

# AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE TRÊS ESPÉCIES DE *Senna* FRENTE A CEPA DE *Trichophyton rubrum*

Andréa Maria Neves<sup>1</sup>; Raquel Oliveira dos Santos Fontenelle<sup>2</sup>; Irvila Ricarte de Oliveira<sup>3</sup>; Maria Goretti de Vasconcelos Silva<sup>4</sup>; Selene Maia de Moraes<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Estudante do Curso do Mestrado Acadêmico em Recursos Naturais –CCT- UECE; E-mail: [andreamarianeves@gmail.com](mailto:andreamarianeves@gmail.com), <sup>2</sup> Pesquisador do Laboratório de Microbiologia- CCAB-UVA. E-mail: [raquelbios@yahoo.com](mailto:raquelbios@yahoo.com), <sup>3</sup> Aluna de pós-doutorado em produtos naturais pela Universidade Federal do Ceará (UFC), Bolsista do CNPq; E-mail: [irvila\\_ricarte@yahoo.com](mailto:irvila_ricarte@yahoo.com), <sup>4</sup> Professor Titular da Universidade Federal do Ceará (UFC); E-mail: [mgvsilvaqa@gmail.com](mailto:mgvsilvaqa@gmail.com), <sup>5</sup> Professora Titular da Universidade Estadual do Ceará (UECE) e bolsista de produtividade do CNPq; E-mail: [selenemaidemoraes@gmail.com](mailto:selenemaidemoraes@gmail.com)

## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi determinar a concentração inibitória mínima - CIM e a concentração fungicida mínima – CFM dos extratos etanólicos das folhas de três espécies de *Senna* (*Senna splendida*, *Senna georgica* e *Senna trachypus*) frente ao fungo dermatofítico *Trichophyton rubrum*. Os ensaios de atividade antifúngica foram realizados através da técnica de microdiluição em caldo preconizado pelo CLSI (*Clinical Laboratory Standards Institute*). Os extratos de *S. splendida*, *S. georgica* e *S. trachypus* apresentaram atividade antifúngica frente à *Trichophyton rubrum*. Estes resultados corroboram com os achados de outros trabalhos que verificaram a atividade antimicrobiana para espécies pertencentes ao gênero *Senna*, evidenciando portanto, potencialidade de seus extratos.

**Palavras-Chave:** Antifúngico; Dermatofito; *Senna*

## INTRODUÇÃO

As dermatofitoses são infecções fúngicas cutâneas causadas por dermatófitos. Dentre os fungos rotineiramente isolados dessas infecções, o dermatofito *Trichophyton rubrum* é o mais frequente em casos clínicos. Sendo portanto, considerado um grande problema de saúde pública, de modo que, torna-se cada vez mais evidente a resistência desses fungos patogênicos as drogas antifúngicas convencionais (PERES et al., 2010).

Neste contexto, os estudos com plantas medicinais e seus derivados vêm ganhando destaque como fonte alternativa para tratamentos terapêuticos, uma vez que, a maioria destes vegetais apresentam em sua composição química componentes que possuem atividades antimicrobianas (ARAÚJO et al., 2015). Espécies de *Senna* são tradicionalmente utilizadas para o tratamento de doenças hepáticas, (KPODAR et al., 2016) como anti-inflamatória e anti-diarreica (ALMEIDA et al., 2005).

Portanto, a importância desse estudo está fundamentada na busca de novas pesquisas sobre o potencial antifúngico de espécies do gênero *Senna*, visto que, há poucos achados na literatura

científica referente ao potencial antifúngico dessas espécies. Desse modo, o objetivo do nosso estudo foi avaliar a atividade *in vitro* dos extratos etanólicos de *S. splendida*, *S. georgica* e *S. trachypus* frente ao fungo dermatofítico *Trichophyton rubrum*.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Coleta, identificação e preparação do material vegetal**

Os materiais vegetais (folhas) de *S. splendida*, *S. georgica* e *S. trachypus* foram coletadas em diferentes locais do Nordeste brasileiro. As amostras foram identificadas pelo Prof. Dr. Edson de Paula Nunes e registradas no Herbário Prisco Bezerra localizado na Universidade Federal do Ceará (UFC). Após a coleta, as folhas de *Senna* foram secas em estufa a 35°C e em seguida, foram trituradas e 10 g do material foi submetido separadamente à extração à frio submersos em hexano e etanol durante 7 dias, conforme descrito em Oliveira (2015). Posteriormente o material foi filtrado e logo depois submetido à evaporação em evaporador rotativo sob pressão. Em seguida, o concentrado foi seco em banho-maria até a completa evaporação por 40°C, obtendo-se o extrato hexânico e etanólico.

