

# AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA COMBINAÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE EXTRATOS DICLOROMETANO E ACETATO DE ETILA OBTIDOS DE FOLHAS DA PLANTA *Arrabidaea chica* FRENTE A CEPAS DE DERMATÓFITOS

Talita Cristina Ferreira (Aluna IC)<sup>1</sup>, Adriana Lopes Schiozer<sup>2</sup>, Lauro E.S. Barata<sup>2</sup>,  
Luzia Lyra e Angélica Zaninelli Schreiber (Orientador) <sup>1</sup>



<sup>1</sup>Laboratório de Investigação em Fungos Depto de Patologia Clínica-FCM; <sup>2</sup>Instituto de Química UNICAMP.

Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, CEP 13083-887, Campinas, SP, Brasil.

## INTRODUÇÃO

Dermatofitoses estão entre as doenças mais comuns no mundo e são causadas por membros do gênero *Trichophyton*, *Microsporum* ou *Epidermophyton*. Estas infecções continuam a ser um problema mundial, constituindo um grande volume de casos nos ambulatórios de dermatologia. Nos últimos anos, as doenças de pele causadas por fungos geofílicos estão diminuindo enquanto relatos de casos de zoonoses transmitidas entre os animais estão aumentando. Do ponto de vista epidemiológico, *Trichophyton rubrum* é o dermatófito mais importante no mundo ocidental, responsável por cerca de 80% de todas as dermatofitoses. *Microsporum canis*, um dermatófito zoofílico, ainda é o mais comum agente relatado causador da tinea capitis na Europa (BARCHIESI, et al. 2009).

*Arrabidaea chica* é utilizada como antiinflamatório e adstringente, e na medicina tradicional para tratamentos de doenças de pele, desinfecção das partes íntimas da mulher, cólicas intestinais, diarréias com sangramento, leucorréia, anemia e leucemia. As folhas frescas na forma de decocto são empregadas pela população indígena para tatuagens assim como limpeza de feridas crônicas e para o tratamento de doenças de pele como micoses e herpes (MORS et al., 2000).

## OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade biológica de combinações dos extratos que demonstraram maior atividade frente a cepas de dermatófitos dos gêneros *Trichophyton* e *Microsporum*.

## METODOLOGIA

**Cepas para estudo:** 31 cepas de dermatófitos pertencentes a micoteca do Setor de Micologia do Laboratório de Microbiologia do HC-UNICAMP, sendo 25 de *Trichophyton* e 6 de *Microsporum*.

**Identificação das cepas:** as cepas já tiveram sua identificação confirmada, de acordo com metodologia clássica conforme Lacaz et al, 2002.

**Extratos de folhas de *Arrabidaea chica*:** foram preparados no Laboratório de P & D de Produtos Naturais, Instituto de Química, Unicamp, sob responsabilidade do Prof Dr. Lauro E.S. Barata, utilizando os solventes diclorometano e acetato de etila.

**Método de Microdiluição em caldo:** foi realizado, de acordo com o CLSI M38-A2, para os extratos isolados e de acordo com Tudella 2001, para as combinações (método do tabuleiro de xadrez) (Figura 1). A leitura dos testes de CIM é realizada após 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas de incubação, a temperatura ambiente comparando-se o crescimento de cada cavidade com a do controle positivo, considerando-se a menor concentração da droga capaz de inibir qualquer crescimento fúngico visível.

**Avaliação dos resultados:** partindo da Concentração Inibitória Fracional (CIF) (coeficiente de interação entre drogas em qualquer combinação) determina-se o tipo de interação que ocorreu. A CIF para cada droga combinada é calculada através da CIM. Sendo duas drogas, X e Y, temos que CIF para X=CIM da combinação X±Y/ CIM droga X sozinha e CIF para droga Y=CIM da combinação X±Y/ CIM droga Y sozinha. O valor da CIF para a combinação da droga é calculado como CIF droga X + CIF droga Y=CIF droga X+Y. A interação é definida como sinergismo se CIF ≤0,5, indiferente se CIF for >0,5 e ≤4,0 e antagonista se CIF >4,0 (Ruiz-Cedoya et al, 2008).

**Cepas padrão:** para validação dos testes, foram utilizadas as cepas de *Candida parapsilosis* ATCC 22019 e *Candida krusei* ATCC 6258.

Os resultados esperados eram a melhora da atividade dos extratos combinados, com redução de CIM o que não ocorreu. Assim, uma das hipóteses é a formação de compostos inativos pela combinação ou de composições muito próximas dos dois extratos. Para confirmação das hipóteses estão sendo realizadas avaliações de UPLCMS (Ultra Performance Líquid Chromatography) acoplada à espectrometria de massa (Maldaner, 2009).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Podemos concluir que os extratos, de forma isolada, têm atividades promissoras e que a associação destes deve ser estudada com mais detalhes. Também seria interessante um processo de purificação destes extratos em busca do princípio ativo, caso atividade não seja decorrente da atividade conjunta de várias frações.

