



## Título: POTENCIAL ANTIFÚNGICO DA LIGNINA DE *DINIZIA EXCELSA*: AVALIAÇÃO IN VITRO CONTRA LEVEDURAS DE INTERESSE CLÍNICO

Miranda, JFOM<sup>1,2</sup>; Santos, CAA<sup>1</sup>; Silva, WMS<sup>1,2</sup>; Silva, AFF<sup>1,2</sup>; Lima, LS<sup>1,3</sup>; Pereira, AVLA<sup>1,4</sup>; Santos, KCC<sup>1,3</sup>; Marques, DSC<sup>1,4</sup>; Cruz Filho, IJ<sup>1,4</sup>;

<sup>1</sup> Laboratório de Química e Inovação Terapêutica (LQIT), Departamento de Antibióticos, UFPE, Recife - PE.

<sup>2</sup> Graduação no curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da UFPE, Recife - PE.

<sup>3</sup> Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica da UFPE, Recife – PE.

<sup>4</sup> Programa de Pós-graduação em Morfotecnologia da UFPE, Recife – PE.

**Eixos temáticos:** Microbiologia (infecções bacterianas, virais e fúngicas)

### RESUMO

A lignina é uma macromolécula vegetal abundante e subutilizada, com estrutura rica em grupos fenólicos que conferem potencial bioativo, incluindo propriedades antimicrobianas. Frente à necessidade de novos antifúngicos diante do aumento da resistência microbiana, o presente trabalho avaliou a atividade antifúngica da lignina extraída da madeira de *Dinizia excelsa* contra 16 cepas de *Candida* de relevância clínica. Os ensaios foram realizados in vitro pelo método de microdiluição em caldo, determinando-se as concentrações inibitória mínima (CIM) e fungicida mínima (CFM). A lignina apresentou valores de CIM variando entre 256 µg/mL e > 1024 µg/mL, com destaque para *C. tropicalis* HAM 43 (resistente ao fluconazol), que apresentou CIM de 256 µg/mL, e para *C. albicans* HAM 15 e *C. tropicalis* HAM 44, ambas sensíveis ao fluconazol e com CIM de 512 µg/mL. Nenhuma cepa apresentou CFM ≤ 1024 µg/mL, evidenciando ausência de efeito fungicida. Os resultados indicam que, embora a lignina de *D. excelsa* possua atividade inferior aos antifúngicos de referência, sua capacidade de inibir o crescimento de cepas resistentes reforça seu potencial como adjuvante terapêutico. Assim, este estudo contribui para o aproveitamento sustentável de recursos amazônicos e abre perspectivas para o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos.

**Palavras-chave:** Lignina; *Dinizia excelsa*; Antifúngico; *Candida*; Resistência fúngica; Produtos naturais

**.Agências Financiadoras:** Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE)



## INTRODUÇÃO

A lignina é uma macromolécula de origem vegetal com estrutura complexa e rica em grupos fenólicos, sendo um dos principais componentes da parede celular secundária das plantas. Associada à celulose e hemicelulose, desempenha funções essenciais como proteção contra patógenos, suporte mecânico e condução de nutrientes. Sua estrutura é formada por unidades fenilpropanóides (G, S e H), unidas por ligações carbono-carbono e éter, conferindo alta diversidade química. Esse perfil estrutural tem despertado interesse científico por suas múltiplas atividades biológicas, incluindo propriedades imunomoduladoras, antioxidantes, citotóxicas e antimicrobianas (Izaguirre *et al.*, 2024).

Apesar de ser gerada em grandes quantidades como subproduto da indústria de papel e bioetanol, a lignina ainda é subutilizada, sendo geralmente queimada para geração de energia. No entanto, sua complexidade química lhe confere um amplo potencial de aplicação em áreas como a farmacologia, cosmética e agricultura. Um dos desafios para o seu uso industrial reside na variabilidade estrutural, que depende tanto da espécie vegetal de origem quanto do método de extração. Essa diversidade, no entanto, pode ser uma vantagem no desenvolvimento de produtos bioativos personalizados, como agentes antifúngicos (Da Cruz Filho *et al.*, 2023; Jadhav *et al.*, 2024).

