

**CENTRO UNIVERSITÁRIO BARÃO DE MAUÁ
BIOMEDICINA**

**BEATRIZ ERNANDE FARIA
JOÃO VÍTOR SILVA PIRES
TAYLA CRISTINA NUNES LEONCINI**

**POTENCIAL FARMACOLÓGICO DO EXTRATO DA FOLHA DA *Tetradenia riparia*
E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA.**

**Ribeirão Preto
2023**

**BEATRIZ ERNANDE FARIA
JOÃO VÍTOR SILVA PIRES
TAYLA CRISTINA NUNES LEONCINI**

**POTENCIAL FARMACOLÓGICO DO EXTRATO DA FOLHA DA *Tetradenia riparia*
E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA.**

Trabalho de conclusão de curso de
Biomedicina do Centro Universitário Barão
de Mauá como requisito parcial para
obtenção do título de bacharel.

Orientador: Me. José Norberto Bazon

Ribeirão Preto

2023

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

P861

Potencial farmacológico do extrato da folha da *Tetradenia riparia* e atividade antifúngica/ Beatriz Ernande Faria; João Vítor Silva Pires; Tayla Cristina Nunes Leoncini - Ribeirão Preto, 2023.

39p.il

Trabalho de conclusão do curso de Biomedicina do Centro Universitário Barão de Mauá

Orientador: Me. José Norberto Bazon

1. *Candida albicans* 2. *Aspergillus fumigatus* 3. *Tetradenia* I. Faria, Beatriz Ernande II. Pires, João Vítor Silva III. Leoncini, Tayla Cristina Nunes IV. Bazon, José Norberto V. Título

CDU 615

Bibliotecária Responsável: Maria Gabriela Farias Cobianchi CRB⁸ 9914

• **POTENCIAL FARMACOLÓGICO DO EXTRATO DA FOLHA DA *Tetradenia riparia* E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA.**

Trabalho de Conclusão do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Barão de Mauá, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel.

Data de aprovação: / / 2023.

BANCA EXAMINADORA

Adriana de Oliveira Afonso

Dra. Adriana de Oliveira Afonso

Centro Universitário Barão de Mauá – Ribeirão Preto

Me. Antonio José Ipólito

Centro Universitário Barão de Mauá – Ribeirão Preto

Me. José Norberto Bazon

Centro Universitário Barão de Mauá – Ribeirão Preto

Ribeirão Preto

2023

AGRADECIMENTOS.

Agradecemos aos familiares, pelo incentivo, apoio e compreensão durante essa jornada. Ao nosso orientador Me. José Norberto Bazon, pelo direcionamento durante esse projeto e aos técnicos de laboratório que estiveram preparados e dispostos a nos auxiliar durante o experimento.

RESUMO

As plantas medicinais sempre exerceram grande importância na vida dos nossos antepassados, auxiliando na cura e prevenção de doenças. No Brasil, essa tradição sofreu influência dos africanos, indígenas e europeus. Uma das formas de utilização dessas plantas é através de extratos que podem ser produzidos por maceração, percolação e digestão. A *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd, da família Lamiaceae, empregada na medicina popular, é também conhecida como Falsa-mirra. Atualmente, existe uma crescente busca por novas terapias visando tratar infecções fúngicas, devido ao crescimento dos seus mecanismos de resistência. Este estudo visa verificar o potencial antifúngico do extrato etanólico das folhas de *Tetradenia riparia* contra os patógenos *Aspergillus fumigatus* e *Candida albicans*. O extrato das folhas *in natura* foi obtido a partir da maceração manual com solvente etanol e etanol/água, depois testado contra os fungos a partir do método de diluição em ágar, sendo o experimento realizado em duplicata para maior confiabilidade dos resultados. Esse estudo demonstrou que há um potencial positivo no extrato da *Tetradenia riparia* para o tratamento de infecções fúngicas causadas pelos patógenos analisados.

Palavras-chave: *Candida albicans*; *Aspergillus fumigatus*; *Tetradenia*.

ABSTRACT

Medicinal plants have always played a significant role in the lives of our ancestors, aiding in the treatment and prevention of diseases. In Brazil, this tradition has been influenced by Africans, Indigenous peoples, and Europeans. One of the ways these plants are utilized is through extracts, which can be produced through maceration, percolation, and digestion. *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd, a member of the Lamiaceae family, has been used in folk medicine and is also known as False Myrrh. Currently, there is a growing demand for new therapies to treat fungal infections due to the increasing resistance mechanisms of these pathogens. This study aims to assess the antifungal potential of the ethanolic leaf extract of *Tetradenia riparia* against the pathogens *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans*. The extract from the fresh leaves was obtained through manual maceration with ethanol and ethanol/water solvent and then tested against the fungi using the agar dilution method, with the experiment conducted in duplicate for enhanced result reliability. This study has demonstrated a positive potential in the *Tetradenia riparia* extract for the treatment of fungal infections caused by the analyzed pathogens.

Keywords: *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Tetradenia*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Grupo de fungos com prioridade crítica	16
Figura 2 - Moléculas presentes na planta	17
Figura 3 - Moléculas presentes na planta	18
Figura 4 - Moléculas presentes na planta	18
Figura 5 - Moléculas presentes na planta	18
Figura 6 - Moléculas presentes na planta	19
Figura 7 - <i>Tretadenia riparia</i>	20
Figura 8 – Detalhes das folhas da <i>Tetradenia riparia</i>	20
Figura 9 - Preparação do extrato	23
Figura 10 - Extratos prontos	24
Figura 11 – Esquema de diluições	25
Figura 12 - Teste de sensibilidade <i>A. fumigatus</i>	26
Figura 13 - Teste de sensibilidade <i>A.fumigatus</i> de outro ângulo	27
Figura 14 - Teste de sensibilidade <i>C. albicans</i>	27
Figura 15 - Teste de sensibilidade <i>C. albicans</i> de outro ângulo	28

LISTA DE SIGLAS

PBS	Fosfato-salino
OMS	Organização Mundial da Saúde
WHO FPPL	World Health Organization, Fungal Priority Pathogens List
YPD	Yeast Peptone Dextrose
MM	Meio mínimo
MIC	Concentração inibitória mínima

LISTA DE ABREVIações

°C	Graus celsius
mL	Mililitros
g	Gramas
µL	Microlitros
%	Porcento
h	Horas
p/v	Peso por volume
EtOH	Etanol
OEs	Óleos essenciais

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 Microrganismos.....	12
1.2 Propriedades fitoquímicas da planta.....	16
2 JUSTIFICATIVA.....	21
3 OBJETIVO GERAL.....	22
3.1 Objetivos específicos.....	22
4 MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1 Preparação do extrato.....	23
4.2 Linhagens e meio de cultura	24
4.3 Ensaio de sensibilidade.....	24
5 RESULTADOS.....	26
6 DISCUSSÃO	29
7 CONCLUSÃO	32
REFERÊNCIAS.....	33

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são aquelas que através da biossíntese formam os metabólitos secundários, os quais, muitas vezes, são denominados de princípios ativos. Estas substâncias uma vez isoladas e purificadas por métodos adequados podem ser utilizadas no tratamento de muitas doenças ou então, modificadas quimicamente, dão origem a novos compostos sintéticos, que se farmacologicamente adequados são utilizados em diversos tratamentos (ZANGIROLAMI *et al.*,2019).

A importância e a utilização de plantas medicinais data de milênios, porém está se tornando mais evidente atualmente nos países em desenvolvimento ou subdesenvolvidos. No Paquistão, por exemplo, estima-se que 80% das pessoas dependem delas para o tratamento de algum tipo de distúrbio orgânico e, na China este valor chega aproximadamente a 40%. Em países tecnologicamente avançados como Canadá, Austrália e Estados Unidos, a população também utiliza regularmente plantas medicinais para combater certas doenças e no Japão os medicamentos alopáticos são menos procurados que as ervas e os fitoterápicos.

A flora brasileira, seja de mata ou cerrado, representa uma das fontes mais ricas do mundo em espécies com atividade farmacológica devido à sua biodiversidade. As plantas medicinais são muito utilizadas como remédios caseiros no Brasil e em outros países da América Latina, prática desenvolvida por civilizações aqui já existentes e introduzida pelos colonizadores ou imigrantes. É importante ressaltar que diversas espécies utilizadas são nativas de outros continentes e foram introduzidas aqui desde a colonização, a partir de 1500. A Divisão de Medicina Tradicional da OMS reconhece a importância das espécies vegetais utilizadas pelos ameríndios como medicamentos e recomenda que sua eficácia seja avaliada por meio de ensaios farmacológicos e toxicológicos. É importante ressaltar que no início a preparação e uso de plantas medicinais era de forma artesanal, posteriormente com os avanços tecnológicos métodos de preparo e formulações foram sendo desenvolvidos, permitindo melhor aproveitamento das plantas.

