



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
CURSO DE GRADUAÇÃO FARMÁCIA**

**RAYANNE SALES DE ARAÚJO BATISTA**

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO  
HIDROALCOÓLICO E DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia*  
*sidoides* CHAM. SOBRE ESPÉCIES DE *Candida* DE  
INTERESSE MÉDICO**

CAMPINA GRANDE – PB  
2012

**RAYANNE SALES DE ARAÚJO BATISTA**

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO  
HIDROALCOÓLICO E DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia*  
*sidooides* CHAM. SOBRE ESPÉCIES DE *Candida* DE  
INTERESSE MÉDICO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Karlete Vania Mendes Vieira (UEPB/CCBS/DF)

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

B333a      Batista, Rayanne Sales de Araújo.  
                Atividade antifúngica do extrato hidroalcoólico e do  
                óleo essencial de *Lippia Sidoides* Cham. sobre espécies de  
                Candida de interesse médico. [manuscrito] / Rayanne Sales de  
                Araújo Batista. – 2012.  
                23 f.

                Digitado.  
                Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em  
                Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de  
                Ciências Biológicas e da Saúde, 2012.

                “Orientação: Profa. Dra. Karlete Vânia Mendes Vieira,  
                Departamento de Farmácia.”

                1. Fitoterapia. 2. Candidíase. 3. *Lippia Sidoides* Cham.  
                I. Título.


21. ed. CDD 615.321

RAYANNE SALES DE ARAÚJO BATISTA


**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO  
HIDROALCOÓLICO E DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia  
sidooides* CHAM. SOBRE ESPÉCIES DE *Candida* DE  
INTERESSE MÉDICO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao Curso de Graduação Farmácia Generalista  
da Universidade Estadual da Paraíba, em  
cumprimento à exigência para obtenção do  
grau de Bacharel em Farmácia.

Aprovada em 22/11/2012.

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Karlete Vania Mendes Vieira / UEPB  
Orientadora

  
Prof. Dr. Dalcio de Castro Felismino / UEPB  
Examinador

  
Prof.<sup>a</sup> MSc Zilka Nanes Lima / UEPB  
Examinadora

# ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO E DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia sidoides* Cham. SOBRE ESPÉCIES DE *Candida* DE INTERESSE MÉDICO

BATISTA, Rayanne Sales de Araújo<sup>1</sup>

## RESUMO

Convencionalmente, o tratamento das candidíases consiste na utilização de agentes antifúngicos de uso tópico e/ou sistêmico, sendo os derivados azólicos e poliênicos os mais comuns. Além dos efeitos adversos destes medicamentos, há crescente resistência por parte das cepas de *Candida*, fazendo com que surja uma demanda por formas terapêuticas eficientes, de baixo custo e fácil obtenção. Portanto, objetiva-se avaliar a atividade antifúngica do extrato hidroalcoólico e óleo essencial da folha de *Lippia sidoides* Cham. frente às principais espécies causadoras de candidíases oral e vulvovaginal. A partir das folhas frescas de *Lippia sidoides* Cham. foram obtidos o extrato hidroalcoólico, por maceração a frio, e óleo essencial, por hidrodestilação, os quais foram testados frente as cepas padrão *Candida albicans* (ATCC 18804), *C. parapsilosis* (ATCC 22019), *C. tropicalis* (ATCC 13803) e *C. guilliermondii* (ATCC 6260), utilizando o teste de difusão em ágar para determinar a atividade antifúngica e a concentração inibitória mínima do extrato e óleo essencial. Constatou-se que tanto o extrato hidroalcoólico quanto o óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. obtiveram resultados satisfatórios, porém o óleo mostrou maior potencial antifúngico, enfatizado através dos resultados referente a AA de todas as espécies ensaiadas, obtendo melhor resultado para *Candida guilliermondii*, assim como CIM em 4% para *Candida albicans*. Porém existe a necessidade de estudos mais específicos e quantitativos para futuro desenvolvimento de produtos fitoterápicos que possam ser utilizados no controle das referidas infecções fúngicas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fitoterapia. Candidíase. CIM.

---

<sup>1</sup> Acadêmica de Farmácia/ Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) /  
rayannesales@hotmail.com

## 1 INTRODUÇÃO

*Lippia sidoides* (Verbenaceae), popularmente conhecida como alecrim pimenta, é um arbusto, encontrado no sertão nordestino, principalmente nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte. A exemplo de outras plantas do gênero, *L. sidoides* é uma planta aromática, de uso medicinal popular, principalmente como anti-séptico (LACOSTE et al., 1996; LEMOS et al., 1990). Seu óleo essencial, rico em timol e carvacrol, apresentou propriedades bactericida e fungicida, enquanto o hidrolato revelou atividade moluscicida e larvicida (MATOS, 1996). Em virtude destas propriedades, este vegetal é cultivado em hortos de plantas medicinais e faz parte do elenco de plantas selecionadas pelo Governo do Estado, como fitoterápico.

No que se refere à utilização das plantas medicinais e Fitoterapia como práticas de promoção da saúde, a Organização Mundial da Saúde elaborou um documento denominado “Estratégias da OMS sobre Medicina Tradicional 2002-2005”, incentivando sua política e reforçando o desenvolvimento das políticas públicas, em seus países membros (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

No período de 2000-2006, aproximadamente 50% de moléculas químicas novas extraídas a partir de produtos naturais demonstraram a sua importância para o desenvolvimento de drogas no tratamento de doenças infecciosas (NEWMAN; CRAGG, 2007). A escolha de um tratamento adequado antifúngico é importante, embora limitado a alguns agentes licenciados (PROVIN; HADLEY, 2000). A crescente resistência de microorganismos aos antimicrobianos em uso tem atraído a atenção da comunidade científica em relação à busca de novas rentáveis drogas de origem natural ou sintética (PAI; ACHARYA; UDUPA, 2004).

