

PERFIL FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA FRAÇÃO HEXÂNICA DE *Mitracarpus baturitensis* (FABACEAE)

Andréa Maria Neves¹; Hélcio dos Santos Silva²; Elnatan Bezerra de Souza³; Raquel Oliveira dos Santos Fontenelle⁴; Selene Maia de Moraes⁵

¹Estudante do Curso de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia - Renorbio - UECE; E-mail: andreamarianeves@gmail.com; Docente/Pesquisador do Laboratório de Química de Produtos Naturais, Síntese e Biocatálise de Compostos Orgânicos - UVA; E-mail: helciosilvadossantos@gmail.com,

⁴Docente/Pesquisador do Herbário Francisco José de Abreu Matos - CCAB - UVA; E-mail: albzsouza@yahoo.com.br, ⁵Pesquisadora do Laboratório de Microbiologia – CCAB - UVA; E-mail: raquelbios@yahoo.com, ⁶Docente/Pesquisadora do Laboratório de Química de Produtos Naturais – UECE; E-mail: selenemaisdemoraes@gmail.com.

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo determinar o perfil fitoquímico e a atividade antifúngica da fração hexânica de *M. baturitensis* contra espécies de *Candida* ssp. Inicialmente, realizou-se o teste fitoquímico através de reações químicas para detecção das principais classes de metabólitos secundários e na sequência foi realizado o teste antifúngico através da técnica de microdiluição em caldo contra duas espécies de *Candida* ssp. A fração hexânica de *M. baturitensis* apresentou fenóis, taninos, flavonoides, saponinas e esteróides em sua composição, sendo verificado também atividade antifúngica frente as leveduras estudadas. Estes resultados corroboram com outros achados na literatura que verificaram metabólitos secundários para outras espécies pertencentes ao gênero *Mitracarpus*, bem como atividade antimicrobiana. Revelando, desta forma, potencialidade para esta espécie, evidenciando a importância de estudos futuros sobre os aspectos químicos e biológicos para a mesma.

Palavras-chave: Metabólitos; *Mitracarpus*; *Candida*.

INTRODUÇÃO

As infecções fúngicas causadas por patógenos oportunistas, em especial leveduras do gênero *Candida* ssp. são cada vez mais recorrentes. Este fato está muitas vezes associado ao uso exagerado de terapias antimicrobianas que desencadeou à resistência a múltiplas drogas, gerando, portanto, um obstáculo no tratamento contra estes patógenos (SANTOS et al.; 2018).

Diante deste emergente problema de saúde pública, torna-se imprescindível a busca por novos tratamentos antifúngicos adequados. Desse modo, os produtos naturais para o manejo de doenças fúngicas podem ser considerados como uma alternativa aos fungicidas sintéticos devido a sua baixa toxicidade, menor custo e menos efeitos colaterais. De acordo com a

Organização Mundial da Saúde (OMS), mais de 80% da população mundial depende da medicina tradicional para atender suas principais necessidades de saúde (SONY et al.; 2018).

Nesse sentido, a disponibilidade e a utilização da flora brasileira, a qual apresenta uma grande riqueza de biodiversidade, possibilitou a pesquisa por novos agentes antifúngicos derivados de extratos vegetais e óleos essenciais em razão do pequeno arsenal de fármacos existentes para o tratamento de micoses, principalmente devido ao fenômeno de resistência apresentado por estes microorganismos (SANTOS et al.; 2018).

Mitracarpus baturitensis é uma espécie limitada ao Brasil, sendo mencionada para o Distrito Federal e para os estados do Piauí, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Goiás, Bahia e Mato Grosso. É uma planta heliófita, encontrada entre 40 e 1000 m de altitude, preferencialmente sobre solos rochosos, lateríticos, ou sobre inselbergs e afloramentos rochosos no Bioma Caatinga e no Cerrado (SOUZA; CABRAL; ZAPPI, 2010).

Mediante a falta de estudos sobre o perfil químico e atividades biológicas para a referida espécie, a importância deste estudo está fundamentada na busca de novas pesquisas sobre o potencial químico e antifúngico de *M. baturitensis*. Desse modo, o objetivo do nosso estudo foi avaliar o perfil fitoquímico e a atividade antifúngica da fração hexânica de *M. baturitensis* contra espécies do gênero *Candida* spp.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta, identificação e preparação do material vegetal

A planta inteira de *M. baturitensis* foi coletada no Sítio São Miguel, na localidade de Serra do Rosário, em Sobral-CE. Após a coleta, o material foi seco durante cinco dias à temperatura ambiente. Após a secagem, o material botânico foi extraído com etanol, fornecendo o extrato bruto etanólico. O extrato etanólico foi solubilizado em água destilada e submetido à partição com hexano e acetato, o que resultou na fração hexânica e acetato.