Os produtos à base de plantas ou derivados das mesmas. Esta tendência tem levado a preservação da flora e mais investimentos em pesquisas na área de produtos fitoterápicos. As formulações medicamentosas obtidas exclusivamente de matérias-primas com ativos naturais recebem o nome genérico de fitoterápicos.

Atualmente, plantas medicinais e seus fitoterápicos não são mais consideradas como terapia alternativa no tratamento de distúrbios orgânicos, mas uma forma sistêmica e racional de compreender os fenômenos envolvidos em relação à saúde e qualidade de vida (BRANDELLI, 2017).

Uma das formas de obter as propriedades medicinais de plantas é através de extratos ou óleos essenciais.

Os extratos vegetais são preparados a partir da dissolução das substâncias presentes no vegetal, a partir de um líquido extrator. Os líquidos extratores, também conhecidos como solventes e, os mais utilizados são: álcoois, água e óleos vegetais e/ou combinações entre eles. Estes solventes extraem por afinidade química, substâncias do material previamente escolhido das partes da planta, tais como, folhas, caule, flor, sementes, etc. Os extratos podem ser preparados a partir de: Maceração, digestão ou percolação.

A maceração consiste na extração dos metabólitos secundários dos vegetais com um solvente por dias, com agitações ocasionais sem a remoção do solvente. A digestão consiste em maceração em temperatura quente, entre 40 a 50° C. E por último, a percolação consiste na pulverização da droga vegetal adicionada com o solvente, mantendo os dois em contato por um período determinado em um recipiente cilíndrico, chamado de percolador, através dele o líquido extrator passa, com o controle do fluxo e variação da mistura de solventes.

Algumas formas que os extratos possuem são: Tintura, preparado a partir de uma mistura hidroalcoólica, a concentração alcoólica pode ser de 60 a 90% tendo uma relação droga/tintura de 1:5 ou 1:10 (LIMA, 2021); Extractor fluído, que é obtido a partir da evaporação de um extrato alcoólico ou aquoso em uma temperatura que não ultrapasse 50 °C até a concentração 1:1 ser obtida, sendo mais concentrado que a tintura (SAAD *et al.*, 2016); Extrato seco, que é obtido a partir da evaporação total do solvente, assim obtendo um pó (LIMA, 2021), um dos métodos industriais para a obtenção de extrato seco é o spray dryer e a liofilização (SAAD *et al.*, 2016) Extrato oleoso, obtido a partir do tratamento com óleos vegetais (oliva, girassol, abacate);

Extrato glicólico, que se obtém através da maceração em temperatura ambiente com glicerina ou propilenoglicol, com uma relação 1:5 (LIMA, 2021).

O Brasil é um dos poucos países com a maior biodiversidade de plantas medicinais em regiões de preservação. Muitas com comprovações científicas são utilizadas para tratamento de diversos distúrbios enquanto outras, ainda em fase de estudos.

Como exemplos cita-se: Canela de velho (*Miconia albicans*) seus extratos contém atividade contra diversos tipos de bactérias e contra *Candida albicans*.

Guaçatonga (*Casearia sylvestris*), popularmente conhecida no Brasil como café de bugre, seu extrato ajuda na redução de ulcerações causadas por refluxo e no aumento do número de fibras de colágeno (JOLIVI, 2020).

Inhame (*Colocasia esculenta*), seu extrato provou - se capaz de reduzir em até 50% a proliferação de células de câncer de mama e em 30% a proliferação de câncer de intestino (REIS, 2011)

1.1 Microrganismos

Visto a problemática crescente de infecções por tais, esse trabalho consiste em verificar a eficiência do extrato de *Tetradenia riparia* (popularmente mirra) contra os fungos *Candida albicans* e *Aspergillus fumigatus*.

A *Candida albicans* é um fungo leveduriforme e comensal do trato gastrointestinal e geniturinário do ser humano e de outros animais de sangue quente, sendo a mais frequente das espécies de *Candida* em cavidade bucal (cerca de 70%) (FERREIRA, 2017).

Em relação a sua morfologia, esse fungo tem a capacidade de crescer como uma levedura de brotamento ou em formas filamentosas de pseudo-hifas ou até mesmo hifas verdadeiras, essa transição é essencial para sua patogenicidade, tanto em nível superficial quando sistêmico (SUDBERY, 2011).

Os fungos do gênero *Candida* são dimórficos e oportunistas, sua patogenicidade está envolvida em processos fisiológicos como infecções, toxinas, capacidade de adesão e produção de biofilme. Que favorece o fungo com uma resistência ao sistema imunológico e aos antifúngicos (CIUREA *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2019; TAMURA *et al.*, 2007).

O fungo pode ser transmitido para recém-nascidos ao nascerem, durante o parto, por manipulação de médicos ou enfermeiros contaminados e sem alterações clínicas, ou até mesmo por mamadeiras contaminadas. Também é muito encontrada em usuários de próteses, podendo formar biofilme, diabéticos e indivíduos que fazem dietas ricas em açúcares, o que pode explicar a grande associação entre a *Candida* e pessoas de meia-idade. Há uma grande presença dessas leveduras no canal vaginal, podendo ter um aumento ou diminuição durante a gravidez, devido aos hormônios, ou até mesmo a mudança de pH vaginal. Esse fungo não é muito encontrado na pele de pessoas saudáveis, sendo às vezes encontrado em fissuras dos dedos ou região perianal. A principal doença causada por esse fungo é a candidíase que como manifestação clínica pode incluir micoses cutâneas em regiões como pele, unha e mucosas, candidíase mucocutânea crônica, infecção no sangue, endocardite, meningite, peritonite, gastrenterite, endoftalmite, infecção nas suprarrenais, pneumonia (raramente) e vulvovaginite, sendo assim, causando micoses cutâneas ou sistêmicas. A doença está muito relacionada com a predisposição do hospedeiro, ou seja, ao estado de saúde do mesmo. As condições mais frequentes para que o hospedeiro seja acometido pela candidíase são: Pessoas imunocomprometidas, pessoas que sofreram intervenções cirúrgicas, pessoas que usam cateteres, antibioticoterapia de grande duração, pessoas que fazem sessões de quimioterapia, pessoas com queimaduras de vasta extensão (FERREIRA, 2017).

Normalmente o prognóstico para a candidíase é bom a não ser que haja uma infecção sistêmica, ou algo mais sério como meningite e endocardite. Para o seu tratamento primeiramente devemos remover os fatores que prejudicam pessoas com diabetes mellitus, uso de violeta genciana, com uma diluição de 1/10.000 em solução aquosa, álcool 10% em manifestações orofaríngeas, porém, a melhor forma de tratar e através da nistatina, mas seu emprego não é muito eficaz em forma oral, a não para combater formas gastroentéricas da doença. Em vaginites pode ser usada em forma de tabletes vaginais, por exemplo. E por último, pode ser usado a Anfotericina B para as formas mais graves da doença (OLIVEIRA, 2014).

Entretanto, a *Candida albicans* tem mecanismos que ajudam na sua resistência contra os antifúngicos (forma mais usada para seu tratamento), como por exemplo a produção de biofilme e bombas de efluxo que são as mais comuns, porém existem algumas mais específicas que garantem resistência a antifúngicos específicos como

o aumento de esfingolipídios que conferem resistência a Anfotericina B, ação da enzima calcinerina que confere resposta à ação dos antifúngicos e ação de enzimas antioxidantes fúngicas que conferem resistência a Fluconazol. (VIEIRA *et al.*, 2015). A *Candida albicans* apresenta grande importância médica, devido ao seu potencial patogênico e sua facilidade de transformação de comensal à patogênico. Permite que pacientes saudáveis e imunodeprimidos sejam acometidos por esse fungo. Sua importância econômica é devido que a *Candida albicans* é responsável pela quarta infecção mais frequente em hospitais (YANO *et al.*, 2011; LAMAGNI, *et al.*, 2001; RAMSDALE, 2008).

O fungo *Aspergillus fumigatus*, pertence à família das Aspergillaceae, à classe Ascomycetos e à subclasse Euscomycetae, sendo encontrados no meio ambiente, correlacionando como o principal agente etiológico responsável por aproximadamente 90% das aspergiloses invasivas diagnosticadas. É um fungo filamentosos, apresentando hifas septadas hialinas com ramificações dicotômicas, apresentando a forma de reprodução assexuada situadas no cimo de uma vesícula do conidióforo sendo ela, esférica, alongada, hemisférica ou elíptica (VEERDONK, 2017).

