHECF) em cepa multirresistente de *Candida albicans* constatou-se que seu efeito inibitório ocorreu quando utilizado em altas concentrações, com CIM igual ou superior a 4096 µg/mL. Não obstante, a avaliação do potencial modulador do extrato sobre a atividade antifúngica do fluconazol revelou-se antagônica, uma vez que a combinação do extrato hidroetanólico em concentrações sub-inibitórias com o fluconazol reduziu a efetividade do fármaco, sendo necessárias concentrações maiores para a inibição dos microrganismos se comparado ao uso isolado do medicamento. Nesse ínterim, após 24 h de incubação observou-se crescimento fúngico em todas as concentrações analisadas (2 a 2048 µg/mL) (Figura 1).

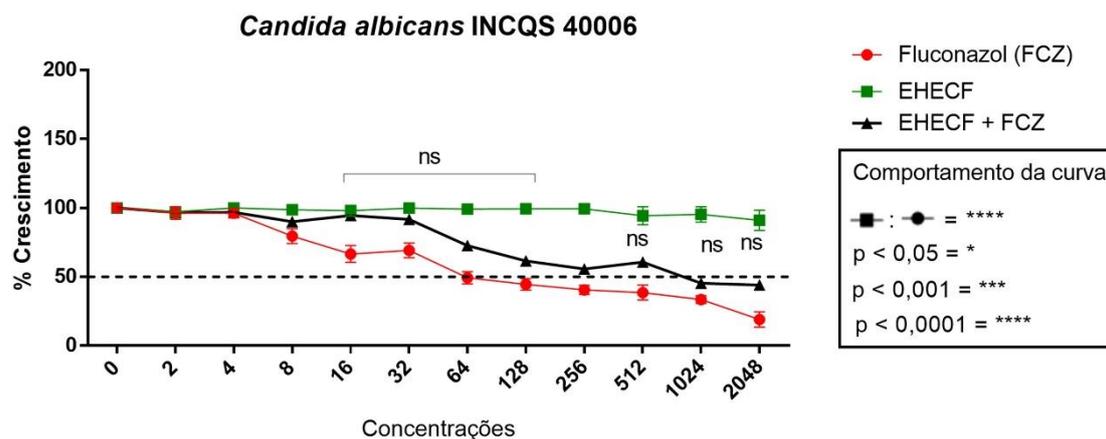
Este é o primeiro relato de atividade antifúngica para esta espécie, bem como para todo o gênero *Cynophalla*, que ainda é pouco investigado quanto a suas potencialidades farmacológicas.

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

Figura 1 – Efeito antifúngico do Extrato Hidroetanólico da Folhas de *Cynophalla flexuosa* (EHFCF) sozinho e em combinação com o fluconazol



5. Conclusão

O EHECF não apresentou atividade antifúngica intrínseca relevante frente a *C. albicans* INCQS 40006. Quando consorciado ao fluconazol, o EHECF prejudica a ação do fármaco, sendo desaconselhável o uso concomitante dessas substâncias no tratamento de infecções envolvendo *C. albicans*. Devido à escassez de estudos inerentes a *Cynophalla flexuosa*, suas potencialidades farmacológicas ainda são pouco conhecidas, justificando o investimento em novas pesquisas que avaliem sua atividade sobre outras variedades de fungos, bem como sua possível ação frente aos demais micro-organismos patógenos, como bactérias e protozoários, a fim de se identificar o verdadeiro potencial bioativo da espécie.

6. Referências

- AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Sinopse das plantas tidas como medicinais e venenosas no Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 114-140, 2007.
- ALMEIDA, C. F. C. B. R. **Etnobotânica nordestina**: estratégia de vida e composição química como preditores do uso de plantas medicinais por comunidades locais na caatinga. 2004. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2004.
- ARAÚJO, F. A. *et al.* Etnobotanic and etnovet in jacu settlement in municipality of Pombal, Paraíba, Brazil. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 4, p. 25, 2011.

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: “Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação”

- CHUDZIK, B. *et al.* A new look at the antibiotic amphotericin B effect on *Candida albicans* plasma membrane permeability and cell viability functions. **European Biophysics Journal**, v. 44, n. 1-2, p. 77-90, 2015.
- COUTINHO, H.D.M. *et al.* Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. **Chemotherapy**, v. 54, n. 4, p. 328-330, 2008.
- DADAR, M. *et al.* *Candida albicans* - Biology, molecular characterization, pathogenicity, and advances in diagnosis and control—An update. **Microbial pathogenesis**, v. 117, p. 128-138, 2018.
- JAVADPOUR, M. M. *et al.* De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. **Journal of medicinal chemistry**, v. 39, n. 16, p. 3107-3113, 1996.
- LO, H. J. *et al.* Cph1p negatively regulates MDR1 involved in drug resistance in *Candida albicans*. **International journal of antimicrobial agents**, v. 45, n. 6, p. 617-621, 2015.
- NCCLS Norma M27-A2. **Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para Determinação da Sensibilidade à Terapia Antifúngica das leveduras**; Norma Aprovada – Segunda Edição. Norma M27-A2 do NCCLS (ISBN 1-56238-469-4). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 Estados Unidos, 2002.
- QADIR, M. I.; ASIF, H. An overview to Candidiasis - A *Candida* infection. **International Journal of Advanced Research in Microbiology and Immunology**, 2019; 2(1): 6-8.
- RIBEIRO, D. A. *et al.* Potencial terapêutico e uso de plantas medicinais em uma área de Caatinga no estado do Ceará, nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, p. 912-930, 2014.
- ROMO, J. A.; KUMAMOTO, C. A. On commensalism of *Candida*. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 1, p. 16, 2020.
- RODRÍGUEZ, M. O. Molecular mechanisms associated with azole resistance, 2019. In: ***Candida species***, Collection of Articles on Biochemistry, Genetics and Molecular Biology (2020).
- SANGLARD, D. Mechanisms of drug resistance in *Candida albicans*. In: ***Candida albicans: Cellular and Molecular Biology***. Springer, Cham, 2017. p. 287-311.
- SILVA, M. G. C. *et al.* 2015. Distribuição de espécies de *Candida* e suscetibilidade ao fluconazol de isolados de hemocultivos em hospital regional de Passo Fundo, RS, Brasil. **J Bras Patol Med Lab**, v. 51, n. 3.
- SOARES NETO, R.L.; LUBER, J. 2020. Capparaceae in **Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB105672>>. Acesso em: 16 nov. 2021.
- VIEIRA, A. J. H.; SANTOS, J. I. Mecanismos de resistência de *Candida albicans* aos antifúngicos anfotericina B, fluconazol e caspofungina. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 49, n. 3, p. 235-9, 2017.