



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

**RENATA DOS ANJOS CUNHA**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS  
EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DA FOLHA E CASCA DE  
*Prosopis juliflora* (Sw.) D.C. SOBRE ESPÉCIES DE *Candida* DE  
INTERESSE MÉDICO.**

CAMPINA GRANDE – PB

2012

**RENATA DOS ANJOS CUNHA**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS  
EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DA FOLHA E CASCA DE  
*Prosopis juliflora* (Sw.) D.C. 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.

Orientador (a): Prof. (a) Dr. (a) Karlete Vania Mendes Vieira

CAMPINA GRANDE – PB

2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

S586a      Cunha, Renata dos Anjos  
Avaliação da atividade antifúngica dos extratos hidroalcoólicos da folha e casca de *Prosopis Juliflora* (Sw.) D.C. sobre espécies de *Cândida* de interesse médico. [manuscrito] / Renata dos Anjos Cunha. – 2012.  
22 f. : il. color.

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.”

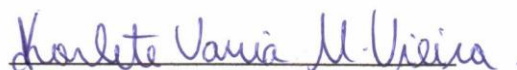
1. Fitoterapia. 2. Candidíase. 3. *Prosopis juliflora* (Sw.).  
I. Título.

21. ed. CDD 615.321

**RENATA DOS ANJOS CUNHA**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS  
EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DA FOLHA E CASCA DE  
*Prosopis juliflora* (Sw.) D.C. SOBRE ESPÉCIES DE *Candida* DE  
INTERESSE MÉDICO.**

Aprovada em 26/11/2012.



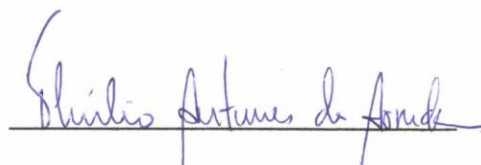
Profª Drª Karlete Vânia Mendes Vieira / UEPB

Orientadora



Prof. Dr. Délcio de Castro Felismino / UEPB

Examinador



Prof. Dr. Thúlio Antunes de Arruda / UEPB

Examinador

## AGRADECIMENTOS

Como já dizia Anitelli: “Sonho parece verdade quando a gente esquece de acordar”. Hoje, vivo uma realidade que parece um sonho, mas foi preciso muito esforço, determinação, paciência, perseverança, ousadia e maleabilidade para chegar até aqui, e nada disso eu conseguiria sozinha. Minha terna gratidão a todos aqueles que colaboraram diretamente e indiretamente para que este sonho pudesse ser concretizado.

Primeiramente agradeço a Deus, o centro e o fundamento de tudo em minha vida, por renovar a cada momento a minha força e disposição e pelo discernimento concedido ao longo dessa jornada fazendo sempre com que eu nunca desistisse e superasse todos os meus limites e derrubasse todas as barreiras que apareceram no meio do caminho para que tudo desse certo.

Agradeço aos meus Pais Antônio Batista e Maria Gorete dos Anjos. Por sempre estarem ao meu lado apoiando, dando força, coragem, perseverança e energia para nunca desistir diante do primeiro obstáculo encontrado, obrigada por estarem sempre ao meu lado e ter ajudado a construir o alicerce do meu futuro. Vocês sempre serão meu porto seguro, meus maiores exemplos e aqueles que mais amo. Ambos são responsáveis por cada sucesso obtido e cada degrau alcançado.

Agradeço a minha irmã Raquel dos Anjos Cunha e ao meu noivo Vinicius Almeida Vieira que amo muito e de forma especial e carinhosa me deram força e coragem nessa longa jornada, pelas palavras amigas nas horas difíceis, por sempre estarem ao meu lado, ajudando, aconselhado e por ter contribuído com tantos ensinamentos, tantas palavras de força e ajuda.

Agradeço a todos os meus familiares e amigos pela a cooperação, incentivo e apoio e carinho nos momentos mais difíceis e por tantas contribuições valiosas .

Agradeço a todos os professores por me proporcionar o conhecimento não apenas racional , mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional.

E especialmente e de forma muito carinhosa agradeço a minha orientadora Karlete Vânia Mendes Vieira pela a sua importante colaboração com todo seu conhecimento, paciência na orientação e incentivo que tornaram possível a conclusão deste trabalho.

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS EXTRATOS  
HIDROALCOÓLICOS DA FOLHA E CASCA DE *Prosopis juliflora* (Sw.) D.C.  
SOBRE ESPÉCIES DE *CANDIDA* DE INTERESSE MÉDICO.**

CUNHA, Renata dos Anjos<sup>1</sup> ; VIEIRA, Karlete Vânia Mendes<sup>2</sup>. 1-Graduanda 2-Orientadora.

**RESUMO**

Além dos efeitos adversos dos medicamentos antifúngicos a crescente resistência por parte das cepas de *Candida*, faz com que a população busque novas formas terapêuticas. O presente trabalho teve como objetivo determinar a atividade antifúngica do extrato hidroalcoólico da folha e casca da espécie vegetal *Prosopis juliflora* (Sw.), frente às espécies de *Candida* relacionadas às Candidíases Oral e Vulvovaginal. O Material vegetal utilizado foi a folha e a casca de *Prosopis juliflora* (Sw.) D.C. e a partir destes foram obtidos os extratos hidroalcoólicos pelo processo de percolação. Para a determinação da atividade antifúngica dos referidos extratos, empregou-se a técnica de difusão em meio sólido e o método de cavidade em placa, sendo os extratos submetidos a diluições seriadas [50%; 25%; 12,5%; 6,25% (v/v)] a partir do extrato bruto. Constatou-se atividade antimicrobiana do extrato da folha para todas as cepas testadas, sendo mais satisfatórios os resultados contra a *C. guilliermondii* e *C. albicans*, enquanto o extrato da casca apresentou atividade apenas para *C. tropicalis*. Observou-se também no extrato da folha halos nas diluições 1:6 para a *C. guilliermondii* e 1:4 para *C. tropicalis* e nenhum halo para as concentrações das diluições feitas a partir do extrato da casca. O extrato de *P. juliflora* (Sw.) apresenta ação antifúngica e o mesmo pode ser melhor estudado para futuro desenvolvimento de produto fitoterápico que possa ser utilizado no controle das referidas infecções fúngicas.

