



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS  
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA**

**ANDRESSA MARTINS DE ARAÚJO MELO**

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA FRAÇÃO N-BUTANOL DO EXTRATO DE  
*Sideroxylon obtusifolium* T. D. PENN SOBRE ESPÉCIES DO GÊNERO *Candida*:  
PERFIL FITOQUÍMICO**

**CAMPINA GRANDE/PB  
2019**

**ANDRESSA MARTINS DE ARAÚJO MELO**

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA FRAÇÃO N-BUTANOL DO EXTRATO DE  
*Sideroxylon obtusifolium* T. D. PENN SOBRE ESPÉCIES DO GÊNERO *Candida*:  
PERFIL FITOQUÍMICO**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao curso de Graduação em  
Odontologia da Universidade Estadual  
da Paraíba, como requisito parcial à  
obtenção do título de Bacharel em  
Odontologia.

**Orientadora:** Prof. Dra. Jozinete Veira Pereira Marques

**CAMPINA GRANDE/PB  
2019**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

M528a Melo, Andressa Martins de Araújo.  
Atividade antifúngica da fração N-butanol do extrato de *Sideroxylon obtusifolium* T. D. Penn sobre espécies do gênero *Candida* [manuscrito] : perfil fitoquímico / Andressa Martins de Araújo Melo. - 2019.  
30 p. : il. colorido.  
Digitado.  
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2019.  
"Orientação : Profa. Dra. Jozinete Vieira Pereira Marques, Coordenação do Curso de Odontologia - CCBS."  
1. Plantas medicinais. 2. *Sideroxylon obtusifolium*. 3. Antifúngicos. 4. *Candida*. I. Título

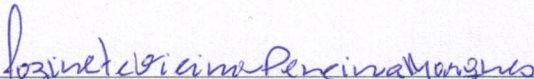
21. ed. CDD 617.6


ANDRESSA MARTINS DE ARAÚJO MELO

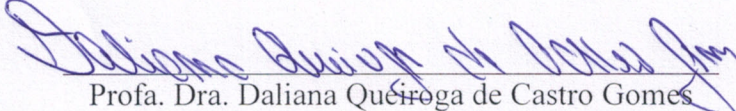
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

Aprovado em: 02/12/2019.

**BANCA EXAMINADORA**

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Jozinete Vieira Pereira Marques (Orientador)  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

  
\_\_\_\_\_  
Me. Bruna Palmeira Costa  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Daliana Queiroga de Castro Gomes  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus, por iluminar meus passos e ter me concedido sabedoria e discernimento para tomar decisões corretas e íntegras.

Ao meu irmão Natan Francisco, meu melhor presente, que sempre me deu apoio durante todos os seus anos de vida.

Aos meus pais Francisco e Susana, por serem meus maiores exemplos. Obrigada por batalharem tanto para que eu realizasse todos os meus sonhos.

Aos meus avôs, Beríolo e Lourdes, pelos ensinamentos. Tenho maior orgulho de ter sido educada por um casal tão maravilhoso.

À minha tia e madrinha Silvana, pelo carinho, conselhos, amor e cuidado. Agradeço infinitamente por ser uma segunda mãe e companheira pra mim desde sempre.

Ao meu primeiro amigo em Campina Grande, querido companheiro, Gustavo Freitas. Você e sua família me adotaram e foram imprescindíveis para meu bem estar aqui. Podem ter certeza de que meu coração possui muita gratidão por vocês.

À minha orientadora e madrinha da turma, Professora Dra. Jozinete Vieira Pereira Marques, pela paciência, dedicação, confiança e por ter me aceito como aluna de Iniciação Científica e demais projetos, contribuindo de maneira grandiosa na minha vida acadêmica. Serei eternamente grata.

À Professora Dra. Edja Maria Melo de Brito Costa, por despertar a minha paixão pela odontopediatria, pelo carinho, disponibilidade e acolhida no laboratório.

À Professora Dra. Daliana Queiroga de Castro Gomes, por compartilhar toda sua sabedoria e conhecimento comigo e meus colegas, tornando-se uma de minhas maiores inspirações.

À Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pelo apoio financeiro a todos os projetos no qual fiz parte.

Ao grupo de pesquisa, Raíssa, Ernani, Waleska e Julliana pelo trabalho em equipe, em especial à Bruna Palmeira, por toda disponibilidade em solucionar minhas dúvidas e fazer com que esta pesquisa fosse realizada.

