

Atividade antifúngica de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) sobre *Candida spp.*

Rayanne Sales de Araújo Batista¹, Géssica de Souza Silva²; Suellen E. Feitosa Machado³; Karlete Vânia Mendes Vieira⁴

¹Mestranda em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, Rua Baraúnas, 351, Bairro Universitário, Campina Grande, CEP: 58429-500, Brasil. E-mail: rayannesales@hotmail.com

²Graduada em Farmácia pela Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, Rua Baraúnas, 351, Bairro Universitário, Campina Grande, CEP: 58429-500, Brasil. E-mail: silva-gessica@hotmail.com

³Mestranda em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, Rua Baraúnas, 351, Bairro Universitário, Campina Grande, CEP: 58429-500, Brasil. E-mail: suellen_feitosa_@hotmail.com

⁴Professora da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, Rua Baraúnas, 351, Bairro Universitário, Campina Grande, CEP: 58429-500, Brasil. E-mail: karletevieira@gmail.com.

Resumo

O uso das plantas medicinais, nos países em desenvolvimento, tem sido amplamente observado como base normativa para a manutenção da saúde. Uma patologia de relevância comumente identificada pelos médicos do Sistema Único de Saúde (SUS) em pacientes do gênero feminino são as Candidíases Vulvovaginal (CVV) e Oral (CO). De forma convencional, o tratamento das candidíases consiste na utilização de agentes antifúngicos de uso tópico e/ou sistêmico, sendo os derivados azólicos e poliênicos os mais comuns. Além dos efeitos adversos destes medicamentos, há crescente resistência por parte das cepas de *Candida*, fazendo com que surja uma demanda por formas terapêuticas eficientes, de baixo custo e fácil obtenção. Objetivase avaliar a atividade antifúngica da folha de *Lippia sidoides* cham. frente às principais espécies causadoras de candidíases oral e vulvovaginal. Foi utilizado o método teste de difusão em ágar para determinar a Atividade Antifúngica (AA) e a Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato e óleo essencial, conforme procedimento recomendado pela Farmacopéia Brasileira IV edição. Tanto o extrato hidrolacoólico quanto o óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. obtiveram resultados satisfatórios, porém o óleo mostrou maior potencial antifúngico, enfatizado através dos resultados referente a AA de todas as espécies ensaiadas, obtendo melhor resultado para *C. guilliermondii*, assim como CIM em 4% para *C. albicans*. Porém existe a necessidade de estudos mais específicos e quantitativos para futuro desenvolvimento de produtos fitoterápicos que possam ser utilizados no controle das referidas infecções fúngica.

Palavras-chave: Plantas medicinais. Candidíase. *Candida albicans*.

Abstract

The use of medicinal plants in developing countries has been widely seen as a normative basis for the maintenance of health. A pathology of relevance commonly identified by doctors of the Unified Health System (SUS) in female patients are Vulvovaginal candidiasis (VVC) and Oral (OC). In conventional manner, the treatment of candidiasis is the use of topical antifungal agents and / or systemic, and the azole and polyene derivatives most common. In addition to the adverse effects of these drugs, there is increasing resistance from strains of *Candida*, causing arises a demand for therapeutics effective, inexpensive and easily obtainable. The objective is to evaluate the antifungal activity of *Lippia sidoides* cham sheet. Against the major species causing vulvovaginal candidiasis and oral, was the method used in agar diffusion test to determine the Antifungal Activity (AA) and Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of the extract and essential oil, according to procedure recommended by the Brazilian Pharmacopoeia edition. Both the hydro alcoholic extract as the essential oil of *Lippia sidoides* Cham. Satisfactory results, but the oil showed the greatest potential antifungal, emphasized by the results regarding AA of all species tested, obtaining best result for *C. guilliermondii*, as MIC in 4% *C. albicans*. However, the need exists for more specific and quantitative studies for future development of herbal products that be used in the control of said fungal infections.

Keywords: Medicinal plants. Candidiasis. *Candida albicans*.

Introdução

No período de 2000-2006, aproximadamente 50% de moléculas químicas novas extraídas a partir de produtos naturais demonstraram a sua importância para o desenvolvimento de

drogas no tratamento de doenças infecciosas (Newman e Cragg 2007). A escolha de um tratamento adequado antifúngico é importante, embora limitado a alguns agentes licenciados (Provin e Hadley 2000). A crescente resistência de microorganismos aos antimicrobianos em uso tem



atraído a atenção da comunidade científica em relação à busca de novas rentáveis drogas de origem natural ou sintética (Pai et al. 2004).