As leveduras do gênero *Candida*, em particular a *Candida albicans*, são patógenos oportunistas frequentemente isolados das superfícies mucosas de indivíduos normais (MORAGUES et al., 2003). O delicado balanço entre o hospedeiro e esse fungo comensal pode-se transformar em uma relação parasitária, com o desenvolvimento de infecções denominadas candidíases (CHAFFIN et al., 1998).

A Candidíase Vulvovaginal (CVV) é atualmente um relevante problema na saúde da mulher, e profissionais atuantes nessa área têm a necessidade de conhecer aspectos atuais que estão sendo abordados sobre a sua patogenia, que possui ainda muitos aspectos para serem esclarecidos (ÁLVARES; SVIDZINSKI; CONSOLARO, 2007). A Candidíase Oral (CO) foi descrita como doença associada no primeiro caso de AIDS publicado, e constitui a infecção fúngica mais freqüente nos pacientes HIV-positivo. Considera-se que até 90% dos indivíduos

infectados pelo HIV sofrerão pelo menos um episódio de candidíase orofaríngea (BARBEDO; SGARBI, 2010).

Ainda segundo Barbedo & Sgarbi (2010), convencionalmente, o tratamento para as candidíases em geral é feito com a administração tópica e oral de antifúngicos azólicos e poliênicos. Porém vem se tornando frequente a presença de resistências desses microrganismos a estes medicamentos, devido seu uso inadequado. Além disso, essas drogas podem causar efeitos tóxicos e colaterais consideráveis, o que diminui a adesão pelo paciente. Logo, o uso de plantas medicinais como medicina tradicional se mostra bastante atrativo como uma terapia alternativa, exigindo estudos científicos acerca do assunto, que ainda são insuficientes.

Em vista disso, esse trabalho visa avaliar a atividade antifúngica do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. frente às espécies de *Candida* relacionadas às candidíases oral e vulvovaginal.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

O uso de plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão antigo quanto à espécie humana, tendo o conhecimento popular grande contribuição para divulgação das virtudes terapêuticas obtidas a partir do uso destas plantas. Assim, esse conhecimento representa, muitas vezes, um recurso terapêutico para muitas comunidades e grupos étnicos (MACIEL; PINTO; VEIG, 2002) que não dispõem de acesso a outros tratamentos disponíveis pela medicina ou que a preferem em relação à medicina tradicional por questões culturais.

Atualmente, atenção especial é dada ao estudo científico dos fitoterápicos, buscando-se recursos disponíveis, renováveis, o que permitiria uma atividade sustentável. Apenas cerca de 14% dos recursos vegetais são conhecidos adequadamente. A flora brasileira apresenta biodiversidade incomparável, e algumas empresas nacionais e multinacionais vêm se destacando pelo desenvolvimento de insumos naturais padronizados. É importante destacar que, na área da fitoterapia, existe a necessidade de se realizar estudos adequados para o desenvolvimento de matéria-prima fitoterápica e dos produtos que incorporem insumos naturais (BABY et al., 2005).

O Governo Federal aprovou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, por meio do Decreto Presidencial Nº. 5.813, de 22 de junho de 2006, a qual se constitui em parte essencial das políticas públicas de saúde, meio ambiente, desenvolvimento econômico e social como um dos elementos fundamentais de transversalidade na implementação de ações capazes de promover melhorias na qualidade de vida da população brasileira (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007). Através dessa Política, o governo busca inserir plantas medicinais, fitoterápicos e serviços relacionados à fitoterapia no Sistema Único de Saúde (SUS), com segurança, eficácia e qualidade, em conformidade com as diretrizes da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS.

Atualmente, uma grande parcela da população faz uso de medicamentos provindos de plantas medicinais, visto sua boa resposta nas terapêuticas, associada com custo baixo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Doenças causadas por fungos passaram a receber maior atenção no século passado, principalmente nas duas décadas finais, com o advento da AIDS, avanços nas terapêuticas de doenças de base, maior uso de antibacterianos, aprimoramento de técnicas de transplantes, enfim, com a maior sobrevivência de pacientes de variadas enfermidades. Dentre os fungos responsáveis por doenças em indivíduos imunodeprimidos, e nos aparentemente saudáveis,



encontramos as espécies do gênero *Candida*. A Candidíase é uma micose de importância em saúde pública, incluída também como DST. São diversas as espécies já reconhecidas como agentes causais, embora a mais bem estudada seja a *C. albicans*, já que é mais confirmado seu isolamento e sua identificação (BARBEDO; SGARBI, 2010).

A CVV é causada por fungos leveduriformes, a maioria deles pertencentes ao gênero *Candida* (ZIARRUSTA, 2002). Oitenta por cento a 90% dos casos são devidos a *C. albicans*; 10% a 20%, a outras espécies chamadas não-*C. albicans* (*C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. pseudotropicalis*, *C. lusitaniae*).

