

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE SAPONINAS DE *CHENOPODIUM QUINOA* SOBRE *TRICHOPHYTON RUBRUM*

Simone Gasparin Verza¹; Roberta Stefanello de Jesus²; Alexandre Meneghello Fuentefria³;
George González Ortega³

¹Estudante de Pós-graduação do Curso de Farmácia da UFRGS – PPGCF - Departamento de Produção e Controle de Medicamentos. E-mail: simofar@gmail.com; ²Estudante de Graduação do Curso de Farmácia da UFRGS – Departamento de Análises. E-mail: betastefanello@gmail.com; ³Professores do Departamento de Produção e Controle de Medicamentos e do Departamento de Análises. E-mail: ortega@farmacia.ufrgs.br; alexmf77@gmail.com

Resumo – A atividade antifúngica de saponinas de *Chenopodium quinoa*, uma planta originária dos Andes, foi avaliada nesse trabalho. Para tanto frações enriquecidas em saponinas, denominadas FR70 e FR90, foram obtidas e caracterizadas utilizando-se UPLC/Q-TOF-MS. Mediante a utilização dessa técnica a estrutura do sinal majoritário foi identificada como 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopyranosyl phytolaccagenic acid 28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester. Não foi observada atividade para as frações de saponinas testadas frente a fungos leveduriformes, porém evidenciou-se uma atividade significativa sobre *Trichophyton rubrum*. Os halos de inibição do crescimento foram maiores para a FR90, indicando que a estrutura das saponinas pode exercer influência sobre a atividade, uma vez que a FR90 foi caracterizada pela presença de saponinas mais apolares.

Palavras-chave: *Chenopodium quinoa*, saponinas, atividade antifúngica

Introdução

Chenopodium quinoa Willd é uma planta da família *Chenopodiaceae*, originária dos Andes, onde tem sido cultivada com fins alimentícios há pelo menos cinco mil anos destacando-se pelo seu elevado teor de proteínas, aminoácidos, fibras e minerais (ZHU et al., 2002; MADL et al., 2006). O gosto amargo das sementes é atribuído às saponinas, que obriga à aplicação de um tratamento prévio de desaponificação por lixiviação com água ou remoção mecânica do farelo (WOLDEMICHAEL;WINK, 2001; ZHU et al., 2002; MADL et al., 2006).

O *pool* de saponinas de sementes de quinoa é bastante complexo e de maneira geral é caracterizado por triterpenos que incluem derivados dos ácidos oleanólico, fitolacagênico, serjânico e ácido 3 β ,23,30,-triidroxiole-12-ano-28-oico e da hederagenina (WOLDEMICHAEL;WINK, 2001; MADL et al., 2006).

Dentre as atividades atribuídas às saponinas cabe destacar a antifúngica, considerando as mesmas na forma isolada, em frações purificadas ou extratos brutos. Woldemichael e Wink (2001) avaliaram a atividade antifúngica e hemolítica das saponinas de *Chenopodium quinoa* e verificaram para a fração de saponinas totais um efeito inibitório no crescimento de *Candida albicans*. Stuardo e San Martin (2008) detectaram para as saponinas de *Chenopodium quinoa* atividade significativa contra o fungo *Botrytis cinerea*, responsável por doenças em parreirais. A pesquisa contra dermatofitoses utilizando-se espécies vegetais com potencial medicamentoso é crescente. Isso porque, estas constituem um dos grupos de infecções fúngicas mais frequentes na prática dermatológica (SIQUEIRA et al., 2006), com tendência para cronicidade. Tais infecções são tratadas por meio da correção de fatores predisponentes

e de terapêutica medicamentosa, no entanto, têm apresentado resistência aos tratamentos convencionais.

Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a atividade de inibição sobre o crescimento de espécies de fungos leveduriformes oportunistas e fungos dermatófitos, de frações enriquecidas em saponinas obtidas a partir de *Chenopodium quinoa*.

Materiais e Métodos

A partir de extrato bruto de *Chenopodium quinoa* foram obtidas frações enriquecidas em saponinas, codificadas como FR70 e FR90. A caracterização estrutural das mesmas foi realizada utilizando-se UPLC/Q-TOF-MS (a Waters Acquity Ultra Performance LC system). Nitrogênio foi usado como gás de nebulização e gás auxiliar e o argônio como gás de colisão. Uma coluna Hypersil Gold (Thermo) com 100 mm x 2,1mm e 1,9 μ m foi utilizada como fase estacionária e como fase móvel ácido fórmico a 0,1% (A) e acetonitrila (B) em sistema gradiente. As análises foram realizadas em modo positivo de ionização, monitorando sinais de 200 a 1500 *m/z*.