As leveduras do gênero *Candida*, em particular a *C. albicans*, são patógenos oportunistas frequentemente isolados das superfícies mucosas de indivíduos normais (Moragues et al. 2003). O delicado balanço entre o hospedeiro e esse fungo comensal pode-se transformar em uma relação parasitária, com o desenvolvimento de infecções denominadas candidíases (Chaffin et al. 1998).

A candidíase vulvovaginal (CVV) é atualmente um relevante problema na saúde da mulher, e profissionais atuantes nessa área têm a necessidade de conhecer aspectos atuais que estão sendo abordados sobre a sua patogenia, que possui ainda muitos aspectos para serem esclarecidos (Álvares et al. 2007). A candidíase oral (CO) foi descrita como doença associada no primeiro caso de aids publicado, e constitui a infecção fúngica mais frequente nos pacientes HIV-positivo. Considera-se que até 90% dos indivíduos infectados pelo HIV sofrerão pelo menos um episódio de candidíase orofaríngea (Barbedo e Sgarbi, 2010).

Convencionalmente, o tratamento para as candidíases em geral é feito com a administração tópica e oral de antifúngicos azólicos e poliênicos, porém vem se tornando frequente a presença de resistências desses micro-organismos a estes medicamentos, devido seu uso inadequado. Além disso, essas drogas podem causar efeitos tóxicos e colaterais consideráveis, o que diminui a adesão pelo paciente. Logo, o uso de plantas medicinais como medicina tradicional se mostra bastante atrativo como uma terapia alternativa, exigindo estudos científicos acerca do assunto, que ainda são insuficientes.

Algumas plantas utilizadas popularmente como “anti-inflamatórias” possuem considerada atividade antimicrobiana frente a vários patógenos, pois alguns traumas que comprometem a integridade da barreira cutânea constituem-se na principal causa de mudança de comportamento de bactérias que fazem parte da microbiota da pele para agente etiológico em infecções cutâneas (Caetano et al. 2002; Zavadinack et al., 2001).

O gênero *Lippia* é conhecido por apresentar, principalmente, atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante e larvicida (Botelho et al. 2007b; Mendes et al. 2010; Damasceno et al. 2011). O alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*), pertencente à família botânica *Verbenaceae*, é um arbusto, encontrado no sertão nordestino, principalmente nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte. A exemplo de outras plantas do gênero, *L. sidoides* é uma planta aromática, de uso medicinal popular, principalmente como antisséptico (Lacoste et al. 1996; Lemos et al. 1990). Seu óleo essencial, rico em timol e carvacrol, apresentou propriedades bactericida e fungicida, enquanto o hidrolato revelou atividade moluscicida e larvicida (Matos, 1996). Em virtude destas propriedades, este vegetal é cultivado em hortos de plantas medicinais e faz parte do elenco de plantas selecionadas pelo governo do estado, como fitoterápico.

Baseado em toda esta problemática e buscando soluções, esse trabalho visou avaliar a atividade antifúngica do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial de alecrim-pimenta (*L. sidoides* cham.), em espécies de *Candida* relacionadas às candidíases oral e vulvovaginal.

Material e métodos

Obtenção e caracterização das amostras vegetais

As folhas de alecrim pimenta (*L. sidoides*) foram coletadas no Horto Florestal Lauro Pires Xavier, situado às margens do açude de Bodocongó, em Campina Grande-PB, em novembro de 2011, sendo devidamente identificada e uma exsiccata da espécie (ACAM 905) foi depositada no Herbário da Universidade Estadual da Paraíba, Paraíba, Brasil.

Obtenção do Extrato Vegetal e do Óleo Essencial

O extrato hidroalcoólico foi obtido no laboratório de Farmacognosia da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), campus I, segundo as recomendações da Farmacopéia Brasileira 2ª edição (1959). A partir da planta fresca pelo processo de



maceração, utilizou-se a concentração 1:1 (p/v) de massa do material vegetal para o volume de álcool etílico 70%.

O óleo essencial foi extraído no Laboratório de Desenvolvimento e Ensaios em Medicamentos (LABDEM), no Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, UEPB, segundo LIMA *et al.* (2006), através da técnica de hidrodestilação. Utilizou-se o aparelho de Clevenger adaptado a um balão de fundo redondo com capacidade para 1000 mL. Após o tempo de destilação, o óleo foi recolhido e acondicionado em recipiente apropriado ao abrigo da luz.

