



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**



**INVESTIGAÇÃO DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DE TRÊS ESPÉCIES VEGETAIS
DA AMAZÔNIA CONTRA LEVEDURAS PATOGÊNICAS**

THAÍS SOUZA FARIAS

MANAUS-AM

2024

THAÍS SOUZA FARIAS

**INVESTIGAÇÃO DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DE TRÊS ESPÉCIES VEGETAIS
DA AMAZÔNIA CONTRA LEVEDURAS PATOGÊNICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas em cumprimento as exigências para obtenção do grau de Mestra em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Francisca Simas Teixeira

Coorientadora: Profa. Dra. Waldireny Rocha Gomes

MANAUS-AM

2024

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

F224i Farias, Thaís Souza
Investigação da ação antimicrobiana de três espécies vegetais da Amazônia contra leveduras patogências / Thaís Souza Farias .
2024
50 f.: il.; 31 cm.

Orientadora: Maria Francisca Simas Teixeira
Coorientadora: Waldireny Rocha Gomes
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Antifúngicos. 2. Candida. 3. compostos bioativos. 4. Trichosporon. I. Teixeira, Maria Francisca Simas. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

THAÍS SOUZA FARIAS

**INVESTIGAÇÃO DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DE TRÊS ESPÉCIES VEGETAIS
DA AMAZÔNIA CONTRA LEVEDURAS PATOGÊNICAS**

Aprovado em 23 de Fevereiro de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Francisca Simas Teixeira
Universidade Federal do Amazonas – UFAM

Prof. Dr. Salomão Rocha Martim
Universidade Nilton Lins

Profa. Dra. Kilma Cristiane Silva Neves
Instituto Federal do Amazonas – IFAM

RESUMO

Diversas espécies de plantas medicinais são fontes de compostos com potencial terapêutico para tratamento de doenças de origem microbiana, incluindo fungos filamentosos e unicelulares (leveduras). O presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação antimicrobiana de extratos orgânicos de três espécies vegetais *Pleonotoma jasminifolia*, *Mansoa alliacea* e *Solanum sessiliflorum* contra as leveduras patogênicas oportunistas *Candida albicans* DPUA 1340, *Candida tropicalis* DPUA 023, *Trichosporon beemeri* DPUA 213 e *Trichosporon beigeli* DPUA 208, bem como selecionar fonte de biocompostos com ação antimicrobiana para futura aplicação industrial. Para extração dos biocompostos, as folhas das espécies vegetais foram submetidas a extração por maceração assistida por banho ultrassônico com solvente orgânicos em polaridade crescente [hexano, acetato de etila e metanol], seguido de filtração e concentração em rotavapor à pressão reduzida. As leveduras teste foram reativadas em Ágar Sabouraud suplementado com extrato de levedura a 5% (p/v) e mantidas a 37 °C, por 72 horas. A autenticação foi realizada pelos métodos convencionais como morfologia da colônia, produção de clamidoconídios e pseudofilamentos. A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada pelo método de difusão em ágar por poço, determinação da concentração mínima inibitória (CMI) e por bioautografia. Os resultados mostraram que os extratos orgânicos de *P. jasminifolia*, *M. alliacea* e *S. sessiliflorum* são fonte de biocompostos com ação antimicrobiana contra as leveduras testadas, exceto *T. beigeli*. Os extratos hexânicos das três espécies vegetais apresentaram o maior espectro de ação (22,3 a 23,6 nm), sendo *T. beemeri* a levedura mais sensível. Em seguida, foi obtida a Concentração Mínima Inibitória (CMI) dos extratos hexânicos, os resultados da CMI mostraram atividade fraca para *P. jasminifolia* e moderada para *M. alliacea* e *S. sessiliflorum*. A análise bioautográfica dos extratos hexânicos mostrou ação inibitória de biocompostos com Rf (Fator de retenção) entre 0,6 a 0,93, além da presença de classes fitoquímicas como alcaloides, terpenos e flavonoides reveladas com soluções de Dragendorff, NP-PEG e anisaldeído sulfúrico, respectivamente. Os resultados das análises indicam que estes extratos orgânicos apresentam potencial fonte de biocompostos com atividade anti-levedura, todavia análises complementares devem ser realizadas para viabilizar a aplicação industrial desses biocompostos.

Palavras-chave: Antifúngicos, *Candida*, compostos bioativos, *Trichosporon*

ABSTRACT

Several species of medicinal plants are a source of compounds with therapeutic potential for treating diseases of microbial origin, including filamentous and unicellular fungi (yeasts). This study aimed to evaluate the antimicrobial action of organic extracts from three plant species *Pleonotoma jasminifolia*, *Mansoa alliacea* and *Solanum sessiliflorum* against opportunistic pathogenic yeasts *Candida albicans* DPUA 1340, *Candida tropicalis* DPUA 023, *Trichosporon beemeri* DPUA 213, and *Trichosporon beigelii* DPUA 208, as well as to select a source of biocompounds with antimicrobial action for future industrial application. For the extraction of biocompounds, the leaves of the plant species were subjected to extraction by maceration assisted by ultrasonic bath with organic solvents of increasing polarity [hexane, ethyl acetate, and methanol], followed by filtration and concentration in a rotary evaporator under reduced pressure. The test yeasts were reactivated on Sabouraud Agar supplemented with 5% (w/v) yeast extract and maintained at 37°C for 72 hours. Authentication was performed using conventional methods such as colony morphology, chlamydospore production, and pseudohyphae. The evaluation of antimicrobial activity was performed by the agar diffusion method, determination of the minimum inhibitory concentration (MIC), and by bioautography. The results showed that the organic extracts of *P. jasminifolia*, *M. alliacea*, and *S. sessiliflorum* present a source of biocompounds with antimicrobial action against the tested yeasts, except for *T. beigelii*. The hexane extracts of the three plant species showed the broadest spectrum of action (22.3 to 23.6 nm), with *T. beemeri* being the most sensitive yeast. Next, the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of the hexane extracts was obtained; the MIC results showed weak activity for *P. jasminifolia* and moderate activity for *M. alliacea* and *S. sessiliflorum*. Bioautographic analysis of the hexane extracts showed inhibitory action of biocompounds with R_f (Retention factor) between 0.6 to 0.93, in addition to the presence of phytochemical classes such as alkaloids, terpenes, and flavonoids revealed with Dragendorff, NP-PEG, and sulfuric anisaldehyde solutions, respectively. The results of the analyses indicate that these organic extracts present a potential source of biocompounds with anti-yeast activity; however, further analyses must be performed to enable the industrial application of these biocompounds.

Keywords: Antifungals, *Candida*, bioactive compounds, *Trichosporon*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – <i>Pleonotoma jasminifolia</i>	15
Figura 2 – <i>Mansoa alliacea</i>	15
Figura 3 – <i>Solanum sessiliflorum</i>	16
Quadro 1 – Variação de aplicação das técnicas de difusão em ágar.....	17
Quadro 2 – Variação do método bioautográfico.....	20
Equação 1 – Rendimento do extrato.....	22
Equação 2 – Fator de Retenção (Rf).....	25

ARTIGO

Tabela 1 – Média do diâmetro do halo de inibição (mm) dos extratos das folhas de <i>M. alliacea</i> , <i>P. jasminifolia</i> e <i>S. sessiliflorum</i> contra leveduras teste.....	45
Tabela 2 – Concentração mínima inibitória (CMI) dos extratos hexânicos de <i>M. alliacea</i> , <i>P. jasminifolia</i> e <i>S. sessiliflorum</i> contra <i>T. beemeri</i>	46
Tabela 3 – Bioautografia dos extratos hexânicos de <i>M. alliacea</i> , <i>P. jasminifolia</i> e <i>S. sessiliflorum</i> contra <i>T. beemeri</i>	47
Figura 1 – Extrato hexânico de (A) <i>P. jasminifolia</i> ; (B) <i>S. sessiliflorum</i> e (C) <i>M. alliacea</i> . (I) UV 264 nm; (II) anisaldeído sulfúrico; (III) Dragendorff; (IV) NP-PEG/UV 365 nm; (V) bioautografia.....	47

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
3 OBJETIVOS	21
3.1. Objetivo Geral	21
3.2. Objetivo Específico	21
4 MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1. Material botânico	22
4.1.1. Coleta e processamento do material vegetal.....	22
4.1.2. Extração dos compostos orgânicos.....	22
4.2. Microrganismos	22
4.2.1. Autenticação e obtenção de colônia pura	22
4.3. Determinação da atividade antimicrobiana em meio sólido.....	23
4.3.1. Padronização da concentração de suspensão celular em espectrofotômetro	23
4.3.2. Método de difusão em ágar	23
4.4. Determinação da concentração mínima inibitória (CMI).....	23
4.5. Bioautografia	24
5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
ARTIGO	38

INTRODUÇÃO

Diversos vegetais sintetizam metabólitos com ação característica que expressam atividades biológicas variadas, incluindo a antimicrobiana contra bactérias, fungos filamentosos, leveduras e vírus (Machado; Bruno, 2022). Os compostos com ação antimicrobiana interagem com as moléculas-alvo interferindo nas funções das células microbianas causando alterações nas características da membrana citoplasmática e no metabolismo energético, assim como, inibindo a síntese do ácido nucleico (Barros *et al.*, 2020).

Dados da literatura demonstram que vegetais predominaram no tratamento de doenças por diferentes etnias, fator que contribui para realização de pesquisas e descobertas de novos fármacos (Fernandes; Santos; Souza, 2020). Entre essas espécies vegetais, estão a *Pleonotoma jasminifolia* (Kunth) Miers, *Mansoa alliacea* e *Solanum sessiliflorum* que são plantas de ocorrência nativa da Amazônia e comumente utilizadas na medicina popular.

P. jasminifolia, popularmente conhecida como cipó-cacheado, cipó-tuíra ou cipó-quira, é uma trepadeira da família Bignoniaceae, ocorre em terra firme, com domínio geográfico na Amazônia. Dados disponíveis na literatura mostram que *P. jasminifolia* tem ação medicinal para tratamento de tosse (raízes) e o sumo da folha tem aplicação para tratar queimadura. As folhas também têm utilização no paisagismo em função da riqueza da folhagem (Gomes, 2006; Nogueira *et al.*, 2009; Gomes; Proença, 2010).

Outra espécie da família Bignoniaceae, a *Mansoa alliacea*, também ocorre em terra firme, é um arbusto semitrapador comumente conhecido como cipó-alho, alho-da-mata ou alho falso. Suas folhas são utilizadas como medicamento natural para o tratamento de tosse, enjoo, constipação, reumatismo, epilepsia, febre e dores de cabeça. São usadas também como fixador de perfumes, em preparações gastronômicas, repelente de insetos e anticoncepcionais (Ferreira e Gonçalves, 2007; Tavares-Dias; Dias, 2020; Salazar *et al.*, 2017; Markam *et al.*, 2018; Sreelakshmi; Muthuswamy, 2021).

A espécie *Solanum sessiliflorum*, popularmente conhecida como cubiu, pertence à família Solanaceae. Trata-se de uma hortaliça cujo fruto tem propriedades nutricionais, é tradicionalmente utilizada como produto alimentício não convencional (PANC), mas também tem importância medicinal com indicação para controle do colesterol, triglicérides, ácido úrico e glicose (Souza Filho *et al.*, 2009; Gonçalves *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2018; Cruz *et al.*, 2023).

Com base na importância medicinal de espécies vegetais, neste estudo foi avaliada a atividade biológica dos extratos orgânicos de *P. jasminifolia*, *M. alliacea*, e *S. sessiliflorum*,

visando à descoberta de compostos para uso no tratamento de patologias causadas por espécies de leveduras patogênicas do gênero *Candida* e *Trichosporon*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Leveduras patogênicas

2.1.1. Gênero *Candida*

As espécies do gênero *Candida* pertencem ao Filo Ascomycota, Classe Saccharomycetes, Ordem Saccharomycetales, Família Saccharomycetaceae. Apresentam como características células leveduriformes, aerobiose, dimorfismo, reprodução assexuada (por brotamento) e formação de colônias de coloração branca (Melo *et al.*, 2022).

O gênero compreende aproximadamente 200 espécies, sendo este o grupo de leveduras patogênicas mais recorrente na prática médica (Silva *et al.*, 2012; Okamura, 2019). São leveduras que têm grande importância devido a sua capacidade de colonizar seres humanos, e também outros animais, e ao seu potencial de patogenicidade.

No corpo humano, vivem de forma comensal, sem causar infecções, geralmente colonizam regiões como a pele e as mucosas bucal, digestiva, vaginal e urinária (Glehn; Rodrigues, 2012). No entanto, fatores predisponentes reconhecidos como diabetes, gravidez, avitaminose, neoplasias, imunodeficiência, uso prolongado de antibacterianos, corticosteróides e medicamentos citostáticos podem acarretar em um desequilíbrio entre o hospedeiro e organismo comensal (Zimmermann *et al.*, 2009). Nestas condições, a levedura torna-se patogênica, podendo causar infecções que são denominadas de candidíase ou candidoses e candidemia.

Clinicamente as infecções por *Candida* podem ser amplamente classificadas em dois subtipos: mucosas e sistêmicas (Lopes; Lionakis, 2022). A candidíase mucocutânea manifesta-se em superfícies como vagina (candidíase vaginal), oral (candidíase orofaríngea), esofágica (candidíase esofágica) e, a menos frequente, as unhas (onicomicose), podem ocorrer em pessoas com sistema imune intacto, entretanto, a infecção torna-se de risco para pessoas imunossuprimidas. Quando a infecção é sistêmica acomete sítios como a corrente sanguínea e o sistema nervoso central (SNC), denomina-se candidemia. Tende a afetar paciente submetidos a drogas imunossupressoras e a procedimentos invasivos (Varano *et al.*, 2019; Lopes; Lionakis, 2022).

A patogenicidade das espécies de *Candida* está associada a fatores de virulência e às variações fenotípicas, tais características permitem a transição de organismo comensal a patógeno. Portanto, considerado como fungo oportunista (Okamura, 2019).

O aspecto oportunista ocorre devido à polimorfia, que permite alternância morfológica entre a forma ovóide (leveduriforme, por brotamento) ou como células elipsóides alongadas com constrições nos septos (pseudo-hifas) ou hifas verdadeiras com paredes alélicas (filamentosa). Esse fenômeno, denominado *switching*, ocorre quando as células leveduriformes “branca” se transformam em filamentos “opacas” (Mayer; Wilson; Hube, 2013; Melo *et al.*, 2022).

Entre os principais fatores de virulência do gênero *Candida* estão a sua capacidade de transição morfológica entre as formas de levedura e hifa, a secreção de enzimas hidrolíticas, expressão de adesinas e invasinas na superfície celular, tigmotropismo, formação de biofilmes, bomba de efluxo e alteração fenotípica (Mayer; Wilson; Hube, 2013; Rocha *et al.*, 2021).

A espécie *C. albicans* destaca-se entre as demais por colonizar vários nichos do hospedeiro, inclusive, com diferenças de disponibilidade de nutrientes, pH ou CO₂, por exemplo. Essa adaptabilidade em prosperar em diferentes condições torna a *C. albicans* um patógeno bem sucedido. É, portanto, a espécie mais recorrente em casos clínicos (Dantas *et al.*, 2016; Varano *et al.*, 2019).