O *Aspergillus fumigatus* por ser um fungo saprófito se dispõem de fatores de alta virulência, como, a termotolerância, no qual cresce em temperaturas variando entre 15°C a 53°C, esta característica sugere que este microrganismo apresenta mecanismos únicos de resistência ao stress, podendo justificar a sua capacidade de adaptação ao crescimento no hospedeiro, outro mecanismo de resistência, é a parede celular fúngica, no qual mantém a proteção do microrganismo, impedindo a ação de alguns antifúngicos, e por último seu suplemento nutricional por osmotrofia. Essas características metabólicas intrínsecas auxiliam na adesão, colonização, disseminação e imunomodulação, por consequência regulam a resposta imune no hospedeiro (ROCHA, 2013).

Este microrganismo é o agente causal de vários tipos de infecções, tanto em humanos como em animais, que ocorrem nos pulmões, ossos, olhos, aparelho cardiovascular e no sistema nervoso central, sendo um importante patógeno de fungos filamentosos que causa infecção invasiva grave e pneumonia em hospedeiros imunocomprometidos, resultando em altas taxas de mortalidade (DAGENAIS; KELLER, 2009; CARVALHO, 2013).

A Aspergilose é um exemplo de uma micose oportunista que costuma afetar o trato respiratório inferior, causada pela inalação de esporos do fungo dispersos no meio ambiente, raramente é patogênico em hospedeiros saudáveis com pleno funcionamento do sistema imunológico. Os sintomas podem ser os mesmos de asma, pneumonia, sinusite, ou doença sistêmica rapidamente progressiva. O tratamento para aspergilose envolve a administração de anfotericina B ou um agente alternativo, como o voriconazol, de introdução mais recente e que fornece uma opção de tratamento mais eficaz e menos tóxica que a anfotericina B (CARVALHO, 2013). O voriconazole mostrou ter melhor eficácia e tolerância em comparação com a anfotericina B, sendo assim recomendado como terapia de primeira linha (BADDLEY *et al.*, 2013; JACOBS *et al.*, 2011).

A resistência dos antifúngicos desenvolve-se em resposta à exposição de fungos aos compostos azólicos, mostrando que a resistência a droga se desenvolve após a exposição no paciente ou em ambientes, sendo favoráveis condições do desenvolvimento da resistência aos azólicos incluindo a longa duração da exposição ao fármaco e um elevado número de microrganismos em reprodução (SNELDERS., 2008).

A resistência conferida ao *Aspergillus fumigatus* é resultado de uma superprodução da enzima e a alteração no alvo da droga que resulta em aumento do número de cópias da enzima alvo e alteração na ligação da droga sem alterar a capacidade de catalisar a desmetilação (ARAUJO, 2018).

Portanto é de importância clínica médica novos métodos para tratamentos deste patógeno, sendo relatados mais de 200 000 mil casos de aspergilose com risco a infecções humanas anualmente, dependendo do estado imunológico do hospedeiro (WASSANO, 2020).

Os antifúngicos são classificados de acordo com o mecanismo de ação que vai agir no fungo. A maioria dessas drogas afetam a membrana celular ou a integridade da parede celular através da inibição da síntese de ergosterol ou síntese de β -glucana/quitina.

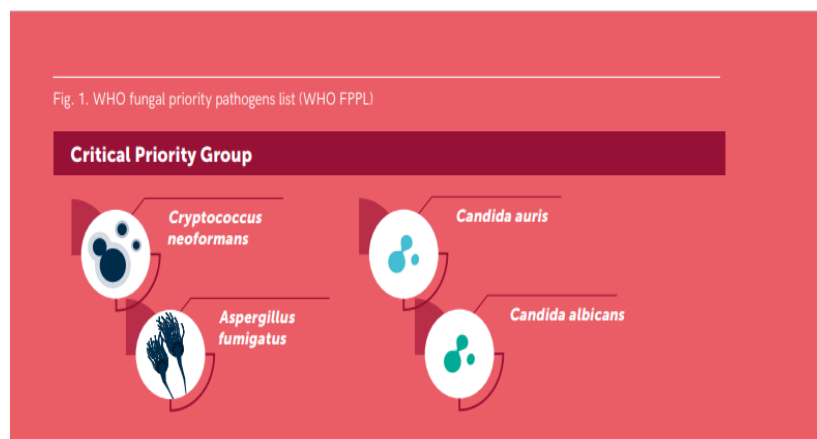
Uma das possíveis complicações do uso de antifúngicos é a aquisição de resistência por parte dos fungos patogênicos observados nos casos clínicos (GULSHAN; MOYE-ROWLEY, 2007; KANAFANI, PERFECT, 2008; MORSCHHÄUSER, 2010). Enquanto a anfotericina B tem atividade fungicida, os

azólicos são geralmente os agentes fungistáticos para *Candida spp* e agentes fungicidas para *Aspergillus spp* (MANAVATHU *et al.*, 1998). Equinocandinas (caspofungina, micofungina e anidulafungina) exibem atividade fungicida contra *Candida spp* e atividade fungistática contra *Aspergillus spp* (GULLO, 2009; BROWN; GOLDMAN, 2016).

Mesmo com a alta preocupação, as infecções fúngicas não recebem a devida atenção e recursos, com isso há uma escassez de informações de qualidade sobre doenças fúngicas e suas resistências aos antifúngicos.

Em 2022, a Organização Mundial da Saúde (OMS) liberou a primeira lista de fungos patogênicos prioritários através da WHO FPPL (*World Health Organization, Fungal Priority Pathogens List*). A WHO FPPL é o primeiro esforço global para dar a devida importância aos patógenos fúngicos. O desenvolvimento dessa lista seguiu uma abordagem de multicritério, concentrando-se em fungos com capacidade de causar infecções sistêmicas invasivas aguda e subagudas, os quais existem resistência a medicamentos ou outros desafios durante o tratamento e gerenciamento dos mesmos. Tais patógenos foram divididos em três grupos (crítico, alto e médio). Dentro do grupo crítico estão os dois fungos que serão usados neste trabalho (Figura 1), *Aspergillus fumigatus* e *Candida albicans*

Figura 1- Grupo de fungos com prioridade crítica



Fonte: OMS

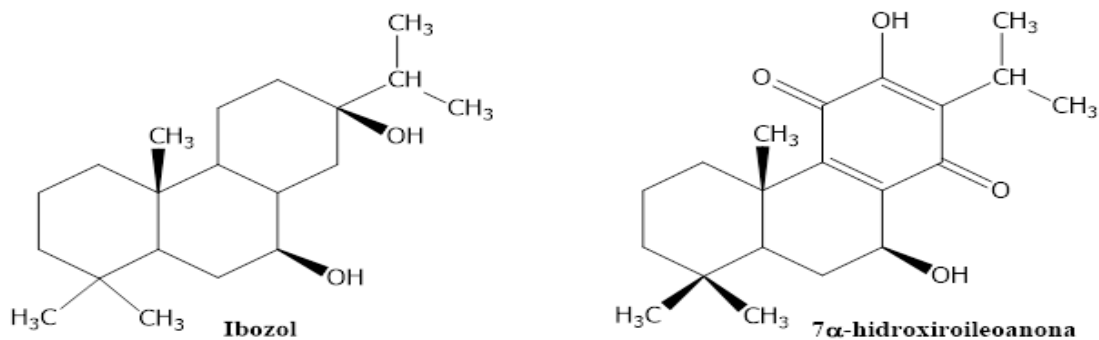
1.2 Propriedades fitoquímicas da planta

Neste estudo foi utilizado para preparação dos extratos as folhas da *Tetradenia riparia* (Figura 2), Família das Lamiaceae, nativa de Ruanda localizada na África Central, conhecida popularmente como Pluma-de-névoa, Falsa-mirra, Incenso, Pau-

de-incenso, Limonete e Umuravumba, sendo cultivadas em locais de climas quentes e ensolarados, preferindo solos bem drenados e ricos em matéria orgânica. É uma planta de características arbustiva e florífera, suas folhas são espessas, ovaladas a cordiformes de cor verde-clara, com margens denteadas e imensamente aromáticas. O povo ruandês utiliza a planta como remédio para várias doenças, tais como malária, angina, bouba, abscessos dentais, dor de cabeça, infecções por vermes, febres e vários tipos de dores (VAN PUYEVELDE *et al.*,2018). Também é utilizada para problemas respiratórios, tosse, dor de estômago, diarreia e dengue (PANDA *et al.*, 2022).