Atividade Antifúngica

Para avaliação da Atividade Antifúngica (AA) do extrato e dos óleos essenciais obtidos, a partir da espécie vegetal coletada, foram utilizadas cepas microbianas padrão American Type Culture Collection (ATCC) de *Candida albicans* (ATCC 18804), *C. parapsilosis* (ATCC 22019), *C. tropicalis* (ATCC 13803) e *C. Guilhermondii* (ATCC 6260), disponibilizadas pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ – RJ). O inóculo de leveduras foi adaptado e padronizado segundo o National Committee for Clinical Laboratory Standards, (NCCLS, norma M2-A8, 2003, atual CLSI), através da suspensão de colônias isoladas em solução salina disposta em tubos de ensaio, até a obtenção de turvação igual à escala 0,5 de Mc Farland, que equivale a aproximadamente $1,5 \times 10^6$ UFC/mL.

Adaptado de Menezes *et al.* (2009), a atividade antifúngica foi avaliada pelo método de difusão em ágar ou meio sólido, utilizando-se cavidades em placa. O meio de cultura utilizado foi Ágar Sabouraud Dextrose. O inóculo padronizado foi disposto nas placas com o auxílio de um “swab” estéril. Adaptado de Ostrosky *et al.* (2008) na técnica de perfuração em ágar, a remoção do meio de cultura sólido foi realizada com auxílio de cilindros de 6-8 mm de diâmetro para a formação de poços, nos quais foram aplicados o extrato e o óleo essencial da planta mencionada, assim como o controle negativo, correspondente à solução hidroalcoólica na mesma concentração do extrato testado, para o

extrato hidroalcoólico, e Tween 80 para o óleo essencial. Como controle positivo utilizou-se nistatina em disco. O ensaio foi realizado adicionando em cada poço 50 µL das substâncias citadas. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C, durante um período de 24-48 horas. O ensaio foi realizado em duplicata. A leitura dos testes foi realizada com o auxílio de um paquímetro manual, considerados como possuidores de atividade antifúngica, o extrato e óleo que apresentaram um halo de inibição do crescimento, caracterizado por uma zona de clareamento, igual ou superior a 10 mm de diâmetro.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Para a determinação da CIM do extrato hidroalcoólico, foram realizadas diluições seriadas, a partir do extrato bruto (100%), de 50 % (1:2 µg.mL⁻¹), 25 % (1:4 µg.mL⁻¹), 12,5 % (1:8 µg.mL⁻¹) e, 6,25 % (1:16 µg.mL⁻¹). As diluições foram obtidas transferindo-se 5 mL da forma obtida bruta para 5 mL de solução salina 0,85% estéril em tubo, obtendo-se a diluição de 1:2 µg.mL⁻¹ ou 50%, em seguida realizou-se o mesmo procedimento ao partir da diluição 1:2 µg.mL⁻¹ para o tubo subsequente, repetindo este procedimento quatro vezes até obtenção da diluição de 1:16 µg.mL⁻¹ ou 6,25%.

Adaptado de Menezes *et al.* (2009), para determinação da CIM do óleo essencial, foram realizadas diluições de 32, 16, 8, 4 e 2% a partir do óleo *in natura* (100%). A solução a 32% foi preparada com 1,6 mL de óleo + 0,004 mL de Tween 80 e água destilada esterilizada suficiente para completar 5 mL. Em seguida, homogeneizou-se a emulsão em agitador Vortex, por 15 minutos; da mesma forma, as demais concentrações foram obtidas mediante diluições seriadas.

Após a inoculação do micro-organismo e realização dos poços, foram distribuídos 50 µL do extrato e do óleo da planta nas concentrações citadas anteriormente. Em sequência, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C, durante um período de 24-48 horas. O ensaio foi realizado em duplicata. O resultado final foi determinado pela média aritmética dos halos de inibição. Sendo



estabelecida como CIM a concentração do extrato e óleo que desenvolveu um halo de inibição do crescimento fúngico maior ou igual a 10 mm de diâmetro.

Resultados e discussão

Espécies de *Candida* são responsáveis por causar infecções oportunistas em pacientes imunocomprometidos e podem causar desde infecções superficiais até infecções sistêmicas (Shao et al., 2007). As classes de antifúngicos apresentam baixa eficácia, alta toxicidade e frequentemente levam à resistência (Anderson, 2005). Diante disso, a busca por produtos naturais com atividade antifúngica frente a espécies de *Candida* vem sendo alvo de muitos estudos

(GIORDANI et al., 2004; DUARTE et al., 2005).

Nos ensaios realizados se determinou, qualitativamente, a atividade antifúngica do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial da espécie vegetal *Lippia sidoides* Cham. (Alecrim-pimenta). Para ambos os ensaios os controles positivo e negativo obtiveram resultados esperados.

A inibição do crescimento mostrou-se homogênea, de acordo com o grau de concentração do extrato hidroalcoólico da planta, havendo uma diminuição proporcional dos halos à medida que a concentração do extrato foi diminuindo. Como pode ser observado nas tabelas 1 e 2, ressalta-se uma ação potencial sobre a *C. guilliermondii* e *C. tropicalis*, levando em consideração a CIM.

