



Composição química e atividade antifúngica de plantas típicas da região nordeste do Brasil
Chemical composition and antifungal activity of plants typical of northeastern Brazil
Composición química y actividad antifúngica de plantas típicas del noreste de Brasil

Jhonatas Cley Santos Porto¹; Frâncio Alencar Coelho²; Francisco Vinícius Bezerra Oliveira³; Sidney Gonçalo de Lima⁴; Mitra Mobin⁵

RESUMO

Objetivo: avaliar a atividade antifúngica dos óleos essenciais do *Croton blanchetianus* (marmeleiro preto) e da *Aristolochia trilobata* (Angelicó) frente a espécies de *Candida*, assim como identificar os componentes químicos destes óleos. **Métodos:** Esta é uma pesquisa experimental, de cunho qualitativo e abordagem descritiva. Os óleos foram obtidos por hidrodestilação e analisado por cromatografia gasosa acoplado a espectrômetro de massas. A atividade antifúngica destes óleos foi determinada para nove espécies de *Candida* através do método disco difusão. **Resultados:** O óleo do *Croton blanchetianus* apresentou um rendimento de 0,85 (m/m) e a análise cromatográfica revelou 26 constituintes, sendo os mais abundantes: α -pineno, cariofileno, biciclogermacreno e limoneno, respectivamente. Já o óleo do *Aristolochia trilobata* teve um rendimento de 0,5 (m/m), sendo identificado 66 constituintes no qual biciclogermacreno, globulol e linalol foram os compostos em maior quantidade. **Conclusão:** Este é o primeiro relato da atividade antifúngica dos óleos essenciais do *Croton blanchetianus* e da *Aristolochia trilobata*, e ambos os óleos apresentaram um bom rendimento. Embora os óleos testados não tenham demonstrado efeito antifúngico, *C. blanchetianus* provou ser uma fonte viável para a obtenção de substâncias com potencial efeito antifúngico devidamente comprovados, como α -pineno.

Descritores: Candida; Produtos Naturais; Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-Difusão.

ABSTRACT

Objective: to evaluate the antifungal activity of essential oils of *Croton blanchetianus* (marmeleiro preto) and *Aristolochia trilobata* (Angelicó) against *Candida* species, as well as to identify the chemical components of these oils. **Methods:** This is an experimental research, of qualitative nature and descriptive approach. The oils were obtained by hydrodistillation and analyzed by gas chromatography coupled to a mass spectrometer. The antifungal activity of these oils was determined for nine species of *Candida* using the disc diffusion method. **Results:** The *Croton blanchetianus* oil showed a yield of 0.85 (m/m) and the chromatographic analysis revealed 26 constituents, being the most abundant: α -pinene, karyophyllene, bicyclogermacrene and limonene, respectively. Already the oil of *Aristolochia trilobata* had a yield of 0.5 (m/m), being identified 66 constituents in which bicyclogermacrene, globulol and linalool were the compounds in greater quantity. **Conclusion:** This is the first report of the antifungal activity of the essential oils of *Croton blanchetianus* and *Aristolochia trilobata*, and both oils showed a good yield. Although the oils tested did not demonstrate an antifungal effect, *C. blanchetianus* proved to be a viable source for obtaining substances with duly proved antifungal effect, such as α -pinene

Descriptors: Candida; Natural Products; Disk Diffusion Antimicrobial Tests.

RESUMEN

Objetivo: evaluar la actividad antifúngica de los aceites esenciales de *Croton blanchetianus* (marmeleiro preto) y *Aristolochia trilobata* (Angelicó) contra especies de *Candida*, así como identificar los componentes químicos de estos aceites. **Métodos:** Se trata de una investigación experimental, cualitativa con enfoque descriptivo. Los aceites se obtuvieron por hidrodestilación y se analizaron por cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas. La actividad antifúngica de estos aceites se determinó para nueve especies de *Candida* utilizando el método de difusión por disco. **Resultados:** El aceite de *Croton blanchetianus* mostró un rendimiento de 0.85 (m / m) y el análisis cromatográfico reveló 26 constituyentes, los más abundantes son: α -pineno, cariofileno, biciclogermacreno y limoneno, respectivamente. El aceite de *Aristolochia trilobata*, en cambio, tuvo un rendimiento de 0,5 (m / m), identificándose 66 constituyentes en los que biciclogermacreno, globulol y linalol fueron los compuestos en mayor cantidad. **Conclusión:** Este es el primer reporte de la actividad antifúngica de los aceites esenciales de *Croton blanchetianus* y *Aristolochia trilobata*, y ambos aceites mostraron un buen desempeño. Aunque los aceites probados no demostraron un efecto antifúngico, *C. blanchetianus* demostró ser una fuente viable para la obtención de sustancias con potencial efecto antifúngico, como el α -pineno

Descriptor: Candida; Productos Naturales; Pruebas Antimicrobianas de Difusión por Disco.

