



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

MAÍSA FERNANDA DOS SANTOS BARBOSA

**POTENCIAL FARMACOLÓGICO DA FRAÇÃO DE ALCALOIDES DE
Erythroxylum revolutum: INVESTIGAÇÃO DA SEGURANÇA TOXICOLÓGICA E
DAS ATIVIDADES ANTI-CANDIDÍASE, ANTINOCICEPTIVA, ANTI-
INFLAMATÓRIA E GASTROPROTETORA**

Recife
2025

MAÍSA FERNANDA DOS SANTOS BARBOSA

**POTENCIAL FARMACOLÓGICO DA FRAÇÃO DE ALCALOIDES DE
Erythroxylum revolutum: INVESTIGAÇÃO DA SEGURANÇA TOXICOLÓGICA E
DAS ATIVIDADES ANTI-CANDIDÍASE, ANTINOCICEPTIVA, ANTI-
INFLAMATÓRIA E GASTROPROTETORA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de doutora em Bioquímica e Fisiologia. Área de concentração: Bioquímica e Fisiologia.

Orientadora: Maria Tereza dos Santos Correia

Coorientadora: Márcia Vanusa da Silva

Recife

2025

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Barbosa, Maisa Fernanda Dos Santos.

Potencial farmacológico da fração de alcaloides de *Erythroxylum revolutum*: investigação da segurança toxicológica e das atividades anti-candidíase, antinociceptiva, anti-inflamatória e gastroprotetora / Maisa Fernanda Dos Santos Barbosa. - Recife, 2025.

135f.: il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia, 2023.

Orientação: Maria Tereza dos Santos Correia.

Coorientação: Márcia Vanusa da Silva.

Inclui referências.

1. Caatinga; 2. Bioprospecção; 3. Produtos Naturais; 4. Alcaloides; 5. Fitoterapia. I. Correia, Maria Tereza dos Santos. II. Silva, Márcia Vanusa da. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central



Ata da Centésima Décima Sexta defesa de Tese de Doutorado, do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia do Centro Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, no dia 30 de agosto de 2023

Aos trinta dias do mês de agosto de dois mil e vinte e três, às catorze horas, por meio de videoconferência, em sessão pública, teve início a defesa da Tese intitulada **“Potencial Farmacológico da fração de alcalóides de Erythroxylum revolutum: Investigação da segurança toxicológica e das atividades anti-Candida, antinociceptiva, anti-inflamatória e gastroprotetora”**, da doutoranda **Maísa Fernanda dos Santos Barbosa**, na área de concentração Bioquímica e Fisiologia, sob a orientação da Profa. Dra. Maria Tereza dos Santos Correia. A Comissão Examinadora foi indicada pelo colegiado do programa de pós-graduação em 10/08/2023, sendo composta pelos Professores Doutores: Profa. Dra. Maria Tereza dos Santos Correia, do Departamento de Bioquímica da UFPE, Presidente, Profa. Dra. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho, do Departamento de Bioquímica da UFPE, Profa. Dra. Maria Betânia Melo de Oliveira, do Departamento de Bioquímica da UFPE, Kátia Alves Ribeiro, discente de pós-doutorado da UFPE, Prof. Dr. Rogério de Aquino Saraiva, do Instituto de Formação de Educadores da Universidade Federal do Cariri -URCA. Após cumpridas as formalidades, a candidata ao grau de Doutora foi convidada a discorrer sobre o conteúdo da tese. Concluída a explanação, a candidata foi arguida pela Comissão Examinadora que, em seguida, reuniu-se para deliberar e conceder, à mesma, a menção **APROVADA**. Para a obtenção do grau de Doutora em Bioquímica e Fisiologia, a concluinte deverá depositar a versão final da tese na Biblioteca Central. O depósito deverá ser feito, após realizadas as correções conforme recomendações feitas, nesta sessão, pela comissão examinadora, observando os prazos e procedimentos vigentes nas normas internas desta universidade. E, para constar, lavrei a presente Ata que vai por mim assinada, Sheila Araújo Pereira de Oliveira, Assistente da Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia, e pelos membros da Comissão Examinadora.

Recife, 30 de agosto de 2023.

COMISSÃO EXAMINADORA:

Profa. Dra. Maria Tereza dos Santos Correia

Profa. Dra. Luana Cassandra Breitenbach BCoelho

Profa. Dra. Maria Betânia Melo de Oliveira

Profa. Dra. Kátia Alves Ribeiro

Prof. Dr. Rogério de Aquino Saraiva

À minha mãe Salete e ao meu pai Fernando, dedico.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar quero agradecer às orientadoras deste trabalho, Maria Tereza dos Santos Correia e Márcia Vanusa da Silva, que tornaram possível a realização deste trabalho e me conduziram do início ao fim, com apoio e inspiração.

À todos os docentes do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia pelos conhecimentos compartilhados nas disciplinas, bem como a todos os professores que vieram antes deles e contribuíram para minha trajetória até aqui. Aos professores colaboradores que abriam as portas de seus respectivos laboratórios, se tornando peças fundamentais desta tese: Professor Thiago Napoleão, o pós-doc Alisson Macário e o doutor Wendeo, pelo auxílio nos ensaios de toxicidade oral aguda, atividade antinociceptiva e anti-inflamatória; Professor Cristiano Aparecido e a doutora Talita, pelo suporte nos testes genotóxicos e mutagênicos; Profa. Adriana Fontes, o pós-doc Wesley e a mestra Sueden, pelo suporte na atividade anti-biofilme e na citometria de fluxo; e a pós-doc Kátia pelo auxílio nos testes de gastro-proteção. Além daqueles que ajudaram diretamente, também quero agradecer a todos que de alguma forma me ajudaram, sejam nos ensaios laboratoriais, seja nas amizades que toda esta experiência me proporcionou e quero que durem para toda a vida. Em especial, João Victor, Wendeo, Bartira, Bruno, Íris, Paloma, Lucicláudio, Hylari, Érica, Alice, Larissa, Lucas, Valquíria, Paulo Henrique, Roger, Grazy e George. Deixei para o final para fechar com chave-de-ouro, a minha família e meus amigos. Não tenho como colocar aqui o nome de todos, pois tanto a família é grande quanto o círculo de amigos, graças ao bom Deus! Com toda certeza o nome de todos estará para sempre escrito no meu diploma de doutora com a tinta potente da gratidão!

“Cada pessoa deve trabalhar para o seu aperfeiçoamento e, ao mesmo tempo, participar da responsabilidade coletiva por toda a humanidade.

(CURIE, Marie, 1921, p. 105).”

RESUMO

Diversas moléculas bioativas provenientes dos ecossistemas da Caatinga foram catalogadas nos últimos anos, evidenciando um elevado potencial para bioprospecção. O presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial farmacológico de *Erythroxylum revolutum*, uma espécie endêmica da Caatinga, fornecendo informações relevantes para o desenvolvimento de novos fármacos. A pesquisa concentrou-se na avaliação das atividades anticandidíase, analgésica, anti-inflamatória e gastroprotetora da fração alcaloídica extraída da planta, além da investigação de sua segurança farmacológica. Como resultado, foram produzidos quatro artigos científicos. O primeiro corresponde a uma revisão sistemática sobre espécies vegetais da Caatinga com potencial antifúngico, destacando 44 espécies e os mecanismos envolvidos na atividade antifúngica. O segundo artigo trata de um estudo toxicológico, no qual foram analisadas a toxicidade oral aguda e a citotoxicidade da fração alcaloídica de *E. revolutum*. O terceiro artigo investigou o potencial terapêutico da fração alcaloídica, tanto isoladamente quanto em associação com Fluconazol, para o tratamento de infecções causadas por *Candida* spp. Os resultados indicaram que, embora a fração isolada não apresentasse relevância clínica significativa, a combinação com Fluconazol resultou em um efeito sinérgico, potencializando a ação antifúngica. No quarto artigo, foram avaliadas as atividades antinociceptiva, anti-inflamatória e gastroprotetora in vivo, demonstrando que a fração alcaloídica exerceu efeitos significativos em concentrações de 100 e 200 mg/mL. Diante das evidências obtidas, este produto natural apresenta potencial para o desenvolvimento de um novo fármaco com ação contra infecções por *Candida* spp., além de proporcionar alívio dos sintomas associados à patologia, como dor e inflamação. Adicionalmente, a atividade gastroprotetora sugere um perfil de segurança superior ao dos fármacos convencionais utilizados na prática clínica, que frequentemente apresentam efeitos adversos na mucosa gástrica. Assim, considerando a crescente preocupação com a resistência microbiana, os achados deste estudo são de grande relevância, pois contribuem com informações fundamentais para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas inovadoras.

Palavras-chaves: Caatinga, Bioprospecção, Produtos Naturais, Alcaloides, Fitoterapia.

ABSTRACT

Several bioactive molecules from the Caatinga ecosystem have been cataloged in recent years, highlighting a high potential for bioprospecting. This study aimed to evaluate the pharmacological potential of *Erythroxylum revolutum*, an endemic species of the Caatinga, providing relevant information for the development of new drugs. The research focused on assessing the anticandidal, analgesic, anti-inflammatory, and gastroprotective activities of the alkaloid fraction extracted from the plant, as well as investigating its pharmacological safety. As a result, four scientific articles were produced. The first is a systematic review on plant species from the Caatinga with antifungal potential, highlighting 44 species and the mechanisms involved in their antifungal activity. The second article presents a toxicological study analyzing the acute oral toxicity and cytotoxicity of the alkaloid fraction of *E. revolutum*. The third article investigated the therapeutic potential of the alkaloid fraction, both alone and in combination with Fluconazole, for the treatment of infections caused by *Candida* spp. The results indicated that, while the isolated fraction did not exhibit significant clinical relevance, its combination with Fluconazole resulted in a synergistic effect, enhancing antifungal activity. The fourth article evaluated the in vivo antinociceptive, anti-inflammatory, and gastroprotective activities, demonstrating that the alkaloid fraction exhibited significant effects at concentrations of 100 and 200 mg/mL. Based on the gathered evidence, this natural product shows potential for the development of a new drug with activity against *Candida* spp. infections, in addition to alleviating symptoms associated with the pathology, such as pain and inflammation. Furthermore, its gastroprotective activity suggests a superior safety profile compared to conventional drugs used in clinical practice, which often have adverse effects on the gastric mucosa. Therefore, considering the growing concern regarding microbial resistance, the findings of this study are highly relevant, as they provide essential information for the development of innovative therapeutic strategies.

Keywords: Caatinga, Bioprospecting, Natural Products, Alkaloids, Phytotherapy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1 –	Visão macroscópica de uma colônia de <i>Candida albicans</i> .	17
Figura 2 –	Imagem microscópica de uma colônia de <i>Candida albicans</i> obtida através de microscopia eletrônica de varredura.	17
Figura 3 –	Componentes das respostas inflamatórias, aguda e crônica, e suas principais funções.	19
Figura 4 –	Vias de biossíntese dos eicosanoides.	20
Figura 5 –	Sítios de ação dos anti-inflamatórios esteroidais e não-esteroidais.	21
Figura 6 –	Médico grego Dioscórides.	23
Figura 7 –	Fases de desenvolvimento de um novo fármaco.	24
Figura 8 –	Caatinga, a “mata branca” do Brasil.	27
Figura 9 –	Estado da arte sobre a biodiversidade e conservação da Caatinga.	
Figura 10 –	<i>Erythroxylum revolutum</i> em seu ambiente natural.	28
Figura 11 –	Exemplos de alcaloides isolados de <i>Erythroxylum</i> .	31
Figura 12 –	Exemplos de terpenos isolados de <i>Erythroxylum</i> .	31
Figura 13 –	Exemplos de flavonoides isolados de <i>Erythroxylum</i> .	32
Figura 14 –	Percentual dos metabólitos secundários produzidos pela Família Erythroxylaceae.	32
ARTIGO 1 – Bioprospecção de Plantas Medicinais da Caatinga: Atividade antifúngica e mecanismos envolvidos.		
Figura 1 –	Ilustração lúdica de uma gangorra com resistência micobacteriana, à esquerda, com muito peso, em contraste com a descoberta de novos antifúngicos, à direita, com substancialmente menos peso.	39

Figura 2 – Principais mecanismos de ação dos antifúngicos e seus respectivos alvos moleculares na célula fúngica. 41

ARTIGO 2 - Investigação da toxicidade oral aguda, genotoxicidade e mutagenicidade da fração alcalóides de *Erythroxyllum revolutum* Mart. (Erythroxyllaceae).

Figura 1 – Fotomicrografias representativas do fígado, rim, baço e pulmão de camundongos fêmeas nos grupos controle e tratados com dose única com a fração enriquecida de alcalóides de *E. revolutum* na dose de 2000 mg/kg. 78

Gráfico 1 – Resultados do ensaio de genotoxicidade. O gráfico superior mostra a frequência de danos (FD) no DNA dos camundongos tratados e o gráfico inferior mostra o índice de intensidade do dano. 82

Gráfico 2 – Resultado do ensaio de mutagenicidade. O gráfico mostra o número de eritrócitos policromáticos micronucleados. 83

ARTIGO 3 - Atividade antifúngica e modulação da resistência microbiana por *Erythroxyllum revolutum* Mart. (Erythroxyllaceae)

Gráfico 1 – Curvas de crescimento de espécies de *Candida* na presença de EEER (Extrato Etanólico de *Erythroxyllum revolutum* e FTA (Fração de Alcalóides Totais). 95

Gráfico 2 – Efeitos do FTA (Fração Total de Alcaloides) isoladamente e em combinação com fluconazol contra o crescimento de *Candida albicans* (A), *Candida tropicalis* (B) e *Candida krusei* (C). 97

Gráfico 3 – Efeitos do EEER (Extrato Etanólico de *Erythroxyllum revolutum*) sozinho e em combinação com fluconazol contra

	o crescimento de <i>Candida albicans</i> (A), <i>Candida tropicalis</i> (B) e <i>Candida krusei</i> (C).	98
Gráfico 4 –	Atividade inibitória da formação de biofilme da fração total de alcalóides (FTA) isoladamente e em sinergismo com o fluconazol contra a cepa formadora de biofilme <i>C. albicans</i> .	100
Gráfico 5 –	Resultados do ensaio de quebra de biofilme maduro da fração total de alcalóides (FTA) isoladamente e em sinergismo com fluconazol contra a cepa formadora de biofilme <i>C. albicans</i> .	101
Gráfico 6 –	Células após os diferentes tratamentos. Na contagem, as células se afastaram da porta delimitada para o controle (<i>C. albicans</i> sem tratamento – 98,5%).	103
Gráfico 7 –	Mudanças em <i>C. albicans</i> após os tratamentos.	104

ARTIGO 4 - Avaliação das atividades antinociética, anti-inflamatória e gastroprotetora da fração alcaloides de *Erythroxyllum revolutum* mart. (Erythroxyllaceae).

Gráfico 1 –	Resultado do teste de contorção abdominal.	117
Gráfico 2 –	Resultado do teste de imersão da cauda.	117
Gráfico 3 –	Resultado do teste de formalina.	118
Gráfico 4 –	Resultados do teste da formalina (primeira fase) utilizando bloqueadores específicos das vias de nocicepção.	119
Gráfico 5 –	Resultados do teste da formalina (segunda fase) usando bloqueadores específicos das vias de nocicepção.	119
Gráfico 6 –	Resultados do estudo de edema de pata induzido por carragenina.	121
Gráfico 7 –	Efeito gastroprotetor da FA em lesões gástricas agudas induzidas por etanol absoluto. Os camundongos foram tratados com veículo (p.o) ou ranitina (80mg/kg; p.o) ou FTA (100mg/kg; p.o).	121

- Gráfico 8 – Falta de envolvimento de compostos sulfidrilados na gastroproteção da FA em camundongos submetidos a lesões gástricas agudas induzidas por etanol. Os camundongos foram tratados com veículo (p.o) ou carbexolona 100mg/kg; p.o) ou AG (100mg/kg; p.o). Uma segunda série experimental com administração prévia de NEM (10mg/kg; p.o). 122
- Gráfico 9 – Ausência de envolvimento do óxido nítrico na gastroproteção da FA em camundongos submetidos a lesões gástricas agudas induzidas por etanol. Os camundongos foram tratados com veículo (p.o) ou carbexolona (100mg/kg; p.o) ou FTA (100mg/kg; p.o). Uma segunda série experimental com administração prévia de N ω - nitro - L-arginina metil éster L-NAME (10mg/kg; p.o). 122

LISTA DE TABELAS

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Tabela 1 – Alguns alcaloides que inspiraram o designer de fármacos.	33
ARTIGO 1 – Bioprospecção de Plantas Medicinais da Caatinga: Atividade antifúngica e mecanismos envolvidos.	
Tabela 1 – Estudos envolvendo a atividade antifúngica de espécies da flora da Caatinga.	43
ARTIGO 2 – Investigação da toxicidade oral aguda, genotoxicidade e mutagenicidade da fração alcalóides de <i>Erythroxylum revolutum</i> Mart. (Erythroxylaceae).	
Tabela 1 – Consumo de água e alimentos e ganho de peso em camundongos controle e tratados. Os valores representam a média \pm EPM (n = 5/grupo). Não foram encontradas diferenças significativas ($p > 0,05$) em comparação com o controle.	77
Tabela 2 – Peso dos órgãos em gramas em camundongos controle (tween e água) e tratados com a fração enriquecida de alcaloides (dose de 2.000 mg/kg).	77
Tabela 3 – Variáveis hematológicas do sangue de camundongos tratados com a fração enriquecida de alcaloides (2g.kg ⁻¹) e no grupo controle.	79
Tabela 4 – Níveis séricos de parâmetros bioquímicos em camundongos tratados com a fração enriquecida de alcaloides (2g.kg ⁻¹) e no grupo controle.	80

ARTIGO 3 – Atividade antifúngica e modulação da resistência microbiana por *Erythroxyllum revolutum* Mart. (Erythroxyllaceae)

Tabela 1 – Resultado da MFC (Minimum Fungicidal Concentration) de EEER (Extrato Etanólico de *Erythroxyllum revolutum*) e FTA (Fração Total de Alcalóides). 94

Tabela 2 – Resultado da MFC (Minimum Fungicidal Concentration) da modificação da resistência fúngica por EEER (Extrato Etanólico de *Erythroxyllum revolutum*) e FTA (Fração Total de Alcalóides) em combinação com fluconazol. 99

Tabela 3 – Resultados da análise do crescimento de colônias de *C. albicans* na presença de drogas de teste em meio de cultura contendo e sem sorbitol. 101

Tabela 4 – Resultados da citometria com o bioconjugado QDs-Cramoll, comparando com o controle de *C. albicans* sem tratamento e sem marcação. *MFI = Intensidade média de fluorescência 102

ARTIGO 4 – Avaliação das atividades antinociética, anti-inflamatória e gastroprotetora da fração alcaloides de *Erythroxyllum revolutum* mart. (Erythroxyllaceae).

Tabela 1 – Resultados do ensaio de peritonite nas concentrações plasmáticas de leucócitos e neutrófilos. 120

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT: Alanine aminotransferase

AST: Aspartate aminotransferase

As: Alveolar cavity

ADME: Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção

Br: Bronchioles

CDB: Convenção da Diversidade Bológica

EEER: Extrato Etanólico de *Erythroxylum revolutum*

FAT: Fração de Alcaloides Totais

FA: Fração de Alcaloides

GGT: gamma-glutamyl transferase

Gr: Renal glomeruli

IMSEAR: Instituto do Milênio do Semi-Árido

ILU: Índice de Lesão Ulcerativa

MCV: mean corpuscular volume

MCH: mean corpuscular hemoglobin

MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration

Nd: Lymph nodes

PA: Potencial Analgésico

PNs: Produtos Naturais

SNC: Sistema Nervoso Central

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1 Resistência Microbiana e os impactos de <i>C. albicans</i> .	15
2.2 A problemática dos medicamentos analgésicos e antiinflamatórios.	18
2.3 Produtos Naturais na descoberta de novos fármacos.	22
2.4 Bioprospecção de compostos bioativos da Caatinga.	26
2.5 Estado da arte sobre <i>Erythroxyllum revolutum</i> Mart. (Erythroxyllaceae).	29
3. OBJETIVOS	34
3.1 Gerais	34
3.2 Específicos	34
4. ARTIGO 1 - Bioprospecção de Plantas Medicinais da Caatinga: Atividade antifúngica e mecanismos envolvidos.	35
5. ARTIGO 2 - Investigação da toxicidade oral aguda, genotoxicidade e mutagenicidade da fração alcalóides de <i>Erythroxyllum revolutum</i> Mart. (Erythroxyllaceae).	70
6. ARTIGO 3 - Atividade antifúngica e modulação da resistência microbiana por <i>Erythroxyllum revolutum</i> Mart. (Erythroxyllaceae)	
7. ARTIGO 4 - Avaliação das atividades antinociética, anti-inflamatória e gastroprotetora da fração alcaloides de <i>Erythroxyllum revolutum</i> mart. (Erythroxyllaceae).	86
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	110
9.REFERÊNCIAS	126

1 INTRODUÇÃO

Estima-se que aproximadamente um bilhão de indivíduos apresentem infecções fúngicas superficiais, acometendo pele, unhas e cabelos, enquanto dezenas de milhares desenvolvem infecções muco-cutâneas. Além disso, mais de 150 milhões de pessoas são afetadas por infecções fúngicas graves, as quais podem comprometer significativamente a qualidade de vida e, em muitos casos, serem letais (BONGOMIN et al., 2017).

O objetivo central deste estudo foi evidenciar o potencial farmacológico de *Erythroxylum revolutum*, uma espécie endêmica da Caatinga, e contribuir com informações relevantes para o desenvolvimento de um novo agente antifúngico, visando mitigar parte do impacto causado por infecções fúngicas. A biodiversidade molecular presente nos ecossistemas da Caatinga representa um exemplo notável da complexidade dos processos seletivos promovidos pela evolução. As condições ambientais extremas do semiárido impuseram uma forte pressão seletiva sobre a flora local, resultando na biossíntese de uma ampla gama de metabólitos secundários com funções adaptativas. Contrariando hipóteses anteriores que sugeriam baixa diversidade biológica nesse bioma, evidências recentes indicam que a Caatinga abriga a maior biodiversidade entre as florestas sazonalmente secas do mundo. Diversos metabólitos bioativos têm sido identificados ao longo das últimas décadas (QUEIRÓZ et al., 2006; BARBOSA e GOMES-FILHO, 2022), ressaltando um potencial biotecnológico ainda subexplorado e subvalorizado.

Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo investigar a fração alcaloídica extraída das folhas de *Erythroxylum revolutum* e seu potencial antifúngico frente a espécies do gênero *Candida*. Os alcaloides foram selecionados como foco desta pesquisa devido à sua predominância entre os metabólitos secundários produzidos por espécies dessa família botânica. Além disso, diversas moléculas alcaloídicas têm sido empregadas como protótipos para o desenvolvimento de fármacos amplamente utilizados na clínica (BARREIRO e BOLZANI, 2009), o que justifica sua relevância científica e farmacológica.

Adicionalmente, investigamos as propriedades antinociceptiva e anti-inflamatória da fração alcaloídica, com o intuito de avaliar sua eficácia na modulação dos sintomas associados às infecções fúngicas, como dor e inflamação. Além disso, foi conduzida uma avaliação da toxicidade oral aguda in vivo, a fim de determinar a segurança toxicológica do extrato. Os resultados obtidos podem fornecer subsídios

para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas inovadoras, além de impulsionar o aproveitamento econômico de recursos naturais da Caatinga, com potencial aplicação em outras regiões que compartilham características fitoquímicas semelhantes.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Resistência Microbiana e os impactos de *Candida albicans*

Na perspectiva dos novos cenários científicos e tecnológicos, o desenvolvimento de uma nova fonte com potencial antibacteriano e antifúngico é uma esperança perante a obsolescência dos atuais fármacos usados para tratar esses microrganismos. As bactérias e as leveduras multiplicam-se rapidamente, sofrem mutação e são promíscuas, podendo trocar material genético entre linhagens de mesma espécie ou de espécies diferentes. Desta forma, são considerados seres de alta capacidade de adaptação a diversos fatores, como a exposição a agentes químicos potentes (LEVY, 2013; STRICKLAND et al., 2021).

As consequências diretas e indiretas do fenômeno da aquisição de resistência vão desde o aumento da taxa de mortalidade, aos altos custos com tratamentos e pesquisas de novos antimicrobianos, o que afeta todos os campos da saúde e diversos setores, com amplas implicações na economia global (WHO, 2015). Logo, torna-se uma preocupação constante do meio científico a busca de novos tratamentos.

A resistência microbiana é um dos maiores desafios para a saúde pública mundial, sendo responsável por aumentar a morbidade, a mortalidade e os custos associados ao tratamento de infecções. Dentre as infecções bacterianas de maior preocupação, destaca-se a tuberculose resistente a múltiplas drogas (TB-MDR), causada pelo *Mycobacterium tuberculosis*. Essa forma da doença não responde aos principais antibióticos utilizados no tratamento convencional, tornando-se um problema significativo em regiões de alta endemicidade (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022). Além disso, infecções hospitalares provocadas por *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes representam um risco crescente devido à sua capacidade de adquirir genes de resistência e sobreviver em ambientes hospitalares (CDC, 2022). Os vírus também apresentam preocupação em relação à

resistência a antivirais. Um exemplo relevante é o HIV, que pode desenvolver resistência aos antirretrovirais, comprometendo o controle da infecção e aumentando o risco de transmissão (WHO, 2021). Da mesma forma, o vírus da influenza pode sofrer mutações que o tornam menos suscetível aos inibidores da neuraminidase, dificultando o controle de epidemias sazonais e pandemias (PAHO, 2021). Quanto aos fungos, a resistência antifúngica é um problema emergente. Espécies como *Candida auris* são especialmente preocupantes devido à sua resistência a múltiplas classes de antifúngicos e à sua capacidade de causar surtos em ambientes hospitalares (CDC, 2021). Outro exemplo é o *Aspergillus fumigatus*, que pode desenvolver resistência aos triazóis, dificultando o tratamento de aspergiloses invasivas em pacientes imunossuprimidos (PERLIN et al., 2017; STRICKLAND et al., 2021). A *Candida albicans* é a mais incidente e o principal agente responsável por infecções na mucosa (BONGOMIN et al., 2017). Trata-se de um patógeno eficiente e com fatores de virulência que evoluíram para infectar as membranas mucosas, desenvolvendo a candidíase oral e vaginal nos hospedeiros que apresentam falhas na resposta imune adaptativa (STRICKLAND et al., 2021; BONGOMIN et al., 2017).

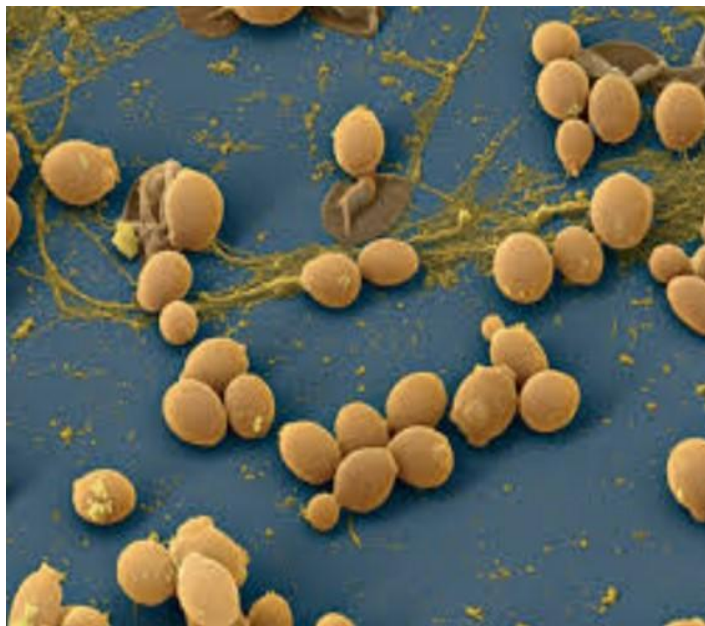
C. albicans (Figs. 1 e 2) faz parte da microbiota normal, estando presente em cerca de 30 a 50% dos indivíduos. No entanto, algumas características podem favorecer seu crescimento excessivo, como disfunções nas glândulas salivares por exemplo, já que na saliva existem proteínas e anticorpos que interagem com a mucosa oral, prevenindo o supercrescimento (SINGH et al. 2014). Neste caso, ocorrem mecanismos patogênicos que fazem a transição da *C. albicans* de comensal inofensivo para patógeno, onde o fungo, já aderido às superfícies hospedeiras, muda morfológicamente para a forma filamentosa invasiva, facilitando sua penetração. Além disso, a formação das hifas junto à adesão às células epiteliais orais, também promove o desenvolvimento de biofilme, que pode ter implicações na resistência do fungo ao tratamento (VILA et al., 2020). Esta proliferação pode causar diversas repercussões locais aos tecidos subjacentes, como a estomatite protética ou até repercussões sistêmicas (LEE et al. 2019). Logo, uma vez que o surgimento de novos ativos farmacológicos não acompanham a demanda adaptativa desses seres, pesquisas nesse ramo são cada vez mais urgentes e fundamentais.

Figura 1: Visão macroscópica de uma colônia de *Candida albicans*.



Fonte: intramed.net

Figura 2: Imagem microscópica de uma colônia de *Candida albicans*.



Fonte: arvoreser.med.br

2.2 A problemática dos medicamentos analgésicos e anti-inflamatórios

Os medicamentos analgésicos e anti-inflamatórios muitas vezes são utilizados como adjuvantes no tratamento de infecções. Adjuvantes são substâncias utilizadas como coadjuvantes no tratamento de infecções, auxiliando no alívio dos sintomas e na melhoria da qualidade de vida dos pacientes. Entre esses medicamentos, destacam-se os analgésicos e anti-inflamatórios, que desempenham um papel essencial na redução da dor e da inflamação associadas a infecções virais, bacterianas e fúngicas (BRUNTON et al., 2018).

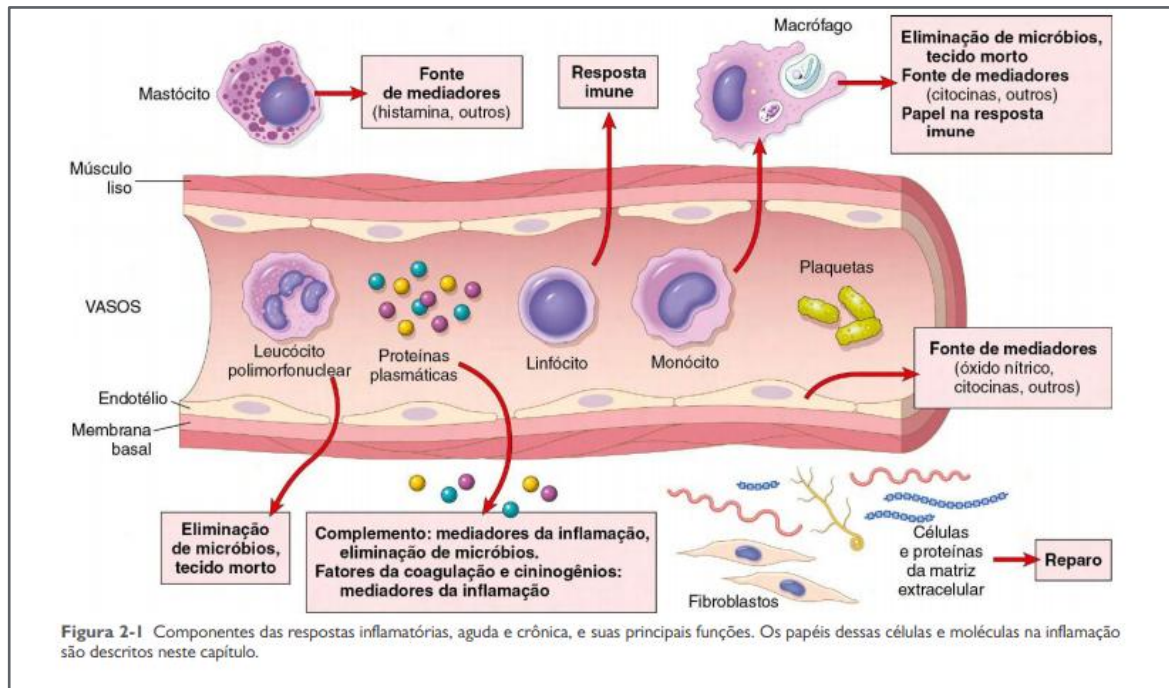
Os analgésicos podem ser classificados em opioides e não opioides. Os analgésicos não opioides, como o paracetamol e o ácido acetilsalicílico, são amplamente utilizados no tratamento da dor leve a moderada. Já os opioides, como a morfina e a codeína, são indicados para dores mais intensas, muitas vezes associadas a processos infecciosos graves, como meningite e osteomielite (KATZUNG, 2021). Entre os pacientes que recorrem ao sistema de saúde, a dor é uma queixa bastante frequente, sendo um dos principais sintomas de desordem orgânica. Segundo a Associação Internacional de Estudo da Dor (IASP, sigla em inglês) ela pode estar ligada a um dano real ou potencial e pode ser entendida como uma experiência sensorial, subjetiva e emocional.

A inflamação ocorre quando há injúria em algum tecido, que ocasiona uma reação circulatória, onde o organismo reage com o extravasamento de células, fluidos e moléculas para o local da lesão (Figura 3). Os anti-inflamatórios podem ser divididos em esteroidais e não esteroidais. Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), como ibuprofeno e naproxeno, inibem a enzima ciclo-oxigenase (COX), reduzindo a síntese de prostaglandinas e, conseqüentemente, a inflamação e a febre (RANG et al., 2016). Os corticosteroides, como a prednisona e a dexametasona, são potentes agentes anti-inflamatórios frequentemente utilizados em infecções graves, como a tuberculose e a meningite bacteriana, devido ao seu efeito imunomodulador. Assim como a dor, os processos inflamatórios além de reduzir a qualidade de vida, eventualmente pode levar a morte (GOODMAN & GILMAN, 2020).

Apesar dos benefícios dos medicamentos adjuvantes, seu uso deve ser feito com cautela, pois podem mascarar sintomas, retardar o diagnóstico e aumentar o risco de efeitos adversos. O uso indiscriminado de anti-inflamatórios pode comprometer a resposta imunológica do organismo, tornando a erradicação da infecção mais difícil (BRUNTON et al., 2018). Assim, a administração desses

medicamentos deve ser realizada sob orientação médica, considerando os riscos e benefícios para cada paciente.

Figura 3: Componentes das respostas inflamatória, aguda e crônica e suas funções.



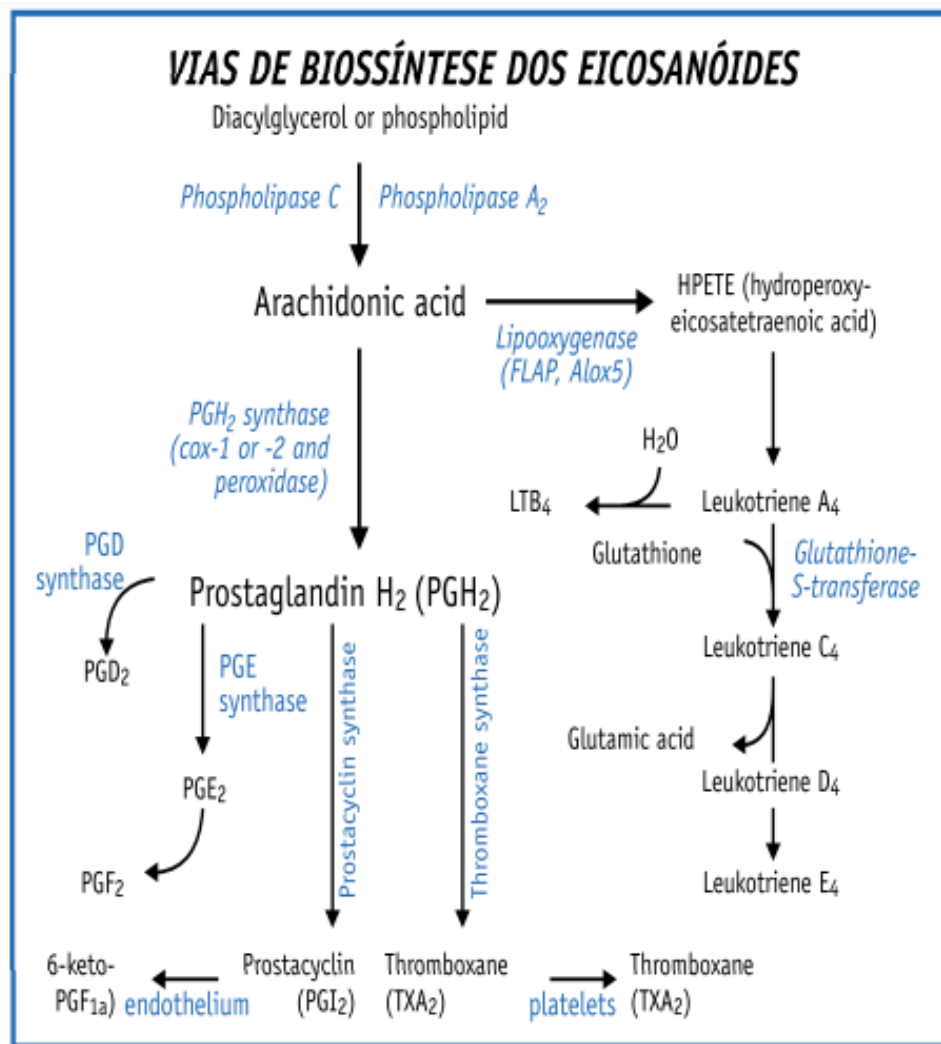
Fonte: sanarmed.com

Vários fármacos são atualmente utilizados no tratamento da dor e da inflamação, como os corticosteróides, os narcóticos e os AINEs (anti-inflamatórios não esteróides) (Ali et al., 2014; (KATZUNG, 2021). As problemáticas envolvidas na utilização destas drogas vão desde a possibilidade de dependência física e psíquica, no caso dos narcóticos, até a efeitos colaterais sobre a fisiologia de tecidos não-alvo, no caso dos anti-inflamatórios esteróides e não-esteróides. Apesar de serem drogas totalmente distintas, tanto os AIEs (Anti-inflamatórios Esteróides), quanto os AINEs (Anti-inflamatórios não esteróides), possuem um ponto em comum, a inibição da síntese de eicosanóides, que são moléculas sinalizadoras do processo inflamatório (Figura 4). Os AINEs atuam sobre as prostaglandinas sintetases, conhecidas como ciclooxigenases (COX-1, COX-2 e COX-3) (ALI et al, 2014)(Figura 5).