**Palavras Chave:** Candidíase. *Prosopis juliflora* (Sw.). Atividade antifúngica.

## 1. INTRODUÇÃO

Infecções humanas, particularmente aquelas envolvendo a pele e mucosas constituem um sério problema, especialmente em países desenvolvidos e em desenvolvimento tropicais e subtropicais, sendo os fungos dermatófitos e a levedura *Candida* spp os patógenos mais frequentes. *Candida albicans* é uma levedura oportunista que causa infecções sistêmicas em pessoas predispostas, comumente pacientes com o sistema imunológico comprometido ou que foram submetidos a tratamento prolongado com antibióticos (PORTILO, 2001).

Segundo Zacchino (2001), o tratamento das micoses humanas não é sempre efetivo, pois os fármacos antifúngicos disponíveis produzem recorrência ou causam resistência, além de apresentarem importante toxicidade. Por esta razão, há uma busca contínua de novos fármacos antifúngicos mais potentes, mas, sobretudo, mais seguros que os existentes.

Neste contexto, embora a maioria dos antifúngicos existentes no mercado seja de origem sintética, o estudo de produtos naturais voltou a receber a atenção dos cientistas (YUNES, 2001). Entre as principais ferramentas na busca de novos modelos moleculares estão a informação de como as plantas são utilizadas por diferentes grupos étnicos e o estudo farmacológico das preparações utilizadas, abordadas, respectivamente no âmbito da Etnobotânica e da Etnofarmacologia (RATES, 2001).

A importância medicinal da *Prosopis juliflora* está nas evidências de efeitos farmacológicos demonstrados com o uso de extratos de folhas e frutos, tais como efeito antibacteriano (AQEEL *et al.*, 1989; AHMAD *et al.*, 1986; AHMAD *et al.*, 1995; KANTHASAMY *et al.*, 1989; CÁ-CERES *et al.*, 1995; AL-SHAKH-HAMED; AL-JAMMAS, 1999; SATISH *et al.*, 1999), antifúngico (AHMAD *et al.*, 1989a; KANTHASAMY *et al.*, 1989; KAUSHIK *et al.*, 2002), antiinflamatório (AHMAD *et al.*, 1989b), estimuladora do sistema imune (AHMAD *et al.*, 1992) e inibidor da acetil-colinesterase (CHOUDHARY *et al.*, 2005).

A necessidade de desenvolvimento de novos fármacos eficazes contra algumas patologias, ainda sem tratamento adequado, que possam substituir os

existentes com custos menores e menos efeitos colaterais tem impulsionado a comunidade científica a novas e incessantes pesquisas nesta área (NIERO *et al.*, 2003).

Diante do exposto a pesquisa teve por objetivo determinar a atividade antifúngica dos extratos hidroalcoólicos da folha e da casca da espécie vegetal *P. juliflora* (Sw.), frente às espécies de *Candida* relacionadas às Candidíases Oral (CO) e Vulvovaginal (CVV), *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. Guilhaumonii*. Como também a determinação da Concentração Inibitória Mínima dos extratos que apresentarem atividades antifúngicas, que poderão ser aplicados na prevenção e no tratamento de tais infecções.



## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A resistência a drogas de patógenos humanos e animais é um dos casos mais bem documentados de evolução biológica e um sério problema tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento. O consumo de mais de uma tonelada diária de antibióticos em alguns países da Europa tem resultado na resistência de populações bacterianas, causando assim um sério problema de saúde pública. Baquero e Blázquez (1997) relataram o perigo do retorno a uma era pré-antibiótico, particularmente considerando que nenhuma nova classe de antibiótico foi descoberta nos últimos anos, apesar das intensas pesquisas das indústrias farmacêuticas. Em vista do presente cenário, a busca por novas substâncias antimicrobianas a partir de fontes naturais, incluindo plantas, tem ganhado importância nas companhias farmacêuticas.

De acordo com Haefner (1999), a candidíase vaginal, juntamente com a Candidíase oral, são consideradas as duas formas mais comuns de infecções fúngicas oportunistas, e a transformação da condição assintomática para a sintomática indica uma transição da forma saprófita para a forma patogênica.

Numerosos estudos indicam que *C. albicans* é mais freqüente do que as espécies de não *C. albicans*, respondendo por 80 a 90% dos casos. Entretanto, nos últimos anos, tem-se observado um aumento na freqüência das espécies de não *C. albicans*, principalmente *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. guilliermondii*, indicando uma tendência de mudança na etiologia da candidíase, após décadas de predomínio de *C. albicans* (MARTENS, 2004).

Com certa freqüência, as infecções produzidas por fungos são difíceis para responderem à terapêutica medicamentosa. O uso de antimicrobianos necessita de critérios rigorosos, por conta dos efeitos colaterais produzidos pela grande maioria desses compostos (ARAÚJO *et al.*, 2004). Portanto, devido à resistência dos micro-organismos aos antimicrobianos atuais, faz-se necessária a realização de estudos *in vitro* acerca da ação antifúngica de extratos naturais (COSTA *et al.*, 2009). As plantas medicinais sempre exerceram papel importante no tratamento de doenças e algumas delas têm se mostrado efetivas quando os fármacos de origem sintética, oriundos da

medicina ocidental, não funcionam ou não se mostram eficazes (TOLEDO *et al.*, 2003).

