

ÓLEO ESSENCIAL DE *VITEX AGNUS-CASTUS*: CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO*

Gabriela Larissa Lopes Rodrigues (PIC/UEM), Natália Santos Pretes, Ana Laura Castilho Franco, Miguel Machinski Junior, Juliana Cristina Castro (Orientador). E-mail: ra127493@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Básicas da Saúde, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Farmacologia/ Toxicologia

Palavras-chave: Atividade antifúngica, *Alternaria alternata*, *Vitex agnus castus*.

RESUMO

Alternaria alternata, fungo deteriorante de pós-colheita de frutos, grãos e vegetais, é um patógeno amplamente distribuído e destaca-se por produzir ampla gama de micotoxinas. Uma das propostas para inibição deste microrganismo e substituição de agrotóxicos, são os compostos naturais, como os óleos essenciais. Diante disso, este estudo visou caracterizar quimicamente o óleo essencial de *Vitex agnus-castus* e avaliar a atividade antifúngica contra *A. alternata in vitro*. Inicialmente, o óleo essencial de *V. agnus-castus* foi caracterizado por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas, com o composto majoritário cariofileno (41,53%) identificado. Nas avaliações da concentração inibitória mínima (CIM), se obteve ação antifúngica do *V. Agnus castus* de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, no entanto, no teste de disco difusão, não foi observado a inibição. Dessa forma, embora o óleo essencial de *V. Agnus castus* tenha apresentado uma CIM interessante, na outra técnica, a ação antifúngica não foi observada, e enfatiza a importância de se avaliar outras metodologias de bioatividade e diferentes concentrações. Ainda, o ensaio *in situ* está em andamento para avaliarmos a inibição fúngica em frutos, assim evidenciar seu potencial frente a esta cepa fúngica em condições reais.

INTRODUÇÃO

As pesquisas nas áreas agrícola e alimentar com o decorrer do tempo, focaram em buscar novas formas de combater os microrganismos deteriorantes e micotoxigênicos ao plantio de frutos durante a pós-colheita, de uma maneira que permita existir alternativas de menor risco ao ambiente. Para o combate de microrganismos de forma menos agressivo para o ambiente, há os chamados compostos naturais, como os óleos essenciais (OEs). Eles são materiais sintetizados, armazenados e liberados pelas plantas, sendo bastante famosos pelo seu caráter de promoção de saúde e bem-estar (BAKALLI et al., 2008). Dentro os OEs, *Vitex agnus-castus* (VAC), planta mediterrânea, possui uma longa história pelo seu caráter medicinal e nos últimos anos, é mais conhecida pelo seu grande potencial para medida paliativa de sintomas pré-menstruais.

Um dos gêneros prevalente no ramo agrícola é *Alternaria alternata*, sendo esse fungo deteriorante e micotoxigênico e responsável por possuir conídios que se disseminam facilmente pelo ar. Os principais danos após a ingestão de seus metabolitos tóxicos é alergia e asma. Sua patogenicidade pode atingir grande parte de uma plantação e sua principal identificação se baseia na presença visível de manchas marrons pela folha e caule da planta. Em decorrência da falta de estudo com efeito antimicrobiana, este estudo visa analisar a caracterização e bioatividade do OE de VAC na pós-colheita contra fungo *A. alternata* em cultivo *in vitro*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção do OE

O OE de VAC (Instituto Ligia Finotti, Lote AU 220049-1 Ourilândica do Norte, Pará) foi obtido comercialmente, armazenado a 4°C e protegido da luz para posterior análise.

Caracterização do OE de VAC por CG-EM

A composição química do OE foi realizada utilizando CG-EM (DSQ Trace GC ultra, Thermo Scientific) com injetor automático (FOCUS GC – DSQ II, Thermo Electron Corp. ®), conforme descrito por Castro et al., (2017). A caracterização foi realizada com base no tempo de retenção (TR) e comparada com os principais compostos usando a taxa de retenção de Kovats (IKA). Os componentes do OE foram identificados pelo espectro de fragmentação e apresentados em porcentagens.