¹ Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências da Saúde, Teresina (PI), Brasil.

² Centro Universitário UNINOVAFAPI, Departamento de Biomedicina, Teresina, Piauí, Brasil.

³ Faculdade Maurício de Nassau, Departamento de Farmácia, Teresina (PI), Brasil.

⁴ Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências da Natureza, Teresina (PI), Brasil.

⁵ Centro Universitário UNINOVAFAPI, Departamento de Odontologia, Teresina, (PI), Brasil.

INTRODUÇÃO

As infecções microbianas têm aumentado significativamente nos últimos anos, principalmente em ambientes de saúde. O uso abusivo de antimicrobianos como medida profilática e terapêutica contribuíram e continuam a contribuir para o aumento destas infecções, desenvolvendo patógenos microbianos resistentes ou multirresistentes e, conseqüentemente, dificultando o tratamento do paciente (FU et al., 2017).

Diante da emergência de microrganismos resistentes, faz-se necessário e urgente o desenvolvimento de antimicrobianos com novos mecanismos de ação. No entanto, o desenvolvimento destas novas drogas torna-se mais desafiador quando se refere aos fungos, uma vez que a estrutura celular destes patógenos é muito similar às das células dos mamíferos, o que resulta frequentemente em antifúngicos efetivos, mas com alta toxicidade (SOLIMAN et al., 2017).

Dentre os fungos patogênicos, as espécies de *Candida* se destacam por serem os agentes mais comuns de micoses oportunistas no mundo e, principalmente, por serem o segundo grupo de microrganismos mais frequente em infecções nosocomiais (MENEZES et al., 2015). Estas leveduras são capazes de causar infecções tanto em indivíduos imunodeprimidos quanto em imunocompetentes, sendo mais frequente no primeiro grupo (KIDD et al., 2016). Apesar da *Candida albicans* ser a espécie de *Candida* mais relacionada com micoses humanas, estudos epidemiológicos recentes têm demonstrado um aumento significativo de candidíases causadas por espécies não-*albicans*. Acredita-se que a incidência de micoses causadas por *Candida* não-*albicans* seja devido ao uso indiscriminado de antifúngicos azóis, o que promoveu uma pressão seletiva nestas leveduras (XIAO et al., 2015, FU et al., 2017).

De fato, várias espécies de *Candida* desenvolveram sensibilidade reduzida ou resistência aos principais antifúngicos utilizados na prática médica. Há relatos de cepas de *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. guilhermondii* resistentes até mesmo a Anfotericina B, padrão ouro no tratamento de micoses sistêmicas (MOBIN et al., 2017a). Diante desta realidade, novas estratégias terapêuticas têm sido desenvolvidas baseadas nas plantas medicinais, que há muito tempo são utilizadas pela população no tratamento de várias doenças, principalmente às de origem microbiana (TOMAZONI et al., 2014; FLORES et al., 2016).

O Brasil possui a maior diversidade genética em plantas do mundo e estima-se que pelo menos metade possam apresentar substâncias com atividades biológicas de fundamental importância para a medicina (CARNEIRO et al., 2014). Dentre esta constelação de plantas medicinais, destaca-se o *Croton blanchetianus* Baill, popularmente conhecido como marmeleiro preto (CARVALHO, 2016), e *Aristolochia trilobata* L., cujo nome popular é angelicó (OLIVEIRA, 2015).

O *Croton blanchetianus* é nativo do nordeste brasileiro e amplamente utilizado pela população local para tratamento de inchaço, hemorragia uterina, hemoptise, dor de estômago, vômitos e diarreia (CARVALHO, 2016). O óleo essencial desta planta já foi objeto de estudo de várias pesquisas, sendo suas atividades gastroprotetora, antinociceptiva, antiviral e antibacteriana devidamente comprovada (PEREIRA et al., 2017), mas seu efeito antifúngico permanece desconhecido. Em relação a *Aristolochia trilobata* L., ela é encontrada naturalmente nas Américas do Sul e Central, sendo muito utilizada na forma de chá para a cura de ressaca, colite, amebíase (CAMPORESE et al.,