O uso prolongado de antimicrobianos pode alterar a microbiota normal vulvovaginal e bucal proporcionando o crescimento de micro-organismos potencialmente patogênicos, tais como leveduras, enterobactérias e estafilococos. Assim, torna-se necessário restringir o uso de antimicrobianos, ampliar pesquisas relacionadas aos mecanismos genéticos de resistência microbiana e desenvolver estudos relativos a novos medicamentos, sintéticos ou naturais, capazes de combater esses micro-organismos (COSTA *et al.*, 2009).

Trabalhos sobre a atividade antimicrobiana de extratos e óleos essenciais mostram o grande potencial de aplicação de plantas nativas de diversas regiões do mundo. No Brasil, estudos com a mesma finalidade são de grande importância, uma vez que plantas medicinais são utilizadas em várias áreas da saúde como forma alternativa de tratamento. Além disso, nosso país apresenta uma rica biodiversidade, devendo-se considerar o custo mais baixo destas formas terapêuticas em relação a medicamentos industrializados (DUARTE, 2004).

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

Entretanto, a grande maioria das plantas, normalmente empregadas como fitoterápicos populares, não tiveram suas potencialidades terapêuticas efetivamente comprovadas. Uma parcela significativa destes estudos foi realizada frente a micro-organismos referência sem a utilização de ensaios paralelos, utilizando-se antibióticos comerciais que pudessem fornecer parâmetros mais precisos quanto ao real potencial antimicrobiano destes extratos (GONÇALVES, 2005).

O gênero *Prosopis* pertence à família *Leguminosae*, subfamília *Mimosoideae* e tem cerca de 44 espécies. São arbustos de tamanho médio ou árvores de grande porte, que podem atingir 20 metros de altura, com tronco de mais de um metro de diâmetro. Embora cresçam nas proximidades de água, diferentes espécies de *Prosopis* desenvolvem-se em lugares secos, onde

difícilmente outras plantas poderiam sobreviver. Ainda podem tolerar e crescer com rapidez em solos salinos e em solos ácidos de baixa fertilidade. (PEREZ; MORAES, 1991).

A *Prosopis juliflora* apresenta um sistema radicular axial ou pivotante, capaz de alcançar grandes profundidades em busca d'água e nutrientes (Ribaski, 1987). O caule é retorcido, espinhoso e de ritidoma (casca) grossa e coloração pardoavermelhado. As folhas são compostas bipinadas, inflorescências em espigas axilares, hermafroditas, de coloração branca-esverdeada, medindo cerca de 14 cm de comprimento. Os frutos são legumes indeiscentes em forma de lomento drupáceo, com 40% de sacarose e endocarpo. (Burkart, 1976; Mendes, 1989; Lima, 1994; Campelo, 1997; Silva, 1997; Grether et al., 2006).

O período de floração e frutificação ocorre na estação seca, finalizando em meados do período chuvoso, sendo a frutificação simultânea à floração. (Lima, 1994).

Lima (1987) afirma que, a importância do gênero para o semi-árido consiste em sua capacidade de se adaptar a solos e climas inóspitos; taxa de crescimento rápido; alta palatabilidade como forragem; alta produtividade; capacidade de rebrotar e resistir a podas e ao pastejo; e resistência a pragas e doenças. Além disso, relata-se a capacidade dessa arbórea em restabelecer a fertilidade e produtividade de solos degradados, talvez pela sua capacidade de associação simbiótica com *Rhizobium* (FRANCO et al., 1988).

Em vista do exposto, a necessidade de novas alternativas terapêuticas, que possuam eficácia, baixa toxicidade e baixo custo é de total relevância. Para tanto, é necessário a busca de novas alternativas e investimento em pesquisas científicas que corroborem para descoberta de plantas medicinais, com potencial antifúngico contra micro-organismos causadores de infecções fúngicas como Candidíase Vulvovaginal e Candidíase Oral se tornam relevantes.

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1 Obtenção e caracterização das amostras vegetais

As amostras vegetais folha e casca foram coletadas na região do compartimento da Borborema-PB, mais exatamente no Parque Maria da Luz, a partir de plantas adultas selecionadas, no período de 8:00 - 10:00h, em estado vegetativo. Em seguida, as amostras foram discriminadas e acondicionadas, separadamente, em sacos de papel tipo Kraft e transportadas para os Laboratórios de Botânica e Farmacognosia da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Campus I. No laboratório de Botânica, foram realizadas as exsiccatas para identificação etnobotânica da referida planta, sendo depositada no Herbário Arruda Câmara.

Os cuidados como identificação botânica, método de cultivo e coleta, época e local de coleta, características organolépticas, macroscópicas foram acompanhadas por um biólogo e um farmacobotânico.

#### 3.2 Obtenção do extrato vegetal

O extrato hidroalcoólico da folha e da casca de *P. juliflora* (Sw.) D.C foi obtido no laboratório de Farmacognosia da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), campus I.

O preparo do extrato seguiu a orientação do processo A da Farmacopéia Brasileira (DIAS DA SILVA, 1929), adaptado por younes *et al.* (2000), onde a secagem do material vegetal foi realizada à temperatura ambiente e completada em estufa a 40°C até obter-se um teor-padrão de umidade de 20%. As folhas da planta foram colocadas em contato com solução hidroalcoólica (álcool etílico 70%) durante uma semana, para se fazer a extração. Desta forma pelo método de percolação a frio com álcool a 70%, na concentração 20:80 droga/solvente, obteve-se o extrato bruto da *Prosopis juliflora* (Sw.) D.C na sua forma líquida.

