

RESÍDUOS MADEIREIROS DE *Peltogyne catinae* Ducke: POTENCIAL ANTIFÚNGICO DOS PELTOGYNOIDES FRENTE À *Sporothrix* spp

Davi S. Oliveira¹; Priscila B. A. de Souza¹; Jennifer A. O. Lima¹; Maria da Paz Lima²; Claudete C. do Nascimento²; Denise de O. Scoaris³; Luana P. da Silva³

¹Instituto de Ciências Exatas (ICE), Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM;

²Coordenação de Tecnologia e Inovação (COTEI), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, AM;

³Serviço de Fitoquímica e Prospecção Farmacêutica, Diretoria de Pesquisa e Desenvolvimento, Fundação Ezequiel Dias, Belo Horizonte, MG.

Palavras-Chave: Fabaceae, *Sporothrix*, antimicrobiano.

Introdução

A Amazônia é detentora de uma das maiores biodiversidades do mundo, que abriga um terço das florestas tropicais. Tais características geográficas da Amazônia contribuíram para uma ampla diversidade biológica de espécies, destacando-se na identificação de novas biomoléculas, tornando-se um imenso campo de pesquisas de novas moléculas bioativas (VARGAS-ARANA et al., 2023). Tais moléculas apresentam potenciais terapêuticos e farmacológicos para o desenvolvimento e formulação de novos produtos com o intuito de tratar diversas patologias de interesse médico e veterinário (MENEGUETTI et al., 2015).

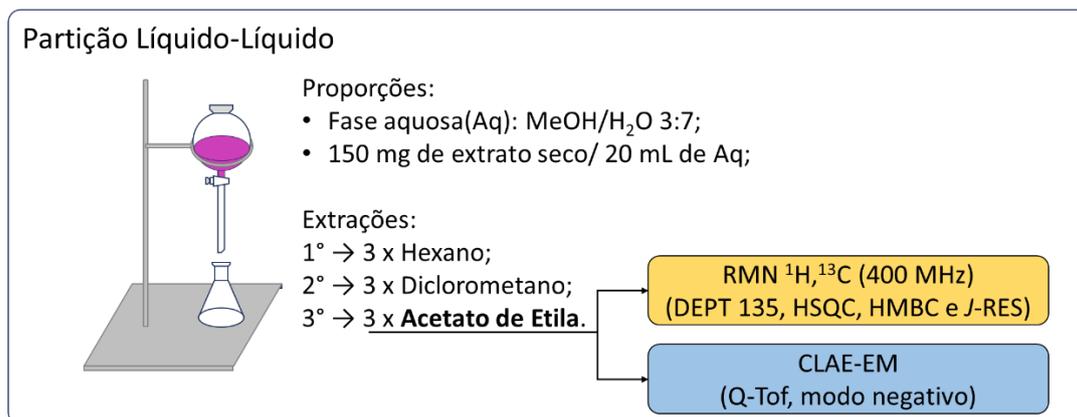
A madeira possui uma composição química de metabólitos primários e secundários. Os metabólitos secundários, também conhecidos como extrativos, são substâncias naturais produzidas pelas plantas com a finalidade de proteção a estresses abióticos e bióticos. Muitas destas substâncias são características de processos evolutivos e adaptativos, garantindo a sobrevivência e perpetuação da vida vegetal (PAYÁ et al., 2021). Os secundários são de grande interesse quanto às atividades biológicas, mas principalmente pelas propriedades medicinais que esses metabólitos podem revelar (SIMÕES et al., 2007).

As infecções fúngicas são a quinta maior causa de mortalidade no mundo e são ocasionadas por invasão e crescimento exponencial de fungos patogênicos em diversos tecidos das plantas, animais e do corpo humano. A *Sporothrix* spp, atualmente, representa uma grande mudança no padrão epidemiológico da esporotricose entre animais e humanos, com cepas resistentes e longos tratamentos com azóis e apresentam altos índices de transmissão entre animais e humanos (BROWN et al., 2024; WALLER et al., 2021). Logo, a busca de moléculas bioativas em madeiras resistentes ao ataque de fungos e organismos xilófagos pode se configurar como uma excelente alternativa na obtenção de agentes antifúngicos.

Portanto, com o intuito de agregar valor aos resíduos madeireiros de espécies amazônicas. Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial antimicrobiano dos isômeros peltogynoides [(+)-peltogynol, (+)-mopanol, (+)-peltogynol B, (+)-mopanol B] extraídos dos resíduos madeireiros de *Peltogyne catinae* contra os fungos *Sporothrix schenckii* e *S. brasiliensis* causadores da Esporotricose em animais e humanos, com a perspectiva de contribuir com o potencial biológico dessas substâncias e corroborar com o desenvolvimento de terapias alternativas com produtos naturais.