Tabela 1. Halos (mm) da atividade antifúngica do extrato hidroalcoólico bruto de *Lippia sidoides* Cham.

Cepas ensaiadas	EB*	Controle (+)**	Controle (-) ***
<i>C. albicans</i>	12,00	10,00	-
<i>C. guilliermondii</i>	21,50	14,50	-
<i>C. parapsilosis</i>	24,00	17,50	-
<i>C. tropicalis</i>	19,00	20,00	-

* Extrato Bruto / ** Nistatina / *** Álcool 70%

Tabela 2. Halos (mm) da CIM do extrato hidroalcoólico de *Lippia sidoides* Cham. diluído.

Cepas ensaiadas	1:2	1:4	1:8	1:16
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	14,00	-	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	-	-	-	-
<i>C. tropicalis</i>	13, 50	11,00	-	-

Vários estudos têm apontado excelentes propriedades terapêuticas de extratos hidroalcoólicos. Entretanto, nos ensaios relativos à atividade antifúngica destes, *in vitro*, é possível verificar uma variedade de metodologias propostas, o que dificulta a comparação entre o presente trabalho e outros estudos.

Silva et al. (2011) demonstraram que leveduras do gênero *Candida albicans* apresentaram halos de inibição de 16 mm, *Candida krusei* halos de 15 mm e *Candida tropicalis* halos de 14 mm frente ao extrato puro do alecrim-pimenta. Para a diluição de 1:2 do mesmo extrato a *Candida albicans* apresentou halo de inibição de 12 mm,



Candida krusei de 13 mm e *Candida tropicalis* de 12 mm. As divergências encontradas nesse estudo em relação à pesquisa citada podem ser devidas a técnica extrativa e às diferenças na composição química da planta, esta, é determinada por fatores como local, condições de cultivo e época de colheita.

Silva (2012) testou os extratos hidroalcoólicos de *Syzygium aromaticum* L., *Symphytum officinale* L. e *Momordica charantia* L., entre outras espécies, sobre as mesmas espécies de *Candida* ensaiadas na presente pesquisa. Analisando seus resultados se nota a resistência das leveduras frente aos extratos de *Symphytum officinale* L. e *Momordica charantia* L., e uma boa atividade antifúngica para o extrato de *Syzygium aromaticum* L., com sensibilidade para três das quatro espécies leveduriformes testadas, com média de halo de inibição de 18 mm. Comparando-se ao ensaio realizado com a *Lippia sidoides* Cham. constata-se sensibilidade frente todas as cepas

ensaiadas, e com média de halo de 19 mm, chegando a atividade superior de 24 mm de diâmetro de halo para *Candida parapsilosis*, enfatizando mais uma vez a forte atividade antifúngica dessa espécie vegetal.

A maior ou menor atividade biológica dos extratos hidroalcoólicos tem se mostrado dependente da composição de seus constituintes químicos presentes no vegetal. O efeito terapêutico de *L. sidoides* tem sido atribuído principalmente à presença do timol, substância com alto poder antimicrobiano, sendo o componente majoritário do óleo essencial e também encontrado em extratos hidroalcoólicos (Matos; Oliveira, 1998).

Os resultados para o óleo essencial bruto de *Lippia sidoides* Cham. apresentados na Tabela 3 demonstram relevante atividade antifúngica. Na Tabela 4 esse precedente se destaca com os resultados encontrados para CIM nas diluições de 32% a 2% do óleo bruto.

Tabela 3. Halos (mm) da atividade antifúngica do óleo essencial bruto de *Lippia sidoides* Cham.

Cepas ensaiadas	OB*	Controle (+)**	Controle (-)***
<i>C. albicans</i>	80,00	10,00	-
<i>C. guilliermondii</i>	83,00	14,50	-
<i>C. parapsilosis</i>	80,50	17,50	-
<i>C. tropicalis</i>	58,00	20,00	-

*Óleo Bruto / **Nistatina / ***Água destilada

Tabela 4. Halos (mm) da CIM do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. diluído.