Aos meus amigos do colégio, Giovanna, Ingrid, Mariana, Matheus e Leonardo que até hoje continuam sendo presentes em minha vida.

À Fernanda Mariz e Hianne Morais, por serem minhas maiores incentivadoras no meio acadêmico e permitir que aquela menininha fizesse parte da vida de vocês.

Às minhas queridas amigas, Maria Letícia, Joyce Dantas e Anny Tavares, pela força, solidariedade e união para conseguirmos lidar com todas as adversidades do curso (principalmente quando vocês não deixaram que eu trancasse a disciplina de Prótese Fixa).

Aos meus amigos e colegas de curso, que estiveram direta ou indiretamente ligados a este trabalho, por todos os momentos de alegria, companheirismo e amor.

A todos os professores, funcionários e técnicos do departamento de Odontologia, especialmente, Amaro, Ana Flávia, Ana Marly, Andreza, Bruna, Chistopher, Clécia, Crizeuda, Dione, Fernanda, Francineide, Gustavo, Igor, Jossaria, Júnia, Kátia, Lorena, Pequena, Raquel, Renata Coelho, Renata Rocha, Rilva, Robeci, Robéria e Tiago João.



## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antifúngica da fração n-butanol do extrato de folhas de *Sideroxylon obtusifolium* T. D. Pen sobre *Candida* ssp, bem como determinar o perfil fitoquímico. Tratou-se de um estudo laboratorial experimental *in vitro*. As folhas de *Sideroxylon obtusifolium* foram coletadas em Maio de 2018, na região do semiárido nordestino, zona rural do município de Campina Grande, Estado da Paraíba, Brasil. Em seguida, submetidas à secagem em estufa de ar circulante a 40°C. O método de extração utilizado foi a maceração exaustiva. O extrato foi evaporado em rotaevaporador e em seguida liofilizado. Posteriormente, foi feita extração líquido-líquido com a finalidade de se obter a fração n-butanol do extrato bruto. O perfil fitoquímico da fração n-butanol foi determinado por meio da *screening* qualitativo. Foram utilizadas cepas *American Type Culture Collection* (ATCC) provenientes da Fundação Oswaldo Cruz, sendo estas *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida glabrata* (ATCC 90030), *Candida tropicalis* (ATCC 750). A avaliação da atividade antifúngica do extrato foi determinada por meio da Concentração Inibitória Mínima e Concentração Fungicida Mínima. Por meio do *screening* fitoquímico da fração n-butanol foram identificados compostos bioativos como flavonoides, alcaloides, esteroides e triterpenos. Por meio A fração do extrato demonstrou potencial antimicrobiano ativo sobre o crescimento de *Candida* ssp testadas, com ação fungistática sobre *C. albicans* e *C. glabrata*, e fungicida sobre *C. tropicalis*. A fração n-butanol do extrato de *S. obtusifolium* apresentou resultados promissores, sugerindo a realização de mais análises para uma futura indicação e utilização na clínica odontológica como forma de terapêutica antifúngica alternativa.

**Palavras-chave:** Plantas Medicinais. *Sideroxylon obtusifolium*. *Candida*. Antifúngicos

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the antifungal activity of the n-butanol fraction of *Sideroxylon obtusifolium* T. D. Pen on *Candida* ssp as well as determine the phytochemical profile. The leaves of *Sideroxylon obtusifolium* were collected in May 2018, in the northeastern semiarid region, rural zone of Campina Grande, located at the State of Paraíba in Brazil. Then the leaves were submitted to dry in a circulating air oven at 40 °C. The extraction method used was exhaustive maceration. The extract was evaporated on a rotary evaporator and subsequently lyophilized. After that the liquid-liquid extraction was performed in order to obtain the n-butanolic fraction of the crude extract. The phytochemical profile of the n-butanol fraction was determined by qualitative screening. *American Type Culture Collection* (ATCC) strains from the Oswaldo Cruz Foundation were used, *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida glabrata* (ATCC 90030), *Candida tropicalis* (ATCC 750). The evaluation of the antifungal activity of the extract was determined by Minimum Inhibitory Concentration and Minimum Fungicidal Concentration. Bioactive compounds such as flavonoids, alkaloids and triterpenes were found in the n-butanol fraction. The extract fraction showed active antimicrobial potential on the growth of *Candida* ssp tested, with fungistatic action on *C. albicans* and *C. glabrata*, and fungicide on *C. tropicalis*. The n-butanol fraction of *S. obtusifolium* extract showed promising results, suggesting further analysis for future indication and used in the dental clinic as a form of alternative antifungal therapy.

