

UNIVERSIDADE VALE DO RIO DOCE
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
MESTRADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Maximillan Leite Santos

**Atividade antifúngica *in vitro* de cinco espécies de plantas medicinais contra
Trichophyton rubrum e *Trichophyton mentagrophytes***

Governador Valadares

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

MAXIMILLAN LEITE SANTOS

**Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica de cinco espécies de plantas medicinais
contra os dermatófitos *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes***

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências da Saúde da
Universidade Vale do Rio Doce, para a obtenção do título de
Mestre em Ciências Biológicas (Área de Concentração:
Imunopatologia das Doenças Infecciosas e Parasitárias).

ORIENTADOR: Prof. Dr. Anderson Assunção Andrade

Governador Valadares

2009

Santos, Maximillan Leite

Atividade antifúngica *in vitro* de cinco espécies de plantas medicinais contra *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes* / Maximillan Leite Santos. -- 2009.

83 f.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Vale do Rio Doce, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu Mestrado em Ciências Biológicas, Governador Valadares, MG, 2009.

Orientador: Anderson Assunção Andrade

1. *Trichophyton rubrum*. 2. *Trichophyton mentagrophytes*. 3. Química vegetal. 4. Dermatofitoses. I. Andrade, Anderson Assunção. II. Universidade Vale do Rio Doce. III. Título.

CDD 581.634

MAXIMILLAN LEITE SANTOS

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DE CINCO ESPÉCIES DE PLANTAS
MEDICINAIS CONTRA *TRICHOPHYTON RUBRUM* E *TRICHOPHYTON*
MENTAGROPHYTES

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas, Área de Concentração Imunopatologia das Doenças Infecciosas e Parasitárias, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Biológicas da Universidade Vale do Rio Doce

Governador Valadares, _____ de _____ de _____.

Banca Examinadora:

Orientador: Prof. Dr. Anderson Assunção Andrade
Universidade Vale do Rio Doce

Coordenadora do Programa de Mestrado em Ciências Biológicas
Prof^a.: Dr^a. Alda Maria Soares Silveira
Universidade Vale do Rio Doce

Presidente da Banca Prof.: Dr. Anderson Assunção Andrade
UFTM

Co-orientador Prof.: Dr. Rodrigo Loreto Peres
Universidade Vale do Rio Doce

Prof^a.: Dr^a. Elaine Maria Fagundes
Universidade Federal de Minas Gerais

Este trabalho é dedicado à minha família, Geraldo Magela e Tereza Teixeira pais modelo, Nicolás, Viviana e Liliana meus irmãos companheiros, e minha esposa Taise Anne mulher forte e amorosa, que me apoiaram, estimularam e deram forças em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Vale do Rio Doce de Governador Valadares Minas Gerais.

Aos Professores **Dr. Anderson Assunção Andrade e Dr. Rodrigo Loreto Peres.**

Aos demais Professores e Mestres.

À coordenadora do primeiro curso do Programa de Mestrado/2008 em Ciências Biológicas da Universidade Vale do Rio Doce – Governador Valadares – MG, **Prfa. Dra. Alda Maria Soares Silveira.**

Aos colegas do primeiro curso do Programa de Mestrado/2008 em Ciências Biológicas da Universidade Vale do Rio Doce – Governador Valadares – MG.

Aos Laboratórios de Microbiologia e Química, em especial aos técnicos e alunos de iniciação científica.

À todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos meus pais, irmãos e esposa.

À Deus por nos proporcionar a vida.

RESUMO

A infecção por dermatófitos é uma das causas mais comuns de doenças dermatológicas nos habitantes dos países tropicais e subtropicais. No Brasil, esta é a infecção fúngica mais frequente, e a maioria delas é causada pelas espécies *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* (80 – 90%). A terapia medicamentosa utilizada para essas infecções é frequentemente tóxica, de longa duração, de alto custo e de eficácia limitada. Por isso, a descoberta de novos compostos antidermatófitos é uma necessidade. Uma estratégia promissora e menos dispendiosa é buscar tais compostos por meio de produtos de origem vegetal. Desta forma, este trabalho avaliou a atividade antidermatofítica de cinco espécies de plantas, todas com indicação etnobotânica de atividade antifúngica. Extratos etanólicos, metanólicos e/ou hexânicos de *Cyperus rotundus* L., *Piper aduncum* L., *Plectranthus barbatus* (Andrews) e *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass., além dos óleos essenciais de *Achillea millefolium* L., *Piper aduncum* e *Porophyllum ruderale* foram avaliados para sua atividade antifúngica contra linhagens padrão e isolados clínicos de *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* por meio da determinação da concentração inibitória mínima (CIM), de acordo com o método de microdiluição em caldo. Para os extratos, determinou-se também a concentração fungicida mínima (CFM). Todos os extratos testados demonstraram atividade antifúngica, e atingiram CIMs e CFMs que variaram de 0,31 a 5,0 mg/ml. A susceptibilidade de *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* para cada produto vegetal analisado foi semelhante. Os valores de CFM foram iguais aos valores de CIM, ou no máximo duas vezes maiores. O óleo essencial que demonstrou maior efetividade foi o de *Achillea millefolium* que chegou a atingir uma CIM de 0,78 mg/ml para *T. rubrum*. A melhor atividade foi observada para os extratos etanólicos e hexânicos de *Piper aduncum*, com CIM de 0,16 a 0,31 mg/ml. Esses extratos, obtidos por diferentes técnicas de extração (maceração, soxhlet, turbólise e dococção), mostraram resultados semelhantes, mas melhores que o correspondente extrato etanólico preparado por sonicação. Finalmente, verificamos que isolados clínicos de *T. rubrum* e *T. mentagrophytes*, resistentes ao fluconazol, tiveram a mesma susceptibilidade ao extrato etanólico de *Piper aduncum* (maceração) que os isolados sensíveis a esse antifúngico. Nossos dados substanciam a indicação etnobotânica de atividade antifúngica para as cinco espécies estudadas e corroboram a importância da pesquisa etnofarmacológica na seleção de plantas para triagem de bioatividade. Esses resultados também formam uma boa base para seleção de espécies de plantas candidatas para estudos farmacológicos e toxicológicos adicionais.

Palavras chave: Fitoterapia. Plantas medicinais. Dermatofitoses. *Trichophyton*. Concentração inibitória mínima. Concentração fungicida mínima.

ABSTRACT

Infection by dermatophytes is one of the most common causes of skin disease in residents of tropical and subtropical countries. In Brazil, this is the most common fungal infection, and most of them are caused by the species *T. rubrum* and *T. mentagrophytes* (80 – 90%). The medication used for such infections is often toxic, long-term, of high cost and limited effectiveness. For the said reasons, the discovery of new antidermatophytes compounds is a need. A promising and less expensive strategy is to seek such compounds by means of products of vegetal origin. So the discovery of new compounds antidermatophytic is a necessity. One promising strategy is to seek less expensive and such compounds by means of products of plant origin. Therefore, this research work evaluated the antidermatophytes activity of five species of plants, all having ethnobotanical indication of antifungal activity. Extracts of ethanol, methanol and / or hexane of *Cyperus rotundus* L. *Piper aduncum* L., *Plectranthus barbatus* (Andrews) and *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass., besides essential oils of *Achillea millefolium* L., *Piper aduncum* and *Porophyllum ruderale* were evaluated for their antifungal activity against standard strains and clinical isolates of *T. rubrum* and *T. mentagrophytes* through the determination of minimum inhibitory concentration (MIC), according to microdilution method in broth. For those extracts, the minimum fungicide concentration was set (MFC). All tested extracts showed antifungal activity, and reached MICs and MFCs that varied of 0.31 to 5.0 mg/ml. The susceptibility of *T. rubrum* and *T. mentagrophytes* for each tested product was similar to that. The values of MFC were equal to the values of CIM, or at most twice as high. The essential oil that showed greater effectiveness was the one of *Achillea millefolium* which even reached an MIC of 0.78 mg / ml for *T. rubrum*. The best activity observed was for ethanolic and hexanic extracts of *Piper aduncum*, with MIC of 0.16 to 0.31 mg/ml. The extracts, obtained through different techniques of extraction (maceration, soxhlet, turbolise and decoction) showed similar results, but better than the corresponding ethanolic extract prepared by bath ultrasound. Finally, we found that clinical isolates of *T. rubrum* and *T. mentagrophytes*, resistant to fluconazole, had the same susceptibility to ethanol extract of *Piper aduncum* (maceration) as the isolates sensitive to this antifungal. Our data confirm the ethnobotanical indication of antifungal activity for the five studied species and validate the importance of ethnopharmacological research on plant selection for the investigation of bioactivity. These results also provide a good basis for selection of plant species samples for additional pharmacological and toxicological studies.

Key words: Herbal medicine. Medicinal plants. Dermatophytosis. *Trichophyton*. Minimum inhibitory concentration. Concentration fungicide minimal.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 01	<i>Achillea millefolium</i>	30
FIGURA 02	<i>Cyperus rotundus</i>	31
FIGURA 03	<i>Piper aduncum</i>	32
FIGURA 04	<i>Plectranthus barbatus</i>	33
FIGURA 05	<i>Porophyllum ruderale</i>	34
FIGURA 06	Hifas e artroconídios típicos de dermatófitos.	38
FIGURA 07	<i>Tinea pedis</i>	39
FIGURA 08	<i>Tinea capitis e corporis</i>	39
FIGURA 09	<i>Tinea unguium</i>	40
FIGURA 10	Representação da estrutura da parede fúngica	45
FIGURA 11	Esquema geral para obtenção de extratos e óleos essenciais.	48

LISTA DE TABELAS

TABELA 01	Classificação da natureza química das principais classes de compostos.	24
TABELA 02	Relação das espécies de plantas medicinais, seus usos populares e citações científicas.	35
TABELA 03	Classificação de micoses humanas.	37
TABELA 04	Tratamento oral para infecções fúngicas cutâneas.	42
TABELA 05	Métodos de obtenção dos diversos extratos e óleos essenciais utilizados no trabalho, para cada espécie de planta e respectivos solventes.	47
TABELA 06	Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM) de extratos vegetais (obtidos por sonicação) contra <i>Trichophyton rubrum</i> (Tr) e <i>Trichophyton mentagrophytes</i> (Tm).	62
TABELA 07	Concentração inibitória mínima (CIM) de óleos essenciais contra <i>Trichophyton rubrum</i> (Tr) e <i>Trichophyton mentagrophytes</i> (Tm).	63
TABELA 08	Efeito de diferentes métodos de obtenção do extrato de <i>Piper aduncum</i> sobre <i>T. rubrum</i> (Tr) e <i>T. mentagrophytes</i> (Tm).	65
TABELA 09	Concentração inibitória mínima (CIM) do fluconazol contra <i>Trichophyton rubrum</i> (Tr) e <i>Trichophyton mentagrophytes</i> (Tm).	66
TABELA 10	Sensibilidade dos isolados clínicos de <i>T. rubrum</i> e <i>T. mentagrophytes</i> ao Fluconazol.	66
TABELA 11	Efeito de extrato etanólico de <i>Piper aduncum</i> (Maceração) sobre isolados clínicos de <i>T. rubrum</i> e <i>T. mentagrophytes</i> .	67

LISTA DE ABREVIATURAS

ATCC	American Type Culture Collection
BDA	Ágar Batata Dextrose
CFM	Concentração Fungicida Míniima
CIM	Concentração Inibitória Míniima
CSLI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DMSO	Dimetilsulfóxido
FAPEMIG	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
MOPS	Ácido 3-(N-morpholino)propanesulfonilco
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
OMS	Organização Mundial de Saúde
PVC	Cloreto de polivinil
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
SDA	Saboraud Dextrose Agar
T.m.	<i>Tricophyton mentagrophytes</i>
T.r.	<i>Tricophyton rubrum</i>
UFC	Unidades formadoras de colônia
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
D.A.V.	Destilação por arraste a vapor

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 JUSTIFICATIVA	16
4 REVISÃO DE LITERATURA	18
4.1 PLANTAS MEDICINAIS	18
4.1.1 Principais Classes de Produtos Naturais	22
4.1.2 Aspectos Etnobotânicos das Plantas do Estudo	29
4.1.2.1 Achillea millefolium	29
4.1.2.2 Cyperus rotundus	30
4.1.2.3 Piper aduncum	31
4.1.2.4 Plectranthus barbatus	32
4.1.2.5 Porophyllum ruderale	33
4.2 MICOSES HUMANAS	36
4.2.1 Dermatofitoses	37
4.3 AGENTES ANTIFÚNGICOS	42
5 METODOLOGIA	47
5.1 OBTENÇÃO DAS ESPÉCIES VEGETAIS A SEREM ESTUDADAS	47
5.2 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO – PREPARO DOS EXTRATOS DE PLANTAS	49
5.2.1 Sonicação (Ultrassom)	49
5.2.2 Decocção (Refluxo)	49
5.2.3 Maceração	50
5.2.4 Soxhlet	51
5.2.5 Turbólize	51
5.3 PREPARO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	52
5.3.1 Destilação por Arraste a Vapor	52
5.4 FUNGOS	53
5.5 ENSAIO DE SUSCEPTIBILIDADE	53
5.6 PREPARO DO INÓCULO	53
5.7 ENSAIO DE CIM	54
5.8 DETERMINAÇÃO DA CIM DO ANTIFÚNGICO	55
5.9 LEITURA E INTERPRETAÇÃO DAS CIMs	55

5.10 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO FUNGICIDA MÍNIMA (CFM)	55
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
6.1 ASPECTOS GERAIS	56
6.2 ATIVIDADE ANTIDERMATOFÍTICA	57
6.2.1 Sensibilidade dos Fungos Padrão (<i>Trichophyton Mentagrophytes</i> e <i>Trichophyton Rubrum</i>) aos Produtos Vegetais	57
6.2.2 Sensibilidade dos Fungos Padrão (<i>Trichophyton Mentagrophytes</i> e <i>Trichophyton Rubrum</i>) frente a Extratos Obtidos de Diferentes Métodos	63
6.2.3 Sensibilidade dos Fungos (<i>Trichophyton Mentagrophytes</i> e <i>Trichophyton Rubrum</i>) ao Fluconazol	65
6.2.4 Sensibilidade dos Isolados Clínicos de <i>Trichophyton Mentagrophytes</i> e <i>Trichophyton Rubrum</i> ao Extrato Etanólico de <i>Piper Aduncum</i> .	66
7 CONCLUSÕES	68
REFERÊNCIAS	69

1 INTRODUÇÃO

As dermatofitoses são infecções superficiais cutâneas produzidas por fungos queratinofílicos denominados dermatófitos, que compreendem os gêneros *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*. Estes agentes invadem o estrato córneo da pele e de outros tecidos queratinizados dos homens e animais produzindo as chamadas tineas ou tinhas. As reações do hospedeiro à infecção por dermatófitos podem variar de moderada a severa como consequência da virulência da linhagem ou espécie infectante, da localização anatômica da infecção, fatores ambientais locais e sistema imune do hospedeiro (VERONESI & FOCACCIA, 2002).

Estima-se que 10 a 15% da população humana poderá ser infectada por esses microorganismos no decorrer de sua vida. No Brasil, a dermatofitose é a infecção fúngica mais freqüente, e a maioria delas é causada pelas espécies *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans*, *E. floccosum* e *M. Canis* (SANTOS *et al.*, 1997). O espectro dos dermatófitos na causa das dermatofitoses sofreu mudanças nos últimos 70 anos. Antes da Segunda Guerra Mundial, *M. canis* e *E. floccosum* eram os maiores causadores. A partir dos anos cinquenta, *T. rubrum* passou a ser o fungo dermatofítico mais isolado de lesões de *tineas*, sendo responsável por 80-90% dos casos, seguido por *T. mentagrophytes* (SEEBACHER, 2003).

A ocorrência das dermatofitoses vem aumentando nas últimas décadas, sendo fortemente influenciada por fatores tais como: idade, genética, clima, superpopulação, condições de higiene, sudação, contato com animais, roupas, toalhas, piscina e solo contaminados (JESSUP *et al.*, 2000; BARCHIESI *et al.*, 2001; HAINER, 2003). Embora as infecções por dermatófitos sejam vistas por alguns como um simples problema cosmético, que normalmente não acarretam danos maiores, como dor e desconforto, elas podem causar considerável morbidade, servindo inclusive como “porta de entrada” para outros microorganismos que podem causar complicações como celulites e erisipela. A alta prevalência da doença é também uma causa comum de consultas médicas e, conseqüentemente de falhas ao trabalho. Além disso, com o advento da AIDS, a ocorrência de dermatofitoses aumentou de forma alarmante. Esse aumento de prevalência foi acompanhado também pelo aumento das complicações, uma vez que esses indivíduos imunocomprometidos podem ser acometidos por micoses disseminadas e/ou subcutâneas causadas por dermatófitos (MEZZARI, 1998).

O controle dos dermatófitos envolve quase sempre a administração oral ou tópica de drogas antifúngicas, e apesar do arsenal de compostos antifúngicos, os dermatófitos têm

sobrevivido há várias gerações de regimes terapêuticos, permanecendo como um dos mais constantes parasitas associados à humanidade (WEITZMAN & SUMERBELL, 1995).

Embora os dermatófitos respondam ao tratamento com antifúngicos convencionais, a recorrência é comum, mesmo em indivíduos hígidos, o que evidencia a limitada eficácia desses compostos (MEIS & VERMIJ, 2001). Além disso, a terapia é freqüentemente de longa duração, geralmente quatro a seis semanas, e o desenvolvimento de resistência tem sido considerável (GUPTA & KOHLI, 2003). Alguns dos antimicóticos disponíveis são comumente tóxicos, podendo causar vários efeitos colaterais em alguns pacientes, incluindo, no caso daqueles de uso tópico, irritação local e reações de sensibilidade. Finalmente, muitos pesquisadores têm ressaltado o alto custo da terapia antidermatofítica, sobretudo quando a infecção envolve grandes áreas da superfície do corpo, como um dos mais importantes fatores que dificultam o tratamento (KYLE & DHAL, 2004).

O declínio radical da abundância de algumas espécies implica que outros dermatófitos podem também sofrer declínio se ocorrer adequado avanço terapêutico (WEITZMAN & SUMERBELL, 1995). Esse avanço poderá ser conseguido com a descoberta de novos compostos antifúngicos, os quais devem ser mais eficientes e de menor custo, além de apresentar menor toxicidade que aqueles atualmente disponíveis.

Uma estratégia promissora e menos dispendiosa para a obtenção de novos compostos antifúngicos, é buscar tais compostos a partir de produtos de origem vegetal, por meio da etnofarmacologia (SOUZA *et al.*, 2003). De fato, as plantas são, há séculos, utilizadas pelo homem para fins terapêuticos (NOSTRO *et al.*, 2000), e, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 80% da população mundial utiliza principalmente a medicina tradicional, baseada em produtos de origem vegetal, para suprir as necessidades de assistência médica primária (FARNWORTH, 1985). Esse conhecimento etnofarmacológico tem sido usado como ponto de partida para o delineamento experimental visando a descoberta de novos fármacos (SOUZA *et al.*, 2002).

Nesse contexto, identificamos previamente, a partir de estudos etnobotânicos (LORENZI & MATOS, 2002; BRASILEIRO, *et al.*, 2003), cinco espécies de plantas de ocorrência na Região do Vale do Rio Doce e com descrição de atividade antifúngica na medicina popular. No presente trabalho, objetivamos testar *in vitro* suas atividades antidermatofíticas contra as espécies de *T. rubrum* e *T. mentagrophytes*. Avaliamos extratos brutos de *Porophyllum ruderale*, *Plectranthus barbatus*, *Piper aduncum* e *Cyperus rotundus*, além dos óleos-essenciais de *Achillea millefolium*, *Piper aduncum* e *Porophyllum ruderale*.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar, *in vitro*, a atividade antifúngica de cinco espécies vegetais contra os dermatófitos *T. rubrum* e *T. mentagrophytes*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) de extratos brutos e/ou óleos essenciais de cinco espécies vegetais (*Achillea millefolium* L., *Cyperus rotundus* L., *Piper aduncum* L., *Plectranthus barbatus* (Andrews) e *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass) sobre cepas padrão (ATCC) de dermatófitos, das espécies *T. rubrum* e *T. mentagrophytes*
- Selecionar o extrato mais ativo e avaliar o efeito de diferentes técnicas de obtenção de extratos (Sonicção, Maceração, Turbólize, Soxhlet e Decocção) sobre a atividade dos mesmos contra linhagens padrão de *T. rubrum* e *T. mentagrophytes*.
- Selecionar o extrato mais ativo sobre as linhagens padrão, e então determinar suas Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) sobre cepas de *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* isoladas de pacientes.
- Comparar os resultados das CIMs do fluconazol, antifúngico convencional, utilizado para o tratamento de dermatofitoses, com aqueles dos extratos e óleos mais ativos.
- Relacionar os dados obtidos nesse estudo com os disponíveis na literatura científica.