No entanto, nos últimos anos houve um aumento significativo de espécies não-*albicans* isoladas de infecções como *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. parapsilosis* (Melo *et al.*, 2022). Esse aumento deve-se ao fato da crescente expressão de fatores de virulência e, principalmente, da resistência a antifúngicos (Moraes, 2011). Segundo Moreira *et al.* (2017) a resistência aos tratamentos medicamentosos pode estar relacionada ao uso indiscriminado de antifúngicos e antibióticos, causando resistência das cepas aos fármacos.

Atualmente, os antifúngicos mais utilizados para infecções fúngicas estão classificados como azóis, alilaminas, polienos, equinocandinas e 5-fluoriocitosina. Os antifúngicos azóis e alilaminas agem na inibição de enzimas importantes na biossíntese de ergosterol. Os polienos interagem com ergosterol – componente majoritário da membrana celular –, e formam poros transmembranar que causam extravasamento de íons intracelulares, resultando em um desequilíbrio eletroquímico. As equinocandinas inibem a síntese da parede celular e a 5-fluoriocitosina inibe a biossíntese de DNA e RNA (Rocha *et al.*, 2021; Partha *et al.*, 2022; Khaled *et al.*, 2023).

A susceptibilidade de antifúngicos varia entre as espécies de *Candida*, sendo necessário a identificação da espécie e a aplicação de testes de resistência para avaliar quais antifúngicos apresentam eficácia contra determinada espécie (Arruda, 2023). Para um tratamento promissor, o fármaco deve possuir um espectro de ação amplo, possuir doses

eficazes sem causar muitas reações adversas, custo-benefício, baixa resistência microbiana e ter formulações oral e parental (Moreira *et al.*, 2017).

Portanto, devido ao potencial patogênico e à resistência aos tratamentos antifúngicos que as espécies de *Candida* apresentam é importante prosseguir com estudos para avaliar o grau de sensibilidade aos fármacos disponíveis, bem como buscar novas terapias alternativas.

2.1.2. Gênero *Trichosporon*

As leveduras do gênero *Trichosporon* pertencem ao Filo Basidiomycota, Subfilo Agarimycotina, Classe Tremellomycetes, Ordem Tremellales, Família Trichosporonaceae. São amplamente encontrados na natureza e, geralmente, predominam em regiões com clima tropical e temperado (Cawley *et al.*, 2000; Colombo *et al.*, 2011). Habitam em diferentes nichos ecológicos podendo ser encontrados no solo, ar, lagos, madeira em decomposição, excrementos de pássaros e na microbiota de humanos e animais (Colombo *et al.*, 2011).

Em humanos, as espécies de *Trichosporon* são casualmente encontradas na microbiota do trato gastrointestinal e cavidade oral, podendo, transitoriamente, colonizar o trato respiratório, pele e vagina (Castano; Yarrarapu; Mada, 2018; Cordeiro *et al.*, 2021). De acordo com Bentubo, Gambale e Fischman (2013) espécies deste gênero ocupam essencialmente nichos ecológicos não-vertebrados, mas possuem a capacidade de sobreviver em tecidos de organismos vertebrados e causar micoses oportunistas superficiais e profundas.

Morfologicamente, o gênero *Trichosporon* tem como característica a formação de artroconídios, blastoconídios, hifas e pseudo-hifas. Apresentam colônias de coloração branca ou creme, de aspecto seco (Bentubo; Gambale; Fischman, 2013; Milan *et al.*, 2018).

O gênero *Trichosporon* é o agente etiológico da micose superficial denominada *pedra branca*. Essa infecção se caracteriza pela presença de nódulos branco-amarelados nos pelos genitais, barba, bigode, axila e couro cabeludo (Cavalcanti *et al.*, 2021). Segundo Lara (2021) as principais espécies associadas a essa infecção são *T. cutaneum*, *T. ovoides*, *T. inkin* e *T. loubieri*. A transmissão dessa micose ainda não é bem esclarecida, no entanto, entre os fatores predisponentes estão calor, umidade, imunossupressão, uso de antibióticos e procedimentos invasivos (Ferreira *et al.*, 2019).

As infecções sistêmicas causadas por *Trichosporon* são denominadas de tricosporonose, e podem ocorrer de três formas: infecção disseminada (a mais recorrente), infecção localizada (órgão ou sistema específico) e infecções que não afetam os tecidos, mas estão associadas ao uso de cateteres (Castano; Yarrarapu; Mada, 2018). O prognóstico de tricosporonose é preocupante, visto que as taxas de mortalidade são altas, e acomete,

principalmente, pacientes neutropênicos com câncer, pacientes submetidos a transplante de órgãos e pacientes gravemente enfermos expostos a antibióticos, corticosteróides ou procedimentos invasivos (Francisco *et al.*, 2019).

Apesar de representarem o segundo ou terceiro gênero de levedura não-*Candida* mais comum em infecções fúngicas invasivas, seus fatores de virulência ainda são pouco relatados (Almeida Júnior; Hennequin, 2016). Entretanto, segundo Santana *et al.* (2013) e Leite e Santos (2021) microrganismos patogênicos expressam uma série de estratégias específicas para se estabelecer, colonizar, causar doença e superar as defesas do hospedeiro. A ampla variedade de fatores de virulência inclui secreção de enzimas extracelulares, polimorfismo, alteração fenotípica, toxinas e aderência.

A habilidade de adesão em superfícies celulares favorece a formação de biofilmes, e ocorrem por fatores como a formação de tubo germinativo, disponibilidade de carboidratos, pH, temperatura, produção de fosfolipases, de proteases e outras enzimas extracelulares (Santana *et al.*, 2013).

De acordo com Biasoli *et al.* (2008) a tricosporonose está associada a alta taxa de mortalidade, principalmente, em pacientes imunocomprometidos. Em infecções sistêmicas, *T. asahii* é a espécie predominante e está associada a um mau prognóstico (Almeida Júnior; Hennequin, 2016).

A falha clínica ao tratamento é comum e está relacionada com a resistência relativa do agente a diversos antifúngicos (Arikan; Hasçelik, 2002). O tratamento para essas infecções é complexo, uma vez que *Trichosporon* spp. apresentam resistência às equinocandinas e baixa susceptibilidade aos polienos (Almeida Júnior; Hennequin, 2016). Sendo assim, os fármacos azólicos têm apresentado melhor atividade antifúngica *in vitro* e *in vivo* para infecções por *Trichosporon* spp., com destaque para o voriconazol (Almeida Júnior; Hennequin, 2016; Lara *et al.*, 2021).

Ainda assim, na prática clínica o tratamento para tricosporonoses permanece um desafio, uma vez que as opções de fármacos são limitadas e a identificação de espécies do gênero é complexa, interferindo diretamente no tratamento.

2.2. Potencial terapêutico de espécies vegetais da Amazônia

A utilização de produtos naturais, especialmente os de origem vegetal, é uma prática que auxilia a humanidade na manutenção da saúde e na cura de doenças desde o início da medicina. Diversos compostos ativos têm sido descobertos e se tornaram fundamentais para elaboração de novos produtos farmacêuticos (Silva *et al.*, 2020).

O uso de plantas medicinais como alternativa de tratamento para doenças tem sido cada vez mais aceito devido à baixa toxicidade em relação aos produtos que contêm princípios ativos sintéticos e por apresentarem um grande potencial terapêutico (Santos, 2017). Produtos que contêm substâncias de origem vegetal agregam valor redundante, no entanto, é necessário um conhecimento prévio da planta e de suas características fitoquímicas, além da comprovação e eficácia da planta em estudo (Santos, 2020).

A fitoterapia ganhou muito espaço na medicina devido ao uso irracional de medicamentos, principalmente antibióticos, resultando em resistência antimicrobiana (Fernandes; Santos; Souza, 2020). A resistência de patógenos oportunistas a uma gama de agentes antimicrobianos é um fator preocupante para a saúde pública mundial, principalmente, pela falta de inovação da indústria farmacêutica e escassez de novos fármacos eficazes contra microrganismos patogênicos (Lentz, 2022).

No Brasil, especificamente a região amazônica, há uma das maiores biodiversidades de plantas medicinais do mundo. Tem-se estudado cada vez mais as propriedades que as compõem para fins terapêuticos, visto que muitas espécies apresentam biocompostos que são utilizados como matéria-prima na fabricação de medicamentos fitoterápicos e na formulação de fitocosméticos (Santos, 2020).

Segundo Miyawaki, Miyawaki e Schwambach (2021) muitas plantas dos biomas brasileiros têm sido utilizadas na medicina popular para o tratamento de várias doenças tropicais como esquistossomose, leishmaniose, malária e infecções fúngicas e bacterianas. Na Amazônia, há uma vasta biodiversidade de plantas detentoras de propriedades medicinais (Lameira, 2022). Espécies como *Carapa guinensis* (Andiroba), *Copaifera sp.* (Copaíba), *Hymenaea courbaril* L (Jatobá) e *Uncaria tomentosa* (Unha-de-gato) são alguns exemplos de plantas com propriedades medicinais que incluem ação cicatrizante, antioxidante, anti-inflamatória, antiparasitária, antimicrobiana, antifúngica, entre outros (Lima *et al.*, 2007; Castro; Fontes; Silva, 2021; Lima *et al.*, 2021; Ribeiro *et al.*, 2021).

2.2.1. Espécies de estudo

Pleonotoma jasminifolia

A espécie *Pleonotoma jasminifolia*, popularmente conhecida como cipó-cacheado, cipó-quira ou cipó-tuíra (Gomes, 2006; Nogueira *et al.*, 2009; Lima *et al.*, 2017), e pertence à família Bignoniaceae. São encontradas em áreas latossolo vermelho-amarelo e gleissolo (Nogueira *et al.*, 2009). Apesar da escassa informação sobre a espécie, Nogueira *et al.* (2009) cita o seu uso medicinal e paisagístico. Gomes (2006) também relata o uso medicinal, sendo

as raízes usadas para tratar tosse, além disso, cita que os índios Makú utilizam o sumo extraído do espremido das folhas em queimaduras. De acordo com estudo feito por Lima e colaboradores (2017) as folhas da espécie *P. jasminifolia* (figura 1) são utilizadas popularmente para tratamento de anemia, sendo administrado em forma de xarope.

Figura 1 – *Pleonotoma jasminifolia*



Fonte: O autor (2022).

Mansoa alliacea

A espécie *Mansoa alliacea*, popularmente conhecida como cipó-alho, alho-da-mata ou alho falso, pertence à família Bignoniaceae. É uma planta medicinal originária da Amazônia (Tavares-Dias; Dias, 2020). É denominada de alho falso devido ao seu odor característico semelhante ao alho bulboso (*Allium sativum*) que é produzido quando suas folhas (figura 2) são esmagadas (Zoghbi; Oliveira; Guilhon, 2009).

Figura 2 – *Mansoa alliacea*



Fonte: O autor (2022).

Segundo Ferreira e Gonçalves (2007) a espécie caracteriza-se como um arbusto semi-trepador de 3 metros ou mais que ocorre em terra firme, longe de corpos d'água, em áreas sombreadas tanto de capoeiras como bosques primários, em zonas tropicais. Para uso medicinal, as partes da planta utilizadas são casca, folha, caule e raiz (Ferreira e Gonçalves, 2007). A *M. alliacea* apresenta potencial para atividades biológicas como antiviral, anti-inflamatória, antifúngica, antimicrobiana e antilarvacida (Melo *et al.*, 2021).

Solanum sessiliflorum

A espécie *Solanum sessiliflorum* pertence à família Solanaceae, nativa da região Amazônica, e popularmente conhecida como cubiu (Cruz *et al.*, 2023). É uma hortaliça tipo fruto não convencional, possui sabor característico e agradável, podendo ser consumida em forma de suco, doces, geléias, compotas, temperos para carnes, além ser utilizado na fabricação de cosméticos e medicamentos (Yuyama *et al.*, 2008; Cruz *et al.*, 2023). Possui hábito de crescimento herbáceo (figura 3), predominantemente autogâmico e de ciclo anual (Cruz *et al.*, 2023).

Figura 3 – *Solanum sessiliflorum*



Fonte: Royal Botanic Gardens Kew (2023).

Como medicamento, é utilizado para tratamento de anemia, da pelagra e, principalmente, no controle dos níveis elevados de colesterol, ácido úrico e glicose no sangue (Pires *et al.*, 2006). Devido as suas propriedades agrônômicas de rusticidade e boa capacidade de produção, o cubiu é um produto com grande potencial mercadológico (Pires *et al.*, 2006; Laborda *et al.*, 2019).

2.3. Métodos de análise de atividade antimicrobiana

Vários estudos direcionados à descoberta de novos agentes antimicrobianos vêm sendo desenvolvidos, uma vez que a resistência de microrganismos oportunistas à fármacos

está cada vez mais frequente (Lopes; Cattelan, 2022). A avaliação de atividade antimicrobiana se apresenta como estudo indispensável na busca por novos compostos para controle de patógenos.

Apesar de não haver uma padronização de métodos para avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* de compostos naturais, por conta de variações que incluem aplicação da técnica, microrganismos utilizados, concentração do inóculo, meio de cultura e características dos extratos (Amparo *et al.*, 2018), são comumente utilizados métodos conhecidos como o método de difusão em ágar, método de diluição e bioautografia (Scorzoni *et al.*, 2007).

Esses métodos de análise são padronizados por normas estabelecidas por órgãos como CLSI [*Clinical and Laboratory Standards Institute*] – o mais utilizado –, BASAC [*British Society for Antimicrobial Chemoterapy*], EUCAST [*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*] e a Br-CAST [*Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*] (Amparo *et al.*, 2018).

Os métodos de difusão em ágar e diluição em caldo (para determinação de concentração mínima inibitória – CMI) são os mais aplicados para avaliar a atividade antimicrobiana de extratos vegetais (Nascimento *et al.*, 2007).

A técnica de difusão em ágar consiste em expor um microrganismo contra uma substância biologicamente ativa em meio de cultura sólido, correlacionando com o tamanho da zona de inibição de crescimento do microrganismo testado com a concentração da substância ensaiada (Pinto; Kaneko; Ohara, 2003). A aplicabilidade desta técnica se limita a microrganismos de rápido crescimento, sejam aeróbios ou aeróbios facultativos.

O método é econômico, de fácil aplicação e requer pouca ou nenhuma instrumentação especializada (Kenny; Furey; Lucey, 2015). Esse método possui aplicação variável, podendo ser realizada por disco, por perfuração do ágar ou por cilindros de aço inoxidável (Quadro 1).

Quadro 1 – Variação de aplicação das técnicas de difusão em ágar.