Extremos de idade (recém-nascidos e idosos); uso de próteses dentárias; tabagismo; alterações de barreira de mucosa; trocas de epitélio; alterações salivares; alterações hormonais, alterações nutricionais e imunológicas, são alguns dos fatores que predisõem à candidíase oral (URIZAR, 2002).

Antes da era dos antibióticos e corticóides, o número de infecções por fungos era bastante reduzido. Isso é particularmente verdade para as infecções por *Candida*, especialmente por *C. albicans*, que se apresentava como comensal, mas que, com as defesas comprometidas do indivíduo, se instala, invade tecidos e provoca danos. Concomitantemente, tem sido observada uma sensível elevação na frequência de CVV nos últimos anos, o que torna esse diagnóstico cada vez mais comum em ginecologia (ÁLVARES; SVIDZINSKI; CONSOLARO, 2007).

Aproximadamente 5% das mulheres com CVV desenvolvem Candidíase Vulvovaginal Recorrente (CVVR), definida usualmente como a ocorrência de quatro ou mais episódios de CVV no período de 12 meses. A patogênese da CVVR entre mulheres que não têm condições predisponentes aparentes, que são a grande maioria, está sob investigação. Uma elevação na resistência de espécies de *Candida* não tem sido observada na maioria dos casos, embora se analisarmos essas pacientes como um grupo, mulheres com recorrência têm uma prevalência discretamente mais elevada de *C. glabrata*, menos sensível às drogas imidazólicas, comumente utilizadas no tratamento de CVV e CVVR (ÁLVARES; SVIDZINSKI; CONSOLARO, 2007).

O tratamento da candidíase oral é simples nos pacientes imunocompetentes ou com imunodepressão leve, em que geralmente os antifúngicos tópicos apresentam resultados eficazes. No entanto, nos casos de imunodepressão o problema maior está na alta taxa de recorrências ou recidivas, requerendo a combinação de uma terapia intensiva tanto sistêmica como local. Em alguns casos se inclui propor a possibilidade de instaurar um tratamento profilático com derivados azólicos, como nos pacientes com HIV. Apesar dos excelentes

resultados com antifúngicos azólicos orais, encontramos formas clínicas de candidíases orais crônicas rebeldes ao tratamento (BARBEDO; SGARBI, 2010).

Os principais produtos vegetais que possuem atividade antimicrobiana são os extratos, os óleos essenciais, as frações látex e as proteínas (MATOS, 2000). Esses produtos naturais são considerados pelas comunidades uma alternativa para aliviar e até mesmo curar processos infecciosos e constituem uma importante fonte de novos compostos biologicamente ativos (BASTOS, 2007).

A exploração da biodiversidade brasileira pode levar a identificação de metabólitos secundários valiosos que podem servir como fitofármacos ou conduzir ao desenvolvimento de novos fármacos semi-sintéticos ou sintéticos. Comparado ao desenvolvimento de um novo medicamento sintético, que envolve vultosas somas de recursos (cerca de US\$ 350 milhões e 10 a 15 anos de pesquisa), o desenvolvimento de um fitomedicamento requer menos recursos, e também menor tempo de pesquisa. Estima-se que os custos para o desenvolvimento de um fitomedicamento não devem ultrapassar 2 a 3 % daquele previsto para o desenvolvimento de um novo medicamento sintético (CALIXTO, 2003).

Em vista disso, a necessidade de uma nova alternativa terapêutica, com baixa toxicidade e baixo custo é preeminente. Algumas plantas utilizadas popularmente como antiinflamatórias possuem considerada atividade antimicrobiana frente a vários patógenos, pois alguns traumas que comprometem a integridade da barreira cutânea constituem-se na principal causa de mudança de comportamento de bactérias que fazem parte da microbiota da pele para agente etiológico em infecções cutâneas (CAETANO et al., 2002; ZAVADINACK et al., 2001).

O gênero *Lippia* é conhecido por apresentar, principalmente, atividade antimicrobiana, antiinflamatória, antioxidante e larvicida (BOTELHO et al., 2007; MENDES et al., 2010; DAMASCENO et al., 2011). A espécie *Lippia sidoides* Cham., nativa da região do semi-árido do Nordeste brasileiro, é amplamente empregada na medicina popular como anti-séptico de uso local em pele e mucosas e está inserida no projeto Farmácias Vivas da Universidade Federal do Ceará (MATOS, 2000).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Obtenção e caracterização da amostra vegetal

*Lippia sidoides* Cham. foi coletada no Horto Florestal Lauro Pires Xavier, situado às margens do açude de Bodocongó, em Campina Grande–PB, em novembro de 2011. A identificação foi realizada no Laboratório de Botânica (UEPB), sendo a excicata da espécie depositada no Herbário Arruda Câmara da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), sob o nº 905.

#### 3.2 Obtenção do Extrato Vegetal e do Óleo Essencial

O extrato hidroalcoólico foi obtido no laboratório de Farmacognosia da UEPB, Campus I, segundo as recomendações da Farmacopéia Brasileira 2ª edição (1959). A partir da folha fresca submeteu-se a mesma ao processo de secagem e posterior moagem, e por conseguinte se procedeu com maceração a frio, utilizando a concentração 1:1 (p/v) de massa do material vegetal para o volume de álcool etílico 70%.