3 JUSTIFICATIVA

O estudo das micoses reveste-se de importância devido à grande frequência com que estas são diagnosticadas, podendo desencadear epidemias em alguns grupos populacionais e por serem extremamente contagiosas (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

O tratamento das micoses humanas não é sempre efetivo, pois a recorrência é comum, o que evidencia a limitada eficácia dos fármacos antifúngicos disponíveis, os quais apresentam também importante toxicidade (MEIS & VERWEIJ, 2001; WOODFOLK, 2005). Além disso, o desenvolvimento de espécies resistentes tem sido considerável (GUPTA & KOHLI, 2003). Finalmente, especificamente em relação aos dermatófitos, muitos pesquisadores têm ressaltado o alto custo de sua terapia, sobretudo quando a infecção envolve grandes áreas da superfície do corpo, como um dos mais importantes fatores que dificultam o tratamento (WEITZMAN & SUMMERBELL, 1995; HAINER, 2003; KYLE & DAHL, 2004). Por esta razão, há uma busca contínua por compostos antifúngicos mais efetivos, mas, sobretudo, mais seguros que os existentes (FENNER *et al.*, 2006).

Nesse contexto, o estudo de plantas medicinais é considerado uma importante estratégia na pesquisa de novos compostos com atividade antifúngica, recebendo grande atenção dos cientistas. Entre as principais ferramentas na busca desses compostos, estão as informações de como as plantas são utilizadas por diferentes grupos étnicos e os estudos farmacológicos das preparações utilizadas, abordadas, respectivamente no âmbito da Etnobotânica e da Etnofarmacologia.

A busca de novos compostos antifúngicos a partir de plantas da flora latino-americana, baseada principalmente no seu uso etnofarmacológico, é tema frequente de pesquisa (FENNER *et al.*, 2006). Segundo Silva *et al.* (2005), a intensa pressão seletiva exercida por fungos patogênicos sobre as plantas resultou na evolução de uma ampla variedade de compostos fitoquímicos com atividade antifúngica, conforme tem sido demonstrado pelas pesquisas de isolamento de componentes antifúngicos ativos provenientes dos extratos brutos das plantas (COSTA *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2001; PASSOS *et al.*, 2002; SOUZA *et al.*, 2002). Apesar de a literatura indicar que um número significativo de famílias e espécies de plantas já tenham sido estudadas até o momento, se levarmos em conta a existência das cerca de 300.000 espécies de plantas conhecidas, muito trabalho ainda tem de ser feito. Ainda mais se considerarmos que para a maioria destas plantas somente uma de suas partes, como folha, raiz ou caule, ou somente um tipo de preparação como óleo essencial ou extrato foram

estudados (DUARTE, 2006).

No Brasil há crescente interesse e busca pela medicina tradicional e pela fitoterapia, que ocorre devido a vigente carência de recursos dos órgãos públicos de saúde e incessantes aumentos de preços nos medicamentos alopáticos (SANTOS, 2000; MEDEIROS *et al.*, 2004), bem como dos efeitos colaterais apresentados por alguns destes medicamentos (AZEVEDO & SILVA 2006; AZEVEDO & KRUEL 2007). Nosso país está entre os que possuem maior diversidade genética vegetal, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas (AZEVEDO & SILVA 2006), e detentor de mais de 30% dos remanescentes de florestas tropicais existentes sobre a superfície terrestre, abrigando não somente a maior diversidade biológica do planeta, como também alta variabilidade genética (MEDEIROS *et al.*, 2004). Além disso, o número de informações sobre plantas medicinais tem crescido lentamente, evidenciando que em um país biologicamente tão rico, mas com ecossistemas tão ameaçados, as pesquisas com plantas medicinais deveriam ser mais incentivadas (NETO & MORAIS, 2003).

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 PLANTAS MEDICINAIS

As plantas tem sido, desde a antiguidade, um recurso ao alcance do ser humano. Durante milênios, o homem empiricamente aprofundou seus conhecimentos a fim de obter melhorias nas suas condições de alimentação e cura de suas enfermidades, obtendo uma estreita inter-relação entre o uso das plantas e sua evolução. É de supor que no passado o homem quando acometido de seus males, recorria à alguma fonte de poder curativo (MIGUEL & MIGUEL, 2000; DUARTE, 2006). Muitas sociedades tradicionais possuem uma vasta farmacopéia natural, em boa parte proveniente dos recursos vegetais encontrados nos ambientes naturais ocupados por estas populações, ou cultivados em ambientes antropicamente alterados (AMOROZO, 2002).

Os fitoterápicos são tidos como produtos derivados de plantas usados com propósitos medicinais e para promover a saúde, mas não necessariamente inócuos. São medicamentos preparados exclusivamente com plantas ou partes de plantas medicinais (raízes, cascas, folhas, flores, frutos ou sementes) (LÓPEZ, 2006). O consumo de fitoterápicos ocorre há 60.000 anos até os dias atuais, a ponto de 37% da população adulta dos Estados Unidos da América utilizarem estes produtos (DESTRO *et al.*, 2006); e, na África 80% da população dependerem desses medicamentos, os quais representam alternativa importante frente ao alto custo dos fármacos sintéticos (PONTES *et al.*, 2006 ; TUROLLA & NASCIMENTO, 2006).

A etnobotânica pode ser definida como o estudo das sociedades humanas, passadas e presentes, e todos os tipos de inter-relações: ecológicas, evolucionárias e simbólicas; reconhecendo a dinâmica natural das relações entre o ser humano e as plantas (SOUZA & FELFILI, 2006; AZEVEDO & KRUEL, 2007); ela é citada na literatura como sendo um dos caminhos alternativos que mais evoluiu para a descoberta de novos produtos naturais bioativos, pois juntamente com a etnofarmacologia, não consideram as plantas medicinais como simples matérias-primas, ambas aplicam a descrição do histórico da planta como um recurso terapêutico eficaz para o tratamento e cura de doenças de determinado grupo étnico, aumentando as probabilidades de novas descobertas de substâncias inéditas (LÓPEZ, 2006). Estudos com essa abordagem, são especialmente importantes no Brasil, uma vez que seu território abriga uma das floras mais ricas do mundo, da qual 99% são desconhecidas

quimicamente (AZEVEDO & KRUEL, 2007). Assim as pesquisas etnobotânicas são usadas com vários objetivos, ao mesmo tempo em que avaliam a importância das plantas para um determinado grupo étnico, comparam os usos e/ou comunidades vegetais entre diferentes populações, comparam a importância relativa de espécies e famílias de plantas medicinais, entre outras (VENDRUSCOLO & MENTZ, 2006).

O Brasil detém a maior diversidade biológica do mundo, que representa quase um terço da flora mundial vislumbrada em dez biomas com uma biodiversidade exuberante (BÔAS & GADELHA, 2007), que desperta interesses de comunidades científicas internacionais para o estudo, conservação e utilização racional destes recursos (SOUZA & FELFILI, 2006), pois consiste em um patrimônio genético capaz de render benefícios econômicos (LÓPEZ, 2006). Mas, ironicamente, com relação às plantas medicinais, o Brasil ainda carece de levantamentos mais acurados da produção desses produtos e derivados (MARCHESE *et al.*, 2004). A utilização de plantas medicinais no Brasil é uma prática comum, resultante da forte influência cultural dos indígenas locais, miscigenadas às tradições africanas, oriundas de três séculos de tráfico escravo e da cultura européia trazida pelos colonizadores (DUARTE, 2006; AZEVEDO & KRUEL, 2007).

Segundo a Organização Mundial de Saúde, estima-se que cerca de 80% da população mundial depende de plantas para o cuidado com a saúde, relata ainda, que 85% da medicina tradicional envolvem o uso de plantas medicinais, seus extratos vegetais e seus princípios ativos (AZEVEDO & SILVA, 2006; AZEVEDO & KRUEL 2007), isso significa que 3,5 a 4,0 bilhões de pessoas dependem de plantas como fontes terapêuticas (AZEVEDO & SILVA, 2006).

O uso e o comércio de plantas vêm sendo estimulados, nas últimas décadas, pela necessidade de uma crescente população que busca uma maior diversidade e quantidade de plantas para serem utilizadas no cuidado à saúde (AZEVEDO & KRUEL, 2007). Além disso, os estudos sobre o uso de plantas medicinais devem levar em consideração o contexto social e cultural do qual fazem parte (SOUZA & FELFILI, 2006).

O descaso flagrante, com a desarticulação de políticas públicas relativas ao atendimento das necessidades básicas de saúde das populações periféricas vem levando a uma crescente procura de alternativas economicamente mais viáveis, o que também gera um aumento do consumo de plantas medicinais (AZEVEDO & SILVA, 2006). Desta forma, o aumento do uso destas plantas está provavelmente relacionado à deterioração das condições econômicas de muitos países (AZEVEDO & SILVA, 2006), pois as práticas relacionadas ao

uso popular de plantas medicinais são o que muitas comunidades têm como alternativa viável para o tratamento de doenças ou manutenção da saúde (PINTO *et al.*, 2006).

Atualmente, de acordo com Bôas & Gadelha (2007), os medicamentos de origem vegetal representam claramente uma janela de oportunidade na indústria de medicamentos estruturada de forma global, tratando-se de um mercado poderoso à busca de novas moléculas para assegurar a competitividade na produção de novos medicamentos patenteados. Contudo, o uso tradicional de diversas plantas medicinais baseado em conhecimentos populares, aliado à crença de que, por ser natural não causa reações adversas, fez com que poucas plantas medicinais fossem avaliadas através de estudos (TUROLLA & NASCIMENTO, 2006). Assim, com o desconhecimento da possível existência da ação tóxica, bem como de sua indicação adequada, as plantas medicinais são muitas vezes utilizadas de forma incorreta, não produzindo o efeito desejado. Dessa forma, apesar do uso milenar das plantas medicinais ao longo dos anos, algumas delas apresentam substâncias potencialmente perigosas, agressivas e, por essa razão devem ser utilizadas com cuidado, respeitando seus riscos toxicológicos (ZANCARO, 2008). Os efeitos hepatotóxicos presentes em determinadas plantas são exemplos dos riscos causados por substâncias como apiol, safrol, liganas e alcalóides; assim como a reação tóxica renal que pode ser causada por espécies vegetais que contém terpenos e saponinas, e alguns tipos de dermatites podem ser causadas por espécies ricas em lactonas sesquiterpênicas e produtos naturais do tipo furanocumarinas. Componentes tóxicos ou antinutricionais, como o ácido oxálico, nitrato e ácido erúico estão presentes em muitas plantas de consumo comercial. Além disso, diversas substâncias com atividades citotóxicas ou genotóxicas de diversas plantas estão relacionadas com a incidência de tumores (ZANCARO, 2008).

Recentemente, uma epidemia de hepatite na França foi atribuído ao uso de cápsulas de têucrio (*Teucrium chamaedrys* L. - *Labiatae*). Outro caso importante é o do confrei (*Symphytum officinale* L.), que é uma planta utilizada como cicatrizante devido à presença da alantoína, mas que possui também alcalóides, os quais são comprovadamente hepatotóxicos e carcinogênicos (ZANCARO, 2008).

Outras plantas medicinais são potencialmente perigosas, podendo-se citar as espécies do gênero *Senecio*, a jurubeba (*Solanum paniculatum* L.), ipeca (*Cephaelis ipecacuanha* (Brot.) A. Rich.) e arnica (*Arnica montana* L.), que podem causar irritação gastro-intestinal; o mastruço (*Chenopodium ambrosioides* L.) e a trombetaira (*Datura suaveolens* Humb. & Bopl ex Willd.), que podem lesionar o sistema nervoso central; o cambará (*Lantana camara* L.), conhecido por sua hepatotoxicidade; a cáscara-sagrada (*Rhamnus purshiana* DC), que causa

distúrbios gastro-intestinais (como diarreia grave) e a arruda (*Ruta graveolens*), que pode provocar aborto, fortes hemorragias, irritação da mucosa bucal e inflamações epidérmicas. Em doses elevadas, até mesmo o jatobá (*Hymenaea coubail* L.), conhecido como expectorante e fortificante, pode desencadear reações alérgicas, e a sucubá (*Himathantus sucuba* (Spruve) Woodson), usada no combate à amebíase, úlcera e gastrite, pode ser abortiva. No caso de gestantes, o uso de espécies vegetais deve seguir rigorosamente os mesmos cuidados dos medicamentos alopáticos. Entre as plantas medicinais que podem causar riscos para mulheres grávidas, por estimular a motilidade uterina e provocar aborto, encontram-se alho (*Allium sativum*), aloe (*Aloe ferox*), angélica (*Angelica archangelica*), arnica (*Arnica Montana*), cânfora (*Cinnamomum canphora*), confrei (*Symphitum officinalis*), eucalipto (*Eucaliptus globulus*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), gengibre (*Zengiber officinais*) e sene (*Cassia angustifolia* e *Cassia acutifolia*) (ZANCARO, 2008).

Alguns óleos essenciais também devem ser evitados, como por exemplo, os provenientes de bétula (*Betula alba*), cedro (*Cedrela brasiliensis*), erva-doce (*Pimpinella anisum*), jasmim (*Jasminum officinalis*), manjerição (*Origanum basilicum*), manjerona (*Majorana hortensis*), tomilho (*Thymus vulgaris*), rosa (*Rosa sp.*) e lavanda (*Lavanda angustifolia*). Neste último caso, deve-se evitar o consumo, especialmente nos primeiros meses de gravidez. Em estudos recentes, realizados com ratas grávidas, foi apontado o efeito colateral abortivo da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*), planta medicinal de comprovada baixa toxicidade, ação anti-ulcerogênica e anti-inflamatória. Extratos hidroalcoólicos dessa planta mostraram-se abortivos por atuarem no período pré-implantação dos embriões no útero (ZANCARO, 2008).

É importante conhecer as interações entre as ervas e entre erva e droga alopática. Como exemplo temos a erva de São João pode potencializar o efeito de drogas como a ciclosporina, etinil-estradiol e digoxina, pois todos utilizam a mesma via de metabolização hepática. Outras ervas com efeitos anticoagulantes como a gincobiloba, ginseng e alho podem aumentar o risco de sangramento em pacientes que utilizam warfarina ou outros inibidores da agregação plaquetária. A combinação de efedra, guaraná e *Citrus aurantium* que pode aumentar o risco de hipertensão, arritmia e acidente vascular cerebral. Dessa forma a preocupação com o uso indiscriminado de produtos combinados é crescente, pois podem resultar em risco aumentado de interação entre as ervas e os medicamentos alopáticos (ZANCARO, 2008).

Em meio a este quadro Miguel & Miguel (2000) observam que, o incentivo ao uso de plantas e seus derivados, pode levar muitas vezes à substituição por conta própria, do

atendimento médico, e por sua vez, da terapêutica adequada. Os riscos de intoxicação, contaminação microbiológica e agravamento dos estados patológicos, se oportunizam quando não ocorrem o atendimento profissional devido.

Historicamente as plantas medicinais vêm sendo utilizadas com finalidades terapêuticas há milhares de anos. Seu uso popular foi propagado de geração em geração e descrito nas diversas farmacopéias. Com o tempo, foram desenvolvidos novos métodos de isolamento de substâncias ativas, tornando-se possível identificar substâncias em amostras complexas como os extratos vegetais, ressurgindo o interesse por compostos de origem vegetal que pudessem ser utilizados como protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos. Contudo, apesar da crescente importância dos medicamentos fitoterápicos, relativamente poucos estudos foram realizados a fim de comprovar sua eficácia e segurança, sendo que muitas plantas ainda são utilizadas com base somente no seu uso popular bem estabelecido. Porém, estas plantas desempenham importante papel na medicina moderna. Primeiramente porque podem fornecer fármacos extremamente importantes, os quais dificilmente seriam obtidos via síntese química. Em segundo lugar, as fontes naturais fornecem compostos que podem ser levemente modificados, tornando-os mais eficazes ou menos tóxicos. Em terceiro lugar, os produtos naturais podem ser utilizados como protótipos para obtenção de fármacos com atividades terapêuticas semelhantes a dos compostos originais (TUROLLA & NASCIMENTO, 2006). Assim, a produção de novos fármacos é, portanto, uma demanda da indústria internacional de medicamentos (BÔAS & GADELHA, 2007). Sendo que, na medicina as plantas já fornecem matéria-prima para a produção de analgésicos, tranquilizantes, diuréticos, laxativos, antibióticos, antitumorais entre outros (SOUZA & FELFILI, 2006; TUROLLA & NASCIMENTO, 2006; WESTPHAL *et al.*, 2007). Ainda, de acordo López (2006), os trabalhos de pesquisa com plantas medicinais originam medicamentos em menor tempo, com custos muitas vezes inferiores e, conseqüentemente, mais acessíveis à população, que, em geral, encontra-se sem condições de arcar com os custos elevados da aquisição de medicamentos que possam ser utilizados como parte do atendimento das necessidades primárias de saúde.

4.1.1 Principais classes de produtos naturais

As plantas produzem substâncias destinadas ao seu crescimento a exemplo dos

polissacarídeos, açúcares e proteínas os quais são considerados compostos do metabolismo primário. E também compostos especiais, também denominados de metabólitos secundários, que são sintetizados por diferentes rotas metabólicas produzindo uma imensa diversidade de estruturas químicas dentro da classe dos alcalóides, flavonóides, cumarinas, terpenóides, etc (**TABELA 01**). Os metabólitos secundários exercem importantes papéis de proteção contra microorganismos (incluindo fungos), herbívoros, intempéries ambientais, além de interferirem em processos simbióticos e atração de polinizadores (BRISKIN, 2000; FEIJÓ *et al.*, 2008). Esses compostos são os responsáveis pelos efeitos medicinais, ou tóxicos, das plantas (DI STASI, 1995; LÓPEZ, 2006). A separação dessas duas vias metabólicas ainda é obscura, e a classificação dos compostos em primários e secundários depende muito da importância de determinado composto para uma determinada espécie, assim como do estágio de desenvolvimento em que se encontra. Há três pontos de origem e produção de compostos secundários, diferenciados mediante seus precursores: a) ácido shiquímico, como precursor de inúmeros compostos aromáticos; b) aminoácidos, fonte de alcalóides e peptídeos; c) acetato, que através de duas rotas biossintéticas origina compostos, como poliacetilenos, terpenos, esteróides e outros (DI STASI, 1995).

Dessa forma, as plantas medicinais contêm propriedades diversas de acordo com os seus princípios ativos (BARBIERI, 2008). Podendo também ser fontes armazenadoras de carbono e nitrogênio que retornam ao metabolismo primário quando isso é requerido pela planta. O balanço entre a atividade do metabolismo primário e secundário é dinâmico e pode ser consideravelmente afetado pelo crescimento da planta, diferenciação dos tecidos, fase vegetativa e estresse ambiental (LÓPEZ, 2006; PEREIRA, 2008).

É possível listar mais de 100.000 compostos secundários que já foram isolados e identificados, e a cada ano centenas de novas descobertas tem aumentado esse número (VERPOORTE *et al.*, 1998). Muitos desses compostos são consumidos diariamente por nós na forma de dentifrícios, sabonetes, perfumes ou mesmo ingeridos de alguns alimentos, condimentos, chás, xaropes, etc (PEREIRA, 2008). Abaixo segue uma tabela com uma classificação da natureza química das principais classes de compostos ativos e uma breve explanação sobre elas.

TABELA 01: Classificação da natureza química das principais classes de compostos.

NATUREZA QUÍMICA	CLASSES DE COMPOSTOS
Ácidos Orgânicos	
Glicídios (mel, geléia real, maná)	
Poliurônicos/gomas e mucilagens	
Heterosídeos	Cianogenéticos (mandioca, amêndoas amargas)
	Tiociânicos (mostarda preta, couve, rabanete, repolho)
	Glicorretínicos (jalapa)
	Saponinas
	Antraquinonas
	Cardioativos (digital ou dedaleira, estrofantó,espírradeira, adonis)
	Flavonóides
	Cumarinas (trevo doce)
Taninos	
Óleos essenciais	
Alcalóides	Alcalóides não heterocíclicos
	Derivados da piridina e piperidina
	Tropânicos
	Quinoleínicos
	Indólicos
	Imidazólicos
	Terpênicos e esteróides
	Pseudoalcaloides / bases púricas
Princípios amargos	
Vitaminas e sais minerais	

Fonte: Coletto, 2008.