Foram submetidas ao ensaio de susceptibilidade espécies selecionadas de fungos leveduriformes oportunistas e fungos dermatófitos. Os isolados leveduriformes, a saber, *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* foram previamente semeados em Ágar Sabouraud contendo cloranfenicol 0,04% por 48h a uma temperatura de 30°C, para obtenção de células viáveis para os testes. Para os isolados filamentosos, *Aspergillus Níger*, *Penicillium* sp. e *Trichophyton rubrum* também foram semeados em Ágar Sabouraud, porém, o período de incubação foi de 7 dias a 30°C. Tomando-se como referencial, o método de difusão em ágar, segundo as recomendações do *Clinical Laboratory Standart Institute* (CLSI, 2006), as saponinas foram solubilizadas em solução de água e DMSO, e na sequência foram diluídas a uma concentração final de 1000 μ g/mL. Posteriormente, utilizando-se cânulas estéreis, foram produzidas cavidades que abrigaram 50 μ L dos inóculos das saponinas. A partir de uma cultura fúngica pura e viável e água destilada estéril, foi preparado um inóculo equivalente a concentração de 10⁵ UFC/mL e este foi semeado por espalhamento com um *swab* previamente esterilizado, em uma placa de Petri estéril contendo Ágar Sabouraud com cloranfenicol. As placas foram incubadas a 30°C, por 48h e durante 7 dias, para fungos leveduriformes e filamentosos, respectivamente. A leitura das placas foi realizada mediante avaliação da presença de halo de inibição ao redor da canaleta.

Resultados e Discussão

A caracterização estrutural das saponinas presentes nas frações enriquecidas foi realizada utilizando-se UPLC/Q-TOF-MS, o que possibilitou a identificação das principais saponinas que constituem as frações sendo o sinal majoritário identificado como derivado do ácido fitolacagênico: 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- \square -L-arabinopyranosyl phytolaccagenic acid 28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester e cuja presença é relatada para a espécie em questão (ZHU et al., 2002; MADL et al., 2006).

Dentre os isolados fúngicos testados se evidenciou atividade para *Trichophyton rubrum*, fungo dermatófito (figura 1), sendo mais acentuada a inibição observada quando utilizou-se a FR90. Para todos os agentes leveduriformes testados não se observou atividade inibitória do crescimento.

Atividades antifúngicas são relatadas para várias espécies do gênero *Phytolacca* que apresentam saponinas derivadas do ácido fitolacagênico, sendo essa a aglicona descrita para a

substância majoritária presente nas frações de saponinas obtidas de *Chenopodium quinoa* (SPARG et al., 2004).

Pode-se inferir ainda, que a atividade de inibição do crescimento do fungo em questão está relacionada com a estrutura das saponinas presentes, isso porque na FR90 estão presentes saponinas mais apolares quando comparada a FR70.

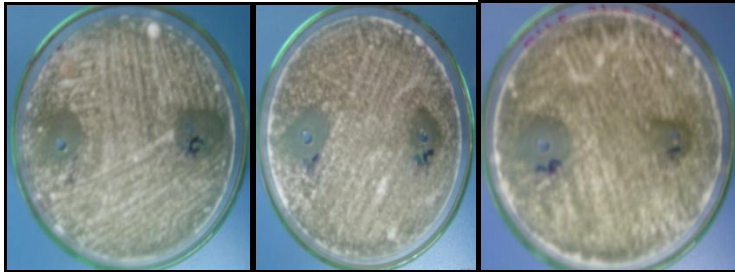


Figura 1. Halos de inibição do crescimento de *Trichophyton rubrum*

Conclusões

A partir do trabalho realizado verificou-se atividade antifúngica frente a *Trichophyton rubrum* das saponinas presentes em *Chenopodium quinoa*. Pode-se inferir ainda a respeito de uma seletividade das saponinas em questão, pois não se observou atividade frente aos fungos leveduriformes. As características estruturais das saponinas também parecem interferir no potencial antifúngico, uma vez que, o halo de inibição do crescimento foi ligeiramente maior para a FR90, onde saponinas mais apolares estão presentes. Estudos adicionais para avaliar a atividade antifúngica das frações de saponinas em questão, frente a outros fungos dermatófitos, estão sendo realizados.

Apoio
CNPq

Referências

- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, sixteenth informational supplement, document M100-S16. Wayne, PA, USA: CLSI, 2006.
- KULJANABHAGAVAD, T.; THONGPHASUK, P.; CHAMULITRAT, W.; WINK, M. Triterpene saponins from *Chenopodium quinoa* Willd, *Phytochemistry*, v. 69, p. 1919-1926, 2008.
- MADL, T.; STERK, H.; MITTELBAACH, M. Tandem mass spectrometric analysis of a complex triterpene saponin mixture of *Chenopodium quinoa*, *Journal of The American Society for Mass Spectrometry*, v. 17, p. 795-806, 2006.
- SIQUEIRA, E. R.; FERREIRA, J. C.; MAFFEI, C. M. L.; CANDIDO, R. C. Ocorrência de dermatófitos em amostras de unhas, pés e mãos coletadas de estudantes universitários, *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 39, p. 269-271, 2006.
- SPARG, S. G.; LIGHT, M. E.; STADEN, J. V. Biological activities and distribution of plant saponins, *Journal of Ethnopharmacology*, v. 94, p. 219-243, 2004.
- STUARDO, M.; SAN MARTIN, R. Antifungal properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) alkali treated saponins against *Botrytis cinerea*, *Industrial Crop and Products*, v. 27, p. 296-302, 2008.

WOLDEMICHAEL, G. M.; WINK, M. Identification and biological activities of triterpenoid saponins from *Chenopodium quinoa*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, p. 2327-2332, 2001.

ZHU, N.; SHENG, S.; SANG, S.; JHOO, J-W.; BAI, N.; KARWE, M. V.; ROSEN, R. T.; HO, C.-T. Triterpene saponins from debittered Quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, p. 865-867, 2002.