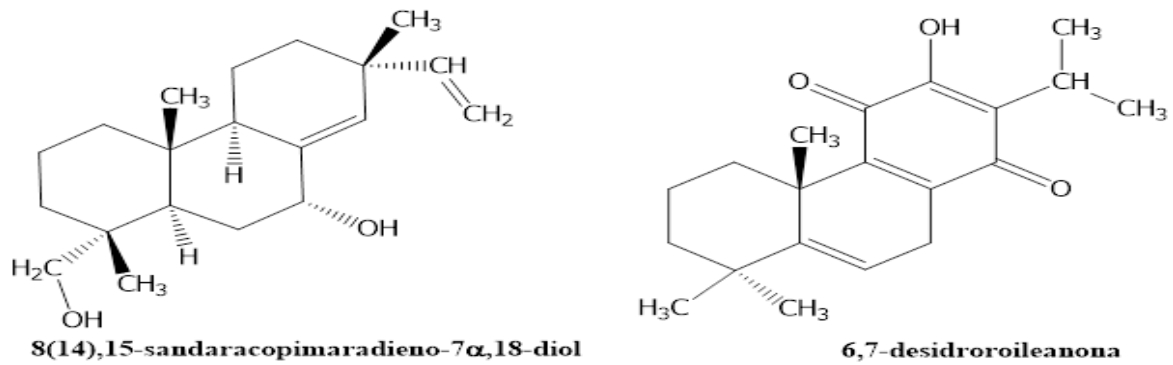
A *Tetradenia riparia* (Figura 3) tem sido estudada fitoquimicamente para isolar e identificar os seus constituintes, nas diversas partes da planta, tanto em extratos quanto nos óleos essenciais. Segundo Panda *et al.*, (2022), Muitos compostos fitoquímicos já foram isolados das folhas, como por exemplo: ibozol, 7 α -hidroxiroileanona; 8(14),15-sandaracopimaradieno-7 α ,18-diol; 6,7-desidroroileanona; 1',2'-dideacetylboronólídeo; 5,6-dihidro- α -pirona e α -pirona. A seguir, estão representadas as estruturas dos compostos mencionados anteriormente. (figuras 2 a 5)

Figura 2- Moléculas presentes na planta.



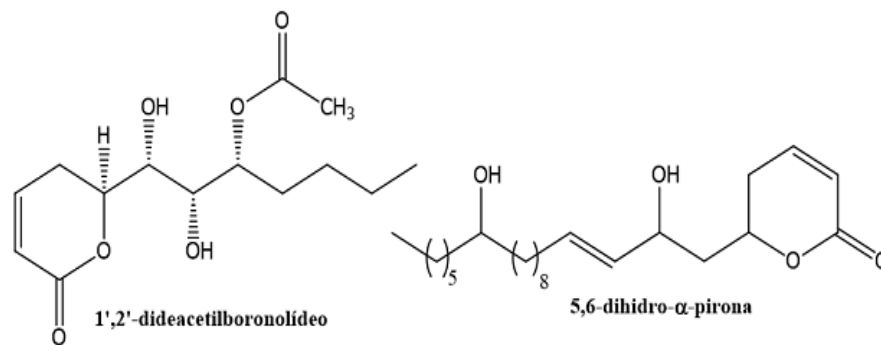
Fonte: Autores do trabalho

Figura 3- Moléculas presentes na planta.



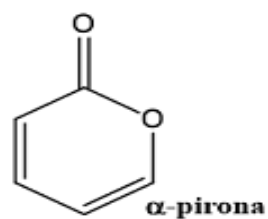
Fonte: Autores do trabalho

Figura 4- Moléculas presentes na planta.



Fonte: Autores do trabalho

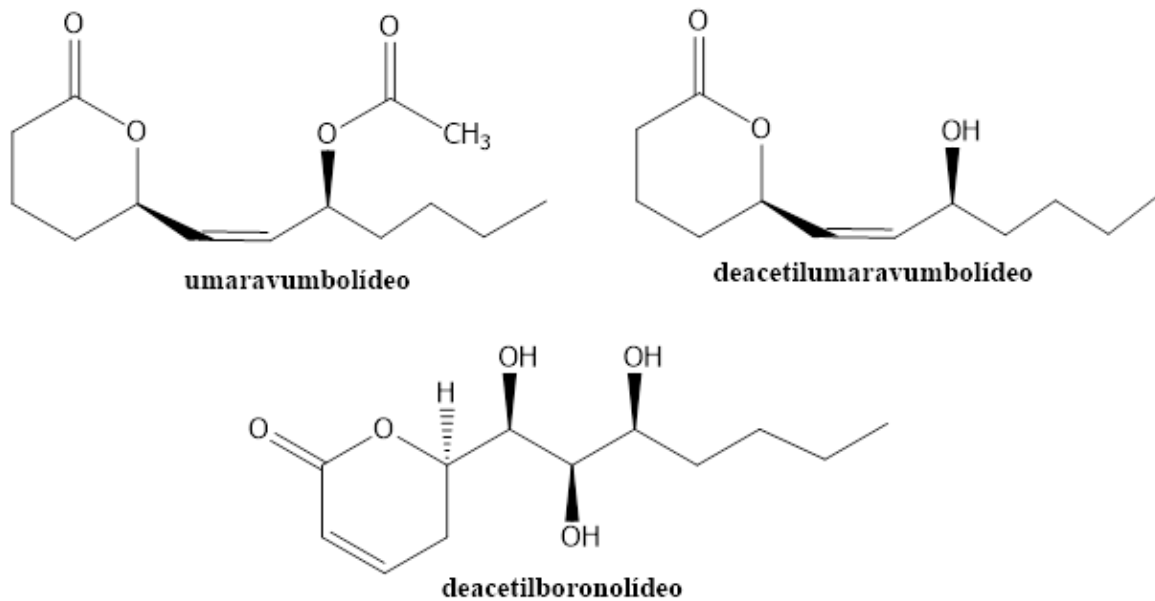
Figura 5- Moléculas presentes na planta.



Fonte: Autores do trabalho

Outros princípios ativos que foram isolados da folha da *T. riparia* foram umaravumbólídeo, deacetilumaravumbólídeo e deacetilboronólídeo (Figura 6) (VAN PUYEVELDE *et al.*, 2018).

Figura 6- Moléculas presentes na planta.



Fonte: Autores do trabalho

Estes compostos conferem à planta atividades antimicrobianas, antioxidantes, antitumorais, analgésicas, anti-parasitária e anti-tuberculose, conferindo à mesma um alto poder farmacológico.

No Brasil, a espécie *Tetradenia riparia* foi introduzida como planta ornamental e é cultivada em parques, jardins residenciais e hortos, distribuídos pelo estado de São Paulo. Nos dias atuais, alguns grupos de pesquisadores têm desenvolvido estudos fitoquímicos e microbiológicos com substâncias extraídas da planta, extratos e seu óleo essencial (ARAÚJO, 2014).

Figura 7- *Tetradenia riparia*.



Fonte: Autores do trabalho

Figura 8- Detalhes das folhas da *Tetradenia riparia*



Fonte: Autores do trabalho

2 JUSTIFICATIVA

Nesse contexto de resistência fúngica, existe uma necessidade urgente em descobrir novos medicamentos antifúngicos. Assim, o estudo de óleos essenciais/extratos associado às vantagens relacionadas à segurança e ausência de efeitos adversos importantes, proporcionam uma valiosa oportunidade para a sua utilização na geração de um novo possível antifúngico.

3 OBJETIVO GERAL

Determinar a eficácia do extrato da *Tetradenia riparia* contra os patógenos *Aspergillus fumigatus* e *Candida albicans*.

3.1 Objetivos específicos

Realizar revisão bibliográfica sobre os patógenos e sobre a planta.

Preparar o extrato aquoso e hidroalcolico das folhas pelo método de maceração manual.

Realizar testes *in vitro* para determinar a atividade antifúngica frente aos patógenos *Candida albicans* e *Aspergillus fumigatus*.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A coleta foi realizada nas partes aéreas da planta *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd. (Lamiaceae), folhas, foram coletadas numa pequena área verde situada em Ribeirão Preto, região Sul, Avenida Alice de Moura Braghetto, bairro City Ribeirão, latitude: -21,210609 e longitude: -47,783424.

A coleta foi realizada no dia 01 de março de 2023 às 15:00h, horário local.

4.1 Preparação do extrato

Foi utilizado 15 gramas de folhas *in natura* da planta, dividida em cinco partes iguais (aproximadamente 3 g) e 25 mL de água e misturas de etanol/água, por parte, como solvente de extração. As folhas foram lavadas com água destilada e secadas em temperatura ambiente. Em seguida, as porções de folhas foram maceradas com água e etanol/água, a 40 °C. Os extratos obtidos foram filtrados, armazenados em frascos âmbar com tampa e acondicionados a 5 °C (Figuras 9 e 10).

Os extratos foram preparados nas seguintes concentrações água/etanol:

Extrato 1 - 100% água;

Extrato 2 - água/etanol 10%;

Extrato 3 - água/etanol 20%;

Extrato 4 - água/etanol 30%;

Extrato 5 - água/etanol 40%;

Figura 9 - Preparação do extrato.



Fonte: Autores do trabalho.

Figura 10 - Extratos prontos.



Fonte: Autores do trabalho.

4.2 Linhagens e meio de cultura

Para este ensaio, foram utilizadas: uma cepa de *Candida albicans* (ATCC64548) e uma cepa de *Aspergillus fumigatus* (cepa selvagem – CEA17).