O óleo essencial foi extraído no Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio em Medicamentos (Labdem), no Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, UEPB, segundo LIMA et. al. (2006), através da técnica de hidrodestilação. Utilizou-se o aparelho de Clevenger adaptado a um balão de fundo redondo com capacidade para 1000 mL, onde as folhas frescas de *L. sidoides* foram colocadas e cobertas por água destilada, e submetidas a aquecimento a 100°C por 2h. Após o tempo de destilação, o óleo foi recolhido e acondicionado em recipiente apropriado ao abrigo da luz.

#### 3.3 Atividade Antifúngica

Para avaliação da atividade antifúngica do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial foram utilizadas cepas microbianas padrão *American Type Culture Collection* (ATCC) de *Candida albicans* (ATCC 18804), *C. parapsilosis* (ATCC 22019), *C. tropicalis* (ATCC 13803) e *C. guilliermondii* (ATCC 6260), disponibilizadas pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ – RJ).

O inóculo de leveduras foi adaptado e padronizado segundo o National Committee for

Clinical Laboratory Standards, (NCCLS, 2003), através da suspensão de colônias isoladas em solução salina disposta em tubos de ensaio, até a obtenção de turvação igual à escala 0,5 de Mc Farland, que equivale a aproximadamente  $1,5 \times 10^6$  UFC/mL.

Adaptado de Menezes et al. (2009), a atividade antifúngica foi avaliada pelo método de difusão em ágar ou meio sólido, utilizando-se cavidades em placa. O meio de cultura utilizado foi Ágar Sabouraud Dextrose. O inóculo padronizado foi disposto nas placas com o auxílio de um “swab” estéril. Adaptado de Ostrosky et al. (2008) na técnica de perfuração em ágar, a remoção do meio de cultura sólido foi realizada com auxílio de cilindros de 6-8 mm de diâmetro para a formação de poços, nos quais foram aplicados 50µL do extrato e do óleo essencial, separadamente, assim como o controle negativo, correspondente à solução hidroalcoólica na mesma concentração do extrato testado, para o extrato hidroalcoólico, e água destilada para o óleo essencial. Como controle positivo utilizou-se nistatina em disco, e para o controle negativo, álcool 70% para o extrato, e água destilada para o óleo. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C, durante um período de 24-48 horas. O ensaio foi realizado em duplicata. A leitura dos testes foi realizada com o auxílio de um paquímetro manual, considerados como possuidores de atividade antifúngica, o extrato e óleo que apresentaram um halo de inibição do crescimento igual ou superior a 10 mm de diâmetro.

### **3.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)**

Para a determinação da CIM do extrato hidroalcoólico, foram realizadas diluições seriadas, a partir do extrato bruto (100%), de 50 % (1:2 µg.mL<sup>-1</sup>), 25 % (1:4 µg.mL<sup>-1</sup>) 12,5 % (1:8 µg.mL<sup>-1</sup>) e, 6,25 % (1:16 µg.mL<sup>-1</sup>). As diluições foram obtidas transferindo-se 5 mL da forma obtida bruta para 5 mL de solução salina 0,85% estéril em tubo, obtendo-se a diluição de 1:2 µg.mL<sup>-1</sup> (50%), em seguida realizou-se o mesmo procedimento à partir da diluição 1:2 µg.mL<sup>-1</sup> para o tubo subsequente, repetindo este procedimento quatro vezes até obtenção da diluição de 1:16 µg.mL<sup>-1</sup> (6,25%).

Adaptado de Menezes et. al. (2009), para determinação da CIM do óleo essencial, foram realizadas diluições de 32, 16, 8, 4 e 2% a partir do óleo *in natura* (100%). A solução a 32% foi preparada com 1,6 mL de óleo + 0,004 mL de Tween 80 e água destilada esterilizada suficiente para completar 5 mL. Em seguida, homogeneizou-se a emulsão em agitador Vortex, por 15 minutos; da mesma forma, as demais concentrações foram obtidas mediante diluições seriadas.

Após a inoculação do micro-organismo e realização dos poços, foram distribuídos 50

$\mu\text{L}$  do extrato e do óleo da planta nas concentrações citadas anteriormente. Em sequência, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , durante um período de 24-48 horas. O ensaio foi realizado em duplicata. O resultado final foi determinado pela média aritmética dos halos de inibição. Sendo estabelecida como CIM a concentração do extrato e do óleo que desenvolveu um halo de inibição do crescimento fúngico maior ou igual a 10 mm de diâmetro.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se nas tabelas 1 e 2 a ação antifúngica do extrato hidroalcoólico e óleo essencial de *L. sidoides* Cham., respectivamente, constatando-se que ambos foram eficazes, porém o óleo obteve melhores resultados diante das cepas ensaiadas.

A inibição do crescimento mostrou-se homogênea, de acordo com o grau de concentração do extrato hidroalcoólico da planta, havendo uma diminuição proporcional dos halos à medida que a concentração do extrato foi diminuindo. Observando a Tabela 1 destaca-se uma ação potencial sobre a *C. guilliermondii* e *C. tropicalis*, levando em consideração a CIM.

Vários estudos têm apontado excelentes propriedades terapêuticas de extratos hidroalcoólicos. Entretanto, nos ensaios relativos à atividade antifúngica destes, *in vitro*, é possível verificar uma variedade de metodologias propostas, o que dificulta a comparação entre o presente trabalho e outros estudos. Silva et al. (2011) demonstraram que leveduras do gênero *Candida albicans* apresentaram halos de inibição de 16 mm, *Candida krusei* halos de 15 mm e *Candida tropicalis* halos de 14 mm frente ao extrato puro do alecrim-pimenta. Para a diluição de 1:2 do mesmo extrato a *Candida albicans* apresentou halo de inibição de 12 mm, *Candida krusei* de 13 mm e *Candida tropicalis* de 12 mm. As divergências encontradas nesse estudo em relação à pesquisa citada podem ser devidas a técnica extrativa e às diferenças na composição química da planta, esta, é determinada por fatores como local, condições de cultivo e época de colheita.