Desta forma, os produtos finais das vias de síntese dessas enzimas (prostaglandinas, tromboxanos e prostaciclina) deixam de ser produzidos, gerando

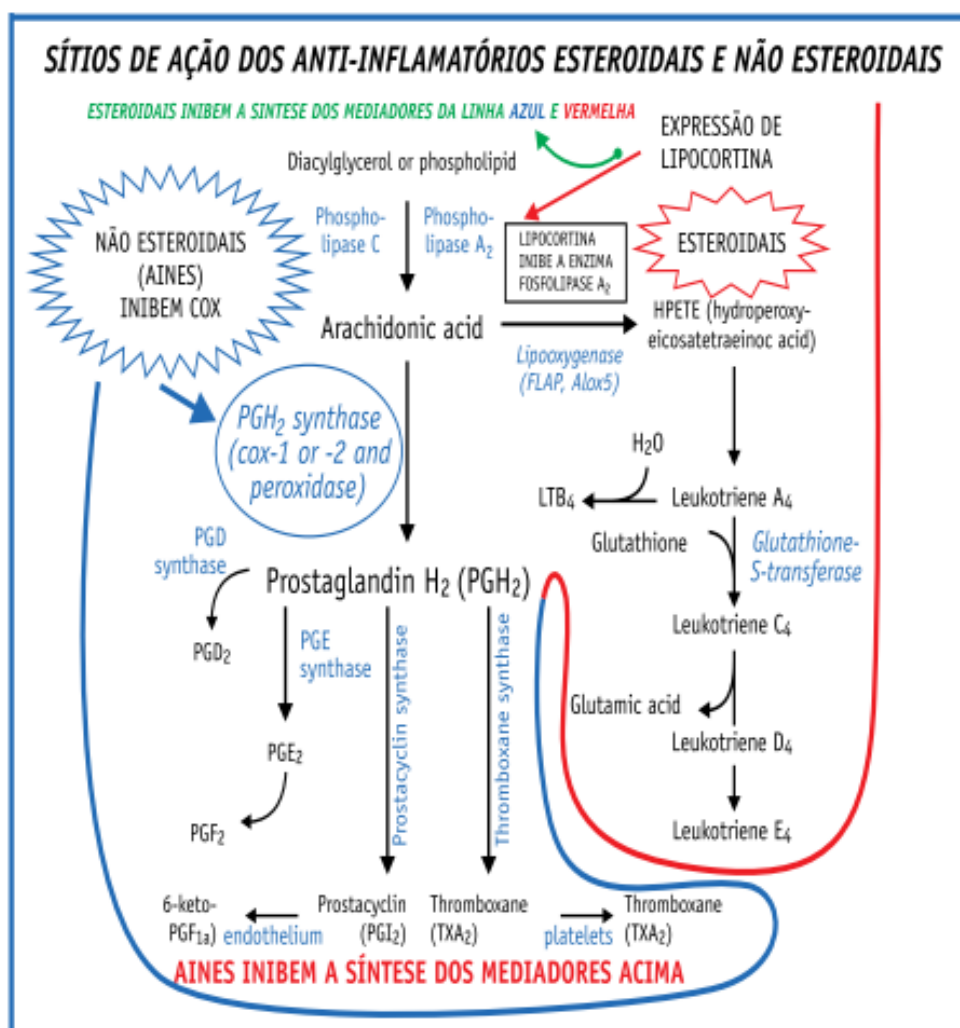
impacto sobre a fisiologia de estruturas não relacionadas com a inflamação, como nos rins e no estômago, por exemplo. Isto porque as prostaglandinas não são apenas mediadoras inflamatórias. Nos rins, elas agem regulando o fluxo sanguíneo na artéria renal promovendo sua vasodilatação, logo, na ausência delas o fluxo renal é dificultado (GOODMAN & GILMAN, 2020).

Figura 4: Vias de biossíntese dos eicosanóides.



Fonte: cff.org.br.

Figura 5: Sítios de ação dos anti-inflamatórios.



Fonte: cff.org.br

No estômago, elas induzem a síntese e secreção do muco protetor e na ausência deste, a parede estomacal fica desprotegida da ação do ácido clorídrico e das enzimas proteolíticas. Diversas são as patologias induzidas pelos AINEs, das quais podemos citar: esofagite, erosão da mucosa estomacal, hemorragia digestiva, insuficiência renal aguda, nefrite intersticial, retenção de Na⁺, insuficiência cardíaca e aumento dos riscos de eventos aterotrombóticos (ALI et al, 2014).

Os AIEs por sua vez, exercem sua ação anti-inflamatória através da inibição da fosfolipase A₂ (ver Figura 5), diminuindo a concentração do ácido-araquidônico para ser processado pelas COXs e LOXs, inibindo ambas as vias. O grande problema é que os AIEs mimetizam o hormônio cortisol, agindo sobre os receptores deste

hormônio. Estes receptores são intracelulares do tipo IV e desencadeiam a indução ou inibição da transcrição gênica em diversos tecidos, com efeitos principalmente nos sistemas urinário, cardiovascular, digestório e endócrino. Os AIEs inibem a transcrição de genes de proteínas que são iniciadoras do processo inflamatório, como as interleucinas (1, 2, 3 e 6), o fator de necrose tumoral (TNF), algumas quimiocinas e interferon- γ , além da inibição das ciclooxigenases. Contudo, estas enzimas também estão relacionadas à resposta imune. Como resultado desta inibição, ocorre um grande impacto na resposta imune do paciente que faz uso destas substâncias, causado pela ausência das funções de células como macrófagos, eosinófilos, neutrófilos, linfócitos, células natural killers, basófilos e mastócitos.

O maior e mais impactante exemplo é o bloqueio da expressão da interleucina-2, que participa da expansão clonal de linfócitos T e B. Quando os AIEs são utilizados por mais de duas semanas, eles facilitam a instação de infecções, a supressão da supra-renal e necrose asséptica de ossos, mesmo que em doses pequenas. Distúrbios psiquiátricos também podem ser desencadeados com o uso prolongado destas drogas. Entre as patologias que podem ser desenvolvidas com a utilização dos AIEs estão a miopatia, diabetes sacarino, aumento da pressão intra-ocular, insuficiência adrenal, osteoporose, retenção de H_2O e Na^+ (causando aumento da pressão arterial sistêmica), retardo do crescimento em crianças, urticaria, aplasia medular, entre outras (GOODMAN & GILMAN, 2020).

2.3 Histórico dos Produtos Naturais na descoberta de novos fármacos

Sempre fez parte da experiência humana, desde tempos remotos, a utilização dos produtos extraídos da natureza para o tratamento das mais diversas enfermidades (ATANASOV et al., 2021). No entanto, a história ocidental “catalogada” referente ao desenvolvimento de medicamentos teve início com a grande contribuição do conhecimento gerado pelos gregos e romanos. Um grande exemplo foi o médico grego Dioscórides (Fig. 6), que viveu em meados de 100d.C. Este, ao viajar com os exércitos romanos, registrava com riqueza de detalhes formas de coleta, armazenamento e uso de plantas medicinais. Outro exemplo foi o professor Galeno, praticante de farmácia e medicina, que registrou com maestria as receitas e fórmulas que utilizava na manipulação de medicamentos em meados do século II (CRAGG e NEWMAN, 2013).

A “Idade Média”, conhecida como “Idade das Trevas”, no entanto, além de ter impedido o avanço no campo da medicina (e de outras áreas), foi responsável por acabar com muitos registros preciosos. Nesse contexto, os povos árabes desempenharam um grande papel, visto que conseguiram preservar muito da experiência greco-romana. Além disso, eles também utilizavam ervas que não eram conhecidas no mundo ocidental, provindas da Índia e China. Os árabes incluíram também o seu próprio conhecimento, gerado a partir de suas experimentações, contribuindo assim de forma substancial e significativa para a medicina moderna (CRAGG e NEWMAN, 2013).

Figura 6: Médico grego Dioscórides.

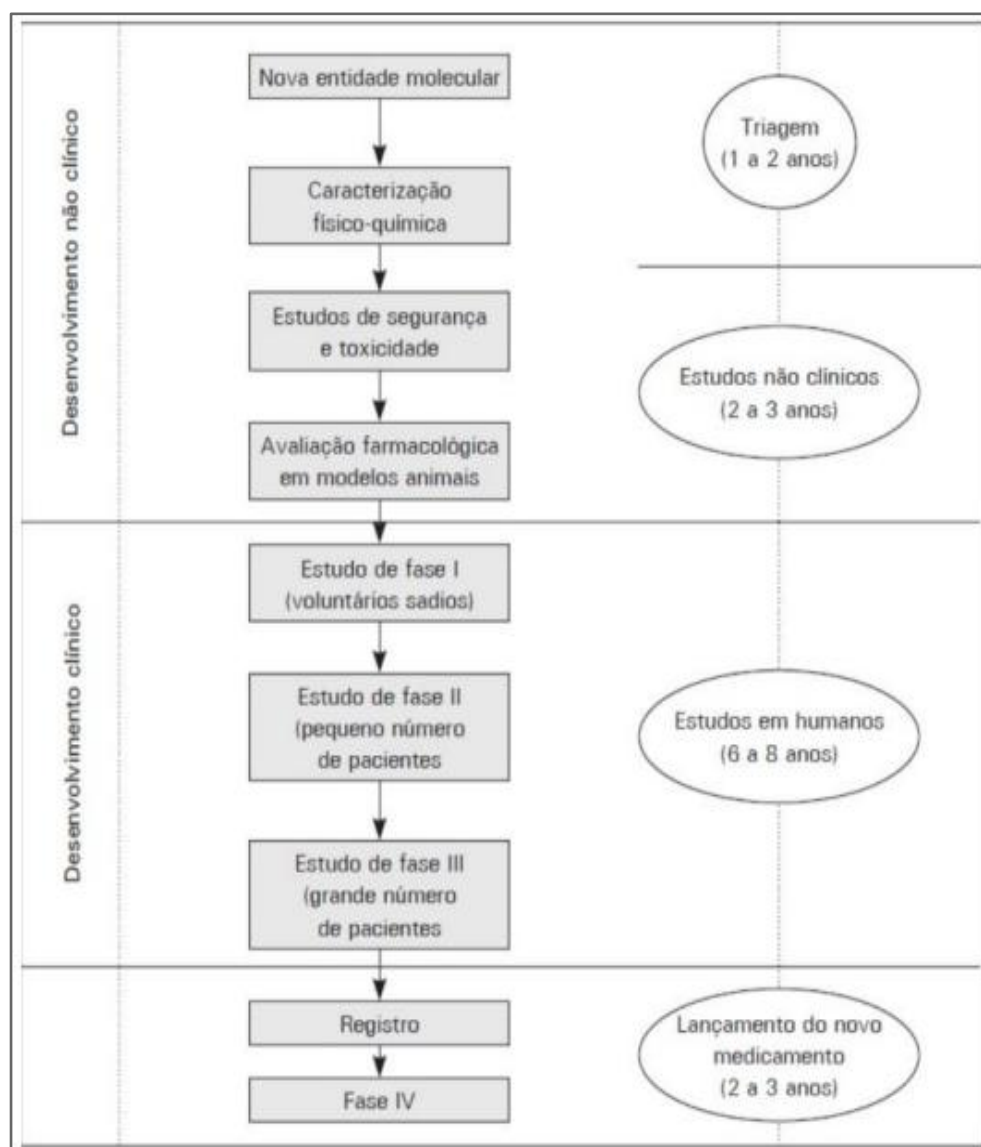


Fonte: biografiasyvidas.com

Entretanto, como está esse cenário atualmente? Será que ainda é viável o percurso de descoberta de novas drogas a partir destas fontes? Ou a triagem de moléculas sintéticas é o melhor caminho? Para responder a estas questões precisamos pensar sobre os prós e contras da indústria farmacêutica e as problemáticas socioeconômicas do cenário atual. O isolamento e elucidação de estruturas de PNs geralmente são realizados através do fracionamento guiado por

bioensaio, onde os recursos financeiros são o principal fator limitante (BUTLER, 2004). O financiamento para o desenvolvimento de medicamentos nas fases pré-clínica e clínica inicial (ver Fig. 7), nos últimos sete anos, está escasso. Isto quando comparamos com os recursos que eram disponibilizados entre meados da década de 1980 e início da década de 1990. Este período foi marcado por ser o início da “biotecnologia”, o que chamou a atenção dos investidores, principalmente os capitalistas de alto risco.

Figura 7: Fases de desenvolvimento de um novo fármaco.



Fonte: CRAGG e NEWMAN, 2013.

Atualmente, as fontes desses recursos secaram e as poucas empresas farmacêuticas que ainda financiam estes estudos, querem que o desenvolvimento do produto já esteja pelo menos nos ensaios clínicos de Fase I (estudos em nível de Fase II têm mais preferência) (CRAGG e NEWMAN, 2013). É fato que existe uma lacuna entre os pesquisadores, tanto da academia quanto de pequenas empresas, e o acesso ao financiamento para o custeio de todo o processo para a formulação de um determinado fármaco. Geralmente, os custos da pesquisa para chegar até o composto com potencial para um fármaco são financiados por agências governamentais de fomento à pesquisa, como a SBIR nos EUA, a CAPES no Brasil e por alguns capitalistas de risco também. Mas, ao identificar um composto com potencial, este precisa percorrer um longo caminho para atingir o mercado, que vai desde os ensaios pré-clínicos e toxicológicos, até os custos burocráticos com patentes e com a maquinaria necessária para colocar o produto no mercado (CRAGG e NEWMAN, 2013).

Dito isto, vamos agora comparar os custos entre o desenvolvimento de um medicamento de origem natural com um de origem totalmente sintética, que se tornou viável desde os avanços da química sintética. De uma forma geral essas sínteses são feitas através de modificações combinatórias rápidas no composto original, conferindo propriedades ADME (Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção), juntamente com modificações posteriores para determinar o candidato pré-clínico ideal. Em formulações para administração oral podem ser realizadas mais de 100 modificações, assim como também podem ser feitas pouquíssimas (menos de 10). Estes dados geralmente não são publicados, porque são gerados em sua esmagadora maioria em casas farmacêuticas e empresas privadas. Muitas vezes essa síntese pode levar à identificação da porção da molécula que desempenha a atividade, denominada “farmacoforo”, o que gera análogos mais simples que atuam da mesma forma e em algumas vezes atuam até melhor que a molécula original. Todavia, é importante ressaltar que, muitas destas moléculas de origem totalmente sintética têm o seu designer baseado em algum composto natural (ATANASOV et al., 2021).

Entre as vantagens fornecidas pelos PNs, sem dúvida a complexidade estrutural e a diversidade de estruturas químicas são as maiores delas. No entanto, existem inúmeras outras vantagens em comparação com bibliotecas de compostos sintéticos. Os PNs possuem em geral uma maior rigidez molecular, menos átomos de nitrogênio e halogênio, (valores cLogP, indicando maior hidrofobicidade) números mais

altos de aceptores e doadores de ligações de H e coeficientes de partição octanol-água mais baixos. Além de todas essas vantagens nos campos da farmacodinâmica e farmacocinética, os PNs são estruturalmente 'otimizados' pela evolução para servir a funções biológicas particulares, como a interação (muitas vezes competição) com outros organismos (no caso dos antimicrobianos) e a regulação de mecanismos de defesa endógenos, o que explica sua alta relevância para doenças infecciosas e câncer (ATASANAIOV et al. 2015; FEHER e SCHMIDT, 2003).

Os PNs têm ganhado um destaque cada vez mais expressivo na farmacologia atualmente. Isto porque apresentam menos efeitos tóxicos e são economicamente mais viáveis que as drogas sintéticas. Levantamentos mostram que os PNs (e seus derivados semissintéticos) chegam a compor 40% dos medicamentos disponíveis no mercado, sendo a grande maioria extraída de plantas (BUTLER, 2004; JACOB, 2009). Dito isto, os Produtos Naturais surgem como fontes de moléculas bioativas que podem fazer parte da resolução de grandes problemáticas envolvendo a saúde pública global. Eles têm tradicionalmente desempenhado um papel fundamental na descoberta de medicamentos e têm sido a base da maioria dos medicamentos iniciais (BUTLER, 2004; JACOB, 2009).

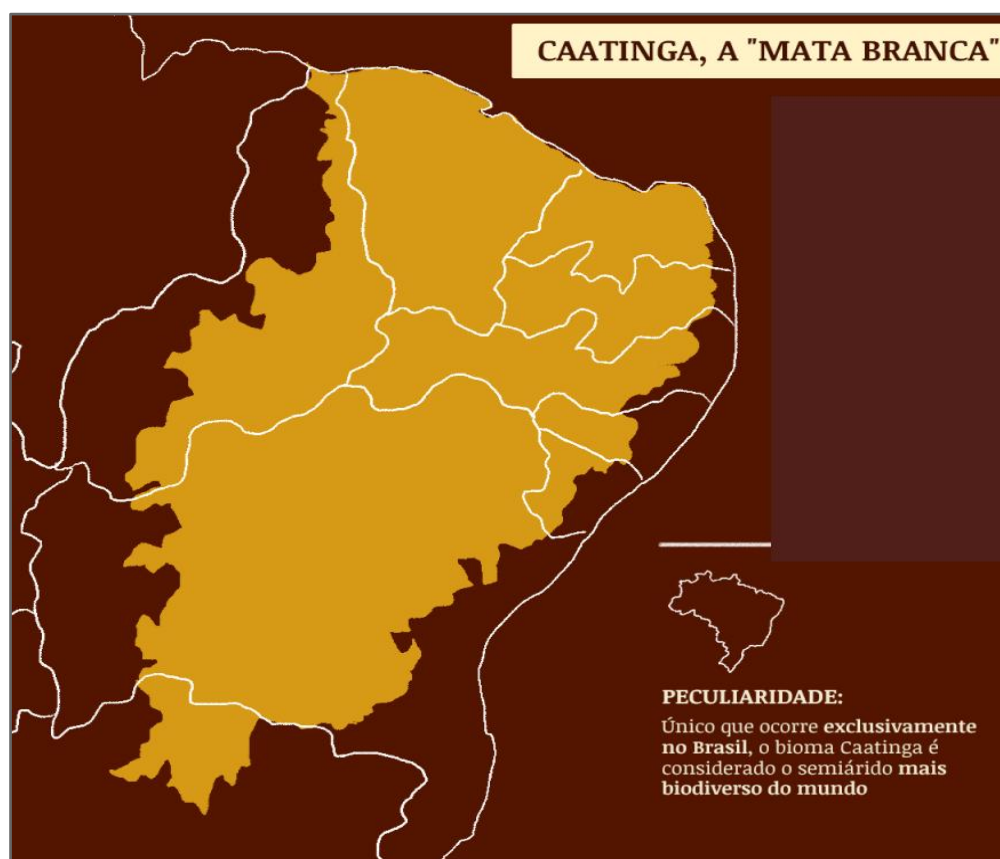
2.4 Bioprospecção de compostos bioativos da Caatinga

A bioprospecção consiste na busca sistemática por organismos, genes ou metabólitos com potenciais aplicações biotecnológicas, sendo uma atividade essencial para a descoberta de novos fármacos, enzimas industriais, biopesticidas e outros produtos de interesse comercial. Essa prática tem ganhado destaque devido à biodiversidade existente em ecossistemas pouco explorados, como florestas tropicais e ambientes marinhos (SILVA et al., 2020). A bioprospecção pode ser dividida em diferentes categorias, dependendo do foco da pesquisa. A bioprospecção farmacêutica, por exemplo, estuda compostos bioativos para o desenvolvimento de medicamentos, como antibióticos e anticancerígenos. A bioprospecção industrial investiga enzimas e microrganismos que possam ser utilizados em processos produtivos, enquanto a bioprospecção agrícola busca substâncias naturais para controle de pragas e doenças em culturas agrícolas (SANTOS; MELO, 2018).

As pesquisas em Bioprospecção estão em grande evidência no cenário atual, tanto no meio acadêmico quanto na indústria privada. Isto porque vivemos em uma época onde grande parte dos ecossistemas e da biodiversidade do planeta foram

devastadas pela exploração indiscriminada destes recursos. Após inúmeras discussões a respeito dos impactos ambientais causados, como na conferência de Estocolmo e mais atualmente na CDB (Convenção da Biodiversidade), o desenvolvimento sustentável tornou-se uma pauta primordial em todo o mundo. A Bioprospecção se destaca neste sentido porque não se preocupa apenas em investigar o princípio ativo e colocar o fármaco no mercado, mas tem também como princípios fundamentais a utilização racional e conservacionista do recurso natural, assim como também a divisão justa e igualitária dos seus benefícios quando este provém de um conhecimento tradicional (AZEVEDO, 2003; SILVA et al., 2020).

Figura 8: Caatinga, a “mata branca” do Brasil.



Fonte: Fonte: oeco.org.br.

Figura 9: Estado da arte sobre os ecossistemas da Caatinga.



Fonte: oeco.org.br.

Em relação à biodiversidade molecular existente nos ecossistemas de Caatinga (ver Figs. 8 e 9), podemos citar o “Programa de Bioprospecção”, que fez parte do projeto do “Instituto do Milênio do Semi-Árido” (IMSEAR). O Programa “Biodiversidade” extraiu 536 componentes de 90 espécies de plantas nativas da região semiárida, muitos desses componentes eficazes contra *Leishmania*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, entre outras atividades. Também foram isoladas 103 substâncias puras, incluindo terpenoides, flavonoides, alcaloides, entre outros metabólitos, que também demonstraram atividades terapêuticas. Além disso, 14 novas substâncias foram descobertas e 20 derivados semissintéticos foram produzidos (QUEIRÓZ et al., 2006; SILVA et al., 2020). Doravante o exposto, fica evidente que os ecossistemas da caatinga demonstram um imenso potencial para a bioprospecção farmacológica, sendo importante ressaltar que a maioria da sua biodiversidade molecular segue desconhecida e inexplorada.

Dessa forma, a bioprospecção representa um campo promissor para inovação tecnológica e desenvolvimento sustentável. No entanto, sua prática deve ser conduzida de maneira ética e em conformidade com a legislação vigente, garantindo a conservação da biodiversidade e o reconhecimento das comunidades tradicionais envolvidas no processo. O Protocolo de Nagoya, estabelecido em 2010, regula o acesso aos recursos genéticos e assegura a repartição justa dos benefícios entre

países provedores e empresas que exploram tais recursos. No Brasil, é a Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015, que regulamenta o acesso ao patrimônio genético, a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade (BRASIL, 2015).

2.5 Considerações sobre *Erythroxylum revolutum* Mart.

Esta espécie de arbusto é endêmica da Caatinga, sendo encontrada em regiões onde predomina a fitofisionomia de Caatinga stricto sensu (Fig. 10). Pertence à família Erythroxylaceae, que se tornou mundialmente conhecida pela cocaína, alcaloide tropânico com ação no Sistema Nervoso Central (SNC) que foi utilizada durante muito tempo pela indústria farmacêutica e alimentícia (entre 1860 e 1885) até ser gradualmente substituída por drogas mais seguras devido aos seus efeitos viciantes (BARREIRO et al., 2009).

Figura 10: *Erythroxylum revolutum* em seu ambiente natural.



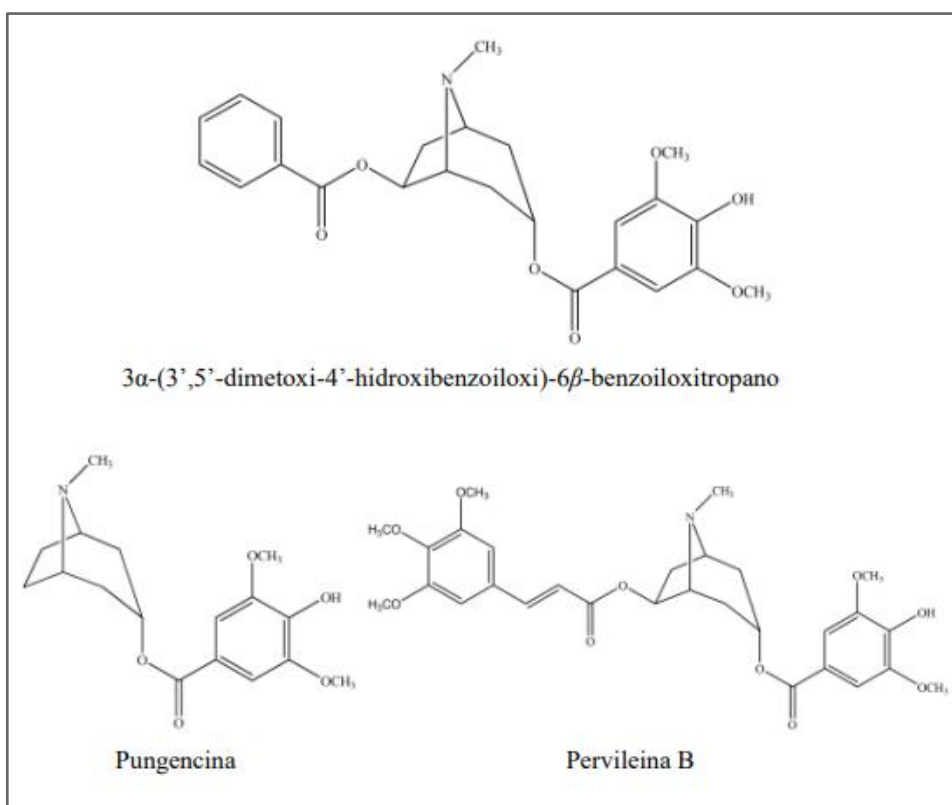
Fonte: Própria.

Entretanto, a biodiversidade molecular desta família vai muito além! A cocaína é produzida por apenas 17 espécies, entre cerca de 250 espécies que compõe todo o gênero *Erythroxylum* P. Browne. Entre elas, apenas 4 (*E. coca*, *E. coca* var. *ipadu*, *E. novogranatense* e *E. truxillense*) produzem quantidades significativas de cocaína (entre 0,5 e 2%) (SIQUEIRA et al., 2011).

Os alcaloides tropânicos são majoritariamente os compostos produzidos pelas espécies desta família, por isto os escolhemos para este estudo. Aliado a isto também se somou o fato de que existem uma gama de alcaloides que serviram de protótipos para fármacos amplamente conhecidos (Tabela 1) (BARREIRO e BOLZANI, 2009). As espécies da família Erythroxylaceae produzem uma gama de outros alcaloides, assim como moléculas de outras classes, principalmente terpenoides e flavonoides (ver Figs. 11, 12 e 13) (HOFMANN-JUNIOR, 2018). É importante ressaltar que os flavonoides e terpenoides também são compostos bioativos interessantíssimos, que podem (e devem) ser investigados em estudos posteriores. González-García et al. (2005) analisaram os dados acerca das publicações sobre atividades biológicas investigadas em espécies de *Erythroxylum*. O gênero demonstrou dados percentuais altamente significativos acerca das atividades biológicas investigadas empiricamente. A atividade mais notável sem dúvida é a ação sobre o Sistema Nervoso Central (SNC), onde 100% dos ensaios foram bem-sucedidos, seguido pelos bioensaios de atividade analgésica (60%) e antifúngica (58,3%).

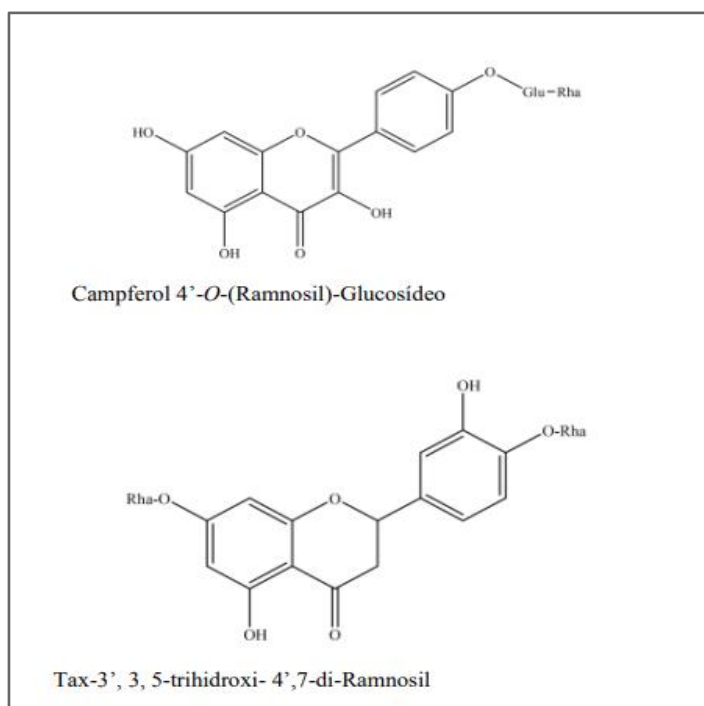
Pesquisas realizadas por Braz et al. (2016) avaliaram a atividade antinociceptiva dos extratos metanólicos de *E. revolutum* e *E. simonis*. Utilizando modelos experimentais com camundongos, os extratos demonstraram redução significativa na resposta à dor nos testes da formalina e da placa quente, sugerindo um efeito analgésico promissor. Além disso, Dantas (2023) conduziu uma investigação fitoquímica abrangente de espécies do gênero *Erythroxylum*, incluindo *E. revolutum*. A análise revelou a presença de diversos metabólitos secundários, como flavonoides, terpenos e alcaloides tropânicos, compostos reconhecidos por suas atividades biológicas relevantes.

Figura 11: Alguns alcaloides isolados de espécies do gênero *Erythroxylum*.



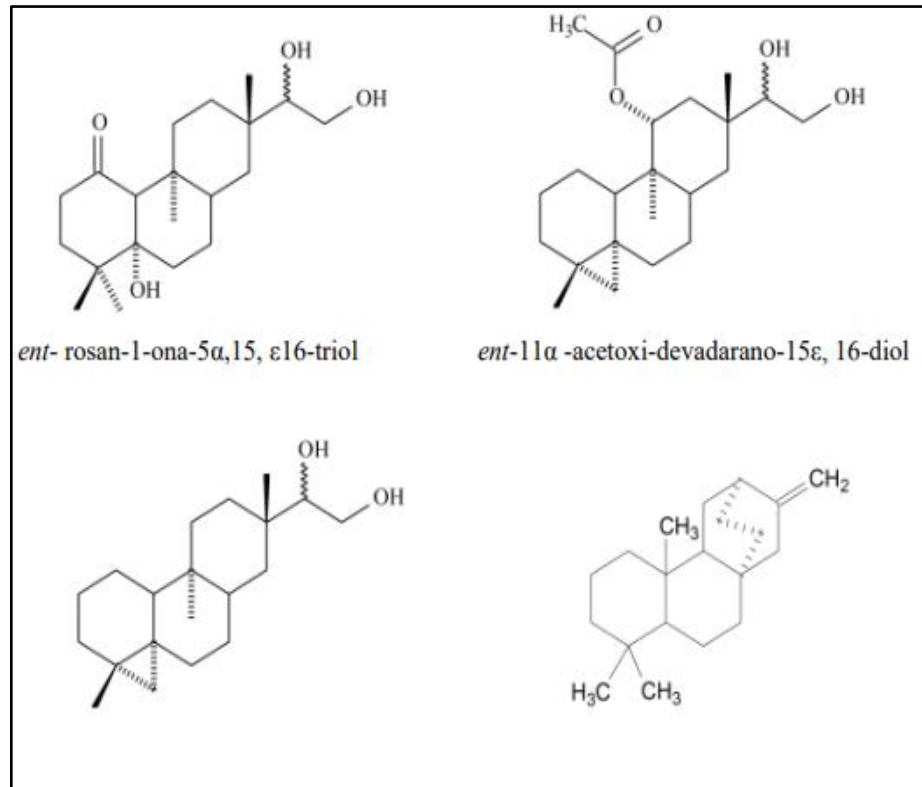
Fonte: repositorioufpb.br

Figura 12: Alguns flavonoides isolados de espécies do gênero *Erythroxylum*.



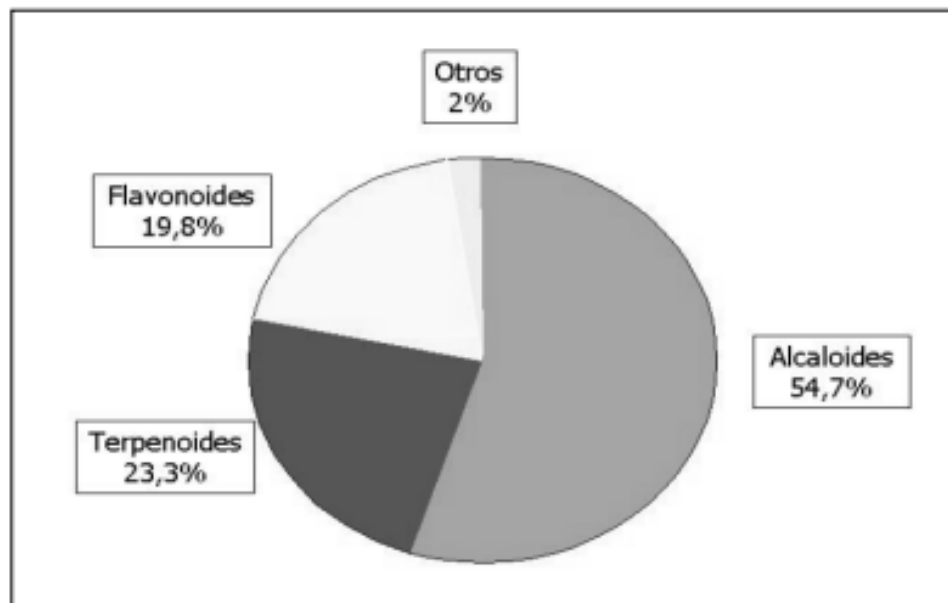
Fonte: repositorioufpb.br

Figura 13: Alguns terpenos isolados de espécies do gênero *Erythroxylum*.



Fonte: repositorioufpb.br

Figura 14: Percentual dos metabólitos secundários produzidos pela família Erythroxylaceae.



Fonte: Barbosa et al., 2022.

Tabela 1: Alguns alcaloides que inspiraram o designer de fármacos.

Protótipo natural	Fármaco descoberto	Indicação terapêutica
Quinina (5)	Mefloquina (6)	Antimalárico
Pilocarpina (12)	Pilocarpina	Colinesterásico
Tubocurarina (13.)	Hexametônio (22)	Bloqueador ganglionar
Papaverina (14)	Sildenafil (23)	Antidisfunção erétil
Reserpina (15)	Reserpina	Antiarritmico
Mescalina (16)	Anfetamina (24)	Anorético
Vincristina (17)	Vincristina	Anticâncer
Galantamina (18)	Galantamina	AntiAlzheimer
Camptotecina (19)	Exatecan (25)	Inibidor de topoisomerase-2
Huperzina-A (20)	Selagina* (20)	AntiAlzheimer
Epibatidina (21)	ABT-418 (26)	Analgésico periférico

* Selagina (20) é sinônimo de huperzina-A (20)

Fonte: Barbosa et al., 2022.

Barbosa et al. (2018) demonstrou o potencial antimicrobiano de *E. revolutum*, avaliando sua eficácia contra diferentes cepas bacterianas. Os resultados indicaram uma atividade antimicrobiana significativa, além de um efeito sinérgico quando combinado com antimicrobianos convencionais, sugerindo seu uso potencial como adjuvante terapêutico.

A atividade antifúngica do extrato bruto de *E. revolutum* também já foi demonstrada empiricamente, Pinheiro e Araújo (2021) publicaram um ensaio onde a atividade contra cepas de *Candida albicans* e não-*albicans* é evidenciada. No entanto, não foram identificadas as moléculas responsáveis pela atividade e seus mecanismos de ação, dados fundamentais para o desenvolvimento de um novo fármaco. Esses estudos ressaltam o potencial terapêutico de *Erythroxyllum revolutum* no manejo de infecções microbianas. No entanto, são necessárias pesquisas adicionais para elucidar os mecanismos de ação, avaliar a segurança a longo prazo e determinar a viabilidade clínica de seus compostos bioativos.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Fornecer subsídios para o desenvolvimento de um novo fármaco com atividade antifúngica contra a candidíase, garantindo um perfil de segurança adequado aos pacientes. Além disso, avaliar seu potencial como agente adjuvante em terapias combinadas, com ação sobre sintomas inflamatórios e analgésicos decorrentes da infecção.