Técnica	Procedimento
Disco-difusão	Semelhante ao procedimento padrão usando discos impregnados com antibióticos. O método envolve o carregamento de discos circulares com um extrato de planta escolhido, que é então colocado assepticamente na superfície de um meio de ágar inoculado (Kenny; Furey; Lucey, 2015).
Difusão em ágar por poço	A técnica do poço (<i>cup-plate</i>) consiste no mesmo objetivo, porém, são perfurados orifícios circulares (poços), de 6 a 8 mm de diâmetro, no meio de cultura sólido já

(perfuração)	inoculado, o extrato então é adicionado dentro destes orifícios.
Difusão por cilindro de aço	Essa técnica envolve a aplicação de cilindros de aço inoxidável no meio de cultura sólido já inoculado e a adição do extrato a ser testado nos cilindros (Ostrosky <i>et al.</i> 2008).

Estudo feito por Park e colaboradores (1998) comparou as técnicas de difusão por disco e por poço, onde discos de papel foram embebidos por 15 minutos em extrato de própolis verde seguido de secagem em dissecador com sílica. Todavia, nesta técnica, os autores relatam que não podem afirmar a concentração de extrato em cada disco, tornando o método inviável para esse tipo de análise. Em contrapartida, na técnica de difusão em ágar por poço é possível definir a concentração de extrato em cada poço.

O mesmo ocorreu em um ensaio feito por Maia-Araújo *et al.* (2011) onde descrevem que por meio do método de difusão em disco é impossível garantir a quantidade exata que cada disco de papel consegue absorver quando embebido no extrato, possibilitando ainda o extravasamento de amostra em função da saturação da capacidade absorção do disco, obtendo dados menos precisos em comparação com técnica de poços. Os autores sugerem que a técnica de poços pode ser considerada de maior potencial de reprodutibilidade de resultados.

O método de diluição em caldo se baseia na relação entre a proporção de crescimento microbiano no meio líquido e a concentração de substância ensaiada (Ostrosky *et al.*, 2008). O uso deste método fornece resultados quantitativos e não é influenciado pela velocidade de crescimento dos microrganismos. Apresentam como desvantagens a dificuldade na detecção de contaminação no caso de teste de materiais clínicos (Ostrosky *et al.*, 2008; Pereira *et al.*, 2022).

Aplicação do método de diluição seriada pode ser feita em tubos [macrodiluição] ou em placas de 96 poços [microdiluição]. A macrodiluição em caldo é um método mais antigo que a microdiluição em caldo, sendo menos utilizado atualmente por requerer a preparação manual de diluições em série usando quantidades relativamente altas de reagentes e espaço de laboratório (Kenny; Furey, Lucey, 2015). Segundo Amparo *et al.* (2018) o método de microdiluição é mais utilizado, além da sensibilidade, a técnica possui como vantagens reprodutibilidade, pequena quantidade de amostra requerida e possibilidade de teste simultâneo de um grande número de amostras.

A técnica de microdiluição em caldo envolve a diluição serial da amostra em caldo, que é sequencialmente inoculada com o microrganismo teste em placa de microtitulação de 96 poços (King; Dykes; Kristianti, 2008). Alíquotas precisas de amostras diluídas em caldo são distribuídas em cada poço utilizando uma multipipeta automatizada. Os resultados são

quantificados após a incubação usando sistemas de visualização manuais ou automatizados que inspecionam cada painel de microtitulação quanto ao crescimento microbiano (Kenny; Furey, Lucey, 2015), gerando dados que permitem determinar a concentração mínima inibitória (CMI), concentração bactericida mínima (CBM) e concentração fungicida mínima (CFM) em $\mu\text{g}/\mu\text{L}$.

Eloff (1998) utilizou a técnica de microdiluição para verificar a atividade antimicrobiana de extratos vegetais e observou adversidades na aplicação da técnica como a aderência de alguns microrganismos na base do poço, enquanto outros permaneciam em suspensão. Relatou também que a clorofila em altas concentrações evidencia a cor verde dos extratos vegetais, o que dificulta a leitura dos dados com leitor de microplacas. Entretanto, o autor concluiu que o método é econômico, tem reprodutibilidade, é 30 vezes mais sensível que outros métodos relatados em literatura, requer pequena quantidade de amostra, pode ser usado com um grande número de amostras, deixa um registro permanente e requer pouco tempo.

De Bona e colaboradores (2014) realizaram um estudo comparativo dos dois métodos – difusão e diluição – e relatou que entre os métodos de difusão (disco e poço), a técnica do poço demonstrou melhor desempenho, pois o uso do disco imerso no extrato deixa resíduo adjacente ao disco, influenciando na medição dos halos e na concentração do próprio disco. Todavia, os autores consideraram que o método de microdiluição em caldo foi a melhor opção para determinar a atividade antimicrobiana, por fornecer dados quantitativos, além de ser mais confiável e econômico para determinar a atividade antimicrobiana dos extratos vegetais.

A bioautografia é outro método bastante utilizado em análise de atividade antimicrobiana devido a sua eficiência e sensibilidade para identificação das frações/moléculas responsáveis pela ação antimicrobiana, facilitando o isolamento direcionado ao alvo dos constituintes ativos (Suleiman *et al.*, 2010; Müller, 2006). Em análises fitoquímicas, a detecção bioautográfica é um método de triagem funcional normalmente combinado com técnicas de cromatográfica.

Os procedimentos dos métodos bioautográficos se assemelham aos métodos de difusão em ágar. A diferença é que os compostos testados se difundem para o meio ágar inoculado a partir da camada cromatográfica, que é adsorvente ou papel (Choma; Grzelak, 2011).

As principais aplicações da bioautografia são a triagem rápida de um grande número de amostras para bioatividade, ou seja, antibacteriana, antifúngica, antioxidante, inibição

enzimática, etc. e no isolamento direcionado ao alvo de compostos ativos (Dewanjee *et al.*, 2015). O método bioautográfico está agrupado em três categorias: de contato, por imersão e direto (Pereira *et al.*, 2022).

Quadro 2 – Variação do método bioautográfico.

Técnica	Procedimento
Bioautografia de contato	O ensaio constitui-se na difusão em ágar de compostos previamente separados em cromatografia em camada delgada (CCD). A placa de CCD é colocada na superfície das placas contendo ágar com inoculo do microrganismo teste. Posteriormente, as cromatoplasas são removidas e as placas incubadas. As zonas de inibição são observadas na superfície do ágar em locais onde as manchas dos compostos bioativos ficam aderidas ao ágar (Das; Tiwari; Shrivastava, 2010; Zellner <i>et al.</i> , 2009).
Bioautografia direta	Consiste na aplicação do composto bioativo e do inoculo do microrganismo teste direto na placa cromatográfica. O bioautograma é incubado em condições úmidas. A visualização de crescimento microbiano é realizada por meio de mudança de cor com corante revelador a base de sais de tetrazólio (ex.: TTC). A formação de zonas brancas claras contra um fundo roxo indica atividade antimicrobiana do extrato (Valgas <i>et al.</i> , 2007; Das <i>et al.</i> ; 2010; Pereira <i>et al.</i> , 2022).
Bioautografia de imersão	Após a eluição dos compostos bioativos, a placa cromatográfica é imersa por um meio sólido fundido inoculado. Durante a incubação da cromatoplasas, os compostos ativos deverão ultrapassar o meio por difusão formando halos de inibição de crescimento microbiano (Amparo <i>et al.</i> , 2018; Santos, 2019). Esta técnica é combinação do método direto com o método por contato.

No entanto, podem apresentar algumas desvantagens, como a interrupção dos mecanismos sinérgicos entre constituintes ativos no extrato da planta; as frações voláteis podem ser perdidas por evaporação do cromatograma; os solventes fortemente ácidos ou fortemente alcalinos podem permanecer nas placas de CCD, inibindo potencialmente o crescimento microbiano (Kenny; Furey; Lucey, 2015).

Além de critérios que incluem composição da fase móvel, adsorvente da fase estacionária, espécies de teste, pré-condicionamento da placa de CCD e métodos de visualização, todos são parâmetros variáveis que podem potencialmente afetar os resultados desses bioensaios (Hamburguer; Cordell, 1987; Schmourlo *et al.*, 2005; Suleiman *et al.*, 2010; Choma; Grzelak, 2011; Kenny, Furey, Lucey, 2015).

Ainda assim, a bioautografia oferece um método simples, rápido e barato para triagem química e biológica de extratos vegetais complexos (Dewanjee *et al.*, 2015). Embora seja necessária alguma experiência para obter boas análises bioautográficas, o método tem eficiência no isolamento de compostos com atividade antimicrobiana (Suleiman *et al.*, 2010).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar a atividade antimicrobiana de extratos orgânicos de origem vegetal frente a espécies patogênicas de *Candida* e *Trichosporon* para selecionar fonte de biocompostos com maior espectro de ação antimicrobiana para futura aplicação industrial.

3.2. Objetivos Específicos

- Proceder à extração de biocompostos de espécies vegetais de procedência amazônica para selecionar biocompostos com atividade anti-leveduras patogênicas;
- Examinar a viabilidade de espécies de leveduras, incluindo espécies do gênero *Candida* e *Trichosporon* para utilização nos testes antimicrobianos;
- Determinar a atividade antimicrobiana dos extratos que apresentar maior espectro de ação frente aos microrganismos teste.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material Botânico

4.1.1. Coleta e Processamento do Material Vegetal

Neste trabalho foram utilizadas folhas das seguintes espécies vegetais: *Pleonotoma jasminifolia*, *Mansoa alliacea* e *Solanum sessiliflorum*. A coleta do material vegetal foi realizada no período de março a maio de 2022, em um terreno particular, localizado no município de Iranduba-AM, Brasil, cujas coordenadas geográficas são (S) -3,2677275 e (W) -60,1910495.

4.1.2. Extração dos compostos orgânicos

As folhas foram desidratadas em estufa, pesadas e, submetidas à extração por maceração assistida por ultrassom com solventes orgânicos em polaridade crescente: Hexano (Hx), Acetato de Etila (AcOEt) e Metanol (MeOH), seguido de filtração e concentração em rotavapor à pressão reduzida (Assumpção, Silva e Mendes, 2022). Os extratos orgânicos foram filtrados em membrana polietersulfônica (0,22 µm), concentrados e redissolvidos em cada um dos solventes extrativos para aplicação em placas cromatográficas e em Dimetilsulfóxido (DMSO) para aplicação nos testes em meio sólido (Silva, 2008).

Após secagem em capela de exaustão, cada extrato teve seu rendimento calculado conforme equação 1, sendo massa inicial das folhas secas (g) pela massa de extrato seco (g) multiplicado por cem (Frazen *et al.*, 2018).

$$\text{(Equação 1)} \quad \text{Rendimento \%} = \frac{\text{Massa extrato seco (g)}}{\text{Massa folhas secas}} * 100$$

4.2. Microrganismos

As espécies de *Candida albicans* DPUA 1340, *Candida tropicalis* DPUA 023, *Trichosporon beigellii* DPUA 208 e *Trichosporon beemeri* DPUA 213 foram cedidas pela Coleção de Culturas, do Departamento de Parasitologia, da Universidade Federal do Amazonas.

4.2.1. Autenticação e obtenção de cultura pura

Para reativação, de cada preservado foi transferido um fragmento para Ágar Sabouraud suplementado com extrato de levedura a 0,5% (p/v), em tubos de ensaio. Estas culturas foram mantidas a 37°C, por 72 horas, em estufa microbiológica. A autenticação foi

realizada pelos métodos convencionais como morfologia de colônia, produção de clamidoconídios e pseudofilamentos segundo metodologia descrita por Teixeira, Queiroz e Carvalho (1992).

4.3. Determinação de atividade antimicrobiana em meio sólido

4.3.1. Padronização e concentração de suspensão celular em espectrofotômetro

Nesse experimento, os extratos vegetais foram avaliados frente aos seguintes microrganismos testes: *Candida albicans* DPUA 1340, *Candida tropicalis* DPUA 023, *Trichosporon beigeli* DPUA 208 e *Trichosporon beemerii* DPUA 213. As leveduras foram cultivadas em ágar Sabouraud suplementado com extrato de levedura a 0,5% (p/v) e mantidas a 37° C por 48 horas. Para obtenção de suspensão celular foi retirada, de cada cultura de levedura, uma alíquota e inoculada em tubo de ensaio contendo 10 mL de água destilada esterilizada, seguido de homogeneização em agitador de tubos (vórtex). A padronização da suspensão de células foi realizada em espectrofotômetro a 530 nm na faixa de 0,08 a 0,13 de absorbância, correspondente à concentração 0,5 da escala de MacFarland equivalente 10^6 UFC/ml (Santos 2018; Lima, 2021).

4.3.2. Método de difusão em ágar por poço

Para a determinação da atividade antimicrobiana foi empregada a técnica de difusão em ágar por poço (Pereira *et al.*, 2021). Em cada placa contendo ágar Sabouraud suplementado com extrato de levedura a 0,5% (p/v) foi inoculado 100 µL da suspensão celular. Em seguida, foi feito o espalhamento em toda a superfície do meio, utilizando *swab* esterilizado, até formação de camada uniforme. Após esse procedimento, em cada placa de Petri, foram perfurados poços de sete milímetros de diâmetro. Em cada poço foi inoculado 100 µL do controle positivo (Itraconazol 1,0 mg/mL) e, separadamente, de cada amostra de extrato orgânico de *M. alliacea*, *P. jasminifolia* e *S. sessiliflorum*. Como controle negativo foi utilizado o diluente usado para a preparação das soluções de extratos vegetais, Dimetilsulfóxido (DMSO). As placas foram mantidas a 37 °C em estufa microbiológica. Após 18 horas incubação foi determinada a atividade antimicrobiana dos compostos testados. Os resultados foram expressos em milímetros, medindo-se o diâmetro do halo de inibição (Teixeira *et al.*, 2011).

4.4. Determinação da concentração mínima inibitória (CMI)

A Determinação da Concentração Mínima Inibitória foi realizada de acordo com a metodologia de microdiluição em caldo, descrita no documento M27-A2 do CLSI (*Clinical*

and Laboratory Standards Institute, 2002) e de acordo com Prado *et al.* (2017). O teste foi realizado em microplaca de 96 poços, em cada poço foi adicionado 100 μL de caldo Sabouraud. Na placa multipoço, na coluna 1 [controle negativo (Caldo Sabouraud + extrato orgânico)] e 2 foi adicionado 100 μL do extrato de maior concentração diluído em solução aquosa de (dimetilsulfóxido) DMSO 10% (v/v), filtrado em membrana polietersulfônica (0,22 μm). Com uma micropipeta foram preparadas as diluições seriadas, transferindo 100 μL da mistura composta por meio + extrato da coluna 2 para a coluna 3, e assim sucessivamente até a coluna 11 e desta, descartar 100 μL . Em todos os poços, exceto a coluna 1, foi inoculado 50 μL da suspensão celular de cada microrganismo teste (densidade semelhante a escala de MacFarland 0,5). Na coluna 12 (controle positivo) foi inoculado ao meio a solução de Itraconazol (100 μL). Posteriormente, as placas multipoço foram incubadas a 37°C, em estufa microbiológica, por 48 horas. Após esse período, foi adicionado 50 μL da solução do revelador Resazurina a 0,01% em todos os poços e as placas multipoços foram novamente incubadas por 2 horas (Rozatto, 2012). Os resultados foram determinados por visualização da alteração de cor proporcionada pela solução reveladora:

- (1) Vermelho/rosa: Resistência (crescimento do microrganismo)
- (2) Azul: Sensibilidade (o microrganismo não cresceu).