### **Ensaio antifúngico - Preparação do inóculo**

Foi testada uma cepa de *Trichophyton rubrum* (LABMIC 0203) adquirida da coleção de Cultura do Departamento de Micologia (URM) da Universidade Federal de Pernambuco. A cepa fúngica foi mantida em solução salina (0,09% de NaCl) estéril a 28 °C. No momento da análise, uma alíquota da suspensão foi feita e inoculada no meio ágar batata dextrose (Difco, MI, EUA), e em seguida incubada a 28 °C, durante um período de 10 dias. O inóculo foi preparado, de modo que, 9 mL de solução salina estéril (0,9%) foi adicionada a tubo inclinado contendo ágar e, a cultura de *T. rubrum* foi suavemente esfregada com alça de platina para desalojar os conídios. Em seguida a suspensão contendo fragmentos do micro-organismo teste foi transferido para um tubo estéril e o volume da suspensão foi ajustado com 9 mL de solução salina estéril até atingir a turbidez correspondente ao tubo  $5 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$  ou 0,5 na escala McFarland (FONTENELLE et al., 2007).

### **Ensaio de Microdiluição**

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos etanólicos de *Senna* foi realizada através do método de microdiluição em caldo. Para este ensaio, os testes foram realizados em placas com 96 poços. Adicionou-se inicialmente 100 µL de meio RPMI em todos os poços, 10 mg dos extratos de *Senna* foi diluído em 1 mL de Dimetilsufóxido (DMSO) a 5%, em seguida, 100 µL dessa solução foi acrescentado a todos os poços da primeira coluna para, em sequência, fazer as diluições seriadas. Finalmente, 100 µL do inóculo foi adicionado aos poços da placa. Como controle positivo foi utilizado o Cetoconazol (Sigma, Chemical Co., USA). Para as

análises de susceptibilidade os extratos foram testados em concentrações variando de 0,002 a 2,5 mg/mL. As placas foram cobertas com parafilme e incubadas a 37°C e a leitura visual foi realizada após cinco dias. Procedimento realizado em duplicata. A CIM é definida como a menor concentração do extrato capaz de inibir 100% do crescimento fúngico visível (FONTENELLE et al.; 2007).

A concentração fungicida mínima (CFM) foi determinada através da subcultura de 100 mL de solução removidas de poços da, sem turbidimetria, em agar batata dextrose, a 28 °C. As CFMs foram determinadas como a menor concentração que resultou na ausência de crescimento na subcultura depois cinco dias para *T. rubrum* (FONTENELLE et al., 2007).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Tabela 1. Concentração Inibitória Mínima de extratos etanólicos (EE) de *Senna* contra *Trichophyton rubrum*.

MICRO-ORGANISMO <i>T. rubrum</i> LABMIC 0203						
Parte usada	<i>Senna splendida</i>		<i>Senna georgica</i>		<i>Senna trachypus</i>	
	CIM	CFM	CIM	CFM	CIM	CFM
EE Folha (mg/ml)	0,62	1,25	1,25	2,5	1,25	2,5
Cetoconazol (ug/ml)	0,5		0,5		0,5	

LABMIC: Laboratório de Microbiologia; CEMM: Centro de Especialidades em Micologia Médica; CIM: Concentração inibitória mínima e CFM: Concentração fungicida mínima.