ÁCIDOS ORGÂNICOS

Diversos vegetais apresentam ácidos orgânicos, que lhes conferem sabor ácido e propriedades farmacêuticas características. Destaque para ácidos tartárico, málico, cítrico e silícico. Na terapêutica, possuem propriedades diuréticas, laxantes, refrescantes e hidratantes. São utilizados em farmácia como corretivo de gosto, na forma de xaropes, e na fitocosmética. A planta utiliza os ácidos orgânicos para regular o pH das células, e produzir a partir deles, várias substâncias (COLETTI, 2008).

CUMARINAS

As cumarinas livres, solúveis em álcool, se extraem com solventes orgânicos como o éter. Seu interesse terapêutico é limitado: atua como venotônico, protetor vascular e como fator vitamínico P, sendo citado ainda seus efeitos antipiréticos e inibidores de carcinogênese (DI STASI, 1995).

MUCILAGENS

As plantas mucilaginosas têm uma espécie de suco viscoso que funciona como antiinflamatório, cicatrizante, expectorante, laxante ou protetor das mucosas (BARBIERI, 2008).

PECTINAS

São substâncias encontradas em grande quantidade nos frutos maduros. Sua maior importância está relacionada à produção de geléias e a suas propriedades antidiarréicas (BARBIERI, 2008).

ATIVOS POLIURÔNICOS

São as gomas ou também como mucilagens. Geralmente utilizadas em terapêutica pela ação protetora de mucosas inflamadas, das vias respiratórias e digestivas; por impedirem a atividade de substâncias irritantes e promoverem a diminuição do processo inflamatório, diminuindo a dor. Atuam indiretamente como laxativos, por absorverem grande quantidade de água, evitando o endurecimento das fezes. Externamente são utilizadas com cataplasmas, por conservarem por mais tempo o calor úmido (COLETTTO, 2008).

SAPONINAS

São assim denominadas, pois possuem a propriedade de modificar a tensão superficial da água, produzindo espuma abundante, quando agitadas com água. As saponinas aumentam a secreção salivar, gástrica e brônquica, favorecendo a expectoração, algumas são diuréticas (BARBIERI, 2008; COLETTTO, 2008).

ANTRAQUINONAS

Possuem propriedades purgativas, que não provocam inflamações secundárias, comuns às jalapas (glicorretínicos). Atuam sobre as mucosas, aumentando o peristaltismo, cerca de 8 a 12 horas após a ingestão. A presença de antraquinonas reduzidas, podem provocar vômitos, cólicas, congestão dos órgãos abdominais, aumento do fluxo sanguíneo e menstrual. O que pode ser evitado, preparando convenientemente o fármaco, de modo que ocorra a oxidação dos princípios reduzidos, o que se consegue estocando o fármaco algum tempo antes de comercializá-lo (COLETTTO, 2008).

FLAVONÓIDES

São utilizados na terapêutica da fragilidade capilar, especialmente quando esta é acompanhada de hipertensão. A palavra deriva do latim flavus, amarelo; estes compostos se concentram principalmente nas flores e frutos, servindo de atrativo para insetos e animais dispersores. São responsáveis pela coloração das flores e frutos (COLETTTO, 2008). Além disso, são considerados antiinflamatórios, fortificador capilar, antiesclerótico, antiedematoso, dilatador de coronárias, espasmolítico, antihepatotóxico, colerético e antimicrobiano (LÓPEZ, 2006). São compostos fenólicos, pigmentos responsáveis pela coloração de flores e alguns frutos. O elemento comum nesses compostos está relacionado com um núcleo básico: 2-fenil cromano (DI STASI, 1995).

TANINOS

Utilizados externamente como adstringentes formando revestimentos protetores nas leucorréias, irrigações vaginais, úlceras, feridas. Possuem, internamente, propriedades hemostáticas, nas hemorragias de origem capilar, sangramento nasal e nas hemorragias uterinas como cicatrizantes. São excelentes antígenos contra alcalóides e metais pesados. Na planta, possuem ação de proteção contra o ataque de microorganismos. Possuem a propriedade tanante, ou seja, precipitam proteínas, formando compostos insolúveis que a tornam impermeável à água. A sensação travosa da boca é causada pela precipitação das proteínas da mucosa bucal (LÓPEZ, 2006; BARBIERI, 2008; COLETTTO, 2008).

ÓLEOS ESSENCIAIS

São misturas de substâncias orgânicas voláteis de consistência semelhante ao óleo. Subdividem-se conforme sua estruturação orgânica em: hidrocarbonetos, álcoois, ésteres, lactonas, cetonas e fenóis. Tem seu interesse econômico predominante na perfumaria, cosmética e indústria de alimentos. Conferem aroma e sabor característicos as plantas. Estão

relacionados à proteção contra o ataque de insetos e a atração de polinizadores (COLETTTO, 2008). Também são considerados bactericidas, antiviróticos, cicatrizantes, analgésico, relaxante, expectorante e antiespasmódicos (LÓPEZ, 2006; BARBIERI, 2008).

ALCALÓIDES

Em virtude da diversidade estrutural dos alcalóides, o grupo não apresenta uniformidade de ação. Todos os alcalóides são, mesmo em doses fracas, venenos violentos que influenciam uma ou mais funções do organismo, agindo sobre o sistema nervoso e muscular. Por tal motivo, quando administrados em doses inferiores à tóxica, podem ser poderosos agentes terapêuticos. Atuam modificando os centros nervosos, sobre os nervos periféricos, as funções vegetativas e também sobre a musculatura lisa. Como regra geral são compostos que possuem nitrogênio, em sua molécula, sua função no vegetal está associada à proteção contra o ataque de herbívoros e também como fatores de crescimento das plantas (COLETTTO, 2008). Entre os alcalóides com ação farmacológica destacam-se, entre outros, os alcalóides com núcleo propano, com compostos como a atropina, obtida através da *Atropa belladonna*, a escopolamina, da *Scopolia carniolica*, e a hiosciamina, do *Hiosciamus niger*. Na subclasse com núcleo indólico, cita-se substâncias como a reserpina, estriçnina, ioimbina, e fisostigmina. Já os alcalóides pirrolizidínicos têm ação de proteção da planta contra predadores, sendo substâncias muito tóxicas, agindo de maneira deletéria principalmente sobre os hepatócitos (DI STASI, 1995). São também considerados calmante, sedativo, estimulante, anestésico, analgésico, broncodilatadores, além de alguns serem considerados antitumorais e antimicrobianos (DUARTE, 2006; LÓPEZ, 2006; BARBIERI, 2008).

VITAMINAS E SAIS MINERAIS

As vitaminas são substâncias de vários grupos químicos. A partir da sua solubilidade em água, dividem-se em: Vitaminas A, D, E, e K, solúveis em óleo, e as vitaminas do grupo B, vitamina C, que são solúveis em água (COLETTTO, 2008).

Os componentes minerais são encontrados em quase todos os vegetais e são

indispensáveis aos processos vitais do organismo. Sais de potássio desempenham uma ação diurética especialmente se acompanhados de glicosídeos, flavonóides e saponinas. Sais de cálcio vão formar o tecido ósseo e regular a excitabilidade neuromuscular e o mecanismo de coagulação do sangue; já os sais de ferro se destacam na atividade antianêmica. Ainda dos componentes minerais temos um grupo cuja importância está no bom desempenho do metabolismo orgânico e é constituído de oligoelementos como o cobalto, o magnésio, o zinco, o cobre, o boro, o arsênio, o alumínio, o silício, o titânio, o vanádio, o manganês, o estanho e o iodo, que são indispensáveis para a atividade enzimática (BARBIERI, 2008).

4.1.2 Aspectos etnobotânicos e fármaco-botânicos das espécies de plantas do estudo

O nosso trabalho se propôs a avaliar a eficácia de cinco espécies de plantas contra os dermatófitos *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes*. A seguir, descreveremos algumas características dessas plantas, bem como seus aspectos etnofarmacológicos (TABELA 02).

4.1.2.1 *Achillea millefolium*

Achillea millefolium L. - Mil Folhas: Espécie pertencente à Família *Asteraceae*, originária da Europa e amplamente cultivada em todo o Brasil. Planta perene, herbácea, rizomatosa, empregada na medicina caseira como antiinflamatória, cicatrizante, e internamente contra infecção das vias respiratórias, diarreias e febre (SENS, 2002; VIANA, 2003; DUARTE, 2006; NUNES, 2007) (FIGURA 01). Ao extrato e óleo essencial já foram atribuídos atividade fungicida, antiespermatogênicos e repelente; além disso o unguento desta planta é bactericida no tratamento de feridas e queimaduras (SENS, 2002). O extrato desta planta apresentou potencial atimicótico, quando testado sobre fungos de diferentes espécies (*Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Glomerella cingulata*) reduzindo também o crescimento micelial dos fungos em 70% (VIANA, 2003).



FIGURA 01: *Achillea millefolium* L.

Fonte: www.heilpflanzefotos.de, 2008.

4.1.2.2 *Cyperus rotundus*

Cyperus rotundus L. – Tiririca: O *C. Rotundus* é uma planta perene, herbácea com porte entre 15-50 cm (**FIGURA 02**). A origem do nome “*rotundus*” vem do adjetivo latino que significa redondo, alusivo aos tubérculos arredondados que se formam no solo. É provável que o local de origem da tiririca seja a Índia. Ela é considerada uma das espécies vegetais com maior amplitude de distribuição no mundo. Está presente em todos os países de clima tropical e subtropical e em muitos de clima temperado. No Brasil, ocorre praticamente em toda extensão territorial. Acredita-se que a introdução no Brasil tenha se dado através dos navios mercantes portugueses, em tempos coloniais (PASTRE, 2006). Essa espécie é considerada uma erva daninha, por ser invasora em potencial de hortas, jardins, pomares e lavouras. Desenvolvendo-se em uma grande variedade de ambientes, causando prejuízos à agricultura em geral por possuir elevado potencial alelopático e fitotóxico (MELLO, 2003; ARANTES, 2005; JÚNIOR *et al.*, 2006). Apesar disso, esta planta apresenta utilidade

medicinal, sendo usada como remineralizante e por possuir ação citoprotetora contra úlcera gástrica. Além disso, foi sugerido que o composto isocurcumenol, extraído dos rizomas desta espécie, pode ser um agonista benzodiazepínico e modulador alostérico gabaérgico, indicando uma possível ação ansiolítica, e ainda importante atividade anticariogênica de extratos desta planta (ARANTES, 2005; YU *et al*, 2007). Os resultados de sua prospecção fitoquímica demonstraram a presença significativa de antraquinonas (ARANTES, 2005).



FIGURA 02: *Cyperus rotundus* L.

Fonte: www.gardensseker.com, 2008.

4.1.2.3 Piper aduncum

Piper aduncum L. – Falso Jaborandi: *Piper aduncum* L. (Pimenta de macaco) é uma planta aromática da família *Piperaceae*, nativa da região Amazônica, cuja distribuição geográfica ocorre entre os trópicos, com poucas espécies extratropicais. É uma planta de ocorrência espontânea em pastagens e beira de matas do Sudeste brasileiro, onde é

considerada “planta daninha”. É representada por plantas herbáceas, trepadeiras, arbustos e, raramente árvores (MORANDIM *et al.*, 2008; NUNES, 2004) (**FIGURA 03**). Ocasionalmente é cultivada com fins ornamentais. Contudo, é na medicina natural que sua popularidade é maior, embora as indicações terapêuticas registradas na literatura ainda não tenham amparo científico, no trabalho de avaliação da eficácia e da segurança das preparações indicadas. Assim, o chá ou a infusão alcoólica de suas folhas, raízes e frutos são empregados como tônico, carminativo, antiespasmódico, contra blenorragia e para afecções no fígado, vesícula e do baço. Às folhas são atribuídas propriedades antiinflamatórias, analgésicas, tônicas, estomáquica e antiespasmódica, além de ser eficaz contra fitopatógenos e outros fungos e, às raízes, ação eficaz contra picada de cobra; externamente é usada contra a erisipela (ORJALA *et al.*, 1994; BASTOS, 1997; LORENZI & MATTOS, 2002; DUARTE, 2006).



FIGURA 03: *Piper aduncum* L.

Fonte: www.geocities.com, 2008.

4.1.2.4 *Plectranthus barbatus*

Plectranthus barbatus (Andrews) – Falso Boldo: Espécie pertencente à Família *Lamiaceae*, originária da Índia e difundida em todo o Brasil. Trata-se de uma planta perene;

de aroma característico; com ramos de secção quadrangular, folhas opostas, oblongas, pilosas; flores pentâmeras, azuis e violáceas, reunidas em ráculos. (**FIGURA 04**). Constitui uma das plantas mais citadas em levantamentos etnobotânicos de plantas medicinais no Brasil. É atribuído à espécie a utilização como tônico, digestivo, hipossecrator gástrico (para azia e dispepsia), carminativo, para afecções do fígado e ressaca alcoólica. É citada também a propriedade anti-dispéptica, além de ser um eficiente analgésico, anti-hipertensivo, anti-diarréico, antimicrobiana (antiviral e antifúngica), sendo também verificada atividade antioxidante (SENS, 2002; VIANA, 2003; OLIVEIRA, 2005; DUARTE, 2006; PONTES *et al.*, 2006; BRAGA *et al.*, 2007; BRANDOLT *et al.*, 2007; SOUSA *et al.*, 2007). Constitui a única fonte conhecida de forskolin, uma importante substância utilizada no tratamento de glaucomas, cardiopatias e asma (BRANDOLT *et al.*, 2007). Em ensaios procurando identificar e quantificar a atividade anti-micótica, verificou-se que o extrato etanólico de *P. barbatus* apresentou a capacidade de inibir o crescimento de vários fungos de espécies diferentes como *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Glomerella cingulata*. Por outro lado o efeito mais pronunciado foi encontrado sobre o fungo *Colletotrichum musae*, que teve seu desenvolvimento micelial inibido em 90% (VIANA, 2003; SILVA, 2004).



FIGURA 04: *Plectranthus barbatus* Andrews

Fonte: www.rimbundahan.org, 2008.

4.1.2.5 Porophyllum ruderale

Porophyllum ruderale (Jacq.) Cass. - Couve Cravinho: Espécie pertencente à Família

Asteracea, popularmente conhecida como couve-cravinho. É uma planta anual, herbácea, ereta, glabra, de caule ramificado na parte superior, com 60-120cm de altura, nativa do sudeste do Brasil (**FIGURA 05**). Na medicina caseira é empregada como calmante, no combate à hipertensão arterial, no tratamento de ferimentos e chagas, como cicatrizante e antiinflamatório, além de ser efetivo contra microorganismos, apresentando atividade antifúngica, antibacteriana e no tratamento de leishmaniose. A atividade cicatrizante tem sido relacionada á presença de compostos fenólicos do tipo taninos. (SILVEIRA *et al.*, 1998; SENS, 2002; VIANA, 2003).



FIGURA 05: *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass.

Fonte: www.freshcutherbs.com, 2008.

TABELA 02: Relação das espécies de plantas medicinais, seus usos populares e citações científicas.

PLANTAS (Nome popular)	ESPÉCIE	USO POPULAR CITAÇÕES CIENTÍFICAS	REFERÊNCIAS
Mil Folhas	<i>Achillea millefolium</i> L.	Antiinflamatória, cicatrizante, contra infecções das vias respiratórias, diarreias e febre. Atividade fungicida, antiespermatogênicos e repelente.	(SENS, 2002; VIANA, 2003; DUARTE, 2006; NUNES, 2007)
Tiririca	<i>Cyperus rotundus</i> L.	Remineralizante, protetor gástrico, ansiolítico, anticariogênico, antiinflamatório, antibacteriano, antifúngico, anti-helmíntico, etc.	(ARANTES, 2005; YU <i>et al</i> , 2007; LORENZI & MATOS, 2002)
Falso Jaborandi	<i>Piper aduncum</i> L.	Tônico, carminativo, antiespasmódico, contra blenorragia e para afecções no fígado, vesícula e do baço. Antiinflamatórias, analgésicas, tônicas, estomáquica e antiespasmódica, além de ser eficaz contra fitopatógenos e outros fungos. Ação eficaz contra picada de cobra e externamente é usada contra a erisipela.	(ORJALA <i>et al</i> , 1994; BASTOS, 1997; LORENZI & MATTOS, 2002; BRAGA <i>et al.</i> , 2007; DUARTE, 2006).
Falso Boldo	<i>Plectranthus barbatus</i> Andrews	Tônico, digestivo, hipossecrator gástrico (para azia e dispepsia), carminativo, para afecções do fígado e ressaca alcoólica. Anti-dispéptica, analgésico, anti-hipertensivo, anti-diarreico, antimicrobiana (antiviral e antifúngica)	(SENS, 2002; VIANA, 2003; OLIVEIRA, 2005; DUARTE, 2006; PONTES <i>et al.</i> , 2006; BRANDOLT <i>et al.</i> , 2007; SOUSA <i>et al.</i> , 2007)

PLANTAS (Nome popular)	ESPÉCIE	USO POPULAR CITAÇÕES CIENTÍFICAS	REFERÊNCIAS
Couve Cravinho	<i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass.	Na medicina caseira é empregada como calmante, no combate à hipertensão arterial, no tratamento de ferimentos e chagas, como cicatrizante e antiinflamatório, além de ser efetivo contra microorganismos, apresentando atividade antifúngica, antibacteriana e no tratamento de leishmaniose.	(SILVEIRA <i>et al.</i> , 1998; SENS, 2002; VIANA, 2003).

4.2 MICOSES HUMANAS

As micoses humanas podem ser causadas por fungos patogênicos primários ou oportunistas. Os primeiros têm capacidade de invadir os tecidos de um hospedeiro normal; os últimos somente são invasores de indivíduos com alterações graves do sistema imune. Os fungos patogênicos penetram no organismo por via inalatória ou por implantação transtegumentar. Há, porém, um grupo de fungos queratinofílicos – dermatófitos – que podem ser transmitidos por contato com homens ou animais infectados (VERONESI & FOCACCIA, 2002). As doenças por fungos patogênicos primários podem ser classificadas em quatro grupos naturais: micoses superficiais, cutâneas, subcutâneas e sistêmicas. As micoses por fungos oportunistas se agrupam sob a denominação de micoses oportunistas (VERONESI & FOCACCIA, 2002; BERGOLD & GEORDIADIS, 2004) (TABELA 03).

O atual interesse por novos agentes antifúngicos pode ser parcialmente explicado pelo aumento acentuado no número de casos de indivíduos imunocomprometidos, especialmente os portadores da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Mais de 90% desses indivíduos adquirem uma infecção fúngica durante o curso da doença. Em particular, as infecções produzidas por dermatófitos têm tido especial atenção em função de serem causa de grande morbidade, além de ocorrerem com certa frequência (SCHLEMPER *et al.*, 1998; BLOCK *et al.*, 1998; PHILLIPS *et al.*, 2001; LACAZ *et al.*, 2002). Este grupo de fungos

caracteristicamente infectam áreas queratinizadas do corpo e frequentemente são de difícil erradicação, sendo que novos e efetivos agentes antifúngicos são necessários (ZACCHINO *et al.*, 1998; 2001; PHILLIPS *et al.*, 2001).

TABELA 03: Classificação das micoses.

MICOSES PROFUNDAS	MICOSES OPORTUNISTAS	MICOSES SUBCUTÂNEAS	MICOSES SUPERFICIAIS
Blastomicoses			Dermatomicoses Tinea capitis Tinea corporis Tinea cruris Tinea pedis Tinea versicolor
Coccidioidomicoses	Aspergilioses	Cromomicoses	
Criptococoses	Candidíases	Maduromicoses	
Histoplasmoses	Geotricoses		
Paracoccidioidomicoses (blastomicose sulamericana)		Esporotricoses	

Fonte: Adaptado de Koneman, 2001.

