

VIII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVI Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 09 de dezembro de 2023

Tema: "INTERIORIZAÇÃO DA CIÊNCIA E REDUÇÃO DE ASSIMETRIAS: O PAPEL DOS PIBIC'S COMO EXPERIÊNCIA DE ARTICULAÇÃO DA PESQUISA NA GRADUAÇÃO E NA PÓS-GRADUAÇÃO"



ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Astronium urundeuva* M. ALLEMÃO (ANACARDIACEAE) FRENTE ÀS CEPAS DE *Candida* SPP.

José Thyálisson da Costa Silva¹, Maria Helena Garcia Novaes², Maria Flaviana Bezerra Moraes Braga³, Naiza Saraiva Farias⁴, Terezinha Raila Ramos de Sousa⁵, Fabio Caboclo Moreira⁶, José Weverton Almeida Bezerra⁷

Resumo: A resistência fúngica está se tornando um problema crescente na saúde pública, dificultando o tratamento de doenças. Para enfrentar essa questão, há um aumento na pesquisa de compostos de origem natural, os óleos essenciais possuem altas cargas bioativas. Este estudo objetivou-se na análise da ação antifúngica do óleo essencial da *Astronium urundeuva* M. Allemão, frente cepas fúngicas padrões e MDR. Com a coleta e secagem das folhas da *A. urundeuva*, extraísse o óleo por meio da hidrodestilação. Para os testes fúngicos verificou-se a Concentração Inibitória Média (IC50). Utilizou-se a metodologia de microdiluição em caldo. Calculou-se ainda a Concentrações Matriz Sub-inibitória (CM/8) com base no resultado da IC50 e o teste potencializador de fluconazol foi realizado com cepas MDR. Para a análise estatística utilizou-se ANOVA. O estudo revelou que o OEAU apresentou baixa a uma atividade antifúngica intrínseca, contudo, quando combinado com fluconazol demonstrou notável ação potencializadora contra cepas de *C. krusei* (0,18 µg/mL) e *C. tropicalis* (1,9 µg/mL) relevante. Concluindo que são necessários mais estudos sobre o OEAU, verificando o mecanismo de ação.

Palavras-chave: *Myracrodruon urundeuva*, Etnofarmacologia, Plantas Medicinais, Resistência fúngica, Antimicrobiano.

1. Introdução

A resistência crescente dos fungos aos medicamentos é uma preocupação significativa para a saúde humana, especialmente devido à diminuição da eficácia dos tratamentos antifúngicos sistêmicos disponíveis, originando os fungos Multirresistentes a Drogas (MDR) (Arastehfar *et al.*, 2020). O gênero *Candida* é uma das fontes principais de infecções fúngicas invasivas, afetando principalmente indivíduos com sistemas imunológicos comprometidos, submetidos a procedimentos médicos invasivos ou enfrentando lesões graves, com destaque para casos ligados à *Candida albicans* (Pfaller *et al.*, 2019).

1 Universidade Regional do Cariri, email: jose.thyalisson@urca.br

2 Universidade Regional do Cariri, email: hellena.novais@urca.br

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

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

5 Universidade Regional do Cariri, email: terezinharaila.ramos@urca.br

6 Universidade Regional do Cariri, email: fabio.moreira@urca.br

7 Universidade Regional do Cariri, email: weverton.almeida@urca.br

VIII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVI Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 09 de dezembro de 2023

Tema: "INTERIORIZAÇÃO DA CIÊNCIA E REDUÇÃO DE ASSIMETRIAS: O PAPEL DOS PIBIC'S COMO EXPERIÊNCIA DE ARTICULAÇÃO DA PESQUISA NA GRADUAÇÃO E NA PÓS-GRADUAÇÃO"



Como forma de controle fúngico alternativa, as plantas medicinais são vistas como forma promissora de tratamento de doenças, por apresentarem propriedades terapêuticas comprovadas, a aplicação das plantas ocorre de maneira tradicional, como chás ou em outras preparações (Pedroso; Andrade; Pires, 2021). O destaque principal está na utilização de óleos essenciais, notadamente pela sua origem nos metabólitos secundários das plantas, apresentando ricas substâncias bioativas (Nuta *et al.*, 2021).