3.2 Específicos

- Avaliar em modelo animal a segurança toxicológica do uso oral da fração de alcaloides das folhas de *E. revolutum*;
- Avaliar o potencial in vitro da fração de alcaloides de *E. revolutum* contra *Candida* spp e os mecanismos envolvidos;
- Analisar em modelo animal o potencial antinociceptivo e os mecanismos de nocicepção da fração de alcaloides de *E. revolutum*;
- Investigar in vivo o efeito anti-inflamatório e o efeito gastroprotetor da fração de alcaloides de *E. revolutum*.

4 ARTIGO 1 – Bioprospecção de Plantas Medicinais da Caatinga: Atividade antifúngica e mecanismos envolvidos

Lista de autores:

Maísa Fernanda dos Santos Barbosa^{a*}

Vyctor Mateus de Melo Alves da Silva^a

Caique Tavares da Silva^a

Elias Vinícius Ferreira do Amaral^a

Sueden Oliveira de Souza^b

Wesley Felix de Oliveira^b

Lilian Cortez Sombra Vandesment^c

Paulo Henrique de Oliveira Miranda^c

Rogério de Aquino Saraiva^d

Márcia Vanusa da Silva^a

Maria Tereza dos Santos Correia^a

^a Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, Brasil, CEP: 50670-901

^b Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, Brasil, CEP: 50670-901

^c Departamento de Ciências Biológicas, Centro Universitário Católica de Quixadá, Quixadá-CE, Brasil, CEP: 63900-076

^d Instituto de Formação de Educadores, Universidade Federal do Cariri, Brejo Santo-CE, Brasil, CEP: 63260-000

** Autora principal: Maísa Fernanda dos Santos Barbosa*

M.F.S. Barbosa (Orcíd: 0000-0002-2698-5800)

E-mail: maisa.santosbarbosa@ufpe.br

**Autoras para correspondência: Maísa Fernanda dos Santos Barbosa e Maria Tereza dos Santos Correia*

E-mail: maisa.santosbarbosa@ufpe.br; maria.tscorreia@ufpe.br

RESUMO

Esta revisão teve como objetivo analisar os efeitos de produtos bioativos extraídos da flora da Caatinga contra fungos patogênicos. Além de trazer novos insights e criar novas perspectivas para o combate a essas doenças, a qualificação central deste artigo é enfatizar o potencial fitoterápico dessas espécies e destacar os benefícios econômicos e sociais da manutenção dessa floresta em pé. Os principais objetivos deste trabalho são compreender os mecanismos antifúngicos, estimular a pesquisa na área e incentivar colaborações científicas entre grupos que trabalham ou têm interesse em trabalhar com a flora da região. Foi realizada uma revisão sistemática, com base nos artigos mais recentes publicados na área. Posteriormente, foi realizada uma triagem na qual foram selecionados os artigos mais relevantes da área. As informações de 44 espécies investigadas nos artigos selecionados mostram uma ampla diversidade de moléculas únicas com potencial antifúngico. A investigação desse potencial é discutida em detalhes e perspectivas para pesquisas futuras em bioprospecção pela indústria farmacêutica são mencionadas neste trabalho. Por tudo o que foi demonstrado no presente trabalho, essas espécies podem ser cruciais na busca por novos agentes antifúngicos e podem ser parte da solução para o problema da resistência microbiana aos fármacos atuais. Além disso, esses dados podem ser extrapolados para espécies de outras regiões do mundo que também possuam esses bioativos.

Palavras-chave: Fitoterápicos, Fungos Patogênicos, Floresta Estacional Seca.

ABSTRACT

This review aimed to analyze the effects of bioactive products extracted from the Caatinga flora against pathogenic fungi. In addition to bringing new insights and creating new perspectives for combating these diseases, this article's central qualification is to emphasize the phytotherapeutic potential of these species and highlight the economic and social benefits of maintaining this forest standing. The main objectives of this work are to understand antifungal mechanisms, stimulate research in this area and encourage scientific collaborations between groups that work or are interested in working with the flora of the region. A systematic review was carried out, based on the most recent articles published in the area. Subsequently, a screening was carried out in which the most relevant articles in the area were selected. Information from 44 species investigated in the selected articles show a wide diversity of unique molecules with antifungal potential. The investigation of this potential is discussed in detail and perspectives for future research in bioprospecting by the pharmaceutical industry are mentioned in this work. For everything that was demonstrated in the present work, these species can be crucial in the search for new antifungal agents and can be part of the solution to the problem of microbial resistance to current drugs. Furthermore, these data can be extrapolated to species from other regions of the world that also have these bioactives.

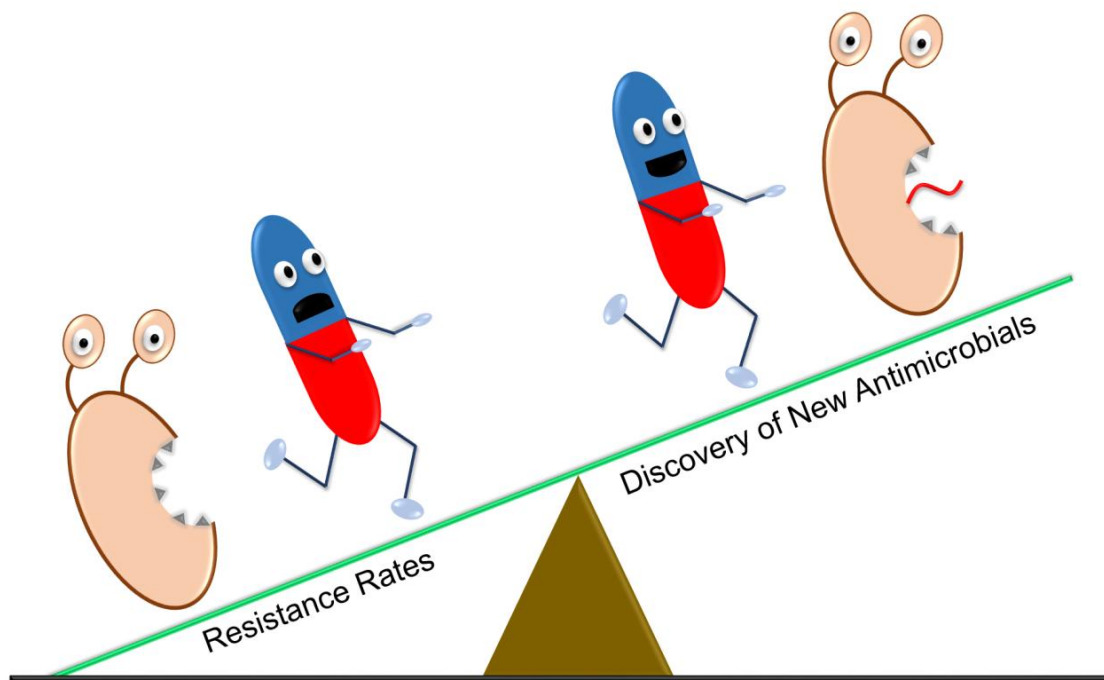
Keywords: Phytotherapeutics, Pathogenic Fungi, Seasonally dry forest.

1 INTRODUÇÃO

Estudos recentes têm alertado para o impacto da pandemia da Covid-19 no agravamento da resistência microbiana, cenário que já se mostrou catastrófico. Portanto, a busca por novos compostos para tratar essas infecções é de fundamental importância para a saúde pública global (Hsu, 2020; Murray, 2020; Yam, 2020). Segundo dados do “Global Action Fund for Fungal Infections”, mais de 300 milhões de pessoas no mundo sofrem de alguma infecção fúngica grave e 25 milhões correm alto risco de perder a visão ou até mesmo morrer. Essas infecções são assassinas silenciosas e afetam principalmente pacientes com AIDS, câncer e tuberculose. Os números são assustadores. Entre 1.000.000 e 1.400.000 de olhos são infectados a cada ano, com a maioria dos pacientes perdendo a visão e alguns precisando remover um globo ocular. Infecções pulmonares fúngicas destrutivas afligem 3.000.000 de pessoas e muitas chegam à forma crônica da doença, que é frequentemente confundida com tuberculose e causa a morte em 80% dos casos em 5 anos, se não tratada adequadamente. Somado a tudo isso, os impactos econômicos nas economias globais são enormes (GAFFI, 2021).

Diante dos impactos causados pelos fungos à saúde pública em todo o mundo, aliados à aquisição de resistência aos medicamentos atualmente disponíveis no mercado, os cientistas se veem cada vez mais desafiados a encontrar novos fármacos eficazes no combate a esses patógenos (Friedman et al., 2004; OMS, 2020). Uma das soluções para esse problema pode ser encontrada na fitoterapia e muitos estudos têm sido realizados nesse sentido (Figura 1). As plantas desenvolveram, ao longo de sua evolução, a capacidade de produzir metabólitos que promovem sua defesa química (Friedman et al., 2004; OMS, 2020). Muitos são capazes de agir contra agentes infecciosos e daremos a eles atenção especial, com foco em infecções fúngicas.

Figura 1 – Ilustração lúdica de uma gangorra com resistência a micobactérias, à esquerda, com bastante peso, em contraste com a descoberta de novos antifúngicos, à direita, com peso substancialmente menor.



Fonte: A autora, 2023.

Vale ressaltar que o mercado farmacêutico global movimenta bilhões de dólares anualmente e 40% dos medicamentos disponíveis são provenientes de fontes naturais. Além disso, dentre os produtos naturais disponíveis no mercado, os extraídos de plantas são os principais protagonistas, representando 25% do total, enquanto os extraídos de fungos representam 13% e os extraídos de animais representam apenas 3% do mercado (Calixto, 2019).

Neste artigo, destacamos as plantas da Caatinga como protagonistas na produção de moléculas bioativas contra fungos patogênicos. A formação de uma consciência ecológica e os esforços voltados à preservação ambiental têm gerado a necessidade de testar produtos naturais, com o objetivo de encontrar controles alternativos de patógenos. A Caatinga brasileira possui grande relevância, dadas as suas condições climáticas particulares e composição de fauna e flora. Com essas características, diversas plantas desenvolveram diversas formas adaptativas e é justamente esse desenvolvimento que atrai a pesquisa biotecnológica dessas plantas

nessa região. A Caatinga está localizada na região Nordeste do Brasil e ocupa uma vasta área de 844.452 Km², o que representa 11% do território do país. O equivalente a 10% da população do país (cerca de 20 milhões de pessoas) vive neste domínio (MMA, 2005). Com um patrimônio biológico que não existe em nenhum outro lugar do mundo, mais de 1.700 espécies de plantas foram identificadas, com mais de 300 táxons endêmicos (Brand, 2017). Em contraste com essa riqueza biológica, os habitantes da região têm uma renda per capita muito baixa, com IDHs muito baixos e baixa expectativa de vida também (MMA, 2005; Tabareli et al., 2018). Essa flora tem sido subestimada. Os ecossistemas da Caatinga estão entre os menos protegidos do país e estão sujeitos à deterioração ambiental. Grande parte dessa biodiversidade já foi perdida e entre as principais causas dessa perda está o desmatamento (Gorlach-Lira e Coutinho, 2007). A pesquisa em bioprospecção preocupa-se em evidenciar o potencial biotecnológico dessa biota e promover o desenvolvimento sustentável das populações humanas que dela fazem uso (Azevedo, 2003; SILVA, 2020).

Esta revisão traz um panorama de todas as publicações da última década e meia sobre produtos naturais extraídos da flora da Caatinga com atividade contra fungos patogênicos humanos. Nosso objetivo é despertar o interesse de pesquisadores do setor para o potencial dessas florestas, bem como discutir os possíveis mecanismos de ação dessas moléculas e direcionar estudos para o desenho de novos fármacos. Dessa forma, a investigação de moléculas bioativas tem o poder de conscientizar a população sobre o potencial econômico da conservação dessas florestas em pé, ao mesmo tempo em que estimula o desenvolvimento biotecnológico da região.

2 MATERIAL E MÉTODOS

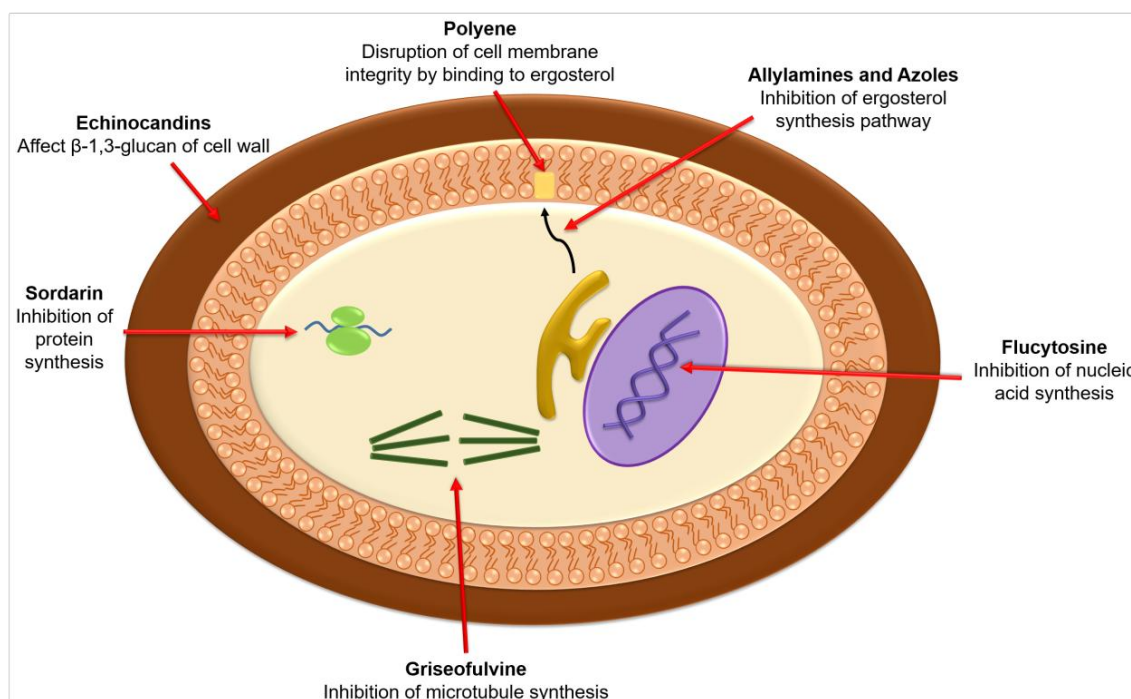
Foi realizada uma revisão simples, com base nos artigos mais recentes publicados na área. A busca nas plataformas foi realizada de julho de 2022 a abril de 2023 nas plataformas “Scopus”, “Pubmed” e “Google Acadêmico” utilizando as seguintes palavras-chave: “Infecções Fúngicas” + “Caatinga” e “Atividade Antifúngica” + “Caatinga”. Posteriormente, foi realizada uma triagem na qual foram selecionados os artigos mais relevantes, ou seja, estudos realizados com produtos extraídos de espécies ocorrentes na Caatinga e publicados em revistas com alto fator de impacto. Artigos considerados antigos, com datas de publicação anteriores a 2008, não foram considerados. Após a busca nas plataformas, foi realizada uma triagem dos artigos,

onde foram incluídos apenas os mais relevantes para este estudo, ou seja, aqueles que melhor refletem os principais avanços na área. Na busca por compreender os mecanismos envolvidos na atividade que esses produtos naturais exercem sobre a célula fúngica, foram selecionados um total de 30 artigos, os quais discutimos nesta revisão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 lista as 44 espécies investigadas nos artigos selecionados para este estudo, com informações sobre os principais resultados encontrados. Considerando que esta região é a semiárida mais biodiversa do mundo, podemos supor que ainda há um vasto campo a ser explorado. Essas espécies possuem uma vasta diversidade de moléculas únicas, moldadas pela seleção natural para sobreviver nas condições extremas deste ambiente. Investigar esse potencial é fundamental e essas moléculas podem ser alvos para a indústria farmacêutica, bem como para outros setores da indústria. Por fim, discutiremos os mecanismos de ação envolvidos na atividade dessas moléculas (Fig. 2).

Figura 2 - Principais mecanismos de ação dos antifúngicos e seus respectivos alvos moleculares na célula fúngica.



Fonte: A autora, 2023.

Durante muito tempo a indústria farmacêutica explorou a diversidade de moléculas fornecidas pelos organismos vivos, mas somente em 2003 ela foi apresentada à comunidade científica como a quarta fonte de biodiversidade. A biodiversidade molecular pode ser definida como a riqueza de moléculas encontradas na vida. Quanto maior essa diversidade, maior a probabilidade de uma espécie se adaptar a um ambiente em constante mudança, e quanto menor essa diversidade, maiores as chances de extinção. Em outras palavras, eventos de especiação e extinção estão diretamente relacionados à diversidade molecular (Campbell, 2003).

É importante ressaltar que os impactos ambientais causados pelas populações humanas estão entre os principais agentes causadores da perda de biodiversidade, o que é extremamente preocupante, visto que a biodiversidade é essencial para a manutenção dos ecossistemas naturais e, conseqüentemente, para a vida e as atividades humanas. Estratégias de conservação são essenciais. Nesse sentido, é necessário que o fármaco, além de economicamente viável, tenha sua fonte manejada de forma sustentável. A pesquisa em bioprospecção permite essa abordagem: pois agrega valor econômico aos materiais biológicos, destaca o potencial dos ecossistemas naturais para a terapia moderna e enfatiza a importância da distribuição justa e equitativa dos serviços ecossistêmicos prestados, incluindo o envolvimento das comunidades tradicionais que fazem uso dessas fontes (Azevedo, 2003; Ramawat et al., 2009).

Essa busca incessante por novos princípios ativos é fundamental para o tratamento e a cura de diversas doenças, sendo os produtos naturais uma rica fonte de moléculas bioativas que, se bem manejadas, podem gerar lucro e desenvolvimento. Exemplos da importância da pesquisa envolvendo produtos naturais são a pilocarpina (usada no tratamento do glaucoma) e a aspirina (analgésica e anti-inflamatória), medicamentos amplamente utilizados que foram descobertos por meio da investigação do princípio ativo de moléculas extraídas de plantas utilizadas na medicina tradicional (Montanari e Bolzani, 2001).

Por fim, o conhecimento gerado sobre os recursos oriundos da biodiversidade pode gerar impactos nos mais variados contextos (econômico, social e ambiental) que, devido à grande complexidade dessas questões, podem ser positivos ou negativos. Dessa forma, a pesquisa em bioprospecção tem ganhado destaque, uma

vez que exige dos pesquisadores um maior envolvimento em todas as questões que permeiam o uso desses produtos, desde o uso sustentável do recurso até a distribuição justa e equitativa dos benefícios gerados. Visando dar visibilidade ao potencial das espécies da Caatinga para a indústria farmacêutica, no presente estudo focamos nos fármacos antifúngicos, mas sabemos que esse potencial vai muito além. Estudos como esse são de fundamental importância, visto que as populações que vivem nessa região apresentam IDH (Índice de Desenvolvimento Humano) muito baixo, e a bioeconomia é uma das ferramentas que pode ser utilizada para o desenvolvimento da região e o enriquecimento dessas populações. Por isso, fizemos este panorama das substâncias que são eficazes contra fungos patogênicos e que já foram comprovadas empiricamente.

Tabela 1 - Estudos envolvendo a atividade antifúngica de espécies da flora da Caatinga.

Espécie	Produto	Principais resultados	Referência
<i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd. ex Mart. (Arecaceae)	Combinação Fluconazol + óleo fixo.	Efeito contra <i>Candida albicans</i> (IC50 = 15,54µg/mL), <i>C.krusei</i> (IC50 = 78,58µg/mL) e <i>C.</i> <i>tropicalis</i> (IC50 = 1588 µg/mL).	Sampaio et al. (2023)a
<i>Attalea speciosa</i> Mart. ex Spreng (Arecaceae)	Óleo fixo.	CIM de 3,1 mg/ml para <i>Candida</i> <i>albicans</i> , 6,3 µl/ml para <i>Candida</i> <i>parapsilosis</i> e 25,0 mg/ml para <i>Candida glabrata</i> .	Viana et al. (2022)
<i>Byrsonima</i> <i>fagifolia</i> Niedenzu (Malpighiaceae)	Extrato hidro- metanólico	Ação antifúngica sobre <i>Cryptococcus</i> spp. em concentrações de 1–16 µg/mL.	Sannomiya et al.(2022)

<p><i>Buchenavia tetraphylla</i> (Aubl.) R. A. Howard (Combretaceae)</p>	<p>Extratos hexânicos, clorofórmios, acetato de etila e metanólicos.</p>	<p>Todos os extratos apresentaram ação sobre cepas de <i>C. albicans</i>. O extrato hexânico com CIM = 1078 µg/mL e CFM = 3250 µg/mL. Clorofórmio com CIM = 641 µg/mL e CFM = 1096 µg/mL. Acetato de etila com CIM = 1250 µg/mL e CFM = 4125 µg/mL. Metanólico com CIM = 750 µg/mL e CFM = 1875 µg/mL.</p>	<p>Cavalcanti-Filho et al. (2017)</p>
<p><i>Caesalpinia pyramidalis</i> Tul. (Caesalpineaceae)</p>	<p>Extratos de actinobactérias isolados da rizosfera.</p>	<p>Eles não foram ativos contra os fungos testados (<i>Fusarium moniliforme</i>, <i>Malassezia furfur</i> e <i>Candida albicans</i>). No entanto, era ativo contra bactérias.</p>	<p>Silva-Lacerda et al. (2016)</p>
<p><i>Caryocar coriaceum</i> Wittm. (Caryocaraceae)</p>	<p>Extratos etanólicos da polpa e casca da fruta.</p>	<p>Ambos inibiram <i>Malassezia</i> spp (CIM/MFC entre 9,77 e 39,6 µg/mL) e <i>Microsporum canis</i> (CIM/MFC entre 4,88 e 9,77 µg/mL).</p>	<p>Alves et al., (2017)</p>
<p><i>Cereus jamacaru</i> DC. (Cactaceae)</p>	<p>Proteínas extraídas do mandacaru (raiz, caule e fruto)</p>	<p>Os extratos proteicos da raiz e do caule inibiram o crescimento vegetativo de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (fitopatogênico) em 43 e 24%, respectivamente.</p>	<p>Mota et al. (2019)</p>
<p><i>Cnidoscolus quercifolius</i> (Pohl) (Euphorbiaceae)</p>	<p>Extratos metanólicos das folhas, raiz e casca da raiz.</p>	<p>Todos inibiram o crescimento de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> com CIM entre 15,62 e 62,5 µg/mL. <i>Lasiodiplodia theobromae</i> foi inibida apenas pelo extrato da folha (CIM de 31,25 µg/mL), mas nenhum extrato inibiu <i>Fusarium solani</i>.</p>	<p>Paredes et al. (2016)</p>

<i>Croton argyrophylloides</i> Müll. Arg. (Euphorbiaceae)	Óleo essencial	Foi ativo contra <i>Microsporium canis</i> (CIM/MFC entre 9 e 78 µg/mL), mas inativo contra <i>Candida</i> spp.	Fontenelle et al. (2008)
<i>Croton nepetaefolius</i> Baill. (Euphorbiaceae)	Óleo essencial	Não inibiu <i>Microsporium canis</i> (MIC > 5000 µg/mL). Também não inibiu <i>Candida</i> spp.	Fontenelle et al. (2008)
<i>Croton zehntneri</i> Pax & K. Hoffm. (Euphorbiaceae)	Óleo essencial	Óleo ativo contra <i>Microsporium canis</i> (MIC/MFC entre 620 e 2500 µg / mL). Apresentou resultados diferentes para <i>Candida</i> spp. (CIM/MFC entre 2500 e 5000 µg/mL contra <i>C. tropicalis</i> e CIM/MFC > 5000 µg/mL contra <i>C. albicans</i>).	Fontenelle et al. (2008)
<i>Cynophalla flexuosa</i> (L.) J. Presl (Capparaceae)	Extrato hidro-etanólico apenas e em combinação com o antifúngico fluconazol.	O efeito antifúngico do extrato foi considerado clinicamente irrelevante. Efeito antagônico Em combinação com o antifúngico (contra <i>C. albicans</i> e <i>C. tropicalis</i>).	Salazar et al. (2022)
<i>Eugenia uniflora</i> Linn (Myrtaceae)	Extratos aquosos, hidro-alcoólicos e hidro-acetônicos das folhas.	Todos apresentaram atividade antifúngica contra <i>Trichophyton rubrum</i> e <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , com CIM/MFC entre 31,3 e 250 µg/mL.	Biasi-garbin et al. (2016)
<i>Eugenia uniflora</i> Linn (Myrtaceae)	Extrato bruto	Faixa de CIM de 1,9 a 500,0 µg/mL contra isolados de <i>Candida albicans</i> .	Ferreita et al. (2020)

<i>Harrisia adscendens</i> (Gürke) Britton & Rose (Cactaceae)	Extratos etanólicos e hidro- alcoólicos da raiz.	Não mostrou ação antifúngica contra <i>C. tropicalis</i> e <i>C.</i> <i>albicans</i> . No entanto, mostrou atividade antibacteriana contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CIM 4 mg/mL).	Santos et al. (2018)
<i>Hymenaea courbaril</i> L. var. <i>courbaril</i> (Fabaceae)	Óleo essencial	Mostrou atividade contra <i>C.</i> <i>albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C.</i> <i>parapsilosis</i> , <i>C. glabrata</i> e <i>C.</i> <i>krusei</i> (CIM entre 0,625 e 1,25 µL/mL e CFM entre 0,625 a 2,5 µL/mL).	Costa et al. (2017)
<i>Libidibia ferrea</i> Mart. (Caesalpinaceae)	Extratos aquosos, hidro- alcoólicos e hidro- acetônicos da casca do caule.	Todos apresentaram atividade antifúngica contra <i>Trichophyton</i> <i>rubrum</i> e <i>Trichophyton</i> <i>mentagrophytes</i> , com CIM/CFM entre 31,3 e 62,5 µg/mL.	Biasi-garbin et al. (2016)
<i>Libidibia ferrea</i> Mart. (Caesalpinaceae)	Extratos hidro- alcoólicos e hidro- acetônicos de folhas.	CIM entre 3,9 e 1000 µg / mL contra <i>Candida</i> .	Ferreira et al. (2020)
<i>Mimosa</i> <i>ophthalmocentra</i> Mart. ex Benth (Mimosaceae)	Extratos aquosos e hidro- alcoólicos da casca do caule.	Todos apresentaram atividade antifúngica contra <i>Trichophyton</i> <i>rubrum</i> e <i>Trichophyton</i> <i>mentagrophytes</i> , com CIM/CFM de 125,0 µg/mL.	Biasi-garbin et al. (2016)
<i>Mimosa tenuiflora</i> Wild. Poir (Mimosaceae)	Extratos aquosos e hidro- acetônicos da	Todos apresentaram atividade antifúngica contra <i>Trichophyton</i> <i>rubrum</i> e <i>Trichophyton</i> <i>mentagrophytes</i> , com CIM/MFC de 62,5 µg/mL.	Biasi-garbin et al. (2016)

	casca do caule.		
<i>Myroxylon peruiferum</i> L.f. (Fabaceae)	Óleo essencial	Apresentou atividade contra <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. glabrata</i> e <i>C. krusei</i> (CIM entre 0,625 e 1,25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ e CFM entre 0,625 e 2,5 $\mu\text{L}/\text{mL}$).	Costa et al. (2017)
<i>Parapiptadenia rigida</i> Benth. Brenan (Fabaceae)	Extratos aquosos, hidro-alcoólicos e hidro-acetônicos da casca do caule.	Todos apresentaram atividade antifúngica contra <i>Trichophyton rubrum</i> e <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , com CIM/MFC de 15,6 a 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$.	Biasi-garbin et al. (2016)
<i>Persea americana</i> Mill (Lauraceae).	Extratos hidro-alcoólicos e hidro-acetônicos das folhas.	Todos apresentaram atividade antifúngica contra <i>Trichophyton rubrum</i> e <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , com CIM/MFC de 31,3 $\mu\text{g}/\text{mL}$.	Biasi-garbin et al. (2016)
<i>Piptadenia colubrina</i> Vell. Benth (Mimosaceae)	Extratos aquosos, hidro-alcoólicos e hidro-acetônicos da casca do caule.	Todos apresentaram atividade antifúngica contra <i>Trichophyton rubrum</i> e <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , com CIM/MFC entre 125,0 e 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$.	Biasi-garbin et al. (2016)
<i>Portulaca elatior</i> Mart. ex Rohrb. (Portulacaceae)	Lectina obtida a partir de extrato salino NaCl 0,15 M	Induziu a morte de <i>Candida albicans</i> , <i>Candida parapsilosis</i> , <i>Candida krusei</i> e <i>Candida tropicalis</i> com MFC de 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$.	Silva et al. (2019)

<i>Prockia crucis</i> P.Browne ex L. (Salicaceae)	Extratos etanólicos de folhas e cascas.	Os extratos apresentaram atividade sinérgica significativa contra <i>C. tropicalis</i> e antagonistas (extrato de casca) para <i>C. albicans</i> .	Calixto-júnior et al. (2015)
<i>Psidium guajava</i> Linn. (Myrtaceae)	Extratos aquosos, hidro-alcoólicos e hidro-acetônicos das folhas.	Todos apresentaram atividade antifúngica contra <i>Trichophyton rubrum</i> e <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , com CIM/CFM entre 62,5 e 125,0 µg/mL.	Biasi-garbin et al. (2016)
<i>Psidium guajava</i> Linn. (Myrtaceae)	Extratos hidro-alcoólicos e hidro-acetônicos de folhas.	CIM entre 3,9 e 1000 µg/mL contra <i>Candida</i> .	Ferreira et al. (2020)
<i>Schinopsis brasiliensis</i> Engl. (Anacardiaceae)	Extrato e hidrogéis formulados.	Atividade contra <i>C. albicans</i> em concentrações de 5, 10, 20, 40 e 80 mg mL ⁻¹ .	Sampaio et al. (2023)b
<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi (Anacardiaceae)	Aqueous and hydro-alcoholic extracts from the stem bark.	All showed antifungal activity against <i>Trichophyton rubrum</i> and <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , with MIC / MFC between 62.5 and 1000 µg / mL.	Biasi-garbin et al. (2016)
spp. <i>Senna</i> Mill <i>S. alata</i> <i>S. obtusifolia</i> <i>S. occidentalis</i> <i>S. siamea</i> <i>S. trachypus</i> (Fabaceae)	Extratos etanólicos.	CIM entre 0,07 mg/mL e 2,5 mg/mL e CFM entre 0,15 e 5,0 mg/mL contra <i>Trichophyton rubrum</i> .	Neves et al. (2022)

<i>Sideroxylon obtusifolium</i> (Roem. & Schult.) T. D. Penn. (Sapotaceae)	Extrato hidroalcoólico das folhas e suas frações.	O extrato foi fungistático (CIM = 1000 µg/mL), a fração diclorometano foi fungistática e fungicida (CIM/MFC = 1000 µg/mL).	Pereira et al. (2016)
<i>Spondias tuberosa</i> Arr. (Anacardiaceae)	Extratos aquosos de folhas e raízes.	A CFM dos extratos foi de ≥16.384 µg/mL contra <i>Candida</i> , mas a associação dos extratos com fluconazol, resultou em valores de IC ₅₀ de 2,62 µg/mL a 308,96 µg/mL	Santos et al. (2023)
<i>Spondias tuberosa</i> Arr. (Anacardiaceae)	Extrato hexânico da folha.	Inibiu o crescimento de isolados normais e clínicos de <i>Cryptococcus neoformans</i> e <i>C. gattii</i> (CIMs entre 0,78 e 3,12 mg/mL).	Cordeiro et al. (2020)
<i>Streptomyces</i> * spp. (Streptomycetaceae)	Extracto bruto e metabolitos isolados.	A atividade antifúngica do extrato bruto contra <i>Penicilium roquerforti</i> foi um efeito cumulativo dos compostos lisolipina I (CIM de 1,6 µg/mL) e análogo da lienomicina (CIM de 0,4 µg/mL).	Rodrigues et al. (2018)
<i>Syagrus cearensis</i> Noblick (Arecaceae)	Combinação de óleo fixo + Fluconazol	Efeito contra as cepas de <i>C. albicans</i> (IC ₅₀ = 3385 µg/mL), <i>C. krusei</i> (IC ₅₀ = 26,67 µg/mL) e <i>C. tropicalis</i> (IC ₅₀ = 1164 µg/mL).	Sampaio et al. (2023)a
<i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels (Myrtaceae)	Extrato hidroalcoólico das folhas e suas frações.	O extrato foi fungistático (CIM = 125 µg/mL) e fungicida (CFM = 500 µg/mL).	Pereira et al. (2016)
<i>Vismia guianensis</i> (Aubl.) Pers.	Óleo essencial	Apresentou atividade contra <i>Candida albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. glabrata</i> e <i>C.</i>	Costa et al. (2017)

(Hypericaceae)		<i>krusei</i> (CIM entre 0,625 e 1,25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ e CFM entre 0,625 e 2,5 $\mu\text{L}/\text{mL}$).	
<i>Vitex gardneriana</i> Schauer (Lamiaceae)	Óleo essencial	Inibiu o crescimento de cepas de <i>Trichophyton rubrum</i> (CIM entre 0,07 e 0,62 mg/mL) e cepas de <i>Candida albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. parapsilosis</i> e <i>C. krusei</i> com CIM de 2,5 mg/ml.	Pereira et al. (2018)

2.1. Extratos e seus isolados com maiores potenciais antifúngicos

A atividade antifúngica apresentada pelos extratos está relacionada aos seus componentes, que em alguns casos atuam isoladamente, mas em outros casos essa atividade é exercida por duas ou mais moléculas, que atuam em sinergia. Os mecanismos pelos quais uma substância pode inibir o crescimento e/ou desenvolvimento de fungos, causando um efeito fungistático ou mesmo fungicida, são os mais diversos (Figura 2). A seguir, discutiremos alguns estudos envolvendo extratos de plantas da Caatinga, bem como suas frações e alguns componentes isolados. O Umbuzeiro, como é popularmente conhecido (*Spondias tuberosa* Arruda), é uma espécie com alto potencial biotecnológico. Diversos benefícios terapêuticos foram descritos para *S. tuberosa*, incluindo o tratamento de distúrbios digestivos, diabetes, cólicas menstruais, diarreia, doença renal, inflamação, infecções bacterianas e dores nos pés (Neto et al., 2010). Um extrato hexânico (HE) das folhas de *S. tuberosa* apresentou atividade contra *Candida glabrata*: ao aumentar os níveis de superóxido mitocondrial, o extrato promoveu hiperpolarização da membrana mitocondrial e comprometeu a membrana lisossomal (Cordeiro et al., 2018).

Cordeiro et al. (2020) deram continuidade aos estudos, avaliando a atividade anticriptocócica desse extrato, tanto in vitro quanto in vivo. Os mecanismos de ação do HE em nível celular também foram investigados, e uma avaliação in vivo com o teste de infecção foi realizada com larvas de *Tenebrio molitor*. HE inibiu o crescimento de quatro isolados de *Cryptococcus*, com Concentrações Inibitórias Mínimas (CIMs)

de $0,78 \pm 0,0$ mg/mL para cepas de *C. neoformans* (ATCC 24067 e RN01) e $3,12 \pm 0,0$ mg/mL para cepas de *C. gattii* (ATCC 24065 e 547). O HE utilizado nesta investigação foi o mesmo empregado por Cordeiro et al. (2018), que relataram a presença de flavonoides, taninos hidrolisáveis, saponinas, terpenos e ácidos graxos insaturados. A presença de ácido gálico ($0,28 \pm 0,0076$ g%) e hiperosídeo ($1,27 \pm 0,0128$ g%) foi detectada no extrato. O tratamento com HE causou ($p < 0,05$) a produção de altos níveis de ânion superóxido em ambas as espécies e induziu a despolarização das membranas mitocondriais de *C. gattii* ($p < 0,05$), com índices de variação (IV) de -0,89 e -0,93 nos tratamentos com 2x e 4x CIM, respectivamente. Nas células de *C. neoformans*, também foi detectada boa atividade inibitória, com valores de IV de -0,92 e -0,97 para os tratamentos com 2x e 4x CIM, respectivamente (Cordeiro et al., 2020). O extrato também afetou a integridade das membranas lisossomais: para *C. gattii*, a incorporação de laranja de acridina pelas células diminuiu significativamente ($p < 0,05$), em 37,58% e 40,30%, quando incubadas com HE a 2x e 4x CIM, respectivamente. Para *C. neoformans*, as reduções foram de 65,03% e 31,76% para os tratamentos 2x e 4x CIM, respectivamente ($p < 0,05$). Finalmente, o tratamento com HE desencadeou apoptose, evidenciada por um número significativamente maior de células coradas com anexina para *C. gattii* (71% a 4x CIM) e *C. neoformans* (~ 100% a 2x e 4x CIM), em comparação com o controle ($p < 0,05$) (Cordeiro et al., 2020).