### **3.3 Prospecção do extrato**

Foi utilizado o extrato da planta numa concentração de 100%, do qual foi separado em porções de tubos de ensaios contendo entre 3-4 mL do extrato etanólico, enumerados e submetidos aos seguintes testes de acordo com a metodologia descrita por Matos (1997).

#### **Teste para taninos e fenóis**

Em um tubo para o extrato foi adicionado 3 gotas de solução alcoólica de  $\text{FeCl}_3$  e agitado por alguns instantes.. A presença de fenóis ou taninos foi determinada de acordo com o aparecimento da coloração indicada para cada substância. Coloração variável entre o azul e o vermelho é indicativa da presença de fenóis.

#### **Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonóides**

Foi feita a acidulação de tubos separadamente para ambas as soluções para pH 3, e outros serão alcalinizados a pH 8,5 e 11, respectivamente. A presença de antocianinas, antocianidinas e flavonóides foram identificados pelo aparecimento das respectivas colorações.

#### **Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas**

Foi feita a acidulação do tubo com HCl até pH 1 e a alcalinização dos tubos com NaOH até pH 1 e em seguida aquecidos com o auxílio de um bico de busen de 2-3 min, para o extrato e macerado.

#### **Teste para flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas**

Foram adicionados ao tubo contendo o extrato uma solução de  $\text{FeCl}_3$  a 4,5%. O aparecimento das cores verde, amarelo, castanho ou violeta, é indicativo da presença de flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas livres ou seus heterosídeos.

#### **Teste para saponinas**

Foi colocado o extrato no tubo e agitado fortemente por 2-3 minutos. A presença de espuma persistente e abundante indica a presença de saponinas.

### **Teste para alcaloides**

Foi utilizado dois diferentes tipos de reagentes e duas diferentes soluções, que de acordo com a presença de alcaloide foram identificados pelo aparecimento de precipitado ou coloração indicada para cada substância.

### **Teste para albumina**

Foi utilizado o reagente de Molisch com ácido sulfúrico que determina a presença da albumina com o aparecimento da cor vermelha ou violeta e reagente de Claudius que forma um precipitado.

### **Teste para proteína**

Foi usado o reagente de Gies, que reage com as proteínas formando uma coloração de rosa-violeta a roxo-violeta.

### **Teste para catequina**

Foi embebida a madeira de um fósforo na solução aquosa evaporando-a quase a sua secura, em seguida umedecia em ácido clorídrico concentrado e secado ao calor de uma chama forte utilizando-se o bico de Bunsen evitando a sua carbonização. O aparecimento de cor vermelha indica a presença de catequina.

## **3.4 Atividade Antimicrobiana**

### **Cepas Microbianas**

Para avaliação da atividade antifúngica do extrato, a partir da espécie vegetal coletada, foram utilizadas cepas microbianas padrão American Type Culture Collection (ATCC) de *Candida albicans* (18804), *C. parapsilosis* (22019), *C. tropicalis* (13803), *C. Guillermondii* (6260), as quais foram disponibilizadas pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ – RJ). As cepas liofilizadas foram reativadas, em câmara asséptica, seguindo as recomendações da referida Fundação.

### **Preparação da Suspensão Microbiana**

O inóculo de leveduras foi adaptado e padronizado segundo o National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2003), através de cultivo de 24 h em placas de Agar Sabouraud, onde uma alçada das leveduras, de colônias isoladas, foi suspensa 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.

### **Análise microbiológica**

A atividade antifúngica foi adaptado de Menezes *et al.* (2009), sendo avaliada pelo método de difusão em Agar, processo de cavidade em placa. O meio de cultura foi distribuído uniformemente nas placas, sendo estas dispostas em superfície nivelada para assegurar que a camada de meio tenha profundidade uniforme, em média 60 mL de meio de cultura. Após a solidificação do Agar, o inóculo padronizado foi então distribuído na placa com o auxílio de um “swab” estéril, retirando o excesso de líquido comprimindo a ponta do “swab” nas paredes do tubo de ensaio, e espalhando o conteúdo do “swab” sobre o meio de cultura sólido distribuído na placa de Petri.

Na técnica de perfuração em ágar, baseada em Ostrosky *et al.* (2008), a remoção do meio de cultura sólido foi realizada com auxílio de cilindros de 6-8 mm de diâmetro, nos quais foram possível aplicação dos extratos a serem analisados da respectiva planta. Como controle negativo, utilizou-se solução hidroalcoólica a 70% e como controle positivo, Nistatina em disco. O ensaio foi realizado adicionando em cada poço 50 µL dos referidos extratos. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C, durante um período de 24-48 horas. O ensaio foi realizado em duplicata.

Após o período de incubação, procedeu-se ensaios, sendo a leitura realizada medindo em milímetro o diâmetro dos halos de inibição ao redor do poço com o auxílio de um paquímetro manual. Foram considerados como possuidores de atividade antifúngica, o extrato que apresentou um halo de inibição do crescimento, igual ou superior a 10 mm de diâmetro.

### **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  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ), 25 % (1:4  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) 12,5 % (1:8  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) e, 6,25 % (1:16  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ). As diluições foram obtidas transferindo-se 5 mL da forma obtida bruta para 5 mL de água destilada em tubo, obtendo-se a diluição de 1:2  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  ou 50%, a partir desta, obteve-se as demais diluições até obter a diluição de 1:16  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  ou 6,25%.

Posteriormente, foram distribuídos 50  $\mu\text{L}$  do extrato da planta nas concentrações a serem testadas. Em seguida, foram incubadas a 37 ° C, por um período de 24-48 horas.