2003) e de patologias com características de infecções fúngicas (FENNER et al., 2006). Apesar de muito utilizado pela população local contra infecções micóticas, apenas seu efeito anti-inflamatório, analgésico (SILVA, 2014), antinociceptivo (QUINTANS et al., 2017), antibacteriano (OLIVEIRA, 2015) e inseticida (SILVA, 2007) foram comprovadas *in vitro*. Considerando a ampla utilização do *Croton*

blanchetianus e da *Aristolochia trilobata* L. na medicina popular e a ausência de informações na literatura científica sobre a atividade antifúngica destas plantas, este estudo teve como objetivo caracterizar quimicamente o óleo essencial do *C. blanchetianus* e da *A. trilobata* L., bem como avaliar a atividade antifúngica destes óleos em espécies de *Candida*.

MÉTODO

Este é um estudo quantitativo experimental que foi realizado entre Fevereiro e Dezembro de 2019.

Procedência das Plantas

As plantas foram obtidas de uma propriedade privada localizada na cidade de Simões, Piauí, Brasil, (S 07 ° 34'42.13 " / W 040 ° 48'35.7" / Alt. 462m), em Janeiro de 2019. A identificação botânica das espécies foi realizada através da análise dos seus ramos e folhas no Herbário Graziela Barroso da Universidade Federal do Piauí (UFPI), onde foram depositadas sob registro 27274.

As folhas do *Croton blanchetianus* e da *Aristolochia trilobata* foram coletadas no período da manhã (7 às 8h), armazenadas em sacos plásticos pretos previamente umedecidos e transportadas para o Laboratório de Geoquímica Orgânica da Universidade Federal do Piauí (UFPI), onde foi realizada a extração e caracterização química do óleo essencial.

Procedência das Leveduras

As leveduras testadas foram gentilmente cedidas pela Profa. Dra. Mitra Mobin a partir de seu acervo pessoal. Foram utilizadas a cepa padrão *Candida krusei* (ATCC 6258) obtida do Instituto Adolf Lutz, isolados de onicomicose (*Candida albicans*, *C. metapsilosis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* e *C. africana*), hemocultura (*Candida parapsilosis*) e próteses dentárias (*Candida albicans* e *C. parapsilosis*), totalizando nove isolados. Todas as cepas clínicas

foram previamente identificadas pelo sequenciamento da região ITS (Internal Transcribed Space).

Extração e caracterização química dos óleos essenciais

Para extração do óleo essencial, as folhas do *C. blanchetianus* e da *A. trilobata* foram maceradas e submetidas à hidrodestilação por arraste a vapor durante 2 horas em aparelho tipo Clevenger modificado. Em seguida, o óleo extraído foi desidratado com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄), armazenado em recipientes de vidro lacrados com tampas envolvida por papel alumínio e mantidos sob refrigeração a 5 °C, com variação de ± 2 °C (SANTOS et al., 2004). A caracterização química dos óleos foi realizada através do sistema de cromatografia gasosa multidimensional acoplado ao espectrômetro de massa com o equipamento modelo MDGC/GCMS-2010 (Shimadzu, Japan), conforme metodologia descrita por BASER e BUCHBAUER (2010).

Teste de suscetibilidade antifúngica

A atividade antifúngica dos óleos essenciais foi determinada através do método do disco-difusão, conforme o documento M44-A2 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2009), com algumas modificações. Os óleos essenciais foram diluídos em acetona/água 10%, armazenados em recipientes foscos e devidamente

vedados até a realização dos testes. Quinze minutos antes da execução do disco-difusão, preparou-se quatro concentrações do óleo essencial de *C. blanchetianus* (200, 400, 800 e 1600 µg/mL) e três concentrações do óleo essencial de *Aristolochia trilobata* (250,500 e 1000 µg /mL).

Para a realização do disco-difusão foi retirado 25 µL da suspensão de levedura recém preparada com turbidez de 0,5 na escala de McFarland e inoculou-se em placas de Petri contendo o meio Müller-Hinton suplementado com glicose 2% e azul de metileno a 0,5 µg/mL (MGB). Após o semeio, deixou-se o inóculo secar naturalmente e procedeu-se com o preparo dos discos de papel estéreo, padronizado e com diâmetro de 6 mm adquiridos no Centro de Controle e Produtos para Diagnósticos LTDA (CECON, São Paulo, Br). Em seguida, quatro discos foram umedecidos com 20 µL das quatro diluições do óleo *C. blanchetianus* (200, 400, 800 e 1600 µg/mL) e depositados, com auxílio de uma pinça previamente desinfetada com álcool 70%, nas placas de Petri semeadas com as leveduras teste. De modo a evitar possíveis sobreposição de halos, foi mantida uma distância de 10 mm e 20 mm em relação a borda da placa e ao outro disco, respectivamente (MOBIN, 2017). O mesmo procedimento foi aplicado para o óleo de *A.*

trilobata nas concentrações de 250,500 e 1000 µg /mL.