Material e Métodos

Os resíduos madeireiros de *Peltogyne catिंगae* (popularmente conhecida com “pau-roxo” ou “roxinho”) foram obtidos por meio do Laboratório de Tecnologia da Madeira do INPA (registro 009/2008, SisGen A937AC8) e foram identificados na Xiloteca do INPA. Os resíduos (cerne e alborno) foram processados e extraídos por maceração com metanol à temperatura ambiente por 7 dias e, posteriormente, concentrados em evaporador rotativo. O extrato seco foi submetido a uma partição líquido-líquido conforme o Esquema 1, a seguir.



Esquema 1. Procedimentos de extração por partição líquido-líquido

Após a identificação espectroscópica e espectrométrica dos isômeros (+)-peltogynol e (+) mopanol e seus respectivos epímeros (+)-peltogynol B e (+)-mopanol B presentes na fase obtida em acetato de etila (PCM-A), a mistura de substâncias foi submetida ao ensaio antimicrobiano.

Por meio da parceria com a Fundação Ezequiel Dias (Funed) em Belo Horizonte, MG. Os peltogynoides identificados foram submetidos a ensaios de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) com dois fungos de *Sporothrix schenckii* ATCC 32286 e *S. brasiliensis* (isolado clínico). A preparação das leveduras seguiu as recomendações do protocolo M27-A3 da Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2002).

Resumidamente, para o CIM, a amostra PCM-A foi solubilizada em DMSO a 50 mg/mL e diluída em RPMI-1640 (*Gibco*) tamponada com ácido 3-(N-morfolino)propanossulfônico (MOPS, *Qhemis*), nas concentrações testadas variando de 250 a 3,90 µg/ml e aplicadas em uma placa de 96 poços. A droga controle itraconazol (Sigma) a 2,0 µg/ml e 1,0% DMSO (Êxodo Científica) foram usados como controles positivo e negativo, respectivamente. A avaliação do crescimento microbiano foi realizada adicionando o inóculo a poços contendo apenas RPMI-1640 tamponado com MOPS. Para a CFM, após a determinação do CIM, as placas foram incubadas a 25°C por mais 5 dias. A CFM foi definida como a menor concentração que não apresentou crescimento ou menos de três colônias, correspondendo a 99 a 99,5% de atividade de eliminação, e então o extrato foi considerado fungicida (ESPINEL-INGROFF et al., 2002). A esterilidade do meio de cultura foi confirmada pela incubação na placa de ensaio. As microplacas foram incubadas a 37°C por 5 dias. Os ensaios foram realizados em triplicata. A CIM foi definida como a menor concentração da amostra capaz de inibir completamente o crescimento fúngico (100% ou um poço opticamente claro), expressa em µg/ml.

Resultados e Discussão

As estruturas dos peltogynoides [(+)-peltogynol (35,6%), (+)-mopanol (28,3%), (+)-peltogynol B (19,4%) e (+)-mopanol B (16,7%)] encontram-se ilustrados na Figura 1, a seguir. Tais flavonoides apresentaram proporções variadas, com maior predominância para o (+)-peltogynol e possuem distribuição restrita no reino vegetal. Os dados espectroscópicos e espectrométricos da elucidação dos peltogynoides foram apresentados no *9th Brazillian Conference on Natural Product*, conforme OLIVEIRA e colaboradores (2023).

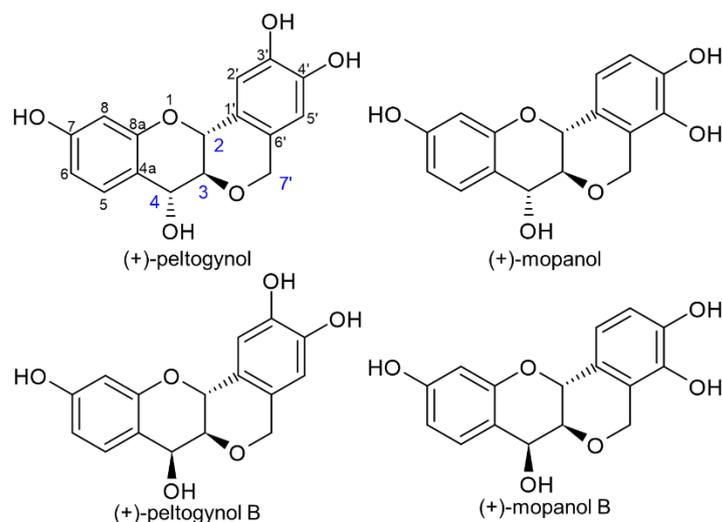


Figura 1. Peltogynoides identificados nos resíduos madeireiros de *P. catinae*.

Os valores de CIM e o efeito antifúngico testado pela CFM definidos para a amostra PCM-A encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados de CIM e efeito antifúngico de PCM-A frente às cepas testadas.