Cepas ensaiadas	32%	16%	8%	4%	2%
<i>C. albicans</i>	34,00	20,00	12,00	10,00	-
<i>C. guilliermondii</i>	55,00	45,00	15,00	9,00	7,5
<i>C. parapsilosis</i>	20,00	17,00	12,50	8,00	-
<i>C. tropicalis</i>	29,50	17,50	10,00	-	-

Os resultados citados para a Atividade Antifúngica de *Lippia sidoides* Cham. demonstraram um elevado potencial antifúngico dessa planta, confirmados pela CIM, que mostrou-se eficaz até a diluição de 8%, para *C. guilhermondii*, e 4% para *C.*

albicans, levando em consideração o padrão de 10 mm de diâmetro para o halo. Silva et al. (2011) apresentou para leveduras do gênero *Candida albicans* halos de inibição de 16 mm, *Candida krusei* halos de 15 mm e *Candida tropicalis* halos de 14 mm frente

ao extrato puro (0,86 g.ml⁻¹), assim como para a diluição de 1:2 (0,43 g.ml⁻¹) *Candida albicans* apresentou halo de inibição de 12 mm, *Candida Krusei* de 13 mm e *Candida tropicalis* de 12 mm, demonstrando que para o extrato da *Lippia sidoides* Cham. as leveduras do gênero *Candida albicans* foram sensíveis até a diluição de 1:2. Comparando os resultados de Silva *et al.* (2011) com os nossos, podemos perceber que encontramos melhores resultados para o óleo essencial de alecrim-pimenta em relação ao extrato hidroalcolico da mesma espécie vegetal.

É sabido que os constituintes fitoquímicos de uma planta obtidos por métodos extrativos varia tanto pela parte do vegetal utilizada quanto pelo método extrativo dos mesmos. Analisando a revisão bibliográfica feita observou-se melhores resultados de atividade antimicrobiana com o óleo essencial de Alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) quando comparado aos resultados com o seu extrato hidroalcolico. Uma vez que, segundo Mendonça (1997), esta espécie de planta se destaca pelos elevados rendimentos de seu óleo essencial, de até 6%, sendo este rico em timol (43,5%), que é o responsável pelo alto poder antiséptico de suas folhas, como também α -felandreno (22,4%), β -cariofileno (9,7%), α -cimeno (8,6%), mirceno (6,5%) e carvacrol (4,3%).

Trabalhos já registrados na literatura mostram atividade bactericida e fungicida contra diferentes espécies microbianas, bem como larvicida (Botelho et al., 2007; Kordali et al. 2008). Segundo Fontenelle (2008), o Timol é encontrado em diversas plantas como *Thymus eriocalyx*, *Thymus x-porlock* e principalmente no óleo essencial da *Lippia sidoides* Cham, o qual possui atividade antimicrobiana. Mais uma vez corroborando para a associação da eficácia dos resultados obtidos nesta pesquisa a presença desse componente fitoquímico no óleo essencial ensaiado.

Estudos realizados por Ahmad et al. (2010) sugerem que o timol pode interagir diretamente com a enzima H⁺-ATPase frente a espécies de *Candida*, o que explica sua atividade antifúngica. Devido ao grande número de componentes químicos, os óleos essenciais não possuem alvos específicos na célula. Sua estrutura

lipofílica permite a permeabilização das membranas, resultando em perda de íons, citocromo C, radicais, proteínas e redução do potencial de membrana, com conseqüente colapso da bomba de prótons e depleção de ATP (Sikkema et al., 1994; Yoon et al., 2000; Turina et al., 2006).

Como citado anteriormente, o óleo essencial de *L. sidoides* contém em sua composição química, além do timol, outros compostos com atividade antimicrobiana comprovada (carvacrol, p-cimeno, β -cariofileno e 1,8-cineol). Esses componentes podem agir sinergicamente aumentando o potencial antimicrobiano (Burt, 2004).

Segundo Daferera et al. (2003) o uso de óleos essenciais, como agentes antimicrobianos, oferece um baixo risco de desenvolvimento de resistência microbiana, pois sendo misturas de diferentes compostos, sua atividade antimicrobiana pode estar relacionada a diferentes mecanismos de ação, o que dificulta a adaptação dos micro-organismos.

Fontenelle et al. (2007) avaliaram o efeito do óleo essencial de *L. sidoides* (teor de timol 59,65%) sobre cepas de *C. albicans* e *C. tropicalis* através do método de microdiluição em caldo. A CIM e CFM (Concentração Fungicida Mínima) para *C. albicans* foi 1250 mg/mL e 2500 mg/mL, respectivamente. Para a cepa de *C. tropicalis*, foi encontrado uma CIM de 2500 mg/mL e uma CFM de 5000 mg/mL. Pina-Vaz et al. (2004) encontraram uma CIM e CFM para o timol de 0,16 μ L/mL e 0,32 μ L/mL frente a *C. albicans* e *C. tropicalis* utilizando o método de macrodiluição em caldo. Esses resultados mostram a necessidade de se fazer uma padronização dos métodos de extração dos óleos essenciais e dos ensaios antimicrobianos *in vitro*, para que a prospecção possa ser sistemática e objetiva, e haver uma melhor interpretação e comparação dos resultados.

