



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA**

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76  
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

## **XXVI SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2022**

### **INVESTIGAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Drechslera* sp**

**Humberto Fernandes Nascimento Junior<sup>1</sup>; Angélica Maria Lucchese<sup>2</sup>**

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduando em Farmácia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [humbertojje@gmail.com](mailto:humbertojje@gmail.com)
2. Orientador, Departamento de Exatas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [angelica.lucchese@gmail.com](mailto:angelica.lucchese@gmail.com)

**PALAVRAS-CHAVE:** metabolitos; endofíticos; dermatófitos.

### **INTRODUÇÃO**

Dermatofitoses são doenças provocadas por fungos filamentosos, sendo consideradas um importante problema de saúde pública, afetando cerca de 25% da população mundial (AL-KHIKANI & AYIT, 2021). Os dermatófitos são encontrados em tecidos queratinosos, a exemplo de unhas, cabelos, pele, cascos e pernas, pertencendo a três gêneros principais: *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton* (KHURANA *et al.*, 2019). *Trichophyton tonsurans* é um dos agentes etiológicos que ocasiona a tinea capitis, uma dermatofitose de ocorrência no couro cabeludo, sobrancelhas e cílios, principalmente em crianças (LANA *et al.*, 2016).

O tratamento das dermatofitoses pode ser feito com antifúngicos por via tópica, e e/ou sistêmica, sendo os azóis e as alilaminas os fármacos mais utilizados (KHURANA *et al.*, 2019). No entanto, com o surgimento da resistência a antimicrobianos existentes (LANA *et al.*, 2016) é notória a necessidade de se encontrar novos compostos com propriedades biológicas frente a micro-organismos resistentes.

Os produtos naturais possuem papel fundamental na busca de novos antimicrobianos e entre as diversas fontes naturais estão os fungos endofíticos, que podem ser encontrados em espaços intra-celulares de plantas medicinais, como: caule, folha, flor e/ou raízes (SPECIAN *et al.*, 2014). Cerca de 80% destes fungos estudados produzem moléculas com propriedades de interesse farmacêutico (SPECIAN *et al.*, 2014), estando entre elas os pigmentos fúngicos, tais como carotenoides (RAPOPORT *et al.*, 2021).

O fungo endofítico *Drechslera* sp foi isolado do caule de *Lippia origanoides* em nosso grupo de pesquisa e o objetivo deste trabalho foi investigar a composição química e a atividade anti-dermatofítica de seus extratos oriundos do cultivo em meio sólido de arroz.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Obtenção do Extrato Bruto**

*Drechslera* sp. foi cultivado em meio de batata dextrose ágar, por 7 dias a 28°C, por duas vezes consecutivas. O pré-cultivo foi realizado com a inoculação de um disco micelial de aproximadamente 6 mm, em 10 mL no caldo de batata dextrose, mantido por 4 dias, a 28°C, sob agitação (350 rpm). Após o pré-cultivo, foi feita a transferência do caldo, para o meio de arroz contido em frascos reagentes de 500 mL, previamente esterilizados em autoclave. Esse cultivo permaneceu durante 30 dias ao abrigo de luz, a 28°C. Na sequência, cada frasco reagente (70 frascos) foi extraído com 300 mL de acetato de etila, que permaneceu em contato com o micélio por 48 h, seguido por filtração. Esse procedimento foi repetido 3 vezes. Após a extração, o filtrado foi seco com sulfato de sódio anidro e o solvente removido, obtendo-se assim o extrato bruto.

### **Atividade Antimicrobiana**

A concentração inibitória mínima foi determinada através do método de microdiluição em caldo (CLSI, 2008) frente ao dermatófito *T. tonsurans*, nas concentrações entre 3 mg/mL (poço inicial) e 0,04 mg/mL (poço final). A determinação da concentração fungicida mínima (CFM) foi realizada com a retirada de 100 µL dos poços sem crescimento para placas de Petri contendo meio Sabouraud Dextrose Ágar. Cetoconazol foi utilizado como controle positivo e o solvente (DMSO a 20%) foi também avaliado.

### **Fracionamento do Extrato e Análise do Perfil Químico**

O extrato bruto foi fracionado por meio de cromatografia por adsorção (CLS) e cromatografia por exclusão (SEC). Para a CLS foram utilizadas colunas cromatográficas (tamanhos variados) no qual foi depositado sílica gel 60 (Acrós Organics, 0,060-0,200 mm) em diferentes proporções (1:10 e 1:60) e eluições com solvente em ordem crescente de polaridade, hexano, acetona e metanol. A SEC foi realizada em coluna aberta (50 cm de comprimento) de Sephadex LH-20, com eluição apenas de metanol. O extrato bruto obtido, frações e subfrações foram submetidos a análise do perfil químico, através de Cromatografia em Camada Delgada (CCD), observação em raios UV e Germicida, bem como pulverização com reveladores químicos.

### **Espectrofotometria no UV-VIS**

Para a obtenção dos espectros de absorção foi utilizado o espectrofotômetro Shimadzu UV-1800, na faixa entre 200 nm a 700 nm. A amostra (5 mg) foi solubilizada em diclorometano.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O meio de cultivo de arroz se mostrou importante para a obtenção de compostos inerentes ao metabolismo do fungo *Drechslera* sp., promovendo seu crescimento e favorecendo a produção de metabolitos secundários, com a produção de 6,4 g de extrato/kg de arroz. Este fungo produziu pigmentos que conferiram coloração rosa ao extrato. A presença de pigmentos oriundos do metabolismo fúngico é conhecida, com distintas cores tais como laranja, amarelo, vermelho, vermelho-púrpura, roxo, marrom, entre outras (KALRA, CONLAN, GOEL, 2020). Pigmentos fúngicos podem apresentar potencial biotecnológico, com relatos de ação antimicrobiana, antioxidante, anticâncer e citotóxica, além de um potencial aplicação como corantes (LAGASHETTI et al., 2019).