Os meios de cultura utilizados foram:

Para *C. albicans*: meio completo YPD ágar (2% p/v glicose, 1% p/v extrato de levedura, 2% p/v peptona e 2% p/v ágar), meio YPD líquido com a mesma composição (mas sem ágar).

Para *A. fumigatus*: meio mínimo (MM) [1% (p/v) glicose, sais de nitrato, traços de elementos, pH 6.5]. Os sólidos YG e MM foram iguais aos descritos acima com a adição de 2% (p/v) agar.

As cepas foram cultivadas a 30 °C (*C. albicans*) e 37 °C (*A. fumigatus*).

4.3 Ensaio de sensibilidade

Para verificar a sensibilidade aos extratos, utilizou-se placa de 24 poços contendo 1 mL de volume total de meio de cultura sólido com ou sem os extratos.

Para os controles, foram adicionadas as concentrações de etanol presentes nos extratos.

Adicionou-se 40% (0,4 mL de extrato em 1 mL de meio de cultura) de cada extrato aos meios de cultura sólidos (os quais foram preparados mais concentrados, com menor concentração de água para não ter problema em diluí-los com a adição de 40% dos extratos).

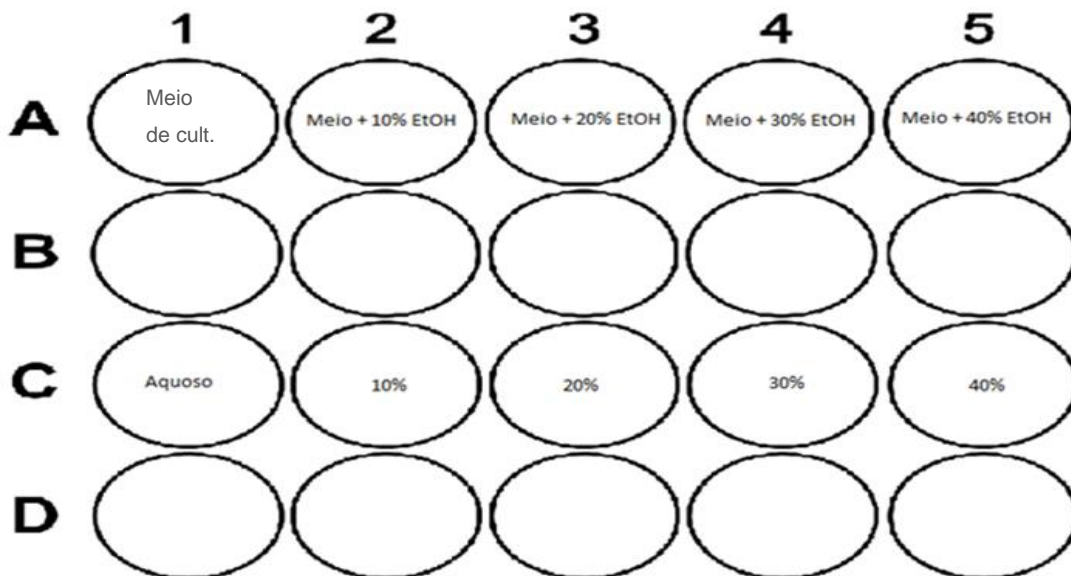
No centro de cada poço contendo os meios de culturas, foram gotejados 5 μ L das suspensões de células (em tampão PBS 1x) na concentração de 2×10^6 células/mL. Sendo assim, na gota de 5 μ L haviam 10^4 células de *C. albicans* ou 10^4 de esporos de *A. fumigatus*.

Os inóculos preparados para a concentração de *Aspergillus fumigatus*, foi preparado a partir da contagem de esporos na câmara de Neubauer e a contagem de *Candida albicans* foi realizada na forma de levedura e também foi realizada na câmara de Neubauer.

As placas foram colocadas em estufa a 30 °C ou 37 °C, por 48 h.

O ensaio foi feito em duplicata para cada concentração. Na imagem, temos a foto representativa de uma réplica (Figura 11).

Figura 11 – Esquema de diluições.



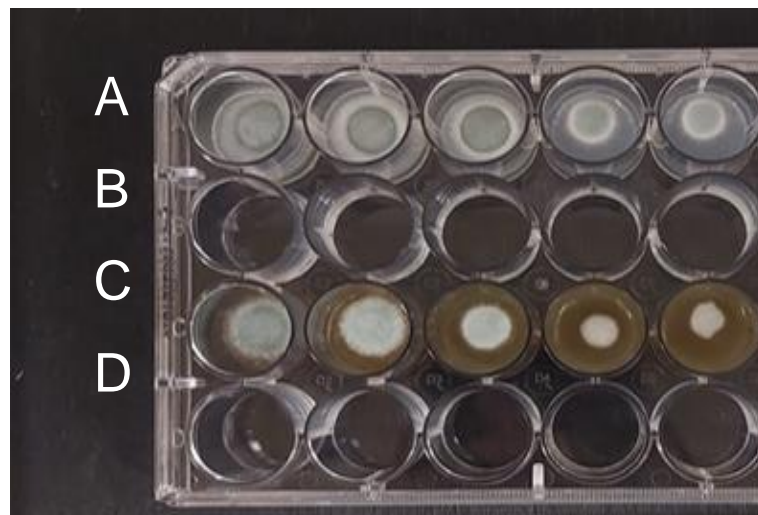
A – Controles C – Testes.

Fonte: Autores do trabalho.

5 RESULTADOS

Verificou-se uma significativa redução no crescimento de *C. albicans* com o extrato 30% e uma total inibição do crescimento como extrato 40%. Para *A. fumigatus*, observou-se uma redução no crescimento e esporulação na presença dos extratos aquoso 10, 20, 30 e 40% (especialmente 30 e 40 %). Vale ressaltar que a presença de etanol nos controles contribuiu para reduzir o crescimento de *A. fumigatus*, especialmente em 30% e 40% de etanol. Contudo, essa redução não foi tão significativa quanto às observadas pelos extratos e, nem afetou a esporulação (Figuras 12 a 16).

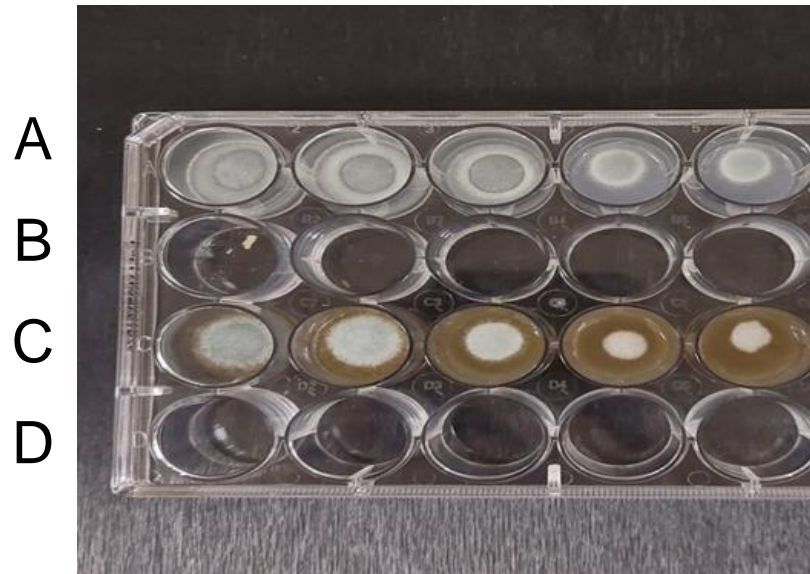
Figura 12 - Teste de sensibilidade *A. fumigatus*.



A- Controles. C- Extratos.

Fonte: Autores do trabalho.

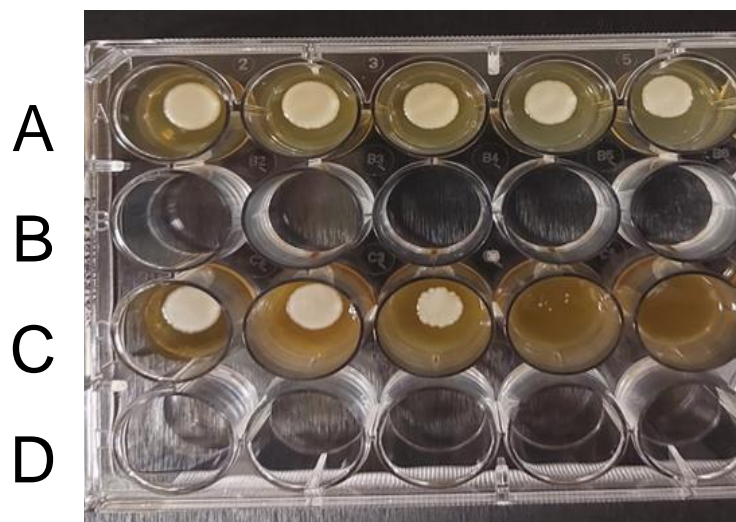
Figura 13- Teste de sensibilidade *A. fumigatus* de outro ângulo.