A faveleira (*Cnidocolus quercifolius* Pohl) é uma planta que se destaca por sua extraordinária resistência à seca e por suas propriedades medicinais. O objetivo do estudo de Paredes et al. (2016) foi avaliar o potencial terapêutico de compostos extraídos da faveleira na prevenção de doenças e seu uso racional como ferramenta terapêutica. Para determinar as atividades biológicas, os autores realizaram uma investigação das atividades antioxidante e antimicrobiana, da capacidade de inibição da enzima acetilcolinesterase e uma avaliação inicial da toxicidade dos extratos. Os resultados demonstraram o grande potencial desses compostos como agente antimicrobiano e com significativa capacidade antioxidante, porém a resposta de inibição da acetilcolinesterase não foi significativamente diferente em comparação ao fármaco de referência. Os autores esperam desenvolver um novo fitoterápico, resultando em menores custos de produção e, conseqüentemente, que possa ser

comercializado de forma mais acessível à população, e principalmente reduzindo o risco de contraindicação para essa categoria de fármacos (Paredes et al., 2016).

Calixto-Júnior et al. (2015) testaram a atividade antifúngica de extratos etanólicos de *Prockia cruces* (Salicaceae), coletados em uma área de Caatinga no Ceará, Brasil. O grupo utilizou evaporação rotativa para obter um extrato bruto a partir de suspensões etanólicas preparadas a partir de amostras de folhas e cascas. A análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em fase reversa mostrou predominância de cumarina e kaempferol no extrato da folha e quercitrina, luteolina e ácido gálico no extrato da casca. O efeito antifúngico foi avaliado para as leveduras *Candida albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei*, com uma cepa de referência e um isolado clínico multirresistente de cada uma das três espécies. Nenhum efeito antifúngico clinicamente significativo foi encontrado para os extratos contra qualquer uma das espécies (CIM \geq 1024 $\mu\text{g/mL}$). O efeito antifúngico modulador do fluconazol também foi testado usando os extratos em concentração subinibitória (CIM/8). Embora nenhum efeito significativo tenha sido encontrado para *C. krusei*, uma ação sinérgica foi promovida pelos extratos de folhas e cascas para *C. tropicalis*, e um antagonismo significativo foi observado em *C. albicans* tratada com uma combinação de fluconazol e extrato de casca. Os autores propuseram que o efeito sinérgico dos extratos sobre *C. tropicalis* poderia derivar da presença de compostos fenólicos ativos, que podem alterar a permeabilidade da membrana das células de levedura e facilitar a entrada do fármaco antifúngico. O estudo também incluiu um ensaio de sequestro de 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) para atividade antioxidante, que encontrou resultados relevantes com valores de CE50 de 137,64 e 47,731 $\mu\text{g/mL}$ para extratos de folhas e cascas, respectivamente (Calixto-júnior et al., 2015).

Um estudo mais recente de Cordeiro et al. (2018) também avaliou a atividade anti-*Candida* de extratos de plantas da Caatinga. Um extrato hexânico foi preparado a partir das folhas da árvore frutífera *Spondias tuberosa*, que ocorre no estado brasileiro de Pernambuco, e testado contra *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*. Os dois últimos não apresentaram alteração no crescimento sob exposição ao extrato da folha de *S. tuberosa*. No entanto, a inibição do crescimento foi observada em leveduras *C. albicans* e *C. glabrata*, com valores de MIC50 de 2,0 e 0,078 mg/mL, respectivamente. Devido aos resultados mais pronunciados, *C. glabrata* foi selecionada para investigações adicionais abordando as potenciais alterações

subcelulares induzidas pelo tratamento com o extrato. Os resultados revelaram hiperpolarização da membrana mitocondrial, dano à membrana lisossomal e aumento dos níveis do ânion superóxido mitocondrial. Em uma avaliação preliminar de segurança *in vitro*, o extrato da folha de *S. tuberosa* foi considerado não hemolítico, com um valor de CE_{50} de $740,8 \pm 61,09 \mu\text{g/mL}$. A análise fitoquímica do extrato, incluindo cromatografia em camada delgada, HPLC e ressonância magnética nuclear (RMN), identificou a presença de flavonoides, taninos hidrolisáveis, saponinas, terpenos, ácido gálico, hiperosídeo e ácidos graxos insaturados. Além disso, o extrato da folha de *S. tuberosa* apresentou atividade antioxidante moderada nos ensaios DPPH e ABTS, com valores de CL_{50} de 234,00 e 123,33 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (Cordeiro et al., 2018).

Biasi-Garbin et al. (2016) selecionaram 23 extratos brutos de nove plantas coletadas na Caatinga, no Nordeste do Brasil, contra duas cepas de referência de dermatófitos. A extração por refluxo foi usada para produzir extratos aquosos, etanólicos ou acetônicos, e os extratos brutos foram diluídos em série em DMSO para o ensaio de atividade antifúngica. Todas as plantas (mas não todos os extratos) apresentaram efeito antifúngico sobre pelo menos uma espécie fúngica, com MIC_{50}/MFC (concentração fungicida mínima) entre 15,6 e 250,0 $\mu\text{g/mL}$. A menor concentração (15,6 $\mu\text{g/mL}$) ativa sobre ambas as espécies fúngicas foi encontrada para o extrato acetônico de *Parapiptadenia rigida*. Com base nos resultados da triagem e na disponibilidade do extrato, as plantas *Eugenia uniflora*, *Libidibia ferrea* e *Persea americana* foram testadas quanto à atividade antifúngica contra 33 isolados clínicos de *Trichophyton* spp. Os extratos selecionados apresentaram efeito antifúngico em todos os isolados clínicos, com a maioria dos valores de MIC_{50}/MFC variando de 7,8 a 62,5 $\mu\text{g/mL}$. Uma concentração de 31,3 $\mu\text{g/mL}$ de extrato aquoso de *L. ferrea* inibiu o crescimento de todas as cepas em 50%. Os resultados do estudo mostram como o solvente empregado para a produção do extrato pode influenciar a atividade biológica final, pois é provável que altere a composição e a quantidade de constituintes no extrato. Embora o estudo não tenha incluído análise fitoquímica, os autores consultaram a literatura disponível para sugerir os taninos, compostos fenólicos, presentes nos extratos de *P. rigida* e *L. ferrea*, como potencial agente antifúngico (Biasi-garbin et al., 2016).

Alves et al. (2017) avaliaram a atividade antifúngica de extratos da planta da Caatinga *Caryocar coriaceum* coletados no Ceará, Brasil, contra os dermatófitos *Malassezia* sp. e *Microsporum canis*. Extratos etanólicos da casca e polpa de *C. coriaceum* foram obtidos por evaporação rotativa e testados em concentrações de 2.500,00 a 2,44 mg/mL em três cepas de cada espécie fúngica. Os extratos apresentaram efeito antifúngico contra todas as cepas testadas, com MIC/MFC variando de 39,1 a 4,1 mg/mL e os resultados foram melhores para *M. canis*. Nenhum dos extratos apresentou atividade hemolítica significativa na concentração de 0,1 mg/mL. Ensaio espectrofotométrico detectaram níveis mais elevados de fenóis e flavonoides nos extratos da casca, e a análise de flavonoides por HPLC mostrou predominância de isoquercitrina em ambos os extratos. A atividade antioxidante avaliada pelo ensaio DPPH também revelou melhores resultados para os extratos da casca, com um valor de IC₅₀ de 25,5 mg/mL, em oposição a 49,4 mg/mL para o extrato da polpa. Os autores do estudo recomendaram a investigação de outros componentes do extrato além dos flavonoides e a avaliação da biodisponibilidade dos extratos in vivo (Alves et al., 2017).

Mandacaru, nome popular dado à espécie *Cereus jamacaru* DC., cactácea símbolo dessa vegetação no Nordeste do Brasil, apesar de muito popular, tem sido alvo de poucos estudos sobre suas propriedades bioquímicas. A atividade antifúngica contra *Colletotrichum gloeosporioides* mostrou que o extrato da raiz possui uma promissora atividade inibitória sobre esse importante fungo fitopatogênico. Embora não seja um patógeno humano, essa espécie afeta negativamente a produtividade de certas espécies alimentares, causando sérios impactos na economia. Outro aspecto importante deste estudo, que o torna ainda mais relevante para nós, é a investigação do modo de ação e determinação do alvo na célula fúngica. Após o contato das hifas com o extrato da raiz, houve aumento da permeabilidade da membrana, com base na captação de iodeto de propídio (PI) e produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), em comparação ao controle negativo (Mota et al., 2019). Além disso, uma análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) mostrou danos morfológicos na estrutura das hifas, indicando que o tratamento enfraquece a membrana celular ou parede celular, o que leva à morte celular de *C. gloeosporioides*. O estudo pioneiro demonstrado por Mota et al. (2019) também traz dados muito relevantes sobre a atividade enzimática de *Cereus jamacaru* em diferentes tecidos. Foi avaliada a

presença de enzimas como peroxidase, protease, quitinase, β -1,3-glucanase, serina (tripsina), cisteína (papaína) e inibidores de protease. A atividade da peroxidase foi maior nas raízes do que em outros tecidos. A atividade da B-1,3-glucanase e a atividade proteolítica foram proeminentes no caule e nas raízes. A atividade da quitinase e os inibidores de protease para ambas as classes analisadas foram detectados no caule e na casca do fruto.

Com o surgimento de patógenos resistentes aos antifúngicos, somado aos efeitos colaterais desses medicamentos em pacientes, os pesquisadores foram estimulados na busca por novos candidatos para o manejo de biofilmes. Isso ocorre porque a formação de biofilmes impede que os medicamentos penetrem nas células fúngicas, perdendo sua eficácia. No estudo de Pereira et al. (2016), as espécies pouco conhecidas *Sideroxylon obtusifolium* TD Penn e *Syzygium cumini* (L.) Skeels, ambas do bioma Caatinga, no Brasil, foram caracterizadas quimicamente e investigadas quanto ao seu potencial antifúngico contra *Candida albicans*. Testes foram realizados para determinar os efeitos dos extratos e suas frações sobre os fungos. Os resultados da fração n-butanol (Nb) de *S. obtusifolium* e do extrato de *S. cumini* (Sc) apresentaram flavonoides e saponinas, respectivamente, em sua composição química e demonstraram atividade antifúngica, com CIMs de 62,5 e 125 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Seus resultados demonstraram que Nb e Sc podem se complexar com ergosterol, visto que houve um aumento de 4 a 16 vezes nas CIMs na presença de ergosterol exógeno, levando à interrupção da permeabilidade da membrana celular (Pereira et al., 2016). Efeitos deletérios foram observados na morfologia e viabilidade de biofilmes tratados em concentrações tão baixas quanto seus CIMs e superiores. O extrato de *S. cumini* não foi tóxico para macrófagos e queratinócitos nessas concentrações ($p > 0,05$), ao contrário da fração Nb de *S. obtusifolium*. Os autores concluem que tanto o Nb quanto o Sc demonstraram considerável atividade antifúngica e devem ser investigados como potenciais candidatos alternativos para o tratamento de biofilmes de *Candida* spp.

Em relação à pesquisa relacionada à atividade antifúngica de proteínas, atenção especial tem sido dada às lectinas, uma vez que elas têm a capacidade de se ligar especificamente a carboidratos. Dessa forma, elas podem interagir com carboidratos presentes nas paredes celulares das células fúngicas. Ao interagir com β -glucana, α -manana e quitina, presentes nas paredes, algumas lectinas podem

causar ruptura da parede celular, interferência na germinação de esporos, inibição do crescimento e redução da absorção de nutrientes (Santos et al., 2012; Silva et al., 2018; Sze e Tzi, 2011). Podem também atuar na parede celular, alterando sua estrutura e conseqüentemente sua permeabilidade (Boleti et al., 2007; Sze e Tzi, 2011).

Silva et al. (2019) isolaram a lectina PeRoL de raízes de *Portulaca elatior*. Essa lectina apresentou propriedades fungistáticas, fungicidas e bacteriostáticas. Além disso, apresentou excelente termoestabilidade e não foi tóxica para células humanas saudáveis, o que a torna uma ótima candidata à terapia antifúngica. O mecanismo de ação da PeRoL não foi investigado no estudo de Silva et al. (2019), mas podemos listar algumas hipóteses baseadas em estudos anteriores com outras lectinas. CasuL, uma lectina termoestável e ácida isolada de *Calliandra surinamensis*, causou danos à parede celular de *C. krusei*, e também promoveu alterações na morfologia celular (Procópio et al., 2017).

Os óleos essenciais também são produtos com pronunciada atividade antifúngica. Eles são obtidos de diversos órgãos vegetais, como flores, caules, folhas, ramos, frutos, sementes, raízes, madeira ou casca. A produção e a constituição química do óleo desempenham um importante papel ecológico na proteção das plantas contra microrganismos e herbívoros, além de atraírem insetos polinizadores e dispersores de sementes. Pode-se afirmar que, na natureza, os óleos essenciais são produzidos quando as espécies vegetais estão sob estresse fisiológico, seja ele desencadeado por fatores climáticos ou biológicos (Bizzo et al., 2009; Dhifi et al., 2016; Nieto, 2017). A composição química dos óleos essenciais está diretamente relacionada às atividades farmacológicas citadas, assim, o estudo de espécies vegetais com potencial terapêutico tem sido um assunto abordado em diversos estudos. Atualmente, esses óleos vêm ganhando destaque no setor farmacêutico, devido à necessidade de desenvolvimento de novos fármacos, pois as classes de fármacos disponíveis apresentam limitações, enquanto as descobertas de compostos vegetais com ações antibacteriana, antifúngica, inseticida e antioxidante são crescentes, além de sua extensa aplicação industrial em cosméticos (Abdelli et al., 2016; Ayvaz et al., 2010; Popovic-djordjevic et al., 2018). Em relação ao potencial antifúngico, revisando a literatura, é possível identificar inúmeros estudos que mostram o potencial dos OEs para essa finalidade. Como pode ser observado no

estudo de Costa et al. (2017), que analisou o potencial antifúngico de três espécies da flora brasileira (*Hymenaea courbaril* var. *courbaril*, *Myroxylon peruiferum* e *Vismia guianensis*). Nesse estudo, OEs foram obtidos por hidrodestilação e caracterizados quimicamente, onde os óleos das espécies *H. courbaril*, *M. peruiferum* e *V. guianensis* mostraram-se ricos em compostos da classe dos mono- e sesquiterpenos, além de substâncias como trans-cariofileno, δ -cadineno e óxido de cariofileno. Todas as espécies de *Candida* testadas foram sensíveis aos óleos essenciais com valores de CIM variando de 0,625 a 1,25 L/mL. As espécies *C. albicans* e *C. krusei* foram mais sensíveis ao óleo de *V. guianensis*, enquanto as espécies *C. glabrata* e *C. parapsilosis* foram mais sensíveis ao óleo de *H. courbaril*. Por fim, o estudo também apontou que o efeito de todos os óleos sobre as espécies de *Candida* pode ser considerado fungicida.

Pereira et al. (2018) realizaram um estudo com o óleo essencial das folhas de *Vitex gardneriana*, a fim de analisar o ritmo circadiano bem como o potencial antifúngico e anticolinesterásico da espécie. Para isso, as folhas do espécime foram coletadas em diferentes horários (8h, 12h e 17h) e analisadas quimicamente, onde foi observada predominância de constituintes da classe dos sesquiterpenos, com componentes majoritários como cis-calameneno, guaiadieno e óxido de cariofileno. Os OEs extraídos em diferentes horários foram analisados e apresentaram capacidade de inibir a atividade da acetilcolinesterase, fato que os autores atribuíram à presença de determinados constituintes químicos nos OEs, como: α -pineno, β -pineno e β -cariofileno. Entretanto, o destaque deste estudo é o relato inédito de atividade fungistática contra cepas de *Trichophyton rubrum*. Além disso, testes de atividade moduladora com a combinação do antifúngico cetoconazol e óleos essenciais demonstraram aumento da atividade antifúngica do cetoconazol, porém essa interação não foi caracterizada como farmacologicamente sinérgica, apenas aditiva. Em relação às espécies de *Candida* testadas, o OE não apresentou atividade significativa.

Em um estudo realizado por Fontenelle et al. (2008), três espécies do gênero *Croton* foram analisadas com o objetivo de caracterizar suas atividades antifúngicas contra *Candida* spp. e *Microsporum canis*, e avaliar os efeitos toxicológicos agudos in vivo. Foram testados os óleos essenciais das espécies *C. nepetaefolius*, *C. argyrophylloides* e *C. zehntneri*, amplamente utilizadas na medicina popular em áreas

de Caatinga. Análises químicas mostraram que a espécie *C. nepetaefolius* apresenta como principais constituintes metil-eugenol e biciclogermacreno, enquanto os principais constituintes de *C. argyrophyloides* são espatulenol e biciclogermacreno, e os de *C. zehntneri* são estragol e anetol. Quanto às atividades biológicas, o estudo indicou OEs como agentes antifúngicos promissores. Usando o método de difusão em ágar aplicado, o óleo essencial de *C. zehntneri* foi eficaz contra cepas de *M. canis* e espécies de *Candida*, enquanto os óleos essenciais de *C. nepetaefolius* e *C. argyrophyloides* foram eficazes apenas contra cepas de *M. canis*. Quanto à toxicidade in vivo, nenhum dos óleos essenciais testados mostrou sinais significativos de toxicidade após administração oral de até 3g/kg. Devido à sua relevante atividade antifúngica contra *M. canis* e à sua baixa toxicidade, os óleos essenciais dessas espécies de *Croton* têm se mostrado fontes promissoras de novos agentes fitoterápicos para o tratamento de micoses relacionadas a esse patógeno.

Santos et al. (2018) também realizaram um estudo para demonstrar a propriedade antifúngica contra *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Candida tropicalis* a partir de um OE de folhas de *Eugenia uniflora*. Na análise química, alguns compostos se destacam, especificamente selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (36,37%) e selina-epóxido-1,3,7(11)-trien-8-ona (27,32%). Nos testes com *C. albicans* e *C. tropicalis*, o OE só foi capaz de reduzir o número de células fúngicas em altas concentrações (maiores que 4096 µg/mL e 4096 µg/mL, respectivamente), conseguindo reduzir o número de células viáveis em 50% em *C. tropicalis*. Nos testes com *C. krusei*, o OE apresentou altos valores de inibição, demonstrando que foi observada uma redução aproximada de 50% no crescimento fúngico na concentração de 8192 µg/mL. Os resultados desta pesquisa demonstraram atividade antifúngica, porém não tão promissora devido à necessidade de altas concentrações de OE, fato que implica em maior risco de toxicidade.

Em outro estudo, Houicher et al. (2018) investigaram o potencial antifúngico de um OE das partes aéreas de *Anacyclus valentinus* contra 7 fungos toxigênicos, nos quais as cepas fúngicas mais sensíveis foram *Fusarium graminearum*, *Aspergillus parasiticus* e *Penicillium expansum*, com a menor concentração fungicida mínima (1,25 µl/ml (v/v)). O óleo também teve um forte efeito fungicida contra *A. flavus* e *F. moniliforme* em um valor de MFC de 2,5 µl/ml, enquanto uma concentração de óleo de 10 µl/ml foi necessária para mostrar atividade fungicida contra *A. ochraceus* e *P.*

citrinum. Na análise da composição química do OE, os principais compostos foram δ -3-careno (31%), espatulenol (14,2%), ácido decanóico (5,5%), δ -cadineno (4,4%), anetol (3,4%) e aromadendeno (3,3%). A atividade antifúngica apresentada em tal estudo foi baseada na presença de constituintes majoritários como espatulenol, δ -cadineno e anetol, já listados como antifúngicos na literatura.

Finalmente, diante de todas essas evidências, esperamos ter demonstrado o potencial de espécies nativas da Caatinga para a indústria farmacêutica e pesquisadores na área de farmacologia de produtos naturais. Agora, explicaremos a aplicabilidade desses estudos com exemplos práticos realizados em outras partes do mundo, onde esse potencial levou ao desenvolvimento de medicamentos.

3.2 Terapia moderna e perspectivas futuras

Os medicamentos utilizados na terapia moderna movimentam 1,1 trilhão de dólares no mercado global anualmente, e os produtos naturais ocupam uma fatia significativa desse mercado. Em números, dos 520 novos medicamentos aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) no período entre 1983 e 1994, 39% eram produtos naturais ou seus derivados (Calixto, 2019). Em relação aos antifúngicos aprovados pela FDA no período de 1981 a 2010, 32 novos medicamentos entraram no mercado. Entre eles, três são miméticos de produtos naturais: cloridrato de butenafina, liranafato e cloridrato de terbinafina. Outros três medicamentos são derivados de um produto natural com alguma modificação semissintética: anidulafungina, acetato de caspofungina e micafungina sódica. Além disso, o interferon gama-n1 aparece como um medicamento de origem totalmente natural (Newman e Cragg, 2016).

Apesar dos milhares de metabólitos isolados e caracterizados em todo o mundo, apenas 10% dessa biodiversidade foi estudada. Além disso, a grande maioria ainda não foi biologicamente testada (Verpoorte, 1998). Há exemplos de países em desenvolvimento, como China e Índia, onde programas de bioprospecção para o desenvolvimento de novos fármacos têm sido muito bem-sucedidos. A partir da interação indústria-universidade, o desenvolvimento de medicamentos de origem natural acabou contribuindo para o fortalecimento do PIB (Produto Interno Bruto). O Brasil, como país líder em biodiversidade, também tem capacidade para desenvolver

medicamentos para a indústria farmacêutica global. Nesse sentido, os ecossistemas da Caatinga apresentam imenso potencial para bioprospecção, visto que grande parte de sua biodiversidade molecular permanece inexplorada. Na medida em que essa exploração seja baseada nos princípios do desenvolvimento sustentável, ela será decisiva para o desenvolvimento da região e do país.

Ainda existe um número limitado de classes de antifúngicos comerciais oficialmente disponíveis (Figura 2), muitos dos quais apresentam o mesmo mecanismo de ação, sendo resultado dos poucos alvos conhecidos até o momento em células fúngicas (Pierce et al., 2013). Esse arsenal não diverso às vezes é ineficaz devido à resistência microbiana (Ramage et al., 2012), levando a infecções fúngicas persistentes ou recorrentes no ambiente clínico. Somado a isso, alguns dos antifúngicos sintéticos são potencialmente tóxicos para as células hospedeiras devido às semelhanças que seus componentes apresentam com os componentes das células humanas, como os esteróis (Berman e Sudbery, 2002).

Estima-se que, em um futuro próximo, o fenômeno da resistência microbiana levará o número de mortes por infecções microbianas a números semelhantes aos da era pré-antibióticos. Isso se deve tanto à capacidade mutagênica desses agentes quanto ao uso indiscriminado de antibióticos (OMS, 2020). Aliado a isso, agravando ainda mais a situação, a indústria farmacêutica vem perdendo o interesse em investir em medicamentos antimicrobianos, pois, quando um medicamento é lançado no mercado, logo perde sua eficácia por estimular a resistência dos microrganismos. Por conta disso, os investimentos estão cada vez mais escassos, sendo direcionados para outros medicamentos, como anti-hipertensivos e anticâncer, por exemplo (Spellberg et al., 2004).

Uma alternativa para reverter esse cenário pessimista é a terapia híbrida. Muitos estudos têm sido realizados nesse sentido, onde são feitas combinações chamadas de "blends" entre os antifúngicos presentes no mercado e extratos vegetais. Os resultados até o momento disponíveis na literatura são bastante animadores e mostram uma gama de substâncias extraídas de plantas que, isoladamente, não são eficazes contra cepas resistentes, mas quando combinadas com medicamentos convencionais atuam sinergicamente e podem reverter a resistência, tornando o fungo sensível ao medicamento. Esse sinergismo pode ocorrer das mais variadas formas e as moléculas envolvidas no processo devem ser

estudadas caso a caso. No entanto, a terapia híbrida parece muito promissora, pois consegue modular a resistência fúngica, o que tem sido um grande desafio para pesquisadores da área há muito tempo. Muitos pesquisadores apostam em extratos de plantas como adjuvantes no tratamento dessas infecções, pois podem até mesmo prevenir o surgimento de resistência, já que seu modo de ação envolve mais de um alvo na célula fúngica. Essa abordagem parece ser cada vez mais uma realidade para futuros tratamentos terapêuticos.

3 CONCLUSÕES

Considerando que esta região é a mais biodiversa do semiárido mundial, podemos assumir que ainda há um vasto campo a ser explorado pela indústria farmacêutica. O atual estado da arte em farmacologia de infecções fúngicas revela um futuro pandêmico caso não sejam encontradas novas estratégias para combater cepas que estão se tornando resistentes aos antifúngicos convencionais. Nesse contexto, a quimiodiversidade da flora da Caatinga pode ser uma das soluções para esse cenário, visto que se apresenta como uma rica fonte para a indústria farmoquímica. Além disso, esses dados podem ser extrapolados para espécies de outras regiões do mundo que também possuam esses bioativos. No entanto, o uso racional e sustentável desse recurso se faz necessário.

4 REFERÊNCIAS

ABDELLI, M. et al. Algerian *Mentha pulegium* L. leaves essential oil: Chemical composition, antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*, v. 94, p. 197–205, 2016.

ALVES, D. R. et al. Flavonoid composition and biological activities of ethanol extracts of *Caryocar coriaceum* Wittm., a native plant from Caatinga biome. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2017, p. 1–7, 2017.

AYVAZ, A. et al. Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. *Journal of Insect Science*, v. 10, p. 1–13, 2010.

AZEVEDO, C. M. A. Bioprospecção: coleta de material biológico com a finalidade de explorar os recursos genéticos. 2. ed. São Paulo: Conselho Nacional da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica, 2003.

BERMAN, J.; SUDBERY, P. E. *Candida albicans*: uma revolução molecular construída em lições de fermento em crescimento. *Nature Reviews Genetics*, v. 3, p. 918–930, 2002.

BIASI-GARBIN, R. P. et al. Antifungal potential of plant species from Brazilian Caatinga against dermatophytes. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 58, p. 18, 2016.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. *Química Nova*, v. 32, p. 588–594, 2009.

BOLETI, A. P. et al. Insecticidal and antifungal activity of a protein from *Pouteria torta* seeds with lectin-like properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, p. 2653–2658, 2007.

BRAND, M. A. Potencial de uso da biomassa florestal da caatinga, sob manejo sustentável, para geração de energia. *Ciência Florestal*, v. 27, n. 1, 2017.

CALIXTO-JÚNIOR, J. T. C. et al. Phenolic composition and anticholinesterase, antioxidant, antifungal and antibiotic modulatory activities of *Prockia crucis* (Salicaceae) extracts collected in the Caatinga biome of Ceará State, Brazil. *European Journal of Integrative Medicine*, v. 7, p. 547–555, 2015.

CALIXTO, J. B. The role of natural products in modern drug discovery. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 91, 2019.

CAMPBELL, A. K. *Save those molecules! Molecular biodiversity and life*. *Journal of Applied Ecology*, v. 40, p. 193–203, 2003.

CAVALCANTI-FILHO, J. R. N. et al. Antimicrobial activity of *Buchenavia tetraphylla* against *Candida albicans* strains isolated from vaginal secretions. *Pharmaceutical Biology*, v. 55, p. 1521–1527, 2017.

CORRÊA, L.; SILVA, E. U. *Uso racional de antimicrobianos e a resistência microbiana*. In: MEDEIROS, E. A. S. et al. *Uso racional de antimicrobianos para prescritores*. São Paulo: Organização Pan-Americana da Saúde; ANVISA; UNIFESP, 2008.

CORDEIRO, B. M. P. C. et al. Hexane extract from *Spondias tuberosa* (Anacardiaceae) leaves has antioxidant activity and is an anti-*Candida* agent by causing mitochondrial and lysosomal damages. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 18, p. 284, 2018.

CORDEIRO, B. M. P. C. et al. Anticryptococcal activity of hexane extract from *Spondias tuberosa* Arruda and associated cellular events. *Journal de Mycologie Médicale*, v. 30, 2020.

COSTA, M. C. M. F. et al. Essential oils from leaves of medicinal plants of Brazilian flora: chemical composition and activity against *Candida* species. *Medicines*, v. 4, p. 27, 2017.

DHIFI, W. et al. Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: a critical review. *Medicines*, v. 3, n. 4, p. 1–16, 2016.

FERREIRA, M. R. A. et al. In vitro antifungal activity and phytochemical characterization of *Eugenia uniflora*, *Libidibia ferrea* and *Psidium guajava*. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 56, p. e18456, 2020.

FONTENELLE, R. O. S. et al. Antifungal activity of essential oils of *Croton* species from the Brazilian Caatinga biome. *Journal of Applied Microbiology*, v. 104, p. 1383–1390, 2008.

FRIEDMAN, W. E.; MOORE, R.; PURUGGANAN, M. D. Evolution of plant development. *American Journal of Botany*, v. 91, p. 1726–1741, 2004.

GAFFI – Global Action Fund for Fungal Infections. *Why fungal diseases matter*. 2021. Disponível em: <https://www.gaffi.org/why/fungal-disease-frequency>. Acesso em: 11 abr. 2024.

GORLACH-LIRA, K.; COUTINHO, H. D. M. Population dynamics and extracellular enzymes activity of mesophilic and thermophilic bacteria isolated from semi-arid soil of northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 38, p. 135–141, 2007.

HOUICHER, A. et al. Chemical composition and antifungal activity of *Anacyclus valentinus* essential oil from Algeria. *Food Bioscience*, v. 25, p. 28–31, 2018.

HSU, J. How COVID-19 is accelerating the threat of antimicrobial resistance. *BMJ*, v. 369, m1983, 2020.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE – MMA. Analysis of biodiversity variations in the Caatinga biome: support for regional conservation strategies. Brasília: MMA, 2005.

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. *Química Nova*, v. 24, p. 105–111, 2001.

MOTA, T. R. et al. Protein extract from *Cereus jamacaru* (DC.) inhibits *Colletotrichum gloeosporioides* growth by stimulating ROS generation and promoting severe cell membrane damage. *Microbial Pathogenesis*, v. 130, p. 71–80, 2019.

MURRAY, A. K. The Novel Coronavirus COVID-19 Outbreak: Global Implications for Antimicrobial Resistance. *Frontiers in Microbiology*, v. 11, p. 1020, 2020.

NETO, E. M. F. L.; PERONI, N.; ALBUQUERQUE, U. P. Traditional Knowledge and Management of Umbu (*Spondias tuberosa*, Anacardiaceae): An Endemic Species from the Semi-Arid Region of Northeastern Brazil. *Economic Botany*, v. 64, p. 11–21, 2010.

NEVES, A. M. et al. Chemical prospecting and antioxidant, anticholinesterase and antifungal activity of ethanol extracts from *Senna* Mill. species (Fabaceae). *Hoehnea*, v. 49, e1112020, 2022.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*, v. 79, p. 629–661, 2016.

NIETO, G. Biological activities of three essential oils of the Lamiaceae family. *Medicines*, v. 63, p. 1–10, 2017.

PAREDES, P. F. M. et al. Screening of bioactivities and toxicity of *Cnidocolus quercifolius* Pohl. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2016, p. 7930563, 2016.

PEREIRA, J. V. et al. Antifungal potential of *Sideroxylon obtusifolium* and *Syzygium cumini* and their mode of action against *Candida albicans*. *Pharmaceutical Biology*, v. 54, p. 2312–2319, 2016.

PEREIRA, E. J. P. et al. Circadian rhythm, and antimicrobial and anticholinesterase activities of essential oils from *Vitex gardneriana*. *Natural Product Communications*, v. 13, p. 635–638, 2018.

PIERCE, C. G. et al. Antifungal therapy with an emphasis on biofilms. *Current Opinion in Pharmacology*, v. 13, p. 726–730, 2013.

POPOVIC-DJORDJEVIC, J. B.; JEVTIC, I. I.; STANOJKOVIC, T. P. Antidiabetics: structural diversity of molecules with a common aim. *Current Medicinal Chemistry*, v. 25, p. 2140–2165, 2018.

PROCÓPIO, T. F. et al. CasuL: a new lectin isolated from *Calliandra surinamensis* leaf pinnulae with cytotoxicity to cancer cells, antimicrobial activity and antibiofilm effect. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 98, p. 419–429, 2017.

RAMAGE, G. et al. Fungal biofilm resistance. *International Journal of Microbiology*, v. 2012, p. 528521, 2012.

RAMAWAT, K. G.; DASS, S.; MATHUR, M. The Chemical Diversity of Bioactive Molecules and Therapeutic Potential of Medicinal Plants. In: RAMAWAT, K. G. (ed.). *Herbal Drugs: Ethnomedicine to Modern Medicine*. p. 7–32. Springer: 2009.

RODRIGUES, J. P. et al. Characterization and mapping of secondary metabolites of *Streptomyces* sp. from caatinga by desorption electrospray ionization mass spectrometry (DESI–MS). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 410, p. 7135–7144, 2018.

SALAZAR, G. J. T. et al. Antioxidant and Antifungal Activity of the *Cynophalla flexuosa* (L.) J. Presl (Capparaceae) against Opportunistic Fungal Pathogens. *Future Pharmacology*, v. 2, p. 16–30, 2022.

SAMPAIO, R. S. L. et al. Chemical composition and antimicrobial potential of *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. and *Syagrus cearensis* Noblick (Arecaceae). *Microbial Pathogenesis*, v. 180, p. 106147, 2023a.

SAMPAIO, T. P. D. et al. Biological evaluation and compatibility study of oral mucoadhesive hydrogel formulations using *Schinopsis brasiliensis* Engler. extract and excipients. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 148, p. 141–158, 2023b.

SANNOMIYA, M. et al. Galloylquinic acid derivatives from *Byrsonima fagifolia* leaf extract and potential antifungal activity. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 297, p. 115534, 2022.

SANTOS, A.; NAPOLEÃO, T. H.; PAIVA, P. M. G.; COELHO, L. C. B. B. Lectins: important tools for biocontrol of *Fusarium* species. In: RIOS, T. F.; ORTEGA, E. R. (Ed.). *Fusarium: Epidemiology, Environmental Sources and Prevention*. New York: Nova Science Publishers, 2012.

SANTOS, J. F. S. et al. Chemical composition, antifungal activity and potential anti-virulence evaluation of the *Eugenia uniflora* essential oil against *Candida* spp. *Food Chemistry*, v. 261, p. 233–239, 2018.

SANTOS, A. T. L. et al. UPLC-MS-ESI-QTOF Analysis and Antifungal Activity of Aqueous Extracts of *Spondias tuberosa*. *Molecules*, v. 28, p. 305, 2023.

SILVA-LACERDA, G. R. et al. Antimicrobial potential of actinobacteria isolated from the rhizosphere of the Caatinga biome plant *Caesalpinia pyramidalis* Tul. *Genetics and Molecular Research*, v. 15, gmr15017488, 2016.

SILVA, P. M. et al. PgTeL, the lectin found in *Punica granatum* juice, is an antifungal agent against *Candida albicans* and *Candida krusei*. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 108, p. 391–400, 2018.

SILVA, J. D. F. et al. *Portulaca elatior* root contains a trehalose-binding lectin with antibacterial and antifungal activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 126, p. 291–297, 2019.

SPELLBERG, B. et al. Trends in antimicrobial drug development: Implications for the Future. *Clinical Infectious Diseases*, v. 38, p. 1279–1286, 2004.

SZE, K. L.; TZI, B. N. Lectins: production and practical applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 89, p. 45–55, 2011.

TABARELLI, M. et al. Caatinga: legado, trajetória e desafios rumo à sustentabilidade. *Ciência e Cultura*, v. 70, p. 25–29, 2018.

SANNOMIYA, M. et al. Galloylquinic acid derivatives from *Byrsonima fagifolia* leaf extract and potential antifungal activity. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 297, p. 115534, 2022.

SANTOS, A.; NAPOLEÃO, T. H.; PAIVA, P. M. G.; COELHO, L. C. B. B. Lectins: important tools for biocontrol of *Fusarium* species. In: RIOS, T. F.; ORTEGA, E. R.

(Ed.). *Fusarium: Epidemiology, Environmental Sources and Prevention*. New York: Nova Science Publishers, 2012.

SANTOS, J. F. S. et al. Chemical composition, antifungal activity and potential anti-virulence evaluation of the *Eugenia uniflora* essential oil against *Candida* spp. *Food Chemistry*, v. 261, p. 233–239, 2018.

SANTOS, A. T. L. et al. UPLC-MS-ESI-QTOF Analysis and Antifungal Activity of Aqueous Extracts of *Spondias tuberosa*. *Molecules*, v. 28, p. 305, 2023.

SILVA-LACERDA, G. R. et al. Antimicrobial potential of actinobacteria isolated from the rhizosphere of the Caatinga biome plant *Caesalpinia pyramidalis* Tul. *Genetics and Molecular Research*, v. 15, gmr15017488, 2016.

SILVA, P. M. et al. PgTeL, the lectin found in *Punica granatum* juice, is an antifungal agent against *Candida albicans* and *Candida krusei*. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 108, p. 391–400, 2018.

SILVA, J. D. F. et al. Portulaca elatior root contains a trehalose-binding lectin with antibacterial and antifungal activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 126, p. 291–297, 2019.

SPELLBERG, B. et al. Trends in antimicrobial drug development: Implications for the Future. *Clinical Infectious Diseases*, v. 38, p. 1279–1286, 2004.

SZE, K. L.; TZI, B. N. Lectins: production and practical applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 89, p. 45–55, 2011.

TABARELLI, M. et al. Caatinga: legado, trajetória e desafios rumo à sustentabilidade. *Ciência e Cultura*, v. 70, p. 25–29, 2018.