Triagem fitoquímica

Após a obtenção da fração hexânica de *M. baturitensis*, esta foi submetida a triagem fitoquímica, de acordo com a metodologia descrita por Matos (2009). Através deste ensaio preliminar foi possível verificar as principais classes de metabólitos secundários através de reações químicas que resultaram no aparecimento de coloração e/ou precipitado, característico para cada classe de substância. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Ensaio de Microdiluição em Caldo

Para o ensaio da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de *M. baturitensis*, foi utilizado o método de microdiluição em caldo preconizado pelo CLSI (2008). Para este ensaio foram utilizadas duas espécies de *Candida* spp. sendo duas cepas de *C. albicans* e duas cepas de *C. tropicalis*, provenientes de pacientes da Santa Casa de Misericórdia de Sobral.

Em placas com 96 poços, adicionou-se inicialmente 100 µL de meio RPMI em todos os poços, e posteriormente 10 mg da amostra foi diluída em 1 mL de Dimetilsufóxido (DMSO) a 5%. Ao final 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, sendo todo este procedimento realizado em duplicata. Como controle positivo foi utilizado a anfotericina B. As análises de susceptibilidade de *M. baturitensis* foi avaliada em concentrações que variaram 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 48 horas. A CIM é definida como a menor concentração da amostra capaz de inibir 100% do crescimento fúngico visível (FONTENELLE et al.; 2007).

A concentração fungicida mínima (CFM) foi determinada através da subcultura de 100 µL de solução removidas de poços, sem turbidez, em meio Ágar Batata Dextrose, a 28 °C. A CFM foi determinada como a menor concentração que resultou na ausência de crescimento na subcultura após 48 horas (FONTENELLE et al., 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da triagem fitoquímica e da atividade antifúngica estão demonstrados na Tabela 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1- Triagem fitoquímica da fração hexânica de *M. baturitensis*.

METABÓLITOS	FH <i>M. baturitensis</i>
-------------	---------------------------

Flavonoides	+
Fenóis	+
Saponinas	+
Taninos	+
Esteroides	+
Alcaloides	-
Triterpenoides	-

Presente: + Ausente: - FH: Fração hexânica.

Para a triagem fitoquímica, foi possível perceber que a FH de *M. baturitensis* apresentou a maioria dos metabólitos pesquisados, não sendo identificado apenas alcaloides e triterpenoides em sua composição. Os metabólitos detectados na espécie estudada corroboram com os metabólitos mais comuns no gênero *Mitracarpus*, que é conhecido por apresentar flavonoides, alcaloides, esteroides, saponinas e triterpenoides em sua composição (FABRI et al.; 2009).

Tabela 2- Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) da fração hexânica de *M. baturitensis* frente as espécies de *Candida* spp.

Amostra	<i>C. albicans</i>		<i>C. albicans</i>		<i>C.tropicalis</i>		<i>C. tropicalis</i>	
	04		JMOR		AFS		MSAU	
	CIM	CFM	CIM	CFM	CIM	CFM	CIM	CFM
	(mg/mL)		(mg/mL)		(mg/mL)		(mg/mL)	
FH	0,31	0,62	0,62	1,25	0,62	1,25	0,62	1,25
Anfotericina	2,0 µg/mL		2,0 µg/mL		2,0 µg/mL		2,0 µg/mL	

LABIMIC: Laboratório de Microbiologia; FH- Fração hexânica.

Quanto aos ensaios antifúngicos para *M. baturitensis*, foi encontrado potencial inibitório contra todas as cepas de *Candida* spp. testadas com CIM variando de 0,31 mg/mL a 0,62 mg/mL e CFM de 0,62 mg/mL a 1,25 mg/mL, com destaque para *C. albicans* 04 que apresentou maior susceptibilidade. Quanto aos achados na literatura, foi observado apenas atividade antibacteriana do ácido ursólico isolado do extrato etanólico das partes aéreas dessa espécie contra *Streptococcus mutans*, não sendo encontrado relatos contra leveduras do gênero *Candida* sp. (BASTOS, 2013).