A concentração mínima inibitória (CMI) será considerada a menor concentração da amostra que impede visivelmente o crescimento microbiano em $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (Regasini *et al.*, 2010).

4.5. Bioautografia

Os testes de bioautografia foram realizados em cromatoplasmas de camada delgada (CCD), em sílica gel 60, com indicador de fluorescência F254, suporte em alumínio, espessura de 0,2 mm, medindo 2 x 8 cm (MERCK, Alemanha). As placas foram previamente tratadas com metanol P.A, em cuba cromatográfica e, após 12 horas foi realizada a evaporação dos solventes a 25°C. Em uma das extremidades da CCD foi traçado uma linha a 1 cm, com auxílio do lápis, para determinação do ponto de partida dos extratos. Na extremidade oposta foi traçado outra linha para determinação do limite máximo da eluição da fase móvel.

Os extratos orgânicos foram diluídos em cada solvente de extração [hexano, acetato de etila e metanol na concentração de 10 mg/mL (m/v)]. Em cada CCD, os extratos orgânicos foram aplicados na placa com auxílio de capilar de vidro, seguido de eluição com a fase móvel hexano/acetato de etila [1:1 (v/v)] e diclorometano/metanol [95:05 v/v], em cuba

cromatográfica. Um papel filtro foi colocado na cuba cromatográfica para manter a saturação. Após a eluição as placas de CCD foram submetidas a secagem em capela de exaustão.

A revelação das placas foi realizada com lâmpada de radiação ultravioleta ($\lambda = 264$ e 365 nm), com luz branca, e soluções de Dragendorff, NP-PEG e anisaldeído sulfúrico para identificar presença de alcalóides, flavonóides e terpenos, respectivamente. Os fatores de retenção (R_f) foram determinados por visualização das bandas no cromatograma, conforme equação 2.

$$(Equação 2) \quad R_f = \frac{\text{Distância de migração das moléculas (cm)}}{\text{Distância das moléculas do solvente (cm)}}$$

Para determinação da atividade antimicrobiana por bioautografia, em condições assépticas, 20 mL de ágar Sabouraud a 40°C , suplementados com 500 μL de suspensão celular de cada microrganismo teste e 500 μL de Cloreto de Trifeniltetrazólio - TCC 1,0% (p/v) será vertido no cromatograma, em placa de Petri. Após solidificação do meio, as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. A atividade antimicrobiana foi avaliada visualizando-se a área de inibição em torno de cada banda no cromatograma (Silva, 2008; Martins *et al.*, 2012).

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos da atividade antimicrobiana em meio sólido foram submetidos à análise estatística descritiva e ANOVA, com nível de significância a 5%. Foi aplicado o Teste de Tukey para analisar as diferenças entre as médias de diâmetro de halo de inibição. Utilizando-se o programa Minitab17.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA JÚNIOR, J. N.; HENNEQUIN, C. Invasive *Trichosporon Infection*: a Systematic Review on a Re-emerging Fungal Pathogen. **Front Microbiol**, v. 7, 2016.

AMPARO, T. R.; BRAGA, V. C. C.; SEIBERT, J. B.; SOUZA, G. H. B.; TEIXEIRA, F. M. Métodos para avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de plantas medicinais: a necessidade da padronização. **Infarma Ciênc Farm**, v. 30, n. 1, p. 50-59, 2018. Disponível em:

<http://revistas.cff.org.br/?journal=infarma&page=article&op=view&path%5B%5D=2177>.

Acesso em: 21 fev. 2023.

ARIKAN S.; HASÇELIK G. Comparison of NCCLS microdilution method and Etest in antifungal susceptibility testing of clinical *Trichosporon asahii* isolates. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v. 43, n. 2, p. 107-111, 2002.

ARRUDA, S. V. A. **Abordagem molecular na caracterização de isolados clínicos de *Candida* spp. e perfil de susceptibilidade antifúngica**. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. Disponível em:

<https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/52324/1/TCC%20Saulo%20Vin%20C3%ADciuss%20de%20Albuquerque%20Arruda.pdf>. Acesso em: 25 jan. 2024.

ASSUMPÇÃO, I. C. P.; SILVA, B. A. C.; MENDES, M. F. Bioprospecção de plantas medicinais com potencial anticancerígeno no Brasil: caracterização e métodos de extração. **Rev Fitos**, v. 16, n. 2, p. 156-175, 2022. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <https://revistafitos.far.fiocruz.br/?journal=revistafitos&page=article&op=view&path%5B%5D=1251&path%5B%5D=1023>. Acesso em: 04 jan. 2024.

BARROS, D. M.; MELO, M. A.; MOURA, D. F.; SILVA, J. H. L.; SILVA, H. M. L.; SANTOS, J. S. S.; ROCHA, T. A.; OLIVEIRA, G. B.; FERREIRA, S. A. O.; COSTA, M. P.; DINIZ, M. A.; MELO, N. L. L. X.; SANTOS, R. C. B.; LEITE, D. R. S.; PONTES, A. K. A.; SILVA, R. F.; LEITE, A. R. F.; SOUZA, J. C. V.; COSTA, M. P.; SILVA, A. M. R.; GOMES, M. V.; AGUIAR, G. B.; FONTE, R. A. B. Potencial Utilização de Sistemas Antimicrobianos Naturais como Conservantes Alimentares / Potential Use of Natural Antimicrobial Systems as Food Conservatives. **Braz J Dev**, [S. l.], v. 6, n. 6, p. 40476–40491, 2020. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/12158>. Acesso em: 26 abr. 2023.

BENTUBO, H. D. L.; GAMBALE, W.; FISCHMAN, O. Caracterização laboratorial e comportamento cromogênico de leveduras do gênero *Trichosporon*. **Rev Bras Pesqui Saúde**, v. 15, n. 1, p. 69-74, 2013.

BIASOLI, M. S.; CARLSON, D.; CHIGANER, G. J.; PARODI, R.; GRECA, A.; TOSELLO, M. E.; LUQUE, A. G.; MONTERO, A. Systemic infection caused by *Trichosporon asahii* in a patient with liver transplant. **Med Mycol**, v, 46, n. 7, p. 719-723, 2008.

CASTANO, G.; YARRARAPU, S. N. S.; MADA, P. K.; Trichosporonosis. StatPearls [Internet]. **Treasure Island (FL): StatPearls Publishing**, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482477/>. Acesso em: 04 jan. 2024.

CASTRO, E. S.; FONTES, B. R.; SILVA, F. C. Análise fitoquímica do extrato aquoso da casca e do fruto de Jatobá (*Hymenaea courbaril* L, Fabaceae). **Anais do Fórum Rondoniense de Pesquisa**, v. 2, n. 7, 2021.

CAVALCANTI, I. M. F.; FALCÃO, J. A. L.; FERREIRA, Y. L. A.; INÁCIO, C. P.; MACÊDO, D. P. C.; MIRANDA, C. C. C.; NEVES, R. P. Modelo experimental in vitro de piedra branca e avaliação do perfil de suscetibilidade de *Trichosporon* contra derivados tiofeno-tiosemicarbazona (L10). **Res Soc Dev**, v. 10, n. 12, p. e406101220636, 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/20636>. Acesso em: 20 abr. 2023.

CAWLEY, M. J.; BRAXTON, G. R.; HAITH JR, L. R.; REILLY, K. J.; GUILDAY, R. E. PATTON, M. L. *Trichosporon beigeli* infection: experience in a regional burn center. **Burns**, v. 26, n. 5, p. 483-486, 2000.

CHOMA, I. M.; GRZELAK, E. M. Bioautography detection in thin-layer chromatography. **J. Chromatogr A**, v. 1218, n. 19, p. 2684-2691, 2011.

COLOMBO A.L.; PADOVAN A. C; CHAVES G.M. Current knowledge of *Trichosporon* spp. And Trichosporonosis. **Clin Microbiol**, v. 24, p. 682-700, 2011.

CORDEIRO, R. D. A.; AGUIAR, A. L. R.; SILVA, B. N.; PEREIRA, L. M. G.; PORTELA, F. V. M.; CAMARGO, Z. P.; LIMA-NETO, R. G.; CASTELO-BRANCO, D. D. S. C. M.; ROCHA, M. F. G.; SIDRIM, J. J. C. *Trichosporon asahii* and *Trichosporon inkin* Biofilms Produce Antifungal-Tolerant Persister Cells. **Front Cell Infect Microbiol**, v.11, 2021.

CRUZ, J. F.; QUITERIO, T. C. FRANCO, P. V.; CASTRO, A. P. Cubiu (*Solonum sessiflorum*): Uma fruta alimentar, medicinal e cultural. **Braz J Dev**, Curitiba, v.9, n.1, p.92-107, 2023.

DANTAS, A. S.; LEE, K. K.; RAZIUNAITE, I.; SCHAEFER, K.; WAGENER, J.; YADAV, B.; GOW, N. A. Cell biology of *Candida albicans*–host interactions. **Curr Opin Microbiol**, v. 34, p. 111-118, 2016.

DAS, K.; TIWARI, R. K. S.; SHRIVASTAVA, D. K. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. **J Med Plant Res**, v. 4, n. 2, p. 104-111, 2010.

DE BONA, E. A. M.; PINTO, F. G. S.; FRUET, T. K.; JORGE, T. C. M.; MOURA, A. C. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arq Inst Biol.**, São Paulo, v.81, n.3, p. 218-225, 2014.

DEWANJEE, S.; GANGOPADHYAY, M.; BHATTACHARYA, N.; KHANRA, R.; DUA, T. K. Bioautography and its scope in the field of natural product chemistry. **J Pharm Anal**, v. 5, n. 2, p. 75-84, 2015.

ELOFF, J. N. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. **Planta Med**, v.64, p.711-713, 1998.

FERNANDES, L. A.; SANTOS, R. W. C.; SOUZA, A. F. Utilização de extratos vegetais para análise do potencial antibacteriano. **Rev Biociênc**, Universidade de Taubaté, v. 26, n. 2, p. 37-49, 2020.

FERREIRA, F. R.; POLLO, T.; PEREIRA, M. T. F.; BUERI, M. N. P. White Piedra por *Trichosporon ovoides* no Sudeste do Brasil: Relato e Breve Revisão da Literatura. **Port J Derm Venereol**, v. 77, n. 2, p. 157-160, 2019.

FERREIRA, M. G. R.; GONÇALVES, E. P. **Tipo de estacas e crescimento de cipó-alho (*Mansoa alliacea*) (Lam.) A. Gentry**. Porto Velho: Embrapa Rondônia, p. 1-4, 2007 (Embrapa Rondônia. Circular técnica, 98).

FRAZEN, F. L.; FRIES, L. L. M.; OLIVEIRA, M. S. R.; LIDORIO, H. F.; MENEGAES, J. F.; LOPES, S. J. Teor e rendimento de extratos de flores obtidos por diferentes métodos e períodos de extração. **Acta Iguazu**, v.7, n.1, p. 9-21, 2018.

FRANCISCO E.C.; ALMEIDA JUNIOR J.N., QUIROZ TELLES F.; AQUINO V.R.; MENDES A.V.A.; ANDRADE BARBERINO M.G.M.; CASTRO P.T.O.; GUIMARÃES T.; HANH R.C.; PADOVAN A.C.B.; CHAVES G.M.; COLOMBO A.L. Species distribution and antifungal susceptibility of 358 *Trichosporon* clinical isolates collected in 24 medical centres. **Clin Microbiol Infect**, v. 25, n. 909, p. e1-e5, 2019.

GLEHN, E. A.V.; RODRIGUES, G. P. S. Antifungigrama para comprovar o potencial de ação dos extratos vegetais hidroglicólicos sobre *Candida* sp. (Berkhout). **Rev Bras Pl Med**, Botucatu, v.14, n.3, p.435-438, 2012.

GOMES, B. M. **Revisão de *Pleonotoma* Miers (Gignonieae, Bignoniaceae)**. 2006. 96 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de

Brasília, Brasília, 2006. Disponível em:
http://www.realp.unb.br/jspui/bitstream/10482/5741/1/2006_Beatriz%20Machado%20Gomes.pdf. Acesso em: 09 jan. 2024.

GOMES, B. M.; PROENÇA, C. E. B. New species of *Pleonotoma* (Bignoniaceae) from Amazonia, Brazil. **Kew Bull.**, v. 65, n. 2, p. 269-273, 2010.

GONÇALVEZ, K. M.; SOLDATI, P. P.; SILVA, A. F.; VENÂNCIO, R. P.; CHAVES, M. G. A. M.; RAPOSO, N. R. B. Biological activities of *Solanum sessiliflorum* DUNAL. **Biosci J**, v. 29, n. 4, 2013.

HAMBURGER, M. O.; CORDELL, G. A. A direct bioautographic TLC assay for compounds possessing antibacterial activity. **J Nat Prod**, v. 50, n. 1, p. 19-22, 1987.

KHALED, J. M.; ALHARBI, N. S.; KADAIKUNNAN, S.; ALOBAIDI, A. S.; NAUMAN, K.; GHILAN, A. K. M.; ALMAZYED, A. O.; ALDOSARY, M. S.; RASHEDI, S. A.; ALFALIH, A. M.; FARRAG, M.A.; ALHARBI, M. S. Distribution of *Candida* infections in patients and evaluation of the synergic interactions of some drugs against emerging fluconazole- and caspofungin-resistant *C. auris*. **J King Saud Univ Sci**, v. 35, n. 4, 2023.

KENNY, C. R.; FUREY, A.; LUCEY, B. A post-antibiotic era looms: can plant natural product research fill the void. **Br J Biomed Sci**, v.72, n. 4, p. 191-200, 2015.

KING, T., DYKES, G., KRISTIANTI, R. Comparative evaluation of methods commonly used to determine antimicrobial susceptibility to plant extracts and phenolic compounds. **J AOAC Int**, v. 91, n. 6, p. 1423–9, 2008.

LABORDA, L. P.; LOBATO, A. C. N.; SILVA FILHO, D. F.; COELHO NETTO, R. A. Incorporação de biomassa de fabáceas ao substrato de plantio para controle da podridão-de-escleródio (*Sclerotium rolfsii*) em cubiu (*Solanum sessiliflorum*). **Summa Phytopathol**, v. 45, n. 4, p. 399-405, 2019.

LAMEIRA, O. A. Espécies medicinais nativas na região Norte. In: CORADIN, L.; CAMILLO, J.; VIEIRA, I. C. G. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: Região Norte**. Brasília: MMA, 2022. cap. 5, p. 997-1001. Disponível em:
<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1144641/1/Plantas-para-o-Futuro-Norte-998-1002.pdf>. Acesso em: 22 abr. 2023.

LARA, B. R.; CAMARGO, B. B.; PAULA, C. R.; MONARI, G. P. M.; GARCES, H. G.; ARNORI, M. V.; SILVEIRA, M.; GIMENES, V. M. F.; JUNIOR, D. P. L.; BONFIETTI, L. X.; OLIVEIRA, L.; MELHEM, M. S. C.; AULER, M.; RAMOS, R. T. B.; DIAS, A. L. T.; SILVA, N. C.; MOREIRA, D.; RICHINI-PEREIRA, V. B.; ANVERSA, L.; RUIZ, L. S.