RAMAWAT, K. G.; DASS, S.; MATHUR, M. The chemical diversity of bioactive molecules and therapeutic potential of medicinal plants. In: RAMAWAT, K. G. (Ed.). *Herbal Drugs: Ethnomedicine to Modern Medicine*. Berlim: Springer, 2009. p. 7–32.

RODRIGUES, J. P. et al. Characterization and mapping of secondary metabolites of *Streptomyces* sp. from caatinga by desorption electrospray ionization mass spectrometry (DESI-MS). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 410, p. 7135–7144, 2018.

SALAZAR, G. J. T. et al. Antioxidant and antifungal activity of the *Cynophalla flexuosa* (L.) J. Presl (Capparaceae) against opportunistic fungal pathogens. *Future Pharmacology*, v. 2, p. 16–30, 2022.

SAMPAIO, R. S. L. et al. Chemical composition and antimicrobial potential of *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. and *Syagrus cearensis* Noblick (Arecaceae). *Microbial Pathogenesis*, v. 180, 106147, 2023.

SAMPAIO, T. P. D. et al. Biological evaluation and compatibility study of oral mucoadhesive hydrogel formulations using *Schinopsis brasiliensis* Engler extract and excipients. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 148, p. 141–158, 2023.

SANNOMIYA, M. et al. Galloylquinic acid derivatives from *Byrsonima fagifolia* leaf extract and potential antifungal activity. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 297, 115534, 2022.

5 ARTIGO 2 – Investigação da toxicidade oral aguda, genotoxicidade e mutagenicidade da fração de alcalóides de *Erythroxylum revolutum* Mart. (Erythroxylaceae)

Lista de autores:

Maisa Fernanda dos Santos Barbosa^{1*}

Alisson Macário de Oliveira¹

Wêndeo Kennedy Costa¹

Rogério de Aquino Saraiva²

Thiago Henrique Napoleão¹

Talita Giselly Dos Santos Souza³

Cristiano Chagas³

Márcia Vanusa da Silva¹

Maria Tereza dos Santos Correia¹

¹ *Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Bioquímica, Recife, Brasil.*

² *Instituto de Formação de Professores, Universidade Federal do Cariri, Brejo Santo-CE, Brazil.*

³ *Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, Brasil.*

**Autora para correspondência: maisa.santosbarbosa@ufpe.br*

RESUMO

Produtos de plantas medicinais podem não apenas fornecer compostos benéficos à saúde, mas também apresentar efeitos tóxicos. Este artigo tem como objetivo investigar os possíveis efeitos tóxicos da fração de alcaloides tropânicos de *Erythroxylum revolutum* Mart., utilizada por povos tradicionais no tratamento de doenças cardiovasculares. Por meio do ensaio toxicológico pré-clínico agudo (dose fixa), verificou-se que a fração enriquecida de alcaloides de *E. revolutum* não apresentou efeito tóxico aparente, após a administração de 2.000 mg/kg. Em relação aos testes de genotoxicidade e mutagenicidade, dados interessantes foram encontrados. Além disso, os dados apontam para um potencial antígenotóxico deste

produto, visto que, no ensaio de genotoxicidade induzida por Ciclofosfamida, o grupo tratado com a fração de alcaloides apresentou uma Frequência de Danos (DF). Em meio a tudo isso, é de fundamental importância identificar produtos com atividade antigenotóxica. Portanto, isso merece ser mais investigado, bem como os efeitos do uso crônico deste produto.

Palavras-chave: produtos naturais, alcaloides tropânicos, segurança toxicológica.

ABSTRACT

Products from medicinal plants can not only provide compounds beneficial to health but can also demonstrate toxic effects. This article aims to investigate the possible toxic effects of the fraction of *Erythroxylum revolutum* Mart. tropane alkaloids. It is used by traditional peoples to treat cardiovascular diseases. Through the acute preclinical toxicological test (fixed dose), it was verified that the enriched fraction of *E. revolutum* alkaloids did not show any apparent toxic effect, after the administration of 2,000 mg/kg. Regarding the genotoxicity and mutagenicity tests, interesting data were found. Besides, the data point to an antigenotoxic potential of this product, since in the genotoxicity test induced by Cyclophosphamide, the group treated with the fraction of alkaloids showed a Damage Frequency (FD). In the midst of all this, it is of fundamental importance to identify products with antigenotoxic activity. Therefore, this deserves to be further investigated, as well as the effects of chronic use of this product.

Keywords: natural products, tropane alkaloids, toxicological safety.

1 INTRODUÇÃO

Produtos de plantas medicinais podem não apenas fornecer compostos benéficos à saúde, mas também podem apresentar efeitos tóxicos, dependendo da quantidade ingerida ou de possíveis alterações metabólicas no organismo (ZHAO et al., 2014). Nesse sentido, é necessária uma abordagem holística, que volte seu olhar para a saúde da população, para que ela tenha acesso a um produto seguro (RAMAWAT et al., 2009). A busca incessante por novos princípios ativos é

fundamental para o tratamento e a cura de diversas enfermidades, muitas delas ainda sem tratamento atualmente. *Erythroxylum revolutum* Mart. é endêmica da região Nordeste e vive em regiões de caatinga stricto sensu (LOIOLA et al., 2007), onde é popularmente conhecida como araçá-bravo. É utilizada por povos tradicionais para tratar doenças cardiovasculares, procedimento que consiste na decocção em água ou maceração em cachaça de suas folhas e flores (AGRA et al., 2008). Uma vez detectado o potencial farmacológico dessa fração de alcaloides (dados ainda não publicados), testes de segurança em seu uso oral são de fundamental importância.

É importante ressaltar que uma série de atividades farmacológicas tem sido atribuída a alcaloides específicos, incluindo o grupo dos alcaloides tropânicos, famosos na indústria farmacêutica, como a atropina, utilizada como antiespasmódico, dilatador brônquico, estimulante cardíaco, contra intoxicações por organofosforados, como antídoto para eserina, aerocolina, entre outros (BACCHI, 2007). Outro ótimo exemplo é a escopolamina, um componente do Buscopan, utilizada em espasmos do trato geniturinário e em anormalidades das vias biliares (RENNER et al., 2005). Outras atividades atribuídas aos alcaloides tropânicos incluem estimulação do Sistema Nervoso Central, antissecretória e anestésica (BACCHI, 2007).

Por fim, este artigo tem como objetivo investigar os possíveis efeitos tóxicos da fração de alcaloides tropanoicos de *E. revolutum*, a fim de delimitar as dosagens seguras para o uso deste composto. Dessa forma, será possível contribuir com informações essenciais para o desenvolvimento de um produto farmacêutico seguro para a população.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Colheita de material botânico e extração da fração enriquecida de alcalóides

A coleta foi realizada no Parque Estadual Mata da Pimenteira, localizado no município de Serra Talhada-PE, Brasil. Os espécimes foram identificados e suas exsiccatas foram depositadas no HESBRA (Herbário do Seminário Brasileiro) sob o número sob o nº 3711. As folhas coletadas foram colocadas para secar a 35 °C em estufa de circulação de ar e, em seguida, trituradas. Para a preparação da fração enriquecida de alcaloides, primeiramente, o extrato etanólico bruto foi obtido por extração a frio, seguindo a metodologia de Oliveira (2012). Em seguida, o extrato foi

submetido ao processo específico de extração ácido-base para obtenção de alcalóides de Tabosa (2000).

2.2 Ensaio de avaliação da toxicidade oral aguda

A toxicidade aguda foi avaliada seguindo a metodologia recomendada pela OCDE, 2001 (Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico), em dois grupos de camundongos, cada grupo contendo 3 animais (fêmeas). Em um grupo, uma dose única de 2000 mg / kg da fração enriquecida de alcalóides foi administrada por via oral. No outro grupo, que serviu como controle negativo, foi administrado apenas o veículo de diluição da droga (tween e água). Após a administração, os animais foram observados continuamente nas primeiras quatro horas e depois a cada 24 horas diariamente durante 14 dias, para verificar quaisquer alterações comportamentais ou atividades fisiológicas e mortalidade. Os animais foram avaliados pelo método de triagem hipócrita, que verificou qualquer comprometimento do animal, como disposição, atividade, estado de consciência, coordenação do sistema motor, tônus muscular, atividade do sistema nervoso central e autônomo. No final do experimento, o sangue foi coletado para análise bioquímica e hematológica. O consumo de ração, água, o peso dos animais e órgãos, especialmente o fígado, rins e baço, e pulmão, que foram coletados para análise histopatológica, também foram observados.

2.2.1 Análise histopatológica

A análise histológica do fígado, rim, baço e pulmões dos animais controle e daqueles tratados com a substância em teste foi realizada por microscopia óptica. Fragmentos de órgãos foram fixados em formalina tamponada (10%, v/v) e, em seguida, desidratados por meio de uma série gradual de etanol (70-100%), diafanizados em xilol e incluídos em parafina. Cortes histológicos (5 mm) foram corados com hematoxilina-eosina e montados com lamínulas de resina Entellan (Merck, Alemanha). Os materiais foram observados em um microscópio Nikon Eclipse E100 (Japão) acoplado a uma câmera digital Moticam 1.000 de 1,3 MP (Motic Incorporation Ltd, Causeway Bay, Hong Kong).

2.2.2 Análises Bioquímicas e Hematológicas

O sangue foi obtido por punção da veia cava inferior após laparotomia exploradora. Um tubo contendo EDTA foi homogeneizado com sangue total e os seguintes parâmetros foram obtidos: eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e análise total e diferenciada dos leucócitos em analisador hematológico automático MaxCell Vet 500 D e microscópio óptico Olympus. Outra parte do sangue foi transferida para um tubo contendo gel separador e centrifugada a 3.500 rpm por 10 min para obtenção do soro e avaliação dos seguintes parâmetros: albumina, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil transferase (GGT), proteínas totais, ureia, creatinina, colesterol total e triglicerídeos utilizando kits específicos (Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, Brasil) em analisador automático COBAS Mira Plus (Roche Diagnostics).

2.3 Investigação dos efeitos genotóxicos

O teste do cometa seguiu a metodologia de Umbunzeiro e Roubicek (2006). Foram utilizados três grupos de camundongos, com 5 animais por grupo (machos). Um grupo foi tratado com a fração enriquecida de alcaloides de *E. revolutum* (2000 mg/kg) por via oral (gavagem), o segundo grupo recebeu apenas o veículo de administração (tween e água) para servir como controle negativo e, para o controle positivo, o terceiro grupo foi tratado com ciclofosfamida (20 mg/kg) por via intraperitoneal. 48 horas após o tratamento, os camundongos foram anestesiados com cetamina (100 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg) por via intraperitoneal. Os animais foram eutanasiados após o experimento com uma injeção letal da combinação de cetamina (300 mg/kg) e xilazina (30 mg/kg) e o sangue foi coletado. A próxima etapa, preparação das lâminas, foi realizada na ausência de luz branca (sob luz vermelha), para evitar danos ao DNA. As lâminas foram preparadas com um revestimento de agarose onde o sangue foi depositado após ser homogeneizado com agarose abaixo do ponto de fusão. As lâminas foram cobertas com lamínulas e então colocadas para resfriar a 4 °C por 10 min. Após o resfriamento, as lamínulas foram removidas e as lâminas foram imersas em uma solução de lise (2,5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM TRIS, 1% Triton X-100, 10% DMSO, pH 10). Após 48 horas, as células lisadas foram submetidas à eletroforese a 300 mA e 32 V por 20 min em um poço de solução alcalina

(1 M NaOH e 200 mM EDTA, pH 13). Por fim, as lâminas foram neutralizadas em Tris-HCl 0,4 M, pH 7,5, e coradas com 30 µl de brometo de etídio (0,0002%, p/v). Duas lâminas foram preparadas para cada animal e a avaliação foi realizada em microscópio de epifluorescência (Zeiss M2) com filtro Alexa Fluor 546. Foram observados 100 nucleoides por animal, medindo-se a relação entre o comprimento da cauda e o tamanho da cabeça do cometa (Collins et al. 2008; Coelho et al. 2018). Os nucleoides foram classificados da seguinte forma: 0 (sem dano aparente); 1 (com pouco dano aparente); 2 (dano médio); 3 (dano médio com cauda mais longa) e 4 (dano máximo). A frequência de dano (FD) foi calculada de acordo com a % de todos os nucleoides com algum dano (classe 1 a classe 4) em relação ao número total de nucleoides contados da classe 0 a classe 4 (número total) (Collins et al. 2008).

2.4 Investigação de efeitos mutagênicos

O teste do micronúcleo foi realizado de acordo com a técnica de Hayashi et al. (1994). Foram utilizados três grupos de camundongos, com 5 animais por grupo (machos). Um grupo recebeu a fração enriquecida de alcaloides de *E. revolutum* (2000 mg/kg) por via oral (gavagem), enquanto outro grupo recebeu apenas o veículo de administração (tween e água) para servir como controle negativo. Um terceiro grupo foi tratado com ciclofosfamida (20 mg/kg) por via intraperitoneal, um agente mutagênico bem estabelecido na literatura, que serviu como controle positivo. As concentrações da fração, dos veículos e dos controles positivos foram definidas de acordo com a predisposição na literatura (COLLINS et al., 2008; OECD, 2006; OECD, 2008). Após 48 horas do tratamento, os camundongos foram anestesiados com cetamina (100 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg) por via intraperitoneal e o sangue periférico foi coletado para o teste do micronúcleo. Para este teste, utilizou-se a técnica descrita por Hayashi et al. (1994), onde 8 µl de sangue são colocados em lâminas previamente preparadas com laranja de acridina e cobertas com uma lamínula. Para cada animal, 2.000 eritrócitos policromáticos foram analisados quanto à presença ou ausência de micronúcleos. As análises foram realizadas com o auxílio de um microscópio de epifluorescência (Zeiss M2) com filtro Alexa Fluor 488 (OECD 2016).

2.5 Animais e aspectos éticos

Todos os procedimentos experimentais realizados seguem as leis brasileiras para experimentação com animais e foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal de Pernambuco.

2.6 Análise estatística

A análise estatística foi realizada por análise de variância, com $\alpha = 5$. As análises de diferença entre variâncias foram realizadas utilizando o teste paramétrico (ANOVA) para a análise do teste de toxicidade aguda e os testes de genotoxicidade e mutagenicidade pelo teste não paramétrico. Mann-Witney-Wilcoxon, por apresentar distribuição diferente da normal. A escolha entre um teste paramétrico e um teste não paramétrico foi feita após o teste de normalidade dos dados de Shapiro-Wilk. O software GraphpadPrism versão 8.0 foi utilizado para todas as análises.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio do ensaio toxicológico pré-clínico agudo (dose fixa), verificou-se que a fração enriquecida com alcaloides de *E. revolutum* não apresentou efeito tóxico aparente, após a administração de 2.000 mg/kg em camundongos albinos suíços fêmeas, indicando que a fração, quando administrada agudamente, é levemente tóxica, visto que não foram observados sintomas adversos ou mortalidade. Para que uma substância administrada por via oral seja considerada moderadamente tóxica, ela deve apresentar uma DL₅₀ entre 500 e 2.000 mg/kg. Substâncias com DL₅₀ entre 100 e 500 mg/kg são altamente tóxicas e extremamente tóxicas quando a DL₅₀ é inferior a 25 mg/kg. Quando a DL₅₀ de uma substância é superior a 2.000 mg/kg quando administrada por via oral, ela é classificada como pouco tóxica (Zanetti et al., 2003). Na triagem comportamental farmacológica, realizada durante as primeiras 4 horas de administração do fármaco, não foram observadas alterações comportamentais nos animais que receberam a fração enriquecida de alcaloides de *E. revolutum*. Não alterou a coordenação motora nem os reflexos dos animais. Atividades fisiológicas relacionadas ao Sistema Nervoso Autônomo não foram observadas em nenhum dos grupos, como lacrimejamento, cianose, piloereção, etc. O fármaco também não afetou o Sistema Nervoso Central, como convulsões, tremores, anestesia, etc. Em relação ao peso dos animais, consumo de água e alimento, não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os grupos (Tabela 1). O exame macroscópico dos órgãos-alvo não revelou lesões ou alterações

patológicas atribuíveis ao tratamento com a fração enriquecida de alcaloides de *E. revolutum*. Também não houve alteração no peso dos órgãos (Tabela 2).

Tabela 1 - Consumo de água, alimento e ganho de peso em camundongos controle e tratados.

Parameter	Control	Enriched Fraction of Alkaloids
Water consumed (mL/day)	56,5 ± 9	47 ± 5
Food consumed (g/day)	24,4 ± 4	23,1 ± 4
Weight again (g)	2 ± 0	1 ± 1

Values represent the mean ± SEM (n = 5/group). No significant differences (p > 0.05) were found in comparison with control.

Fonte: A autora, 2025.

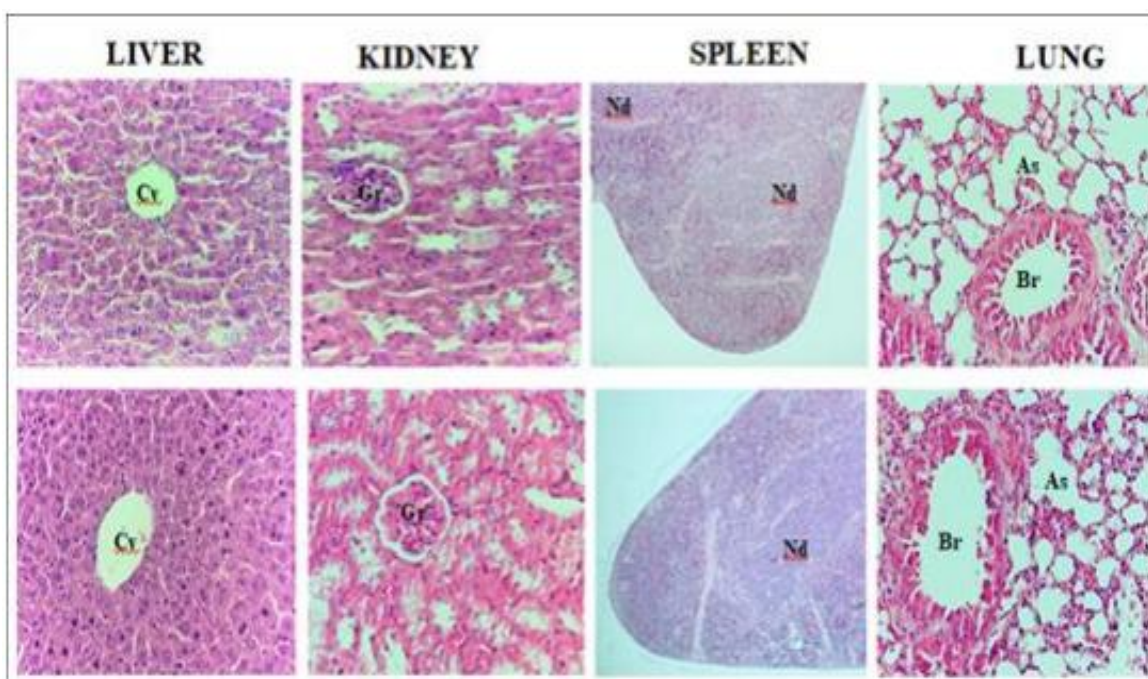
Tabela 2 - Peso dos órgãos em gramas em camundongos controle (tween e água) e tratados com a fração enriquecida de alcaloides (dose de 2.000 mg/kg).

Organ	Control	Enriched Fraction of Alkaloids
Liver	1,60 ± 0,09	1,46 ± 0,06
Kidneys	0,21 ± 0,01	0,17 ± 0,01
Spleen	0,23 ± 0,02	0,19 ± 0,02
Lung	0,13 ± 0,01	0,14 ± 0,01
Stomach	0,32 ± 0,07	0,23 ± 0,03
Heart	0,15 ± 0,02	0,14 ± 0,01
Brain	0,39 ± 0,08	0,38 ± 0,10

Fonte: A autora, 2025.

A Figura 1 mostra imagens histológicas representativas dos cortes do fígado, rins e baço. Os resultados mostraram que o fígado dos camundongos controle e tratados apresentava uma rede vascular composta por veias centrolobulares de calibre variável, sem congestão, parênquima bem desenvolvido e hepatócitos com morfologia característica. Os rins apresentavam cápsula externa fibrosa e regiões medular e cortical. Os glomérulos eram bem desenvolvidos, com cápsula de Bowman e espaço capsular bem definidos. O baço, por outro lado, apresentava-se com sua arquitetura normal, sendo possível visualizar externamente uma cápsula constituída por tecido conjuntivo denso não modelado e células musculares lisas e internamente a polpa branca e polpa vermelha sem alterações. Os pulmões dos camundongos tratados com a substância teste também apresentaram morfologia normal, assim como no grupo controle.

Figura 1 – Fotomicrografias representativas dos fígados, rins, baço e pulmões de camundongos fêmeas dos grupos controle e tratados com uma dose única da fração enriquecida de alcaloides de *E. revolutum* na dose de 2000 mg/kg. Fígados: a veia centrolobular (cv) é vista em todas as imagens. Rins: Os glomérulos renais (Gr) e os tubos em forma de ponta de seta contorcidos estão preservados e ordenados. Baço: Os linfonodos (Nd) estão bem definidos nos grupos controle e tratado. Pulmão: Os bronquíolos (Br) e a cavidade alveolar (As) podem ser vistos com arquitetura preservada nos grupos controle e tratamento.



Fonte: A autora, 2025.

As Tabelas 3 e 4 mostram os parâmetros das análises bioquímicas e hematológicas, respectivamente, do sangue dos camundongos. Também não houve diferenças significativas entre o grupo controle e o grupo tratado.

Tabela 3 - Variáveis hematológicas do sangue de camundongos tratados com a fração enriquecida de alcaloides (2g.kg⁻¹) e no grupo controle.

Parameter	Control	Enriched Fraction of Alkaloids
Erythrocytes (10 ⁶ /mm ³)	5.35 ± 0.15	5.17 ± 0.22
Hematocrit (%)	39.15 ± 1.23	37.85 ± 1.87
Hemoglobin (g/dL)	12.67 ± 0.76	13.10 ± 0.34
MCV (fL)	51.11 ± 1.49	50.59 ± 1.17
MCH (pg)	18.22 ± 0.47	17.95 ± 0.35
MCHC (%)	34.28 ± 0.55	33.19 ± 1.58
Leucocytes (10 ³ /mm ³)	9.08 ± 0.31	8.75 ± 0.69
Segmented (%)	70.25 ± 2.22	68.25 ± 1.84
Lymphocytes (%)	24.24 ± 0.18	23.68 ± 0.31
Monocytes (%)	3.22 ± 0.11	3.03 ± 0.37
Basophils (%)	0.02 ± 0.01	0.04 ± 0.02
Eosinophils (%)	1.58 ± 0.22	1.46 ± 0.31

VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração média de hemoglobina corpuscular. Os valores representam a média ± erro padrão da média (EPM) (n = 5/grupo). Não foram encontradas diferenças significativas (p > 0,05) em comparação com o controle.

Fonte: A autora, 2025.

Nossos resultados corroboram os achados de Aguiar et al. (2012), onde nem o extrato, nem as frações, nem um alcaloide isolado apresentaram toxicidade significativa. Outros alcaloides presentes neste gênero, no entanto, apresentam efeitos adversos, como a cocaína, alcaloide extraído pela primeira vez de *Erythroxylum coca* Lam., mas que também é extraído de outras 16 espécies (EVANS, 1996; WEINER, 1987 Apud. BACCHI, 2007). No estudo de Negri et al. (2016) os extratos etanólicos de folhas e cascas de *Erythroxylum vacciniifolium* Mart foram testados in vivo. Os efeitos foram diferentes, como a diminuição do tempo de sono,

causada apenas pelo extrato das folhas, e a morte do animal, causada apenas pelo extrato da casca. O autor sugere que a diferença nos sintomas apresentados se deveu à sua composição química. Uma das cascas (mais tóxica e letal) apresentou cinchonaínas como constituintes principais, enquanto uma das folhas (menos tóxica) apresentou flavonoides glicosídeos. Mahomoodally et al. (2005) observaram que o extrato de *Erythroxylum macrocarpum* O. E. Schulz causou diminuição na capacidade de absorção pelas células intestinais nas concentrações de 6 e 12 mg/mL. O autor levantou a hipótese de que os taninos, fenóis e alcaloides presentes no extrato diminuem a permeabilidade da membrana dos enterócitos e o transporte passivo de fluidos.

Tabela 4: Níveis séricos de parâmetros bioquímicos em camundongos tratados com a Fração Total de Alcaloides (2g.kg⁻¹) e no grupo controle.

Parameter	Control	Enriched Fraction of Alkaloids
Albumin (g/dL)	38.24 ± 1.48	36.88 ± 2.33
ALT (U/L)	58.70 ± 1.22	56.96 ± 2.07
AST (U/L)	134.52 ± 6.31	137.25 ± 4.69
GGT (U/L)	14.62 ± 0.36	15.07 ± 0.21
Alkaline phosphatase (IU/L)	13.85 ± 0.18	14.04 ± 0.26
Total protein (g/dL)	62.44 ± 1.18	61.31 ± 0.83
Creatinine (mg/dL)	3.45 ± 0.37	3.28 ± 0.24
Ureia	0.30 ± 0.09	0.35 ± 0.11
Total Cholesterol (mg/dL)	98.76 ± 2.41	95.33 ± 3.10
Triglycerides (mg/dL)	64.2 ± 1.52	65.79 ± 3.03

ALT: Alanina aminotransferase; AST: Aspartato aminotransferase; GGT: gama-glutamil transferase. Os valores representam a média ± erro padrão do erro padrão (n = 5/grupo). * Diferenças significativas (p < 0,05) foram encontradas em comparação com o controle.

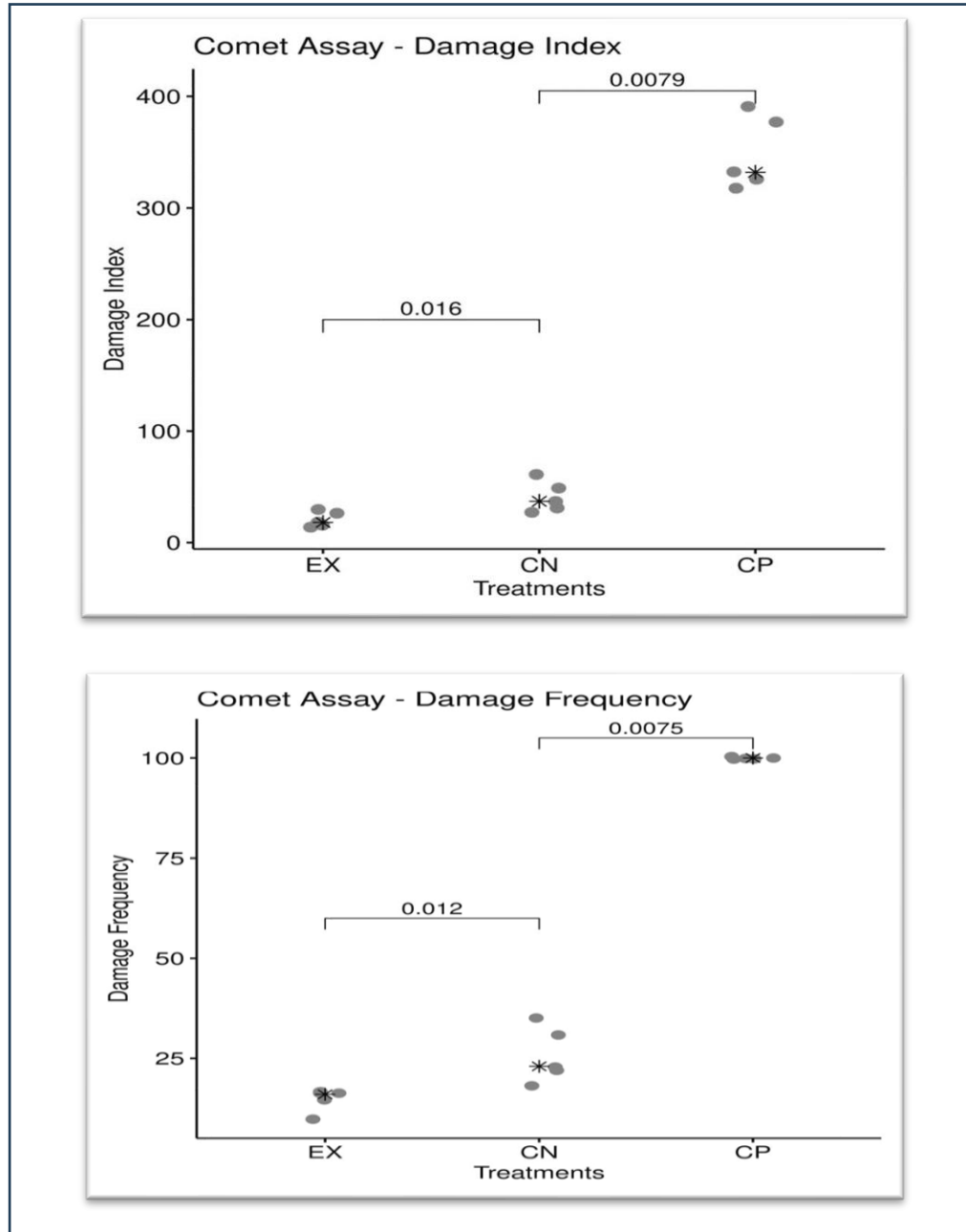
Fonte: A autora, 2025.

Nossos resultados corroboram os achados de Aguiar et al. (2012), onde nem o extrato, nem as frações, nem um alcaloide isolado apresentaram toxicidade significativa. Outros alcaloides presentes neste gênero, no entanto, apresentam

efeitos adversos, como a cocaína, alcaloide extraído pela primeira vez de *Erythroxylum coca* Lam., mas que também é extraído de outras 16 espécies (EVANS, 1996; WEINER, 1987 Apud. BACCHI, 2007). No estudo de Negri et al. (2016) os extratos etanólicos de folhas e cascas de *Erythroxylum vacciniifolium* Mart foram testados in vivo. Os efeitos foram diferentes, como a diminuição do tempo de sono, causada apenas pelo extrato das folhas, e a morte do animal, causada apenas pelo extrato da casca. O autor sugere que a diferença nos sintomas apresentados se deveu à sua composição química. Uma das cascas (mais tóxica e letal) apresentou cinchonainas como constituintes principais, enquanto uma das folhas (menos tóxica) apresentou flavonoides glicosídeos. Mahomoodally et al. (2005) observaram que o extrato de *Erythroxylum macrocarpum* O. E. Schulz causou diminuição na capacidade de absorção pelas células intestinais nas concentrações de 6 e 12 mg/mL. O autor levantou a hipótese de que os taninos, fenóis e alcaloides presentes no extrato diminuem a permeabilidade da membrana dos enterócitos e o transporte passivo de fluidos. Portanto, os estudos de toxicidade já realizados neste gênero refletem a complexidade de suas atividades biológicas, resultado de sua diversidade em termos de espécies e moléculas, o que torna seus mecanismos difíceis de prever. Uma tendência clara observada é que as frações são menos tóxicas que os extratos brutos.

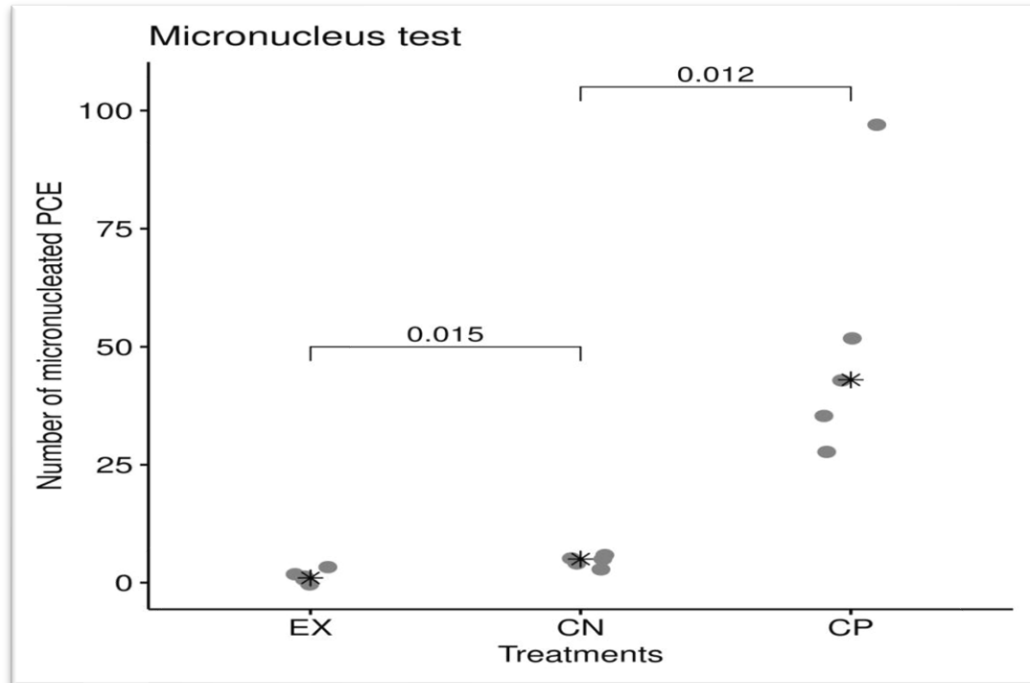
Este é o primeiro estudo de toxicidade oral aguda para esta espécie. As evidências aqui apresentadas corroboram a ausência de relatos na literatura sobre intoxicação por ingestão de alcaloides de plantas do gênero *Erythroxylum*. Isso sugere que o produto é seguro quando administrado por via oral e abre outras possibilidades de estudo, como a investigação de seus efeitos farmacológicos apontados pela medicina popular, bem como os possíveis efeitos de seu uso crônico. Em relação aos testes de genotoxicidade e mutagenicidade, dados interessantes foram encontrados. A fração enriquecida de alcaloides de *E. revolutum*, além de não apresentar genotoxicidade ou mutagenicidade (Gráficos 1 e 2), causou diminuição na Frequência de Danos (DF) em comparação ao grupo controle ($p = 0,0119$). Isso sugere um possível efeito protetor sobre o material genético e deve ser mais bem investigado em estudos posteriores.

Gráfico 1 - Resultados do teste de genotoxicidade. O gráfico superior mostra a Frequência de Dano (FD) no DNA dos camundongos tratados e o gráfico inferior mostra o índice de intensidade de dano. Os valores nas barras representam os respectivos valores de p em cada comparação pelo teste de Mann-Witney-Wilcoxon.



Fonte: A autora, 2025.

Gráfico 3 - Resultado do teste de mutagenicidade. O gráfico mostra o número de eritrócitos policromáticos micronucleados. Os valores nas barras representam os respectivos valores de p em cada comparação pelo teste de Mann-Witney-Wilcoxon.



Fonte: A autora, 2025.

Sabe-se que alterações no DNA desempenham um papel fundamental no câncer, tanto em sua iniciação quanto em outras etapas do processo de carcinogênese, podendo também contribuir para outras patologias, como cardiopatia degenerativa, glaucoma, aterosclerose, doença pulmonar obstrutiva, entre outras (De Flora e Ferguson, 2005). Estamos constantemente expostos a agentes mutagênicos, tanto os de ocorrência natural, como os raios UVA e UVB, quanto os produzidos nas indústrias (alimentícia, têxtil, etc.), além daqueles gerados pela poluição. Em meio a tudo isso, é de fundamental importância a identificação de produtos com atividade antígeno-tóxica, uma vez que estes podem se tornar agentes preventivos no combate a essas patologias, causadas por mutações no DNA (Zeiger, 2007). Dentre os mecanismos de ação desses agentes quimiopreventivos, podemos citar a ação na prevenção primária, onde o composto desencadeia mecanismos de proteção, tanto fora da célula quanto em nível intracelular (De Flora e Ferguson, 2005).

4 CONCLUSÕES

A fração enriquecida de alcaloides, quando administrada por via oral, não causou alterações patológicas nos animais testados, mostrando-se segura na concentração de 2000 mg/Kg. Além disso, os dados apontam para um potencial antigenotóxico deste produto, visto que, no teste de genotoxicidade induzida por Ciclofosfamida, o grupo tratado com a fração de alcaloides apresentou Frequência de Danos (DF) significativamente menor que a do grupo controle (tratado apenas com tween e água). Por fim, os dados aqui apresentados fornecem informações fundamentais para o desenvolvimento de um produto farmacêutico seguro. Para tanto, estudos adicionais de toxicidade subcrônica e crônica são necessários para avaliar os possíveis efeitos fisiológicos da administração crônica do fármaco.

5 REFERÊNCIAS

- AGRA, M. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 18, p. 472–508, 2008.
- BACCHI, E. A. Alcaloides tropânicos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFRGS/Ed. UFSC, 2007. cap. 30. 806 p.
- EVANS, W. C. *Trease and Evans' pharmacognosy*. 14. ed. London: W. B. Saunders, 1996. p. 340–408.
- HAYASHI, M. et al. In vivo rodent erythrocyte micronucleus assay. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, v. 312, p. 293–304, 1994.
- MAHOMOODALLY, M. F.; FAKIM, A.; SUBRATTY, A. H. Effects of *Erythroxylum macrocarpum* (Erythroxylaceae), an endemic medicinal plant of Mauritius, on the transport of monosaccharide, amino acid and fluid across rat everted intestinal sacs in vitro. *Journal of Cell and Molecular Biology*, v. 4, p. 93–98, 2005.