Nos últimos anos, pesquisas têm demonstrado que ligninas oriundas de diferentes fontes apresentam atividade antifúngica contra diversas espécies patogênicas, como *Candida albicans*, *Aspergillus* spp. e *Cryptococcus neoformans*. Acredita-se que os mecanismos de ação envolvam a desestabilização da parede celular dos fungos, inibição da formação de biofilmes, indução de estresse oxidativo e interferência no metabolismo celular. Além disso, a presença de grupos fenólicos e quinonas na estrutura da lignina pode promover interações com as estruturas fúngicas, resultando em efeitos fungistáticos ou fungicidas (Nakason *et al.* 2024).

Frente à necessidade crescente de novos antifúngicos, especialmente diante do aumento da resistência aos tratamentos convencionais, o estudo de novas fontes de lignina torna-se uma estratégia promissora. A espécie amazônica *Dinizia excelsa*, pertencente à família Fabaceae, é uma árvore de grande porte amplamente utilizada pela indústria madeireira, mas cujos resíduos ainda são pouco aproveitados (Lima *et al.*, 2025). Estudos indicam que extrativos da madeira de espécies amazônicas apresentam atividade antifúngica, o que sugere que as ligninas dessa planta possam possuir propriedades similares, ainda não descritas na literatura (Lima *et al.*, 2024).

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo investigar a atividade antifúngica das ligninas extraídas da madeira de *Dinizia excelsa*. Para isso, foram realizados ensaios *in vitro* frente a fungos de interesse médico, além de caracterização físico-química prévia das ligninas para melhor compreensão da relação estrutura-atividade. Os resultados pretendem não apenas avaliar o potencial antifúngico das ligninas, mas também contribuir para o aproveitamento sustentável dos recursos florestais amazônicos e fomentar a inovação na área de produtos bioativos.

## MATERIAIS E MÉTODOS/METODOLOGIA

Para a avaliação da atividade antifúngica da lignina obtida da madeira de *Dinizia excelsa*, madeira esta cedida pela empresa Mil Madeira Ltd. foram utilizadas 16 cepas de leveduras do gênero *Candida*, provenientes da coleção de culturas do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). As cepas testadas incluíram: *Candida albicans* (HAM 11, HAM 13, HAM 15, UFPEDA-1007, 95, 4664, URM49), *Candida parapsilosis* (HAM 14, ATC22019), *Candida tropicalis* (HAM 33, HAM 43, HAM 44), *Candida glabrata* (UFPEDA-6393), *Candida guilliermondii* (UFPEDA-6390, URM62) e *Candida krusei* (ATC62).



As leveduras foram preservadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  em leite em pó esterilizado com glicerol (10% v/v). Para os ensaios, foram cultivadas em Ágar Sabouraud Dextrose e incubadas a  $28^{\circ}\text{C}$  por 48 horas. As colônias foram suspensas em solução salina estéril (NaCl 0,85%) e padronizadas para uma densidade de aproximadamente  $2,5 \times 10^3$  UFC/mL, com base em leituras espectrofotométricas a 600 nm.

A atividade antifúngica foi determinada utilizando a técnica de microdiluição em caldo, em conformidade com o documento M27-A3 do CLSI (adaptado da metodologia M100 para leveduras). As ligninas foram solubilizadas em DMSO:água destilada (1% v/v) e testadas em concentrações decrescentes de 1024 a 2  $\mu\text{g/mL}$ . As microdiluições foram preparadas em placas de 96 poços, utilizando como meio o RPMI 1640 tamponado com MOPS. Como controle positivo foram utilizados os antifúngicos padrão fluconazol e micafungina, em concentrações de 20 a 0,4  $\mu\text{g/mL}$ .