**Keywords:** Medicinal plants. *Sideroxylon obtusifolium*. *Candida*. Antifungal Agents.



## LISTA DE FIGURAS E DE TABELA

Figura 1- <i>Sideroxylon obtusifolium</i> T. D. Penn.....	21
Figura 2- Folhas de <i>S. obtusifolium</i> T. D. Penn.....	21
Tabela 1- Atividade antifúngica da fração n-butanol do extrato de folhas de <i>S. obtusifolium</i> e de fármaco padrão sobre <i>Candida</i> ssp (valores de CIM e CFM expressos em µg/mL).....	25

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C - Grau Celsius

ATCC - American Type Culture Collection

CFM - Concentração Fungicida Mínima

CIM - Concentração Inibitória Mínima

*S. obtusifolium* - *Sideroxylon obtusifolium*

G - Grama

H - Hora

LAD - Laboratório de Análise e Diagnóstico

LABDEM - Laboratório de Desenvolvimento de Medicamentos

Mg - Miligrama

mL- Mililitro

Nm - nanômetro

OMS - Organização Mundial da Saúde

µg - Micrograma

µL - Microlitro

UFC - Unidade Formadora de Colônia

UEPB - Universidade Estadual da Paraíba

UFPB - Universidade Federal da Paraíba

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	12
2.1 ASPECTOS GERAIS SOBRE FITOTERAPIA .....	12
2.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE <i>Sideroxylon obtusifolium</i> T.D.Penn.....	13
2.3 CONSIDERAÇÕES SOBRE <i>Candida</i> .....	14
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	16
3.1 OBJETIVO GERAL.....	16
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	16
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	17
4.1 DELINEAMENTO GERAL DO ESTUDO.....	17
4.2 LOCAL DA PESQUISA .....	17
4.3 PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL.....	17
4.4 PRODUÇÃO DO EXTRATO.....	18
4.5 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA .....	18
4.5.1 Fracionamento líquido-líquido .....	18
4.5.2 <i>Screening</i> qualitativo da fração n-butanol do extrato <i>S. obtusifolium</i> .....	19
4.6 CARACTERIZAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO .....	19
4.6.1 Microrganismos envolvidos .....	19
4.6.2 Reativação dos microrganismos e preparo do inóculo .....	20
4.6.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Fungicida Mínima (CFM) .....	20
<b>5 RESULTADOS</b> .....	22
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	24
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	26
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças fúngicas oportunistas são um grave problema de saúde pública, associadas a problemas de imunossupressão e comuns em ambientes hospitalares. Dentre as infecções fúngicas oportunistas, a candidose é a mais frequente, causada por espécies do gênero *Candida* como *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. krusei* (SANTOS, 2011). Estas leveduras constituem a microbiota bucal normal, no entanto tornam-se patogênicas em casos de imunodeficiência congênita ou adquirida e imunossupressão induzida pelo estresse grave (COLOMBO, GUIMARÃES, 2003).

O aumento dos casos de infecções fúngicas nas últimas décadas é notório, especialmente em indivíduos imunocomprometidos (FARAH *et al.*, 2010). A candidose bucal é uma infecção superficial que apresenta formas clínicas variáveis, como candidose pseudomembranosa; candidose eritematosa; candidose hiperplásica e queilite angular (LOPES, 2006; MUADCHEINGKA; TANTIVITAYAKUL, 2015).

Os antifúngicos mais utilizados para o tratamento da candidose incluem suspensões a base de nistatina, anfotericina-B, miconazol e fluconazol (SALERNO *et al.*, 2011). Contudo, relata-se resistência às terapias antifúngicas tradicionalmente utilizadas, particularmente em pacientes imunocomprometidos (JUNQUEIRA *et al.*, 2012).