Para o controle positivo foram utilizadas placas semeadas com *Candida krusei* (ATCC 6258) contendo discos com 100 µg de Anfotericina B (CECON, São Paulo, Br) e como controle negativo, discos umedecidos com 20 µL de acetona/água 10%. Todo o procedimento foi realizado em duplicata (MOBIN et al., 2017).

Leitura e interpretação dos dados

Os diâmetros do halo da zona de inibição que se formaram ao redor de cada disco foram, então, medidos com régua milimetrada e interpretados segundo Lima et al. (2006). Valores de halo maior que 10 mm foram usados para classificar cepas sensíveis ao produto avaliado. Valores inferiores ou igual a 10 mm indicaram resistência aos óleos testados.

Análise estatística

A média e o desvio padrão dos diâmetros do disco foram calculados através do programa Microsoft Excel 2016. O teste ANOVA unidirecional foi aplicado para determinar diferenças entre o padrão de suscetibilidade e o local de isolamento da levedura teste. Valores com $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo do *Croton blanchetianus* apresentou um rendimento de 0.85 (m/m) e a análise por GC/MS forneceu a identificação de 26 constituintes, predominantemente terpenos. Os compostos mais

abundantes foram: α -pineno (19.19%), cariofileno (11.85%), biciclogermacreno (10.42%) e limoneno (10.36%), como mostra a tabela 1.

Tabela 1. Composição química do óleo essencial do *Croton blanchetianus*

TR (min)	Composto	Área (%)
5.423	Triciclono	0.02
5.622	α -pineno	0.53
6.026	Canfeno	0.73

6.802	β -pineno	0.59
7.234	6-metilhepten-2-ol	2.37
7.626	α -felandreno	0.19
7.822	δ -careno	0.05
8.363	p-cimeno	4.39
8.511	Limoneno	4.11
8.715	cis-ocimeno	0.18
9.183	trans-ocimeno	5.69
10.847	3-isopropil-2-metoxipirazina	0.05
11.216	Linalol	7.81
11.530	acetato de 1-pentilalila	0.16
13.838	endo-borneol	0.23
14.313	terpin-4-ol	0.12
14.886	α -terpineol	0.22
16.506	Citronelol	0.41
16.793	Timolmetileter	0.06
17.204	carvacrol metileter	0.45
19.061	acetato de bornila	0.57
19.796	Carvacrol	0.24
21.309	δ -elemeno	0.15
21.833	α -cubebeno	0.19
21.999	acetato de citronelila	0.82
23.031	α -copaeno	1.07

Fonte: Este estudo. TR: Tempo de Retenção.

O óleo essencial de *Aristolochia trilobata* teve um rendimento de 0.5 (m/m) e a análise cromatográfica possibilitou a identificação de 66 constituintes, onde biciclogermacreno (9.14%), globulol (8.29%), linalol (7.81%), espatulenol

(7.43%), trans-cariofileno (5.79%), trans-ocimeno (5.69%), germacreno D (5.45%), p-cimeno (4.39%) e limoneno (4.11%) foram os constituintes mais prevalente como evidenciado na tabela 2.

Tabela 2. Composição química do óleo essencial de *Aristolochia trilobata* L.

TR (min)	Composto	Área (%)
23.370	decanoato de etila	0.27
23.740	β -elemeno	1.26
24.497	α -gurjuneno	0.25
25.026	trans-cariofileno	5.79
25.337	β -gurjuneno	0.25
25.486	calareno	1.23
25.763	Aromadendreno	0.91
25.918	α -guaiano	0.08