Os ensaios foram realizados em duplicata e o resultado final determinado pela média aritmética dos halos de inibição. Foi estabelecida como CIM a concentração do extrato capaz de desenvolver um halo de inibição do crescimento fúngico maior ou igual a 10 mm de diâmetro, medido por um paquímetro manual.



#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos ensaios realizados verificou-se qualitativamente a atividade antifúngica da *P. juliflora*. Observa-se que a *C. guillermondii* foi a mais sensível ao extrato da folha, enquanto que a *C. tropicalis* foi a mais resistente frente ao extrato hidroalcoólico bruto da folha de *P. juliflora*, já que esta apresentou o menor halo de inibição.

Ao comparar os resultados obtidos com o controle positivo os melhores resultados foram para *C. albicans* e *C. Guillermondii*, indicando que o extrato bruto da folha em relação às referidas espécies de cândida se mostrou eficaz.

Conforme apresentado na Tabela 1 observa-se que a *C. Guillermondii* mostrou-se mais sensível do que as demais cepas, haja visto que apresentou resultados satisfatórios até a diluição 1:8. Por outro lado, as *C. albicans* e *C. parapsilosis* se mostraram resistentes às concentrações testadas.

Ao analisar o efeito antimicrobiano do extrato da casca, na Tabela 2, Verificou-se que, o extrato da casca de *Prosopis juliflora* (Sw.) D.C. apresentou atividade apenas para *C. tropicalis* (12 mm), diferenciando do extrato da folha que apresentou atividade antifúngica frente as cepas analisadas.

**TABELA 1:** Diâmetro dos halos em mm da atividade antifúngica do extrato hidroalcoólico bruto da folha, dos controles positivo e negativo e da Concentração Mínima Inibitória de *Prosopis juliflora* (Sw.) D C.

| Cepas ensaiadas         | Ext. B Folha* | 1:2          | 1:4          | 1:8          | 1:16 | Controle (+)** | Controle (-)*** |
|-------------------------|---------------|--------------|--------------|--------------|------|----------------|-----------------|
| <i>C. albicans</i>      | <b>15,00</b>  | -            | -            | -            | -    | <b>10,00</b>   | -               |
| <i>C. guillermondii</i> | <b>20,00</b>  | <b>17,50</b> | <b>14,50</b> | <b>10,00</b> | -    | <b>14,50</b>   | -               |
| <i>C. parapsilosis</i>  | <b>15,00</b>  | -            | -            | -            | -    | <b>17,50</b>   | -               |
| <i>C. tropicalis</i>    | <b>14,00</b>  | <b>12,00</b> | <b>10,00</b> | -            | -    | <b>20,00</b>   | -               |

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

Diluições Seriadas – 1:2, 1:4, 1:8, 1:16

**TABELA 2:** Tamanho dos halos em mm da atividade antifúngica e do controle positivo e negativo e da Concentração Mínima Inibitória do Extrato Hidroalcoólico Bruto da Casca no estudo com *Prosopis juliflora* (Sw.) D C.

| Cepas ensaiadas         | Ext. B Casca* | 1:2 | 1:4 | 1:8 | 1:16 | Controle (+)** | Controle (-)*** |
|-------------------------|---------------|-----|-----|-----|------|----------------|-----------------|
| <i>C. albicans</i>      | -             | -   | -   | -   | -    | <b>10,00</b>   | -               |
| <i>C. guillermondii</i> | -             | -   | -   | -   | -    | <b>14,50</b>   | -               |
| <i>C. parapsilosis</i>  | -             | -   | -   | -   | -    | <b>17,50</b>   | -               |
| <i>C. tropicalis</i>    | <b>12,00</b>  | -   | -   | -   | -    | <b>20,00</b>   | -               |

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

Diluições Seriadas – 1:2, 1:4, 1:8, 1:16

Conforme observado neste estudo, o extrato hidroalcoólico da folha da *P. juliflora* (Sw.) apresentou relevante atividade antifúngica, estudos antimicrobiano têm apontado excelentes propriedades terapêuticas de extratos hidroalcoólicos. Além de existirem poucos relatos sobre a planta escolhida, assim precisando de mais pesquisas e maiores buscas de benefícios que esta possa propiciar a população e a saúde.

Em uma pesquisa realizada por Ponzi *et al.* (2010), foram verificados halos de inibição na ordem 12 mm para *Candida albicans* e 10 mm para *Candida tropicalis* para o extrato hidroetanólico de *Momordica Charantia* L. (melão-de-são-caetano). Assim o extrato da folha de *Prosopis juliflora* (Sw.) D.C. apresentou uma atividade antifúngica ainda maior sobre as mesmas candidas citadas. Entretanto, a grande quantidade de micro-organismos testados, bem como de extratos provenientes de plantas, aliado a uma variedade de metodologias propostas, dificulta a comparação.

Segundo um estudo recente, Silva 2012, utilizando a mesma metodologia do presente estudo, dois dos extratos testados, confrei (*Symphytum officinale* L.) e melão-de-são-caetano (*Momordica Charantia* L.) frente a *C. albicans*, *C. guilhermondii*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, não apresentaram atividade. Destacando assim a atividade do extrato da folha de *Prosopis juliflora* (Sw.) D.C. como uma nova alternativa terapêutica.

Sabe-se que os constituintes fitoquímicos de uma planta obtidos por métodos extrativos varia tanto pela parte do vegetal utilizada quanto pelo método extrativo dos mesmos.

De acordo com o teste fitoquímico qualitativo realizado no LABDEM – UEPB as *P. juliflora* (Sw.) D.C. são ricas em taninos, tanto em suas folhas, como na casca de seu caule. De acordo com Scalbert (1991), é possível que o tanino apresente atividade antimicrobiana por agir inibindo enzimas bacterianas e fúngicas.