O óleo essencial, em destaque da *Astronium urundeuva* M. Allemão, uma planta com aplicações na medicina tradicional e indústria farmacêutica, é reconhecida por propriedades benéficas como cicatrizante, anti-inflamatório e tratamento ginecológico. Pode ser empregada em forma de decocção, chá e maceração (Magalhães *et al.*, 2019). É uma árvore nativa do Brasil da família Anacardiaceae, conhecida como aroeira (Lorenzi, 2020). São apresentadas ações antibacteriana, acaricida, inseticida, antioxidante e antiparasitária (Domingos; Silva, 2020).

A importância de buscar compostos naturais com propriedades bioativas para enfrentar enfermidades causadas por fungos multirresistentes é um problema grave para saúde pública. Com isto, surge a hipótese que o óleo essencial das folhas da *Astronium urundeuva* apresente ação antifúngica contra cepas de *Candida*, além de potencializador a ação de fármacos antifúngico, visando potenciais benefícios terapêuticos com efeitos adversos mais suaves.

2. Objetivo

- Objetivo geral
 - Avaliar o potencial antifúngico do óleo essencial das folhas da *Astronium urundeuva* frente cepas *Candida*.
- Objetivo específico
 - Analisar a atividade antifúngica intrínseca do óleo essencial da *Astronium urundeuva* contra cepas patogênicas
 - Examinar a atividade potencializado de fluconazol, como fármaco antifúngico.
 - Verificar a concentração fungicida mínima (CFM) do óleo essencial, frentes cepas patogênicas.

3. Metodologia

Material vegetal

Para o material botânico foram coletadas as folhas da *A. urundeuva* no município de Quixelô, Ceará, Brasil, na latitude - 39°16'07.4 S, e longitude - 6°15'31.1 W. A pesquisa registrada no Sistema Nacional de Gestão do do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) número 91.569 e no Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SisBio) número AB55BA5.

Extração do óleo essencial

Para obter o óleo essencial da *A. urundeuva* (OEAU), as folhas foram secas, trituradas e submetidas a um processo de extração em um balão

VIII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVI Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 09 de dezembro de 2023

Tema: "INTERIORIZAÇÃO DA CIÊNCIA E REDUÇÃO DE ASSIMETRIAS: O PAPEL DOS PIBIC'S COMO EXPERIÊNCIA DE ARTICULAÇÃO DA PESQUISA NA GRADUAÇÃO E NA PÓS-GRADUAÇÃO"



volumétrico de 5 L contendo 2 L de água destilada. A fervura constante por 2 horas utilizando o sistema de *Clevenger* originou o óleo, que foi armazenado em um frasco âmbar e refrigerado a -4 °C.

Atividade antifúngico

Cepas, meio de cultura e drogas

As cepas utilizadas para os ensaios antifúngicos foram: *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis*, cepas padrões e MDR, do Laboratório de Micologia Aplicada (LMAC) obtidas da Coleção de Cultura Oswaldo Cruz do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS). Os meios de culturas que forma utilizado para o crescimento: *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) e *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB). A droga antifúngica de referência foi o Fluconazol diluído da mesma forma dos produtos.

Cultivo, preparo de inóculo e solução

O crescimento das cepas, foram incubadas as amostras em meio SDA a 37 °C por 24 horas. Após o crescimento, as suspensões de microrganismos são preparadas em tubos com NaCl a 0,9%, agitadas e comparadas usando a escala de turbidez de McFarland, com 0,5 como referência. O OEAU (0,0191 g) e o Fluconazol são dissolvidos em DMSO (1 mL). Em seguida, é feita uma diluição de 9 mL de meio de cultura SDB para alcançar uma solução matriz com concentração de 1.024 µg/mL.

Concentração Inibitória Média (IC50) e Concentração Fungicida Mínima (CFM)

O crescimento fúngico foi avaliado usando a técnica de microdiluição em caldo, em que o OEAU e o Fluconazol foram diluídos em concentrações variando de 1.024 a 2 µg/mL. O teste foi realizado em quadruplicata, com controle de crescimento e esterilidade. Controles de diluição e esterilidade foram realizados, e a leitura foi feita a uma absorbância de 630 nm usando um leitor de ELISA (Morais-Braga et al., 2016).