26.373	α -humuleno	0.91
26.501	<i>trans</i> - β -farneseno	1.52
26.702	Alloaromadendreno	1.34
27.435	γ -muuroleno	0.96
27.651	germacreno D	5.45
27.805	β -selineno	0.66
28.014	Valenceno	0.15
28.363	biciclogermacreno	9.14
28.484	α -bisaboleno	0.14
28.607	α -farneseno	0.47
28.926	γ -cadineno	0.65
29.341	δ -cadineno	2.43
29.646	cadina-1,4-dieno	0.11
29.878	α -cadineno	0.26
30.043	selina-3,7(11)-dieno	0.40
30.658	germacreno B	0.19
31.091	Ledol	0.63
31.702	Espatulenol	7.43
31.980	Globulol	8.29
32.188	Viridiflorol	1.80
33.143	1,10-diepicubenol	0.27
33.296	Isolongifolanona	0.29
33.501	1-epicubenol	0.43
33.651	Cubenol	0.19
34.086	α -epimuurolol	1.40
34.227	α -muurolol	0.50
34.581	α -cadinol	2.24
35.138	Z-nerolidolacetato	0.35
35.575	α -bisabolol	0.10
35.728	cedr-8-en-14-ol	0.18
36.109	juniper cânfora	0.30
45.457	ácido palmítico	0.18

Fonte: Este estudo. TR: Tempo de Retenção

Em relação aos testes de suscetibilidade antifúngica, nenhum efeito inibitório foi observado nas concentrações dos óleos essenciais testadas (halo < 10mm), como mostra a tabela 3.

Não foi observado nenhuma relação estatisticamente significativa entre o padrão de suscetibilidade da espécie com o seu local de isolamento ($P > 0.05$).

Tabela 3. Diâmetro em milímetros da zona de inibição dos óleos essenciais de *Croton blanchetianus* Baill e *Aristolochia trilobata* contra espécies de *Candida* através do ensaio do disco difusão.

Espécies	OECB*				OEAT**		
	200	400	800	1600	250	500	1000
<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	R	R	R	R	R	R	R
		R	R	R	R	R	R
Onicomicose							
<i>Candida albicans</i>	R	R	R	R	R	R	R
<i>Candida metapsilosis</i>	R	R	R	R	R	R	R
<i>Candida parapsilosis</i>	R	R	R	R	R	R	R
<i>Candida guilliermondii</i>	R	R	R	R	R	R	R
<i>Candida africana</i>	R	R	R	R	R	R	R
	R	R	R	R	R	R	R
Candidemia							
<i>Candida parapsilosis</i>	R	R	R	R	R	R	R
	R	R	R	R	R	R	R
Próteses dentárias							
<i>Candida albicans</i>	R	R	R	R	R	R	R
<i>Candida parapsilosis</i>	R	R	R	R	R	R	R

Fonte: Este estudo. Legenda: * óleo essencial de *Croton blanchetianus* Baill; ** óleo essencial de *Aristolochia trilobata*; R: resistente.

Óleos essenciais são compostos naturais, voláteis, lipofílicos, com baixo peso molecular e multicomponente, sendo obtidos das folhas, flores, cascas, sementes, raízes e resinas de plantas aromáticas (FLORES et al., 2016). Embora sejam constituídos de 10 - 20 ou mais de 100 compostos distintos, são os componentes majoritários que geralmente determinam sua atividade biológica (MOBIN et al., 2017).

A composição química de uma planta varia significativamente entre espécies diferentes e até mesmo entre interespecies, formando nesta última os chamados quimiotipos. Dentre os fatores que interferem diretamente na identidade química de uma planta, e conseqüentemente nos seus produtos como extrato e óleo essencial, se destacam a parte da planta e o seu período de coleta, região geográfica, metodologia de extração e análise química do produto (MENDES et al., 2017).

A composição química do óleo essencial do *Croton blanchetianus* (OECB) é bem descrita na Rev Interd. v.13, n.2021;1801

literatura. Um estudo interessante foi realizado no estado do Ceará, Brasil, no qual foi avaliado a influência do período de coleta na composição química do OECB. Os autores identificaram biciclogermacreno, β -felandreno, cariofileno e α -pineno como os compostos mais frequentes no OECB obtido da planta colhida no período da tarde (às 1:00 pm), enquanto que no período da noite (às 9:00 pm) os constituintes mais prevalentes foram espatulenol, cariofileno, óxido de cariofileno e 1,8-cineol (PINHO-DA-SILVA et al., 2010).

Neste estudo, os constituintes mais abundantes no OECB foram α -pineno, cariofileno, biciclogermacreno e limoneno, respectivamente. Em concordância com nossos achados, Angelicó e colaboradores (2014) também encontraram α -pineno como o constituinte majoritário do óleo essencial extraído das partes aéreas do *Croton blanchetianus*. Além do α -pineno, estes autores identificaram mais 22 constituintes, estando o

eucaliptol, cedrol e p-cimeno entre os compostos químicos mais abundantes no OEGB.