Como a atividade na casca foi negativa, sugere-se que o resultado pode estar na quantidade de princípio ativo extraído da casca, ou que a casca não possui a quantidade satisfatória de princípio ativo capaz de inibir o crescimento fúngico, por isso a importância de se utilizar outras metodologias, empregando

outros solventes na extração de princípios ativos, e ampliar os estudos a respeito da atividade antifúngica.

Os alcalóides são os principais ativos da *P. juliflora*, produzindo alcalóides da classe dos piperidínicos são considerados complexos e, no caso dos alcalóides da *P. juliflora*, apresentam configuração semelhante: um anel indolizidínico e duas cadeias alifáticas que culminam com um anel piperidínico (alcalóide piperidínico) é extraído da vagem e folha da *Prosopis juliflora*. (TABOSA, 1998). Propriedades farmacológicas da *P. Juliflora* tem sido atribuídas aos alcalóides piperidínicos (AHMAD *et al.*, 1992; AHMAD *et al.*, 1995; BATATINHA, 1997) existentes em diversas partes desta planta.

Estudos a respeito de alcalóides piperidínicos extraídos das flores de *Senna spectabilis*, possui ação citotóxica contra fungos e é inibidor da AChE (SRIPHONG *et al.*, 2003). Portanto, a folha da *P. juliflora* possui alcalóides e estes, provavelmente, podem estar envolvidos na atividade antifúngica da referida planta.

Dentre as diversas substâncias que já foram extraídas, isoladas e purificadas de diferentes partes da algaroba, os alcalóides piperidínicos presentes nas folhas e frutos têm obtido destaque em diversos estudos farmacológicos, nos quais os pesquisadores acreditam que tais compostos sejam os princípios ativos causadores dos efeitos tóxicos provocados pela ingestão desta planta (NAKANO *et al.*, 2004; CHOUDHARY *et al.*, 2005; MICHAEL, 2002).

Os resultados apresentados indicam um potencial efeito antifúngico da folha da planta estudada sobre as espécies de *Candida* mencionadas, entretanto se faz necessário que novos estudos sejam desenvolvidos no tocante ao isolamento de princípio ativo, dose, toxicidade e forma farmacêutica com o intuito desses extratos serem empregados como opção terapêutica de forma segura e estável.

## 5. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos observou-se no extrato bruto da folha de *P. juliflora* atividade antimicrobiana satisfatória para todas as cepas testadas. Obtendo-se resultado relevante também as diluições feitas a partir do mesmo extrato.

Os resultados obtidos com extrato hidroalcoólico de *Prosopis juliflora* (Sw.) D.C. sobre as cepas de *Candida* testadas foram promissores, o que indicaria a sua utilização como terapia alternativa para o tratamento de infecções fúngicas. Porém, torna-se necessária a realização de estudos acerca da citotoxicidade destes produtos, como suporte de segurança para o uso dos mesmos como fármacos, para que se necessário se promovam as possíveis alterações na estrutura do fármaco ou na composição para que este seja eficaz e não tóxico.

**ASSESSMENT OF ACTIVITY ANTIFUNGAL HYDROALCOHOLIC  
EXTRACTS LEAF AND BARK *Prosopis juliflora* (Sw.) DC ON *Candida*  
SPECIES OF DOCTOR OF INTEREST.**

CUNHA, Renata dos Anjos<sup>1</sup> ; VIEIRA, Karlete Vânia Mendes<sup>2</sup>. 1-Undergraduate 2- Advisor

**ABSTRACT**

In addition to the adverse effects of the antifungal drug resistance by growing strains of *Candida*, makes the search for new therapeutics population. This study aimed to determine the antifungal activity of hydroalcoholic extract of leaf and bark of the plant species *Prosopis juliflora* (Sw.) compared to *Candida* species related to Oral and Vulvovaginal candidiasis. The plant material used was the leaf and bark of *Prosopis juliflora* (Sw.) DC and from these hydroalcoholic extracts were obtained by percolation process. To determine the antifungal activity of the extracts, we used the technique of diffusion in solid medium and method cavity plate, and the extracts subjected to serial dilutions [50%, 25%, 12.5%, 6.25% (v / v)] starting from the crude extract. Contacted up antimicrobial activity of the leaf extract for all strains tested, with more satisfactory results against *C. guilliermondii* and *C. albicans*, while the bark extract showed activity only for *C. tropicalis*. It was also observed in leaf extract halos in 1:6 dilutions for *C. C. guilliermondii* and 1:4 for *tropicalis* and no halo for concentrations of dilutions made from the bark extract. The extract of *P. juliflora* (Sw.) has antifungal and it can best be studied for future development of herbal medicine that can be used in the control of these fungal infections.

Keywords: Candidiasis. *Prosopis juliflora* (Sw.). Antifungal activity.