A atividade antifúngica dos extratos de *Senna* testados contra o dermatófito *T. rubrum*, avaliado neste estudo está apresentada na Tabela 1. Observou-se que todos os extratos etanólicos das folhas das plantas testadas apresentaram inibição antifúngica contra a cepa de *T. rubrum* ensaiada. O teste evidenciou que os extratos etanólicos das folhas de *S. splendida* foram melhores que os extratos etanólicos das folhas de *S. georgica* e *S. trachypus*. Esta propriedade antifúngica pode ser verificada quando observa-se a concentração inibitória mínima e a concentração fungicida mínima dos extratos estudados frente ao *T. rubrum*. Os resultados obtidos neste estudo encontram-se compatíveis com os achados de outros autores (ADEBAYO et al., 2014; FOKOU et al., 2015), os quais evidenciaram que extratos provenientes de diferentes espécies de *Senna* apresentaram efeito antimicrobiano contra cepas fúngicas e bacterianas.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Portanto, o extratos etanólicos das folhas de *S. spendida*, *S. georgica* e *S. trachypus* apresentaram propriedades antifúngicas, revelando a potencialidade de seus extratos. Entretanto, é recomendável a continuação do estudo microbiológico, bem como, identificar as substâncias responsáveis pela atividade e determinar as frações ativas.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao programa de Mestrado em Recursos Naturais, da Universidade Estadual do Ceará, a CAPES pela bolsa concedida; ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual Vale do Acaraú-Uva e a Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Goretti de Vasconcelos Silva.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEBAYO, M. A.; LAWAL, O. A.; SIKIRU, A. A.; OGUNWANDE, I. A.; AVOSEH, O. N. Chemical Constituents and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Senna podocarpa* (Guill. et Perr.) Lock. **American Journal of Plant Sciences**, v. 5, p. 2448-2453, 2014.

ALMEDIDA, C. F. C. B. R. D.; SILVA, T. C. D. L.; AMORIM, E. L. C. D.; MAIA, M. B. D. S.; ALBUQUERQUE, U. P. D. Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the caatinga (Northeast Brazil). **Journal of Arid Environments**, v. 62, p. 127–142, 2005.

ARAÚJO, E. R. D.; OLIVEIRA, D. C.; SOARES, T. D. C.; LANGASSNER, S. M. Z.; TAVARES, J. C. M.; SILVA, D. G. K. C. Avaliação do potencial antimicrobiano de extrato hidroalcoólico e aquoso da espécie *Anadenanthera colubrina* frente à bactérias gram-negativa e gram-positiva. **Biota Amazônia**, v. 5, n. 3, p. 66-71, 2015.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi (Approved Standard Document M38. CLSI), vol. M38-A2, second ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2008.

FOKOU, P. V. T.; NYARKO, A. K.; APPIAH-OPONG, R.; YAMTHE, L. R. T.; OFOSUHENE, M.; BOYOM, F. F. Update on Medicinal Plants with Potency on *Mycobacterium ulcerans*. **BioMed Research International**, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/917086>.

FONTENELLE, R. O. S.; MORAIS, S. M.; BRITO, E. H. S.; KERNTOPF, M. R.; BRILHANTE, R. S. N.; CORDEIRO, R. A.; TOMÉ, A. R.; QUEIROZ, M. G. R.; NASCIMENTO, N. R. F.; SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. Chemical composition, toxicological aspects and antifungal

activity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 59, p. 934-940, 2007.

KAPODAR, M. S.; KAROU, S. D.; KATAWA, G.; ANANI, K.; HOLALY, E. G.; ADJRAH, Y.; TCHACONDO, T.; KOMLAN, B.; SIMPORE, J. An ethnobotanical study of plants used to treat liver diseases in the Maritime region of Togo. **Journal of Ethnopharmacology**, v.181, p. 263–273, 2016.

OLIVEIRA, I. R. D. **Estudo da Variabilidade Química e do Potencial Farmacológico de Espécies de Senna do Nordeste**, 2015, 214f. Doutorado (Doutorado em Química Orgânica)-Universidade Federal do Ceará, 2015.

PERES, N. T. D. A.; MARANHÃO, F. C. A.; ROSSI, A.; ROSSI-MARTINEZ, N. M. Dermatofitos: interação patógeno-hospedeiro e resistência a antifúngicos. **Revista Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, n, 5, p. 657-67, 2010.