A- Controles. C- Extratos.

Fonte: Autores do trabalho.

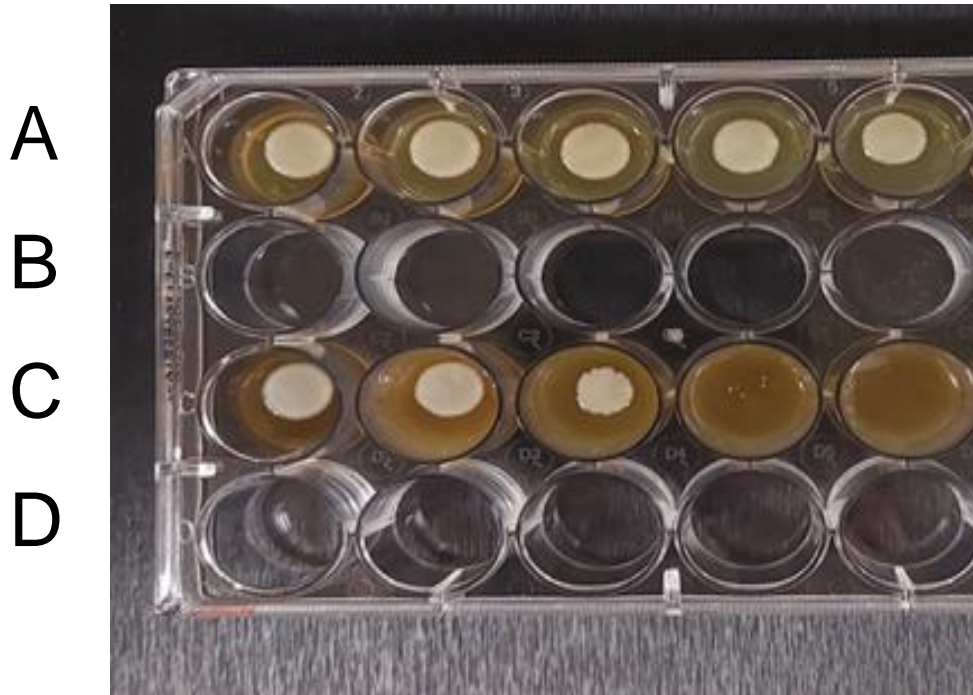
Figura 14- Teste de sensibilidade *C. albicans*.



A- Controles. C- Extratos.

Fonte: Autores do trabalho.

Figura 15 - Teste de sensibilidade *C. albicans* de outro ângulo.



A- Controles. C- Extratos.

Fonte: Autores do trabalho.

6 DISCUSSÃO

Durante o desenvolvimento deste trabalho, verificou-se que a maioria das publicações referentes as propriedades farmacológicas da planta *Tetradenia riparia* concentram-se, essencialmente, em análises dos seus óleos essenciais. Como já supramencionado, a planta é amplamente difundida no Brasil e em diferentes regiões do continente africano, sendo por lá, uma das ervas aromáticas mais utilizadas na medicina popular. Devido ao seu bom desenvolvimento em clima subtropical e temperado, o cultivo e a obtenção é mais acessível tanto para usos populares quanto científicos. As partes aéreas da planta, em particular as folhas, é o principal material utilizado para obtenção de óleos essenciais (OEs), assim como em extratos em diferentes tipos de solventes e de compostos isolados, purificados e elucidados estruturalmente, quando se refere a estudos científicos (FERARRESE *et al.*, 2023).

A medicina tradicional africana utiliza há muito tempo as folhas da *Tetradenia riparia* para tratar uma grande variedade de doenças infecciosas. Tais como: na forma de infusão, para cuidar de problemas respiratórios, tosse, dor de cabeça, dor de estômago, diarreia, febre, malária e dengue; e na forma de compressas é aplicado para o alívio de dores de cabeça e de dente. Assim, despertou-se o interesse para investigar possíveis atividades antimicrobianas, em particular contra *Aspergillus fumigatus* e *Candida albicans* (BUWA; VAN STADEN, 2006).

Atualmente, há uma nova consciência em relação a demanda para tratamentos terapêuticos alternativos, seja através de OEs, extratos, infusões ou chás. O interesse renovado em remédios naturais à base de ervas é impulsionado pela perda de eficácia de alguns antibióticos ou antifúngicos convencionais, contra infecções comuns devido ao surgimento de microrganismos resistentes aos antimicrobianos e também o elevado custo dos fármacos modernos, não esquecendo também a acessibilidade limitada aos cuidados de saúde, que persiste entre as comunidades rurais dos países em desenvolvimento. A maioria dos estudos envolvendo *Tetradenia riparia* utilizam óleos essenciais e uma pequena parcela focam seus trabalhos nos extratos. Na literatura especializada há vários relatos que a planta possui grande potencial para ser utilizada como fitoterápico, vindo a atender as necessidades mencionadas anteriormente (FERARRESE *et al.*, 2023 FERNANDEZ *et al.*, 2017; RAMSEY *et al.*, 2018).

Estão disponíveis em diversos meios de publicações científicas inúmeros trabalhos que demonstram o potencial farmacológico de *Tetradenia riparia*, podendo ser mencionadas, atividades antimicrobianas (fungos e bactérias), analgésicas, anti-inflamatórias, antioxidantes e anti-tumoral. Extratos, principalmente das folhas desta planta herbácea medicinal, são frequentemente usados para tratar doenças inflamatórias e infecciosas. As folhas *in natura* e os óleos essenciais têm sido usados para candidíase, criptococose, malária e infecções respiratórias. Além dos efeitos mencionados, a citotoxicidade, atividades imunomodulatórias, efeitos anti-helmínticos e anti-parasitários são descritos na literatura especializada. Estas e outras constatações científicas demonstram um grande potencial farmacológico da planta, colocando-a na lista de possível erva fitoterápica (GAZIM *et al.*, 2011; FRIEDRICH *et al.*, 2020).

Nas últimas décadas a utilização de plantas medicinais tornou-se cada vez mais difundido, especialmente em relação aos testes de sensibilidade em microrganismos de importância em saúde pública, onde têm-se demonstrado diversas atividades para os extratos, entre elas, antimicrobiana, antiulcerogênica, anticancerígena, anti-inflamatória e anticoccidiana. A busca por novos compostos antimicrobianos é incessante devido ao grande número de bactérias e fungos multirresistentes aos medicamentos existentes, aumentando, portanto, o estudo de substâncias isoladas de plantas, como por exemplo os isoprenos, presentes em quantidades significativas nas folhas de *T. riparia* (BALDIN *et al.*, 2018; SILVEIRA *et al.*, 2007).

No desenvolvimento do presente trabalho, e após a realização dos ensaios antimicrobianos com *Aspergillus fumigatus* e *Candida albicans*, e revisões bibliográficas, verificou-se que, atualmente há uma crescente demanda por diversos produtos à base de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais, destinados à tratamentos de diversas doenças, incluindo infecções fúngicas. Este último fato com notável atenção, pois como já mencionado, observa-se uma resistência antimicrobiana aos princípios ativos atualmente utilizados no tratamento de enfermidades causadas por *Aspergillus fumigatus* e *Candida albicans*. Nesse sentido, produtos à base de extratos e/ou óleos essenciais são uma alternativa promissora e de baixo custo (BUWA; VAN STADEN, 2006).

Os resultados obtidos no presente trabalho são promissores e corroboram com a busca por tratamentos mais baratos e eficientes. O potencial antifúngico observado pode ser explicado em função da presença dos constituintes químicos, mencionados na literatura: ibozol, 7 α -hidroxiroileanona, 1',2'-dideacetilboronolide, 8(14),15-sandaracopimaradieno-7 α ,18-diol; 5,6-di-hidro- α -pirona e α -pirona, e possivelmente presentes nos extratos das folhas. Relatos em publicações científicas sugerem que, tais compostos apresentam certa lipofilicidade e poderiam permear a membrana celular dos microorganismos, afetando suas vias metabólicas (FERARRESE *et al.*, 2023; MELO *et al.*, 2015).

7 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi possível constatar a eficácia dos extratos aquoso e hidroalcoólico das folhas de *Tetradenia riparia*, principalmente aqueles preparados nas concentrações de 30% e 40% em etanol. Os melhores resultados foram observados para *Candida albicans* que teve seu crescimento totalmente inibido pelo extrato 40%, entretanto para o *Aspergillus fumigatus*, verificou-se uma diminuição em sua esporulação, implicando no seu crescimento parcialmente. Frente aos resultados, julga-se necessário a realização de mais experimentos, verificação da concentração inibitória mínima (MIC); se os extratos têm atividades fungicida ou fungistática nesses ou em outros patógenos. Por saber que alguns proeminentes as atividades dos extratos de *T. riparia* subsistem, tais como: anti-cariogênico bactérias, antituberculose, antidermatofitose, antimalária, antifebre amarela, atividade antiinflamatória e antiproliferativa contra linhas celulares cancerígenas, ensaios mais detalhados e aprofundados são necessários para atingir o estágio clínico.