NEGRI, G. et al. Avaliação da composição química e efeitos toxicológicos de extratos etanólicos de casca e folhas de *Erythroxylum vacciniifolium* em modelos *in vivo*. *Revista Eletrônica FUNVIC*, 2016. Disponível em: <http://revistaeletronicafunvic.org>
Acesso em: [13/04/2023].

OECD – ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT. *Acute oral toxicity – Acute toxic class method: guideline for the testing of chemicals*. Paris, 2001. p. 1–14.

OLIVEIRA, S. L. de. *Fitoquímica de espécies de Erythroxylum do semiárido: isolamento e determinação estrutural de alcaloides tropânicos, flavonoides e diterpenos*. 2012. 192 f. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.

RAMAWAT, K. G.; DASS, S.; MATHUR, M. The chemical diversity of bioactive molecules and therapeutic potential of medicinal plants. In: RAMAWAT, K. G. (ed.). *Herbal drugs: ethnomedicine to modern medicine*. Berlin: Springer-Verlag, 2009. p. 7–32.

RENNER, U. D.; OERTEL, R.; KIRCH, W. Pharmacokinetics and pharmacodynamics in clinical use of scopolamine. *Therapeutic Drug Monitoring*, v. 27, p. 655–665, 2005.
TABOSA, I. M. et al. Isolamento biomonitorado de alcaloides tóxicos de *Prosopis juliflora* (algaroba). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 9, n. 1, p. 11–22, 2000.

UMBUNZEIRO, G. A.; ROUBICEK, D. A. Genotoxicidade ambiental. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Org.). *Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações*. 2. ed. São Carlos: RiMa, 2006. p. 327–346.

ZANETTI, G. D. et al. Toxicidade aguda e atividade antibacteriana dos extratos de *Tropaeolum majus* L. *Acta Farmacêutica Bonaerense*, v. 22, p. 159–162, 2003.

ZHAO, Y.; WU, Y.; WANG, M. Bioactive substances of plant origin. In: CHEUNG, P. (Ed.). *Handbook of food chemistry*. Berlin: Springer, 2014.

6 ARTIGO 3 – Atividade antifúngica e modulação da resistência microbiana por *Erythroxyllum revolutum* Mart. (Erythroxyllaceae)

Lista de autores:

Maísa Fernanda dos Santos Barbosa^{a*}

Henrique Douglas Melo Coutinho^b

Janaína Esmeraldo Rocha^b

Camila Fonseca Bezerra^b

Maria do Socorro Costa^b

Adriana Fontes^c

Sueden Oliveira de Souza^c

Wesley Felix de Oliveira^c

Paulo Henrique de O. Miranda^d

Márcia Vanusa da Silva^a

Maria Tereza dos Santos Correia^a

Rogério de Aquino Saraiva^d

^a*Federal University of Pernambuco, Centro de Biociências, Departamento de Bioquímica, 50670-901, Recife, Pernambuco State, Brazil.*

^b*Cariri Regional University, 63105-000, Crato, Ceará State, Brazil.*

^c*Federal University of Pernambuco, Centro de Biociências, Departamento de Biofísica, 50670-901, Recife, Pernambuco State, Brazil.*

^{*}*Autora para correspondência: maisa.santosbarbosa@ufpe.br*

Resumo

A resistência microbiana é atualmente um dos maiores problemas de saúde pública no mundo. Na tentativa de reverter esse mecanismo, muitos estudos têm se concentrado na combinação de antimicrobianos com produtos naturais. Neste estudo, testamos os efeitos do extrato etanólico bruto e da fração de alcaloides totais de *E. revolutum* isoladamente e combinados com o antifúngico fluconazol contra espécies de *Candida* pela técnica de microdiluição em caldo. Também realizamos a

caracterização fitoquímica do extrato bruto e da fração de alcaloides, por HPLC e CG-EM, respectivamente. Nossos resultados demonstraram que ambos os produtos apresentam atividade antifúngica dependente da concentração. Além disso, a fração de alcaloides, quando combinada com fluconazol, apresenta atividade modificadora da resistência a *Candida krusei*. Para investigar uma possível modificação na expressão de carboidratos na parede celular, foi realizada uma análise por citometria de fluxo utilizando um bioconjugado com lectina de Cramoll, que possui afinidade específica pelo carboidrato glicose. Os dados obtidos revelam uma diferença significativa entre os grupos tratados, permitindo inferir uma alteração no tipo e/ou na porcentagem de carboidratos presentes na parede celular. Concluimos que a fração de alcaloides totais de *E. revolutum* é um candidato potencial para atuar como adjuvante ao fluconazol no tratamento da candidíase.

Palavras-chave: Candidíase, Produtos Naturais, Modulação da Resistência, Alcaloides, Adjuvantes, Fluconazol.

Abstract

Microbial resistance is currently one of the biggest public health problems in the world. In an attempt to reverse this mechanism, many studies have focused on combining antimicrobial drugs with natural products. In this study we tested the effects of crude ethanolic extract and total alkaloids fraction of *E. revolutum* alone and combined with the antifungal fluconazole against *Candida* species by broth microdilution technique. We also perform phytochemical characterization of the extract crude and alkaloids fraction, by HPLC and GC-MS, respectively. Our results demonstrated that both products have concentration-dependent antifungal activity. Besides that, the alkaloid fraction when combined with fluconazole has *Candida krusei* resistance modifying activity. To investigate a possible modification in carbohydrate expression in the cell wall, a flow cytometric analysis was conducted using a bioconjugate with Cramoll lectin, which has a specific affinity for the carbohydrate glucose. The obtained data reveal a significant difference between the treated groups, allowing us to infer an alteration in the type and/or percentage of carbohydrates present in the cell wall. We conclude that the fraction of total alkaloids

of *E. revolutum* is a potential candidate to act as an adjuvant to fluconazole in the treatment of candidiasis.

Keywords: Candidiasis, Natural Products, Resistance Modulation, Alkaloids, Adjuvants, Fluconazole.

1 INTRODUÇÃO

Doenças infecciosas mataram bilhões de pessoas ao longo da história da humanidade. A terapia dessas infecções, no entanto, foi revolucionada com a descoberta do primeiro antibiótico por Alexander Fleming na década de 1930. No entanto, a capacidade natural dos microrganismos de adquirir resistência tornou o cenário da saúde mundial cada vez mais crítico (Rodriguez-Roja et al., 2013; OMS, 2022). Esse fato tem sido agravado pelo uso indiscriminado e descarte inadequado desses medicamentos. Além disso, a taxa em que isso está acontecendo é tão alta que alguns autores chegam a mencionar um retorno à era pré-antibióticos (Baquero e Blázquez, 1997; Rodriguez-Roja et al., 2013).

Na tentativa de reverter o mecanismo de resistência desses patógenos, muitos estudos têm sido realizados combinando produtos naturais com medicamentos convencionais, incluindo o termo “Terapia Híbrida” proposto recentemente por Wagner e Efferth (2017). Bons resultados foram obtidos com essa nova abordagem, modificando a resistência de bactérias e fungos, mas os mecanismos de ação envolvidos ainda precisam ser mais bem esclarecidos (Coutinho et al., 2008; Coutinho et al., 2010; Saraiva et al., 2011; Chanda e Rakholiya, 2011).

Nosso objeto de estudo é *E. revolutum*, endêmico do Nordeste do Brasil, onde é conhecido como araçá-bravo (Loiola et al., 2007; Agra et al., 2008). Alguns estudos com extratos e/ou frações de espécies do mesmo gênero demonstraram atividade pronunciada contra microrganismos (Wet, 2011; Aguiar et al., 2012; Violante et al., 2012; Villanueva e Nakata, 2010; Albuquerque et al. 2014), mas nenhum estudo até o momento avaliou possíveis interações com extratos de espécies deste gênero combinados com antimicrobianos utilizados no mercado. Neste estudo, testamos a hipótese de que o extrato etanólico e a fração alcaloide de *E. revolutum* possuem atividade antifúngica e podem inibir e/ou modificar a resistência desses agentes

infeciosos. Para isso, testamos o extrato bruto e a fração alcaloide isoladamente e em combinação com o antifúngico fluconazol. Com isso, pretendemos auxiliar no desenvolvimento de novos medicamentos para o tratamento dessas infecções.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Extração do Material Vegetal

As folhas foram coletadas em Serra Talhada-PE, Brasil (coordenadas 7° 4'29.8" S 38° 18'07.2" W). A espécie foi identificada e uma exsicata foi depositada no Herbário do Semiárido Brasileiro (HESBRA) sob o nº 3711. As folhas foram secas em estufa a 40°C por 72 h e, em seguida, trituradas. Para a preparação do extrato bruto, que denominamos EEER (Extrato Etanólico de *Erythroxylum revolutum*), o pó obtido foi extraído com etanol a 96% e concentrado em evaporador rotativo a 40°C, seguindo a metodologia de Oliveira (2012). Parte do EEER obtido foi submetida a uma extração ácido-base para obtenção da Fração Total de Alcaloides (FTA), seguindo a metodologia adaptada de Tabosa et al. (2000). A caracterização fitoquímica pode ser acessada em outro artigo publicado por nosso grupo (BARBOSA et al., 2021).

2.2 Fármacos, Reagentes e Solventes

Para a extração dos produtos foram utilizados: acetato de etila, ácido clorídrico, etanol 96%, sulfato de sódio anidro e hidróxido de amônio. Para os ensaios de atividade antifúngica e moduladora de resistência, foi utilizado o antifúngico comercial fluconazol diluído em água destilada e dimetilsulfóxido (DMSO).

2.3 Cepas Fúngicas

Foram utilizadas cepas obtidas do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Coleção de Culturas Oswaldo Cruz, *Candida albicans* (CA INCQS 40006), *Candida albicans* (ATCC 90028), *Candida krusei* (CK INCQS 40095) e *Candida tropicalis* (CT INCQS 40042).

2.4 Determinação da CI₅₀ e CIM

O ensaio seguiu a metodologia de Morais-Braga et al. (2016). Uma suspensão fúngica foi preparada seguindo a escala de McFarland até a concentração de 105

UCF/mL. A suspensão foi adicionada de meio Sabouraud Dextrose Broth (SDB) em placas de noventa e seis poços. A partir de uma solução estoque (preparada com 0,15g dos produtos, extrato bruto e fração alcaloide, diluída em 1mL de DMSO e água destilada até a concentração de 16.384 µg/mL) foi realizada a microdiluição, variando a concentração dos produtos de 8.192 a 8 µg/mL. O controle negativo foi realizado com meio de cultura e suspensão fúngica (sem adição de produtos) e o controle de esterilidade apenas com meio de cultura. O branco (para leitura da absorbância) foi realizado com o mesmo tratamento das amostras, porém sem a levedura. O experimento foi realizado em triplicata e as placas incubadas em casa de vegetação (37°C). Após 24 h a absorbância dos poços foi medida em um ELISA (Termoplate®) a 630nm para a construção da curva de crescimento utilizando a seguinte fórmula: $Grownt (\%) = (Asam/Acon) * 100$

Onde,

Asam = Absorbância da amostra (subtraída do branco);

Acon = Absorbância do controle (subtraída do branco).

2.5 Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM)

A CFM foi determinada seguindo a metodologia de Alves et al. (2013). Com o auxílio de uma haste estéril, uma alíquota de cada poço foi subclavada em placa de Petri com meio de cultura SDA (Ágar Sabouraud Dextrose) e incubada a 37 °C. Após 24 h, foi realizada a leitura, onde a CFM foi determinada como a menor concentração do produto capaz de inibir o crescimento visível da colônia fúngica.

2.6 Modulação da Resistência

Para avaliar a modulação da resistência, a CI_{50} e a CFM do fármaco de referência, fluconazol, foram determinadas na presença e ausência de produtos na concentração subinibitória (CFM/16), também de acordo com a metodologia de Alves et al. (2013). A microdiluição foi realizada em placas de noventa e seis poços, utilizando o antifúngico fluconazol nas concentrações de 8 a 8.182 µ/mL. O ensaio foi realizado em triplicata, com o controle de esterilidade do meio sendo realizado apenas com meio de cultura e o controle negativo com meio de cultura e suspensão fúngica. A incubação e a determinação de IC_{50} e CFM foram realizadas conforme descrito no tópico anterior.

2.7 Atividade antibiofilme

Primeiramente, a cepa de *Candida albicans* formadora de biofilme (ATCC90028) foi replicada em um tubo Falcon contendo 3 mL de meio Sabouraud Dextrose Broth e a cepa foi incubada por 18 horas. Após esse tempo, a suspensão de *Candida* foi centrifugada a 2000 rpm por 5 minutos. O pellet formado foi suspenso em PBS até atingir uma densidade óptica de 0,7 a 0,8 (aproximadamente 107 células por mL). Após a obtenção da suspensão ajustada em meio de biofilme (RPMI 1640), 100 µL da mesma foram adicionados a cada poço selecionado da placa de 96 poços. A placa foi posteriormente incubada por 90 minutos a 37 °C sob leve agitação orbital, 75 rpm. Após esse período, os poços foram lavados 2x com PBS e 200 µL de meio de cultura (RPMI 1640) foram adicionados. Poços contendo apenas meio de cultura foram incluídos - controle de esterilidade (Freitas et al., 2019; Santos et al., 2020).

2.7.1 Atividade inibitória da formação de biofilme

Após a etapa de adesão celular em incubadora com agitador, as células não aderentes foram aspiradas, os poços foram lavados suavemente com PBS e 180 µL dos compostos (fração de alcaloides, fluconazol e sinergismo) diluídos em meio RPMI na concentração selecionada foram adicionados. Após a adição dos compostos, a placa foi incubada por 30 horas a 37°C. Após esse período, 20 µL de MTT foram adicionados a cada poço e a placa foi incubada na estufa por mais 18 horas – totalizando 48 horas de crescimento do biofilme. Após a incubação com o MTT, todo o líquido foi removido dos poços e 200 µL de isopropanol foram adicionados, deixando a placa no escuro por 15 minutos. Em seguida, 100 µL de cada poço foram transferidos para uma nova placa e a leitura da densidade óptica foi realizada em 570 e 630 nm (Freitas et al., 2019).

2.7.2 Atividade de degradação no biofilme maduro

Após a etapa de adesão celular em agitador, as placas foram incubadas a 37 °C até completar 48 horas de incubação. Os biofilmes formados foram então expostos aos compostos. Após a adição do composto, as placas foram incubadas por mais 24 horas a 37 °C. Após esse período, 20 µL de MTT foram adicionados a cada poço e a placa foi incubada na estufa por mais 18 horas. Após a incubação com o MTT, todo o líquido foi removido dos poços. Posteriormente, 200 µL de isopropanol foram adicionados aos poços e aguardados 15 minutos no escuro. Em seguida, 100 µL de

cada poço foram transferidos para uma nova placa e a leitura da densidade óptica foi realizada em 570 e 630 nm (Santos et al., 2020).

2.8 Teste de mecanismo com Sorbitol

Este método baseia-se na mensuração dos danos causados à parede celular fúngica. Neste ensaio, utiliza-se sorbitol 0,8 M, um protetor osmótico utilizado para estabilizar protoplastos de fungos. Na ausência deste estabilizador osmótico, compostos que atuam na parede celular fúngica causam a lise de suas células. Assim, este ensaio compara as CIMs de produtos antifúngicos na ausência e na presença de sorbitol. O teste de determinação da CIM foi realizado seguindo a metodologia do item 2.5.

2.9 Citometria de fluxo

Este teste foi realizado seguindo a metodologia descrita por Oliveira et al. (2020).

2.9.1 Síntese de PQs de MSA-CdTe

Uma solução foi preparada contendo CdCl₂ e ácido 3-mercaptopuccínico (MSA), como agente estabilizante/funcionalizante (a pH > 10). A razão molar da síntese foi de 5:1:6 (Cd:Te:MSA). Íons Te²⁻ foram obtidos pela redução de telúrio metálico (Te⁰) com NaBH₄ sob atmosfera inerte de N₂ (a 80 °C) e adição de Cd. A reação ocorreu por 1 h e 20 min sob inspiração e aquecimento constantes (90 °C) para obter a emissão verde.

2.9.2 Conjugação de Cramoll com PQs MSA-CdTe

Uma solução de MSA foi adicionada a 1 mL da suspensão de PQs (8 µM) até atingir pH 7,0. Posteriormente, foi adicionada a Cramoll a suspensão de PQs na concentração de 280 µg/mL. O sistema permaneceu sob agitação lenta (por 2 h à temperatura ambiente, temperatura ambiente ≈25 °C). Após o processo de agitação, o conjugado PQs-Cramoll foi armazenado a 4 °C por uma semana, após o qual foi lavado com filtros de ultracentrifuga (Pierce Concentrators, 10 kDa, Thermo Scientific) em quatro ciclos de centrifugação (908 x g por 6 min). Finalmente, o conjugado foi ressuspenso em água até atingir a concentração inicial.

2.9.3 Marcação de espécies de *Candida* com conjugados QDs-Cramoll

Uma cepa de *C. albicans* (ATCC 90028) foi cultivada em meio SDA por 24 h a 37 °C. Em seguida, as colônias foram transferidas para meio SDB e incubadas por mais 24 horas a 37 °C (na presença e na ausência dos fármacos em teste). Após esse tempo, as células fúngicas foram centrifugadas (1680 x g por 2 min) e o pellet formado foi ressuspensão em solução de NaCl 0,15 M até a obtenção de uma concentração de cerca de 6×10^7 UFC/mL (ajustada pela densidade óptica a 540 nm). Uma vez atingida essa concentração, uma alíquota de 100 µL da suspensão celular foi incubada com 100 µL dos conjugados por 1 h, sob agitação constante à temperatura ambiente. Após a incubação, as amostras celulares foram centrifugadas (1200 xg por 30 s). Um ensaio de inibição de lectina também foi realizado para avaliar sua especificidade, onde os conjugados foram previamente incubados com metil- α -D-manopiranosídeo (0,4 M) por 30 min antes de serem adicionados às células. A quantificação da marcação de *C. albicans* foi avaliada por citômetro de fluxo (BD Accuri™ C6), adquirindo 20.000 eventos em cada experimento. As análises foram realizadas em triplicata, na excitação de 488 nm, e a emissão foi adquirida utilizando o filtro passa-banda (BP) 585/40 nm (FL2).

2.9 Análise estatística

Para determinar o IC₅₀, foi realizada uma análise de regressão não linear utilizando log x resposta normalizada do inibidor. Os dados dos ensaios de modulação da resistência e atividade antibiofilme foram tratados por ANOVA bidirecional (dependendo do tratamento e da concentração), seguida por Tukey. Todos os ensaios utilizaram um $\alpha = 0,05$ e foram realizados utilizando o software Graphpad Prism versão 6.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análises de regressão das curvas de crescimento mostram que ambos os produtos têm atividade antifúngica dependente da concentração (Gráfico 1). O MFC demonstrou que para o EEER esses efeitos foram fungistáticos e o FTA foi fungicida contra *C. krusei* (Tabela 1), enquanto para as outras espécies de *Candida* teve efeitos fungistáticos. Nossos dados corroboram a hipótese inicial de que os alcaloides de *E.*

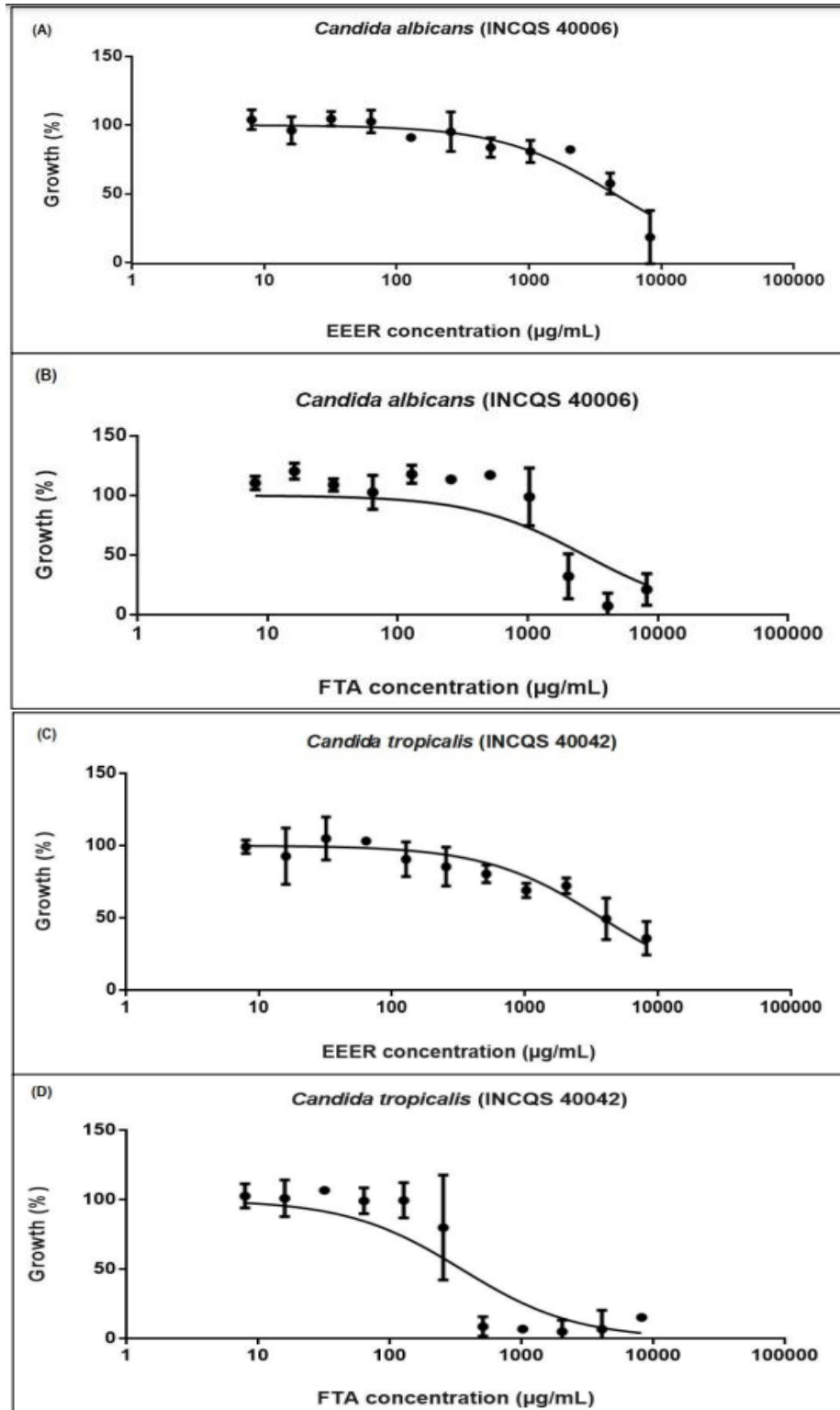
revolutum têm atividade antifúngica. A atividade do FTA isoladamente contra fungos também corrobora o estudo de Aguiar et al. (2012) com outra espécie do gênero, *Erythroxyllum caatingae*. Em *E. caatingae*, tanto o extrato metanólico quanto as frações, exceto o hexano, mostraram atividade contra fungos. Isso sugere que a atividade antifúngica está relacionada a várias moléculas presentes no extrato. Em contraste, em nosso estudo o extrato bruto não mostrou atividade, mas a fração alcaloide sim. Isso pode ser explicado pela concentração desses alcaloides no extrato ou pela interação com outras moléculas. Nossos dados demonstram o potencial do FTA com seus dois alcaloides juntos, mas estudos adicionais são necessários para testá-los isoladamente. É importante ressaltar que essa atividade pode ser sinérgica e, quando isolados, não apresentam atividade.

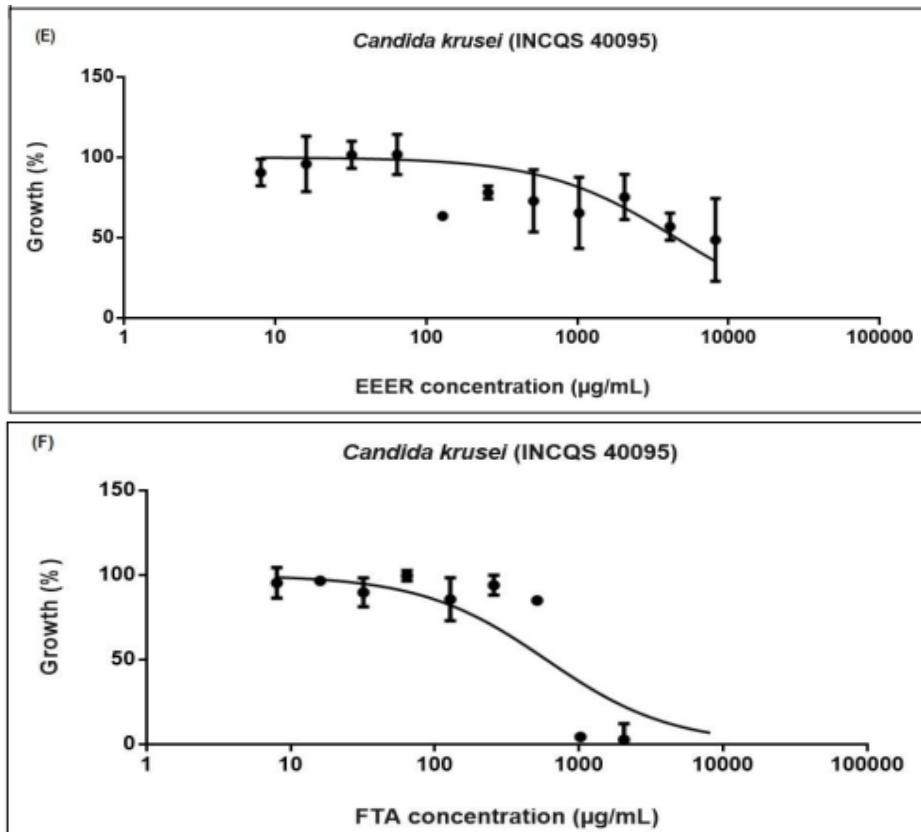
Tabela 1: Resultado da MFC (Concentração Fungicida Mínima) do EEER (Extrato Etanólico de *Erythroxyllum revolutum*) e FTA (Fração Total de Alcaloides).

Cepas	[EEER] µg/mL	[FTA] µg/mL
<i>Candida albicans</i> (CA INCQS 40006)	≥ 16.384	≥ 16.384
<i>Candida krusei</i> (CK INCQS 40095)	≥ 16.384	4.096
<i>Candida tropicalis</i> (CT INCQS 40042)	≥ 16.384	≥ 16.384

Fonte: A autora (2025).

Gráfico 1 – Curvas de crescimento de espécies de *Candida* na presença de EEER (Extrato Etanólico de *Erythroxylum revolutum* e FTA (Fração de Alcalóides Totais). (A) Ensaio de *C. albicans* contra EEER (IC₅₀ = 4,417 e R² = 0,81); (B) Ensaio de *C. albicans* contra FTA (IC₅₀ = 2,735 e R² = 0,68); (C) Ensaio de *C. tropicalis* contra EEER (IC₅₀ = 3,764 e R² = 0,77); (D) Ensaio de *C. tropicalis* contra FTA (IC₅₀ = 353 e R² = 0,82); (E) Ensaio de *C. krusei* contra EER (IC₅₀ = 2.954,0 e R² = 0,77) e (F) Ensaio de *C. krusei* contra FTA (IC₅₀ = 595 e R² = 0,81).

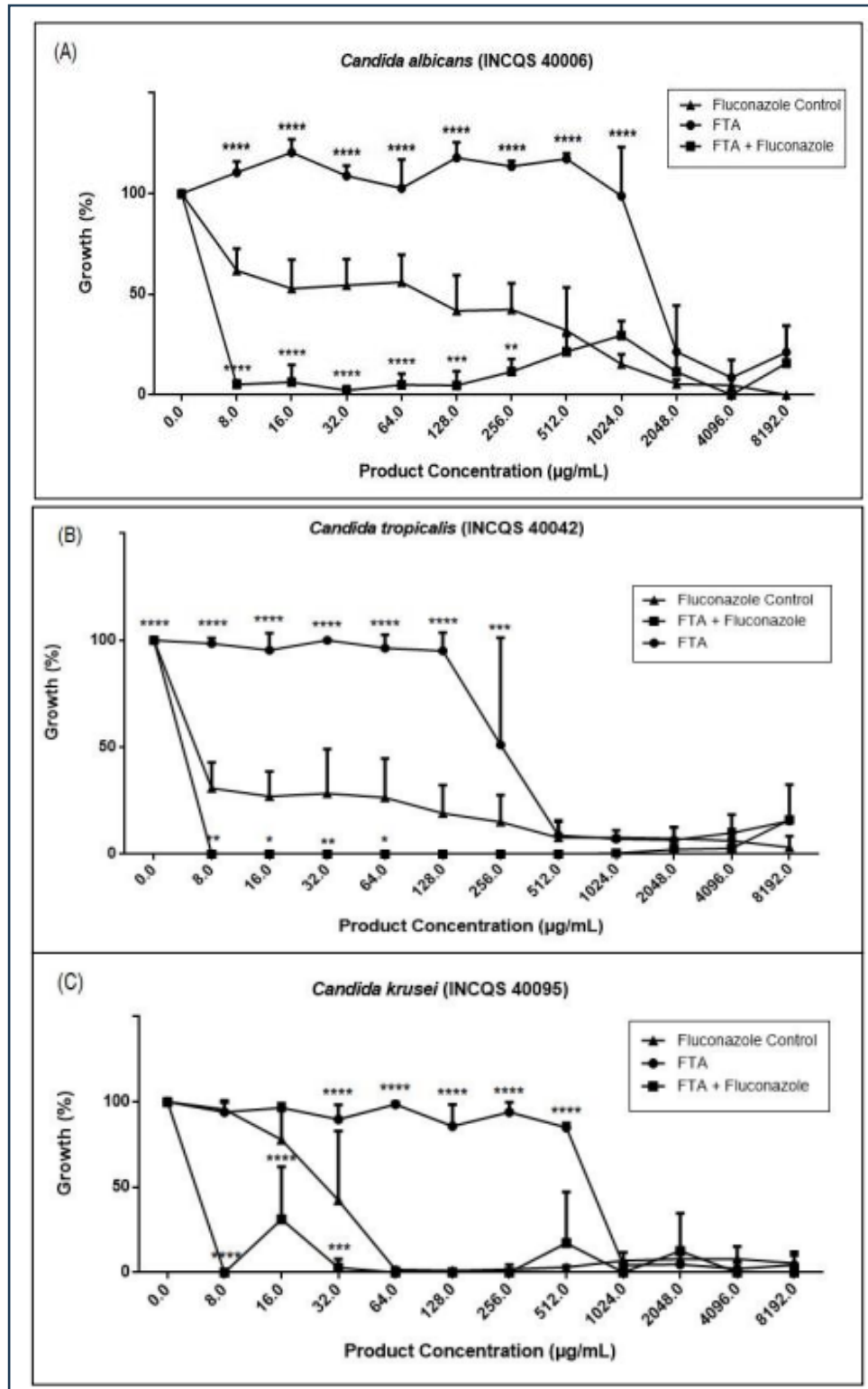




Fonte: A autora (2025).

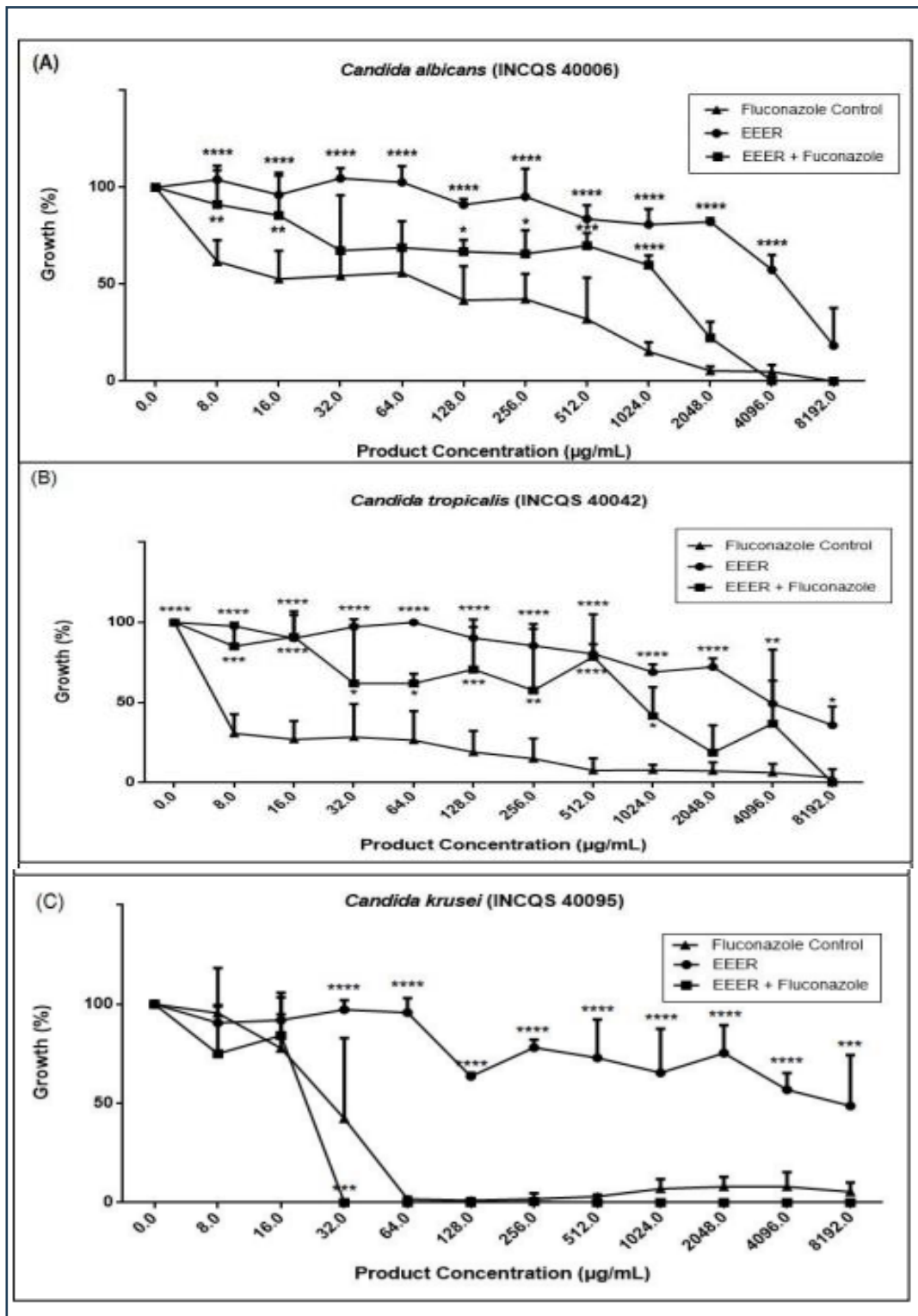
Alguns alcaloides foram testados isoladamente por Özçelik et al. (2011), assim como alguns flavonoides e compostos fenólicos, todos de origem sintética. Neste estudo, muitos alcaloides apresentaram atividade antifúngica contra *C. albicans*. Segundo o autor, a intensidade das atividades observadas parece depender de estruturas moleculares com padrões de substituição específicos, mas que ainda necessitam de estudos para elucidar esses mecanismos. Conseguimos obter, por extração simples, um produto purificado (com dois alcaloides tropânicos de estrutura similar) com atividade biológica pronunciada. Como o caminho para um composto sintético é mais longo e mais caro, os produtos naturais são uma alternativa muito mais econômica. Nos testes de modulação da resistência, o FTA provou ser um produto ainda mais promissor. A ANOVA de duas vias mostrou que apresentou sinergismo (Gráfico 2), enquanto o EEER atuou como antagonista do fluconazol (Gráfico 3).

Gráfico 2: Efeitos do FTA (Fração de Alcaloides Totais) sozinho e em combinação com fluconazol contra o crescimento de *Candida albicans* (A), *Candida tropicalis* (B) e *Candida krusei* (C).



Fonte: A autora (2025).

Gráfico 3 - Efeitos do EEER (Extrato Etanólico de *Erythroxylum revolutum*) sozinho e em combinação com fluconazol contra o crescimento de *Candida albicans* (A), *Candida tropicalis* (B) e *Candida krusei* (C).



Fonte: A autora (2025).

A combinação FTA + fluconazol demonstra ação fungistática contra todas as espécies de *Candida* testadas, tendo efeito fungicida apenas contra *Candida krusei* (Tabela 2). A atividade antimicrobiana observada contra *C. krusei*, combinada com sinergismo com fluconazol contra essas mesmas cepas, respectivamente, é uma indicação de seu mecanismo. Muitas interações entre medicamentos convencionais e produtos naturais foram relatadas por efeitos sinérgicos multi-alvo ou interação com mecanismos de resistência microbiana (Wagner e Ulrich-Merzenich, 2009). A resistência a antibióticos pode ocorrer por efluxo do fármaco por bombas de transporte ativas, genes que promovem eficiência de ligação reduzida pela modificação do sítio ativo ou superexpressão de componentes da parede, ou pela codificação de enzimas que hidrolisam completamente ou destroem o fármaco (Sheldon, 2005). As leveduras *C. krusei* são oportunistas e naturalmente apresentam um alto nível de resistência ao fluconazol associado ao fenótipo MDR, que codifica receptores com baixa afinidade para antifúngicos da classe azólica. Isso resultou em implicações clínicas extremamente negativas, especialmente em pacientes com neoplasias hematológicas, receptores de transplantes e portadores de HIV. É importante ressaltar que a resistência primária da levedura aos derivados azólicos, especialmente o fluconazol, é um fenômeno emergente e, segundo alguns autores, o que temos atualmente é apenas a ponta do iceberg (Samaranayake e Samaranayake, 1994; Pfaller et al., 2008).