## CONCLUSÕES

Os resultados esperados eram a melhora da atividade dos extratos combinados, com redução de CIM o que não ocorreu. Assim, uma das hipóteses é a formação de compostos inativos pela combinação ou de composições muito próximas dos dois extratos. Para confirmação das hipóteses estão sendo realizadas avaliações de UPLCMS (Ultra Performance Líquid Chromatography) acoplada à espectrometria de massa (Maldaner, 2009).

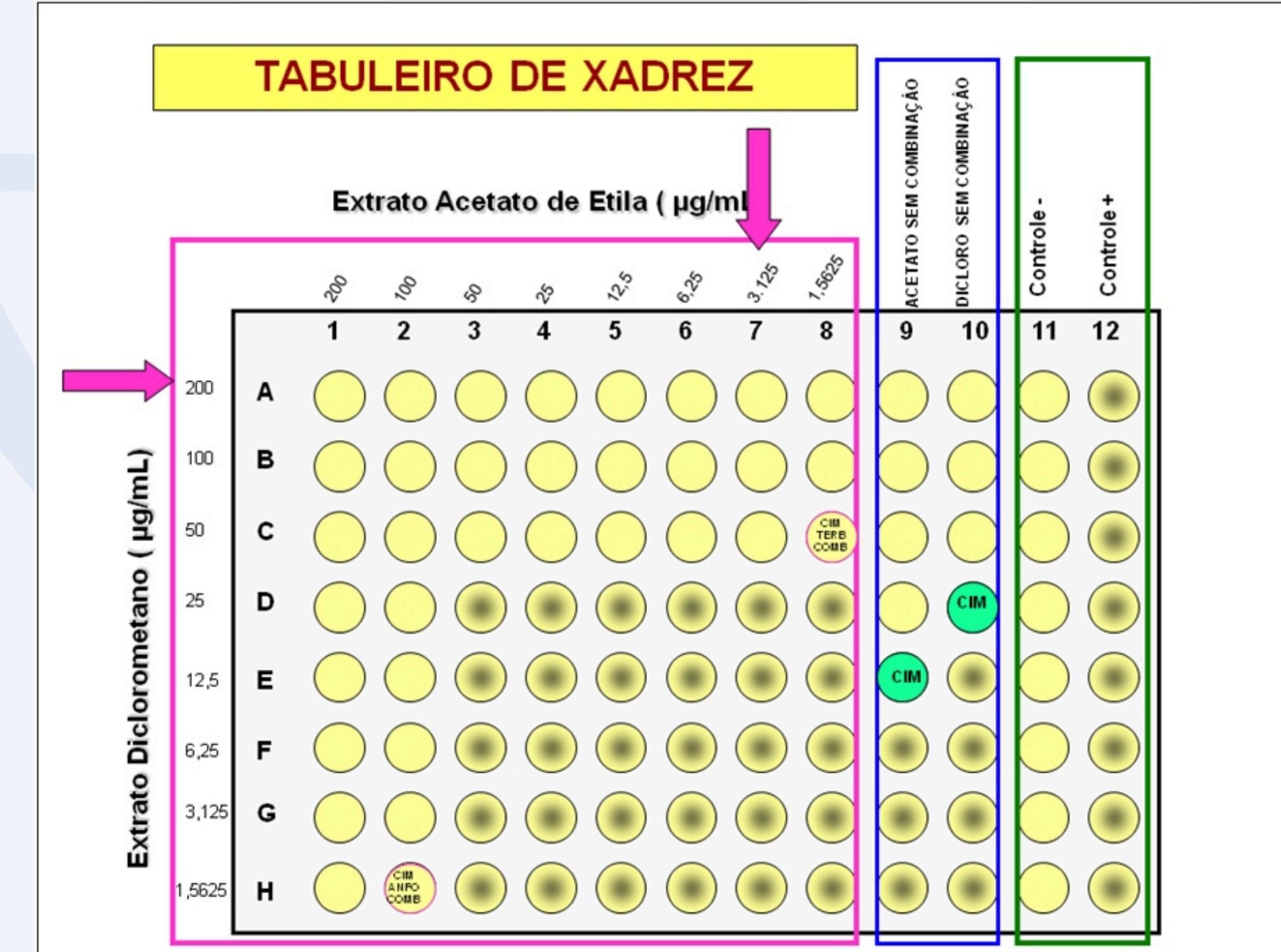


Figura 1 - Exemplo de teste de combinação de extratos.

Tabela 1 - Diferentes leituras dos resultados parciais dos testes de associação do extrato acetato de etila com extrato diclorometano.