Inúmeros estudos vêm sendo desenvolvidos para a determinação da atividade antimicrobiana de extratos de plantas, encontrando-se que uma grande variedade destes extratos possui potencial atividade sobre um vasto número de micro-organismos. Dentre esses estudos, Botelho et al. (2007) avaliaram a atividade antibacteriana e antifúngica do óleo

essencial da *Lippia sidoides* Cham. sobre micro-organismos da cavidade bucal e os resultados mostraram atividade antimicrobiana frente *Streptococcus mutans*, *S. mitis*, *S. salivaris*, *S. sanguis* e *Candida albicans*, com halos de inibição entre 8,5 e 34 mm. Contribuindo com os resultados encontrados na pesquisa em questão, uma vez que ressalta a potencial Atividade Antifúngica encontrada para o gênero *Candida* com halos de até 80 mm.

A exploração da biodiversidade brasileira pode levar a identificação de metabólitos secundários valiosos que podem servir como fitofármacos ou conduzir ao desenvolvimento de novos fármacos semi-sintéticos ou sintéticos. Comparado ao desenvolvimento de um novo medicamento sintético, que envolve vultosas somas de recursos (cerca de US\$ 350 milhões e 10 a 15 anos de pesquisa), o desenvolvimento de um fitomedicamento requer menos recursos, e também menor tempo de pesquisa. Estima-se que os custos para o desenvolvimento de um fitomedicamento não devem ultrapassar 2 a 3 % daquele previsto para o desenvolvimento de um novo medicamento sintético (Calixto, 2003).

Paula et al. (2011) desenvolveram e caracterizaram nanoesferas encapsuladas com quitosana e goma de cajueiro, contendo óleo essencial de *L. sidoides* no seu interior, para o controle das larvas de *Aedes aegypti*. Também a partir do óleo essencial foram desenvolvidos um gel e enxaguatório bucal para o controle de cárie em crianças entre 6 e 12 anos de idade, e comprovaram nesse experimento que ambas formulações foram bastante efetivas (Lobo et al. 2011). No entanto, apesar do futuro promissor, a exemplo de outras espécies nativas, *L. sidoides* necessita de maior número de estudos para poder gerar um fitomedicamento ou fitoterápico cientificamente validado.

Apesar de obtidos resultados promissores e relevantes, existe a necessidade de se testar técnicas diferentes para a atividade antimicrobiana, a fim de comparar os resultados e definir quantitativamente a efetividade do óleo. Porém, torna-se necessária a realização de estudos acerca da citotoxicidade do EHLs e do OELS, como suporte de segurança para o

uso dos mesmos como constituintes possíveis de novos fármacos.

Conclusão

As plantas medicinais vêm ganhando um enfoque mais amplo nessa questão e se mostrando como potenciais ferramentas auxiliadoras no tratamento de doenças, inclusive, por sua atividade antimicrobiana. Nos ensaios realizados se determinou, qualitativamente, a atividade antifúngica e a CIM do extrato hidroalcoólico e óleo essencial da espécie vegetal *Lippia sidoides* Cham. (Alecrim-pimenta), indicando que essa planta possui um grande potencial antifúngico frente *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. Guilliermondii*, porém com maior atividade antifúngica para o óleo em comparação com extrato hidroalcoólico. Existe a necessidade de estudos mais específicos e quantitativos, utilizando outras e novas técnicas metodológicas, para futuro desenvolvimento de produtos fitoterápicos que possam ser utilizados no controle das referidas infecções fúngicas.

Referências

- AHMAD, A.; KHAN, A.; YOUSUF, S.; KHAN, L.A.; MANZOOR, N. Proton translocating ATPase mediated fungicidal activity of eugenol and thymol. **Fitoterapia**, v. 81, p. 1157–1162, 2010.
- ÁLVARES, C. A.; SVIDZINSKI, T. I. E.; CONSOLARO, M. E. L. Candidíase vulvovaginal: fatores predisponentes do hospedeiro e virulência das leveduras. **J Bras Patol Med Lab**, v. 43, n. 5, p. 319-327, outubro 2007.
- ANDERSON, J.B. Evolution of antifungal-drug resistance: mechanisms and pathogen fitness. **Nature Reviews Microbiology**, v. 3, p. 547–556, 2005.
- BARBEDO, L. S.; SGARBI, D.B.G. CANDIDIASIS. **DST - J Bras Doenças Sex Transm.**, 2010.
- BOTELHO, M. A.; RUELA, R. S.; MONTENEGRO, D.; COSTA, J. G. M.; SANTOS, J. A.; FRANÇA, M. C. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens.