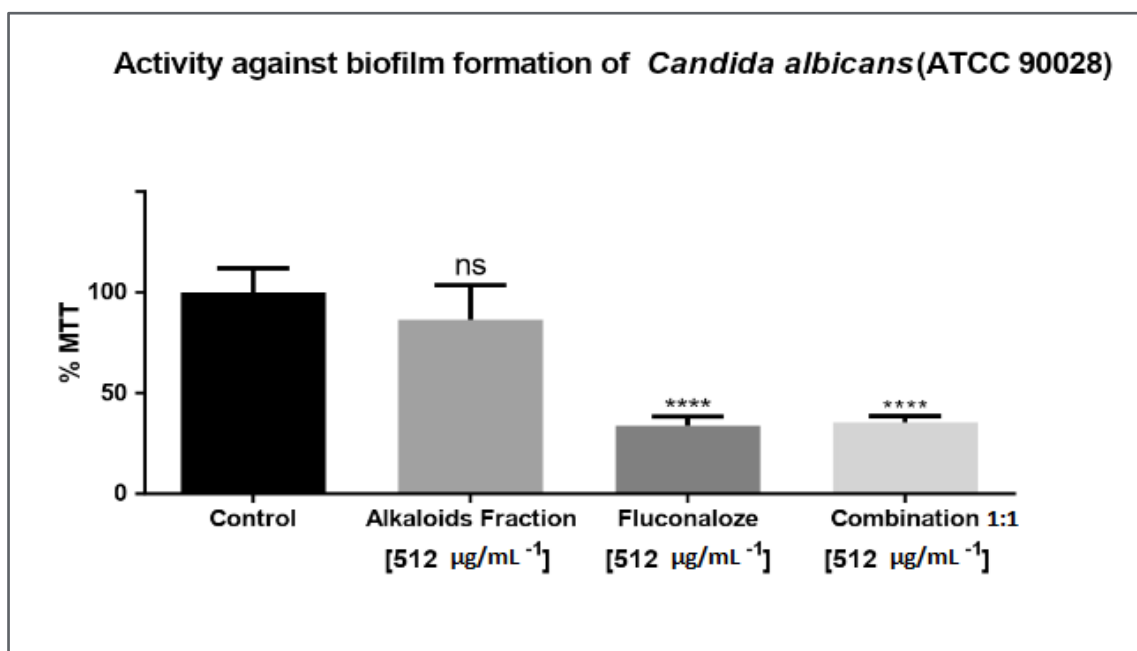
Tabela 2: Resultado de MFC (Concentração Fungicida Mínima) da modificação da resistência fúngica por EEER (Extrato Etanólico de *Erythroxyllum revolutum*) e FTA (Fração de Alcalóides Totais) em combinação com fluconazol.

Cepas	CFM Fluconazol [$\mu\text{g/mL}$]	
	+EEER	+FTA
<i>Candida albicans</i> (CA INCQS 40006)	≥ 16.384	≥ 16.384
<i>Candida krusei</i> (CK INCQS 40095)	≥ 16.384	8
<i>Candida tropicalis</i> (CT INCQS 40042)	≥ 16.384	≥ 16.384

Fonte: A autora (2025).

O FTA apresentou melhor atividade contra leveduras e por isso escolhemos este produto para testes contra a cepa formadora de biofilme *Candida albicans* (ATCC 90028). Como mostrado nos gráficos 4 e 5, o FTA não foi capaz de inibir a formação de biofilme, mas foi eficaz em quebrá-lo. Além disso, a combinação de FTA com fluconazol pode ser bem explorada em uma terapia combinada, uma vez que é capaz de produzir o mesmo efeito que o fluconazol sozinho, o que representa uma redução de 50% na concentração deste fármaco. Essa redução pode ser crucial em casos de pacientes com infecções recorrentes e que precisam fazer uso recorrente e/ou prolongado do fármaco, dados seus efeitos adversos e a alta probabilidade do microrganismo adquirir resistência ao fármaco.

Gráfico 4 - Atividade inibitória da formação de biofilme da fração de alcalóides (FTA) sozinha e em sinergia com fluconazol contra a cepa formadora de biofilme *Candida albicans* (ATCC 90028).

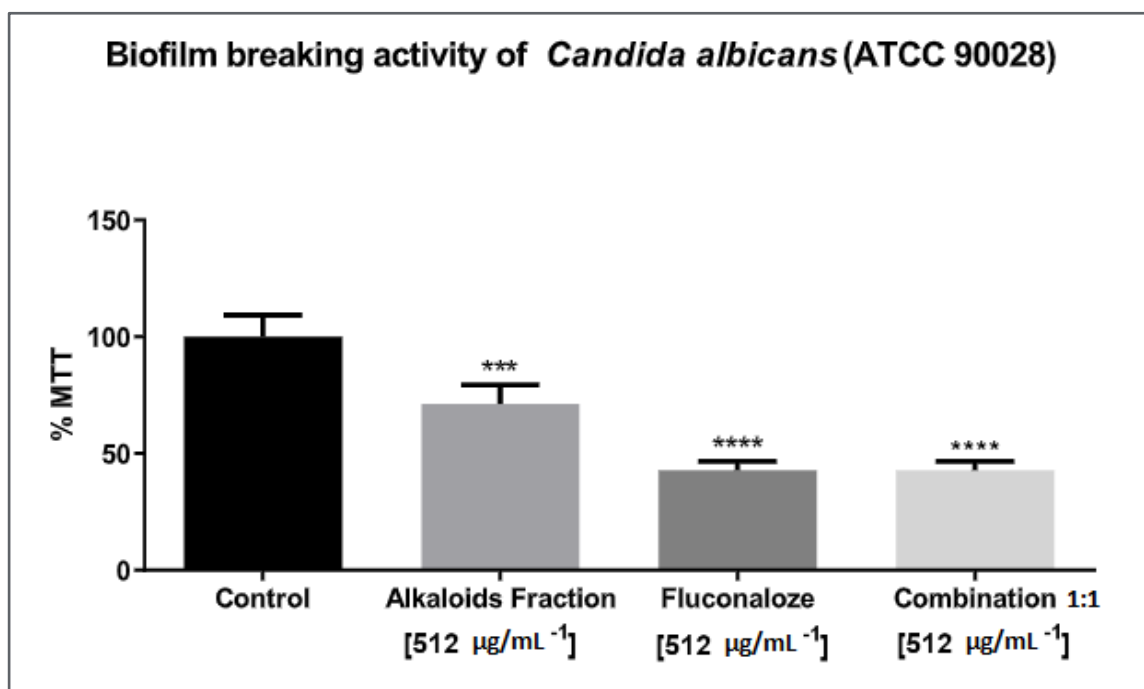


Fonte: A autora (2025).

O teste de mecanismo com sorbitol demonstra a atividade da fração alcaloide na parede celular, uma vez que, na presença deste estabilizador, esta perde sua atividade (Tabela 3). O fluconazol não perde atividade, pois não atua causando danos à parede; seu mecanismo de ação se dá pela inibição da síntese de ergosterol, um importante componente da parede celular. Portanto, esses dados sugerem que o

sinergismo entre esses alcaloides e o fluconazol ocorre por mecanismos multialvo na parede celular fúngica.

Gráfico 5 - Resultados do ensaio de degradação do biofilme maduro da fração de alcalóides (FTA) isoladamente e em sinergia com fluconazol contra a cepa formadora de biofilme *C. albicans* (ATCC 90028).



Fonte: A autora (2025).

Tabela 3: Resultados da análise do crescimento de colônias de *C. albicans* na presença de drogas de teste em meio de cultura contendo e sem sorbitol.

Concentração do Produto (µg/mL)	% Crescimento					
	Com sorbitol			Sem sorbitol		
	FA	Flu	FA+Flu (1:1)	FA	Flu	FA+Flu (1:1)
0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
8	90,4	75,6	89,0	87,2	68,9	77,1
16	84,2	66,6	79,6	100,0	69,7	67,6
32	89,7	74,8	79,3	87,6	68,4	69
64	87,4	67,4	72,2	86,6	65,3	72,8
128	83,5	64,1	72,6	88,4	65,2	73,6
256	84,8	51,2	61,4	84,8	62,0	75,4
512	90,5	59,3	55,5	69,4	41,0	45,3

Fonte: A autora (2025).

Para investigar uma possível alteração na expressão de carboidratos da parede, realizamos uma análise por citometria de fluxo utilizando um bioconjugado com a lectina de Cramoll, que se liga especificamente ao carboidrato glicose. A Tabela 4 mostra a comparação entre os tratamentos e o controle de *C. albicans* sem tratamento e sem marcação, delimitando em 0,5% no histograma como controle. Nestes resultados, pode-se observar uma clara alteração na porcentagem de marcação entre os grupos tratados com os fármacos teste e o bioconjugado QDs-Cramoll e o grupo onde o bioconjugado foi inibido, exceto para o grupo do fármaco Anfotericina B, onde tanto o grupo inibido quanto o não inibido apresentaram MIFs muito próximos. Para os demais fármacos, onde essa marcação foi alterada, podemos supor uma alteração na porcentagem de carboidratos da parede. A lectina de Cramoll (1,4) é purificada de *Cratylia mollis* e tem a propriedade de se ligar especificamente à glicose/manose (Correia e Coelho, 1995). Desde seu isolamento, diversos estudos demonstraram seu potencial como marcador na detecção de células normais e transformadas (Beltrão et al., 1998).

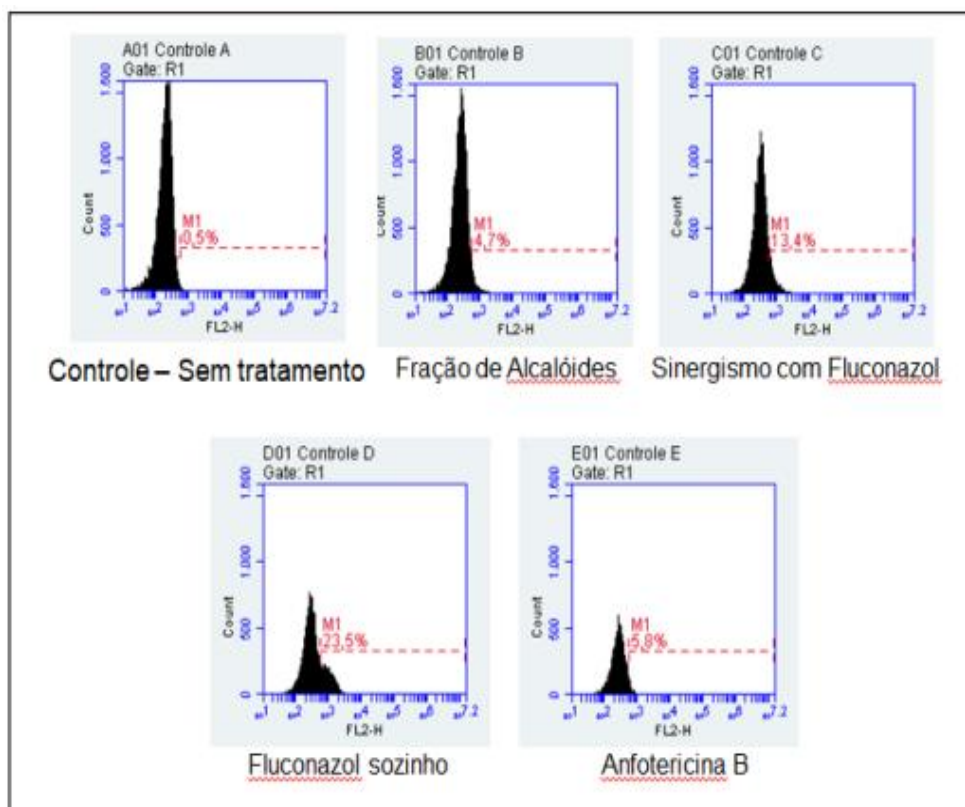
Tabela 4 - Resultados da citometria com o bioconjugado QDs-Cramoll, comparando com o controle de *C. albicans* sem tratamento e sem marcação. *MFI = Intensidade de Fluorescência Mediana.

Amostra	QDs-Cramoll		QDs-Cramoll Inibido (%)	
	Marcação (%)	MIF	Marcação (%)	MIF
<i>C. albicans</i> sem tratamento	100,0	5.343,0	23,5	283,0
Fração de Alcalóides	99,5	9.457,5	31,9	368,0
Sinergismo com Fluconazol	99,4	9.883,0	60,6	536,0
Fluconazol sozinho	98,2	8.992,0	80,9	997,0
Anfotericina B	100,0	95.414,0	99,9	99.401,5

Fonte: A autora (2025).

A citometria de fluxo mostra alterações no tamanho (FSC) e na complexidade (SSC) de *C. albicans* após diferentes tratamentos. Também houve alterações no histograma após os tratamentos (Gráficos 6 e 7).

Gráfico 6 - Células após os diferentes tratamentos. Na contagem, as células se diferenciaram do comportamento delimitado para o controle (*C. albicans* sem tratamento – 98,5%).

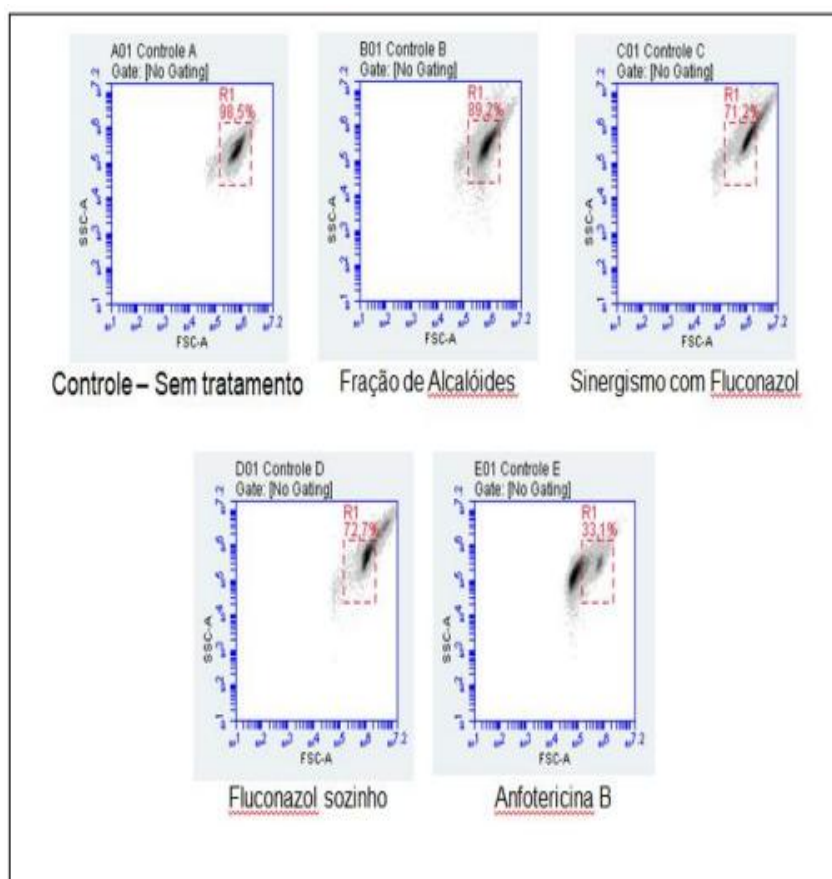


Fonte: A autora (2025).

A atividade antifúngica do extrato etanólico das folhas de *E. revolutum* foi previamente testada por Pinheiro e Araújo (2021) contra cepas de *Candida*. Neste ensaio, o extrato apresentou CIM de 15,6 $\mu\text{L/mL}$. No entanto, a composição química do extrato não foi publicada, o que dificulta a comparação, razão pela qual encontramos resultados diferentes neste estudo. Existem muitos relatos na literatura de espécies de *Erythroxyllum* com atividade antimicrobiana, como *E. novogranatense* (PASTOR, 2011), *E. subrotundum* (SILVA, 2013), *E. macrocarpum* (MAHOMOODALLY et al., 2008), entre outras. Doravante, o artigo publicado por Aguiar et al. (2014), com *Erythroxyllum caatingae*, espécie que, assim como *E.*

revolutum, é endêmica da Caatinga. Neste estudo, alcaloides isolados demonstraram expressiva atividade antimicrobiana. Embora a atividade do extrato bruto não tenha sido considerada clinicamente relevante neste estudo, a fração alcaloide demonstrou um efeito sinérgico com o fluconazol que pode ser explorado na prática clínica. Essas combinações híbridas são uma ótima estratégia para prevenir e até mesmo modular a resistência fúngica a medicamentos.

Gráfico 7: Mudanças em *C. albicans* após os tratamentos.



Fonte: A autora (2025).

6 CONCLUSÕES

A associação FTA+Fluconazol foi capaz de modificar significativamente o mecanismo de resistência à *Candida*, evidenciando alterações no tamanho e na complexidade celular. Esses resultados sugerem que este produto pode servir como adjuvante ao fluconazol no tratamento da candidíase.

7 REFERÊNCIAS

AGRA, M. F. et al. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 18, p. 472-508, 2008.

AGUIAR, S. J. et al. Antimicrobial, antiproliferative and proapoptotic activities of extract, fractions and isolated compounds from the stem of *Erythroxylum caatingae* Plowman. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 13, p. 4124-4140, 2012.

ALBUQUERQUE, C. H. et al. Flavonoides glicosilados de *Erythroxylum pulchrum* St. Hil. (Erythroxylaceae). *Química Nova*, v. 37, p. 663-666, 2014.

ALVES, L. A. et al. Effect of *Schinus terebinthifolius* on *Candida albicans* growth kinetics, cell wall formation and micromorphology. *Acta Odontologica Scandinavica*, v. 71, p. 965–971, 2013.

BAQUERO, F.; BLÁZQUEZ, J. Evolution of antibiotic resistance. *Trends in Ecology & Evolution*, v. 12, p. 482-487, 1997.

BARREIROS, M. L. et al. Fatty acid esters of triterpenes from *Erythroxylum passerinum*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 13, p. 669-673, 2002.

BARREIROS, M. L. et al. Flavonoids and triterpenes from leaves of *Erythroxylum nummularia*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 33, p. 537-540, 2005.

BELTRÃO, E. I. et al. Binding evaluation of Isoform 1 from *Cratylia mollis* lectin to human mammary tissues. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 74, p. 125-134, 1998.

CHANDA, S.; RAKHOLIYA, K. Combination therapy: synergism between natural plant extracts and antibiotics against infectious diseases. In: MÉNDEZ-VILAS, A. (ed.). *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*. Badajoz: Formatex, 2011. p. 520-529.

CHÁVEZ, J. P. et al. Flavonoids and triterpene ester derivatives from *Erythroxylum leal costae*. *Phytochemistry*, v. 41, p. 941-943, 1996. **21**. MORAIS-BRAGA, M. F. B. et al. *Psidium guajava* L. and *Psidium brownianum* Mart ex DC.: Chemical composition and anti-*Candida* effect in association with fluconazole. *Microbial Pathogenesis*, v. 95, p. 200-207, 2016.

CORREIA, M. T. S.; COELHO, L. C. B. B. Purification of a glucose/mannose specific lectin, isoform 1, from seeds of *Cratylia mollis* Mart. (Camaratu Bean). *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 55, p. 261–273, 1995.

COUTINHO, H. D. M. et al. Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. *Chemotherapy*, v. 54, p. 328-330, 2008.

COUTINHO, H. D. M. et al. Effect of *Momordica charantia* L. in the resistance to aminoglycosides in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, v. 33, p. 467–471, 2010.

FREITAS, M. A. et al. Evaluation of the antifungal activity of the *Licania rigida* leaf ethanolic extract against biofilms formed by *Candida* sp. isolates in acrylic resin discs. *Antibiotics*, 2019.

GONZÁLEZ-GARCÍA, K. et al. Género *Erythroxylum*: análisis de la información científica. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, v. 24, p. 284-290, 2005.

GULDBRANDSEN, N. et al. Screening of Panamanian plant extracts for pesticidal properties and HPLC-based identification of active compounds. *Scientia Pharmaceutica*, v. 83, p. 353–367, 2015.

LOIOLA, M. I. B. et al. Flora da Paraíba, Brasil: Erythroxylaceae Kunth. *Acta Botanica Brasilica*, v. 21, p. 473-487, 2007.

MAHOMOODALLY, M. F.; GURIB-FAKIM, A.; SUBRATTY, A. H. Antimicrobial activities and phytochemical profiles of endemic medicinal plants of Mauritius. *Pharmaceutical Biology*, v. 43, p. 237–242, 2008.

MAIA, A. K. H. L. et al. Antinoceptive activity of the extract of *Erythroxylum caatingae*. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, v. 13, p. 152-162, 2014.

MATOS, F. J. A. *Introdução à fitoquímica experimental*. 3. ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009.

MORAIS-BRAGA, M. F. B. et al. *Psidium guajava* L. and *Psidium brownianum* Mart ex DC.: Chemical composition and anti-*Candida* effect in association with fluconazole. *Microbial Pathogenesis*, v. 95, p. 200-207, 2016.

NEGRI, G. et al. Avaliação da composição química e efeitos toxicológicos de extratos etanólicos de casca e folhas de *Erythroxylum vacciniifolium* em modelos *in vivo*. *Revista Eletrônica FUNVIC*, 2016. Disponível em: <http://www.revistaeletronicafunvic.org>. Acesso em: [14/04/2023].

OLIVEIRA, S. L. de. *Fitoquímica de espécies de Erythroxylum do semiárido: isolamento e determinação estrutural de alcaloides tropânicos, flavonoides e diterpenos*. 2012. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.

ÖZÇELİK, B.; KARTAL, M.; ORHAN, I. Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids. *Pharmaceutical Biology*, v. 49, p. 396-402, 2011.

PASTOR, C. B. V. *Efecto inhibitorio in vitro del extracto acuoso y el extracto etanólico de la hoja de Erythroxylum novogranatense var. truxillense (Coca) sobre el crecimiento de Streptococcus mutans*. 2011. Monografía – Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, 2011.

PEREIRA, G. M. *Erythroxyllum pungens* O. E. Shulz: proteômica total e bioprospecção de alcaloides tropânicos. 2017. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017.

PFALLER, M. A. *Candida krusei*, a multidrug-resistant opportunistic fungal pathogen: geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program, 2001 to 2005. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 46, p. 515-521, 2008.

PINHEIRO, B. L. M.; ARAÚJO, C. R. F. Estudo da ação antifúngica de *Erythroxyllum revolutum* sobre cepas do gênero *Candida*. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, p. 20202-20214, 2021.

RODRÍGUEZ-ROJAS, A. et al. Antibiotics and antibiotic resistance: a bitter fight against evolution. *International Journal of Medical Microbiology*, v. 303, p. 293-297, 2013.

SANTOS, R. P. et al. Anti-biofilm effect by the combined action of fluconazole and acetylsalicylic acid against species of *Candida parapsilosis* complex. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 84, 2020.

SAMARANAYAKE, Y. H.; SAMARANAYAKE, L. P. *Candida krusei*: biology, epidemiology, pathogenicity and clinical manifestations of an emerging pathogen. *Journal of Medical Microbiology*, v. 41, p. 295-310, 1994.

SARAIVA, R. A. et al. Synergistic action between *Caryocar coriaceum* Wittm fixed oil with aminoglycosides *in vitro*. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 113, p. 967-972, 2011.

SHELDON, A. T. Antibiotic resistance: a survival strategy. *Clinical Laboratory Science*, v. 18, n. 3, p. 170-180, 2005.

SILVA, S. M. M. *Avaliação da atividade antimicrobiana de espécies vegetais do Bioma Cerrado*. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

TABOSA, I. M. et al. Isolamento biomonitorado de alcaloides tóxicos de *Prosopis juliflora* (algaroba). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 9, p. 11-22, 2000.

VILLANUEVA, V. A.; NAKATA, H. M. Plantas medicinales: efecto antibacteriano *in vitro* de *Plantago major* L., *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica. *Odontología Sanmarquina*, v. 13, p. 21-25, 2010.

VIOLANTE, I. M. P. et al. Antimicrobial activity of some medicinal plants from the Cerrado of the central-western region of Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 43, p. 1302-1308, 2012.

WAGNER, H.; ULRICH-MERZENICH, G. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Phytomedicine*, v. 16, p. 97-110, 2009.

WAGNER, H.; EFFERTH, T. Introduction: Novel hybrid combinations containing synthetic or antibiotic drugs with plant-derived phenolic or terpenoid compounds. *Phytomedicine*, v. 37, p. 1–3, 2017.

WET, H. Antibacterial activity of the five South African Erythroxylaceae species. *African Journal of Biotechnology*, v. 10, p. 11511-11514, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014*. Geneva: WHO, 2014.

7 ARTIGO 4 – Avaliação das atividades antinociceptiva, anti-inflamatória e gastroprotetora da fração de alcaloides de *Erythroxylum revolutum* mart. (Erythroxylaceae)

Lista de autores:

Maisa Fernanda dos Santos Barbosa^{1*}

Alisson Macário de Oliveira¹

Wêndeo Kennedy Costa¹

Rogério de Aquino Saraiva²

Thiago Henrique Napoleão¹

Kátia Ribeiro Alves

Márcia Vanusa da Silva¹

Maria Tereza dos Santos Correia¹

¹Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife, Pernambuco, Brasil.

²Universidade Regional do Cariri, 63105-000, Crato, Ceará, Brasil.

*Autora para correspondência: maisa.santosbarbosa@ufpe.br

Abstract

This article presents an investigation into the potential of alkaloids extracted from the leaves of *Erythroxylum revolutum*, an endemic plant of the Caatinga, in the treatment of pain and inflammation. Protective effects on the gastric mucosa are also reported here. In vivo models were used (*Swiss albino* mice) and concentrations of 100, 200 and 400mg were effective in all assays. The mechanisms of action were also investigated and discussed in this article.

Keywords: Caatinga, Natural products, Phytotherapy.

Resumo

Este artigo apresenta uma investigação sobre o potencial de alcaloides extraídos das folhas de *Erythroxylum revolutum*, uma planta endêmica da Caatinga, no tratamento da dor e inflamação. Efeitos protetores sobre a mucosa gástrica também são relatados. Foram utilizados modelos in vivo (camundongos albinos suíços) e as

concentrações de 100, 200 e 400 mg foram eficazes em todos os ensaios. Os mecanismos de ação também foram investigados e discutidos neste artigo.

Palavras-chave: Caatinga, Produtos naturais, Fitoterapia.

1 INTRODUÇÃO

De modo geral, a dor, seja ela aguda ou crônica, acarreta diversas alterações nos padrões de comportamento dos indivíduos acometidos, como irritabilidade, sono, apetite e libido irregulares e restrições na capacidade de realizar atividades, sejam elas profissionais ou pessoais. Dessa forma, além dos prejuízos causados ao paciente, também traz impactos diretos no setor econômico. Um exemplo é encontrado em um estudo realizado no Brasil com pacientes com dor crônica, onde foi verificado que 94,9% destes apresentavam comprometimento da atividade profissional. Na dor crônica, os sintomas supracitados são prolongados e podem aumentar de intensidade (Teixeira et al., 1995; Paiva et al., 2006).

Assim como a dor, a inflamação também causa prejuízos econômicos devido ao absenteísmo no trabalho. Há também correlação entre inflamação, dor e estado psicológico, pois, enquanto a inflamação persiste, ela contribui para a continuidade do ciclo da dor e, assim, causa hipersensibilidade da área lesionada. Dessa forma, o estresse psicológico do indivíduo aumenta e acaba induzindo um aumento de citocinas inflamatórias, agravando o quadro (Paiva et al., 2006).

Diversos medicamentos são utilizados atualmente no tratamento da dor e da inflamação, como corticosteroides, narcóticos e os conhecidos como AINEs (anti-inflamatórios não esteroidais) (Ali et al., 2014). No entanto, o uso desses medicamentos tornou-se problemático recentemente. A inacessibilidade ao uso por populações de baixa renda é apenas a ponta do iceberg. Existem diversos estudos que demonstram que esses medicamentos apresentam efeitos adversos à saúde, como problemas gastrointestinais, tolerância e dependência (Ali et al., 2014; Crofford, 2013; Simon, 2013; Martini e Whistler, 2007).

Em meio aos paradigmas dessa problemática, as plantas medicinais surgem como uma estratégia bastante eficaz e promissora na busca por moléculas menos tóxicas e mais potentes (Kibble et al., 2015). A família Erythroxylaceae, à qual pertence a espécie-alvo deste projeto, tornou-se famosa pela cocaína, um alcaloide

do tipo tropano. Extraído principalmente da espécie *Erythroxylum coca*, possui propriedades psicoativas e analgésicas, podendo também estar presente em algumas outras espécies do gênero. No entanto, muitos outros alcaloides já foram extraídos de espécies dessa família e apresentaram propriedades farmacológicas sem apresentar os efeitos adversos e aditivos da cocaína (BARBOSA et al., 2014). Mesmo as atividades antinociceptiva e anti-inflamatória já foram comprovadas empiricamente em algumas espécies do gênero (GUSMAN et al., 2015; MAIA et al., 2014).

Por fim, neste artigo testamos a hipótese de que *Erythroxylum revolutum*, uma espécie de *Erythroxylum* endêmica do nordeste brasileiro, é produtora de alcaloides bioativos de interesse farmacológico. Portanto, testamos suas possíveis atividades antinociceptiva, anti-inflamatória e gastroprotetora em modelos animais. Com isso, pretendemos enfatizar o valor da planta em estudo para a terapêutica moderna e ressaltar a importância da conservação dos ecossistemas da Caatinga como fonte de moléculas bioativas de interesse farmacológico. Por fim, este artigo contribui com informações essenciais para o desenvolvimento de um novo fármaco com ação anti-inflamatória, analgésica e antiulcerosa, produzido a partir de uma planta da Caatinga.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta do material botânico

A coleta de material botânico foi realizada no Parque Estadual da Mata da Pimenteira, Unidade de Conservação localizada no município de Serra Talhada-PE (Por se tratar de uma Unidade de Conservação, as coletas para fins de pesquisa não necessitam de autorização, conforme IN ICMBio nº 03/2014) (S 7°4'29.8" W 38°18'07.2") em março de 2017. Os espécimes foram identificados pelo taxonomista André Laurênio e depositados no Herbário do Semiárido Brasileiro (HESBRA/UAST/UFRPE), sob o número 3711.

2.2 Extração da Fração Total de Alcaloides

As folhas coletadas foram colocadas para secar a 35°C em estufa de ar circulante. Para o preparo e análise do extrato etanólico bruto, seguiu-se a metodologia de Oliveira (2012). Para a obtenção da fração alcaloide, denominada FTA

(Fração Total de Alcaloides), seguiu-se a metodologia de extração ácido-base de Tabosa (2000), com adaptações.

2.3 Animais e aspectos éticos

Foram utilizados camundongos albinos suíços, com idade entre 10 e 12 semanas, pesando de 30 a 35g, fornecidos pelo biotério do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) da UFPE. Eles foram mantidos no biotério de experimentação animal do Departamento de Bioquímica da UFPE para aclimação, sob temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) e luminosidade (12h de luz e 12h de escuro) controladas, com água e ração ad libitum até o final dos experimentos. Os procedimentos de manuseio e cuidados seguiram as normas do CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal). Todos os procedimentos experimentais foram realizados utilizando o número mínimo de animais por grupo e estão de acordo com a legislação brasileira para experimentação animal, tendo sido aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal de Pernambuco.

2.4 Avaliação da atividade antinociceptiva

2.4.1 Teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético

Seguindo o método da dor abdominal, a nocicepção foi induzida com ácido acético a 0,8%. Inicialmente, 60 minutos antes da injeção de ácido acético, os fármacos em teste foram administrados por via oral. Foram eles: indometacina (20 mg/kg) como controle positivo, FTA (100, 200 e 400 mg/kg) e veículo (solução aquosa com 1% de Tween 80) como controle negativo. Após 60 minutos, ácido acético a 0,8% foi administrado (i.p.) e o número de contorções abdominais foi registrado entre 5 e 15 minutos após essa administração (Oliveira et al., 2018).

2.4.2 Teste de imersão de cauda

Neste teste, avalia-se a atividade de substâncias que atuam na nocicepção central, ou seja, na nocicepção aguda não inflamatória. As caudas dos animais foram imersas em banho-maria ($55 \pm 1^\circ\text{C}$), sendo registrado o tempo que o animal permaneceu com a cauda no banho. Após o registro desse tempo, foram

administrados os fármacos em teste: fração de alcaloides nas doses de 100, 200 e 400 mg/kg, o veículo (solução aquosa com 1% de Tween 80) e fentanil na dose de 0,3 mg/kg (como controle positivo). Em seguida, as caudas dos animais foram novamente imersas nos tempos de 20, 40, 60, 80, 100 e 120 minutos após a administração das substâncias e, novamente, foi registrado o tempo em que os animais levaram para responder ao estímulo. O tempo máximo de imersão da cauda foi fixado em 10s para evitar danos à cauda dos animais. Para obter o valor do Potencial Analgésico (PA), utilizou-se a seguinte fórmula:

$$PA = [(\text{valor medido} - \text{valor basal}) / (\text{tempo de corte} - \text{valor basal})] \times 100$$

Onde, o valor basal corresponde à média das medições realizadas antes dos tratamentos (Khatum et al., 2015).

2.4.3 Teste de formalina

Neste modelo, a formalina é injetada na pata do animal e a resposta comportamental do animal é quantificada. Baseia-se no dano tecidual e permite detectar substâncias analgésicas com diferentes tipos de ação (Hunskaar e Hole, 1987). Os animais foram tratados com os fármacos teste 1 hora antes da injeção de 0,05 mL de formalina (0,2%) em uma das patas traseiras, via injeção subplantar. Os fármacos teste foram: fração de alcaloides (100, 200 e 400 mg/kg), veículo (solução aquosa com 1% de Tween 80) e, como controles positivos, indometacina (10,0 mg/kg) e fentanil (0,3 mg/kg). As lambidas realizadas pelo animal na pata que sofreu a injeção foram consideradas indicativas de dor e o tempo de lambida nas duas fases de dor induzidas pelo teste foi registrado. A fase 1 (dor neurogênica) está associada à liberação de aminoácidos excitatórios, substância P e óxido nítrico. Com intervalo de duração de 0 a 5 minutos após a injeção, corresponde à dor mediada pela estimulação direta dos nociceptores das fibras aferentes do tipo C e do tipo A δ . A fase 2 (dor inflamatória), por sua vez, com intervalo de 15 a 30 minutos após a injeção, está relacionada à liberação de mediadores pró-inflamatórios, como prostaglandinas e bradicinina. Por fim, os tempos de lambadura foram utilizados para obter o Potencial Analgésico, calculado pela fórmula:

$$PA = [(\text{valor basal} - \text{valor medido}) / \text{valor basal}] \times 100$$

Onde, o valor basal corresponde à média das medições realizadas antes dos tratamentos (Khatum et al., 2015).

2.4.4 Análise do mecanismo de ação da nocicepção

Com o objetivo de avaliar em qual via ocorreu a ação nociceptiva, o experimento com formalina foi realizado em grupos teste nos quais determinadas vias estavam bloqueadas. Os seguintes bloqueadores foram administrados antes da administração dos fármacos em teste: Naloxona (2 mg/kg, 30 min antes), Atropina (1 mg/kg, 30 min antes), Glibenclamida (5 mg/kg, 30 min antes), loimbina (1 mg/kg) e Prazosina (1 mg/kg). Após a aplicação dos bloqueadores, os animais foram submetidos ao teste da formalina (conforme descrito no item anterior).

2.5 Avaliação da atividade anti-inflamatória

2.5.1 Edema de pata induzido por carragenina

Este teste baseia-se na indução de edema no membro pélvico (pata traseira) do animal por meio da injeção intraplantar de carragenina a 1% (100 μ L). Antes de iniciar o experimento, um ponto de referência da pata é medido com o auxílio de um paquímetro, posicionado no terço médio da região posterior, no sentido látero-medial, mais precisamente a 1 cm da fossa poplítea. Iniciado o teste, os animais foram tratados com a FTA (100, 200 e 400 mg/kg), o veículo (solução aquosa com Tween 80 a 1%) e indometacina (10 mg/kg), todos por via oral. Após 60 minutos da administração dos tratamentos, o edema foi induzido pela aplicação de carragenina. A formação de edema foi quantificada pelo aumento da espessura do membro, que foi medido novamente após 30, 60, 120 e 180 minutos da administração de carragenina. O cálculo do edema da pata foi realizado utilizando os valores de variação entre a espessura da pata (Δ , em mm) antes da aplicação de carragenina e seu volume após a injeção nos tempos 30, 60, 120 e 180 minutos (Veloso et al., 2012).

2.5.2 Peritonite Induzida por Carragenina

Com base na resposta inflamatória induzida pela carragenina, o modelo induz peritonite pela injeção de carragenina (750 μ g/poço) na cavidade peritoneal de camundongos. Os animais foram pré-tratados oralmente com as seguintes substâncias: a FTA (100, 200 e 400 mg/kg), o veículo (solução aquosa com 1% de Tween 80) como controle negativo e dexametasona (4 mg/kg) como controle positivo. Após 30 minutos da administração da substância, injetou-se carragenina para induzir

peritonite. Quatro horas após a indução, os animais foram eutanasiados, a cavidade peritoneal foi lavada com solução salina heparinizada (20 UI/ml) e o líquido peritoneal foi coletado para contagem de leucócitos e dosagem de citocinas (Velooso et al., 2012).