Infelizmente, a literatura é pobre quanto a composição química dos produtos derivados da *Aristolochia trilobata*, especialmente sobre o seu óleo essencial. Os escassos estudos disponíveis até este momento, destacam o limoneno e linalol como componentes majoritários do óleo essencial de *Aristolochia trilobata* (OEAT), sendo sua proporção variável entre os trabalhos publicados. Santos et al. (2004) encontraram, respectivamente, acetato de sulcatil, limoneno, linalol, p-cimeno, biciclogermacreno e espatulenol como os componentes majoritários do OEAT. Outro estudo realizado no estado de Sergipe, Brasil, caracterizou o óleo desta planta e identificou, respectivamente, p-cimeno, limoneno, linalol e acetato de sulcatil como os constituintes majoritários (OLIVEIRA et al., 2017).

No entanto, neste estudo o componente majoritário do OEAT foi o biciclogermacreno, discordando dos trabalhos publicados até o momento. Este é um terpenóide, cujo os relatos de sua atividade antimicrobiana são escassos, existindo apenas um relato sobre atividade antifúngica para *Cladosporium sphaerospermum* (SILVA et al., 2007).

Até o momento, não foi encontrado nenhum estudo que avaliou a atividade antifúngica do óleo essencial de *Croton blanchetianus*. O único relato da ação antifúngica desta planta é encontrado em um estudo realizado em 1991, que abordou o efeito inibitório de dois constituintes (ácidos hardwickiic e 3,4-secotraqueobanoico) isolados do extrato hexânico das raízes desta espécie frente às leveduras *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae*, e aos fungos filamentosos *Aspergillus niger* e *Trichophyton mentagrophytes* (MCCHESNEY; CLARK, 1991). De fato, o monoterpene α -pipeno possui uma evidente atividade antifúngica para *Fusarium sulphureum* (XING-DONG; HUA-LI, 2014) e *Candida albicans* (RIVERA-YAÑEZ et al., 2017), assim como

efeito antioxidante (AYDIN et al., 2013), anticancerígeno (AYDIN et al., 2013; MENDES et al., 2017) e modulador do sistema nervoso autônomo (IKEY et al., 2016) devidamente comprovados. Com relação ao limoneno, o segundo monoterpene mais abundante no OEGB, existem evidências de sua atividade antimicrobiana *in vitro* para as bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Mycobacterium tuberculosis* (SIENIAWSKA et al., 2017), assim como para a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (ZAHl et al., 2017). É importante destacar que estes monoterpenos possuem baixa toxicidade às células humanas, o que os tornam substâncias promissoras para sua utilização *in vivo* (O'HARA et al., 2016; SCHIMID; GÖEN, 2017). Quanto ao cariofileno, há relatos de sua atividade antifúngica para fungos filamentosos como *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *A. parasiticum* e *Fusarium solani* (NETA et al., 2017), mas não há relatos para espécies de *Candida*.

De fato, determinar a atividade antimicrobiana de óleos essenciais é uma tarefa difícil devido à falta de metodologias padronizadas e, principalmente, à alta volatilidade destes compostos, no qual pode resultar em dados significativamente distorcidos (BASER; BUCHBAUER, 2010). Além disso, a alta volatilidade somada ao caráter hidrofóbico e os diferentes coeficientes de difusão dos constituintes químicos do óleo essencial podem levar a atividades antimicrobianas falsamente baixas ou inexistentes no teste de difusão em ágar (LANGUE; BUCHBAUER, 2011).

Portanto, a ausência de atividade anti-*Candida* dos óleos essenciais de *Aristolochia trilobata* e de *Croton blanchetianus* observado neste estudo não significa, necessariamente, que estes óleos não apresentarão nenhum efeito inibitório sobre *Candida* spp. em testes mais precisos, como o da diluição em caldo. Embora mais caro e de manuseio técnico mais complexo

que o teste de difusão em ágar, o teste de diluição em caldo apresenta resultados mais confiáveis, uma vez que a influência negativa da

volatilidade dos óleos essenciais é significativamente minimizada neste teste (LANGUE; BUCHBAUER, 2011).

CONCLUSÃO

Este é o primeiro relato da atividade antifúngica dos óleos essenciais do *Croton blanchetianus* e da *Aristolochia trilobata*, e ambos os óleos apresentaram um bom rendimento. Além disso, *Croton blanchetianus* provou ser uma fonte viável para a obtenção de substâncias com potencial efeito antifúngico, como α -pineno.