## 6. REFERÊNCIAS

- AHMAD, A.; KHAN, K.A.; AHMAD, V.U.; QAZI, S. Antibacterial activity of juliflorine isolated from *Prosopis juliflora*. **Planta Medica**, v.1, p.285-288, 1986
- AHMAD, A.; KHURSHEED, A.K.; SABIHA, Q.; VIQARUDDIN, A. Antifungal activity of some hydrosoluble *Prosopis juliflora* alkaloids. **Fitoterapia**, v.60, p.86-89, 1989.
- AHMAD, A.; KHAN, K.A.; AHMAD, V.U. Immunomodulating effect of Juliflorine on the antibody response to listeria hemolysin preliminary report. **Journal of Islamic Academy of Sciences**, v.5, p.189-193, 1992.
- AHMAD, A.; AHMAD, V.; KHALID, S. M.; SIDDIQUI, S. A.; KHAN, K. A. Study of the antibacterial therapeutic efficacy of juliflorine, julifloricine and a benzene insoluble alkaloidal fraction of *Prosopis juliflora*. **J of Islamic Acad of Sci**, v. 8, p.131-136, 1995.
- AL-SHAKH-HAMED, W.M.A.; AL-JAMMAS, M.A. The antimicrobial activity of alkaloidal fraction of *Prosopis juliflora*. **Iraqi J. Vet Sci**; v.12, p.281-287, 1999.
- AQEEL, A.; KHURSHEED, A.K.; VIQARUDDIN, A.; SABIHA, Q. Antimicrobial activity of julifloricine isolated from *Prosopis juliflora*. **Arzneim. - Forsch./ Drug Res.**, v.39, p.652-655,1989
- ARAÚJO, J. C. L. V.; LIMA, E. O.; CEBALLOS, B. S. O.; FREIRE, K. R. L.; SOUZA, E. L.; FILHO, L. S. Ação antimicrobiana de óleos essenciais sobre microorganismos potencialmente causadores de infecções oportunistas. **Revista de patologia tropical**. Vol 33 (1), 55-64, Jan.-jun, 2004.
- BAQUERO F. AND BLÁZQUEZ J. (1997). **Evolution of antibiotic resistance, Tree** 12:482-487.
- BATATINHA, M.J.M. **Untersuchungen über toxische Einflüsse von *Prosopis juliflora* Sw.D.C (Algarobeira) auf Zellkulturen sowie auf die Pansenfermentation beim Rind (in vitro)** [Tese]. Hannover: Veterinary Medicine University; 1997.
- BURKART, A. A monograph of the genus *Prosopis* (Leguminosae subfam. Mimosoideae). **Journal of the Arnold Arboretum**, Cambridge, v. 57, p. 219-249. 1976.
- CÁ-CERES, A.; MENÉNDEZ, H.; MÉNDEZ, E.; COHOBÓN, E.; SAMAYOA, B.E.; JAUREGUI, E. Antigonorrhoeal activity of plants used in Guatemala for the treatment of sexually transmitted diseases. **J Ethnopharmacol**, v.48, p.85-88, 1995.

CAMPELO, C. R. **Algaroba: planta mágica**. Recife: Edições Edificantes, 1997. 84 p.

CHOUDHARY, M.I.; NAWAZ, S.A.; ZAHEER-UL-HAQ AZIM, M.K.; GHAYUR, M.N.; LODHI, M.A.; JALIL, S.; KHALID, A.; AHMED, A.; RODE, B.M.; ATTA-UIUR-RAHMAN.; GILANI, A.U.; AHMAD, V.U. Juliflorine: a potent natural peripheral anionic-site-binding inhibitor of acetylcholinesterase with calcium-channel blocking potential, a leading candidate for Alzheimer's disease therapy. **Biochem Biophys Res Commun**, v.332, p.1171-1177, 2005.

COSTA, A. C. B. P.; PEREIRA, C. A.; FREIRE, F.; JUNQUEIRA, J. C., JORGE, A. O. C. Atividade antifúngica dos extratos glicólicos de *Rosmarinus officinalis* Linn. e *Syzygium cumini* Linn. sobre cepas clínicas de *Cândida albicans*, *Cândida glabrata* e *Cândida tropicalis*. **Revista de Odontologia da UNESP**, V.38,111-116p, 2009.

DUARTE, M.C.T.; FIGUEIRA, G.M.; PEREIRA, B.; MAGALHÃES, P.M.; DELARMEINA, C.. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcológicos de espécies da coleção de plantas medicinais CPQBA/UNICAMP, **Revista brasileira de Farmacognosia**, 2004.

EL-SAKHAWY, F.S.; FATHY, M.M; SHEHATA, A.H.; SOLIMAN, F.M. Phytochemical investigation of *Prosopis juliflora* D.C. growing in Egypt. Part I. Lipids, free sugars and mucilage. **Egypt J. Pharm. Sci.**, V. 32 ,283-293p ,1991.

FRANCO, A.A.; FARIA, S.M.; MOREIRA, V.C.G. Nodulation and nitrogen fixation in *Prosopis juliflora* (SW) DC. In: The Current State of Knowledge on *Prosopis Juliflora*. **International Conference on Prosopis**, 1988, Rome. Anais...Rome: FAO, 1988. p.299-306.

GONÇALVES, A.L.; FILHO, A. Alves; MENEZES, H.. Estudo Comparativo da Atividade Antimicrobiana de Extratos de algumas Árvores Nativas, **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.3, p.353-358, jul./set., 2005

GREYER, R.; MARTINEZ-BERNAL, A.; LUCKOW, M.; ZÁRATE, S. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán: Mimosaceae Tribu Mimoseae. Morelia: . Universidad Nacional Autónoma de México, **Centro de Investigaciones en Ecosistema**, 2006. fasc. 44, 108 p.

HAEFNER, HK. Current evaluation and management of vulvovaginitis. **Clin Obstet Gynecol**. 1999. Nº 42, 184p

KANTHASAMY, A.; SUBRAMANIAN, S.; GOVINDASAMY, S. Bactericidal and fungicidal effects of *Prosopis juliflora* alkaloidal fraction. **Indian Drugs**, v.26, p.390-394, 1989.



KAUSHIK, J.C.; SANJAY, A.; TRIPATHI, N.N. Antifungal properties of some plant extracts against the damping-off fungi of forest nurseries. **Indian J Forestry**, v.25, p.359-361, 2002.

LIMA, D.F. **Avaliação nutricional e bioquímica de Prosopis juliflora e seu aproveitamento na alimentação humana**. In: 2º Simpósio Brasileiro sobre algaroba. 1987. Mossoró, RN, Brasil. p.61-65. Coleção Mossoroense. Nº 357.