Silva (2012) testou os extratos hidroalcoólicos de *Syzigium aromaticum* L., *Symphytum officinale* L. e *Momordica charantia* L., entre outras espécies, sobre as mesmas espécies de *Candida* ensaiadas na presente pesquisa. Analisando seus resultados se nota a resistência das leveduras frente aos extratos de *Symphytum officinale* L. e *Momordica charantia* L., e uma boa atividade antifúngica para o extrato de *Syzigium aromaticum* L., com sensibilidade para três das quatro espécies leveduriformes testadas, com média de halo de inibição de 18 mm. Comparando-se ao ensaio realizado com a *Lippia sidoides* Cham. constata-se sensibilidade frente todas as cepas ensaiadas, e com média de halo de 19 mm, chegando a atividade superior de 24 mm de diâmetro de halo para *Candida parapsilosis*, enfatizando mais uma vez a forte atividade antifúngica dessa espécie vegetal.

A maior ou menor atividade biológica dos extratos hidroalcoólicos tem se mostrado dependente da composição de seus constituintes químicos presentes no vegetal. O efeito

TABELA 1: Halos em mm da atividade antifúngica e concentração inibitória mínima do extrato hidroalcoólico de *Lippia sidoides* Cham.

<b>Cepas ensaiadas</b>	<b>EB*</b>	<b>1:2</b>	<b>1:4</b>	<b>1:8</b>	<b>1:16</b>	<b>Controle (+)**</b>	<b>Controle (-)***</b>
<i>C. albicans</i>	<b>12,00</b>	-	-	-	-	<b>10,00</b>	-
<i>C. guilliermondii</i>	<b>21,50</b>	<b>14,00</b>	-	-	-	<b>14,50</b>	-
<i>C. parapsilosis</i>	<b>24,00</b>	-	-	-	-	<b>17,50</b>	-
<i>C. tropicalis</i>	<b>19,00</b>	<b>13,50</b>	<b>11,00</b>	-	-	<b>20,00</b>	-

\* Extrato Bruto / \*\* Nistatina / \*\*\* Álcool 70%

TABELA 2: Halos em mm da atividade antifúngica e concentração inibitória mínima do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham.

<b>Cepas ensaiadas</b>	<b>OB*</b>	<b>32%</b>	<b>16%</b>	<b>8%</b>	<b>4%</b>	<b>2%</b>	<b>Controle (+)**</b>	<b>Controle (-)***</b>
<i>C. albicans</i>	<b>80,00</b>	<b>34,00</b>	<b>20,00</b>	<b>12,00</b>	<b>10,00</b>	-	<b>10,00</b>	-
<i>C. guilliermondii</i>	<b>83,00</b>	<b>55,00</b>	<b>45,00</b>	<b>15,00</b>	<b>9,00</b>	<b>7,5</b>	<b>14,50</b>	-
<i>C. parapsilosis</i>	<b>80,50</b>	<b>20,00</b>	<b>17,00</b>	<b>12,50</b>	<b>8,00</b>	-	<b>17,50</b>	-
<i>C. tropicalis</i>	<b>58,00</b>	<b>29,50</b>	<b>17,50</b>	<b>10,00</b>	-	-	<b>20,00</b>	-

\* Óleo Bruto / \*\* Nistatina / \*\*\* Água destilada

os resultados para o óleo essencial bruto de *Lippia sidoides* Cham. apresentados na Tabela 2 demonstram relevante atividade antifúngica, e esse precedente se destaca com os resultados encontrados para CIM nas diluições de 32% a 2% do óleo bruto.

Os resultados citados para a atividade antifúngica de *Lippia sidoides* Cham. demonstraram um elevado potencial antifúngico dessa planta, confirmados pela CIM, que mostrou-se eficaz até a diluição de 8%, para *C. guilhermondii*, e 4% para *C. albicans*, levando em consideração o padrão de 10 mm de diâmetro para o halo. Silva et al. (2011) apresentou para leveduras do gênero *Candida albicans* halos de inibição de 16 mm, *Candida krusei* halos de 15 mm e *Candida tropicalis* halos de 14 mm frente ao extrato puro (0,86 g.ml<sup>-1</sup>), assim como para a diluição de 1:2 (0,43 g.ml<sup>-1</sup>) *Candida albicans* apresentou halo de inibição de 12 mm, *Candida Krusei* de 13 mm e *Candida tropicalis* de 12 mm, demonstrando que para o extrato da *Lippia sidoides* Cham. as leveduras do gênero *Candida albicans* foram sensíveis até a diluição de 1:2. Comparando com os resultados de Silva et al. (2011), percebe-se que são encontrados melhores resultados para o óleo essencial de alecrim-pimenta em relação ao extrato hidroalcolico da mesma espécie vegetal.