Vale ressaltar que esta atividade antifúngica apresentada pela FH de *M. baturitensis* poderá estar associado as várias vias metabólicas secundárias presentes nos vegetais, que dão origem a diversos metabólitos, sendo que muitos destes estão associados à atividade antifúngica como é o caso de saponinas, terpenos, alcalóides, cumarinas e taninos, sendo alguns desses identificados no presente estudo (GOULART et al.; 2013).

CONCLUSÃO

Os resultados da análise fitoquímica indicaram a presença de diferentes classes de metabólitos secundários, bem como efeito inibitório contra as espécies de *Candida* spp estudadas. Evidenciando, portanto, potencialidade da FH de *M. baturitensis*. Em contrapartida, é recomendável estudos sobre o isolamento de compostos químicos presentes na FH desta espécie, que bioguiados pelas ações antifúngicas poderão ser potenciais inibidores no tratamento de doenças recorrentes como candidíases.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia- RENORBIO, a Universidade Estadual do Ceará-UECE, a Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico-FUNCAP pela bolsa concedida, ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual Vale do Acaraú-UVA, ao Laboratório de Química de Produtos Naturais, Síntese e Biotransformação de Compostos Orgânicos da Universidade Estadual Vale do Acaraú-UVA e ao Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Estadual do Ceará-UECE.

REFERÊNCIAS

- BASTOS, R.M. 2013. 79f. **Avaliação da atividade antimicrobiana dos compostos isolados da planta *Mitracarpus baturitensis* frente à *Streptococcus mutans***. Mestrado Acadêmico (Biotecnologia)- Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Ceará, 2013. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/26259>. Acesso em: 10 de set. 2018.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts (Approved Standard. Document M27. CLSI), vol. M27-A3, **third ed.** Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2008.
- FABRI, R.L.; NOGUEIRA, M.S.; BRAGA, F.G.; COIMBRA, E.S.; SCIO, E. *Mitracarpus frigidus* aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial, and antioxidant effects. **Bioresource technology**, v. 100, n. 1, p. 428-433, 2009.
- 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, n. 5, p. 934-940, 2007.

FONTENELLE, R.O.S.; MORAIS, S.M.; BRITO, E.H.S.; BRILHANTE, R.S.N.; CORDEIRO, R.A.; NASCIMENTO, N.R.F.; KERNTOPF, M.R.; SIDRIM.; J.J.C.; ROCHA, M.F.G. Antifungal activity of essential oils of *Croton* species from the Brazilian Caatinga biome. **Journal of applied Microbiology**, v. 104, n. 5, p. 1383–1390, 2008.

GOULART, L.S., TELLES, H.L., MENDES, V.A., VIEIRA, M.C.S.; MOURA, S.V., RAMON, J.L., SOUZA, J. M., VIEIRA, J.C.S.; CAMPOS, E.P. Prospecção Antifúngica em *Agonandra brasiliensi*. **Rev Bras Farmacogn**, v. 94, n. 3, p. 289-294, 2013.

MATOS, F.J.A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. UFC. Fortaleza-Ceará, 45pp. Ed. UFC, 2009.

SANTOS, J.F.S.; ROCHA, J.E.; BEZERRA, C.F.; SILVA, M.K.N.; MATOS, Y.M.L.; FREITAS, T.S.; SANTOS, A.T.L.; CRUZ, R.P.; MACHADO, A.J.T.; RODRIGUES, T.H.S.; BRITO, E.S.; SALES, D.L.; OLIVEIRA ALMEIDA, W.; COSTA, J.G.M.; COUTINHO, H.D.M.; MORAIS-BRAGA, M.F.B. Chemical composition, antifungal activity and potential anti-virulence evaluation of the *Eugenia uniflora* essential oil against *Candida* spp, **Food Chemistry**, p. 1-20, 2018.

SOUZA, E.B.; CABRAL, E.L.; ZAPPI, D.C. Revisão de *Mitracarpus* (Rubiaceae – Spermaceae) para o Brasil. **Rodriguésia**, v.61, n.2, p.319-352, 2010

SONY, P.; KALYANI, M.; JEYAKUMARI, D.; KANNAN, I.; SUKUMAR, R.G. In vitro antifungal activity of *cassia fistula* extracts against fluconazole resistant strains of *Candida* species from HIV patients. **Journal de mycologie medicale**, v. 28, n.1, p. 193-200, 2018.