Nesse sentido, em virtude do crescente destaque que vem sendo dada à utilização de terapias complementares e sobre tudo fitoterápicos, inclusive para o uso odontológico, direciona-se para a necessidade da realização de pesquisas buscando avaliar e comprovar os efeitos de diferentes plantas medicinais para o tratamento de afecções bucais, visando direcionar para o desenvolvimento de fitoterápicos e sua utilização na clínica odontológica (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

A espécie *Sideroxylon obtusifolium* T.D. Penn.- (Sapotaceae), popularmente conhecida como “quixabeira”, “quixaba” ou “rompe-gibão”, é um vegetal nativo da Caatinga do semiárido nordestino brasileiro (OLIVEIRA *et al.*, 2012), encontrado também nas restingas litorâneas e no pantanal Mato-grossense. A entrecasca desta espécie é usada no interior do Nordeste, pelas populações menos favorecidas. As folhas e cascas são popularmente usadas em forma de chás, com diversas finalidades terapêuticas como ação antiinflamatória, gastrite, cólicas, problemas renais, úlcera duodenal, azia e problemas cardíacos (AQUINO *et al.*, 2016). Estudos têm comprovado a atividade anti-inflamatória,

analgésica e antioxidante de *S. obtusifolium* (ARAÚJO-NETO *et al.*, 2010; LEITE *et al.*, 2015; FIGUEIREDO; LIMA, 2015).

Rocha *et al.* (2013) afirmam que o extrato da casca da quixabeira, pelo método de microdiluição, apresenta atividade bactericida e bacteriostática sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, enquanto que o extrato da folha apresentou as mesmas atividades para *S. aureus*. Um estudo realizado por Aquino *et al.* (2016) revelou que as folhas de *S. obtusifolium* demonstram ter ação modeladora da atividade bacteriana, possível atividade antioxidante e anti-inflamatória.

Estudos prévios realizados por Pereira *et al.* (2016) utilizando a fração n- butanol do extrato de folhas de *Sideroxylon obtusifolium* demonstram que, a fração apresenta atividade anti-Candida, sugerindo que a mesma parece se complexar com o ergosterol da membrana plasmática fúngica, e conseqüentemente esse efeito levaria ao aumento da permeabilidade iônica da membrana, formando poros em sua estrutura e causando um extravazamento de estruturas citoplasmáticas seguido de morte celular. Além disso, afirmam que a fração afetou severamente as estruturas celulares do biofilme mesmo em baixas concentrações inibitórias (62,5 µg / mL), e que em altas concentrações os danos foram letais para as células. Os autores afirmam que é necessário mais estudos toxicológicos, *in vivo* e *in vitro*, como também de investigação da atividade antifúngica da fração, para utilização da mesma como possível alternativa para o tratamento de candidose bucal.

Diante da escassa literatura envolvendo a utilização da fração n-butanol do extrato de folhas de *Sideroxylon obtusifolium* como terapia alternativa no tratamento da candidose bucal, torna-se necessária a realização de estudos dentro que comprovem a sua ação antifúngica. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antifúngica da fração n-butanol do extrato de folhas de *Sideroxylon obtusifolium* T. D. Penn sobre *Candida* ssp, bem como determinar o perfil fitoquímico.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 ASPECTOS GERAIS SOBRE FITOTERAPIA

A humanidade utiliza plantas como método terapêutico há milênios, estando essa prática agregada a valores culturais e históricos. Atualmente, os fitoterápicos possuem reconhecimento científico da Organização Mundial da Saúde (OMS) e de outros órgãos regulamentadores mundiais (NÓBREGA, 2017).

A farmacognosia, ciência dedicada ao estudo das drogas medicinais em seu estado natural antes da manipulação, ainda apresenta escassez de estudos quanto a alguns aspectos essenciais da terapêutica natural, como a toxicidade e as interações medicamentosas. Sendo assim, são ricas as possibilidades de exploração dessa temática, sobretudo no Brasil, que possui uma biodiversidade rica e muito variada, o que gera otimismo ao mercado em um futuro promissor para a produção sustentável de novos produtos farmacológicos advindos da natureza (MARQUES, 2019; HASENCLEVER, 2017).

O uso da fitoterapia tradicional, baseada na utilização de produtos provenientes de plantas medicinais e de outros compostos naturais, é fundamental para a terapia médica ao redor do mundo e pode representar uma importante e promissora alternativa de combate aos microrganismos resistentes aos mecanismos antimicrobianos tradicionais (REIS *et al.*, 2015).

Atualmente, as pesquisas com produtos naturais têm sido desenvolvidas de maneira satisfatória na odontologia, pelo fato de se buscar novos produtos com menor toxicidade e maior atividade farmacológica, além de ter um bom custo e benefício para a população. O Brasil apresenta um grande potencial para o desenvolvimento de novos medicamentos a partir de plantas medicinais, pois possui 25% da flora mundial (FRANCISCO, 2010).