É sabido que as concentrações dos constituintes fitoquímicos de uma planta variam de acordo com os métodos extrativos, polaridade dos solventes, estação do ano, parte do vegetal utilizada. Ao consultar a literatura observou-se melhores resultados de atividade antimicrobiana com o óleo essencial de Alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) quando comparado aos resultados com o seu extrato hidroalcolico. Uma vez que, segundo Mendonça (1997), a explicação pode estar no fato de que esta espécie de planta se destaca pelos elevados rendimentos de seu óleo essencial, de até 6%, sendo rico em timol (43,5%), que é o responsável pelo alto poder antiséptico de suas folhas, acrescentam-se ainda outros constituintes [ $\alpha$ -felandreno (22,4%),  $\beta$ -cariofileno (9,7%),  $\alpha$ -cimeno (8,6%), mirceno (6,5%) e carvacrol (4,3%)] (SOUSA et al., 2004); e estes possuem atividade antimicrobiana comprovada (carvacrol, p-cimeno,  $\beta$ -cariofileno e 1,8-cineol), os quais, segundo Burt (2004) podem agir sinergicamente aumentando o potencial antimicrobiano.

Trabalhos registrados na literatura mostram atividade bactericida e fungicida contra diferentes espécies microbianas, bem como larvicida (BOTELHO et al., 2007; KORDALI et al., 2008). Segundo Fontenelle (2008), o Timol é encontrado em diversas plantas como *Thymus eriocalyx*, *Thymus x-porlock* e principalmente no óleo essencial da *Lippia sidoides* Cham., o qual possui atividade antimicrobiana. Mais uma vez corroborando para a associação da eficácia dos resultados obtidos nesta pesquisa a presença desse componente fitoquímico no óleo essencial ensaiado.



Estudos realizados por Ahmad et al. (2010) sugerem que o timol pode interagir diretamente com a enzima H<sup>+</sup>-ATPase frente a espécies de *Candida*, o que explica sua atividade antifúngica. Devido ao grande número de componentes químicos, os óleos essenciais não possuem alvos específicos na célula. Sua estrutura lipofílica permite a permeabilização das membranas, resultando em perda de íons, citocromo C, radicais, proteínas e redução do potencial de membrana, com consequente colapso da bomba de prótons e depleção de ATP (SIKKEMA et al., 1994; YOON et al., 2000; TURINA et al., 2006).

Segundo Daferera et al. (2003) o uso de óleos essenciais, como agentes antimicrobianos, oferece um baixo risco de desenvolvimento de resistência microbiana, pois sendo misturas de diferentes compostos, sua atividade antimicrobiana pode estar relacionada a diferentes mecanismos de ação, o que dificulta a adaptação dos micro-organismos.

Fontenelle et al. (2007) avaliaram o efeito do óleo essencial de *L. sidoides* (teor de timol 59,65%) sobre cepas de *C. albicans* e *C. tropicalis* através do método de microdiluição em caldo. A CIM e CFM (Concentração Fungicida Mínima) para *C. albicans* foi 1250 mg/mL e 2500 mg/mL, respectivamente. Para a cepa de *C. tropicalis*, foi encontrado uma CIM de 2500 mg/mL e uma CFM de 5000 mg/mL. Pina-Vaz et al. (2004) encontraram uma CIM e CFM para o timol de 0,16 µL/mL e 0,32 µL/mL frente a *C. albicans* e *C. tropicalis* utilizando o método de macrodiluição em caldo. Esses resultados mostram a necessidade de se fazer uma padronização dos métodos de extração dos óleos essenciais e dos ensaios antimicrobianos *in vitro*, para que a prospecção possa ser sistemática e objetiva, e haver uma melhor interpretação e comparação dos resultados.

Inúmeros estudos vêm sendo desenvolvidos para a determinação da atividade antimicrobiana de extratos de plantas, encontrando-se que uma grande variedade destes extratos possui potencial atividade sobre um vasto número de micro-organismos. Dentre esses estudos, Botelho et al. (2007) avaliaram a atividade antibacteriana e antifúngica do óleo essencial da *Lippia sidoides* Cham. sobre micro-organismos da cavidade bucal e os resultados mostraram atividade antimicrobiana frente *Streptococcus mutans*, *S. mitis*, *S. salivaris*, *S. sanguis* e *Candida albicans*, com halos de inibição entre 8,5 e 34 mm. Contribuindo com os resultados encontrados na pesquisa em questão, uma vez que ressalta a potencial Atividade Antifúngica encontrada para o gênero *Candida* com halos de até 80 mm.

Apesar de obtidos resultados promissores e relevantes, existe a necessidade de se testar técnicas diferentes para a atividade antimicrobiana, como a técnica do disco, cilindro de aço, contato gasoso, partição do extrato e do óleo por polaridade de solventes, entre outras, a

fim de comparar os resultados e definir quantitativamente a efetividade dos mesmos. Porém, torna-se necessária a realização de estudos acerca da citotoxicidade do EHLS e do OELS, como suporte de segurança para o uso dos mesmos como constituintes possíveis de novos fármacos.

## 5 CONCLUSÃO

Com base nos resultados, observa-se que a *Lippia sidoides* Cham. possui um grande potencial antifúngico frente *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, porém com maior atividade antifúngica para o óleo em comparação com extrato hidroalcoólico. Portanto, sugere-se maior investigação no âmbito de identificar, isolar e quantificar os compostos fitoquímicos, e avaliá-los frente a outros microrganismos. E dessa forma seja possível no futuro o desenvolvimento de produtos fitoterápicos que possam ser utilizados no controle das referidas infecções fúngicas, a partir de constituintes da referida planta.