2.6 Avaliação da atividade gastroprotetora

2.6.1 Modelo de úlcera induzida por etanol

O ensaio baseia-se na indução de lesões gástricas pela administração oral de etanol absoluto em animais. Primeiramente, os animais foram submetidos a jejum de 16 horas e, após esse período, os fármacos também foram administrados por via oral. Os fármacos testados foram: FTA (100, 200 e 400 mg/kg), solução aquosa com 1% de Tween 80 (Controle da Lesão) e lansoprazol 30 mg/kg (controle positivo). Após 1h, a úlcera foi induzida com etanol e os animais foram sacrificados após 60 min de indução da úlcera para remoção dos estômagos. Para determinar a Área de Superfície da Lesão (ASV), foi realizada planimetria computadorizada utilizando o software ImageJ. Para a realização da planimetria, os estômagos foram abertos com um corte na linha de maior curvatura, fixados entre placas de vidro e fotografados (Almeida et al., 2017).

2.7 Análise estatística

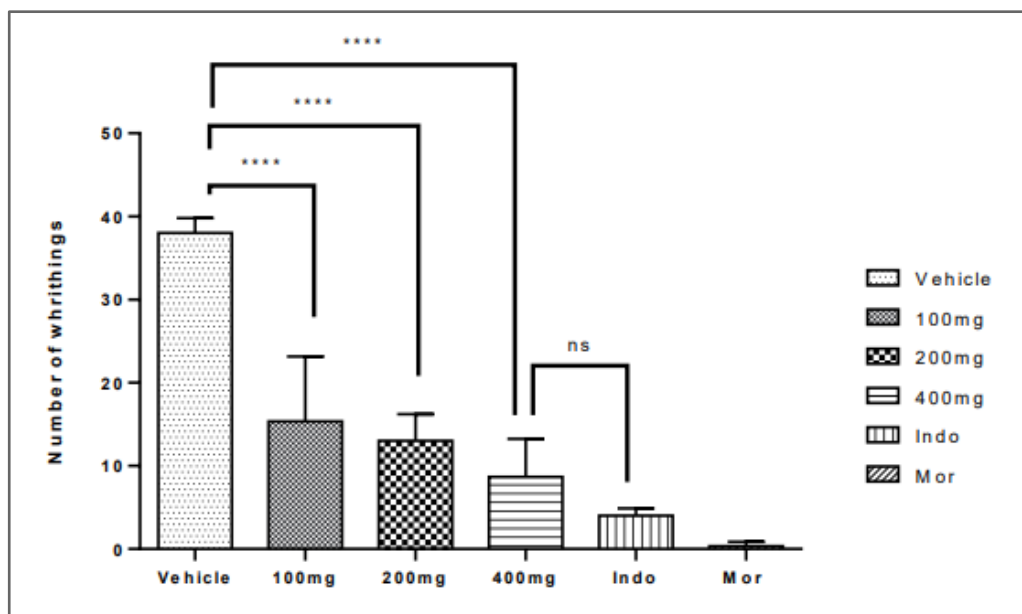
Todos os dados foram expressos como média \pm desvio padrão e analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Em seguida, foram submetidos à ANOVA seguida do teste de Tukey. Foi adotado um nível de significância de 0,05.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade da fração alcaloide dependente da dose demonstra o potencial analgésico do fármaco, que alcança efeitos semelhantes aos da indometacina (Gráfico 1). O teste de imersão em xarope reforça ainda mais o potencial da fração alcaloide, pois apresenta uma duração de ação mais longa do que a morfina (Gráfico 2). Por meio deste ensaio, foi possível observar que a fração alcaloide atua em ambas

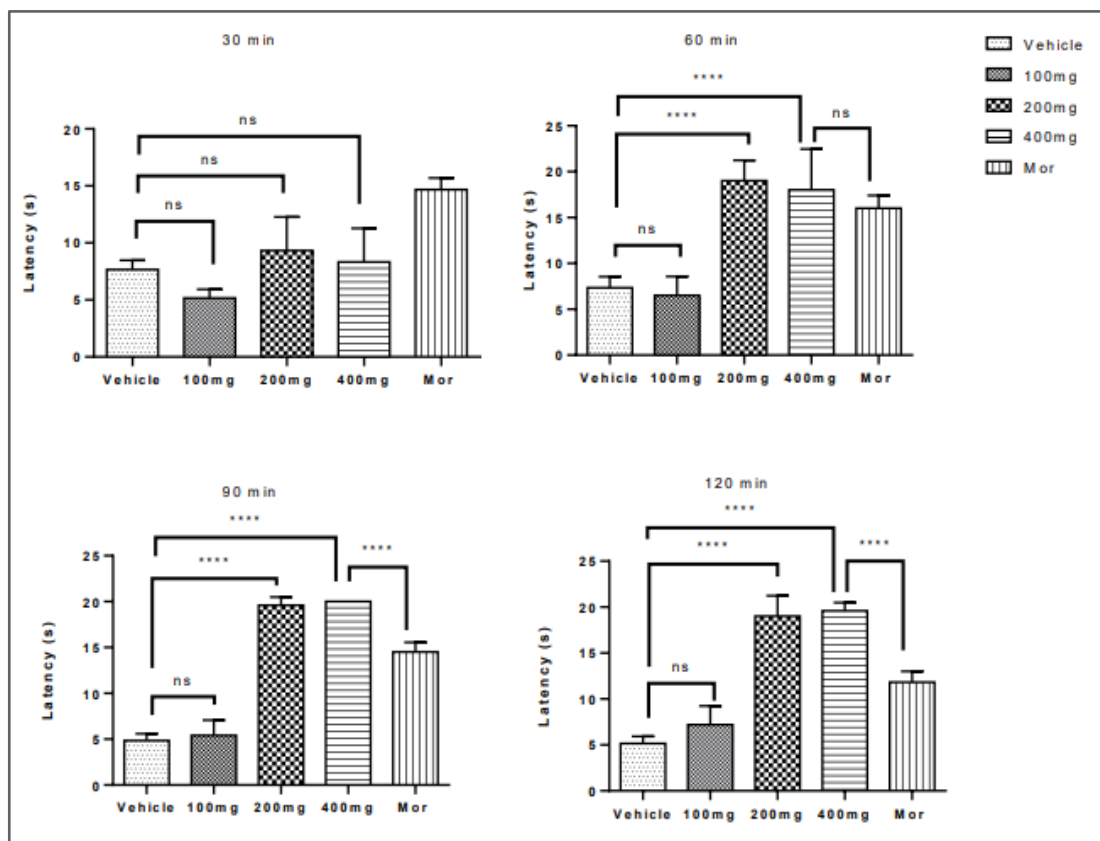
as fases da dor, mas muito mais na fase inflamatória do que na fase aguda (Gráfico 3).

Gráfico 1 - Resultado do teste de contorção abdominal. Indo = indometacina. Mor = morfina.



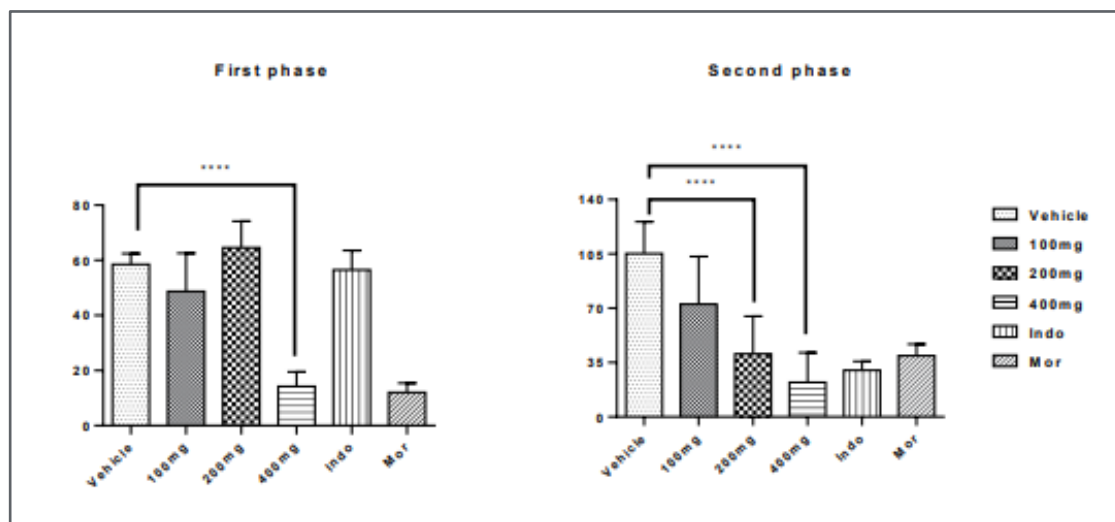
Fonte: A autora (2025).

Gráfico 2 - Resultado do teste de imersão de cauda. Mor = morfina.



Fonte: A autora (2025).

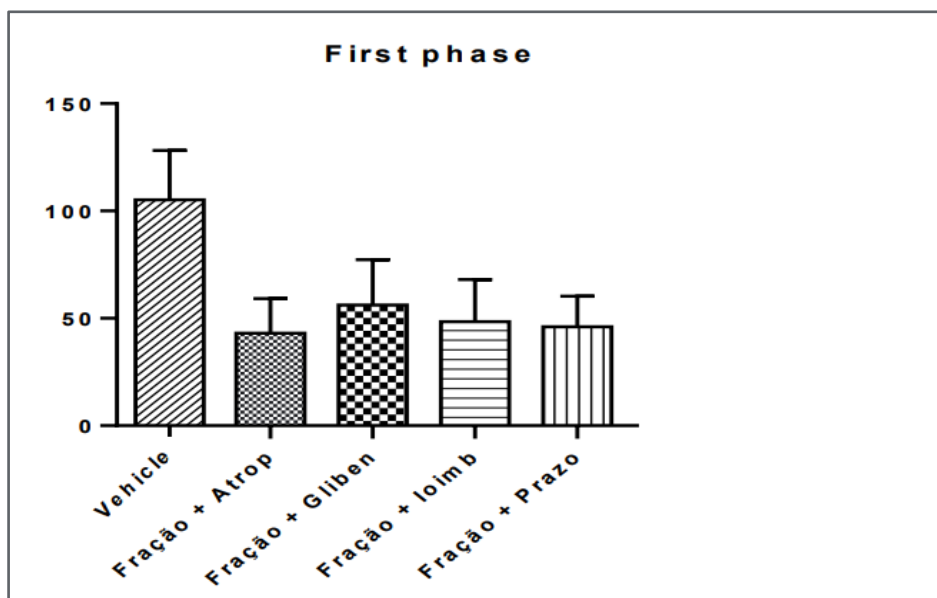
Gráfico 3 - Resultado do teste de formalina. Indo = indometacina. Mor = morfina.



Fonte: A autora (2025).

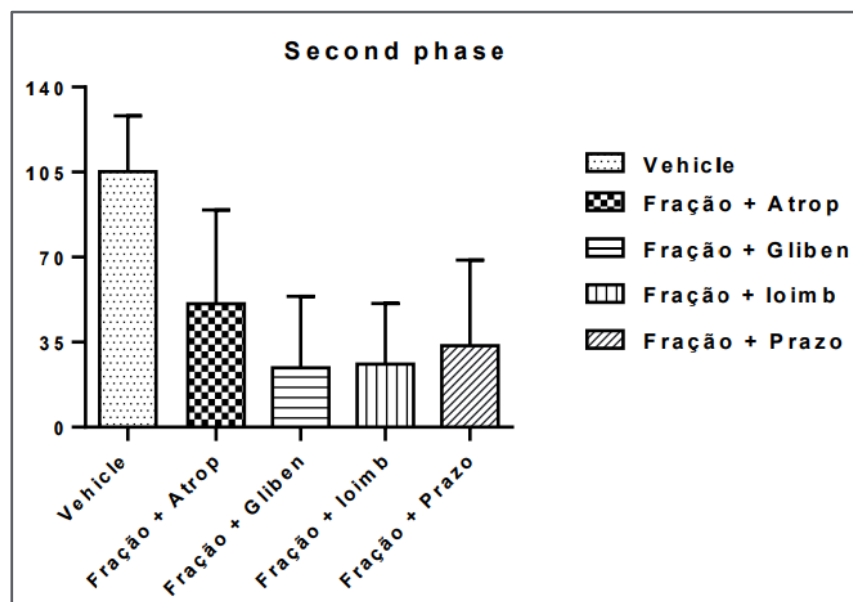
Os gráficos 4 e 5 mostram que a atividade da fração é reduzida quando a via da atropina é bloqueada, indicando que se trata de um fármaco anticolinérgico. Isso ocorre porque as fibras que secretam acetilcolina são chamadas de colinérgicas. A atropina é um fármaco que atua em oposição aos efeitos da acetilcolina, atuando como antagonista nos receptores muscarínicos. Os receptores muscarínicos podem ser do tipo M1, M2, M3, M4 e M5 e a atropina atua como bloqueador para quase todos eles (M1 a M4) (Morais et al., 2021). A dor nociceptiva é percebida a partir de uma cadeia de eventos que se inicia com a estimulação das terminações nervosas livres (TNLs). Os axônios nociceptores podem ser classificados em dois grupos: fibras A δ e fibras axonais do tipo C. A acetilcolina, por sua vez, atua como neurotransmissor nessas fibras nervosas, atuando como agonista colinérgico tanto para os receptores muscarínicos, que possuem 5 tipos, M1, M2, M3, M4 e M5, quanto para os receptores nicotínicos, que possuem diversas subunidades (a, b, g, d, e) e subtipos (Morais et al., 2021). Nossos resultados sugerem que a fração de alcaloides de *E. revolutum* exerce sua função antinociceptiva, antagonizando também, assim como a atropina, os efeitos da acetilcolina na transdução de sinal das terminações nervosas dos receptores muscarínicos.

Gráfico 4 - Resultados do teste de formalina (primeira fase) utilizando bloqueadores específicos das vias de nociceção.



Fonte: A autora (2025).

Gráfico 5 - Resultados do teste de formalina (segunda fase) utilizando bloqueadores específicos das vias de nociceção.



Fonte: A autora (2025).

Tabela 1 - Resultados do ensaio de peritonite nas concentrações plasmáticas de leucócitos e neutrófilos. FA = Fração Total de Alcaloides.

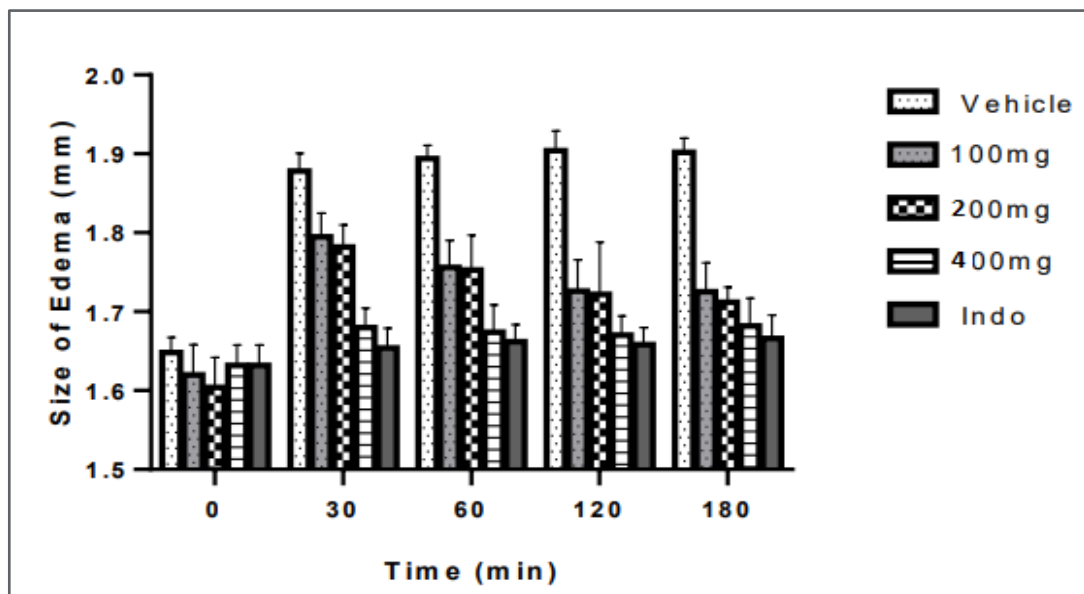
	Dose (mg/kg)	Leukocytes (10⁵/ml)	Leukocyte inhibition (%)	Neutrophils (10⁵/ml)	Neutrophil inhibition (%)
Vehicle	-	8.1±0.9	-	5.3±0.5	-
Indomethacin	20 mg/kg	1.7±0.6	79.01	1.5±0.3	71.69
FA	400 mg/kg	4.1±0.6	50.01	2.9±0.3	45,30
	200 mg/kg	5.1±0.5	37,05	3.7±0.3	30.18
	100mg/kg	5.9±0.5	26,01	4.3±0.2	18,86

Fonte: A autora (2025).

No ensaio de edema de pata, a fração alcaloide apresentou efeito anti-inflamatório semelhante ao da indometacina (Gráfico 6). O ensaio de peritonite mostra que a fração alcaloide causou diminuição nas concentrações plasmáticas de linfócitos e neutrófilos (Tabela 1). No entanto, essa redução foi muito menor do que a causada pelo fármaco convencional, indometacina. Portanto, o produto natural tem menor impacto na resposta imune.

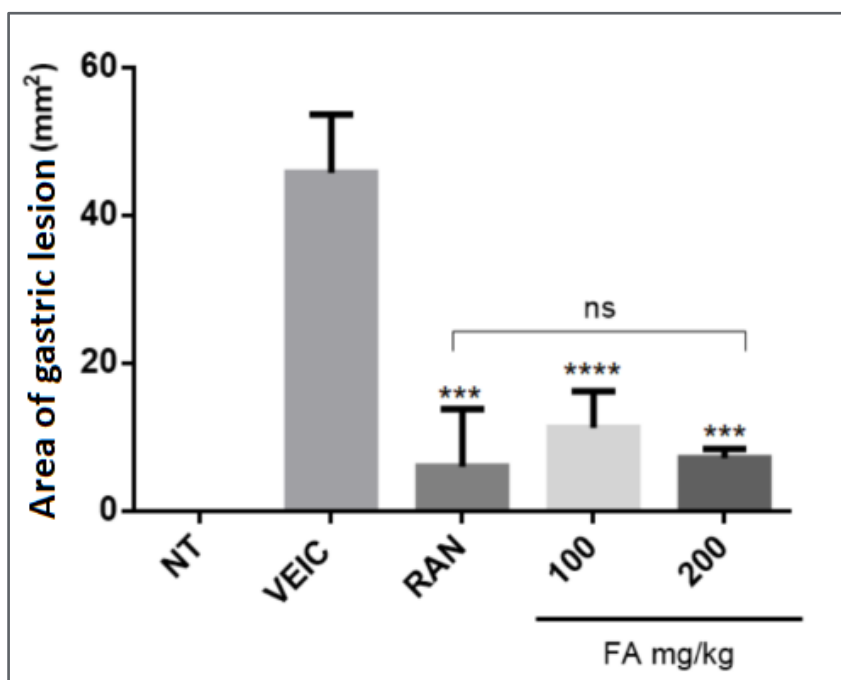
Em modelo de úlcera induzida por etanol, este artigo descreve pela primeira vez a atividade gastroprotetora para o gênero *Erythroxylum* (Gráfico 7). No entanto, já existem relatos na literatura de alcaloides (de outros táxons) com efeito gastroprotetor, como demonstrado na revisão de Nascimento et al. (2015), que descreve 15 alcaloides como gastroprotetores. Em nossos dados, não testamos todas as vias de ação do mecanismo gastroprotetor, mas sabemos que essa ação, pelo menos em parte, envolve a via dos compostos esfidrila (Gráfico 8). A via do óxido nítrico também foi investigada e, embora uma ligeira redução dessa atividade seja notada visualmente na presença do bloqueador da via, essa diferença não foi considerada estatisticamente significativa (Gráfico 9).

Gráfico 6 - Resultados do ensaio clínico com edema de pata induzido por carragenina. Indo = indometacina.



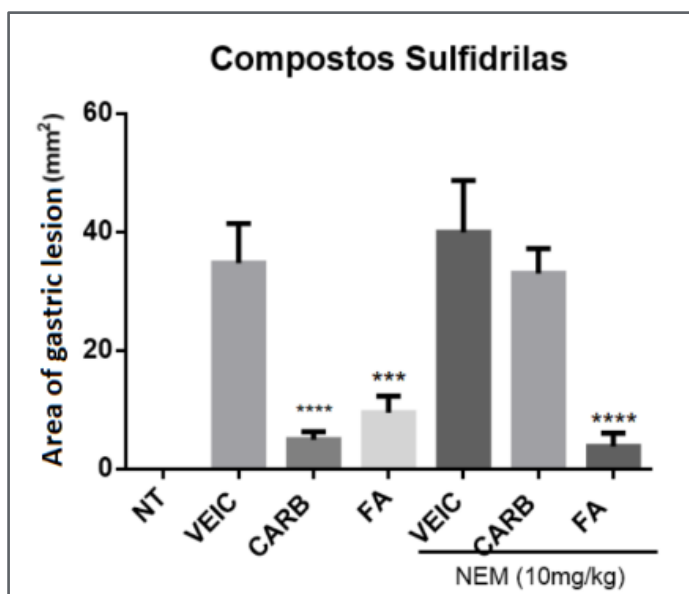
Fonte: A autora (2025).

Gráfico 7 - Efeito gastroprotetor de FA (Fração Total de Alcaloides) em lesões gástricas agudas induzidas por etanol absoluto. Camundongos foram tratados com veículo (v.o.) ou ranitina (80 mg/kg; v.o.) ou FA (100 mg/kg; v.o.). Após 1 hora, etanol absoluto (0,3 mL por 30 g por camundongo; v.o.). O dano gástrico foi quantificado após 1 h. Os resultados são expressos como média \pm EPM para cada grupo de 5 animais. **** $p < 0,0001$ em comparação ao grupo desafiado com SALT. Análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de comparação múltipla de Bonferroni.



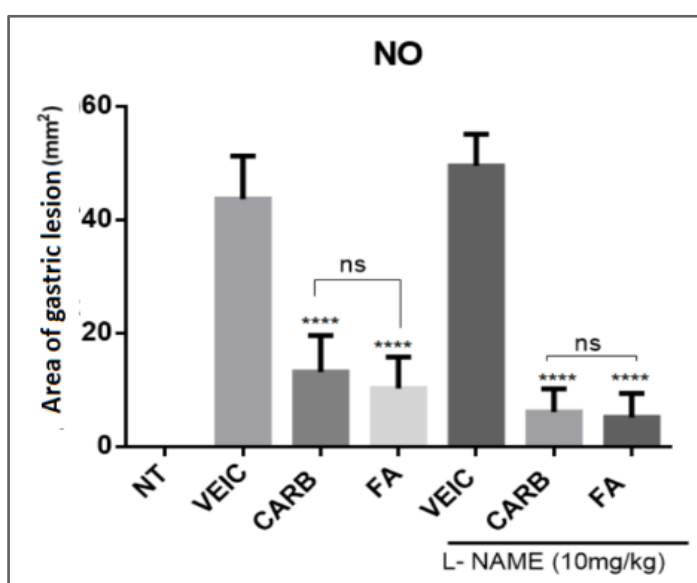
Fonte: A autora (2025).

Gráfico 8 - Ausência de envolvimento de compostos sulfidrilas na gastroproteção da FA (Fração Total de Alcaloides) em camundongos submetidos a lesões gástricas agudas induzidas por etanol. Os camundongos foram tratados com veículo (p.o.) ou carbexolona 100 mg/kg; p.o. ou FA (100 mg/kg; p.o.). Uma segunda série experimental com administração prévia de NEM (10 mg/kg; p.o.). Os resultados são expressos como média \pm EPM para cada grupo de 5 animais. **** $p < 0,0001$ em relação ao grupo desafiado com SAL. Anova seguida pelo teste de comparações múltiplas de Bonferroni.



Fonte: A autora (2025).

Gráfico 9 - Investigação da via do óxido nítrico. Os resultados são expressos como média e erro padrão da média (EPM) para cada grupo de 5 animais. **** $p < 0,0001$ em relação ao grupo desafiado com SAL. Análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de comparações múltiplas de Bonferroni.



Fonte: A autora (2025).

Muitos outros estudos já relataram a atividade analgésica de outras espécies do gênero (Barbosa et al., 2022), mas este foi o primeiro a relatar essa atividade para *E. revolutum*. Da mesma forma, a atividade anti-inflamatória foi relatada para *E. revolutum* pela primeira vez, mas outras espécies do gênero já demonstraram esses efeitos (Barbosa et al., 2022). *E. caatingae* se destaca como outra espécie de *Erythroxylum* endêmica da caatinga, que também não foi capaz de reduzir as respostas nociceptivas na primeira fase do teste da formalina. Entretanto, na segunda fase, doses de 50, 100 e 200 mg/kg produziram redução significativa no tempo de lambida da pata, indicando um possível efeito analgésico periférico (Maia et al., 2014). O estudo utilizou o extrato metanólico bruto, mas os alcaloides isolados não foram testados.

4 CONCLUSÕES

Em resumo, este artigo demonstra a grande importância dos estudos com produtos naturais, principalmente alcaloides, para a descoberta de novas alternativas terapêuticas no tratamento da dor e da inflamação. O menor custo de obtenção de produtos naturais permite um acesso mais democrático a esses medicamentos, além de os produtos naturais apresentarem menos efeitos adversos do que os sintéticos. Dessa forma, oferecem melhor qualidade de vida aos pacientes que fazem uso dessas substâncias.

5 REFERÊNCIAS

ALI, S.; MOHAMED, A.; MOHAMMED, G. Fatty acid composition, anti-inflammatory and analgesic activities of *Hibiscus sabdariffa* Linn. seeds. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, v. 1, p. 50–57, 2014.

ALMEIDA, et al. *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae): antioxidant and antiulcer activities of the leaf hexane extract. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017. Artigo 6593073. DOI: 10.1155/2017/6593073.

BARBOSA, C. C. et al. Aspectos gerais e propriedades farmacológicas do gênero *Erythroxylum*. *Revista Saúde e Ciência On Line*, v. 3, n. 3, p. 207-216, set./dez. 2014.

CROFFORD, L. J. Use of NSAIDs in treating patients with arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, v. 15, supl. 3, S2, 2013. DOI: 10.1186/ar4174.

GUSMAN, G. S. et al. Evaluation of the effects of some Brazilian medicinal plants on the production of TNF- α and CCL2 by THP-1 cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.

KIBBLE, M. et al. Network pharmacology applications to map the unexplored target space and therapeutic potential of natural products. *Natural Product Reports*, v. 32, p. 1249–1266, 2015.

MAIA, A. K. H. L. et al. Antinociceptive activity of the extract of *Erythroxylum caatingae*. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, v. 13, n. 2, 2014.

MARTINI, L.; WHISTLER, J. L. The role of mu opioid receptor desensitization and endocytosis in morphine tolerance and dependence. *Current Opinion in Neurobiology*, v. 17, n. 5, p. 556–564, 2007. DOI: 10.1016/j.conb.2007.10.004.

MORAIS, M. C. G. et al. The elucidation about mechanisms of nociception and pain. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, p. 84364-84377, 2021.

NASCIMENTO, R. F. et al. Activity of alkaloids on peptic ulcer: what's new? *Molecules*, v. 20, p. 929–950, 2015.

OLIVEIRA, S. L. de. *Fitoquímica de espécies de Erythroxylum do semiárido: isolamento e determinação estrutural de alcaloides tropânicos, flavonoides e diterpenos*. 2012. 192 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.

OLIVEIRA, et al. Saline extract of *Pilosocereus gounellei* stem has antinociceptive effect in mice without showing acute toxicity and altering motor coordination. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 95, p. 289–297, 2018. DOI: 10.1016/j.yrtph.2018.04.004.

PAIVA, E. dos S. et al. Management of pain. *Revista Brasileira de Reumatologia*, v. 46, n. 4, p. 292-296, 2006.

SIMON, L. S. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and their risk: a story still in development. *Arthritis Research & Therapy*, v. 15, supl. 3, S1, 2013. DOI: 10.1186/ar4173.

TABOSA, I. M. et al. Isolamento biomonitorado de alcaloides tóxicos de *Prosopis juliflora* (algaroba). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 9, n. 1, p. 11-22, 2000.

TEIXEIRA, M. J. et al. Dor no Brasil: estado atual e perspectivas. In: TEIXEIRA, M. J.; CORRÊA, C. F.; PIMENTA, C. A. M. (orgs.). *Dor: conceitos gerais*. São Paulo: Limay, 1995.

VELOSO, D. P. et al. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of the hydroethanolic extract of the flowers of *Pyrostegia venusta* in mice. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 22, n. 1, p. 162–168, jan./fev. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000209>.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos dados apresentados, pode-se concluir que a espécie *E. revolutum* apresenta potencial terapêutico, com possíveis aplicações no tratamento da dor e da inflamação. Adicionalmente, sua utilização como adjuvante do Fluconazol no manejo da Candidíase se configura como uma alternativa promissora. Embora o processo de desenvolvimento farmacêutico, desde os estudos iniciais até a comercialização do fármaco, seja longo e complexo, trata-se de um percurso viável. Esse achado abre novas perspectivas para investigações no campo da farmacologia de produtos naturais, com ênfase nos alcaloides. Além do impacto científico, destaca-se o potencial econômico da quimiodiversidade presente nos ecossistemas da Caatinga, dado o caráter endêmico da espécie. A valorização desse recurso biológico não apenas impulsiona a bioeconomia regional, mas também contribui para a conscientização ambiental, reforçando a importância da conservação desses ecossistemas.

9 REFERÊNCIAS

AKULA, S. T.; NAGARA, A.; RAVIKANTH, M.; KUMAR, N. G. R.; KALYAN, Y.; DIVYA, D. Antifungal efficacy of lauric acid and caprylic acid – Derivatives of virgin coconut oil against *Candida albicans*. *Biomedical and Biotechnology Research Journal*, v. 5, n. 2, p. 229-234, 2021.

ATANASOV, A. G. et al. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: a review. *Biotechnology Advances*, v. 33, p. 1582–1614, 2015.

ATANASOV, A. G. et al. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 20, n. 3, p. 200–216, 2021.

AZEVEDO, C. M. A. Bioprospecção: Coleta de material biológico com a finalidade de explorar os recursos genéticos. 2. ed. São Paulo: Conselho Nacional da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica, 2003. (Série Ciência e Pesquisa, n. 17).

BARBOSA, M. F. S. et al. Effect of hybrid combinations of *Erythroxyllum revolutum* Mart. leaf ethanolic extract or alkaloid-enriched fraction with antibiotic drugs against multidrug-resistant bacteria strains. *Phytomedicine Plus*, v. 1, p. 100105, 2021.

BARBOSA, M. F. S.; SOUZA, C. A.; MIRANDA, P. H. O.; SARAIVA, R. A. Gênero *Erythroxyllum*: uma revisão sistemática com enfoque na farmacologia de produtos naturais. In: PEREIRA, A. R.; SILVA, J. R. (Orgs.). Pesquisas e avanços em química de produtos naturais. [S.l.]: Agron Science, 2022. Disponível em: <https://agronscience.com/livro-cbqnat>. Acesso em: 11 abr. 2024.

BARBOSA, T. A.; GOMES-FILHO, R. R. Biodiversidade e conservação da Caatinga: revisão sistemática. *Journal of Environmental Analysis and Progress*, v. 7, n. 4, p. 177-189, 2022.

BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversity: potential source for drug discovery. *Química Nova*, v. 32, n. 3, p. 574-583, 2009.

BONDAR, G. O. Licurizeiro e suas potencialidades na economia brasileira. [S.l.]: Instituto Central de Fomento Econômico da Bahia, 1938.

BONGOMIN, F.; GAGO, S.; OLADELE, R. O.; DENNING, D. W. Global and multi-national prevalence of fungal diseases—estimate precision. *Journal of Fungi*, v. 3, n. 57, p. 1-15, 2017.

BRASIL. Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015. Dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 21 maio 2015. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2015-2018/2015/lei/L13123.htm. Acesso em: 11 abr. 2023.

BRUNTON, L. L.; HILAL-DANDAN, R.; KNOLLMANN, B. C. Goodman & Gilman's: The pharmacological basis of therapeutics. 13. ed. New York: McGraw-Hill, 2018.

BUTLER, M. S. The role of natural product chemistry in drug discovery. *Journal of Natural Products*, v. 67, n. 12, p. 2141-2153, 2004.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Antibiotic resistance threats in the United States, 2022. Disponível em: <https://www.cdc.gov>. Acesso em: 20 jan. 2025.

CLARDY, J.; WALSH, C. Lessons from natural molecules. *Nature*, v. 432, p. 829–837, 2004.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: a continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1830, n. 6, p. 3670-3695, 2013.

FEHER, M.; SCHMIDT, J. M. Property distributions: differences between drugs, natural products, and molecules from combinatorial chemistry. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, v. 43, p. 218–227, 2003.

GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. The pharmacological basis of therapeutics. 12. ed. New York: McGraw-Hill, 2020.

GODOI, I. P.; NASCIMENTO, R. C. M.; LEMOS, L. L. P. Phosphoethanolamine in cancer treatment. Fosfoetanolamina no tratamento de câncer. Belo Horizonte: Centro Colaborador do SUS: Avaliação de Tecnologias e Excelência em Saúde - CCATES, 2023. Disponível em: NT0615_Fosfoetanolamina.pdf. Acesso em: jan. 2023.

GONZÁLEZ-GARCÍA, K.; GONZÁLEZ-LAVAUT, J. A.; GONZÁLEZ-GUEVARA, J.; PRIETO-GONZÁLEZ, S. Género *Erythroxyllum*: análisis de la información científica. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, v. 24, n. 2, p. 284-290, 2005.

HOFMANN-JUNIOR, A. E. Estudo Químico e Biológico de Espécies do Género *Erythroxyllum* P. Browne Coletadas no Sul do Brasil. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2018.

JACOB, E. J. Natural Products-Based Drug Discovery: Some Bottlenecks and Considerations, *Current Science*, v.96, n.6, p. 753-754, 2009.

KATZUNG, B. G. Basic and Clinical Pharmacology. 15ªed. New York: McGraw-Hill, 2021.

LEE, J-H.; KIM, Y-G.; KHADKE, S.K.; LEE, J. Microbial Biotechnology. Society for Applied Microbiology. 2020.

LEVY. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. In: Procedimentos Laboratoriais: da requisição do exame à análise microbiológica e laudo final/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2013.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO). Influenza antiviral susceptibility. Disponível em: <https://www.paho.org>. Acesso em: 20 fev. 2024.

PERLIN, D. S. et al. The changing face of aspergillosis: Antifungal resistance in *Aspergillus fumigatus*. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 30, n. 4, p. 927-951, 2017.

PINHEIRO, B.L.M., ARAÚJO, C.R.F. Estudo da ação antifúngica de *Erythroxyllum revolutum* sobre cepas do gênero *Candida*. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, p.20202-20214, 2021.

QUEIROZ, L. P.; RAPINI, A.; GIULIETTI, A. M. (Orgs.). Towards Greater Knowledge of the Brazilian Semi-arid Biodiversity. Brasília: MCT/SPPPD, 2006. 140 p.

RANG, H. P. et al. Rang & Dale's Pharmacology. 8^{ed}. Edinburgh: Elsevier, 2016.

SINGH, A.; VERMA, R.; MURARI, A.; AGRAWAL, A . Candidíase oral: Uma visão geral. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, v.18, p.81-85, 2014.

SANTOS, R. P.; MELO, J. F. Bioprospecção e suas aplicações na indústria. *Revista Brasileira de Biotecnologia*, v. 12, n. 3, p. 45-58, 2018.

SILVA, T. R. et al. Potencial da bioprospecção para a descoberta de novos fármacos. *Journal of Natural Products*, v. 15, n. 2, p. 101-115, 2020.

SIQUEIRA, L.P., FABRI, A.C.O.C., FABRI, R.L. Aspectos gerais, farmacológicos e toxicológicos da cocaína e seus efeitos na gestação. *Rev. Eletrônica de Farmácia*, v.8, n.2, p. 75-87, 2011.

SOLANO, R.J.; SIERRA, C.A.; MURILLO, M.A. Antifungal activity of LDPE/lauric acid films against *Colletotrichum tamarilloi*. *Food Packaging and Shelf Life*, v.24, n.100945, 2020.

STRICKLAND, A.B., SHI, M. Mechanisms of fungal dissemination. *Cell Mol Life Sci*. v.78, n.7, p. 3219-3238, 2021.

VILA, T.; SULTAN, A.S.; MONTELONGO-JAUREGUI, D.; JABRA-RIZK, M.A. Candidíase oral: uma doença de oportunidade. *J. Fungi*, v. 6 , n.15, 2020.

WALTERS; D.R.; WALKER, R.L.; WALKER, K.C. Lauric Acid Exhibits Antifungal Activity Against Plant Pathogenic Fungi. *Journal of Phytopathology*, v.151, n.4, p.228–230, 2003.