Para a CFM, após microdiluição em quadruplicata e incubação a 37 °C por 24 horas, 10 µL de cada poço foram coletados e transferidos para subcultura em placas de *Petri* com meio SDA, seguidas por nova incubação. Posteriormente, a presença ou ausência de crescimento de colônias de *Candida* foi observada, e a concentração sem crescimento foi identificada como a CFM do produto (Fonseca et al., 2022).

Avaliação da atividade modificadora do Fluconazol

No caso da avaliação da atividade combinada, o composto analisado com base na Concentração Matriz subinibitória (CM/8), uma vez que a CFM não pôde ser determinada. O Fluconazol foi testado em concentrações variando de 1024 a 2 µg/mL. As placas utilizadas na técnica de microdiluição em caldo e diluição seriada foram incubadas a 37 °C por 24 horas, e a leitura conduzida através de um espectrofotômetro ELISA (Termoplate® Kasuaki, China) (Morais-Braga et al., 2016).

VIII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVI Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 09 de dezembro de 2023

Tema: "INTERIORIZAÇÃO DA CIÊNCIA E REDUÇÃO DE ASSIMETRIAS: O PAPEL DOS PIBIC'S COMO EXPERIÊNCIA DE ARTICULAÇÃO DA PESQUISA NA GRADUAÇÃO E NA PÓS-GRADUAÇÃO"



Análise estatística

A análise dos resultados forma conduzida utilizando o software GraphPad Prism versão 6 (Graph Pad Software Inc., San Diego, CA, EUA) e envolveu a aplicação da Análise de Variância de uma via (ANOVA one-way), seguida pelo teste *post-hoc* de Tukey. Os resultados foram considerados estatisticamente significantes quando o valor de $p < 0,05$ (Fernandes *et al.*, 2022).

4. Resultados

Atividade antifúngica e potencializadora de fármaco

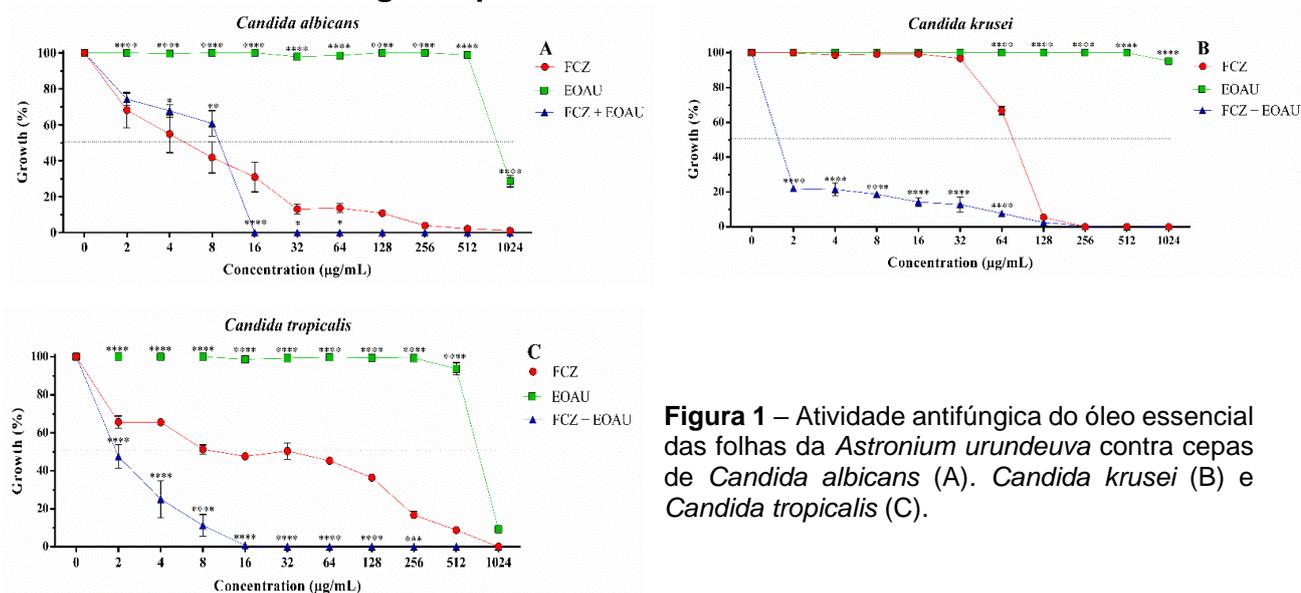


Figura 1 – Atividade antifúngica do óleo essencial das folhas da *Astronium urundeuva* contra cepas de *Candida albicans* (A), *Candida krusei* (B) e *Candida tropicalis* (C).