## ABSTRACT

Normally, topical and/or systemic antifungal agents are used in the treatment of candidiasis – azole and polyene derivatives are the most common. In addition to the adverse effects of these drugs, there is an increasing resistance from strains of *Candida*, leading to a demand for effective, inexpensive, and easily obtainable therapeutic forms. Therefore, the objective of this research is to evaluate the antifungal activity of the leaf of *Lippia sidoides* Cham. tested on the main species that cause vulvovaginal and oral candidiasis. From fresh leaves of *Lippia sidoides* Cham. the hydroalcoholic extract was obtained by cold maceration, and essential oil by hydrodistillation, which were tested against standard strains *Candida albicans* (ATCC 18804), *C. parapsilosis* (ATCC 22019), *C. tropicalis* (ATCC 13803) and *C. guilliermondii* (ATCC 6260), using the agar diffusion test to determine the antifungal activity and minimum inhibitory concentration of the extract and essential oil. It was found that the hydroalcoholic extract and the essential oil of *Lippia sidoides* Cham. have both shown satisfactory results. The oil, however, has demonstrated a better potential which was emphasized by the results regarding the AA of all the species tested, obtaining a better result for *Candida guilliermondii*, as well as MIC at 4% to *Candida albicans*. Nevertheless, more specific and quantitative studies are necessary for future development in order to have herbal products used as a controller of the mentioned fungal infections.

**KEYWORDS:** Phytotherapy. Candidiasis. MIC.

## REFERÊNCIAS

- AHMAD, A.; KHAN, A.; YOUSUF, S.; KHAN, L.A.; MANZOOR, N. Proton translocating ATPase mediated fungicidal activity of eugenol and thymol. **Fitoterapia**, v. 81, p. 1157–1162, 2010.
- ÁLVARES, C. A.; SVIDZINSKI, T. I. E.; CONSOLARO, M. E. L. Candidíase vulvovaginal: fatores predisponentes do hospedeiro e virulência das leveduras. **J Bras Patol Med Lab**, v. 43, n. 5, p. 319-327, outubro, 2007.
- BABY, A.R.; MACIEL, C.P.M., SALGADO-SANTOS, I.M.N.; DIAS, T.C.S.; ANECO, T.M.; CONSIGLIERI, V.O.; *et al.* Uso de extratos de plantas em produtos cosméticos. **Cosmet Toilet.**; 17:79-82, 2005.
- BARBEDO, L. S.; SGARBI, D.B.G. CANDIDIASIS. DST - **J bras Doenças Sex Transm**, 2010.
- BASTOS, G.M. **Uso de preparações caseiras de plantas medicinais utilizadas no tratamento de doenças infecciosas**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.
- BOTELHO, M. A.; RUELA, R. S.; MONTENEGRO, D.; COSTA, J. G. M.; SANTOS, J. A.; FRANÇA, M. C Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Brazilian Journal of Medical Biology Research On Line**, v.40, n.3, p.349-356, 2007.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods--a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.
- CAETANO, N.; SARAIVA, A.; PEREIRA, R.; CARVALHO, D.; PIMENTEL, M. C. B., MAIA, M. B. S. Determinação de atividade antimicrobiana de extratos de plantas de uso popular como antiinflamatório. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 132-135, 2002.
- CALIXTO, J.B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**, v. 5, n. 3, p. 37-39, 2003.
- CHAFFIN, W.L. et al. Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*: identification, function, and expression. **Microbiol Molec Biol Ver.**, v. 62, p. 130-80, 1998.
- DAFERERA, D.J.; ZIOGAS, B.N.; POLISSIOU, M.G. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **Crop Protection**, v. 22, p. 39-43, 2003.
- DAMASCENO, E.I.T.; SILVA, J.K.R.; ANDRADE, E.H.A.; SOUSA, P.J.C.; MAIA, J.G. Antioxidant capacity and larvicidal activity of essential oil and extracts from *Lippia grandis* Schauer, Verbenaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 1, p. 78-85, 2011.

**FARMACOPÉIA dos Estados Unidos do Brasil.** 2 ed. São Paulo: Indústria Gráfica Siqueira, 1959.

FONTENELLE, R. O. S. **Efeito antifúngico de óleos essenciais de *Lippia sidoides* Cham., *Croton argyrophyloides* Muell., *Croton zenhtneri* Pax et Hoffm., *Croton nepetaefolius* Baill. e de seus principais constituintes contra dermatófitos e *Candida* spp. isolados de cães.** Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias), Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2008.

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.; MASCIMENTO, 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.

KORDALI, S.; CAKIR, A.; OZER, H.; CAKMAKCI, R.; KESDEK, M.; METE, E. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and  $\rho$ -cymene. **Bioresource Technology**, doi: 10.1016/j.biortech.2008.04.048, 2008.

LACOSTE, E.; CHAUMONT, J.P.; MANDIN, D.; PLUMEL, M.M.; MATOS, F.J.A. Lês Propriétés Antiseptiques de l'huile essentielle de *Lippia sidoides* Cham. application à la microflore cutanée. **Annales Pharmaceutiques Françaises**, 54: 228-30, 1996.

LEMOS, T.L.G.; MATOS, F.J.A.; ALENCAR, J.W.; CRAVEIRO, A.A. Antimicrobial activity of essential oils of brazilian plants. **Phytoterapy Research**, 1990; 4: 82-4.