LIMA, P. C. F. **Comportamento silvicultural de espécies de Prosopis, em Petrolina-PE, região semi-árida brasileira**. 1994. 110 f. Tese (Doutorado) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

MARTENS, M.G; HOFFMAN, P; EL-ZAATARI, M.. Fungal species changes in the female genital tract. **J Low Genit Tract Dis**. 2004;8(1):21-4.

MATOS, F.J.A. **Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades**. 2. ed. Fortaleza: EUFC, 1994.

MENDES, B. V. **Potencialidades de Utilização da Algarobeira (Prosopis juliflora (SW) DC) no semi-árido Brasileiro**. 2. ed. Mossoró: ESAM, 1989. 44 p.

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 *Cândida albicans*. **Rev Odontol UNESP**. 2009; 38(3): 184-91.

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

NAKANO, H.; NAKAJIMA, E.; FUJII, Y.; SHIGEMORI, H.; HASEGAWA, K. Growth inhibitory alkaloids from mesquite (*Prosopis juliflora* (Sw.) DC.) leaves. **Phytochemistry**, v.65, n.5, p.587-591, 2004.

NIERO, R. et al. Aspectos químicos e biológicos de plantas medicinais e considerações sobre fitoterápicos. In: BRESOLIN, I.M.B.; FILHO, V.C. (org). **Ciências farmacêuticas: contribuição ao desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos**, Itajaí, Univali, 2003, 239p.

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.

PEREZ, S. C. J. A.; MORAES, J. A. P. V. Influência do estresse hídrico e do pH no processo germinativo da algarobeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 26, n. 7, p. 981-988, 1991.

PONZI, E. A. C.; OLIVEIRA, T. L.; MORAIS, I. A. F.; JÚNIOR, J. J. DA S.; GERBI, M. M.; SOUZA, I. A.; PSIOTTANO, M. N. C.; XAVIER, H. S. Atividade antimicrobiana do extrato de *Momordica charantia* L. **Rev. Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-fac.**, Camaragibe. Vol. 10, nº 1, p. 89-94, 2010.

PORTILLO, A.; VILA, R.; FREIXA, B.; ADZET, T.; CAÑIGUERAL, S.. Antifungal activity of Paraguayan plants used in traditional medicine, **J. of Ethnopharmacology** , 76: 93-98., 2001.

RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. **Toxicon, Oxford**, v. 39, p. 603-613, 2001.

SATISH, S.; RAVEESHA, K.A.; JANARDHANA, G.R. Antibacterial activity of plant extracts on phytopathogenic *Xanthomonas campestris* pathovars. **Let in Applied Microbiology**, v.28, p. 145-147, 1999.

SCALBERT A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**. V.30:p. 3875-83, 1991

SILVA, Géssica de Souza. **Estudo da Ação Antimicrobiana de Extratos de Plantas Medicinais sobre Espécies de Candida de Interesse Médico**, Artigo Científico apresentado na Universidade Estadual da Paraíba, 2012.

SILVA, S. **Algarobeira**. Natal: SEBRAE-RN. 1997. 26 p

SILVA, Victor. D.A. **A neurotoxicidade de alcalóides extraídos de folhas de *prosopis juliflora swartz. d.c.* em cultura primária de neurônios e neurônios/células gliais**. Salvador, Bahia, 2008.

Disponível em:  
<http://www.mevtropical.ufba.br/arquivos/dissertacoes/2006/VICTOR%20DIOGENES%20AMARAL%20DA%20SILVA1.pdf>

Acessado em : 13 de setembro de 2012 às 23:00h

SOLOMOS, T.W.G. Alcalóides. In: Livros Técnicos e Científicos editora. **Química Orgânica**, São Paulo, p.305-311, 1996.

SRIPHONG, L.; SOTANAPHUN, U.; LIMSIRICHAIKUL, S.; WETWITAYAKLUNG, P.; Pummangura, S. 2003. Cytotoxic alkaloids from the flowers of *Senna spectabilis*. **Planta medica**. 69: 1051-1054

TABOSA, I.M.; PAMPLONA, F.V. QUINTANS-JR, L.J. Isolamento e identificação de juliprosopina, um dos constituintes tóxicos da *Prosopis juliflora* Sw. D.C. **Anais da Reunião da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas, MG**; 1998. [Resumo].

TOLEDO, A.C.O.; DUARTE, M.R.; NAKASHIMA, T. Análise farmacognóstica da droga e do extrato fluido das folhas de *Symphytum officinale* L. (Boraginaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 2003.

YUNES, R.A. E FILHO, V.C. Breve análise histórica da química da Plantas Medicinais: Sua importância na atual concepção de fármaco segundo os paradigmas ocidental e oriental. In: YUNES, R.A. E CALIXTO, J.B. **Plantas Medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos, 2001. p. 17-44.

ZACCHINO, S. Estratégia para a descoberta de novos agentes antifúngicos. In: YUNES, R.A. E CALIXTO, J.B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos. 2001. p. 435-479.

ZHANG, Z.; ELSOHLY, H.N.; JACOB, M.R.; PASCO, D.S.; WALKER, L.A.; CLARK, A.M.. Natural products inhibiting *Candida albicans* secreted aspartic proteases from *Tovomita krukovii*, **Planta Med.**, 68: 49-54, 2002.

WERKMAN, C.; GRANATO, D.C.; KERBAUY, W.D.; SAMPAIO, F.C.; BRANDÃO, A.A.H.; RODE, S.M. Aplicações terapêuticas da *Punica granatum* L. (romã). **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, Vol. 10, nº 3, p.104-111, 2008.