4.2.1 Dermatofitoses

As micoses cutâneas, também denominadas dermatofitoses ou dermatomicoses, resultam do comprometimento dos tecidos queratinizados da pele, pêlo e unha. São produzidas pelos fungos dermatófitos, que compreendem os gêneros *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton* (**FIGURA 06**) (TRABULSI *et al.*, 2002; VERONESI & FOCACCIA, 2002; COSTA *et al.*, 2002; BERGOLD & GEORDIADIS, 2004; SILVEIRA *et al.*, 2006). Conforme seu habitat, os dermatófitos podem ser divididos em 3 grandes grupos:

(1) antropofílicos, bem-adaptados ao homem, com pouca ou nenhuma reação inflamatória, raramente infectam outros animais; (2) zoofílicos, com predileção por animais, e, quando acometem o homem, apresentam reação inflamatória de média intensidade; e (3) geofílicos, podem causar infecções em seres humanos e outros animais, mas, pela exuberância da inflamação que produzem no homem, têm tendência à cura espontânea. Estão primariamente associados a materiais queratinosos (cabelo, casco, pena, chifre) em processo de decomposição (COSTA *et al.*, 2002; PERON *et al.*, 2005). Os dermatófitos transformam o material queratinofílico em material nutritivo, utilizando-o também para sua implantação no hospedeiro (MORAES *et al.*, 1984; TRABULSI *et al.*, 2002; VERONESI & FOCACCIA, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2006; BALDA *et al.*, 2006). Como relatam Veronesi & Focaccia (2002), embora a lesão esteja geralmente confinada à camada da pele e anexos mortos, cornificados, a destruição dos tecidos pode ser extensa e a reação imunológica do hospedeiro severa. Assim, as lesões por eles produzidas têm por sede, salvo raras exceções, os pontos do organismo onde há queratina (MORAES *et al.*, 1984; OLIVEIRA *et al.*, 2006; BALDA *et al.*, 2006).

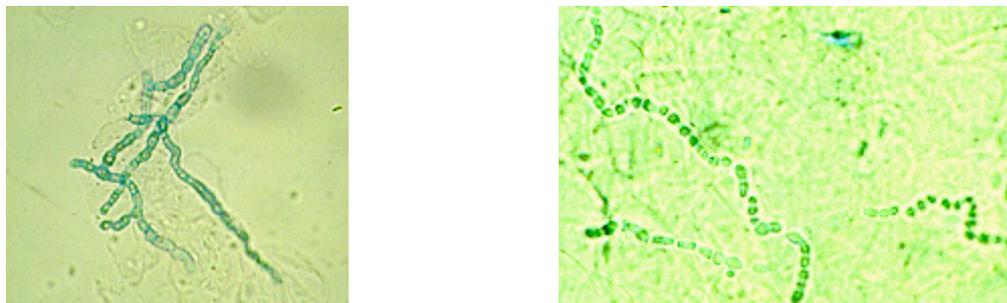


FIGURA 06: Hifas e arthroconídios típicos de dermatófitos.

Fonte: www.mycology.adelaide.edu.au, 2008.

As manifestações clínicas decorrentes das dermatofitoses resultam tanto da colonização e multiplicação dos dermatófitos na camada córnea da pele, quanto pela conseqüente reação tóxica e alérgica do hospedeiro à presença do fungo e de seus metabólitos (SANTOS *et al.*, 2002; VERONESI & FOCACCIA, 2002). A palavra *Tinha* (do latim *Tinea* = verme ou traça) foi usada no passado para designar as lesões fúngicas do couro cabeludo,

unhas e pele glabra, provocadas por dermatófitos (LACAZ & PORTO, 2002). Dessa maneira, tradicionalmente as dermatofitoses são classificadas de acordo com as localizações anatômicas afetadas por estes fungos (COELHO *et al.*, 2005; SANTOS *et al.*, 2002). A denominação de cada tipo de dermatofitose é feita adicionando-se um nome latino que designa o local do corpo afetado à palavra *tinea*. Por exemplo: tinea pedis (pés); tinea capitis (couro cabeludo); tinea unguium (unhas) (**FIGURAS: 07, 08 e 09**) (RANG *et al.*, 2001; SANTOS *et al.*, 2002; BRAGA *et al.*, 2007).



FIGURA 07: *Tinea pedis*

Fonte: www.mycology.adelaide.edu.au, 2008.



FIGURA 08: *Tinea capitis e corporis*

Fonte: www.mycology.adelaide.edu.au, 2008.



FIGURA 09: *Tinea unguium*

Fonte: www.mycology.adelaide.edu.au, 2008.

De acordo com Balda *et al.* (2006) a dermatofitose é uma infecção fúngica relativamente comum. Em países tropicais, diariamente são observados casos de Tinha, com aspectos clínicos bastante característicos. Vários fatores condicionam a maior incidência das Tinhas nestes países, a saber: condições bioclimáticas favoráveis ao desenvolvimento dos fungos em vida saprofítica; promiscuidade; sudorese; contato prolongado com pequenos animais, como gatos e cães, reservatórios em potencial de alguns dermatófitos ou com água contaminada de piscinas e “áreas de risco” (LACAZ & PORTO, 2002; AQUINO *et al.*, 2007).

Nas últimas décadas, pelo emprego abusivo de drogas imunossupressoras, principalmente corticóides, surgiram casos de dermatofitoses generalizadas, com extenso comprometimento cutâneo (LACAZ & PORTO, 2002; AQUINO *et al.*, 2007). Foi verificado também, que os dermatófitos são grandes responsáveis por lesões cutâneas em diabéticos (FOSS *et al.*, 2005; AQUINO *et al.*, 2007), além dessa condição existem outras situações que contribuem para o aparecimento de dermatofitoses, como em pacientes com AIDS, Síndrome de Down e pacientes transplantados (SOARES & CURY, 2001; AQUINO *et al.*, 2007).

Estudos epidemiológicos indicam que as dermatofitoses estão entre as doenças de maior incidência no mundo, constituindo as micoses mais frequentes do homem (PERON *et al.*, 2005). A prevalência das dermatofitoses varia com a idade e o sexo. As dermatofitoses do

couro cabeludo são mais frequentes em indivíduos impúberes e sem diferença de sexo. Os demais tipos são mais frequentes em adultos do sexo masculino (VERONESI & FOCACCIA, 2002).

A distribuição e a freqüência das dermatofitoses e seus agentes etiológicos variam ainda segundo a região geográfica e o nível sócio econômico da população (PERON *et al.*, 2005). Quanto à distribuição geográfica, os dermatófitos são cosmopolitas, observando-se, porém, distribuições regionais mais frequentes, sob influência de faixa etária, fatores genéticos, condições climáticas, migração, contato com animais e exposição a locais públicos como academias, piscinas e áreas fechadas que favorecem a penetração do dermatófito no extrato córneo (COSTA *et al.*, 2002; VERONESI & FOCACCIA, 2002; AQUINO *et al.*, 2007). Denomina-se espectro dos dermatófitos ao conjunto de espécies que ocorrem em uma região. O espectro varia de região a região e é dinâmico no tempo, essas variações são devidas à atividade das populações (COSTA *et al.*, 2002; VERONESI & FOCACCIA, 2002; DAMÁZIO *et al.*, 2007).

Os dermatófitos produzem micoses que afetam aproximadamente 40% da população mundial (PERON *et al.*, 2005; AQUINO *et al.*, 2007) e representa 30% de todas as infecções micóticas cutâneas, sendo as mais comuns aquelas que comprometem pele e mucosas (PERON *et al.*, 2005). Estima-se que 10 a 15% da população humana poderá ser infectada por estes microorganismos no decorrer de sua vida (COSTA *et al.*, 2002).

As espécies de dermatófitos mais frequentemente isoladas são *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum* (COELHO *et al.*, 2005), sendo a última o agente mais comum isolado na Europa, América do Sul e América do Norte, sendo responsável por 80-90% dos casos de dermatofitoses (SEEBACHER, 2003; COELHO *et al.*, 2005; AQUINO *et al.*, 2007; DAMÁZIO *et al.*, 2007).

Os dermatófitos podem apresentar transmissão direta pessoa a pessoa ou indiretamente através de roupas de cama e banho, vestuários e calçados, utensílios e móveis contaminados com elementos fúngicos encontrados no solo ou liberados juntos com pêlo e material de descamação da pele. Dessa forma as dermatofitoses representam um problema de saúde pública e refletem o baixo nível de educação sanitária (PINHEIRO *et al.*, 1997; PERON *et al.*, 2005). As medidas para prevenir das dermatofitoses dependem da fonte de infecção: zoofílica, afastar-se ou tratar de animais infectados; antropofílica e geofílica, uso de roupa e calçados na tentativa de diminuir a exposição. Não compartilhar o mesmo pente para cabelo e desinfetar o piso do banheiro previne a propagação de tinha da cabeça e dos pés respectivamente (VERONESI & FOCACCIA, 2002).

4.3 AGENTES ANTIFÚNGICOS

O controle dos dermatófitos envolve quase sempre a administração oral ou tópica de drogas antifúngicas (**TABELA 04**). A terapia tópica, no entanto, é usada para a maioria dos casos. Esses agentes farmacológicos são aplicados na superfície da pele na forma de cremes, loções ou sprays, e penetram prontamente no estrato córneo promovendo a morte (agentes fungicidas) ou, pelo menos, a inibição do crescimento dos fungos (agentes fungistáticos) (KYLE & DAHL, 2004; JULIATTI, 2008). Os fungicidas (alilaminas e benzilaminas como: terbinafina, naftifina, butenafina) apresentam uma taxa de cura maior, além de um menor tempo de tratamento, que os fungistáticos (azóis, como: miconazol, clotrimazol, cetoconazol, fluconazol) (HAINER, 2003). Apesar desse arsenal de compostos antifúngicos, os dermatófitos têm sobrevivido há várias gerações de regimes terapêuticos e permanecem como um dos mais constantes parasitas associados à humanidade (WEITZMAN & SUMMERBELL, 1995).

TABELA 04: Tratamento oral para infecções fúngicas cutâneas.

INFECÇÃO	RECOMENDADO	ALTERNATIVA
<i>Tinea unguium</i>	Terbinafina 250 mg/dia. 6 semanas para dedos e unhas. 12 semanas para unhas dos pés.	Itraconazol 200 mg/dia/3-5 meses ou 400 mg/dia por uma semana por mês por 3-4 meses consecutivos. Fluconazol 150-300 mg/ semana até a cura (6-12 meses). Griseofulvina 500-1000 mg/dia até a cura (12-18 meses).
<i>Tinea capitis</i>	Griseofulvina 500mg/dia (não menos que 10 mg/kg/dia). Até a cura (6-8 semanas).	Terbinafina 250 mg/dia/4 semanas. Itraconazol 100 mg/dia/4 semanas. Fluconazol 100 mg/dia/4 semanas.
<i>Tinea corporis</i>	Griseofulvina 500 mg/dia até a cura (4-6 semanas),	Terbinafina 250 mg/dia por 2-4 semanas. Itraconazol 100 mg/dia por 15 dias ou 200

INFECÇÃO	RECOMENDADO	ALTERNATIVA
	frequentemente	mg/dia por 1 semana.
	combinado com Imidazol tópico.	Fluconazol 150-300 mg/semana por 4 semanas.
<i>Tinea cruris</i>	Griseofulvina 500 mg/dia até a cura (4-6 semanas).	Terbinafina 250 mg/dia por 2-4 semanas. Itraconazol 100 mg/dia por 15 dias ou 200 mg/dia por 1 semana. Fluconazol 150-300 mg/semana por 4 semanas.
<i>Tinea pedis</i>	Griseofulvina 500mg/dia até a cura (4-6 semanas).	Terbinafina 250 mg/dia por 2-4 semanas. Itraconazol 100 mg/dia por 15 dias ou 200 mg/dia por 1 semana. Fluconazol 150-300 mg/semana por 4 semanas.
<i>Tinea</i> crônica e/ou sistêmica	Terbinafina 250 mg/dia por 4-6 semanas.	Itraconazol 200 mg/dia por 4-6 semanas. Griseofulvina 500-1000 mg/dia até a cura (3-6 meses).

Fonte: www.mycology.adelaide.edu.au, 2008.

Em geral, as infecções fúngicas exigem tratamento prolongado (CRAIG & STITZEL, 2005). Os agentes antifúngicos azóis são compostos sintéticos com atividade fungistática de amplo espectro, que podem ser divididos em dois grupos: os agentes imidazólicos mais antigos e os compostos triazólicos mais recentes como o fluconazol, que apresenta disponibilidade para uso oral e endovenoso (CRAIG & STITZEL, 2005; WINGETER *et al.*, 2007). Os agentes azólicos sistêmicos são considerados efetivos no tratamento das micoses superficiais (FUCHS & WANNMACHER, 1998). Os triazóis tendem a apresentar menos efeitos colaterais, melhor absorção, melhor distribuição do fármaco pelos tecidos e menos interações farmacológicas (CRAIG & STITZEL, 2005). Sendo que, apesar de o Fluconazol ser bem tolerado, foi relatada a ocorrência de efeitos adversos como náusea, vômitos, dor abdominal, diarreia, erupções cutâneas (Síndrome de Stevens-johnson), necrose hepática (Hepatite) e alopecia atribuídos a utilização desse fármaco (RANG *et al.*, 2001; CRAIG & STITZEL, 2005). Além disso, o uso excessivo dos azóis levou ao aparecimento de resistência em espécies suscetíveis e ainda a resistência cruzada (BERGOLD & GEORDIADIS, 2004).

Os antifúngicos existentes no mercado atualmente possuem limitações terapêuticas, principalmente quando se levam em consideração os efeitos colaterais como nefro e hepatotoxicidade. Entre alguns exemplos de antifúngicos que apresentam tais efeitos tóxicos cita-se a anfotericina-B, e o cetoconazol. O fato de alguns antifúngicos apresentarem ação fungistática e não fungicida (azóis), podem contribuir para o surgimento de cepas resistentes (RANG *et al.*, 1997; ZACCHINO *et al.*, 2003).

Muitos dos fármacos atualmente disponíveis apresentam efeitos colaterais indesejáveis, eficácia duvidosa contra fungos reemergentes, ou desenvolvem uma rápida resistência sendo necessário urgentemente uma nova geração de agentes antifúngicos. As pesquisas estão orientadas na investigação de fármacos antifúngicos, que possam atuar seletivamente na célula fúngica sem inibir nenhum sistema bioquímico do hospedeiro. Os fungos possuem paredes celulares, sendo uma estrutura essencial para eles, diferentemente das células dos mamíferos, e este fato faz com que todos os sistemas enzimáticos que fazem parte da síntese e montagem da parede celular fúngica se transformem em alvo útil para o descobrimento e desenvolvimento de novos fármacos antifúngicos com maior especificidade (LÓPEZ *et al.*, 2001; SELINTRENNIKOFF *et al.*, 2001; ZACCHINO, 2001;).

Infelizmente, as células fúngicas e humanas apresentam muitas semelhanças. Compartilham a maioria das vias de metabolismo intermediário, utilizando enzimas muito similares não sendo fácil encontrar alvos que ofereçam a seletividade requerida para obter-se um antifúngico seguro. Os alvos que apresentam maior possibilidade de levar a antifúngicos seletivos são os inibidores da biossíntese do ergosterol, a inibição das topoisomerasas fúngicas e a inibição da parede celular fúngica (URBINA *et al.*, 2000; LACAZ *et al.*, 2002; ZACCHINO, 2001).

A parede celular fúngica pode funcionar como alvo extremamente útil. Já que a ela é uma barreira protetora, evita sua ruptura osmótica e lhe confere forma, é essencial para seu crescimento e viabilidade. Ela é constituída por muitos componentes macromoleculares, entre eles glicanos, quitina, manoproteínas e outras proteínas. Uma vez sintetizados, eles interagem entre si, via uma série de enzimas associadas à parede, realizando-se ligações cruzadas, ramificações e outras funções, que são alvos para o descobrimento de novos fármacos antifúngicos (**FIGURA 10**) (ZACCHINO *et al.*, 2003).

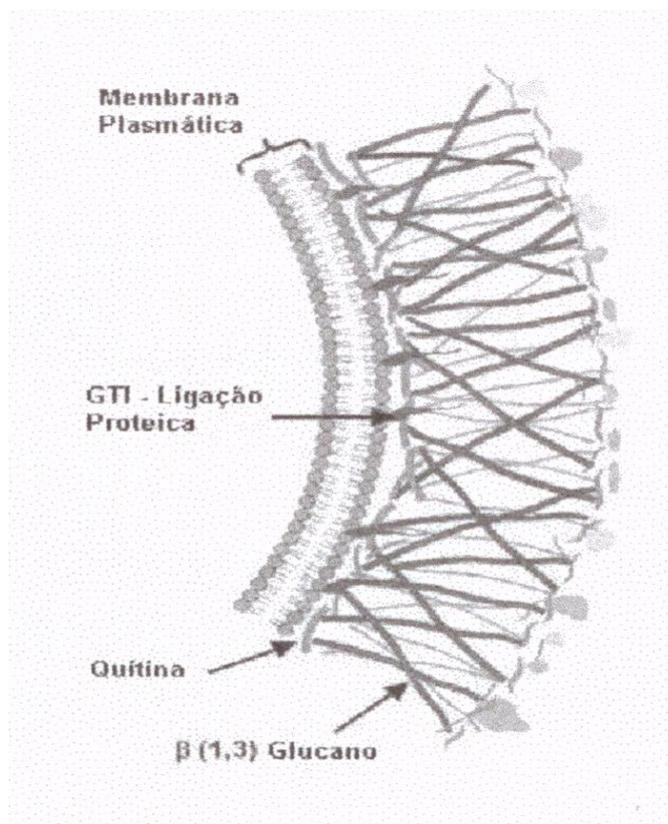


FIGURA 10: Representação da estrutura da parede fúngica

Fonte: Sartori (2005).

Apesar dos inibidores da biossíntese do ergosterol terem demonstrado relativa seletividade, eles podem inibir vias comuns de biossíntese de esteróides humanos, o que os tornam potencialmente tóxicos. Os antifúngicos que atuam nessa rota, infelizmente inibem enzimas que são comuns para a formação tanto do ergosterol quanto do colesterol. Devido a essa não seletividade desses agentes, a síntese do colesterol em mamíferos acaba sendo interrompida, provocando efeitos colaterais como inibição de síntese hormonal (URBINA *et al.*, 2000; ZACCHINO *et al.*, 2003).

A investigação de antifúngicos seletivos é direcionada para a inibição da etapa de adição de um grupo metil no C-24 da cadeia lateral dos esteróides. O mecanismo de ação do doador do grupo metil é a S-adenosil metionina. A etapa da biossíntese do ergosterol, como a 24 metilação, no C-24 da cadeia lateral dos esteróides é uma das áreas mais promissoras da investigação de antifúngicos seletivos, já que não ocorre nas células dos mamíferos, reduzindo as chances de toxicidade (SARTORI, 2005).

As topoisomerase I fúngica são suficientemente diferentes das humanas, logo também

podem ser alvos promissores para novos antifúngicos. Estudos demonstraram que várias topoisomerasas I extraídas de fungos seriam alvos promissores para novos agentes antifúngicos mais seletivos (ZACCHINO *et al.*, 2003).

Os agente antifúngicos também podem ser classificados em duas categorias: os que afetam a membrana celular e os que atuam intracelularmente, interrompendo processos celulares vitais, como síntese de DNA, RNA ou proteínas. Como exemplos de drogas que afetam a membrana celular podemos citar os derivados poliênicos, e derivados imidazólicos. Estas substâncias combinam-se com esteróis da membrana, rompendo a mesma ou tornando-a incapaz de efetuar suas funções normalmente (permeabilidade e transporte). A droga forma um poro na membrana e o centro hidrófilo da molécula cria um canal iônico transmembrana. Podem ocorrer alterações na permeabilidade celular e causar a perda de constituintes essenciais das células com K⁺, açúcares, proteínas, fosfatos inorgânicos, ácidos carboxílicos e ésteres de fosfato (RANG *et al.*, 1997; TRABULSI *et al.*, 1999).

Diante do aumento dos fungos resistentes aos fármacos, novas opções na terapêutica devem ser cuidadosamente avaliadas de modo a reduzir o uso indiscriminado de antifúngicos. Principalmente no que se refere à toxicidade, qualidade de vida e saúde. Uma das mais promissoras fontes de pesquisa, para novos compostos biológicos ativos são plantas usadas na medicina tradicional, muitas delas ainda não investigadas do ponto de vista da composição química ou de sua atividade farmacológica (ZACCHINO 2001; URBINA *et al.*, 2000; SARTORI *et al.*, 2003).