Cepas de fungos	CIM ($\mu\text{g/mL}$)		Efeito antifúngico
	PCM-A	Itraconazol	
<i>Sporothrix schenckii</i> ATCC 32286	31,25 $\mu\text{g/mL}$	2 $\mu\text{g/mL}$	Efeito fungicida
<i>Sporothrix brasiliensis</i> (isolado clínico)	62,5 $\mu\text{g/mL}$	2 $\mu\text{g/mL}$	Efeito fungistático

A amostra PCM-A apresentou resultados bastante promissores: frente à *S. schenckii*, a CIM foi de 31,25 $\mu\text{g/mL}$. Já frente à *S. brasiliensis*, a CIM foi de 62,5 $\mu\text{g/mL}$. Foi observado efeito fungicida para a CIM 31,25 $\mu\text{g/mL}$ contra *S. schenckii*, logo o poço ao qual correspondeu à CIM foi subcultivado por 5 dias em placas de ágar e não apresentou crescimento fúngico, desta forma atestando o efeito fungicida (ESPINEL-INGROFF *et al.*, 2002). Efeito fungistático foi observado para *S. brasiliensis* na CIM 62,5 $\mu\text{g/mL}$, na qual após 5 dias de subcultivo observou-se crescimento fúngico. Os resultados são inéditos para a mistura de peltogynoides, que passam a compor um cenário promissor para estudos futuros de avaliação do sinergismo com fármacos disponíveis em ensaios *in vitro* e *in vivo* e formulações que possam contribuir

para o tratamento da esporotricose causada pelos fungos *S. schenckii* e *S. brasiliensis* (NOBRE *et al.*, 2002).

Conclusões

Os peltogynoides obtidos a partir dos resíduos madeireiros de *P. cattingae* apresentaram atividade antimicrobiana contra *S. schenckii* e *S. brasiliensis*, ambos causadores da Esporotricose em animais e humanos. Embora avaliadas em mistura, as substâncias apresentaram um excelente potencial antimicrobiano, com efeito fungistático e fungicida. Logo, o trabalho abriu perspectivas para a continuidade dos estudos visando separar as substâncias e avaliar seus potenciais, bem como o mecanismo de ação, visto que esses fungos testados são importantes agentes epidemiológicos da esporotricose nas regiões metropolitanas e apresentam resistência a fármacos antimicrobianos como o Itraconazol.

Agradecimentos

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) pela bolsa de estudos concedida (nº de protocolo 01.02.016301.03412/2021-78). Ao INPA pela estrutura, equipamentos e recursos laboratoriais. A Funed pela parceria concedida e ensaios biológicos prestados.

Referências

- BROWN, G. D.; BALLOU, E. R.; BATES, S.; BIGNELL, E. M.; BORMAN, A. M.; BRAND, A. C.; WILSON, D. The pathobiology of human fungal infections. *Nature Reviews Microbiology*, 1-18, 2024.
- ESPINEL-INGROFF, A.; FOTHERGILL, A.; PETER, J.; RINALDI, M. G.; WALSH, T. J. Testing Conditions for Determination of Minimum Fungicidal Concentrations of New and Established Antifungal Agents for *Aspergillus* spp. *Journal of clinical microbiology*, 40 (9), 3204-3208, 2002.
- MENEGUETTI, O. D. U.; LIMA, R. A.; MACEDO, S. R. A.; BARROS, N. B.; FACUNDO, J. B.; MILITÃO, J. S. L. T. Plantas da Amazônia brasileira com potencial leishmanicida in vitro. *Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology*, 44(4), 359-374, 2015.
- NOBRE, M. D. O.; NASCENTE, P. D. S.; MEIRELES, M. C.; FERREIRO, L. Drogas antifúngicas para pequenos e grandes animais. *Ciência Rural*, 32, 175-184, 2002.
- OLIVEIRA, S. D., et al. Woody residues from *Peltogyne cattingae* Ducke: a source of (+) peltogynol and (+) mopanol isomers and their epimers. In: PROCEEDINGS OF THE 9TH BRAZILIAN CONFERENCE ON NATURAL PRODUCT/ XXXV RESEM, 2023, Salvador. Anais eletrônicos... Campinas, Galoá, 2023. Disponível em: <<https://proceedings.science/bcnp-series/bcnp-2023/trabalhos/woody-residues-from-peltogyne-catingae-ducke-a-source-of-plus-peltogynol-and-plu?lang=en>>. Acesso em: 12 Set. 2024.
- PAYÁ, C.; VAZQUEZ, F.; GALARZA, P.; PEREZ, J.; BELLÉS A. J. M.; LISON, P. P.; LÓPEZ-GRESA, P.; VERA, S. F.; RODRIGO, I. Papel primario del metabolismo secundario em la respuesta defensiva de las plantas. *Fitopatología – Sociedad Española de Fitopatología (SEF)*, 6(27), 27-33, 2021.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Florianópolis, Editora da UFSC, 2007, 1102p.



63º Congresso Brasileiro de Química
05 a 08 de novembro de 2024
Salvador - BA

VARGAS-ARANA, G.; RENGIFO-SALGADO, E.; SIMIRGIOTIS, M. J. Antidiabetic potential of medicinal plants from the Peruvian Amazon: A review. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 3(2), 277-300, 2023.

WALLER, S. B.; DALLA LANA, D. F.; QUATRIN, P. M.; FERREIRA, M. R. A.; FUENTEFRÍA, A. M.; MEZZARI, A. Antifungal resistance on *Sporothrix* species: an overview. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52, 73-80, 2021.