REFERÊNCIAS

- ARAUJO, E.M. **Perfil proteico de resistência de aspergillus fumigatus a itraconazol e voriconazol**. 2018. 51 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia de Fungos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018. Disponível em: [https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/31856/1/DISSERTA%*c3*%87%*c3*%83O%20Eduardo%20Marques%20de%20Ara%*c3*%baixo.pdf](https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/31856/1/DISSERTA%c3%87%c3%83O%20Eduardo%20Marques%20de%20Ara%c3%baixo.pdf). Acesso em: 22 nov. 2023.
- ARAÚJO, L.L.N; MELO, H.C; CASTIGLIONI, G.L; GONÇALVES, L.A. Intensidade de radiação influenciando características morfofisiológicas em folhas de *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd. **Iheringia, Série Botânica**, [s.l.], v. 74, p. 1-6, 5 jan. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.21826/2446-82312019v74e2019001>. Disponível em: <https://isb.emnuvens.com.br/iheringia/article/view/336/469>. Acesso em: 23 ago. 2023.
- BADDLEY, J.W; STEPHENS, J.M; JI, X; GAO, X; SCHLAMM, H.T; TARALLO, M. Aspergillosis in Intensive Care Unit (ICU) patients: epidemiology and economic outcomes. **Bmc Infectious Diseases**, [s.l.], v. 13, n. 1, p. 1-3, 23 jan. 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-13-29>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23343366/>. Acesso em: 22 nov. 2023.
- BALDIN, V.P; SCODRO, R.B.L; LOPES-ORTIZ, M.A; ALMEIDA, A.L; GAZIM, Z.C; FERARRESE, L; FAIÕES, V.S; TORRES-SANTOS, E.C; PIRES, C.T.A; CALEFFI-FERRACIOLI, K.R. Anti-Mycobacterium tuberculosis activity of essential oil and 6,7-dehydroroyleanone isolated from leaves of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae). **Phytomedicine**, [s.l.], v. 47, p. 34-39, ago. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2018.04.043>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30166106/>. Acesso em: 18 nov. 2023.
- BRANDÃO, M.G.L *et al.* Brazilian medicinal plants described by 19th century European naturalists and in the Official Pharmacopoeia. **Journal Of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 120, n. 2, p. 141-148, nov. 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2008.08.004>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18762237/>. Acesso em: 20 ago. 2023.
- BRANDELLI, C.L.C.; MONTEIRO, S.C. **Farmacobotânica: Aspectos Teóricos e Aplicação**. Porto Alegre: Artmed, 2017. Disponível em: <https://statics-submarino.b2w.io/sherlock/books/firstChapter/28283344.pdf>. Acesso em: 26 set. 2023.
- BROWN, N.A.; GOLDMAN, G.H. The contribution of *Aspergillus fumigatus* stress responses to virulence and antifungal resistance. **Journal Of Microbiology**, [s.l.], v. 54, n. 3, p. 243-253, 27 fev. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12275-016-5510-4>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26920884/>. Acesso em: 20 ago. 2023.
- BUWA, L.V.; VAN STADEN, J. Antibacterial and antifungal activity of traditional medicinal plants used against venereal diseases in South Africa. **Journal Of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 103, n. 1, p. 139-142, jan. 2006. DOI:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2005.09.020>. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16271287/>. Acesso em: 18 nov. 2023.

CARVALHO, L.I.C. **Aspergillus e aspergilose** – Desafios no combate à doença. 2013. 43 f. Dissertação (Doutorado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2013. Disponível em:
<https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/4166/1/Aspergillus%20e%20aspergilose%20final.pdf>. Acesso em: 22 nov. 2023.

CIUREA, C.N *et al.* Candida and Candidiasis—Opportunism Versus Pathogenicity: a review of the virulence traits. **Microorganisms**, [s.l.], v. 8, n. 6, p. 857, 6 jun. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms8060857>. Disponível em:
<https://www.mdpi.com/2076-2607/8/6/857>. Acesso em: 30 set. 2023.

DAGENAIS, Taylor R. T.; KELLER, Nancy P.. Pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* in Invasive Aspergillosis. **Clinical Microbiology Reviews**, [s.l.], v. 22, n. 3, p. 447-465, jul. 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.00055-08>. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2708386/>. Acesso em: 22 nov. 2023.

FERARRESE, L; OLIVEIRA, H.L.M; OLIVEIRA, G.S; MENDONÇA, J.A; CELLA, W; LUCA NETO, M; INUMARO, R.S; FERREIRA, L.R.P; PERFEITO, H.L.S; JACOMASSI, E. Potential of *Tetradenia riparia* leaf essential oil and its fractions in controlling *Aedes aegypti* and *Rhipicephalus microplus* larvae. **Bioscience Journal**, [s.l.], v. 39, p. 1-13, 24 fev. 2023. EDUFU - DOI: <http://dx.doi.org/10.14393/bj-v39n0a2023-63187>. Disponível em:
<https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/63187>. Acesso em: 18 nov. 2023.

FERNANDEZ, A.C.A.M.; ROSA, M.F.; FERNANDEZ, C.M. M.; BORTOLUCCI, W.C.; MELO, U.Z.; SIQUEIRA, V.L. D.; CORTEZ, D.A. G.; GONÇALVES, J.E.; LINDE, G.A.; GAZIM, Z.C. Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Extract and Fractions of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae) Leaves from Brazil. **Current Microbiology**, [s.l.], v. 74, n. 12, p. 1453-1460, 24 ago. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00284-017-1340-9>. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28840299/>. Acesso em: 18 nov. 2023.

FERREIRA, A.W. **Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e autoimunes: correlações clínico-laboratoriais / Laboratory diagnosis of major infectious and autoimmune diseases: clinical and laboratory correlations**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

FRIEDRICH, J.C.C.; SILVA, O.A.; FARIA, M.G.I.; COLAUTO, N.B.; GAZZIN, Z.C.; COLAUTO, G.A.L.; CAETANO, J.; DRAGUNSKI, D.C. Improved antioxidant activity of a starch and gelatin-based biodegradable coating containing *Tetradenia riparia* extract. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 165, p. 1038-1046, dez. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.143>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32987083/>. Acesso em: 18 nov. 2023.

GAZIM, Z.C; DEMARCHI, I.G; LONARDONI, M.V.C; AMORIM, A.C.L.; HOVELL, A.M.C.; REZENDE, C.M; FERREIRA, G.A; LIMA, E.L; COSMO, F.A; CORTEZ, D.G. Acaricidal activity of the essential oil from *Tetradenia riparia* (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari; Ixodidae). **Experimental Parasitology**, [s.l.], v. 129, n. 2, p. 175-178, out. 2011. DOI:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2011.06.011>. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21762693/>. Acesso em: 18 nov. 2023.

GULLO, A. Invasive Fungal Infections. **Drugs**, [s.l.], v. 69, n. 1, p. 65-73, nov. 2009.

DOI: <http://dx.doi.org/10.2165/11315530-000000000-00000>. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19877737/>. Acesso em: 27 set. 2023.

GULSHAN, K; MOYE-ROWLEY, W.S. Multidrug Resistance in Fungi. **Eukaryotic Cell**, [s.l.], v. 6, n. 11, p. 1933-1942, nov. 2007. DOI:

<http://dx.doi.org/10.1128/ec.00254-07>. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2168405/>. Acesso em: 28 set. 2023.

HERINGER, T.A. *et al.* O uso de plantas medicinais no âmbito da promoção da saúde no Brasil: uma revisão integrativa. **Research Society And Development**, [s.l.], v. 10, n. 14, p. 1-8, 7 nov. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i14.22223>. Disponível em:

<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/22223/19722>. Acesso em: 20 ago. 2023.

JACOBS, F.; SELLESLAG, D.; AOUN, M.; SONET, A.; GADISSEUR, A.. An observational efficacy and safety analysis of the treatment of acute invasive aspergillosis using voriconazole. **European Journal Of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, [s.l.], v. 31, n. 6, p. 1173-1179, 5 out. 2011. DOI:

<http://dx.doi.org/10.1007/s10096-011-1425-5>. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21971820/>. Acesso em: 22 nov. 2023.

JOLIVI. **De A a Z: A Enciclopédia das Plantas Medicinais**. São Paulo: Jolivi, 2020.

Disponível em: [https://ciorganicos.com.br/wp-content/uploads/2017/10/A-](https://ciorganicos.com.br/wp-content/uploads/2017/10/A-ENCICLOPEDIA-DAS-PLANTAS-MEDICINAIS.pdf)

[ENCICLOPEDIA-DAS-PLANTAS-MEDICINAIS.pdf](https://ciorganicos.com.br/wp-content/uploads/2017/10/A-ENCICLOPEDIA-DAS-PLANTAS-MEDICINAIS.pdf). Acesso em: 01 out. 2023.