Aspects related to biofilm production and antifungal susceptibility of clinically relevant yeast of the genus *Trichosporon*. **Med Mycol**, v. 61, n. 3, 2021.

LEITE, A. S.; SANTOS, J. S. *Allium sativum* L. Antimicrobial potential: a review. **Res Soc Dev**, [S. l.], v. 10, n. 14, p. e108101421699, 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/21699>. Acesso em: 21 abr. 2023.

LENTZ, S. A. M. (org.) **Atualização sobre o uso racional de antimicrobianos e boas práticas de produção**. Porto Alegre: CIEVS, 2022. 8-9 p. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/ptbr/assuntos/insumosagropecuarios/insumospecuarios/resistenciaaosantimicrobianos/publicacoes/Apostila_AtualizaosobreUsoRacionaldeAntimicrobianoseBoasPrcticasdeProduo.pdf. Acesso em: 22 abr. 2023.

LIMA, A.; AZEVEDO, K. S.; CAMPOS, C. A. S.; TAVEIRA, U. S.; ROCHA, A. A.; Manejo da seiva do jatobá (*Hymenaea Courbaril* L.) por famílias tradicionais na Reserva Extrativista Chico Mendes, Acre –Brasil. In: VIII Congresso de Ecologia do Brasil, 2007, Caxambu. **Anais [...]**, São Paulo, Sociedade de Ecologia do Brasil, 2007.

LIMA, C. A. S.; VIOLANTE, I. M. P.; ALVES, W. K. S.; CARVALHO, F. T.; DIAS, N. S.; ANJOS, T. R.; ANDRADE, K. R. N. C.; FRASSON, A. P. Z.; SANTOS, M. D.; CARVALHO, R. C. T. Atualizações sobre as propriedades medicinais do Óleo de Copaíba (*Copaifera* spp.): uma revisão bibliográfica. **Uniciências**, v. 25, n.3, p. 100-106, 2021.

LIMA, E. L. F. D. **Atividade antifúngica e potencial antibiofilme do extrato hidroetanólico de *Spondias mombin* L. e de suas frações frente a leveduras do gênero *Candida***. 2021. 73 f. Tese (Doutorado em Ciências Odontológicas) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/44690>. Acesso em: 09 jan. 2024.

LIMA, R. F. S.; TURRINI, R. N. T.; SILVA, L. R.; MELO, L. D. S.; AUGUSTO, S. I. Práticas populares de cura e o uso de plantas medicinais por mães ribeirinhas no cuidado infantil. **Rev Pesqui Cuidado é Fundamental Online**, v. 9, n. 4, p. 1154-1163, 2017.

LOPES, A. V. C.; CATTELAN, M. G. Potencial in vitro de extratos aquosos de ora-pro-nobis. **Rev Científica**, v. 1, n. 1, 2022.

LOPES, J. P.; LIONAKIS, M. S. Pathogenesis and virulence of *Candida albicans*. **Virulence**, v. 13, n. 1, p. 89-121, 2022.

MACHADO, T. F.; BRUNO, L. M. Potencial uso de antimicrobianos de plantas na conservação de alimentos. **Embrapa Agroindústria Tropical**, 2022.

MAIA-ARAÚJO, Y. L. F.; MENDONÇA, L. S.; ORELLANA, S. C.; ARAÚJO, E. D. Comparação entre duas técnicas utilizadas no teste de sensibilidade antibacteriana do extrato hidroalcolólico de própolis vermelha. **Sci Plena**, v. 7, n. 4, 2011.

MARKAM, J.; SINGH, R. K.; JOSHI, P. K.; SONI, N.; LALCHAND. Phytochemical study of Hydroalcoholic extract of *Mansoa alliacea* (Lam.) Leaf. **J Ayurveda Integr Med Sci**, v. 3, n. 05, p. 70-75, 2018.

MARTINS, M. S.; TEIXEIRA, M. F. S.; SILVA, J. C.; KIRSCH, L. S.; FERNANDES, O. C. C.; CARNEIRO A. L. B.; CONTI, R. D.; DURÁN, N. Amazonian Biodiversity: Pigments from *Aspergillus* and *Penicillium*-Characterizations, antibacterial activities and their toxicities. **Curr Trends Biotechnol Pharm**, v. 6, n. 3, p. 300-311, 2012.

MAYER, F. L.; WILSON, D.; HUBE, B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. **Virulence**, v. 4, n. 2, p.119-128, 2013.

MELO, I. S. F.; ASSIS, E. C.; AZEVEDO, M. B.; BARBOSA, T. S. S.; ALMEIDA, M. M. DE. *Candida* sp, uma breve revisão bibliográfica. **Rev Cient Saúde Tecnol**, [S. l.], v. 2, n. 5, p. e25129, 2022. Disponível em: <https://recisatec.com.br/index.php/recisatec/article/view/129>. Acesso em: 17 abr. 2023.

MELO, J. A.; SANTOS, L. P. M.; ALMEIDA, R. M.; FUJIWARA, R. T.; FERREIRA, S. R.; NASCIMENTO, L. S.; NASCIMENTO, F. C. Compostos organossulfurados: atividade Leishmanicida e nematocida do óleo essencial das folhas de *Mansoa alliacea* em *Leishmania amazonensis* e *Caenorhabditis elegans*. **Rev Virtual de Química**, v. 13, n. 4, p. 910-918, 2021.

MILAN E. P.; SILVA-ROCHA W. P.; DE ALMEIDA J.; FERNANDES; T.; DE ARAÚJO PRUDENTE A. L.; DE AZEVEDO M. F.; FRANCISCO E. C.; DE AZEVEDO MELO A. S.; COLOMBO A. L.; CHAVES G. M. *Trichosporon inkin* meningitis in Northeast Brazil: first case report and review of the literature. **BMC Infect Dis**, v. 18, n. 1, p. 470, 2018.

MIYAWAKI, I. A.; MIYAWAKI, A. E.; SCHWAMBACH, C. Desenvolvimento de antifúngico a partir das plantas “Coroa-de-Cristo” (*Euphorbia* sp.) e “Espirradeira” (*Nerium oleander*). **Braz J Dev**, v. 7, n. 2, p. 20119-20132, 2021. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/25306/20190>. Acesso em: 29 jan. 2024.

MORAES, R. C. **Investigação in vitro da atividade antifúngica de *Uncaria tomentosa* (willd) d. c. frente a leveduras patogênicas**. 2011. 30 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/134858/000866456.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 08 jan. 2024.

MOREIRA, L. S.; DORIA, A. C. O. C.; SANTOS, T. B.; FIGUEIRA, F. R.; SORGE, C. D. P. C.; DA SILVA, A. M.; KHOURI, S. Estudo da resistência aos antifúngicos de leveduras isoladas de candidúrias de um hospital de médio porte. **Rev Univap**, v. 23, n. 43, p. 44-52, 2017.

MÜLLER, J. D. B. **Avaliação das atividades antimicrobiana, antioxidante e antinociceptiva das folhas da *Luehea divaricata* Martius**. 2006. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/6038/JULIANEMULLER.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 06 jan. 2024.

NASCIMENTO, P. F.; NASCIMENTO, A. C.; RODRIGUES, C. S.; ANTONIOLLI, Â. R.; SANTOS, P. O.; BARBOSA JÚNIOR, A. M.; TRINDADE, R. C. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Rev Bras Farmacogn**, v. 17, p. 108-113, 2007.

NCCLS. **Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras**; Norma Aprovada—Segunda Edição. NCCLS document M27-A2 [ISBN 1-56238-469-4]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 Estados Unidos, 2002.

NOGUEIRA, C. L. B.; AMARA, I. L.; SOARES, M. L. C.; MATOS, F. D. Plantas ruderais colonizadoras de áreas desflorestadas pela exploração de petróleo e gás natural. **XVIII Jornada de Iniciação Científica PIBIC CNPq/FAPEAM/INPA**, 2009.

OKAMURA, L. S. **Avaliação do potencial antifúngico do extrato da própolis verde contra leveduras do gênero *Candida* spp.** 2019. 31 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/xmlui/bitstream/handle/riufcg/12204/LUANA%20SAYURI%20OKAMURA%20-%20TCC%20BACHARELADO%20EM%20FARM%20c3%81CIA%20CES%202019.pdf?sequence=3&isAllowed=y>. Acesso em: 20 mar. 2023.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E.; 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. **Rev Bras Farmacogn**, v. 18, p. 301-307, 2008.

PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; ABREU, J. A.; ALCICI, N. M. F. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Food Sci Technol**, v. 18, p. 313-318, 1998.

PARTHA, A. D. S. L.; WIDODO, A. D. W.; ENDRASWARI, P. D. Evaluation of fluconazole, itraconazole, and voriconazole activity on *Candida albicans*: A case control study. **Ann Med Surg**, v. 84, 2022.

PEREIRA, L. V. DE A. C.; SILVA, L. C.; SÁ, M. C. DE; MOREIRA, M. DE C.; NASCIMENTO, G. L. M. S. DO; ANDRADE, T. C. DE; SANTOS, V. M. DOS; SILVA, F. L. DA. In vitro analysis of the antifungal activity of plant extracts against yeasts belonging to the *Candida albicans* species. **Res Soc Dev**, [S. l.], v. 10, n. 10, p. e440101019075, 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/19075>. Acesso em: 18 set. 2022.

PEREIRA, M. D. S. V.; RIBEIRO, A. D.; JÚNIOR, E. C. F.; FREIRE, J. C. P.; COSTA, M. M. A.; PEREIRA, J. V. Estudo sobre métodos utilizados para a determinação da atividade antimicrobiana de extratos de plantas medicinais: elucidações e limitações das técnicas. **Braz J Dev**, v. 8, n. 4, p. 26085-26104, 2022.

PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**. 2.ed. São Paulo: Atheneu Editora, 325 p. 2003.

PIRES, A. M. B., SILVA, P. S., NARDELLI, P. M., GOMES, J. C., RAMOS, A. M. Caracterização e processamento de cubiu (*Solanum sessiliflorum*). **Ceres**, v. 53, n. 307, 2006.

PRADO, F. B., ROCHA, W. C.; MARTIM, S. R.; ALECRIM, M. M., SILVA, L. P.; SILVA, L. S. C.; SILVA, T. A.; TEIXEIRA, M. F. S. Produção de compostos bioativos por *Aspergillus* mantidos sob duas condições de preservação. **Bol Mus Para Emílio Goeldi Sér Ciênc Nat**, v. 12, n. 1, p. 37-47, 2017.

REGASINI, L. O.; PIVATTO, M.; SCORZONI, L.; BENADUCCI, T.; FUSCO-ALMEIDA, A. M.; GIANNINI, M. J. S. M.; BARREIRO, E. J.; SIVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S. Antimicrobial activity of *Pterogyne nitens* Tul., Fabaceae, against opportunistic fungi. **Braz J Pharmacogn**, v. 20, n. 5, p. 706-711, 2010.

RIBEIRO, C. D. B.; COSTA, P. A.; LIMA, S. R. V.; SILVA, M. T. O uso medicinal de *Carapa guianensis* Abul. (Andiroba). **Res Soc Dev**, v. 10, n. 15, 2021.

ROCHA, W. R. V.; NUNES, L. E.; NEVES, M. L. R.; XIMENES, E. C. P. A.; ALBUQUERQUE, M. C. P. A. Gênero *Candida* - Fatores de virulência, Epidemiologia, Candidíase e Mecanismos de resistência. **Res Soc Dev**, v. 10, n. 4, e43910414283, 2021.

ROZATTO, M. R. **Determinação da atividade antimicrobiana in vitro de extratos, frações e compostos isolados de *Arrabidaea brachypoda***. 2012. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2012. Disponível em: <https://www2.fcfar.unesp.br/Home/Pos->

graduacao/CienciasFarmaceuticas/MARIANA%20RODRIGUES%20ROZATTO.pdf. Acesso em: 08 jan. 2024.

SALAZAR, A. T.; SCALVENZI, L.; LESCANO, A. S. P.; RADICE, M. Ethnopharmacology, biological activity and chemical characterization of *Mansoa alliacea*. A review about a promising plant from Amazonian region. **MOL2NET Int Conf Multidiscip Sci**, v. 3, p. 1-8, 2017.

SANTANA, D. P., RIBEIRO, E. L., MENEZES, A. C. S., NAVES, P. L. F. Novas abordagens sobre os fatores de virulência de *Candida albicans*. **Rev Ciên Méd Biol**, v.2, n. 2, p. 229-233, 2013.

SANTOS, D. J. M. **Desenvolvimento de xampu à base de extrato glicólico de *Hamamelis virginiana* L. para auxiliar no tratamento da oleosidade capilar e na prevenção do acometimento de caspas**. 2017. 63 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras do Alto São Francisco, Luz. Disponível em:<http://dspace.fasf.edu.br/bitstream/handle/123456789/85/TCC%20XAMPU%20DE%20HAMAMELIS%20-%20DEISE.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 07 jan. 2024.

SANTOS, F. S. **Desenvolvimento de xampu pediculicida a base de melão-de-são-caetano (*Momórdica charantia* L.)**. 2020. 63 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/14103>. Acesso em: 07 jan. 2024.

SANTOS, G. M. **Avaliação da atividade antibacteriana e do efeito mutagênico do extrato e frações obtidas das partes aéreas de *Solonanum capsicoides* (SOLANACEAE)**. 2019. 124 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2019. Disponível em: <https://siaibib01.univali.br/pdf/Gabriel%20Marcelo%20dos%20Santos2019.pdf>. Acesso em: 08 jan. 2024.

SANTOS, N. R. S. **Toxicidade e avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais da caatinga frente a patógenos orais**. 2018. 80 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/34134>. Acesso em: 08 jan. 2024.

SCHMOURLO, G.; MENDONCA-FILHO, R. R.; ALVIANO, C. S.; COSTA, S. S. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal food plants. **J Ethnopharmacol**, v. 96, n. 3, p. 563–568, 2005.

SCORZONI, L.; BENADUCCI, T.; ALMEIDA, A.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. D. S.; MENDES-GIANNINI, M. J. S. Comparative study of disk diffusion and microdilution

methods for evaluation of antifungal activity of natural compounds against medical yeasts *Candida* spp and *Cryptococcus* sp. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, p. 25-34, 2007.

SILVA, A. D.; KOWALSKI, L.; PAGNO, A. R.; PIANA, M. Atividade antimicrobiana de flavonoides: Uma revisão de literatura. **Rev Inter Ciênc Saúde Biol**, v. 4, n. 1, p. 51-65, 2020.

SILVA, A. S.; NETO, O. F. O.; PENNA, A. L. B. Extração de compostos bioativos do fruto maná-cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) com diferentes solventes. **VI Simpósio de Engenharia e Ciência de Alimentos**, Universidade Estadual Paulista, 2018.

SILVA J. C. **Perfil da Viabilidade Celular e Atividade Antimicrobiana de Espécies de *Penicillium* do Acervo da Coleção de Culturas DPUA**. 2008. 45 f. Dissertação (Mestrado em Diversidade Biológica) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2008.