5 METODOLOGIA

5.1 OBTENÇÃO DAS ESPÉCIES VEGETAIS A SEREM ESTUDADAS

O material vegetal (*Achillea millefolium* – folhas e caule, *Cyperus rotundus* – parte aérea, *Piper aduncum* - folhas, *Plectranthus barbatus* - folhas e *Porophyllum ruderale* – parte aérea) foi coletado no horto de plantas medicinais e em áreas próximas ao Campus II da UNIVALE. As amostras foram secas sobre telas em ambiente com desumidificador. Após a secagem completa, o material foi triturado para ser submetido a extração. Foram utilizados como solventes o etanol 99%, o metanol e o hexano 95%. Os extratos foram obtidos através de 05 métodos diferentes (sonicação, decocção, soxhlet, turbólise e maceração); os óleos essenciais pela destilação por arraste a vapor (**TABELA 05 e FIGURA 11**). Exemplares das espécies utilizadas foram herborizados e as exsicatas depositadas no Herbário do Laboratório de Botânica da Faculdade de Ciências Agrárias.

A escolha das espécies foi realizada a partir de informações etnobotânicas (BRASILEIRO, *et al.*, 2003; LORENZI & MATOS, 2002).

TABELA 05: Métodos de obtenção dos diversos extratos e óleos essenciais utilizados no trabalho, para cada espécie de planta e respectivos solventes.

Espécie de Planta	<i>A. m.</i>	<i>C. r.</i>	<i>P. a.</i>	<i>P. b.</i>	<i>P. r.</i>
Métodologia de Extração					
Sonicação		E. e. E. h.	E. e.	E. e. E. m.	E. e. E. m. E. h.
Decocção			E. e. E. h.		
Soxhlet			E. e. E. h.		
Turbólise			E. e.		

Espécie de Planta	<i>A. m.</i>	<i>C. r.</i>	<i>P. a.</i>	<i>P. b.</i>	<i>P. r.</i>
Maceração			E. e.		
			E. h.		
D.A.V.*	O.e.		O.e.		O.e.

*Destilação por arraste a vapor.

Legendas: A.m. (*Achillea millefolium*); C.r. (*Cyperus rotundus*); P.a. (*Piper aduncum*); P.b. (*Plectranthus barbatus*); P.r. (*Porophyllum ruderale*); E.e. (Extrato etanólico); E.h. (Extrato hexânico); E.m. (Extrato metanólico); O.e. (Óleo essencial).

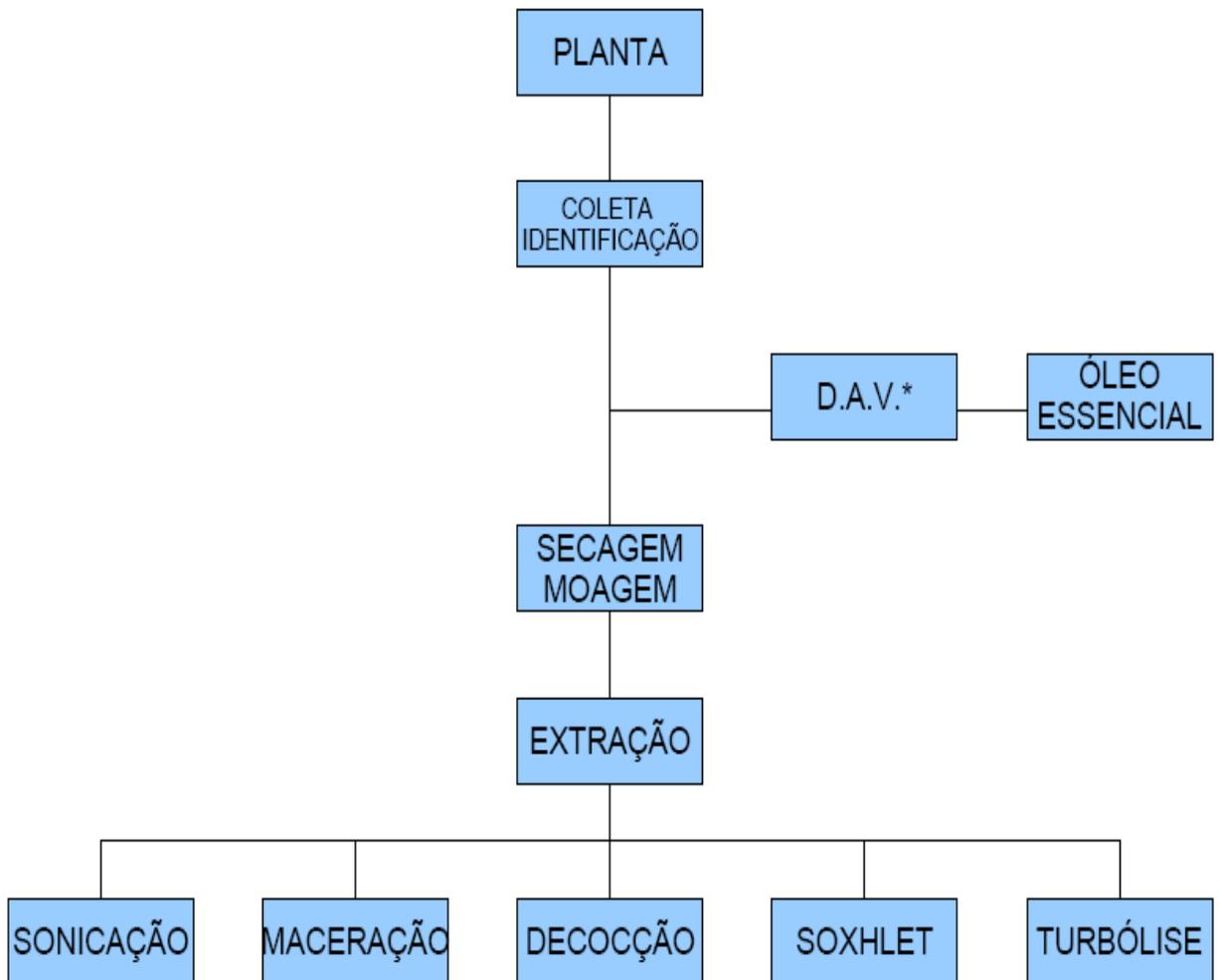


FIGURA 11: Esquema geral para obtenção de extratos e óleos essenciais.

5.2 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO – PREPARO DOS EXTRATOS DE PLANTAS

5.2.1 Sonicação (ultra-som)

Inicialmente foram obtidos através deste método de extração os extratos brutos de *Cyperus rotundus* (etanólico), *Piper aduncum* (etanólico e hexânico), *Plectranthus barbatus* (etanólico e metanólico) e *Porophyllum ruderale* (etanólico, metanólico e hexânico).

O material vegetal foi submetido a secagem, moagem e adicionados ao solvente. Em seguida, os tecidos vegetais foram extraídos sob um banho de ultra-som. Para tanto, foram adicionados cerca de 15 g do material vegetal triturado em um Becker (600 ml) onde se verteu 150 ml do solvente extrator. Tampou-se o Becker e este permaneceu em um banho de ultra-som Q IMIS[®] durante 4 horas, sendo que em intervalos de 1 hora uma alíquota era retirada e filtrada, para ser avaliada em espectrofotômetro FENTO[®] a 664 nm.

A solução obtida foi então filtrada em algodão, e novamente vertida em outro balão de fundo redondo, para então ser levada ao rotavapor FISATOM[®] com pressão reduzida, à temperatura de 40°C e 80 rpm, onde foi lavado com o próprio solvente. Em seguida, essa solução foi depositada em um novo Bécker (250 ml), o qual foi selado com um filme de PVC perfurado, e conduzido a uma estufa de fluxo de ar a 40°C, onde permaneceu até a completa secagem do extrato. Por fim, o Becker (250 ml) contendo o extrato foi selado, identificado e armazenado em freezer à -18°C até ser requisitado nos bio-ensaios de suscetibilidade, quando este foi pesado e solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO).

5.2.2 Decocção (refluxo)

Foram obtidos através deste método de extração os extratos brutos de *Piper aduncum* (etanólico e hexânico). Depois de separadas, as folhas foram secas, moídas e, posteriormente, submetidas à decocção para obtenção de um extrato aquoso semelhante ao chá utilizado na medicina popular.

O material vegetal triturado (15 g) foi acondicionado em um balão de fundo redondo

(500 ml) onde também adicionou-se 150 ml do respectivo solvente. O balão foi colocado em uma manta de aquecimento NALGON[®] à temperatura de 100 °C, onde permaneceu por 4 horas, sendo que em intervalos de 1 hora uma alíquota era retirada e filtrada, para ser avaliada em espectrofotômetro FENTO[®] a 664 nm.

A solução obtida foi então filtrada em algodão, e novamente vertida em outro balão de fundo redondo, para então ser levada ao rotavapor FISATOM[®] com pressão reduzida, à temperatura de 40°C e 80 rpm, onde foi lavado levemente com o próprio solvente. Em seguida, essa solução foi depositada em um novo Bécker (250 ml), o qual foi selado com um filme perfurado, e conduzido a uma estufa de fluxo de ar a 40°C, onde permaneceu até a completa secagem do extrato. Por fim, o Becker (250 ml) contendo o extrato foi selado, identificado e armazenado em freezer à -18°C até ser requisitado nos bio-ensaios de suscetibilidade, quando este foi pesado e solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO).

5.2.3 Maceração

Através deste método de extração foram obtidos os extratos brutos de *Piper aduncum* (etanólico e hexânico).

Foram adicionados cerca de 15 g do material vegetal triturado em um Becker (600 ml) onde se verteu 150 ml do solvente extrator. Tampou-se o Becker e este foi mantido em um agitador magnético NOVA TÉCNICA[®] durante 4 horas, onde da mesma maneira em intervalos de 1 hora uma alíquota era retirada e filtrada, para ser avaliada em espectrofotômetro FENTO[®] a 664 nm. Após isso a solução foi armazenada durante 7 dias em condições ambientais.

Após esse período, a solução foi filtrada em algodão, e novamente vertida em outro balão de fundo redondo, para então ser levada ao rotavapor FISATOM[®] com pressão reduzida, à temperatura de 40°C e 80 rpm, onde foi lavado levemente com o próprio solvente. Essa solução foi, em seguida, depositada em um novo Bécker (250 ml), o qual foi selado com um filme perfurado, e conduzido a uma estufa de fluxo de ar a 40°C, onde permaneceu até a completa secagem do extrato. Por fim, o Becker (250 ml) contendo o extrato foi selado, identificado e armazenado em freezer à -18°C até ser requisitado nos bio-ensaios de suscetibilidade, quando este foi pesado e solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO).

5.2.4 Soxhlet

Através deste método de extração foram obtidos os extratos brutos de *Piper aduncum* (etanólico e hexânico).

Os extratos foram preparados em extrator tipo Soxhlet com os solventes etanol e hexano. Foram adicionados de 15 g do material vegetal triturado envolvido em papel filtro WHATMAN[®], e então acondicionado no interior da parte extratora do aparelho de Soxhlet, que foi acoplado a um balão de fundo redondo (500 ml) contendo 150 ml do respectivo solvente. O sistema foi deixado em uma manta de aquecimento NALGON[®] a 100°C, por 4 horas. Em intervalos de 1 hora, uma alíquota era retirada e filtrada, para ser avaliada em espectrofotômetro FENTO[®] a 664 nm.

A solução obtida foi então filtrada em algodão, e vertida em outro balão de fundo redondo, para então ser levada ao rotavapor FISATOM[®] com pressão reduzida, à temperatura de 40°C e 80 rpm, onde foi lavado levemente com o próprio solvente. Essa solução foi, em seguida, depositada em um novo Bécker (250 ml), o qual foi selado com um filme perfurado, e conduzido a uma estufa de fluxo de ar a 40°C, onde permaneceu até a completa secagem do extrato. Por fim, o Becker (250 ml) contendo o extrato foi selado, identificado e armazenado em freezer à -18°C até ser requisitado nos bio-ensaios de suscetibilidade, quando este foi pesado e solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO).

5.2.5 Turbólise

Com este método de extração foram obtidos os extratos brutos de *Piper aduncum* (etanólico).

Adicionaram-se exatamente cerca de 15 g do material vegetal triturado em um copo de liquidificador (1000 ml) juntamente com 150 ml de solvente extrator. O aparelho de liquidificador foi submetido a realizar 1000 rpm durante 5 minutos, e isso foi repetido durante 6 vezes, sendo que ao término de cada sessão uma alíquota foi retirada e filtrada, para ser avaliada em espectrofotômetro FENTO[®] a 664 nm.

A solução obtida foi então filtrada em algodão, e novamente vertida em outro balão de

fundo redondo, para então ser levada ao rotavapor FISATOM[®] com pressão reduzida, à temperatura de 40°C e 80 rpm, onde foi lavado levemente com o próprio solvente. Em seguida, essa solução foi depositada em um novo Bécker (250 ml), o qual foi selado com um filme perfurado, e conduzido a uma estufa de fluxo de ar a 40°C, onde permaneceu até a completa secagem do extrato. Por fim, o Becker (250 ml) contendo o extrato foi selado, identificado e armazenado em freezer à -18°C até ser requisitado nos bio-ensaios de suscetibilidade, quando este foi pesado e solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO).

5.3 PREPARO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS (D.A.V.)

Em nosso trabalho utilizamos a destilação por arraste a vapor para obter o óleo essencial de três espécies de plantas: *Achillea millefolium*, *Piper aduncum* e *Porophyllum ruderale*.

5.3.1 Destilação por arraste a vapor

Foram acondicionados em em um balão de três pontas (250 ml) 15 g do material vegetal já triturado. Uma das pontas deste balão estava conectada a um outro balão de fundo redondo (500ml), que continha 400 ml de água, e estava envolvido por uma manta de aquecimento NALGON[®] a 100°C. Após a água entrar em ebulição, o vapor gerado pela vaporização da água na caldeira arrasta a essência através de um condutor, que passa por uma serpentina de resfriamento, condensando uma mistura de óleo-água, que foi progressivamente depositada em um Erlenmeyer (250 ml).

O Erlenmeyer (250 ml) com a emulsão (óleo-água) produzida foi armazenada durante 24 hs em ambiente fechado a 5°C. A esta solução são vertidas 15 ml de diclorometano (99,5%), para então ser levada ao funil de separação. Com a ativação da válvula o óleo da emulsão é depositado em outro Erlenmeyer (250 ml), agora contendo cerca de 20g de sulfato de sódio anidro (P.A.). Com esta manobra, neste momento a solução já pode ser filtrada em algodão e acondicionada em outro Becker (250 ml).

A solução obtida foi então filtrada em algodão, e novamente vertida em outro balão de

fundo redondo, para então ser levada ao rotavapor FISATOM[®] com pressão reduzida, à temperatura de 40°C e 80 rpm. Em seguida, essa solução foi depositada em um novo Bécker (250 ml), o qual foi selado, identificado e armazenado em freezer à -18°C até ser requisitado nos bio-ensaios de suscetibilidade.

5.4 FUNGOS

Neste estudo foram utilizadas linhagens de referência ATCC (American Type Culture Collection) das espécies de dermatófitos *T. rubrum* (ATCC 40051) e *T. mentagrophytes* (ATCC 40004).

Foram também utilizados isolados clínicos de *T. rubrum* e *T. mentagrophytes*, fornecidos pelo laboratório de Micologia, ICB, UFMG, e identificados por procedimentos padrão (LACAZ, 2002).

5.5 ENSAIO DE SUSCEPTIBILIDADE

A susceptibilidade dos isolados aos diferentes compostos foi realizada nas capelas do laboratório de microbiologia da Univale, e de acordo com teste padrão aprovado pelo NCCLS (2002) para fungos filamentosos (M38-A), modificado. Foi utilizado o meio padrão RPMI 1640 (pH 7,0) tamponado com 0,165 M de MOPS (34,54g por litro).

5.6 PREPARO DO INÓCULO

Os isolados foram transferidos da salina estéril (0,9%) para o agar batata dextrose (BDA) a 28°C por 7 dias, para a produção de conídias. As colônias de fungos foram cobertas com 5 ml de salina estéril (0,9%). Em seguida, foram raspadas e a suspensão coletada com o auxílio de uma pipeta Pasteur. A mistura de microconídias e fragmentos de hifas foi filtrada em gaze e a densidade da suspensão resultante foi ajustada em espectrofotômetro FENTO[®],

ao comprimento de onda de 520 nm para uma transmitância de 70 a 72%. Este procedimento gera um inóculo que varia de 2×10^6 a 4×10^6 UFC/ml, sendo esse valor confirmado pelo plaqueamento de 0,01 ml da suspensão em BDA e posterior contagem das colônias de fungo após incubação das placas por 7 a 10 dias a 28°C. A suspensão do inóculo foi diluída (1:50) em meio RPMI para se obter um número de células variando de 2×10^4 a 4×10^4 UFC/ml.

5.7 ENSAIO DE CIM

Placas de microdiluição de fundo chato (96 poços) foram preparadas de acordo com o método de referência NCCLS (M38-A, 2002). Resumidamente, foram adicionados 100 µl de meio em cada um dos 96 poços da placa. Em seguida, 100 µl dos extratos foram adicionados em triplicata nos primeiros poços de cada linha, a partir dos quais foram realizadas diluições seriadas na razão de dois, por meio da transferência de 100 µl da solução para o poço seguinte. Esse procedimento foi feito até o último poço, quando 100 µl da solução foram descartados. Por fim, foram adicionados 100 µl da suspensão do inóculo diluída (1:50) aos poços contendo os extratos. Dessa forma, na maioria dos casos, foram obtidas soluções de extratos nas concentrações finais variando de 10,0 a 0,005 mg/ml. Ao passo que para os óleos essenciais das espécies *Achillea millefolium*, *Piper aduncum* e *Porophyllum ruderale*, foram testados nas concentrações variando 25,0 – 0,01 mg/ml. Para cada placa teste, foram incluídos ainda três controles: um apenas com 200 µl de meio (controle de esterilidade); outro com 100 µl de meio e 100 µl da suspensão do inóculo (controle de crescimento); e o último com 100 µl de meio acrescido de DMSO nas mesmas concentrações daquelas presentes nos extratos, variando de 4 a 0,0015% (v/v), mais 100 µl da suspensão do inóculo (controle do solvente). As placas de microdiluição foram incubadas a 28°C e lidas visualmente após 7 dias de incubação. Todos os testes foram repetidos pelo menos duas vezes em experimentos independentes.

5.8 DETERMINAÇÃO DA CIM DO ANTIFÚNGICO PADRÃO

O Fluconazol foi utilizado como medicamento referência tanto nos testes com os fungos padrão quanto nos testes com os isolados clínicos, sendo avaliado na faixa de concentração de 250,0 – 0,12 µg/ml.

5.9 LEITURA E INTERPRETAÇÃO DAS CIMs

O ponto final de determinação das leituras foi realizado visualmente baseado na comparação do crescimento nos poços contendo os compostos com aqueles do controle de crescimento. Para os extratos e compostos vegetais, a CIM foi definida como a menor concentração que inibiu completamente o crescimento visível dos fungos, após 7 dias de incubação. Diferentemente, a CIM para o Fluconazol foi definida como a menor concentração que causou uma proeminente queda no crescimento dos fungos, correspondente a aproximadamente 80% do controle do crescimento, também após 7 dias de incubação.

5.10 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO FUNGICIDA MÍNIMA (CFM)

A CFM de alguns dos extratos foi determinada por meio do sub-cultivo, em ágar batata dextrose, de 25 µl do conteúdo dos poços onde não houve crescimento dos fungos. A leitura foi feita após 7 dias de incubação a 25°C e a CFM foi definida como a menor concentração de extrato que inibiu qualquer crescimento fúngico nas sub-culturas.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 ASPECTOS GERAIS

A diminuição da susceptibilidade de dermatófitos aos fármacos atualmente disponíveis, bem como ao aparecimento de efeitos indesejáveis a certos agentes antifúngicos, tem impulsionado a pesquisa de novos agentes antidermatofíticos (SILVA *et al.*, 2005). Com o objetivo de encontrar plantas muito ativas que sejam candidatas a estudos posteriores visando a descoberta de novos compostos com ação antidermatofítica, ou mesmo o desenvolvimento de fitoterápicos, nós avaliamos a atividade antifúngica de cinco plantas medicinais contra *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes*, as duas mais comuns espécies causadoras de dermatofitoses em seres humanos.