Embora várias políticas públicas tenham sido criadas com o objetivo de incentivar o estudo e o uso clínico de plantas medicinais, a fitoterapia ocorre de forma discreta, principalmente devido à falta de apoio científico, especificamente para espécies de plantas indicadas a prevenir e tratar doenças bucais (OLIVEIRA, 2010). Segundo Bettega *et al.* (2011), essa resistência pode ser atribuída à falta de padronização e conhecimento sobre prescrição, bem como ao ceticismo e à convicção de que os medicamentos fabricados têm eficácia mais garantida. No entanto, tem havido um crescente interesse por este assunto

nos últimos anos, demonstrado pelo aumento do número de estudos com produtos naturais em odontologia (CASTILHO *et al.*, 2007).

Esses estudos apontam que as plantas medicinais podem ser utilizadas terapêuticamente contra as doenças bucais (OLIVEIRA, 2010), apresentando propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e anti-hemorrágicas para o tratamento de odontalgias e outros distúrbios bucais (CASTRO *et al.*, 2014).

A maioria dos princípios ativos das plantas medicinais é conferida por produtos do metabolismo secundário, como: terpenoides, óleos essenciais, alcaloides, lectinas, polipeptídios, substâncias fenólicas, flavonoides, taninos e cumarinas. Estes são compostos importantes para a defesa e metabolismo da planta e podem ser úteis para o homem como coadjuvante na proteção e cicatrização dos tecidos bucais (O'KENNEDY, THORNES, 1997; ZANGH, LEWIS, 1997; PORTELA *et al.*, 2011).

## 2.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE *Sideroxylon obtusifolium* T.D.Penn

A planta *Sideroxylon obtusifolium* conhecida popularmente como quixabeira, quixaba e rompe-gibão é comumente usada em forma de chás e infusões, com indicação e uso popular para vários fins terapêuticos como adstringente tônica, anti-inflamatória, no tratamento de úlcera duodenal, gastrite, azia, lesão genital, cólicas, problemas renais e cardíacos. Estudos farmacológicos comprovam a ação hipoglicemiante, anti-inflamatória, antimicrobiana, analgésica e antioxidante, fazendo com que a quixaba seja considerada uma espécie importante no uso da terapia tradicional (AQUINO *et al.*, 2016).

Assim, Pereira *et al.* (2016), estudando a atividade antifúngica da planta *S. obtusifolium* T. D. Penn afirmam que o extrato hidroalcoólico bruto a 70% de suas folhas mostrou fraca atividade antifúngica frente a *Candida albicans*. Porém, a fração n-butanólica do extrato revelou forte atividade inibitória sobre o crescimento de *C. albicans*.

Sampaio *et al.* (2017), avaliando a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico bruto de folhas de *S. obtusifolium* sobre as espécies *Streptococcus mutans*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus oralis* e *Candida albicans*, observaram que o mesmo apresentou fraca ou nenhuma atividade sobre às espécies analisadas, enquanto que as frações diclorometano e n-butanol do extrato da apresentam atividade inibitória promissora sobre crescimento de *C. albicans*. Pesquisas relatam a ação antimicrobiana do extrato da casca de *S. obtusifolium* sobre *Staphylococcus*



*aureus* e *Escherichia coli* (ROCHA *et al.*, 2013). Neste estudo, os autores afirmam que o extrato demonstra um potencial antimicrobiano favorável frente aos microrganismos analisados.

### 2.3 CONSIDERAÇÕES SOBRE *Candida*

Os fungos do gênero *Candida* são classificados como componentes da microbiota normal de diversas regiões do organismo humano, tais como a pele, a boca, o intestino grosso e os sistemas reprodutivo e urinário (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Isso acontece devido as suas propriedades biológicas celulares, que os permitem colonizar com frequência indivíduos saudáveis (DANTAS *et al.*, 2016).

Apesar de várias espécies de *Candida* terem sido isoladas da saliva de indivíduos com candidose, *C. albicans* é a mais frequente em lesões bucais por este tipo de infecção (SILVA-ROCHA *et al.*, 2014). Pode causar infecção em indivíduos que se encontram com deficiência do sistema imunológico, tais com em recém nascidos prematuros, pacientes diabéticos, sob terapia antineoplásia (radio e/ou quimioterapia) na região de cabeça e pescoço, transplantados, paciente renal crônico e em portadores de próteses dentárias (MARIANI *et al.*, 2016; LALLA, PATTON, DONGARI-BAGTZOGLU, 2013).