SILVA, S.; NEGRI, M.; HENRIQUES, M.; OLIVEIRA, R.; WILLIAMS, D. W.; AZEREDO, J. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. **FEMS Microbiol Rev**, v. 36, n. 2, p. 288-305, 2012.

SOUZA FILHO, A. P. D. S.; GUILHON, G. M. S.; ZOGHBI, M. D. G. B.; CUNHA, R. L. Análise comparativa do potencial alelopático do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial de folhas de cipó-d'alho (Bignoniaceae). **Planta Daninha**, v. 27, p. 647-653, 2009.

SREELAKSHMI, K. P.; MUTHUSWAMY, R. Review on garlic creeper-*Mansoa alliacea* (Lam.) AH Gentry (Bignoniaceae). **Int J Pharmacogn Pharm Sci**, v. 3, p. 22-5, 2021.

SULEIMAN, M. M.; MCGAW, L. I.; NAIDOO, V.; ELOFF, J. Detection of antimicrobial compounds by bioautography of different extracts of leaves of selected South African tree species. **Afr J Trad Complement Altern Med**, v. 7, n. 1, 2010.

TAVARES-DIAS, M. DIAS, M. K. R. Recomendação do cipó-alho (*Mansoa alliacea*) na dieta de alevinos de pirarucu para melhoria do crescimento e imunidade. **Comum Téc (Embrapa Amapá)**, 2020.

TEIXEIRA, M. F. S.; QUEIROZ, L. A.; CARVALHO, S. M. S. Una tecnica para preparaciones permanentes de leveduras. **Bol Micol**, Valparaiso-Chile, v. 7, n.1-2, p. 23-25, 1992.

TEIXEIRA, M. F. S.; SILVA, T. A.; PALHETA, R. A.; CARNEIRO, A. L. B.; ATAYDE, H. M. **Fungos da Amazônia: uma riqueza inexplorada (Aplicações Biotecnológicas)**. Manaus: Edua. 2011.

VALGAS, C.; SOUZA, S. M.; SMÂNIA, E. F. A., SMÂNIA-JUNIOR, A. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. **Braz J Microbiol**, v. 38, p. 369-380, 2007.

VARANO, N.; LIMA, M. F. M.; CARDOSO, I. R.; BARBOSA, G. G.; JESUS, A. L. L.; PRADO, C. R.; MARQUES, L. A.; SILVA, N. B. S.; RÖDER, D. D. B. Infecções por *Candida* spp. em pacientes imunodeprimidos. **J Infect Control**, v.8, n.1, p.17-23, 2019.

YUYAMA, L. K. O. PANTOJA, L., MAEDA, R.N., AGUIAR, J.P.L., SILVA, J.P.L.A. Desenvolvimento e aceitabilidade de geléia dietética de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal). **Ciênc Tecnol Aliment**, Campinas, v.28, n.4, p.929-934., 2008.

ZELLNER, B. D. AMORIM, A. C. L.; MIRANDA, A. L. P.; ALVES, R. J.; BARBOSA, J. P.; COSTA, G. L.; REZENDE, C. M. Screening of the Odour-Activity and bioactivity of the essential oils of leaves and flowers of *Hyptis Passerina* Mart. from the brazilian Cerrado. **J Braz Chem Soc**, v, 10, n. 2, p. 322-332, 2009.

ZIMMERMANN, J. B. PAIVA, O. A.; COSTA, A. C. S. S.; SOUSA, A. M. G. V.; CHAGAS, A. R.; LIMA, A. A. C. Validade do diagnóstico clínico de candidíase vulvovaginal. **Hu Rev**, v. 35, n. 1, 2009.

ZOGHBI, M. G. B.; OLIVEIRA, J.; GUILHON, G. M. S. P. The genus *Mansoa* (Bignoniaceae): a source of organosulfur compounds. **Rev Bras Farmacogn**, v. 19, n. 3, p. 795-804, 2009.

ARTIGO

**OCORRÊNCIA DE COMPOSTOS BIOATIVOS EM ESPÉCIES DAS FAMÍLIAS
BIGNONIACEAE E SOLANACEAE COM ESPECTRO DE AÇÃO ANTI-
LEVEDURA**

**OCCURRENCE OF BIOACTIVE COMPOUNDS IN SPECIES FROM THE
BIGNONIACEAE AND SOLANACEAE FAMILY WITH ANTI-YEAST SPECTRUM
OF ACTION**

**PRESENCIA DE COMPUESTOS BIOATIVOS EN ESPECIES DE LAS FAMILIAS
BIGNONIACEAE Y SOLANACEAE COM ESPECTRO DE ACCIÓN ANTI-
LEVADURA**

Thaís Souza Farias¹

Ana Kezia Pimentel de Brito²

Tiara Sousa Cabral³

Salomão Rocha Martim⁴

Waldireny Rocha Gomes⁵

Maria Francisca Simas Teixeira⁶

1. Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM. E-mail: thaisfarias46@gmail.com

2. Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM. E-mail: anakeziapimentel@gmail.com

3. Doutora em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva, Técnica do Laboratório de Micologia Industrial e Médica, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM. E-mail: tiarascabral@ufam.edu.br

4. Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia, Professor adjunto I, Universidade Nilton Lins, Manaus, AM. E-mail: salomao.martim@gmail.com

5. Doutora em Química, Professora titular, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM. E-mail: waldirenyrocha@ufam.edu.br

6. Doutora em Ciências Biológicas (Biotecnologia), Professora titular, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM. E-mail: mteixeira@ufam.edu.br

**OCORRÊNCIA DE COMPOSTOS BIOATIVOS EM ESPÉCIES DAS FAMÍLIAS
BIGNONIACEAE E SOLANACEAE COM ESPECTRO DE AÇÃO ANTI-
LEVEDURA**

**OCCURRENCE OF BIOACTIVE COMPOUNDS IN SPECIES FROM THE
BIGNONIACEAE AND SOLANACEAE FAMILY WITH ANTI-YEAST SPECTRUM
OF ACTION**

**PRESENCIA DE COMPUESTOS BIOATIVOS EN ESPECIES DE LAS FAMILIAS
BIGNONIACEAE Y SOLANACEAE COM ESPECTRO DE ACCIÓN ANTI-
LEVADURA**

RESUMO

Na Amazônia estão constituindo a diversidade vegetal uma variedade de espécies de plantas medicinais com propriedades terapêuticas complementares no tratamento de doenças, incluindo as de origem microbiana. Este estudo objetivou avaliar a ação antimicrobiana dos extratos orgânicos de *Mansoa alliacea*, *Pleonotoma jasminifolia* e *Solanum sessiliflorum* contra as leveduras patogênicas oportunistas *Candida albicans* DPUA 1340, *C. tropicalis* DPUA 023, *Trichosporon beemeri* DPUA 213 e *T. beigelii* DPUA 208, bem como selecionar fonte de biocompostos com maior espectro de ação antimicrobiana para futura aplicação industrial. A extração dos biocompostos foi obtida das folhas das três espécies vegetais por maceração assistida por banho ultrassônico com solventes orgânicos (hexano, acetato de etila e metanol). A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada pelo método de difusão em ágar por poço, microdiluição em caldo para determinar Concentração Mínima Inibitória (CMI) e por bioautografia. Os resultados mostraram que os extratos orgânicos das três espécies vegetais apresentam atividade inibitória contra as leveduras teste, exceto para *T. beigelii*, e que os extratos hexânicos das três espécies vegetais apresentaram o maior espectro de ação, sendo *T. beemeri* a mais sensível. Os resultados da CMI dos extratos hexânicos mostraram atividade fraca para *P. jasminifolia* e moderada para *M. alliacea* e *S. sessiliflorum*. A análise bioautográfica dos extratos hexânicos mostrou ação inibitória de biocompostos com Rf entre 0,6 a 0,93, e o uso de reveladores químicos indicou a presença de classes fitoquímicas como alcaloides, terpenos e flavonoides. Para viabilizar a aplicação industrial, análises adicionais devem ser realizadas.

PALAVRAS-CHAVE: Espécies vegetais; Amazônia; Antifúngicos; Bignoniaceae; Solanaceae.

ABSTRACT

In the Amazon rainforest, the great plant diversity harbors a variety of medicinal plant species with complementary therapeutical properties in the treatment of diseases, including those of microbial origin. The present study aimed to evaluate the antimicrobial activity of the organic extracts of *Mansoa alliacea*, *Pleonotoma jasminifolia* and *Solanum sessiliflorum* against the opportunistic pathogenic yeasts *Candida albicans* DPUA 1340, *C. tropicalis* DPUA 023, *Trichosporon beemeri* DPUA 213 and *T. beigelii* DPUA 208, as well as to select sources of biocompounds with larger spectrum of antimicrobial activity for future industrial applications. The extraction of biocompounds was made from leaves of the three plant species by ultrasound-assisted maceration with organic solvents (hexane, ethyl acetate and methanol). The antimicrobial activity was evaluated by agar well diffusion, broth microdilution to determine the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) and bioautography assay. The results demonstrated that the organic extracts from the three plant species have inhibitory activity

against the tested yeasts, except for *T. beigelii*, and that the hexane extracts from the three plant species have the larger activity spectrum, with *T. beemeri* being the most sensitive. The MIC results from hexane extracts demonstrated a weak activity to *P. jasminifolia* and moderate activity to *M. alliacea* and *S. sessiliflorum*. The bioautography assay with hexane extracts showed inhibitory activity of biocompounds with Rf between 0.6 to 0.93, and the use of chemical developers indicated the presence of phytochemical classes such as alkaloids, terpenes and flavonoids. To enable the industrial application, additional analyses should be taken.

KEYWORDS: Plant species; Amazon; Antifungals; Bignoniaceae; Solanaceae.

RESUMEN

La diversidad vegetal de la Amazonia comprende una variedad de especies de plantas medicinales con propiedades terapéuticas complementarias en el tratamiento de enfermedades, incluidas las de origen microbiano. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la acción antimicrobiana de extractos orgánicos de *Mansoa alliacea*, *Pleonotoma jasminifolia* y *Solanum sessiliflorum* frente a levaduras patógenas oportunistas *Candida albicans* DPUA 1340, *C. tropicalis* DPUA 023, *Trichosporon beemeri* DPUA 213 y *T. beigelii* DPUA 208, así como seleccionar una fuente de biocompuestos con mayor espectro de acción antimicrobiana para futuras aplicaciones industriales. Los biocompuestos se extrajeron de las hojas de las tres especies vegetales mediante maceración asistida por baño ultrasónico con disolventes orgánicos (hexano, acetato de etilo y metanol). La actividad antimicrobiana se evaluó mediante el método de difusión en agar con pozos, microdilución en caldo para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y bioautografía. Los resultados mostraron que los extractos orgánicos de las tres especies vegetales mostraron actividad inhibitoria frente a las levaduras ensayadas, excepto *T. beigelii*, mientras que los extractos hexánicos de las tres especies vegetales mostraron el mayor espectro de acción, siendo *T. beemeri* la más sensible. Los resultados de la CMI de los extractos hexánicos mostraron una actividad débil para *P. jasminifolia* y moderada para *M. alliacea* y *S. sessiliflorum*. El análisis bioautográfico de los extractos hexánicos mostro acción inhibitoria de biocompuestos con Rf entre 0,6 y 0,93, y el uso de reveladores químicos indicó la presencia de clases fitoquímicas como alcaloides, terpenos y flavonoides. Para la aplicación industrial sea viable, deben realizarse análisis adicionales.

PALABRAS CLAVE: Especies vegetales, Amazonia, Antifúngicos, Bignoniaceae, Solanaceae.

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais para tratamento de doenças é uma prática antiga e popular até os dias atuais. Diversas espécies de plantas medicinais apresentam biocompostos com atividades biológicas, entre elas, a atividade antimicrobiana. O interesse pelas plantas medicinais com potencial antimicrobiano tem crescido nos últimos anos devido ao aumento da resistência antimicrobiana aos fármacos utilizados na medicina (Silva *et al.*, 2021; Guedes *et al.*, 2022). Essa resistência ocorre, principalmente, devido ao uso irracional de antibióticos

e antifúngicos e, portanto, tornando-se um fator preocupante para a saúde pública mundial (Fernandes; Santos; Souza 2020).

O Brasil possui a maior biodiversidade do planeta, abrangendo vários biomas com potencial de biocompostos com propriedades medicinais (Sousa *et al.*, 2019). Dentre os biomas, destaca-se a Amazônia que corresponde a 5% da superfície da Terra sendo a maior reserva de biodiversidade do mundo (Pires; Grisotto; Grisotto, 2017). Essa rica biodiversidade é contemplada com várias espécies de plantas medicinais e os conhecimentos tradicionais da população que vive na Amazônia (Sousa *et al.*, 2019). Estudo tem sido realizado para viabilizar o uso de biocompostos oriundos de plantas medicinais como matéria-prima para formulação de medicamentos fitoterápicos e fitocosméticos (Santos, 2020).

Entre as espécies vegetais da Amazônia, a *Pleonotoma jasminifloia* (Kutnth) Miers, conhecida popularmente como “cipó-cacheado”, “cipó-quira” ou “cipó-tuíra”, com domínio geográfico na Amazônia, é uma trepadeira da família Bignoniaceae que ocorre em terra firme (Gomes, 2006; Nogueira *et al.*, 2009; Lima *et al.* (2017). Segundo Gomes (2006) e Lima *et al.* (2017) é utilizada tradicionalmente para tratamento de tosse (raízes) e o sumo das folhas são aplicadas no tratamento de queimaduras.

Outra espécie da família Bignoniaceae, *Mansoa alliaceae*, popularmente conhecida como “cipó-alho”, “alho-da-mata” ou “alho falso” (Tavares-Dias; Dias, 2020). É um arbusto semi-trepador e também ocorrem em terra firme. É tradicionalmente utilizada no tratamento de cólicas, desconfortos e dores abdominais, tosse, febre, dor de cabeça e reumatismo (Lazarte; Rios, 2020; Sreelakshmi; Muthuswamy, 2021). A *M. alliacea* apresenta potencial antimicrobiano, antifúngico, antiviral anti-inflamatório e antilarvacida (Melo *et al.*, 2021)

A espécie *Solanum sessiliflorum*, da família Solanaceae, conhecida como cubiu, também é uma espécie nativa da Amazônia (Cruz *et al.*, 2023). O cubiu é popularmente utilizado no tratamento para controlar altos índices de colesterol, triglicérides, diabetes, anemia, entre outros (Pires *et al.*, 2006; Silva, 2019; Sereno *et al.*, 2020). Além disso, seu fruto é usado como produto alimentício não convencional (PANC), sendo utilizado no preparo de sucos, sorvetes, geléias, doces e compotas (Yuyama *et al.*, 2008; Silva, 2019).