Cepas	Identificação	Acetato de Etila											
		CIM Parciais		CIM Isol.		CIM comb.		CIM Isol.		CIM comb.		CIM Isol.	
		80%	80%	80%	80%	80%	80%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
LIF-9	<i>T.mentagrophytes</i>	10	100	10	10	200	20	300	100	0,33	300	200	0,66
LIF-10	<i>T.mentagrophytes</i>	2,5	0,8	0,15	2,5	0,78	0,12	300	0,39	0,0013	300	0,78	0,0028
LIF-11	<i>T.mentagrophytes</i>	5	100	5	100	200	20	300	0,39	0,0013	300	200	0,66
LIF-47	<i>T.mentagrophytes</i>	5	100	5	100	200	20	300	0,33	0,0013	300	200	0,66
LIF-178	<i>T.mentagrophytes</i>	5	100	5	100	200	5	400	0,33	0,0013	300	200	0,66
LIF-208	<i>T.mentagrophytes</i>	30	100	3,33	30	200	6,66	300	100	0,33	300	200	0,66
LIF-393	<i>T.mentagrophytes</i>	5	50	10	5	100	10	300	0,16	0,0013	300	50	0,33
LIF-438	<i>T.mentagrophytes</i>	30	50	1,66	30	100	3,33	300	50	0,16	300	100	0,33
LIF-500	<i>T.mentagrophytes</i>	20	100	5	20	200	10	300	0,33	0,0013	300	100	0,66
LIF-12	<i>T.Trubrum</i>	10	50	5	10	100	10	200	50	0,25	200	100	0,5
LIF-45	<i>T.Trubrum</i>	2,5	5	20	2,5	100	20	200	0,40	0,0013	200	50	0,125
LIF-142	<i>T.Trubrum</i>	5	100	20	5	100	20	200	5	0,33	300	200	0,66
LIF-207	<i>T.Trubrum</i>	40	100	2,5	40	200	5	300	100	0,33	300	200	0,66
LIF-233	<i>T.Trubrum</i>	10	50	5	10	100	10	200	50	0,16	300	100	0,33
LIF-249	<i>T.Trubrum</i>	20	100	5	20	200	10	200	100	0,5	200	200	1
LIF-289	<i>T.Trubrum</i>	10	50	5	10	100	10	200	50	0,16	300	100	0,33
LIF-367	<i>T.Trubrum</i>	10	200	20	10	400	40	200	200	1	200	400	2
LIF-371	<i>T.Trubrum</i>	100	50	0,5	100	100	1	300	50	0,16	300	100	0,33
LIF-434	<i>T.Trubrum</i>	100	50	0,5	100	100	1	200	50	0,25	200	100	0,5
LIF-442	<i>T.Trubrum</i>	200	50	0,25	200	100	0,5	300	50	0,16	300	100	0,33
LIF-1158	<i>T.Trubrum</i>	40	100	1,25	40	100	2,5	300	50	0,16	300	100	0,33
LIF-1172	<i>T.Trubrum</i>	40	100	2,5	40	200	5	200	100	0,5	200	100	0,5
LIF-1321	<i>T.Trubrum</i>	20	50	2,5	20	100	5	200	50	0,25	200	100	0,5
LIF-424	<i>T.Trichophyton</i> sp	50	100	2	50	200	4	300	100	0,33	300	200	0,66
LIF-507	<i>T.Trichophyton</i> sp	20	50	0,625	20	25	1,25	300	50	0,04	300	25	0,083
LIF-547	<i>T.Trichophyton</i> sp	20	50	0,5	20	100	5	300	50	0,16	300	100	0,33
LIF-64	<i>M.gypseum</i>	200	200	1	200	400	2	300	100	0,33	300	200	0,66
LIF-412	<i>M.gypseum</i>	100	200	2	100	400	5	200	100	0,33	300	200	1,33
LIF-463	<i>M.gypseum</i>	5	200	40	5	400	80	300	100	0,66	300	200	1,33
LIF-673	<i>M.canis</i>	20	100	5	20	200	10	300	100	0,33	300	200	1,33
LIF-343	<i>M.canis</i>	200	50	0,25	200	100	0,5	300	50	0,16	300	100	0,33

CIF= Concentração inibitória fracional,CIM Isol=CIM do extrato isolado em g/mL, CIM comb= CIM na combinação em g/mL, AcE= extrato Acetato de Etila, 80%=leitura de 80% de inibição de crescimento, 100%=leitura de 100% de inibição de crescimento.

Tabela 3 - CIF final para as diferentes leituras dos resultados parciais dos testes de associação do extrato diclorometano com extrato acetato de etila e interpretação dos resultados de interação.

Cepas	Identificação	Determinação de CIF Final											
CIF 1	CIF 2</th												