LIMA, I.O.; OLIVEIRA, R.A.G.; LIMA, E.O.; FARIAS, N.M.P.; SOUZA, E.L. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Rev. bras. farmacogn.**, vol.16, nº.2, João Pessoa, Apr./June 2006.

MACIEL, M.A.M.; PINTO, C.A.; VEIG, J.V.F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v.25, n.3, p.429-38, 2002.

MATOS, F.J.A. *Lippia sidoides* Cham. - Farmacognosia, química e farmacologia. **Revista Brasileira de Farmácia**, 1996; 77: 65-7.

MATOS. F.J.A. **Plantas medicinais:** guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil. 2. Ed. Fortaleza: Imprensa Universitária/ UFC. 2000.

MATOS, F.J.A; OLIVEIRA, F. *Lippia sidoides* Cham. – farmacognosia, química e farmacologia. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.70, n. 3-4 p. 84-87, 1998.

MENDES, S. S.; BOMFIM, A. R. R.; JESUS, H. C. R.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F.; C.S. ESTEVAMA; ANTONIOLLI; S.M. Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Lippia gracilis* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v.129, n. 4, p. 391–397, 2010.

MENDONÇA, M. C. S. **Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.)**. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal do Ceará, 1997.

MENEZES, T. O. A.; ALVES, A. C. B. A.; VIEIRA, J. M. S.; MENEZES, S. A. F.; ALVES B. P.; MENDONÇA, L. C. V. Avaliação in vitro da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de *Candida albicans*. **Rev Odontol UNESP**. 2009; 38(3): 184-91.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política nacional de práticas integrativas e complementares no SUS**. Brasília: Ministério da Saúde; 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE: Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília – DF. 2007.

MORAGUES, M.D. et al. A monoclonal antibody directed against a *Candida albicans* cell wall mannoprotein exerts three anti-*C. albicans* activities. **Infec Immun**, v. 71, p. 5273-79, 2003.

NCCLS- **National Committee for Clinical Laboratory Standards** – Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão: Norma Aprovada – Oitava Edição, M2-A8, EUA, 2003, Volume 23 nº1. (atual CLSI - www.clsi.org)

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as source of new drugs over the last 25 years. **Journal of Natural Products**, vol. 70, p. 461-477, 2007.

OSTROSKY, E.A.; MIZUMOTO, M.K.; LIMA, M.E.L.; KANEKO, T.M.; NISHIKAWA, S.O.; FREITAS, B.R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 18(2): 301-307, Abr./Jun. 2008.

PAI, M. R., ACHARYA, L. D.; UDUPA, N. Evaluation of antiplaque activity of *Azadirachta indica* leaf extract gel – a 6-week clinical study. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 90, p. 99-103, 2004.

PINA-VAZ, C.; GONÇALVES RODRIGUES, A.; PINTO, E.; COSTA-DE-OLIVEIRA, S.; TAVARES, C.; SALGUEIRO, L.; CAVALEIRO, C.; GONÇALVES, M.J.; MARTINEZ-DE-OLIVEIRA, J. Antifungal activity of Thymus oils and their major compounds. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venerology**, v. 18, n. 1, p. 73-78, 2004.

PROVINE, H.; HADLEY, S. Preliminary evaluation of a semisolid agar antifungal susceptibility test for yeasts and molds. **Journal of Clinical Microbiology**, vol. 2, p. 537-541, 2000.

SIKKEMA, J.; BONT, J. A. M.; POOLMAN, B. Interaction of cyclic hydrocarbons with biological membranes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, p. 8022-8028, 1994.

SILVA, G.S.. **Estudo da ação antimicrobiana de extratos de plantas medicinais sobre espécies de Candida de interesse médico** [manuscrito] / Géssica de Souza Silva – Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2012.

SILVA, V. A.; FREITAS, A. F. R.; PEREIRA, M. S. V.; OLIVEIRA, C. R. M.; DINIZ, M. F. F. M.; PESSOA, H. L. F. Eficácia antifúngica dos extratos da *Lippia sidoides* Cham e *Matricaria recutita* Linn. sobre leveduras do gênero *Candida*. **Biofar**, vol. 5, nº 1, 2011.

SOUSA, M. P. et al. **Constituintes químicos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras**. Fortaleza: Editora UFC, 2004.

TURINA, A.V.; NOLAN, M.V.; ZYGADLO, J.A.; PERILLO, M.A. Natural terpenes: self-assembly and membrane partitioning. **Biophysical Chemistry**, v. 122, p. 101–113, 2006.

URIZAR, J.M.A. Candidiasis orales. **Rev Iberoam Micol**; 19: 17-21, 2002.

YOON, H.S.; MOON, S.C.; KIM, N.D.; PARK, B.S.; JEONG, M.H.; YOO, Y.H. Genistein induces apoptosis of RPE-J cells by opening mitochondrial PTP. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 276, p. 151–156, 2000.

ZAVADINACK, M.N.; HERREIRO, F.; BANDEIRA, C.O.P.; ITO, Y.; CIORLIN, E.; SAQUETI, E.E.; ANSILIEIRO, I.J.; GONSALVES, L.; SIQUEIRA, V.L.D. *Staphylococcus aureus*: incidência e resistência antimicrobiana em abscessos cutâneos de origem comunitária. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 3, p. 709-712, 2001.

ZIARRUSTA, G. B. Vulvovaginitis candidiásica. **Rev Iberoam Micol**, v. 19, p. 22-4, 2002.