Considerando a importância e o potencial terapêutico dessas espécies vegetais, este estudo objetivou avaliar a ação antifúngica dos extratos orgânicos de *P. jasminifolia*, *M. alliacea* e *S. sessiliflorum* contra leveduras patogênicas do gênero *Candida* e *Trichosporon*, bem como selecionar o(s) extrato(s) orgânico(s) de maior espectro de ação para futura aplicação industrial.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta e processamento do material vegetal

Neste estudo foram analisadas folhas das espécies vegetais: *Pleonotoma jasminifolia*, *Mansoa alliacea* e *Solanum sessiliflorum*, coletado em terreno particular, localizado no município de Iranduba-AM, cujas coordenadas geográficas são (S) -3,2677275 e (W) -60,1910495. As folhas foram desidratadas, maceradas, pesadas e, posteriormente, submetidas à extração com solventes orgânicos em polaridade crescente: hexano (Hex), acetado de etila (AcOEt) e metanol (MeOH). A extração foi assistida por ultrassom seguido de filtração e concentração em rotaevaporador à pressão reduzida (Assumpção; Silva; Mendes, 2022). Os extratos secos foram redissolvidos em Dimetilsulfóxido (DMSO) e filtrados em membrana polietersulfônica (0,22 µm) para os testes de atividade antimicrobiana em meio sólido e redissolvidos em solvente orgânico para aplicação em cromatoplasmas de camada delgada (Silva, 2008).

2.2 Reativação das leveduras

Candida albicans DPUA 1340, *Candida tropicalis* DPUA 023, *Trichosporon beigeli* DPUA 208 e *Trichosporon beemeri* DPUA 213 foram cedidas pela Coleção de Cultura do Departamento de Parasitologia da Universidade Federal do Amazonas-UFAM. De cada cultura preservada foi transferido um fragmento para ágar Sabouraud suplementado com extrato de levedura a 0,5 % (p/v). Os cultivos, em triplicata, foram mantidos a 37 °C por 72 horas. A autenticação das espécies foi realizada com base nas características morfológicas, cultivo em lâmina [ágar Corn Meal, coloração de Gram e coloração com azul de lactofenol (Teixeira; Queiroz; Carvalho, 1992; Teixeira *et al.*, 2011).

2.3 Determinação de atividade antimicrobiana em meio sólido

2.3.1 Preparação do inóculo

As leveduras foram cultivadas em Ágar Sabouraud suplementado com extrato de levedura 0,5 % (p/v). Os cultivos foram mantidos a 37 °C por 48 horas. De cada cultura foi transferido fragmento da colônia para 10 mL de água destilada, seguido de homogeneização em agitador de tubos. O inóculo foi padronizado a 530 nm na faixa de 0,08 a 0,13 de

absorvância, correspondente a concentração 0,5 da escala de MacFarland equivalente a 10^6 UFC/mL (Lima, 2021).

2.3.2 Método de difusão em ágar por poço (*Cup-plate*)

Na determinação de atividade antimicrobiana pela Técnica de Difusão em ágar por poço, em cada placa contendo meio de cultura sólido foi utilizado como inóculo 100 μ L de suspensão celular e com auxílio do *swab* foi feito o espalhamento em toda a superfície do meio, até formação de camada uniforme. Posteriormente, foram feitos cinco poços de sete milímetros de diâmetro. Em cada poço foi inoculado, separadamente, 100 μ L de cada amostra de extrato orgânico (*M. alliacea*, *P. jasminifolia* e *S. sessiliflorum*), na concentração de 10 mg/mL e os controles positivos e negativos, Itraconazol e DMSO, respectivamente. As placas foram mantidas a 37°C em estufa microbiológica e, após 18 e 48 horas o halo de inibição foi expresso em milímetros (Teixeira *et al.*, 2011).

2.4 Determinação da concentração mínima inibitória (CMI)

A CMI foi determinada conforme método descrito no documento M27-A2 do CLSI (2002) e Prado *et al.* (2017). Os testes foram realizados em microplaca de 96 poços, em cada poço foi adicionado 100 μ L de caldo Sabouraud. Nas colunas 1 e 12 foram inoculados os controles negativo (caldo Sabouraud + extrato orgânico) e positivo (Itraconazol), respectivamente. Na coluna 2 foi inoculado 100 μ L de extrato orgânico de maior concentração e, a partir desta coluna, iniciou-se a diluição seriada, transferindo 100 μ L da mistura composta por meio líquido e extrato orgânico até a coluna 11. Em todas as colunas, exceto coluna 1, foi inoculado 50 μ L de suspensão celular da levedura teste. As placas multipoço foram incubadas a 37°C, em estufa microbiológica, por 48 horas. Após o período de incubação, em todos os poços foi adicionado 10 μ L da solução reveladora Resazurina 0,01%. Os resultados foram determinados com base na alteração de coloração: azul (sensibilidade) e vermelho/rosa (resistência). A CMI considerou a menor concentração da amostra capaz de inibir visivelmente o crescimento microbiano em μ g/mL (Regasini *et al.*, 2010).

2.5 Bioautografia

A bioautografia foi realizada conforme Silva (2008) e Prado *et al.* (2017). Utilizou-se cromatoplasmas de camada delgada, em sílica gel 60, com indicador de fluorescência F254, suporte em alumínio, espessura 0,2 mm, medindo 2x8 (MERK, Alemanha). O extrato orgânico foi aplicado com capilar de vidro e eluído com fase móvel composta por Hexano/acetato de etila [1:1] para *P. jasminifolia* e diclorometano/metanol [95:05] para *M. alliacea* e *S. sessiliflorum*. A revelação dos compostos foi realizada com lâmpada de radiação ultravioleta (264 nm/365 nm), com luz branca e com as soluções reveladoras de classes químicas: Dragendorff para alcalóides, anisaldeído sulfúrico para terpenos e NP/PEG para flavonóides. Os respectivos R_f (fator de retenção) foram determinados nas bandas visualizadas no cromatograma.

Para determinar a atividade antimicrobiana por bioautografia, em condições assépticas, 20 mL de ágar Sabouraud a 40°C, suplementado com 500 µL de suspensão celular do microrganismo teste e 500 µL de Cloreto de Trifeniltetrazólio - TTC 1,0% (p/v) foi vertido no cromatograma, em placa de Petri. Após solidificação do meio, as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. A atividade antimicrobiana foi avaliada observando-se a área de inibição em torno de cada banda no cromatograma (Silva, 2008; Martins *et al.*, 2012; Prado *et al.*, 2017).

3 Resultados e discussão

3.1 Autenticação das espécies de leveduras

Candida albicans DPUA 1340, *C. tropicalis* DPUA 023, *T. beemeri* DPUA 213 e *T. beigeli* DPUA 208 apresentaram as características macro e micromorfológicas compatíveis com as descrições citadas por Fisher; Cook (1998). Nos testes de coloração e cultivo em Ágar Corn Meal (Ágar Fubá), nas espécies de *Candida* e *Trichosporon* foi observado presença de blastosporos e pseudo-hifas, com predominância de artrósporo somente nos *Trichosporon* (Barnett; Payne; Yarrow, 1990).

3.2 Atividade antimicrobiana (Técnica de Difusão em ágar por poço)

A Tabela 1 apresenta os resultados da atividade antimicrobiana em meio sólido pela técnica de difusão em meio sólido dos extratos orgânicos das três espécies vegetais (*M. alliaceae*, *P. jasminifolia* e *S. sessiliflorum*) contra as leveduras teste. Os valores da atividade variaram entre os extratos vegetais frente a *Candida albicans*, *C. tropicalis* e *T. beemeri*. Em média, os valores significativos da atividade antifúngica, em ordem crescente, foram 16,3 mm; 19,3 mm e 22,3 a 23,6 mm, respectivamente, para *C. tropicalis*, *C. albicans* e *T. beemeri* frente ao extrato Acetato de Etila (*S. sessiliflorum*), extrato Metanol (*P. jasminifolia*) e Hexano (*P. jasminifolia*). Os resultados demonstraram que entre as leveduras testadas, somente *T. beigelii* apresentou resistência a todos os extratos orgânicos.

Tabela 1. Média do diâmetro do halo de inibição (mm) dos extratos das folhas de *Mansoa alliaceae*, *Pleonotoma jasminifolia* e *Solanum sessiliflorum* contra leveduras teste.

Extrato	Leveduras			
	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>T. beemeri</i>	<i>T. beigelii</i>
	Média do diâmetro do halo (mm)			
Hexano (<i>M. alliaceae</i>)	11 ± 1,0 c	15 ± 0,0 b	22,3 ± 0,57 a	R
Hexano (<i>P. jasminifolia</i>)	10,6 ± 0,57 c	13,3 ± 0,57 c	23,6 ± 0,57 a	R
Hexano (<i>S. sessiliflorum</i>)	15,6 ± 0,57 b	14,3 ± 0,57 b c	23,3 ± 0,57 a	R
Acetato de Etila (<i>M. alliaceae</i>)	10,8 ± 0,28 c	11,5 ± 0,0 d e	0 ± 0 e	R
Acetato de Etila (<i>P. jasminifolia</i>)	17 ± 0,0 b	13,6 ± 0,28 c	17,6 ± 0,57 c	R
Acetato de Etila (<i>S. sessiliflorum</i>)	15,6 ± 1,15 b	16,3 ± 0,57 a	19,5 ± 0,57 b	R
Metanol (<i>M. alliaceae</i>)	10,5 ± 0,50 c	9 ± 0,0 f	14,3 ± 0,57 d	R
Metanol (<i>P. jasminifolia</i>)	19,3 ± 0,57 a	10,3 ± 0,57 e	15,3 ± 0,57 d	R
Metanol (<i>S. sessiliflorum</i>)	15,6 ± 1,15 b	11,6 ± 0,57 d	0 ± 0 e	R

(R) Resistente; teste de Tukey em comparação das médias (confiança de 95%).

Neste estudo todos os extratos de *M. alliaceae* foram ativos contra as espécies de *Candida*. Dados opostos foram observados por Ribeiro (2008), ao avaliar extrato etanólico de *M. alliaceae* contra *C. albicans*. Outras pesquisas realizadas com *M. alliaceae* e espécies de *Solanum* mostraram que nesses vegetais já foram identificados compostos bioativos, respectivamente, como alcalóides, fenóis, flavonoides e saponinas, compostos que estão

associados a diversas atividades biológicas, dentre elas a atividade antimicrobiana. Todavia, ao serem realizados análises para determinar atividade antimicrobiana com extrato aquoso de *S. sessiliflorum*, os resultados contra microrganismos testes, incluindo *C. albicans* foi negativo (Gonçalves *et al.*, 2013; Kaunda; Zhang, 2019; Markam *et al.*, 2018; Sudirga; Ginantra; Darmayasa, 2019; Melo *et al.*, 2021).

Para elucidar as diferenças entre os resultados dessas pesquisas com dados disponíveis na literatura, vários são os fatores que influenciam no bioprocessamento para identificação de compostos bioativos de origem vegetal, como o método de extração, o solvente, as espécies de microrganismos e a estrutura da planta utilizada para extração dos biocompostos. Sendo assim, não há como estabelecer uma comparação direta entre eles. Além disso, as condições climáticas e do solo podem ter influência na produção dos biocompostos de cada espécie vegetal (Lopes, 2016).

A literatura acerca das atividades biológicas das três espécies vegetais analisadas neste estudo ainda continua escassa, principalmente referente a espécie *P. jasminifolia*. Neste contexto, não foi encontrado registro científico revelando a atividade antifúngica dessas espécies vegetais contra leveduras do gênero *Trichosporon*, portanto, os dados obtidos neste estudo são inéditos.

3.3 Concentração mínima inibitória (CMI)

Os resultados da determinação da concentração mínima inibitória (CMI), dos extratos de atividades com valores significativos estão apresentados na tabela 2. Nessas análises foram avaliados extratos hexânicos de *M. alliacea*, *P. jasminifolia* e *S. sessiliflorum* contra *T. beemeri* (tabela 2). Em conformidade com os critérios propostos por Holetz *et al.* (2002), extratos que apresentem CMI abaixo de 100 µg/mL são de boa atividade; 100 a 500 µg/mL são moderados e; entre 500 a 1000 µg/mL são fracos. Já os valores acima de 1000 µg/mL são inativos. Portanto, tratando-se do extrato hexânico de cipó-cacheado, cubiu e cipó-alho, a CMI desses produtos tem a seguinte classificação (tabela 2).

Tabela 2. Concentração mínima inibitória (CMI) dos extratos hexânicos de *Mansoa alliacea*, *Pleonotoma jasminifolia* e *Solanum sessiliflorum* contra *Trichosporon beemeri*.

Extrato orgânico	CMI (µg/mL)	Classificação
(Holetz <i>et al.</i> (2002))		
Hexano (<i>M. alliacea</i>)	312,5	Moderada

Hexano (<i>P. jasminifolia</i>)	625	Fraca
Hexano (<i>S. sessiliflorum</i>)	156,25	Moderada

3.4 Bioautografia

A análise bioautográfica foi realizada com os extratos hexânicos de *M. alliacea*, *P. jasminifolia* e *S. sessiliflorum* contra *T. beemeri*, por apresentarem os maiores halos de inibição nos testes de difusão em ágar por poço. Observou-se formação de halo de inibição em torno das bandas cromatográficas com Rf (fator de retenção) variando entre 0,6 a 0,93 (Tabela 3).

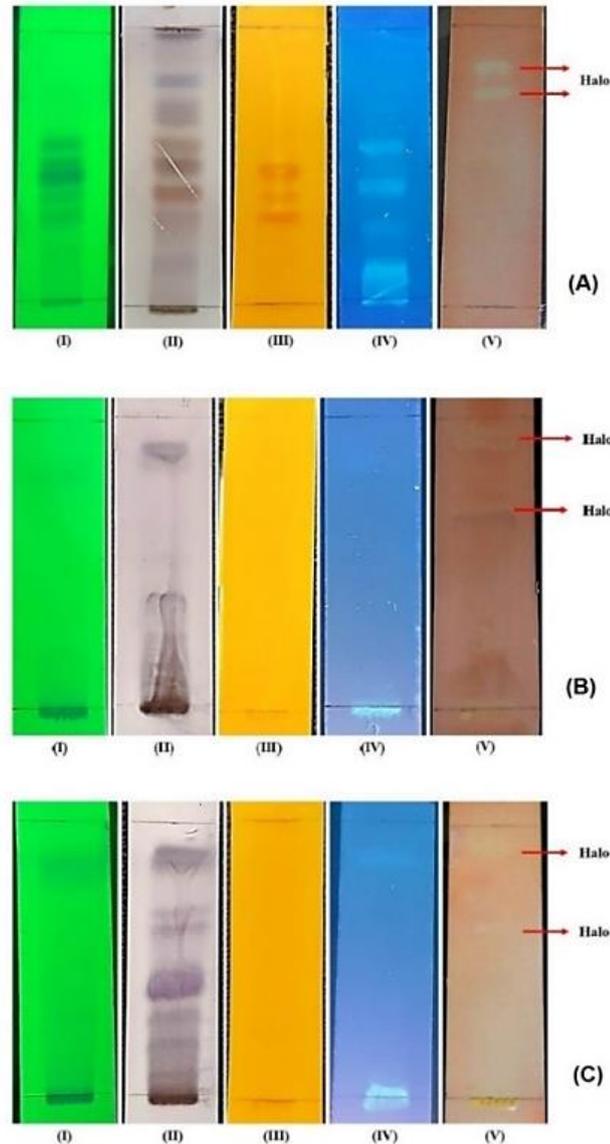
Tabela 3. Bioautografia dos extratos hexânicos de *Mansoa alliacea*, *Pleonotoma jasminifolia* e *Solanum sessiliflorum* contra *Trichosporon beemeri*.