Devido às limitações intrínsecas do método aqui empregado, este estudo sugere que trabalhos futuros avaliem a atividade antifúngica destes óleos através de métodos mais precisos e menos suscetíveis à alta volatilidade dos óleos essenciais, como ensaio da diluição em caldo.

REFERÊNCIAS

AYDIN E.; TÜRKEZ H.; GEYIKOĞLU F. Antioxidative, anticancer and genotoxic properties of α -pinene on N2a neuroblastoma cells. **Biologia**, [S.l.], v. 68, n. 5, p. 1004-1009, 2013.

ANGÉLICO E. C. et al. Chemical characterization and antimicrobial activity of essential oils and Crotons varieties modulator in the Brazilians Northeast [semi-arid. **African Journal of Plant Science**, [S.l.], v. 8, n. 7, p. 392-397, jul. 2014.

BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. **Handbook of essential oils: science, technology, and applications**. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2010. 975 p.

CAMPORESE, A. et al. Screening of anti-bacterial activity of medicinal plants from Belize (Central America). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 87, p. 103-107, 2003

CARNEIRO, F. M. et al. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais**, Iporá, v. 3, n. 2, p. 44- 75, 2014.

CARVALHO, K. T. C. **Avaliação da atividade citotóxica e pró-apoptótica de *Croton blanchetianus* Baill. em linhagens de câncer cervical humano**. 2016. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE - CLSI. **Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeast**; approved guideless. 2. ed. Wayne, PA: [s.n.], 2009. 40p.

FENNER, R.; BETTI, A.H.; MENTZ, L.A.; RATES, S.M.K. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Rev Interd**. v.13, n.2021;1801

Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 42, n. 3, p. 369 - 394, 2006.

FLORES, F. C.; BECK, R. C. R.; SILVA, C. B. Essential oils for treatment for onychomycosis: a mini-review. **Mycopathologia**, [S.l.], v.181, n.1-2, p. 9-15, fev. 2016.

FU, J. et al. Epidemiology of *Candida albicans* and non-*C. albicans* of neonatal candidemia at a tertiary care hospital in western China. **BMC infectious diseases**, [S.l.], v. 17, n. 1, p. 329, 2017.

KIDD, S.; HALLIDAY, H. A.; ELLIS, D. **Descriptions of medical fungi**. 3rd. ed. Austrália: Adelaide University, 2016. 266 p.

IKEI, H.; SONG, C.; MIYAZAKI, Y. Effects of olfactory stimulation by α -pinene on autonomic nervous activity. **Journal of Wood Science**, [S.l.], v. 62, n. 6, p. 568- 572, 2016.

LANG, G.; BUCHBAUER, G. A review on recent research results (2008-2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. **Flavour and Fragrance Journal**, [S.l.], v. 27, p. 13-39, ago. 2011.

LIMA, I. O. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, [S.l.], v.16, n.2, p.197-201, abr./jun. 2006.

MCCHESENEY, J. D.; CLARK, A. M. Antimicrobial diterpenes of *Croton sonderianus*, 1-hardwickic and 3,4-secotrachylobanoic acids. **Journal of Natural Products**, [S.l.], v. 54, n. 6, p. 1625-1633, nov./dez. 1991.

MENDES, K. R. et al. *Croton blanchetianus* modulates its morphophysiological responses to tolerate drought in a tropical dry forest. **Functional Plant Biology**, Austrália, v. 44, n. 10, p. 1039-1051, 2017.

MENEZES, R. P. et al. Frequency of *Candida* species in a tertiary care hospital in triângulo mineiro, Minas Gerais state, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 57, n. 3, p. 185-191, maio/jun. 2015.

MOBIN, M. et al. Chemical composition and evaluation of the antifungal, cytotoxic and modulatory activity from essential oil of *Aloysia lycioides* Cham. **International Journal of Development Research**, India, v. 7, n. 4, p. 12596-12600, abr. 2017a.

MOBIN, M. et al. Onychomycosis in workers from a community garden in Teresina, Piauí, Brazil. **International Journal of Development Research**, India, v.7, n.6, p.13422-13426, jun. 2017b.

NETA, M. C. S. et al. Effects of β -caryophyllene and *Murraya paniculata* essential oil in the murine hepatoma cells and in the bacteria and fungi 24-h time-kill curve studies. **Pharmaceutical Biology**, Londres, v. 55, n. 1, p. 190-197, set. 2017.