- Brazilian Journal of Medical Biology Research on Line**, v.40, n.3, p.349-356, 2007b.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods--a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.
- CAETANO, N.; SARAIVA, A.; PEREIRA, R.; CARVALHO, D.; PIMENTEL, M. C. B., MAIA, M. B. S. Determinação de atividade antimicrobiana de extratos de plantas de uso popular como anti-inflamatório. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 132-135, 2002.
- CALIXTO, J.B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**, v. 5, n. 3, p. 37-39, 2003.
- CHAFFIN, W.L. et al. Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*: identification, function, and expression. **Microbiol Molec Biol Ver.**, v. 62, p. 130-80, 1998.
- DAFERERA, D.J.; ZIOGAS, B.N.; POLISSIOU, M.G. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **Crop Protection**, v. 22, p. 39-43, 2003.
- DAMASCENO, E.I.T.; SILVA, J.K.R.; ANDRADE, E.H.A.; SOUSA, P.J.C.; MAIA, J.G.S. Antioxidant capacity and larvicidal activity of essential oil and extracts from *Lippia grandis* Schauer, *Verbenaceae*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 1, p. 78-85, 2011.
- DUARTE, M.C.T.; FIGUEIRA, G.L.; SARTORATTO, A.; REHDER, V.L.G.; DELARMELINA, C. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 305-311, 2005.
- FARMACOPÉIA dos Estados Unidos do Brasil. 2 ed. São Paulo: Indústria Gráfica Siqueira, 1959.
- FONTENELLE, R. O. S. **Efeito antifúngico de óleos essenciais de *Lippia sidoides* Cham. *Croton argyrophylloides* Muell., *Croton zenhneri* Pax et Hoffm., *Croton nepetaefolius* Baill. e de seus principais constituintes contra dermatófitos e *Candida* spp. isolados de cães.** Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias), Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2008.
- FONTENELLE, R. O. S.; MORAIS, S. M.; BRITO, E. H. S.; KERNTOPF, M. R.; BRILHANTE, R. S. N.; CORDEIRO, R. A.; TOMÉ, A. R.; QUEIROZ, M. G. R., MASCIMENTO, N. R. F.; SIDRIM, J. J. C., ROCHA, M. F. G. Chemical composition, toxicological aspects and antifungal activity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 59, p. 934-940, 2007.
- GIORDANI, R.; REGLI, P.; KALOUSTIAN, J.; MIKAIL, C.; ABOU, L.; PORTUGAL, H. Antifungal effect of various essential oils against *Candida albicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. **Phytotherapy Research**, v. 18, p. 990-995, 2004.
- KORDALI, S.; CAKIR, A.; OZER, H.; CAKMAKCI, R.; KESDEK, M.; METE, E. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and ρ -cymene. **Bioresource Technology**, doi: 10.1016/j.biortech.2008.04.048, 2008.
- LACOSTE, E.; CHAUMONT, J.P.; MANDIN, D.; PLUMEL, M.M.; MATOS, F.J.A. Lês Propriétés Antiseptiques de l'huile essentielle de *Lippia sidoides* Cham. Application à la microflore cutanée. **Annales Pharmaceutiques Françaises**, 1996; 54: 228-30.
- LEMOS, T.L.G.; MATOS, F.J.A.; ALENCAR, J.W.; CRAVEIRO, A.A. Antimicrobial activity of essential oils of Brazilian plants. **Phytoterapy Research**, 1990; 4: 82-4.
- LIMA, I.O.; OLIVEIRA, R.A.G.; LIMA, E.O.; FARIAS, N.M.P.; SOUZA, E.L. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Rev. Bras. Farmacogn.**, vol.16, nº.2, João Pessoa, Apr./June 2006.