Atividade antifúngica in vitro

O método de Disco Difusão foi usado para avaliar a inibição do crescimento das hifas do fungo contaminante, segundo Prasad et al., (2001). Os discos foram preparados com 10 μ L dos compostos nas concentrações 100, 50 e 25% em Tween 80 a 1%. Para a CIM, a técnica foi seguida pelo método de microdiluição M38-A (CLSI, 2008). O OE foi diluído em Tween 80 a 1% e testado em uma faixa de concentração de 3,91 até 2000 μ g mL⁻¹. As placas foram incubadas à 28°C por 72 horas. A CIM foi definida como a menor concentração do composto que inibiu o crescimento visual do fungo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Baseado na identificação dos componentes de VAC, os compostos identificados de maior concentração foram: Alfa-pinene (31,33%) e Cariofileno (41,53%), e por seguinte, compostos minoritários, como: Cymene (1,94%), 1,4 Cineole (1,29%), Alfa-terpinene (TR: 7,79 com 1,16% e RT: 12,12 com 15,06%), Alfa-humulene (3,56%) e oxido de cariofileno (3,43%). Outros estudos com o mesmo OE evidenciou a presença de cineol, sabineno, alfa-pineno e cariofileno. É importante enfatizar, que deve ser levado em consideração diferentes regiões, estação de colheita, técnica de extração e ainda, parte da planta, podendo influenciar na concentração e presença dos compostos.

Conforme demonstrado na Figura 1 para a técnica de disco difusão, as diferentes concentrações de OE não apresentaram inibição do crescimento fúngico comparada ao controle.

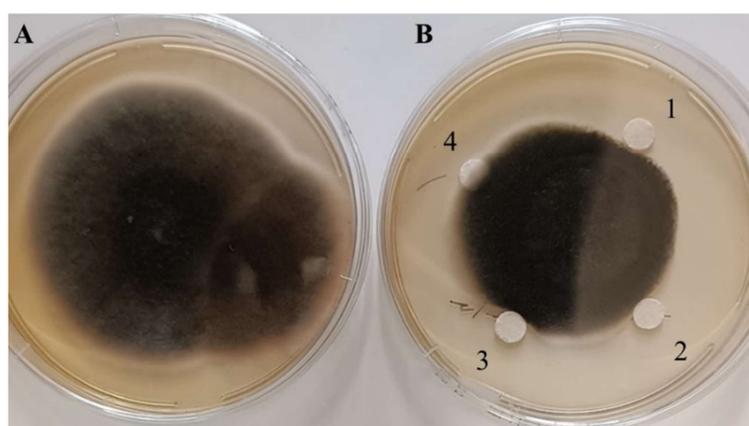


Figura 1. Disco difusão do OE de VAC contra *A. Alternata*. A. Controle de *A. Alternata* e B: Teste com OE de VAC, onde: 1: composto puro (100%); 2: 50% do OE; 3: 25% do OE e 4: controle com Tween 80 1%.

Fonte: Autor, (2024).

A CIM para o OE avaliado foi de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra *A. alternata*. A atividade deste OE se deve principalmente pela presença de componentes como o cineol e cariofileno, que possui ação antimicrobiana. Neste sentido, observa-se em geral, a atividade antifúngica aliada ao teste de CIM, e quando se trata do OE de VAC, observou ação inibitória baixa contra a cepa de *A. Alternata*.

CONCLUSÕES

O OE de VAC apesar de apresentar cariofileno como composto majoritário e demonstrar atividade antifúngica em ensaios *in vitro*, não foi eficaz no controle de *A. alternata* no ensaio de disco difusão. É importante enfatizar que o ensaio *in situ* está em andamento para avaliarmos a inibição fúngica em frutos, assim evidenciar seu potencial frente a esta cepa fúngica em condições reais.

REFERÊNCIAS

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, v.46, n.2, p. 446-475, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0278691507004541>. Acesso em: 11 ago.2024.

CASTRO, J. C.; et al. Bioactivity of essential oils in the control of *Alternaria alternata* in dragon fruit (*Hylocereus undatus* Haw.). **Industrial Crops and Products**, v.97, p. 101-109, 2017.

[CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. **Reference method for broth dilution antifungals susceptibility testing of conidium-forming filamentous fungi: approved standard. M38-A2**. 2nd ed. Wayne (PA): NCCLS, 2008.

PRASAD, N.R.; ANANDI, C. S.; BALASUBRAMANIAN, PEGALENDI, K.V. Antidermatophyte activity of extracts from *Psoralea coryfolia* (Fabaceae) correlated with the presence of a flavonoid compound. **J. Ethnopharmacol.**, v. 91, p. 21-24, 2001.