Os resultados obtidos na tabela 1 demonstram a capacidade inibitória e fungicida frente ao patógeno *T. tonsurans*, apontando atividade anti-dermatofítica para o extrato do *Drechslera* sp.

**Tabela 1:** Comparação dos valores médios de CIM ( $\mu\text{g/mL}$ ) e de CFM ( $\mu\text{g/mL}$ )

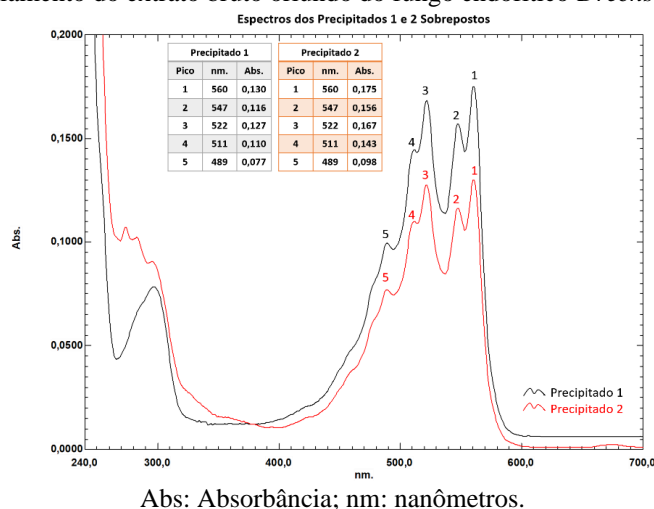
Amostras e Controles	<i>T. tonsurans</i> (URM4288)	
	CIM	CFM
Extrato Bruto	608	3000
Cetoconazol	12,8	SA
DMSO	SA	SA

SA: sem atividade na maior concentração testada;

A partir do fracionamento em coluna do extrato bruto foram obtidas 396 frações que foram reunidas, após a análise por CCD, em quatro grupos (A a D). As frações B e C apresentaram precipitados pretos, os quais foram isolados separadamente, por solubilização parcial em metanol e retirada do sobrenadante, sendo denominados de Precipitado 1 e 2, respectivamente. A partir do sobrenadante da fração C também foi possível separar mais uma substância, denominada de Precipitado 3. Por fracionamento cromatográfico de C, obteve-se 287 frações, reunidas em 13 sub-frações, das quais a segunda deu origem ao Precipitado 4.

Os precipitados 1 e 2 apresentaram coloração avermelhada, a qual também é observado no extrato bruto, assim foram avaliados no espectrofotômetro UV-VIS para se verificar seu espectro de absorção (Figura 1). Ambos possuem absorvância máxima nos mesmos comprimentos de onda entre 560 nm e 489 nm, o que sugere se tratar da mesma substância, com similaridade a espectros de absorção de carotenoides (FLIEGER et al., 2018).

**Figura 1:** Espectros de absorção (240 a 700 nm) dos precipitados 1 e 2 sobrepostos, obtidos do isolamento do extrato bruto oriundo do fungo endofítico *Drechslera*



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato apresentou atividade frente ao dermatófito *Trychophyton tonsurans* demonstrando seu potencial para o isolamento de substâncias com ação em dermatofitoses. Deste extrato foram isoladas quatro substâncias, duas das quais com espectros de absorção no ultravioleta que se assemelham aos de carotenoides. Essas substâncias foram encaminhadas para as análises espectrométricas que permitam a sua identificação e caracterização estrutural. Estudos futuros da avaliação antimicrobiana das substâncias isoladas devem ser conduzidos no sentido de se identificar novos metabólitos antimicrobianos.

## REFERÊNCIAS

- AL-KHIKANI, F.H., AYIT, A.S. 2021. Major challenges in dermatophytosis treatment: current options and future visions. *Egyptian Journal of Dermatology and Venerology*, 41(1), 1.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard-third edition. 2008. M27-A3. CLSI, Wayne, PA, USA.
- FLIEGER, K; KNABE, N.; TOEPEL, J. 2018. Development of an Improved Carotenoid Extraction Method to Characterize the Carotenoid Composition under Oxidative Stress and Cold Temperature in the Rock Inhabiting Fungus *Knufia petricola* A95. *Journal of Fungi*, 4 (124).
- KHURANA, A., SARDANA, K., CHOWDHARY, A. 2019. Antifungal resistance in dermatophytes: Recent trends and therapeutic implications. *Fungal Genetics and Biology*, 132, 103255.
- LAGASHETTI, A. C.; DUFOSSÉ, L; SINGH, S. K.; SINGH, P.N. 2019. Fungal Pigments and Their Prospects in Different Industries. *Microorganisms*, 7 (604).
- LANA, D. F.D., BATISTA, B. G., ALVES, S. H., FUENTEFRÍA, A. M. 2016. Dermatofitoses: agentes etiológicos, formas clínicas, terapêutica e novas perspectivas de tratamento. *Clinical and Biomedical Research*. 36(4), 230-241.
- SPECIAN, V.; ORLANDELLI, R. C.; FELBER, A. C.; AZEVEDO, J. L.; PAMPHILE, J. A. 2014. Metabólitos Secundários de Interesse Farmacêutico Produzidos por Fungos Endofíticos. *UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde* 16 (345): 345–351.