Trabalhos anteriores têm sugerido que produtos derivados de plantas mostram importante atividade antifúngica e possuem, portanto, potencial terapêutico principalmente em doenças de fungos envolvendo as mucosas, as superfícies da pele e as infecções do trato respiratório. Especificamente em relação aos dermatófitos, diversos estudos têm comprovado a eficácia da utilização de preparados de plantas medicinais no combate a esses fungos (GUPTA *et al.*, 1976; YAMADA & AZUMA, 1977; FUJITA *et al.*, 1978; ALADE & IROBI, 1993; CÁRCERES *et al.*, 1993; IROBI & DARAMOLA, 1993; IBRAIM & OSMAN, 1995; ALI-SHTAYEH *et al.*, 1999; SHAHI *et al.*, 2000; GADH *et al.*, 2001; FLACH *et al.*, 2002; SOUZA *et al.*, 2003; FERESIN *et al.*, 2003; SARTORI *et al.*, 2003; LOIZZO *et al.*, 2004; ALJABRE *et al.*, 2005; MUSCHIETTI *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2005; NGONO *et al.*, 2006; CANALES *et al.*, 2007; CRUZ *et al.*, 2007; DURAI PANDIYAN & IGNACIMUTHU, 2007; HERNANDEZ *et al.*, 2007; KAROISHI *et al.*, 2008; MANN *et al.*, 2008; TRANKRANRUNGSIE *et al.*, 2008).

Uma forma de avaliar a eficácia da ação antimicrobiana de produtos de plantas é comparar a atividade desses com aquela de antimicrobianos padrão. Todos os extratos e óleos essenciais testados por nós demonstraram algum grau de atividade antifúngica (**TABELAS 06, 07, 08 e 11**), embora nenhuma das CIMs obtidas para esses produtos vegetais tenha sido comparável àquela encontrada para o Fluconazol, antimicótico padrão (**TABELAS 09 e 10**). Contudo, não há entendimento sobre o nível de inibição antimicrobiana aceitável para considerar um material vegetal promissor. Alguns autores consideram somente a atividade

comparável àquela de antimicrobianos, enquanto outros consideram até valores muito maiores. O critério proposto por Aligiannis *et al.* (2001) para classificar potência de produtos vegetais, baseado em valores de CIM tem sido adotado por outros pesquisadores (Duarte *et al.*, 2005) e consiste nos seguintes parâmetros: inibidor forte - CIM até 0,5 mg/ml; inibidor moderado - CIM entre 0,6 e 1,5 mg/ml; inibidor fraco - CIM acima de 1,6 mg/ml. Nesse trabalho, adotaremos também esse critério para análise dos dados.

6.2 ATIVIDADE ANTIDERMATOFÍTICA

6.2.1 Sensibilidade dos fungos padrão (*Trichophyton Mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum*) AOS PRODUTOS VEGETAIS

Avaliamos a atividade, *in vitro*, de extratos e/ou óleos essenciais de *Cyperus rotundus*, *Piper aduncum*, *Plectranthus barbatus*, *Porophyllum ruderale* e *Achillea millefolium* contra *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes*, por meio da determinação dos valores de CIM e CFM, empregando-se a técnica de microdiluição em caldo.

De acordo com os dados das **TABELA 06**, observamos que a sensibilidade de *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* aos mesmos extratos foi semelhante, encontrando-se valores de CIM e CFM idênticos, ou com diferença de no máximo duas vezes de uma espécie para a outra (ou seja, apenas uma diluição). Os valores de CFM para os diferentes extratos também foram idênticos aos correspondentes valores de CIM, ou no máximo duas vezes maiores.

Os resultados de CIM e CFM de diferentes extratos brutos, obtidos pela técnica de sonicação de *Cyperus rotundus*, *Piper aduncum*, *Plectranthus barbatus* e *Porophyllum ruderale* são mostrados na **TABELA 06**. Os extratos de todas as plantas testadas demonstraram atividade antifúngica para ambas as espécies de *Trichophyton* avaliadas, e atingiram CIMs e CFMs que variaram na faixa de 0,31 – 5,0 mg/ml. Com exceção da espécie *Piper aduncum*, os extratos brutos foram preparados com diferentes solventes, sendo que para todas as espécies foram produzidos extratos etanólicos. Dentre esses, o menos ativo foi o de *Porophyllum ruderale* com valores de CIM variando de 2,5 a 5 mg/ml e CFM de 5 mg/ml. Por outro lado, os extratos de *Cyperus rotundus*, *Piper aduncum* e *Plectranthus barbatus* apresentaram valores de CIM equiparáveis, variando de 0,62 a 1,25 mg/ml. Já o CFM do

extrato de *Plectranthus barbatus* apresentou uma variação maior que aquelas verificadas para os extratos de *Cyperus rotundus* e *Piper aduncum* (0,62 a 2,5 mg/ml contra 0,62 a 1,25 mg/ml, respectivamente).

Foram preparados também extratos metanólicos para *Plectranthus barbatus* e *Porophyllum ruderale*. A CIM do extrato metanólico de *Plectranthus barbatus* para os dois fungos foi duas a quatro vezes maior que aquela encontrada para o extrato etanólico (0,62-1,25 mg/ml e 2,5 mg/ml, respectivamente). Já o extrato metanólico de *Porophyllum ruderale* teve atividade semelhante ao seu correspondente extrato etanólico (CIM e CFM de 2,5 a 5 mg/ml). Extratos hexânicos foram preparados para *Cyperus rotundus* e *Porophyllum ruderale*. O extrato hexânico de *Cyperus rotundus* mostrou-se levemente melhor que o seu correspondente etanólico (CIM e CFM variando de 0,31 a 0,62 mg/ml). Embora essa diferença não seja grande, apenas uma diluição, ela foi consistente. O extrato hexânico de *Porophyllum ruderale*, por sua vez, demonstrou valores de CIM e CFM cerca de quatro a oito vezes menores que os seus correspondentes etanólico e metanólico (**TABELA 06**). Em relação a isso Adekunle & Ikumapayi (2006), sustentam que diferenças no potencial de inibição verificada entre os extratos, podem ser consequência, muito provavelmente, da presença de diferentes compostos bem como de suas concentrações variadas em cada preparado de determinada planta. Para isso, corrobora o estudo de Pohongpaichit *et al.* (2008), por terem atentado para o fato de que em seus resultados, os compostos com atividade antifúngica encontrados nas plantas seriam muito provavelmente de natureza apolar. Ainda, segundo Bresciani *et al.* (2000), bem como Carvalho *et al.* (2001), solventes apolares como éter e hexano possibilitam a extração de grupos esteróides (estigmasterol e sistosterol), cumarínicos, ésteres do ácido olenólico, lactonas sesquiterpênicas, terpenóides (ácidos caurânicos), que por possuírem caráter lipossolúvel, pode favorecer a passagem desses compostos através das membranas celulares, as quais têm natureza protéica e lipídica; e esta passagem é grandemente determinada pela sua maior ou menor lipossolubilidade (JOHANN *et al.*, 2007). Assim, substâncias com estas características podem atravessar mais rapidamente as barreiras da membrana por um processo de difusão passiva, sendo este transporte diretamente proporcional ao gradiente de concentração e ao coeficiente de partição lipídio/água das mesmas (RANG *et al.*, 1997). Isto pôde ser verificado em um estudo *in vitro* sobre a atividade antimicrobiana de frações de extratos e compostos obtidos das folhas de *Piper regnelli* contra fungos de dermatófitos padrão (*Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis* e *Microsporum gypseum*), onde foi evidenciada a supremacia dos compostos obtidos com solventes apolares frente aos obtidos com solventes

polares, com destaque para o extrato bruto hexânico (CIM = 6,2 µg/ml) frente ao metanólico (CIM > 100 µg/ml) (KOROISHI *et al.*, 2008). Em um outro estudo, Hernandez e colaboradores (2007), avaliaram a atividade antimicrobiana de extratos metanólico, clorofórmico e hexânico de *Cordia curassavica* (Boraginaceae) contra cinco espécies de fungos, dentre as quais o *Trichophyton mentagrophytes*. Eles observaram que somente os extratos clorofórmico e hexânico apresentaram atividade antifúngica contra três das linhagens analisadas, sendo que o extrato hexânico foi o mais ativo contra o *Trichophyton mentagrophytes* (MIC = 0,23 mg/ml). A atividade promissora de extratos hexânicos contra dermatófitos foi verificada também para as folhas de *Cupressus lusitanica* Mill., uma planta comum em muitos países e introduzida na África durante o período colonial. Demonstrou-se que seu extrato quando testado *in vitro* sobre dermatófitos, atingiu uma CIM de 750 µg/ml sobre *T. rubrum* (mesmo resultado conseguido sobre *Microsporum audouinii*, *Microsporum langeronii*, *Microsporum canis*; e de 800 µg/ml para *Trichophyton tonsurans*), estes resultados explicam porque o suco desta planta é utilizado no tratamento das dermatofitoses (Kuiate *et al.* 2006). Da mesma forma, Canales *et al.* (2007) em um outro estudo comparativo *in vitro* sobre as atividades tóxicas e antimicrobianas da *Gymnosperma glutinosum*, uma planta importante na medicina tradicional mexicana, após serem retiradas de duas localidades diferentes do México: San Rafael e Tepeji del Rio, tiveram seus preparados testados tanto contra fungos quanto bactérias. Nos ensaios da atividade antifúngica, realizados através da macrodiluição em ágar, demonstraram a efetividade do extrato hexânico contra todas as espécies avaliadas, isso considerando as plantas oriundas de ambas as localidades. Em especial, com relação ao fungo *T. mentagrophytes*, este demonstrou ser um dos mais suscetíveis ao extrato hexânico dessa planta (CF₅₀= 90,3 µg/ml para a de San Rafael e CF₅₀= 169,6 µg/ml para a de Tapeji del Rio).

Todas as espécies vegetais analisadas por nós são amplamente utilizadas na medicina popular brasileira para diferentes finalidades e já tiveram sua atividade antimicrobiana testada em trabalhos anteriores, incluindo testes para avaliação da atividade antifúngica. No entanto, essas plantas não foram completamente estudadas ainda contra *Trichophyton*. Na realidade, das cinco espécies investigadas nesse trabalho, somente o *Piper aduncum*, pelo menos no levantamento bibliográfico feito por nós, já foi avaliado contra *Trichophyton*. Em um estudo que avaliou a atividade antimicrobiana de 92 plantas medicinais Hondurenhas, o *P. aduncum* mostrou o mais amplo espectro de atividade antifúngica, com inibição observada contra cinco das seis espécies de fungos testadas, incluindo o *T. mentagrophytes*, além de três leveduras

(*C. neoformans*, *C. albicans* e *S. cerevisiae*) e de mais um fungo filamentoso (*Aspergillus flavus*). Apenas o *A. fumigatus* não foi susceptível ao extrato do *P. aduncum* (LENTZ *et al.*, 1998). No entanto, como nesse trabalho foi utilizado o método de disco-difusão, a CIM do extrato de *P. aduncum* não foi determinada.

O óleo essencial de plantas é uma importante fonte de compostos com atividade antimicrobiana (DUARTE *et al.*, 2005; HERNANDEZ *et al.*, 2007). Por isso, avaliamos também a CIM de óleos essenciais de *Achillea millefolium*, *Piper aduncum* e *Porophyllum ruderale* contra os dois dermatófitos (TABELA 07). Os óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Porophyllum ruderale* tiveram a mesma atividade contra *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes* (CIM de 3,12 e 6,25 mg/ml, respectivamente). O óleo essencial que demonstrou maior efetividade foi o de *Achillea millefolium* que chegou a atingir uma CIM de 0,78 mg/ml para *T. rubrum*. A espécie *T. mentagrophytes* apresentou susceptibilidade ligeiramente menor que a *T. rubrum*, sendo que os valores de CIM da primeira foram sempre duas vezes maiores que o a última, para os três óleos testados.

A susceptibilidade de uma determinada espécie de microrganismo a produtos vegetais oriundos de uma mesma espécie vegetal podem apresentar resultados muito diferentes quando avaliada por diferentes pesquisadores. Por exemplo, Duarte *et al.*, 2005 estudaram a atividade, contra *Candida albicans*, dos extratos etanólicos e dos óleos essenciais de 35 plantas medicinais utilizadas comumente no Brasil; dentre as quais quatro espécies avaliadas por nós nesse trabalho: *Achillea millefolium*, *Cyperus rotundus*, *Piper aduncum* e *Plectranthus barbatus*. Interessantemente, os extratos etanólicos de nenhuma das plantas foi efetivo até a maior concentração testada (2,0 mg/ml); já os óleos essenciais de 13 espécies vegetais demonstraram atividade antifúngica, dentre os quais *Achillea millefolium* (CIM 0,25 mg/ml), *Cyperus rotundus* (0,6 mg/ml), *Piper aduncum* (2,0 mg/ml) e *Plectranthus barbatus* (2,0 mg/ml). Esses dados são amplamente divergentes dos nossos, pois nossos melhores resultados foram obtidos com os extratos e não com os óleos essenciais. Em relação ao *Piper aduncum*, BRAGA *et al.* (2007) encontraram, diferentemente do resultado de DUARTE *et al.* (2005), que o extrato metanólico dessa planta apresentou uma atividade moderada contra *Candida albicans* (CIM de 1,25mg/ml). Desse modo, fica claro que análise de atividade de materiais de origem vegetal está sujeita a discrepâncias, as quais podem ser atribuídas a vários fatores, incluindo diferenças na parte da planta utilizada, os solventes de extração, o período em que as amostras vegetais foram coletadas, a localização geográfica das plantas e o método utilizado para realizar o bioensaio (RUNYORO *et al.*, 2006).

Portanto, considerando que as divergências nos resultados dos estudos de

susceptibilidade de fungos a produtos naturais podem ser parcialmente atribuídas às diferentes metodologias empregadas (KOC *et al.*, 2005), conduzimos nosso estudo empregando-se o método de microdiluições seriadas, de acordo com o documento aprovado pelo NCCLS (M38-A), 2002, atualmente Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Acreditamos que a utilização de protocolos bem padronizados por parte dos pesquisadores contribuirá para uniformizar os estudos de susceptibilidade de microrganismos a produtos naturais.

A atividade biológica de espécies do gênero *Piper* é muito diversificada, o que justifica sua ampla utilização na medicina popular para o tratamento de inúmeras doenças. A espécie *Piper hispidum* Sw, possui amidas de ação anti-fúngica e é utilizada popularmente no combate a infecções de pele e cabelos (ALBIERO *et al.*, 2006). A família *Piperaceae* está entre as mais testadas e com o maior número de resultados positivos para atividade antifúngica em um programa de “screening”, de plantas medicinais latinoamericanas (FENNER *et al.*, 2006). Extratos de folhas e o óleo essencial de *P. aduncum* são efetivos sobre a germinação de basidiósporos e o crescimento micelial de *Crinipellis perniciosus* (Stahel) Singer e, sobre o crescimento de outros fitopatógenos (SILVA & BASTOS, 2007).

A espécie *Plectranthus barbatus*, que demonstrou atividade moderada para *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* (CIM de 0,62 a 1,25 mg/ml) (TABELA 06), até recentemente não havia sido ainda avaliada contra fungos, mas RUNYORO *et al.*, (2006) demonstraram a atividade antifúngica dessa espécie contra a *Candida albicans*. Por outro lado, a espécie *Plectranthus cylindraceus*, freqüentemente usada em infecções da pele, já teve sua atividade antidermatófito demonstrada. Seu óleo essencial inibiu completamente o crescimento micelial dos dermatófitos *M. canis*, *M. gypseum* e *T. rubrum* após 7 dias de incubação, e 70% em 15 dias, numa concentração de 250 µg/ml. Nessa mesma concentração, inibiu 70% o crescimento do *T. mentagrophytes* em 7 dias (MARWAH *et al.*, 2007).

Extratos metanólicos e hexânicos das folhas da espécie *Hyptis ovalifolia*,: pertencente à mesma família de *P. barbatus*, já tiveram sua atividade antidermatófito demonstrada contra os fungos *T. mentagrophytes*, *T. rubrum*, *M. canis* e *M. gypseum* (SOUZA *et al.*, 2003).

Os extratos etanólico e hexânico de *Cyperus rotundus* tiveram uma atividade variando de forte a moderada contra as espécies testadas (TABELA 06). O extrato de *C. rotundus* apresentou atividade antimicrobiana quando testado contra *Cândida albicans*, sendo a CIM de 0,6 mg/ml (DUARTE *et al.*, 2005). MAHMOUD (1999) mostrou a atividade desse extrato contra *Aspergillus flavus*, quando este inibiu a produção de aflatoxinas por meio da inibição do crescimento do fungo.

Nossos dados mostram que óleo essencial de *Achillea millefolium* apresenta atividade

moderada contra os dermatófitos (CIM 0,78 mg/ml e 1,56 mg/ml para as espécies *T. rubrum* e *T. mentagrophytes*, respectivamente) (TABELA 06). Como já citado anteriormente, DUARTE e colaboradores (2005) demonstraram forte atividade desse óleo contra a levedura *Cândida albicans* através do método de microdiluição (CIM 0,25 mg/ml). Por outro lado, Candan *et al.*, (2003) concluíram que o óleo essencial de *Achillea millefolium* apresenta baixa atividade antimicrobiana *in vitro*, demonstrando valores de CIM para *Candida albicans* e *Candida krusei* de 4,5 mg/ml e 18 mg/ml, respectivamente. Em um outro estudo com extrato de *A. millefolium*, testado contra o fungo filamentosso *Didymella bryoniae*, observou-se uma atividade baixa da inibição do crescimento micelial desse fungo (FIORI *et al.*, 2000).

TABELA 06: Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM) de extratos vegetais (obtidos por sonicação) contra *Trichophyton rubrum* (Tr) e *Trichophyton mentagrophytes* (Tm).

Espécie vegetal	Nome popular	Solvente de extração	CIM (mg/ml)		CFM (mg/ml)	
			Tr	Tm	Tr	Tm
<i>Cyperus rotundus</i>	Tiririca	etanol	0,62	0,62-1,25	0,62-1,25	1,25
		hexano	0,31	0,31-0,62	0,31-0,62	0,31-0,62
<i>Piper aduncum</i>	Falso Jaborandi	etanol	0,62	0,62	0,62-1,25	1,25
<i>Plectranthus barbatus</i>	Falso Boldo	etanol	0,62-1,25	0,62-1,25	0,62-2,5	1,25-2,5
		metanol	2,5	2,5	NR	NR
<i>Porophyllum ruderale</i>	Couve Cravinho	etanol	2,5-5	2,5-5	5	5
		metanol	5	2,5	5	2,5-5
		hexano	0,31-1,25	0,31-1,25	0,62-1,25	0,62-1,25

NR: Não realizado.

Resultados representativos de pelo menos três experimentos independentes, cada um realizado em triplicata.

Inibidor forte - CIM até 0,5 mg/ml; inibidor moderado - CIM entre 0,6 e 1,5 mg/ml; inibidor fraco - CIM acima de 1,6 mg/ml, ALIGIANNIS *et al.* (2001).

TABELA 07: Concentração inibitória mínima (CIM) de óleos essenciais contra *Trichophyton rubrum* (Tr) e *Trichophyton mentagrophytes* (Tm).

Espécie vegetal	Nome popular	CIM (mg/ml)	
		Tr	Tm
<i>Achillea millefolium</i>	Mil Folhas	0,78	1,56
<i>Piper aduncum</i>	Falso-Jaborandi	3,12	6,25
<i>Porophyllum ruderale</i>	Couve Cravinho	3,12	6,25

Resultados representativos de pelo menos dois experimentos independentes, cada um realizado em triplicata.

Inibidor forte - CIM até 0,5 mg/ml; inibidor moderado - CIM entre 0,6 e 1,5 mg/ml; inibidor fraco - CIM acima de 1,6 mg/ml, ALIGIANNIS *et al.* (2001).

6.2.2 Sensibilidade dos fungos padrão (*Trichophyton Mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum*) frente a extratos obtidos de diferentes métodos

Um dos nossos objetivos era selecionar o extrato mais ativo obtido pela técnica de ultra-som, a qual era a nossa técnica de rotina utilizada na confecção dos extratos vegetais, e avaliar o efeito de diferentes métodos de obtenção de extratos (Sonicação, Maceração, Turbólize, Soxhlet e Decocção) sobre a atividade dos mesmos contra linhagens padrão de *T. rubrum* e *T. mentagrophytes*. Contudo, conforme analisado anteriormente (**TABELA 06**), não tivemos um extrato que claramente se destacasse dos demais em relação à sua atividade anti-*Trichophyton*. Considerando que a família *Piperaceae* está entre as mais testadas e com o maior número de resultados positivos para atividade antifúngica (FENNER *et al.*, 2006), selecionamos a espécie *Piper aduncum* para realizar essa análise (**TABELA 8**). Preparamos extratos etanólicos e hexânicos empregando os métodos relacionados acima. Confirmando os dados vistos anteriormente, não encontramos diferenças de susceptibilidade entre as espécies *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* frente aos mesmos extratos. Geralmente, tanto os valores de CIM quanto os de CFM ficaram na mesma faixa de atividade. Não observamos também diferenças consideráveis entre as atividades dos extratos etanólicos e hexânicos preparados com os diferentes métodos de extração. Em todos os casos, os valores de CIM variaram de 0,16 a 0,31 mg/ml. Já os valores de CFM ficaram na faixa de 0,31 a 0,62 mg/ml, exceto para o extrato etanólico obtido por decocção que, contra o *T. mentagrophytes*, teve CIM variando de 0,16 a 0,31 mg/ml.