As placas contendo os tratamentos e inóculos fúngicos foram incubadas a  $37^{\circ}\text{C}$  por 48 horas. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi definida como a menor concentração sem crescimento visível. Para a determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM), os conteúdos dos poços sem crescimento foram repicados em Ágar Sabouraud Dextrose e incubados por mais 48 horas a  $28^{\circ}\text{C}$ . Os experimentos foram conduzidos em triplicata e os resultados expressos como médias das leituras.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES/RELATO DO CASO/RELATO DA EXPERIÊNCIA/ESTUDO DE CASO

A lignina de *Dinizia excelsa* apresentou maior eficácia frente às leveduras do que às bactérias, com valores de CIM variando entre 256  $\mu\text{g/mL}$  e  $> 1024$   $\mu\text{g/mL}$ . Entre as cepas avaliadas, *Candida albicans* HAM 15 (sensível ao fluconazol) e *Candida tropicalis* HAM 44 (sensível) apresentaram CIM de 512  $\mu\text{g/mL}$ , enquanto *C. tropicalis* HAM 43 (resistente ao fluconazol) destacou-se com CIM de 256  $\mu\text{g/mL}$ . Apesar do efeito inibitório observado, não foram registrados valores de CFM  $\leq 1024$   $\mu\text{g/mL}$ , caracterizando uma baixa atividade fungicida.

**Tabela 1** — Resultados de concentração inibitória mínima (CIM), fungicida (CFM) da lignina de *D. excelsa* frente

Microorganismos	Lignina		Controle - antimicrobiano	
	Fungos	CIM ( $\mu\text{g/mL}$ )	CFM ( $\mu\text{g/mL}$ )	CIM ( $\mu\text{g/mL}$ )
<i>Candida albicans</i> HAM 11		1024	$> 1024$	Fluconazol 0,5 (S)
<i>Candida albicans</i> HAM 13		1024	$> 1024$	Fluconazol 4,0 (S)
<i>Candida parapsilosis</i> HAM 14		1024	$> 1024$	Fluconazol 1,0 (S)
<i>Candida albicans</i> HAM 15		512	$> 1024$	Fluconazol 1,0 (S)
<i>Candida tropicalis</i> HAM 33		1024	$> 1024$	Fluconazol 16,0 @
<i>Candida tropicalis</i> HAM 43		256	$> 1024$	Fluconazol 32,0 @
<i>Candida tropicalis</i> HAM 44		512	$> 1024$	Fluconazol 128,0 @
<i>Candida albicans</i> UFPEDA-1007		1024	$> 1024$	Micafungina 0,06 (S)
<i>Candida albicans</i> 95		$> 1024$	$> 1024$	Micafungina 0,03 (S)
<i>Candida albicans</i> 4664		$> 1024$	$> 1024$	Micafungina 0,01 (S)
<i>Candida glabrata</i> UFPEDA-6393		$> 1024$	$> 1024$	Micafungina 0,01 (S)
<i>Candida guilliermondii</i> UFPEDA-6390		$> 1024$	$> 1024$	Micafungina 0,01 (S)
<i>Candida parapsilosis</i> ATC22019		$> 1024$	$> 1024$	Anfotericina 0,5 (S)
<i>Candida krusei</i> ATC62		$> 1024$	$> 1024$	Anfotericina 0,5 (S)
<i>Candida guilliermondii</i> URM62		$> 1024$	$> 1024$	Anfotericina 1,0 (S)
<i>Candida albicans</i> URM49		$> 1024$	$> 1024$	Anfotericina 0,25 (S)

a diferentes cepas de bactérias

R – Resistente; S – Sensível; I – Resistência intermediária

Esses resultados são consistentes com relatos da literatura, nos quais ligninas alcalinas extraídas de diferentes espécies vegetais apresentaram CIMs entre 31,25 e 512  $\mu\text{g/mL}$  frente a leveduras e fungos filamentosos (Melo et al., 2020; Silva et al., 2023). A



inibição observada contra cepas resistentes ao fluconazol reforça o potencial da lignina como alternativa complementar no tratamento de infecções fúngicas. Acredita-se que a ação antifúngica esteja associada à natureza fenólica da lignina, bem como à presença de ligações duplas na posição  $C\alpha=C\beta$  da cadeia lateral e grupos metil na posição  $\gamma$ , características que favorecem a interação com componentes da parede celular (Melo et al., 2020).