Extrato orgânico	Rf do halo de inibição
Hexano (<i>M. alliacea</i>)	0,93
	0,63
Hexano (<i>P. jasminifolia</i>)	0,88
	0,61
Hexano (<i>S. sessiliflorum</i>)	0,93
	0,6

Rf (fator de retenção).

Os reagentes Dragendorff, anisalaldeído sulfúrico e NP-PEG revelaram a presença de classes químicas como alcalóides, terpenos, flavonóides, respectivamente (figuras 1). A presença dessas classes de compostos é comumente encontrada em estudos fitoquímicos com espécies de *Mansoa* e *Solanum* (Azulay *et al.*, 2011; Pires *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2020; Sousa; Abreu, 2023).

Figura 1 – Extrato hexânico de (A) *P. jasminifolia*; (B) *S. sessiliflorum* e (C) *M. alliacea*. (I) UV 264 nm; (II) anisaldeído sulfúrico; (III) Dragendorff; (IV) NP-PEG/UV 365 nm; (V) bioautografia.



Fonte: Os autores (2023).

4 CONCLUSÃO

O presente estudo comprovou a eficiência do método de extração utilizado para obtenção de compostos orgânicos das folhas de *Mansoa alliacea*, *Pleonotoma jasminifolia*, *Solanum sessiliflorum* e respectivo potencial antifúngico dos extratos orgânicos contra leveduras patogênicas testadas, exceto *T. beigeli*. Os extratos hexânicos das três espécies vegetais apresentaram maior espectro de ação inibitória, sendo *T. beemeri* a levedura mais sensível à ação dos biocompostos extraídos em hexano.

Os dados referentes à CMI mostraram que o extrato hexânico de *P. jasminifolia* expressou atividade antifúngica fraca, enquanto os extratos hexânicos de *S. sessiliflorum* e *M.*

alliacea a atividade foi moderada contra *T. beemerii*. A análise por bioautografia evidenciou que os extratos hexânicos apresentam compostos bioativos com atividade anti-levedura, observou-se ainda a existência de classes químicas como alcalóides, terpenos e flavonóides.

Os resultados indicam que estes extratos são fonte de biocompostos com ação anti-levedura, contudo análises adicionais devem ser realizadas para viabilizar aplicação industrial desses biocompostos.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) e à Universidade Federal do Amazonas (UFAM), pelo apoio técnico, científico e financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSUMPÇÃO, I. C. P.; SILVA, B. A. C., MENDES, M. F. Bioprospecção de plantas medicinais com potencial anticancerígeno no Brasil: caracterização e métodos de extração. **Rev Fitos** Rio de Janeiro. 2022; Supl. (2): 156-175. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1251>. Acesso em: 25 out. 2023.

AZULAY, L. B. O.; LAMEIRA, O. A.; ROCHA, T. T.; RIBEIRO, F. N. S. Avaliação fenólica e screening fitoquímico de *Mansoa alliacea* (LAM.) A. Gentry – Bignoniaceae. **15º Seminário de Iniciação Científica da Embrapa**, Embrapa Amazônia Oriental, Belém, 2011.

BARNETT, J. A.; PAYNE, R. W.; YARROW, D. **Yeast: characteristics and identification**. 2. ed. Cambridge; New York; Port Chester; Melbourne; Sidney: Cambridge University Press, 1990.

CRUZ, J. F.; QUITERIO, T. C. FRANCO, P. V.; CASTRO, A. P. Cubiu (*Solonum sessiflorum*): Uma fruta alimentar, medicinal e cultural. **Braz J Dev**, Curitiba, v.9, n.1, p.92-107, 2023.

FERNANDES, L. A.; SANTOS, R. W. C.; SOUZA, A. F. Utilização de extratos vegetais para análise do potencial antibacteriano. **Rev Biociênc**, Universidade de Taubaté, v. 26, n. 2, p. 37-49, 2020.

FISHER, F.; COOK, N. B. **Fundamentals of diagnostic mycology**. Philadelphia: Saunders, 1998.

GUEDES, E. M.; MENDONÇA, C. M. S.; NUNES, L. E.; ARAÚJO, Ítalo D. R. de. Atividade antimicrobiana da planta *Azadirachta indica* (nim indiano) – uma revisão integrativa. **Diversitas J, [S. l.]**, v. 7, n. 4, 2022. Disponível em: https://diversitas.emnuvens.com.br/diversitas_journal/article/view/2350. Acesso em: 9 nov. 2023.

GOMES, B. M. **Revisão de *Pleonotoma* Miers (Gignonieae, Bignoniaceae)**. 2006. 96 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2006. Disponível em: <https://repositorio.unb.br/handle/10482/5741?mode=full>. Acesso em: 02 set. 2023.

GONÇALVEZ, K. M.; SOLDATI, P. P.; SILVA, A. F.; VENÂNCIO, R. P.; CHAVES, M. G. A. M.; RAPOSO, N. R. B. Biological activities of *Solanum sessiliflorum* DUNAL. **Biosci J**, v. 29, n. 4, 2013.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

KAUNDA, J. S.; ZHANG, Y. J. The Genus *Solanum*: Na Ethnopharmacological, Phytochemical and Biological Properties Review. **Nat Prod Bioprospecting** v. 9, p. 77-137, 2019.

LAZARTE, A. P.; RIOS, C. R. P. Conocimiento y utilización de plantas medicinales en comunidades yuracares. TIPNIS, Cochabamba, Bolivia. **Gac Med Bol**, Cochabamba, v. 43, n. 1, p. 41-48, 2020. Disponível em http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S101229662020000100008&lng=es&nrm=iso. Acesso em: 17 set. 2023.

LIMA, E. L. F. D. **Atividade antifúngica e potencial antibiofilme do extrato hidroetanólico de *Spondias mombin* L. e de suas frações frente a leveduras do gênero *Candida***. 2021. 73 f. Tese (Doutorado em Ciências Odontológicas) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/44690>. Acesso em: 18 set. 2023.

LIMA, R. F. S.; TURRINI, R. N. T.; SILVA, L. R.; MELO, L. D. S.; AUGUSTO, S. I. Práticas populares de cura e o uso de plantas medicinais por mães ribeirinhas no cuidado infantil. **Rev Pesqui Cuidado é Fundamental Online**, v. 9, n. 4, p. 1154-1163, 2017. Acesso em: 19 set. 2023.

LOPES, P. M. **Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos *Dioscorea piperifolia* frente à microrganismos patogênicos**. 2016. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2016.

MARTINS, M. S.; TEIXEIRA, M. F. S.; SILVA, J. C.; KIRSCH, L. S.; FERNANDES, O. C. C.; CARNEIRO A. L. B.; CONTI, R. D.; DURÁN, N. Amazonian Biodiversity: Pigments from *Aspergillus* and *Penicillium*-Characterizations, antibacterial activities and their toxicities. **Curr Trends Biotechnol Pharm**, v. 6, n. 3, p. 300-311, 2012.

MARKAM, J.; SINGH, R. K.; JOSHI, P. K.; SONI, N.; LALCHAND. Phytochemical study of Hydroalcoholic extract of *Mansoa alliacea* (Lam.) Leaf. **J Ayurveda Integr Med Sci**, v. 3, n. 5, p. 70-75, 2018. Disponível em: <https://jaims.in/jaims/article/view/495/505>. Acesso em: 03 nov. 2023.

MELO, J. A.; SANTOS, L. P. M.; ALMEIDA, R. M.; FUJIWARA, R. T.; FERREIRA, S. R.; NASCIMENTO, L. S.; NASCIMENTO, F. C. Compostos organossulfurados: atividade Leishmanicida e nematocida do óleo essencial das folhas de *Mansoa alliacea* em *Leishmania amazonensis* e *Caenorhabditis elegans*. **Rev Virtual de Química**, v. 13, n. 4, p. 910-918, 2021.

NCCLS. **Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras**; Norma Aprovada—Segunda Edição. NCCLS document M27-A2 [ISBN 1-56238-469-4]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 Estados Unidos, 2002.

NOGUEIRA, C. L. B.; AMARA, I. L.; SOARES, M. L. C.; MATOS, F. D. Plantas Ruderais Colonizadoras de Áreas Desflorestadas Pela Exploração de Petróleo e Gás Natural. **XVIII Jornada de Iniciação Científica PIBIC CNPq/FAPEAM/INPA**, 2009. Disponível em: https://repositorio.inpa.gov.br/bitstream/1/3421/1/pibic_inpa.pdf. Acesso em: 03 set. 2023.

OLIVEIRA, M. L. B.; FRANÇA, T. A. R.; CAVALCANTE, F. S.; LIMA, R. A. Uso, classificação e diversidade de *Solanum* L. (Solanaceae). **Biodiversidade**, v. 19, n. 3, p. 142-159, 2020.

PIRES, A. M. B., SILVA, P. S., NARDELLI, P. M., GOMES, J. C., RAMOS, A. M. Caracterização e processamento de cubiu (*Solanum sessiliflorum*). **Ceres**, v. 53, n. 307, 2006.

PIRES, F. B.; DOLWITSCH, C. B.; DAL PRÁ, V.; MONEGO, D. L.; SCHNEIDER, V. M.; LOOSE, R. F.; SCHMIDT, M. E. P.; BRESSAN, L. P.; MAZUTTI, M. A.; ROSA, M. B. An overview about the chemical composition and biological activity of medicinal species found in the Brazilian Amazon. **J Appl Pharm Sci**, v. 2, n. 12, p. 233-238, 2016.

PIRES, L. K. S.; GRISOTTO, M. G.; GRISOTTO, R. F. O uso de plantas da Amazônia na produção de bioprodutos para tratamentos de pele. **Rev Investig Bioméd**, v. 9, p. 78-88, 2017.

PRADO, F. B., ROCHA, W. C.; MARTIM, S. R.; ALECRIM, M. M.; SILVA, L. P.; SILVA, L. S. C.; SILVA, T. A.; TEIXEIRA, M. F. S. Produção de compostos bioativos por *Aspergillus* mantidos sob duas condições de preservação. **Bol Mus Para Emílio Goeldi Sér Ciênc Nat**, v. 12, n. 1, p. 37-47, 2017.

REGASINI, L. O.; PIVATTO, M.; SCORZONI, L.; BENADUCCI, T.; FUSCO-ALMEIDA, A. M.; GIANNINI, M. J. S. M.; BARREIRO, E. J.; SIVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S. Antimicrobial activity of *Pterogyne nitens* Tul., Fabaceae, against opportunistic fungi. **Rev Bras Farmacogn**, v. 20, n. 5, p. 706-711, 2010.

RIBEIRO, C. M. **Avaliação antimicrobiana de plantas medicinais da Amazônia**. 2008. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, Belém, 2008. Disponível: https://www.repositorio.ufpa.br/bitstream/2011/1862/5/Dissertacao_AvaliacaoAtividadeAntimicrobiana.pdf. Acesso em: 08 nov. 2023.

SANTOS, F. S. **Desenvolvimento de xampu pediculicida a base de melão-de-são-caetano (*Momórdica charantia* L.)**. 2020. 63 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/14103>. Acesso em: 15 set. 2023.

SERENO, A. B.; ANDRADE, M. T. P.; BORGES, G. S. C.; MONTRUCCHIO, D. P.; FERREIRA, S. M. R.; BERTIN, R. L.; REASON, I. J. M.; KRUGER, C. C. H. Teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante encontrados na casca do maná-cubiu (*Solanum*

sessiliflorum Dunal), cultivado na Mata Atlântica Brasileira. **Braz J Develop**, Curitiba, v. 6, n. 11, p. 93187-93199, 2020.

SILVA, A. A. O.; FIGUEIREDO, A. T. F. B.; SANTOS, P. A.; BELO, E. S.; SOUZA, M. J. M. F. Análise fitoquímica e doseamento de metabólitos secundários das folhas de *Miconia albicans* (Sw) Triana coletadas de duas regiões do Estado de Goiás. **REFACER**, v. 10, n.1, p. 71-91, 2021.

SILVA, A. S. **Maná-cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal): Extração e caracterização da polpa, efeito na viabilidade de bactérias acidoláticas e aplicação em leites fermentados**. 2019. 110 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2019.

SILVA J. C. **Perfil da Viabilidade Celular e Atividade Antimicrobiana de Espécies de *Penicillium* do Acervo da Coleção de Culturas DPUA**. 2008. 45 f. Dissertação (Mestrado em Diversidade Biológica) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2008.

SREELAKSHMI, K. P.; MUTHUSWAMY, R. Review on garlic creeper-*Mansoa alliacea* (Lam.) AH Gentry (Bignoniaceae). **Int J Pharmacogn Pharm Sci**, v. 3, p. 22-5, 2021.

SOUSA, A. C. J.; OLIVEIRA, J. S.; PORCY, C.; SOUZA, M. J. C.; MENEZES, R. A. O. Potencial antimicrobiano de extratos vegetais frente a cepas bacterianas de interesse médico em Macapá, Amapá, Amazônia Brasileira. **Rev Diagn Tratamento**, v. 24, n.3, 2019.

SOUSA, W. G. M.; ABREU, M. C. Caracterização química, biológica e nutricional de plantas alimentícias não convencionais do gênero *Solanum* L. (Solanaceae). **Rev Elet Cient UERGS**, v. 9, n. 2, p. 132-142, 2023.

SUDIRGA, S. K.; GINANTRA, I. K.; DARMAYASA, I. B. G. Antifungal activity of leaf extract of *Mansoa alliacea* Against *Colletotrichum acutatum* the cause of anthracnose disease on chili pepper. **6th International Conference on Sustainable Agriculture, Food and Energy**, 2019. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/347/1/012058/pdf>. Acesso em: 03 nov. 2023.

TAVARES-DIAS, M. DIAS, M. K. R. Recomendação do cipó-alho (*Mansoa alliacea*) na dieta de alevinos de pirarucu para melhoria do crescimento e imunidade. **Comum Téc (Embrapa Amapá)**, 2020.

TEIXEIRA, M. F. S.; QUEIROZ, L. A.; CARVALHO, S. M. S. Una tecnica para preparaciones permanentes de leveduras. **Bol Micol**, v. 7, n.1-2, p. 23-25, 1992.

TEIXEIRA, M. F. S.; SILVA, T. A.; PALHETA, R. A.; CARNEIRO, A. L. B.; ATAYDE, H. M. **Fungos da Amazônia: uma riqueza inexplorada (Aplicações Biotecnológicas)**. Manaus: Edua, 2011.

YUYAMA, L. K. O. PANTOJA, L., MAEDA, R.N., AGUIAR, J.P.L., SILVA, J.P.L.A. Desenvolvimento e aceitabilidade de geléia dietética de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal). **Ciênc Tecnol Aliment**, Campinas, v. 28, n. 4, p.929-934, 2008.