Quando se compara o extrato etanólico de *Piper aduncum* obtido por ultrassom (TABELA 06) com aqueles obtidos por decocção, soxhlet, maceração ou turbólise (TABELA 8), notamos que o extrato obtido pela técnica de ultrassom foi menos ativo que os demais. Enquanto o extrato preparado por ultrassom teve CIM de 0,62 mg/ml e CFM variando de 0,62 a 1,25 mg/ml (TABELA 06), os demais extratos tiveram valores de CIM variando de 0,16 a 0,31 mg/ml e CFM de 0,31 a 0,62 mg/ml (TABELA 08).

Não encontramos na literatura estudos comparativos semelhantes ao nosso, ou seja, estudos visando estabelecer a eficiência de diferentes métodos de extração sobre a atividade antimicrobiana de extratos brutos. No entanto, há estudos que avaliam a interferência de métodos de extração na obtenção de determinados compostos presentes em extratos vegetais. Schenkel *et al.* (2007) realizaram um estudo comparativo sobre a eficiência de extração de cafeína e teobromina em sete métodos extrativos, onde foi avaliada a influência de alguns parâmetros, dentre eles: o pré-tratamento, o tipo de solvente e a temperatura sobre a extração dessas metilxantinas. E assim foi verificado que a eficiência na extração depende da solubilidade destes compostos nos solventes empregados, e a extração por decocção mostrou-se a mais eficiente, sobretudo em pH mais baixo.

Paiva *et al.*, (2004) compararam a eficiência de diferentes técnicas (maceração, ultrassom e soxhlet) para a extração de plumbagina, uma naftoquinona que demonstra várias atividades biológicas e que pode ser obtida de raízes de *Plumbago scandens* L. Concluíram que a extração por Soxhlet foi a técnica mais eficiente, sendo que sua eficiência foi atribuída ao emprego de pequeno volume de solvente, o qual é continuamente renovado em contato com o material da planta, promovendo mais interações entre eles.

Song *et al.* (2002) também verificaram significativa diferença no que diz respeito à eficácia de mecanismos de extração, quando realizaram um estudo comparativo entre métodos de extração utilizados para determinar a presença de hidrocarbonos aromáticos policíclicos, cuja presença é diretamente relacionada a poluição das amostras de solos e sedimentos contaminados. Os resultados mostraram que foi verificada diferença entre os métodos de extração, com destaque para os exemplares com alto teor desse composto. A extração por ultrassom demonstrou melhor efetividade por consumir menos tempo, menos solvente e ser efetivo tanto em amostras úmidas ou secas.

TABELA 08: Efeito de diferentes métodos de obtenção do extrato de *Piper aduncum* sobre *T. rubrum* (Tr) e *T. mentagrophytes* (Tm).

Espécie	CIM (CFM) mg/ml						
	Extrato etanólico				Extrato hexânico		
	Decocção	Soxhlet	Turbolize	Maceração	Soxhlet	Maceração	Decocção
Tr	0,16-0,31 (0,31-0,62)	0,16-0,31 (0,31)	0,16 (0,31)	0,16-0,31 (0,31-0,62)	0,31 (0,62)	0,16 (0,31)	0,16-0,31 (0,31-0,62)
Tm	0,16 (0,16- 0,31)	0,16-0,31 (0,31-0,62)	0,16 (0,31- 0,62)	0,31 (0,31- 0,62)	0,16-0,31 (0,62)	0,16-0,31 (0,62)	0,16 (0,31)

Resultados representativos de pelo menos dois experimentos independentes, cada um realizado em triplicata.

Inibidor forte - CIM até 0,5 mg/ml; inibidor moderado - CIM entre 0,6 e 1,5 mg/ml; inibidor fraco - CIM acima de 1,6 mg/ml, ALIGIANNIS *et al.* (2001).

6.2.3 Sensibilidade dos fungos (*Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum*) ao fluconazol

Como controle foram obtidas as concentrações inibitórias mínimas do fluconazol contra os fungos padrão *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* (TABELA 09). A sensibilidade de ambas as espécies foi semelhante (CIM de 62,5 µg/ml), confirmando os resultados observados por outros pesquisadores (SANTOS *et al.*, 2006). A sensibilidade dos isolados clínicos foi também avaliada (TABELA 10). Os valores de CIM para as espécies de *T. mentagrophytes* e *T. rubrum* tiveram a mesma variação (31,25 a 125 µg/ml) (TABELA 10). Barros *et al.*, (2007), avaliaram a susceptibilidade de 50 isolados clínicos de *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* ao fluconazol e não encontraram diferenças significativas de susceptibilidade entre essas duas espécies, o que corrobora os nossos dados. O fluconazol é conhecido por apresentar os maiores valores de CIM em comparação com outros agentes antifúngicos, como terbinafina, griseofulvina e itraconazol. (BARROS *et al.*, 2007). SANTOS & HAMDAN (2007), consideraram *Trichophyton* resistente ao fluconazol aquele com valor de CIM \geq 64 µg/ml. De acordo com esse critério, os isolados clínicos VII de *T. rubrum* e I de *T. mentagrophytes* são resistentes a esse antifúngico.

TABELA 09: Concentração inibitória mínima (CIM) do fluconazol contra *Trichophyton rubrum* (Tr) e *Trichophyton mentagrophytes* (Tm).

Antifúngico	CIM(µg/ml)	
	Tr	Tm
Fluconazol	62,5	62,5

Resultados representativos de dois experimentos independentes, cada um realizado em triplicata.

TABELA 10: Sensibilidade dos isolados clínicos de *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* ao Fluconazol.

Espécie de fungo	Isolado clínico	CIM (µg/ml)
<i>T. rubrum</i>	II	62,5
	III	31,25-62,5
	VII	62,5-125
<i>T.</i>	I	125
<i>mentagrophytes</i>	II	62,5
	IV	62,5
	VII	62,5
	IX	31,25

Resultados representativos de dois experimentos independentes, cada um realizado em triplicata.

6.2.4 Sensibilidade dos isolados clínicos de *trichophyton mentagrophytes* e *trichophyton rubrum* ao extrato etanólico de *piper aduncum*

Um dos nossos objetivos era selecionar o extrato mais ativo sobre as linhagens padrão, e então determinar suas Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) sobre cepas de *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* isoladas de pacientes. Como todos os extratos de *Piper aduncum* avaliados na **TABELA 8** tiveram forte atividade contra os fungos, selecionamos o extrato etanólico, obtido por maceração, para cumprir esse objetivo.

O extrato foi então testado para sua atividade antifúngica contra três isolados clínicos de *T. rubrum* (II/III/VII) e cinco de *T. mentagrophytes* (I/II/IV/VII/IX). A inclusão desses isolados é de fundamental importância, pois, diferentemente das linhagens de referência, que

permitem a reprodutibilidade dos resultados por outros pesquisadores; os isolados clínicos fornecerão dados contemporâneos acerca da susceptibilidade desses microorganismos aos extratos avaliados.

Em todos os testes os fungos demonstraram sensibilidade ao extrato, sendo que o resultado de CIM oscilou na faixa de 0,31 – 0,62 mg/ml; e o de CFM entre 0,31 – 1,25 mg/ml (TABELA 11). A atividade desse extrato sobre as linhagens de referência foi levemente maior, visto que a CIM variou de 0,16 a 0,31 mg/ml e a CFM de 0,31 a 0,62 (TABELA 08). Os isolados VII de *T. rubrum* e I de *T. mentagrophytes*, considerados resistentes ao fluconazol (TABELA 10), foram tão sensíveis aos extratos de *Piper aduncum* quanto os demais isolados clínicos. O isolado VII de *T. rubrum* foi, inclusive, o fungo mais sensível, visto que foi o único a apresentar valor de CFM de 0,31 mg/ml, coincidente com o seu respectivo valor de CIM.

Esses resultados levantam a possibilidade de tratamento alternativo, com extratos de *Piper aduncum*, de infecções dermatofíticas causadas por *Trichophyton* resistentes ao fluconazol. Uma outra abordagem, que merece ser avaliada, é testar o potencial sinérgico desse extrato com o fluconazol, pensando na possibilidade de administrá-los em associação, nos pacientes com micoses cutâneas. No trabalho de Shin & Lim (2004), eles concluíram que o efeito antifúngico do cetoconazol contra os fungos *Trichophyton* spp. (*T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. erinacei*, *T. schoenleinii*, *T. soudanense* e *T. tonsurans*), seriam realçados significativamente quando administrados em combinação com o óleo essencial de *Pelargonium graveolens*.

TABELA 11: Efeito de extrato etanólico de *Piper aduncum* (Maceração) sobre isolados clínicos de *T. rubrum* e *T. mentagrophytes*.

Espécie de fungo	Isolado clínico	CIM (mg/ml)	CFM (mg/ml)
<i>T. rubrum</i>	II	0,31	0,62
	III	0,31-0,62	0,62
	VII	0,31	0,31
<i>T. mentagrophytes</i>	I	0,31	0,62
	II	0,62	1,25
	IV	0,31	0,62
	VII	0,31-0,62	0,62-1,25
	IX	0,31	0,62

Resultados representativos de pelo menos dois experimentos independentes, cada um realizado em triplicata. Inibidor forte - CIM até 0,5 mg/ml; inibidor moderado - CIM entre 0,6 e 1,5 mg/ml; inibidor fraco - CIM acima de 1,6 mg/ml, ALIGIANNIS *et al.* (2001).

7 CONCLUSÕES

As espécies vegetais *Achillea millefolium*, *Cyperus rotundus*, *Plectranthus barbatus*, *Porophyllum ruderale* e *Piper aduncum* possuem atividade antifúngica contra as duas principais espécies causadoras de dermatofitoses em seres humanos (*Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes*), o que sugere que elas podem ser úteis para o desenvolvimento de novos compostos antidermatofíticos.

Os extratos etanólicos e hexânicos de *Piper aduncum* obtidos pelas técnicas de turbólise, maceração, Soxhlet e decocção tiveram forte atividade sobre as espécies de *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes*, e demonstraram-se mais ativos que o correspondente extrato etanólico obtido por sonicação.

As espécies de *Trichophyton* resistentes ao fluconazol foram fortemente inibidas pelo extrato etanólico (maceração) de *Piper aduncum* e demonstraram a mesma susceptibilidade que as espécies sensíveis a esse antifúngico.

Em suma, nossos dados substanciam a indicação etnobotânica de atividade antifúngica para as cinco espécies estudadas e corroboram a importância da pesquisa etnofarmacológica na seleção de plantas para triagem de bioatividade. Esses resultados também formam uma boa base para seleção de espécies de plantas candidatas para estudos farmacológicos e toxicológicos adicionais.

REFERÊNCIAS

- ADEKUNLE, A.A.; IKUMAPAYI, A.M.. Antifungal propoerty and phytochemical screening of the crude extracts of Funtunia Elastica and Mallotus oppositifolius. **West Indian Med. J.**, 55(4), 219, 2006.
- ALADE, P.I.; IROBI, O.N.. Antimicrobial activities of crude leaf extracts of Acalypha wilkesiana. **J. Ethnopharmacol.** 39(3):171-4, 1993.
- ALBIERO, A.L.M. et al. Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de Piper hispidum Sw. (Piperaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 16 (3) : 379-391, jul-set, 2006.
- ALIGIANNIS, N. et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two Origanum species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 40, 4168–4170, 2001.
- ALI-SHTAYEH, M.S.; ABU, G.S.I.. Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. **Mycoses.** 42(11-12):665-72, 1999.
- ALJABRE, S.H. et al. Antidermatophyte activity of ether extrat of Nigella sativa and its active principle, thymoquimone. **J. Ethnopharmacol.** 101(1-3):116-9, oct., 2005.
- AMOROZO, M.C. de M.. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Leverger, MT Brasil. **Acta bot.bras.**16(2):189-203,2002.
- AQUINO, V.R.; CONSTANTE, C.C.; BALOS, L.. **Frequências das dermatofitoses em exames microbiológicos em Hospital Geral de Porto Alegre, Brasil.** 83(3): 239-244 Maio –Jun.2007. btab. Disponível em: < <http://www.An.bras.dermatol> >. Acesso em: 06 de Agot.2007.
- ARANTES, M.C.B. et al. Estudo farmacognóstico do Cyperus rotundus L. **Revista Eletrônica de Farmácia, Suplemento**, Vol. 2 (2), 17-20, 2005.
- AZEVEDO, S.K.S.de.; SILVA, I.M.. Plantas medicinais e de uso religioso comercializadas em mercados e feiras livres no Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Acta bot.bras.** 20(1):185-194, 2006.
- AZEVEDO, V.M.; KRUEL, V.S. da F. Plantas medicinais e ritualísticas vendidas em feiras livres no Município do Rio de Janeiro, RJ, Brasil: estudo de caso nas zonas Norte Sul. **Acta bot.bras**, 21(2): 263-275, 2007.

BALDA, A.C.; OTSUKA, M.; LARSSON, C.E.. Ensaio clínico da griseofulvina e da terbinafina na terapia dos dermatofitoses em cães e gatos. **Ciência Rural. Santa Maria**. V.37, no 37, p.750-754, mai-jun, 2006.

BARBIERI, M.P.. **Medicação do Saber Popular em Relação à Autonomia da Comunidade no Cultivo da Saúde**. Disponível em: < <http://www.rizoma.ufsc.br>>. Acesso em : 04 ago, 2008.

BARCHIESI, F. et al. In vitro activity of posaconazole against clinical isolates of dermatophytes. **J Clin Microbiol**. 39(11):4208-9, 2001.

BARROS, F.M.C. de, et al. Plantas de Uso Medicinal no Município de São Luiz Gonzaga, RS, Brasil. **Lat.,Am.,J.Pharm.**26(5):652-62, 2007.

BASTOS, C.N.. Efeito do óleo de Piper aduncum sobre *Crinipellis pernicioso* e outros fungos patogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.22, n.3, p-441-443, 1997.

BERGOLD, A.M.; GEORGIADIS, S.. Novidades em fármacos antifúngicos: uma revisão. **Visão acadêmica** v.5, n.2, 150-172 jul-dez, 2004.

BLOCK, L.C. et al. Chemical and pharmacological examination of *Wedelia paudosa*. **J. Ethnopharmacol.**, v. 61, p.85-89, 1998.

BÔAS, G.de.K.V.; GADELHA, C.A.G.. Oportunidades na indústria de medicamentos e a lógica do desenvolvimento local baseado nos biomas brasileiros: base para a discussão de uma política nacional. **Cad.Saúde Pública, Rio de Janeiro**,23(6):1463-1471, jun, 2007.

BRAGA, FG. et al. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, 111, p. 396-402, 2007.

BRANDOLT. T.D.D., et al. Efeito do extrato de *Plectranthus barbatus* (Andr.) Benth no desempenho reprodutivo de *Rattus norvegicus* (Berkenhot, 1769). **Biotemas**, 20(2):49-58, Junho de 2007.

BRASILEIRO, B.G. et al. A utilização de plantas medicinais pela população atendida no Programa de Saúde da Família – PSF - Governador Valadares – MG. **In Anais: V Congresso Internacional de Plantas Medicinales**, 8-11 de outubro de 2003. Santiago, Chile.

BRESCIANI, L.F.V. et al.. Comparative study of different parts of *Wedelia paludosa* by gas

chromatography. **Nat. Prod. Lett.**, v.14, n. 4. p. 247-254, 2000.

BRISKIN, D.. Medicinal Plant and Phytomedicines. Linking Plant Biochemistry and Physiology to Human Health. **Plant Physiology**, v.124, p.507-514, 2000.

CANALES, M. et al. Antimicrobial and general toxicity of *Gymnosperma glutinosum*: A comparative study. **Journal of Ethnopharmacology**, 110, 343-347, 2007.

CANDAN, F. et al. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). **Journal of Ethnopharmacology**. 87, 215–220, 2003.

CÁRCERES, A . et al. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. Evaluation of antifungal activity of seven American plants. **J. Ethnopharmacol.** 40(3):207-13, dec., 1993.

CARVALHO, G.J.A.. Diterpenos, triterpenos e esteróides das flores de *Wedelia paludosa*. **Quím. Nova**, v.4., n1, p. 24-26, 2001.

COELHO, M.P.P. et al. Micoses observadas em pacientes atendidos no Hospital Universitário, Florianópolis, Santa Catarina. **RBAC**. 37(1): 27-30, 2005.

COLETTI, L.M.M. **Curso básico de plantas medicinais**. Disponível em: <<http://www.ecceducar.com.br>>. Acesso em: 31Jul.2008

COSTA, T.R. et al. Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil. **J. Ethnopharmacol** 72: 111-117, 2000.

COSTA, M. et al. Epidemiologia e etiologia das dermatofitoses em Goiânia, GO, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 35(1):19-22, jan-fev, 2002.

CRAIG, R.C.; STITZEL, R.E.. **Farmacologia Moderna com avaliações clínicas**. 6 ed. Guanabara koogan, 563-571, 2005.

CRUZ, M.C. et al. Antifungal activity of Brazilian medicinal plants involved in popular treatment of mycoses. **J. Ethnopharmacol.** 111(2):409-12, Dec., 2007.

DAMÁZIO, P.M.R. de B.C. et al. Epidemiology etiology and clinical presentation of

dermatophytosis in Pernambuco, 1995-2005. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 40(4):484-486,jul-ago, 2007.

DESTRO, M.W.B. et al. Estudo da utilização no pré-operatório de medicamentos ou drogas fitoterápicas que alteram a coagulação sanguínea. **Rev.col.Bras.cir.**vol.3.Nº 2.mar-abr, 2006.

DI STASI, L.C.. **Plantas medicinais: Arte e ciência.** São Paulo, Ed. Unesp, p.108-119, 1995.

DUARTE, M.C.T.. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Multiciência: construindo a história dos produtos naturais.** v.7, outubro, 2006.

DUARTE, M.C. et al. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology** 97, 305–311, 2005.

DURAI PANDIYAN, V.; IGNACIMUTHU, S.. Antibacterial and antifungal activity of Cassia fistula L.: an ethnomedical plant. **J. Ethnopharmacol**, 112(3):590-4, 2007.

FEIJÓ, A.M., et al. **Estudo do efeito antimicrobiano dos extratos etanólicos de Mentha arvensis L. (Laminaceae) sobre patógenos orais.** Disponível em: <<http://www.ufpel.edu.br>>. Acesso em: 07 ago. 2008.

FARNWORTH, N.R.; AKERELE, O., BINGEL, A.S.. Medicinal plants in therapy. **Bull WHO**, 65: 965-981, 1985.

FENNER, R. et al. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.42, n.3, 2006.

FERESIN, G.E. et al. Bioactive alkyl phenols and embelin from Oxalis erythrorhiza. **J. Ethnopharmacol**. 88(2-3): 241-7, oct., 2003.

FIORI, A.C.G. et al. Antifungal Activity of Leaf Extracts and Essencial Oils of some Medicinal Plants against Didymella bryoniae. **J.Phytopathology**, v.148, p. 483-487, 2000.

FLACH, A. et al. Chemical analysis and antifungal activity of the essential oil of Calea clematidea. **Planta Med.** 68(9):836-8, sep., 2002.

FOSS, N.T. et al. Dermatoses em pacientes com diabetes mellitus. **Rev.Saúde Pública**.vol.39,n4,São Paulo, Aug, 2005.

FUCHS, F.D.; WANNMACHER L. **Farmacologia Clínica: Fundamentos da terapêutica**. 2a. ed. Guanabara koogan, 281-292.,1998.

FUJITA, K. et al. Effect of Leaf Extracts of Aloe arborescens Mill subsp. Natalensis Berger on Growth of Trichophyton mentagrophytes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, July, 132-136, 1978.

GADHI, C.A. et al. Antidermatophytic properties of extracts from the leaves of Aristolochia paucinervis Pomel. **Phytother**. 15(1):79-81, feb., 2001.