Ainda que as concentrações necessárias para inibir o crescimento sejam superiores às dos antifúngicos de referência, a capacidade de atuar contra cepas resistentes torna a lignina uma candidata a estudos de associação com fármacos convencionais (Lima et al., 2025). Nesse contexto, a hipótese de que a lignina promova estresse oxidativo e danos à membrana celular, mesmo permanecendo no meio extracelular, merece investigação adicional. Assim, embora apresente baixa potência isoladamente, a lignina de *D. excelsa* se destaca como composto natural com potencial modulador de resistência antifúngica.

## CONCLUSÃO

A lignina extraída da madeira de *Dinizia excelsa* demonstrou atividade antifúngica moderada, com efeito inibitório frente a cepas de *Candida* sensíveis e resistentes, porém sem apresentar ação fungicida significativa. A inibição observada em cepas resistentes ao fluconazol destaca o potencial da lignina como candidata a estudos de sinergismo com antifúngicos convencionais. Dessa forma, embora não apresente eficácia suficiente para aplicação isolada, a lignina de *D. excelsa* pode contribuir para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas e para o uso sustentável de recursos florestais amazônicos.

## REFERÊNCIAS

DA CRUZ FILHO, Iranildo José et al. **In vitro evaluation of alkaline lignins as antiparasitic agents and their use as an excipient in the release of benznidazole.** International Journal of Biological Macromolecules, v. 231, p. 123339, 2023.

IZAGUIRRE, Nagore; ERDOCIA, Xabier; LABIDI, Jalel. **Exploring chemical reactions to enhance thermal and dispersion stability of kraft and organosolv lignin.** International Journal of Biological Macromolecules, p. 130518, 2024.

JADHAV, Pramod et al. **Advancement of lignin into bioactive compounds through selective organic synthesis methods.** International Journal of Biological Macromolecules, p. 134061, 2024.

LIMA, Lisandra da Silva et al. **Biological potential of alkaline lignins: A brief review.** 2024.

LIMA, Lisandra da Silva et al. **Lignin From *Dinizia excelsa*: Isolation, Characterization, and Evaluation of Antioxidant, Cytotoxic, Antitumor, Antimicrobial, and Immunomodulatory Activities.** Chemistry & Biodiversity, p. e01385, 2025.

MELO, C. M. L.; Filho, I. J. C.; Sousa, G. F.; Silva, G. A. S.; Santos, D. K. D. N.; Silva, R. S.; Sousa, B. R.; Neto, R. G. L.; Lima, M. C. A.; Rocha, G. J. M.; **Lignin isolated from *Caesalpinia pulcherrima* leaves has antioxidant, antifungal and immunostimulatory activities.** International Journal of Biological Macromolecules, v. 162, p. 1725-1733, 2020

NAKASON, Kamonwat et al. **Antimicrobial and antioxidant activities of lignin by-product from sugarcane leaf conversion to levulinic acid and hydrochar.** Sustainable Materials and Technologies, v. 40, p. e00973, 2024.

SILVA, Beatriz Rayne Moraes Gomes et al. **In vitro evaluation of antioxidant, cytotoxic, trypanocidal and antimicrobial activities of lignin obtained from *Caesalpinia ferrea***

leaves and its use as an excipient in the release of oxacillin and fluconazole.  
International Journal of Biological Macromolecules, v. 250, p. 126225, 2023.