A avaliação da atividade antifúngica do OEAU, pode ser apresentado conforme na Fig. 1, o OEAU apresentou capacidade de inibição contra *C. albicans* (909,9 µg/mL), *C. tropicalis* (745,4 µg/mL) e *C. krusei* (> 1.024 µg/mL). A CFM do OEAU contras todas as cepas foram de ≥ 1.024 µg/mL, não sendo considerado de relevância clínica.

Contudo, quando associado ao fluconazol, o OEAU apresentou ação potencializadora de grande relevância para cepas de *C. krusei* (0,18 µg/mL) e *C. tropicalis* (1,9 µg/mL) mas sem mudança significativa contra *C. albicans*, essa atividade pode ser associada a fatores intrínseco ao óleo essencial, como sua propriedade hidrófoba ou ação de constituinte bioativos presentes no óleo essencial.

5. Conclusão

Deste modo, o óleo essencial das folhas da *Astronium urundeuva*, não apresentou atividade antifúngica, contudo, potencializou a ação do fármaco fluconazol, contra cepas fúngicas e patogênicas de *Candida*, ressaltando-se ainda a necessidade de estudos aprofundados acerca do seu mecanismo de ação e possíveis ação toxica, para o aprimoramento do conhecimento.

6. Agradecimentos

VIII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVI Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 09 de dezembro de 2023

Tema: "INTERIORIZAÇÃO DA CIÊNCIA E REDUÇÃO DE ASSIMETRIAS: O PAPEL DOS PIBIC'S COMO EXPERIÊNCIA DE ARTICULAÇÃO DA PESQUISA NA GRADUAÇÃO E NA PÓS-GRADUAÇÃO"



Agradecemos o apoio do Laboratório de Micologia Aplicada do Cariri (LMAC), a Universidade Regional do Cariri (URCA) e a Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pelo apoio financeiro.

7. Referências

- ARASTEHFAR, A. *et al.* Drug-resistant fungi: an emerging challenge threatening our limited antifungal armamentarium. **Antibiotics**, v. 9, n. 12, p. 877, 2020.
- DOMINGOS, F.; SILVA, M. Use, knowledge and conservation of *Myracrodruon urundeuva*: A systematic review. **Res. Soc. Dev**, v. 9, p. 8851, 2020.
- FERNANDES, P. A. S., *et al.* Phytochemical Analysis, Antibacterial Activity and Modulating Effect of Essential Oil from *Syzygium cumini* (L.) Skeels. **Molecules**, v. 27, n. 10, p. 3281, 2022.
- FONSECA, V. J. A. *et al.* Lectins ConA and ConM extracted from *Canavalia ensiformis* (L.) DC and *Canavalia rosea* (Sw.) DC inhibit planktonic *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. **Archives of Microbiology**, v. 204, n. 6, 2022.
- LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. vol.1. 5ª edição. Nova Odessa: **Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda**, 2020.
- MAGALHÃES, K. N. *et al.* Medicinal plants of the Caatinga, northeastern Brazil: Ethnopharmacopeia (1980–1990) of the late professor Francisco José de Abreu Matos. **Journal of ethnopharmacology**, v. 237, p. 314-353, 2019.
- MORAIS-BRAGA, M. F. B. *et al.* *Psidium guajava* L. and *Psidium brownianum* Mart ex DC.: Chemical composition and anti-*Candida* effect in association with fluconazole. **Microbial Pathogenesis**, v. 95, p. 200-207, 2016.
- NUTA, D. C. *et al.* Contribution of essential oils to the fight against microbial biofilms—A review. **Processes**, v. 9, n. 3, p. 537, 2021.
- PFALLER, M. A. *et al.* Twenty years of the SENTRY antifungal surveillance program: results for *Candida* species from 1997–2016. In: Open forum infectious diseases. US: **Oxford University Press**, 2019. p. S79-S94.
- PEDROSO, R. S.; ANDRADE, G.; PIRES, R. H. Plantas medicinais: uma abordagem sobre o uso seguro e racional. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 31, 2021.