

Avaliação da Atividade Antifúngica de Extratos e Frações de *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC

Renata Cougo Moraes¹, Aline D. Lana², Fernanda E. K. Silva², Samuel Kaiser¹, Simone G. Verza¹, Alexandre Fuentefria², George G. Ortega¹ (orientador)

Faculdade de Farmácia, UFRGS, Laboratório de Desenvolvimento Galênico¹,
Faculdade de Farmácia, UFRGS, Laboratório de Micologia².

Resumo

O presente estudo visa avaliar as atividades de extratos e frações de *Uncaria tomentosa* (*Rubiaceae*) frente a cepas selecionadas de leveduras e fungos filamentosos. O extrato hidroetanólico bruto de cascas e as frações de alcaloides, saponinas e polifenóis, obtidas mediante separação/purificação em fase polimérica sólida e resinas de troca-iônica, foram avaliados pelo método de microdiluição em placas. Na fase inicial de *screening* foi constatada atividade antifúngica para o extrato bruto, o que não ocorreu para as frações estudadas separadamente.

Introdução

O aumento de fungos patogênicos resistentes, a maior incidência de micoses recorrentes associadas a pacientes portadores de SIDA, quimioterapia anticâncer e transplantes de órgãos, assim como a massificação da cirurgia de correção estética, têm motivado estudos de bio-prospecção de novos fármacos antifúngicos. *Uncaria tomentosa* (unha-de-gato) é uma espécie nativa da região Amazônica, rica em alcaloides, polifenóis e triterpenos derivados do ácido quinóico. Estudos relatam seu uso etnofarmacológico no tratamento de inflamações articulares, processos alérgicos, e infecções de pele. Na literatura científica há evidência relatada de melhora clínica em pacientes com candidose oral após tratamento com gel contendo extrato de *U. tomentosa* (Paiva et al. 2009). Para diferentes tipos de candidíases, especificamente, foi observado aumento de resistência adquirida frente aos fármacos disponíveis no mercado. Nesse contexto, o objetivo geral do trabalho é realizar um *screening* da

atividade inibitória de extratos brutos e frações bioativas purificadas de cascas de *Uncaria tomentosa* frente a isolados de leveduras patogênicas e fungos filamentosos.

Metodologia

Os testes de susceptibilidade incluíram isolados clínicos das leveduras *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. glabrata*, e dos fungos filamentosos *Microsporium canis*, *M. gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Epidermophyton floccosum* e *Scytalidium dimidiatum*. O extrato bruto (**EXT**); extrato enriquecido em alcaloides e saponinas após pré-purificação com polivinilpirrolidona (**EPP**); e as frações de polifenóis (**POLIF**), alcalóides (**FALC**) e saponinas (**F90**) foram testados na concentração de 1mg/mL. As técnicas de fracionamento foram estabelecidas previamente pelo grupo. F90 e a EPP foram dissolvidas em metanol: tampão TRIS (10:90 v/v); as demais amostras em metanol 10% (v/v). A partir de uma cultura pura leveduriforme de 24h, (CLSI, doc. M27-A3; 2008) foi estabelecida uma concentração do inóculo de 10^3 células/mL, adotando o método de microdiluição em placas de 96 poços (Figura 1). A avaliação de *screening* foi visual, considerando a formação ou não de aglomerados de células no fundo do poço. Cloridrato de terbinafina (64µg/mL) foi utilizado como controle positivo antifúngico (C_{ant}), complementado por testes de controle de esterilidade do meio (CN) e de controle positivo de crescimento dos isolados fúngicos (CP). Os valores de concentração inibitória mínima (CIM) para extratos e frações serão determinados para os casos de atividade positiva e diluídas em RPMI 1640 com L-glutamina, sem NaHCO_3 , obtendo-se concentrações na faixa de 3200 a 50 µg/mL.

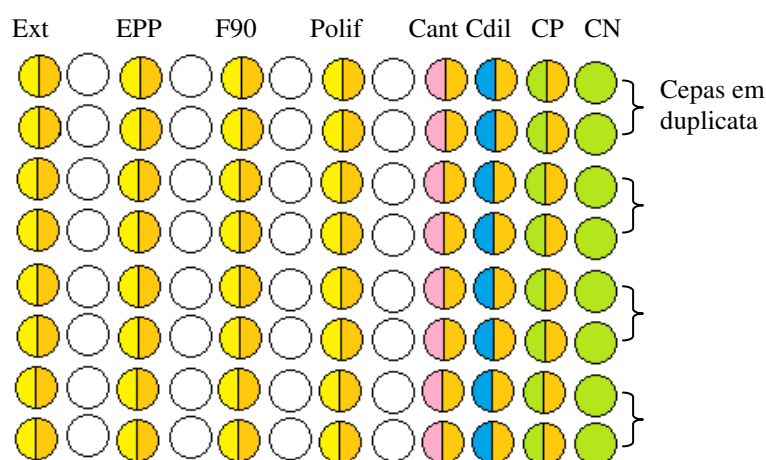


Figura 1 Modelo de microplaca. Amostras (amarelo); inóculo (laranja); C_{ant} = controle antifúngico com terbinafina (rosa); C_{dil} = controle com diluente (azul); CP = controle positivo de crescimento (verde); CN = controle negativo.

Resultados e Conclusões

Foi constatada nítida atividade antifúngica do EXT de *U. tomentosa* sobre *C. glabrata* e os fungos filamentosos *M. canis* e *M. gypseum*. As frações testadas mostraram ser inativas, exceto no caso de *S. dimidiatum* frente à fração de triterpenos, onde se evidencia uma inibição parcial do crescimento fúngico (Tabela I). Esses resultados indicam um possível sinergismo entre os grupos de substâncias presentes no extrato de *U. tomentosa* quando da avaliação da atividade antifúngica, uma vez que o extrato apresentou atividade de inibição do crescimento superior às frações avaliadas. Estudos complementares encontram-se em andamento.

Tabela I Resultados do *screening* de atividade antifúngica de extrato bruto e frações de *U. tomentosa*.

	EXT	EPP	FALC	POLIF	F90
<i>C. albicans</i>	SA	SA	SA	SA	SA
<i>C. glabrata</i>	I	SA	SA	SA	SA
<i>C. tropicalis</i>	SA	SA	SA	SA	SA
<i>C. parapsilosis</i>	SA	SA	SA	SA	SA
<i>C. krusei</i>	SA	SA	SA	SA	SA
<i>M. canis</i>	I	**	SA	**	**
<i>M. gypseum</i>	I	**	SA	**	**
<i>E. floccosum</i>	RN	**	RN	**	**
<i>T. mentagrophytes</i>	RN	**	RN	**	**
<i>S. dimidiatum</i>	SA	SA	SA	SA	IP

Abreviaturas: SA – sem atividade antifúngica; I – Inibição; RN – resultado não conclusivo; IP – inibição parcial; ** – em andamento.

Outras abreviaturas são explicadas no texto.

Agradecimentos: CNPq

Referências

PAIVA, L.C.A; Ribeiro, R.A; Pereira, J.V; Oliveira, N.M.C; Avaliação Clínica e Laboratorial do Gel de *Uncaria tomentosa* (Unha de Gato) sobre candidose oral. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 19(2A), Abr/Jun 2009, pp423-428.

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard, 3rd ed. CLSI document M27-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.