O'HARA, M. E. et al. Limonene in exhaled breath is elevated in hepatic encephalopathy. **Journal of Breath Research**, [S.l.], v. 10 n. 4, p. 1-11 nov. 2016.

OLIVEIRA, B.M.S. **Atividade formicida de *Aristolochia trilobata* L. (Aristolochiaceae) sobre formigas cortadeiras**. 2015. 57 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Biodiversidade) - Universidade Federal de Sergipe, Sergipe.

OLIVEIRA, B.M.S. et al. Essential Oil of *Aristolochia trilobata*: synthesis, routes of exposure, acute toxicity, binary mixtures and behavioral effects on leaf-cutting ants. **Molecules**, [S.l.], v. 22, n. 3, p.335, 2017.

PEREIRA, et al. Atividade antimicrobiana e antibiofilme de extratos hexânicos de *Croton blanchetianus* Baill sobre *Staphylococcus aureus*. **Encontros Universitários da UFC**, Fortaleza, v. 1, n. 1, p. 2007, 2017.

PINHO-DA-SILVA, L. et al. *Croton sonderianus* essential oil samples distinctly affect rat airway smooth muscle. **Phytomedicine**, [S.l.], v. 17, n. 10, p. 721-725, ago. 2010.

QUINTANS, J.S.S. et al. Antinociceptive effect of *Aristolochia trilobata* stem essential oil and 6-methyl-5-hepten-2-yl acetate, its main compound, in rodents. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 72, n. 3-4, p. 93-97, 2017.

RIVERA-YAÑEZ, C. R. et al. Anti-*Candida* activity of *Bursera morelensis* Ramirez essential oil and two compounds, α -pinene and γ -terpinene - an *in vitro* study. **Molecules**, v. 22, n. 12, p. 2095-2108, dez. 2017.

SANTOS, A. S. et al. Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório: Comunicado Técnico 99. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2004.

SCHMIDT, L.; GÖEN, T. Human metabolism of α -pinene and metabolite kinetics after oral administration. **Archives of Toxicology**, Berlim, v. 91, n. 2, p. 677-687, fev. 2017

SIENIAWSKA, E. et al. Natural terpenes influence the activity of antibiotics against isolated *Mycobacterium tuberculosis*. **Medical Principles Practice**, Kuwait, v. 26, p. 108-112, nov. 2017.

SILVA, F. S. et al. An ethnopharmacological assessment of the use of plants against parasitic diseases in humans and animals. **Journal of Ethnopharmacology**, [S.l.], v. 155, n. 2, p. 1332-1341, 2014.

SILVA, L. et al. Bicyclgermacreno, resveratrol e atividade antifúngica em extratos de folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & Jarvis (Vitaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 3, p. 361-367, jul./set, 2007.

SOLIMAN, S. S. M. et al. Assessment of herbal drugs for promising anti-*Candida* activity. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, [S.l.], v. 17, n. 1, p. 257, maio, 2017.

TOMAZONI, E. Z. et al. Atividade antifúngica *in vitro* dos óleos essenciais de *Pinus elliottii* e *Pinus Taeda* sobre o fungo patógeno de tomateiro *Alternaria solani sorauer*. **Revista Caderno Pedagógico**, Lajeado, v. 11, n. 1, p. 68-77, 2014.

XIAO, M. et al. Antifungal susceptibilities of *Candida glabrata* species complex, **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Oxford, v. 70, n. 3, p. 802-810, mar. 2015.

XING-DONG, L.; HUA-LI X. Antifungal activity of the essential oil of *Zanthoxylum bungeanum* and its major constituent on *Fusarium sulphureum* and dry rot of potato tubers. **Phytoparasitica**, [S.l.], v. 42, n. 4, p. 507-517, set. 2014.

ZAHI, M. R. et al. Enhancing the antimicrobial activity of d-limonene nanoemulsion with the inclusion of ϵ -polylysine. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 15 n. 221, p. 18-23, abr. 2017.

COLABORAÇÕES

Porto JCS e Coelho FA contribuíram inteiramente na coleta, análise, escrita e revisão final deste manuscrito. Oliveira FVB contribuiu na discussão deste artigo. Lima SG e Mobin M contribuíram no desenho e revisão final deste manuscrito.

AGRADECIMENTOS

Não se aplica.

DISPONIBILIDADE DOS DADOS

Não se aplica.

FONTE DE FINANCIAMENTO

Não se aplica.

CONFLITOS DE INTERESSE

Não há conflitos de interesses a declarar.

Submetido: 2020-11-13

Aceito: 2020-01-15