GUPTA, A.K.; KOHLI, Y.. Evaluation of in vitro resistance in patients with onychomycosis who fail antifungal therapy. **Dermatology**. 207(4):375-80, 2003.

GUPTA, S.K.; BENERJEE, A.B.; ACHARI, B.. Isolation of Ethyl p-methoxycinnamate, the major antifungal principle of Curcumba zedoaria. **L. Loydia**, 39(4) : 218-22, jul-aug, 1976.

HAINER, B.L.. Dermatophyte infections. **Am Fam Physician** 67(1):101-8, 2003.

HERNANDEZ, T. et al. Antimicrobial activity of the essential oil and extracts of Cordia curassavica (Boraginaceae). **Journal of Ethnopharmacology** 111, 137–141, 2007.

IBRAHIM, D.; OSMAN, H.. Antimicrobial activity of Cassia alata from Malaysia. **J. Ethnomedical**. 45(3):151-6, mar., 1995.

IROBI, O.N.; DAMAROLA, S.O.. Antifungal activities of crude extracts of Mitracarpus villosus (Rubiaceae). **J. Ethnopharmacol**. 40(2):137-40, 1993.

JESSUP, C.J. et al. Antifungal susceptibility testing of dermatophytes: establishing a medium for inducing conidial growth and evaluation of susceptibility of clinical isolates. **J Clin Microbiol**. 38(1):341-4, 2000.

JOHANN, S. et al. Antimicrobial activity of wax and hexane extracts from Citrus spp. Peels. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 102(6), 681-685, September, 2007.

JULIATTI, F.C.. **Modo de ação dos fungicidas sobre plantas e fungo**. Disponível em: <http://www.ppz-far.org>>. Acesso em : 04 ago, 2008.

JÚNIOR J.A.F. et al. Fitotoxicidade de extratos aquosos de Cyperus rotundus L. Sobre a

germinação e o crescimento de *Raphanus sativa* L. **Revista Científica da Faminas** – Muriaé, v3, n1, p.109, jan-abr. 2000.

KOC, A.N. et al. Comparasion of in vitro activies of antifungal drugs and ethanolic extract of propolis against *Trichophyton rubrum* and *T. mentagrophytes* by using a microdilution assay. **Blackwell Publishing**, *Mycoses*, 48, 205-210, 2005.

KONEMAN, E.W. et al. **Diagnóstico microbiológico**. 5 ed. Medsi: Rio de Janeiro, p. 796-809, 2001.

KOROISHI, A.M. et al. In vitro antifungal activity of extracts and neoligans from *Piper regnellii* against dermatofhytes. **J. Ethnopharmacol.** 117(2):270-7, may., 2008.

KUIATE, J.R. et al. Chiminal composition and antidermatophytic properties of volatile fractions of hexanic extract from leaves of *Cupressus lusitanica* Mill. from Cameron. **Journal of Ethnopharmacology**, 103, 160-165, 2006.

KYLE, A.A.; DAHL, M.V.. Topical therapy for fungal infections. **Am J Clin Dermatol.** 5(6):443-51, 2004.

LACAZ, C.S.; PORTO, E.; MARINS, J.E.C.. **Tratado de Micologia Médica Lacaz**. São Paulo: Sarvier; 2002.

LACAZ, C.S. et al. **Tratado de micologia médica**. Sarvier: São Paulo, 1104p., 2002.

LEAL, Eduardo Caetano (Org.) et al. **Manual de normalização para elaboração de trabalhos acadêmicos da UNIVALE**. Governador Valadares: Universidade Vale do Rio Doce, 2009.

LENTZ, D.L. et al. Antimicrobial properties of Honduran medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology** 63, 253–263, 1998.

LOIZZO, M.R. et al. Antibacterial and antifungal activity of *Senecio inaequidens* DC. and *Senecio vulgaris* L. **Phytother.** 18(9): 777-9, sep., 2004.

LOPEZ, A .; HUDSON, J.B.; TOWERS, G.H.N.. Antiviral and antimicrobial activies of Colombian medicinal plants. **Journal of Etnopharmacology**, 77, 189-196, 2001.

LÓPEZ, C.A.A. Considerações gerais sobre plantas medicinais. **Ambiente: Gestão e Desenvolvimento**,1(1):19-27,2006.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. São Paulo: **Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA.**, 2002.

MAHMOUD, A.L.. Inibition of growth and aflatoxin biosynthesis of *Aspergillus flavus* by extracts of some Egyptian plants. **Lett. Appl. Microbiol.**, 29(5) : 334-6, nov, 1999.

MANN, A .; BANSO, A .; CLIFFORD, L.C.. An antifungal property of crude plant extrats from *Anogeissus leiocarpus* and *Terminalia avicennioides*. **Tanzan J. Health Res.** 10 (1):34-8, jan., 2008.

MARCHESE, J.A, et al. Perfil dos consumidores de plantas medicinais e condimentares do município de Pato Branco (PR). **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.2, abr./jun. 2004.

MARWAH, R.G. et al. Antimicrobial activity and the major components of the essential oil *Plectranthus cylindraceus*. **J. Appl. Microbiol.**, 103(4) : 1220-6, oct, 2007.

MEDEIROS, M.F.T.; FONSECA,V.S. da.; ANDREATA, R.H.P.. Plantas medicinais e seus usos pelos sitiantes da Reserva Rio das Pedras, Mangaratiba, RJ, Brasil. **Acta bot.bras.** 18(2):391-399, 2004.

MEIS, J.F.; VERWEIJ, P.E.. Current management of fungal infections. **Drugs.**;61 **Suppl** 1:13-25, 2001.

MELLO, S.C.M. et al. Avaliação do efeito de pesticidas no crescimento de *Cercospora caricis*. **Comunicado Técnico 94, EMBRAPA**, dezembro, 2003.

MEZZARI, A.. Frequency of dermatophytes in the metropolitan area of Porto Alegre, RS, Brazil. **Rev Inst Med Trop**, Sao Paulo. 40(2):71-6, 1998.

MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G.. **Desenvolvimento de Fitoterápicos**. São Paulo – SP: Robe, 115p., 2000.

MORAES, R. G.; LEITE, S. C.; GOULART, E. G. **Parasitologia e micologia humana**. 3.ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 559p., 1984.

MORANDIM, A. de A., et al. Purificação parcial de preniltransferases de Piper aduncum L (Piperaceae). In: **29º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2008.

MUSCHIETTI, L. et al. In vitro antifungal assay of traditional Argentine medicinal plants. **J. Ethnopharmacol.** 102(2):233-8, aug., 2005.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing filamentous fungi. Approved standard M38-A. **National Committee for Clinical Laboratory Standards**, Wayne, Pa., 2002.

NETO, G.G.; MORAIS, R.G. de.. Recursos medicinais de espécies do cerrado de Mato Grosso: Um estudo bibliográfico. **Acta bot**,17(4):561-584, 2003.

NGONO, N.A. et al. Antifungal activity of Chromolaena odorata (L.) King & Robinson (Asteraceae) of Cameroon. **Chemotherapy.** 52(2):103-6, mar., 2006.

NOSTRO, A. et al. Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. **Letters in Applied Microbiology**, 30, 379-384, 2000.

NUNES, J.D.. **Citogenética de acessos de Pimenta longa (Piper spp.)**. Dissertação de mestrado em agronomia, Universidade Federal de Lavras, Lavras-Minas Gerais, 2004.

OLIVEIRA, A.B. **O Ensino da botânica como instrumento para educação ambiental**. Trabalho de Graduação (Ciências Biológicas) - Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas – RS, 2005.

OLIVEIRA, J. A. A. et al. Micoses superficiais na cidade de Manaus, AM, entre março e novembro/2003. **An Brás Dermatol.** 81,(3):p.238-43, 2006.

OLIVEIRA, R.A.G. de et al. Estudo da interferência de óleo essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Revista Brasileira de Farmacologia.** 16(1): 77-82, jan/Mar, 2006.

ORJALA, J. et al. Cytotoxic and antibacterial dihydrochalcones from Piper aduncum. **J. Nat. Prod.**, 57(1) : 18-26, jan, 1994.

PAIVA, S.R. et al. Plumbagin quantification in roots of Plumbago scandens L. obtained by different extraction techniques. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** 76(3): 499-504, 2004.

PASSOS, X.S. et al. Atividade antifúngica de *Caryocar brasiliensis* (Caryocaraceae) sobre *Cryptococcus neoformans*. **Rev Soc Br Med Trop** 35: 623-627, 2002.

PASTRE, W.. **Controle de “tiririca” (*Cyperus rotundus* L.) com aplicação de sulfentrazone e flazasulfuron aplicados isoladamente e em mistura na cultura de cana-de-açúcar** 66f. Dissertação (Mestrado) – Secretaria de Agricultura e Abastecimento – Instituto Agrônômico, março, 2006.

PEREIRA, A. M. S.. **Cultura de tecidos de plantas medicinais**. Disponível em: <<http://www.ufmt.br>> Acesso em: 07ago., 2008

PERON, M.L.D.F.; TEIXEIRA, J.J.V.; SVIDZINSKI, T.I.E.. Epidemiologia e etiologia das dermatomicoses superficiais e cutâneas na Região de Paranaíba-Paraná, Brasil. **RBAC**, vol.37(2):77-81, 2005.

PHILLIPS, P.; STEENS, D.A.A.; VIVIANI, M.. Managing fungal infection in the 21 st century: Focus on itraconazole. In: Stevens D.A. **Drugs Supplement**, v. 61, n.1, 2001.

PHONGPAICHIT, S.; SUBHADHIRASAKUL, S.; WATTANAPIROMSAKUL, C.. Antifungal activities of extracts from Thai medicinal plants against opportunistic fungal pathogens associated with AIDS patients. **Blackwell Publishing Ltd, Mycoses**, 48, 333-338, 2005.

PHONGPAICHIT, S.; SUBHADHIRASAKUL, S.; WATTANAPIROMSAKUL, C. Antifungal activities of extracts from Thai medicinal plants against opportunistic fungal pathogens associated with AIDS patients. **Blackwell publishing Ltd, Mycoses**, 48, 333-338, 2008.

PINHEIRO, A.de.Q.; MOREIRA, L.B.; SIDRIM, J.J.C.. Dermatofitoses no meio urbano e a coexistência do homem com cães e gatos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**,30(4):287-294,jul-ago, 1997.

PINTO, E.de P.P.; AMOROZO, M.C.M.; FURLAN, A.. Conhecimento popular sobre plantas medicinais em comunidades rurais de mata atlântica –Itacaré, Ba, Brasil. **Acta bot.bras**.20(4):751-762. 2006.

PONTES, R.M.F.; MONTEIRO, P.S.; RODRIGUES, M.C.S.. O uso da fitoterapia no cuidado de crianças atendidas em um centro de saúde no Distrito Federal. **Comun. Ciênc. Saúde**, 17(2) : 129-139, 2006.

PONTES, R.M.F. et al. O uso da fitoterapia no cuidado de crianças atendidas em um centro de saúde do Distrito Federal. **Comum Ciên Saúde**. 17(2): 129-139, 2006.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.. **Farmacologia**. 3 ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 692p., 1997.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTHER J.M.. **Farmacologia**. 4a. ed. Guanabara koogan 605-609, 2001.

RUNYORO, DK. et al. Screening of Tanzanian medicinal plants for anti-Candida activity. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. 6:11, 2006.

SANTOS, D.A.; HAMDAN, J.S.. In vitro activities of four antifungal drugs against *Trichophyton rubrum* isolates exhibiting resistance to fluconazole. **Mycoses**. 50, 286–289, 2007.

SANTOS, D.A. et al. Establishing a method of inoculum preparation for susceptibility testing of *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes*. **J. clin. Microbiol.**, 44: 98-101, 2006.

SANTOS, J.I. et al. Some aspects of dermatophytes seen at University Hospital in Florianópolis, Santa Catarina, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v. 39, p. 137-140, 1997.

SANTOS, F.S.D.. Tradições populares de uso de plantas medicinais na Amazônia. História,Ciências, Saúde – **Manguinhos**, Vol.VI (suplemento),919-939,setembro, 2000.

SANTOS, J.L.; COELHO, M.P.P.; NAPPI, B. Diagnostico laboratorial das dermatofitoses. **RBAC**,vol.34(1):3-6, 2002.

SARTORI, K.M.R.. **Atividade antimicrobiana de extratos e compostos puros obtidos das flores da *Acmela brasiliensis* Spreng (*Wedelia paludosa*) (ASTERACEAE)**. Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas, UNIVALI, Itajaí- Santa Catarina, 2005.

SARTORI, M.R. et al. Antifungal activity of fractions and two pure compounds of flowers from *Wedelia paludosa* (*Acmela brasiliensis*) (Asteraceae). **Pharmazie**. 58(8):567-9, 2003.

SCHENKEL, E.P. et al. Influência do método de extração nos teores de metilxantinas em erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. ST.-HIL., AQUIFOLIACEAE). **Quími. Nova**, Vol.30, N^o2,

304-307, 2007.

SCHLEMPER, S.R.M. et al. **Atividade antibacteriana de frações semipurificadas e compostos puros de *Wedelia paludosa* (Compositae)**. Alcance (Itajaí), v.5, n.2, p.14-18, 1998.

SEEBACHER, C. The change of dermatoflyte spectrum in dermatomycoses. **Mycoses**. 46 Suppl 1: 42-6, 2003.

SELITRENNIKOFF, C.P.. Antifungal protein. **Applied enviromental Microbiology**, v. 67, n. 7, p. 2883-2894, 2001.

SENS, L.S.. **Alternativas para a auto-sustentabilidade dos Xokleng na terra indígena Ibirama**. Dissertação de mestrado, UFSC, Florianópolis-Santa Catarina, 2002.

SHAECHTER, M. et al. **Microbiologia: mecanismos das doenças infecciosas**, 3 ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 642p., 2003.

SHAHI, S.K. et al. Broad spectrum herbal therapy against superficial fungal infections. **Skin Pharmacol Appl. Skin Physiol**. 13 (1) : 60-4, jan-feb, 2000.

SILVA M.V. et al. Growth inhibition effect of Brazilian cerrado plant extracts on *Candida* species. **Pharm Biol** 39: 138- 141, 2001.

SILVA, H.H.G.S. et al. Atividade larvicida de taninos isolados de *Magonia pubescens* St. Hil. (Sapindaceae) sobre *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 37(5) : 396-399, set-out, 2004.

SILVA, M.R.R. et al. Antifungal activity of *Ocimum gratissimum* towards dermatoflytes. **Blackwell Publishing Ltd, Mycoses**, 48, 172-175, 2005.

SILVA, M.R. et al. Antifungal activity of *Ocimum gratissimum* towards dermatophytes. **Mycoses**. 48, 172–175, 2005.

SILVA, D.M.H .; BASTOS, C.N.. Atividade antifúngica de óleo essenciais de espécies de *Piper* sobre *Cribipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**. 32:143-145.2007.

SILVEIRA, H.C.S. et al. A Capacidade de infecção do dermatofito *Trichophyton rubrum* é correlacionada com a sinalização do pH extracelular. **Resumo do 52º congresso Brasileiro de Genética**. 3 a 6 de setembro de 2006.

SILVERIA, J.A.S.. et al. Crude extracto of “Cravinho” [*Porophyllum Ruderale* (JACQ.) CASS.] Show activity against *Leishmania (Viannia) Braziliensis* and *Leishmania (Leishmania) Amazonensis*. **Mem. Inst.Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro**, Vol.93, Supl.II, Nov., 1998.

SHIN, S.; LIM, S.. Antifungal effects of herbal essential oils alone and in combination with ketoconazole against *Trychophyton* spp. **Journal of Applied Microbiology**, 97, 1289-1296, 2004.

SOARES, M.M.S.R; CURY, A.E. In vitro activity of antifungal and antiseptic agents against dermatoflyte isolates from patients with *Tinea Pedis*. **Brazilian Journal of Microbiology**, 32:130-134, 2001.

SONG, Y.F. et al. Comparative study of extraction methods for determination of PHAs from contaminated soils and sediments. **Chemosphere**, 48, 993-1001, 2002.

SOUSA, R.C.L. **Etnobotânica**: O uso e manejo de *Plectranthus Barbatus* no combate de problemas hepáticos. In: **Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil**, 23 a 28 de Setembro, Caxambu-MG, 2007.

SOUZA, L.K.H. et al. Antimicrobial activity of *Hyptis ovalifolia* towards Dermatophytes. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 98 (7): 963-965, 2003.

SOUZA,C.D.; FELFILI, J.M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO,Brasil. **Acta bot.bras**,20(1):135-142, 2006.

SOUZA, L.K.H. et al. Antifungal properties of Brazilian Cerrado plants. **Brazil J Microbiol** 33: 247-249, 2002.

TRABULSI, L. R., et al. **Microbiologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2002.

TRABULSI, L.R. et al. **Microbiologia**. 3 ed., São Paulo: Atheneu, 1999.

TRAKRANRUNGISIE, N.; CHATCHAWANCHONTEERA, A.; KHUNKITTI, W.. Ethnoveterinary study for antidermatopytic activity of *Piper betle*, *Alpinia galanga* and *Allium ascalonicum* extracts in vitro. **Res Vet Sci**. 84(1):80-4, may., 2008.

TUROLLA, M.S.R.; NASCIMENTO, E.S.. Informação toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. Vol.42,no2,abr/jun,2006.

URBINA, J.M. et al. Inibitors of the fungal cell wall. Synthesis of 4-aryl-4-N-arylamino-1-butenes and related compounds with inhibitory activities of (1-3) B glucan and chitin synthases. **Bioorg. Med. Chem.** 8: 591-598, 2000.

VENDRUSCOLO, G.S.; MENTZ, L.A. Estudo da concordância das citações de uso e importância das espécies e famílias utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, RS, Brasil. **Acta bot.bras.**20(2):367-382, 2006.

VERONESI, R.; FOCACCIA, R.. **Tratado de Infectologia**. 2 ed. Vol. 2. São Paulo: Atheneu, 2002.

VERPOORTE, R., et al. Metabolic engineering for the improvement of plant secondary metabolite production. **Plant Tissue Culture and biotechnology**,v.4,p.3-20, 1998.

VIANA, L.A.S.. **Efeito de diferentes extratos na inibição de fungos fitopatogênicos**. UNIVALE. (MONOGRAFIA – GRADUAÇÃO) UNIVALE, 15p., 2003.

VIANA, LAS. **Efeito de diferentes extratos na inibição de fungos fitopatogênicos**. (MONOGRAFIA – GRADUAÇÃO) UNIVALE,15p., 2003.

WEITZMAN N.I.; SUMMERBELL, R.C. The Dermatophytes. **Clin Microbiol Rev.** 8(2):240-59, 1995.

WESTPHAL, F.L. et al. Avaliação das alterações pleuropulmonares após a injeção de óleo de resina de Copaíba, extrato aquoso de Crajiru e polivinilpirrolidona iodado (PVPI) na pleura e parênquima pulmonar de ratos. **Rev. Col. Bras.**, 34(3):170-176, 2007.

WINGETER, M.A. et al. Identificação microbiológica e sensibilidade in vitro de Candida isoladas da cavidade oral de indivíduos HIV positivos. **Revista da sociedade brasileira de medicina tropical.** 40(3):272-276, mai-jun 2007.

WOODFOLK, J.A.. Allergy and dermatophytes. **Clinical Microbiology Reviews**, 19(1), 30-43, 2005.

YAMADA, Y.; AZUMA, K.. Evaluation of the in vitro antifungal activity of allicin.

Antimicrob. **Agents Chemother**, 11(4) : 743-9, apr, 1977.

YU, H.H. et al. Anticariogenic properties of the extract of *Cyperus rotundus*. **Am. J. Chin. Med.**, 35(2) : 497-505, 2007.

ZACCHINO, S.. Estratégias para a descoberta de novos agentes antifúngicos. In: YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B.. **Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal**. Chapecó: Argos, 500 p., 2001.

ZACCHINO, S.A. et al. The need for new antifungal drugs: screening for antifungal compounds with a selective mode of action with emphasis on the inhibitors of the fungal cell wall. In: RAI, M.; MARES, D. (Editors) *Plant-derived antimycotics: current trends and future prospects*. **The Haworth Press**, p. 1-41, 2003.

ZANCANARO, V.. **Automedicação com fitoterápicos, seus efeitos adversos e colaterais**. Disponível em: < <http://www.cdr.unc.br> > . Acesso em: 07 ago.2008.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)