- LOBO, P.L.D.; FONTELES, C.S.R.; CARVALHO, C.B.M.; NASCIMENTO, D.F.; FONSECA, S.G.C.; JAMACARU, F.V.F.; MORAES, M.E.A. Dose-response evaluation of a novel essential oil against Mutans *Streptococci* in vivo. **Phytomedicine**, v. 18, n. 7, p. 551- 556, 2011.
- MATOS, F.J.A. *Lippia sidoides* Cham. - Farmacognosia, química e farmacologia. Revista Brasileira de Farmácia, 1996; 77: 65-7.
- MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil**. 2. Ed. Fortaleza: Imprensa Universitária/ UFC. 2000.
- MATOS, F.J.A.; OLIVEIRA, F. *Lippia sidoides* Cham. – farmacognosia, química e farmacologia. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.70, n. 3-4 p. 84-87, 1998.
- MENDES, S. S.; BOMFIM, A. R. R.; JESUS, H. C. R.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F.; C.S. ESTEVAMA; ANTONIOLLI; S.M. Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Lippia gracilis* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v.129, n. 4, p. 391–397, 2010.
- MENDONÇA, M. C. S. **Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.)**. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal do Ceará, 1997.
- MENEZES, T.O.A.; ALVES, A.C.B.A.; VIEIRA, J.M.S.; MENEZES, S.A.F.; ALVES B.P.; MENDONÇA, L.C.V. Avaliação in vitro da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de *Candida albicans*. **Rev. Odontol. UNESP**. 2009; 38(3): 184-91.
- MORAGUES, M.D. et al. A monoclonal antibody directed against a *Candida albicans* cell wall mannoprotein exerts three anti-C *albicans* activities. **Infec Immun**, v. 71, p. 5273-79, 2003.
- NCCLS- **National Committee for Clinical Laboratory Standards** – Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão: Norma Aprovada – Oitava Edição, M2-A8, EUA, 2003, Volume 23 nº1. (Atual CLSI - www.clsi.org)
- NEWMAN, DJ. and CRAGG, GM. Natural products as source of new drugs over the last 25 years. **Journal of Natural Products**, vol. 70, p. 461-477, 2007.
- OSTROSKY, E.A.; MIZUMOTO, M.K.; LIMA, M.E.L.; KANEKO, T.M.; NISHIKAWA, S.O.; FREITAS, B.R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 18(2): 301-307, Abr./Jun. 2008.
- PAI, MR., ACHARYA, LD. and UDUPA, N. Evaluation of antiplaque activity of *Azadirachta indica* leaf extract gel – a 6-week clinical study. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 90, p. 99-103, 2004.
- PAULA, H.C.B.; SOMBRA, F.M.; CAVALCANTE, R.F.; ABREU, F.O.M.S.; PAULA, R.C.M. Preparation and characterization of chitosan/cashew gum beads loaded with *Lippia sidoides* essential oil. **Materials Science and Engineering: C**, v. 31, n. 2, p. 173-178, 2011.
- PINA-VAZ, C.; GONÇALVES RODRIGUES, A.; PINTO, E.; COSTA-DE-OLIVEIRA, S.; TAVARES, C.; SALGUEIRO, L.; CAVALEIRO, C.; GONÇALVES, M.J.; MARTINEZ-DE-OLIVEIRA, J. Antifungal activity of *Thymus* oils and their major compounds. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venerology**, v. 18, n. 1, p. 73-78, 2004.
- PROVINE, H. and HADLEY, S. Preliminary evaluation of a semisolid agar antifungal susceptibility test for yeasts and molds. **Journal of Clinical Microbiology**, vol. 2, p. 537-541, 2000.
- SHAO, P.L.; HUANG, L.M.; HSUEH, P.R. Recent advances and challenges in the treatment of invasive fungal infections. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 30, p. 487 - 495, 2007.
- SIKKEMA, J.; BONT, J. A. M.; POOLMAN, B. Interaction of cyclic

- hydrocarbons with biological membranes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, p. 8022-8028, 1994.
- SILVA, G.S. **Estudo da ação antimicrobiana de extratos de plantas medicinais sobre espécies de Candida de interesse médico** [manuscrito] / Géssica de Souza Silva – Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2012.
- SILVA, V. A.; FREITAS, A. F. R.; PEREIRA, M. S. V.; OLIVEIRA, C. R. M.; DINIZ, M. F. F. M.; PESSOA, H. L. F. Eficácia antifúngica dos extratos da *Lippia sidoides* Cham e *Matricaria recutita* Linn. sobre leveduras do gênero *Candida*. **Biofar**, vol. 5, nº 1, 2011.
- TURINA, A.V.; NOLAN, M.V.; ZYGADLO, J.A.; PERILLO, M.A. Natural terpenes: self-assembly and membrane partitioning. **Biophysical Chemistry**, v. 122, p. 101–113, 2006.
- YOON, H.S.; MOON, S.C.; KIM, N.D.; PARK, B.S.; JEONG, M.H.; YOO, Y.H. Genistein induces apoptosis of RPE-J cells by opening mitochondrial PTP. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 276, p. 151–156, 2000.
- ZAVADINACK, M.N.; HERREIRO, F.; BANDEIRA, C.O.P.; ITO, Y.; CIORLIN, E.; SAQUETI, E.E.; ANSILIEIRO, I.J.; GONSALVES, L.; SIQUEIRA, V.L.D. *Staphylococcus aureus*: incidência e resistência antimicrobiana em abscessos cutâneos de origem comunitária. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 3, p. 709-712, 2001.