KANAFANI, Z. A.; PERFECT, J. R.. Resistance to Antifungal Agents: mechanisms and clinical impact. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l.], v. 46, n. 1, p. 120-128, 1 jan. 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1086/524071>. Disponível em:

<https://academic.oup.com/cid/article/46/1/120/335857>. Acesso em: 27 set. 2023.

LAMAGNI, T. L.; EVANS, B. G.; SHIGEMATSU, M.; JOHNSON, E. M.. Emerging trends in the epidemiology of invasive mycoses in England and Wales (1990–9). **Epidemiology And Infection**, [s.l.], v. 126, n. 3, p. 397-414, jun. 2001. DOI:

<http://dx.doi.org/10.1017/s0950268801005507>. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11467797/>. Acesso em: 20 ago. 2023.

LIMA, C.P. **Ensino das plantas medicinais: histórico e conceitos**. Curitiba: Contentus, 2021. Disponível em:

<https://plataforma.bvirtual.com.br/Acervo/Publicacao/193273>. Acesso em: 20 ago. 2023.

MANAVATHU, E.K.. In-vitro isolation and antifungal susceptibility of amphotericin B-resistant mutants of *Aspergillus fumigatus*. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**. Detroit, p. 615-619. jun. 1998. Disponível em: <https://academic.oup.com/jac/article/41/6/615/665226>. Acesso em: 19 set. 2023.

MELO, N.I; CARVALHO, C.E; FRACAROLLI, L; CUNHA, W.R; VENEZIANI, R.C.S; MARTINS, C.H.G; CROTTI, A.E.M. Antimicrobial activity of the essential oil of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd. (Lamiaceae) against cariogenic bacteria. **Brazilian Journal Of Microbiology**, [s.l.], v. 46, n. 2, p. 519-525, jun. 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s1517-838246246220140649>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26273268/>. Acesso em: 18 nov. 2023.

MORSCHHÄUSER, J. Regulation of multidrug resistance in pathogenic fungi. **Fungal Genetics And Biology**, [s.l.], v. 47, n. 2, p. 94-106, fev. 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fgb.2009.08.002>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1087184509001479?via%3Dihub>. Acesso em: 18 set. 2023.

OLIVEIRA, J.C. **Tópicos em Micologia médica**. Rio de Janeiro: Controllab, 2014. Disponível em: <https://controllab.com/wp-content/uploads/Micologia-Medica-4a-edicao.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2023.

PANDA, S.K *et al.* Ethnomedicinal, Phytochemical and Pharmacological Investigations of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae). **Frontiers In Pharmacology**, [s.l.], v. 13, p. 1-15, 2 jun. 2022 DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2022.896078>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35721148/>. Acesso em: 20 ago. 2023.

RAMSDALE, M. Programmed cell death in pathogenic fungi. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Molecular Cell Research**, [s.l.], v. 1783, n. 7, p. 1369-1380, jul. 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamcr.2008.01.021>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18294459/>. Acesso em: 20 ago. 2023.

RAMSEY, T.J. *et al.* Focus: Plant-based Medicine and Pharmacology. **The Yale Journal Of Biology And Medicine**, [s.l.], v. 93, n. 2, p. 291-305, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7309671/>. Acesso em: 18 nov. 2023.

REIS, G.D.. **Avaliação da atividade biológica do Taro [(*Colocasia esculenta* (L.) Schott)] no ensaio de letalidade com *Artemia salina* Leach, no teste antifúngico de microdiluição em caldo e na hipercolesterolemia em coelhos**. 2011. 64 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2011. Disponível em: https://www.repositorio.ufop.br/bitstream/123456789/3227/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Avalia%C3%A7%C3%A3oAtividadeBiol%C3%B3gica.pdf. Acesso em: 20 nov. 2023.

ROCHA, M.C. **Caracterização funcional do mutante *pkcAG579r* que codifica o homólogo da proteína quinase C, no fungo patogênico *aspergillus fumigatus***.

2013. 135 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Genética Evolutiva e Biologia Molecular (Ppggev), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2013. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/5539/6077.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 19 set. 2023.

SAAD, G.A *et al.* **Fitoterapia contemporânea: tradição e ciência na prática clínica.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. Disponível em: <https://www.meulivro.biz/fitoterapia/912/fitoterapia-contemporanea-tradicao-e-ciencia-na-pratica-clinica-saad-2-ed-pdf/>. Acesso em: 20 ago. 2023.

SILVA, D.M *et al.* Virulence factors of *Candida* species from the oral mucosa and prostheses of elderly people from a riverside community in the Amazon state, Brazil. **Revista de Odontologia da Unesp**, [s.l.], v. 48, p. 1-9, out. 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1807-2577.09419>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rounesp/a/9PTcBG5YGNX7QBQ5sntWWLQ/abstract/?lang=en>. Acesso em: 29 set. 2023.

SILVEIRA, L.M.S *et al.* Atividade antibacteriana de extrato de gervão frente cepas de *Staphylococcus aureus* oxacilina-sensíveis e oxacilina-resistentes isoladas de amostras biológicas. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, [s.l.], v. 39, n. 4, p. 299-301, 2007. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-490970>. Acesso em: 18 nov. 2023.

SNELDERS, E; LEE, H.A. L.V.D; KUIJPERS, J; RIJS, A.J. M. M; VARGA, J; ASAMSON, R; MELLADO, E; DONDEERS, A.R.T; MELCHERS, W.J. G; VERWEIJ, P.E. Emergence of Azole Resistance in *Aspergillus fumigatus* and Spread of a Single Resistance Mechanism. **Plos Medicine**, [s.l.], v. 5, n. 11, p. 219-223, 11 nov. 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.0050219>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18998768/>. Acesso em: 22 nov. 2023.

SUDBERY, P.E.. Growth of *Candida albicans* hyphae. **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 9, n. 10, p. 737-748, 16 ago. 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2636>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21844880/>. Acesso em: 20 nov. 2023.

TAMURA, N.K *et al.* Fatores de virulência de *Candida* spp isoladas de cateteres venosos e mãos de servidores hospitalares. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s.l.], v. 40, n. 1, p. 91-93, fev. 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86822007000100021>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/JR8y4556Lw3zVDgnwD6sQCc/?lang=pt>. Acesso em: 30 out. 2023.

VAN PUYVELDE, L *et al.* Active principles of *Tetradenia riparia* . IV. Anthelmintic activity of 8(14),15-sandaracopimaradiene-7 α ,18-diol. **Journal Of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 216, p. 229-232, abr. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2018.01.024>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29366765/>. Acesso em: 20 ago. 2023.

VEERDONK, F.L. *et al.* *Aspergillus fumigatus* morphology and dynamic host interactions. **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 15, n. 11, p. 661-674, 18 set. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro.2017.90>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrmicro.2017.90>. Acesso em: 23 set. 2023.

VIEIRA, A.J.H.; SANTOS, J.I.. Mecanismos de resistência de *Candida albicans* aos antifúngicos anfotericina B, fluconazol e caspofungina. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, [s.l.], v. 49, n. 3, p. 235-239, 2017 DOI: <http://dx.doi.org/10.21877/2448-3877.201600407>. Disponível em: <https://www.rbac.org.br/artigos/mecanismos-de-resistencia-de-candida-albicans-aos-antifungicos-anfotericina-b-fluconazol-e-caspofungina/>. Acesso em: 20 nov. 2023.

WASSANO, N.S.; GOLDMAN, G.H.; DAMASIO, A. *Aspergillus fumigatus*. **Trends In Microbiology**, [s.l.], v. 28, n. 7, p. 594-595, jul. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2020.02.013>. Disponível em: [https://www.cell.com/trends/microbiology/fulltext/S0966-842X\(20\)30049-4?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0966842X20300494%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/trends/microbiology/fulltext/S0966-842X(20)30049-4?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0966842X20300494%3Fshowall%3Dtrue). Acesso em: 17 set. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action**. Geneva: World Health Organization, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>. Acesso em: 20 ago. 2023.

YANO, J; NOVERR, M.C.; FIDEL, P.L. Cytokines in the host response to *Candida* vaginitis: identifying a role for non-classical immune mediators, s100 alarmins. **Cytokine**, [s.l.], v. 58, n. 1, p. 118-128, abr. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2011.11.021>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22182685/>. Acesso em: 20 ago. 2023.

ZANGIROLAMI, B *et al.* **Caracterização química do óleo essencial de folhas da *Tetradenia riparia***. 2019. 42 f. TCC (Graduação) - Curso de Biomedicina, Centro Universitário Barão de Mauá, Ribeirão Preto, 2019.