As manifestações clínicas das candidoses podem ocorrer de diversas formas clínicas e dividem-se em candidose invasiva ou sistêmica e candidose mucocutânea (que pode dividir-se em candidose bucal, intertriginosa, balanoprepucial, vulvovaginal, paroníquia e mucocutânea crônica). A candidose invasiva também denominada de candidemia é uma infecção profunda e grave que acomete indivíduos imunocomprometidos, ocorrendo a disseminação para os órgãos, a exemplo da candidose ocular, hepatoesplênica, pulmonar, cardíaca, do sistema nervoso central, musculoesquelética, miosites e artrites (LOPES, 2006).

Mecanismos moleculares possivelmente envolvidos na patogenicidade de espécies de *Candida* são alvos de pesquisas visando à elaboração de fármacos que apresentem maior seletividade e, conseqüentemente, menos efeitos indesejáveis (OROZCO *et al.*, 2000; MONGE *et al.*, 2006; MULLER *et al.*, 2007). Atualmente, os agentes disponíveis para tratamento de infecções fúngicas da cavidade bucal, caracterizadas como superficiais, são representados pelos poliênicos (anfotericina B, nistatina) e azólicos (fluconazol, itraconazol, miconazol e cetoconazol), sendo estes últimos os eleitos em primeira instância para tratamento dessas doenças e são geralmente fungistáticos (WINGETER *et al.*, 2007).

Com frequência, as infecções fúngicas, incluindo as da cavidade bucal, são de difícil tratamento, fato que está intrinsecamente relacionado à aquisição por parte dos seus agentes etiológicos (espécies fúngicas) de resistência à ação de antifúngicos disponíveis (CASTRO *et al.*, 2011). Antifúngicos sintéticos comercialmente disponíveis para tratamento dessas infecções, apresentam algumas limitações de uso, evidenciadas pelos efeitos adversos causados aos usuários (SANTOS, 2011), bem como pelo aumento da resistência dos microrganismos, decorrentes do uso indiscriminado de medicação (BANSOD, RAI, 2008).

A limitação de agentes antimicrobianos para o tratamento de infecções provocadas por micobactérias, bactérias e fungos tem gerado a necessidade de uma busca por novas substâncias (REIS *et al.*, 2015). Nesse sentido, utilizar produtos de origem natural, plantas medicinais, para tratamento dessas infecções representa importante possibilidade de tratamento (CASTRO *et al.*, 2011).

Matérias primas derivadas de plantas medicinais podem ser uma alternativa para serem incorporadas às novas formulações farmacêuticas para o tratamento de doenças, pois os produtos naturais têm a capacidade de causar menos efeitos adversos do que os medicamentos sintéticos. Além disso, apresentam várias propriedades terapêuticas devido à presença de metabólitos secundários, podendo ser aplicada também para ajudar a remover o biofilme dental e evitar que afecções bucais se instalem (JESUS *et al.*, 2010; NWODO *et al.*, 2011).

Assim, a crescente resistência das espécies do gênero *Candida* frente aos antifúngicos sintéticos disponíveis no mercado, incentiva à busca por novos compostos que possuam atividade antifúngica (ABILIO, 2014; RITO *et al.*, 2015), e dentre essas substâncias, inúmeros extratos têm sido estudados na procura de tratamentos alternativos e complementares para estas infecções oportunistas (SANTOS, 2011).

Baseado no exposto, pesquisadores são impulsionados a investigarem novas substâncias antimicrobianas de fontes alternativas, entre elas as oriundas de plantas medicinais (BANSOD, RAI, 2008).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade antifúngica da fração n-butanol do extrato hidroetanólico de folhas de *Sideroxylon obtusifolium* T.D. PENN sobre espécies do gênero *Candida*.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar o perfil fitoquímico da fração n- butanol do extrato de *S. obtusifolium*;
- Avaliar a atividade antifúngica da fração n-butanol do extrato de *S. obtusifolium* por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) sobre cepas de *C. albicans* (ATCC 10231), *C. glabrata* (ATCC 90030) e *C. tropicalis* (ATCC 750).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 DELINEAMENTO GERAL DO ESTUDO

Tratou-se de um estudo laboratorial experimental *in vitro*.

### 4.2 LOCAL DA PESQUISA

Os testes de atividade antifúngica foram realizados no Laboratório de Análise e Diagnóstico (LAD) do Departamento de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba/UEPB, Campina Grande-PB. A produção do extrato foi realizada no Laboratório de Desenvolvimento de Medicamentos (LABDEM), da UEPB.

A liofilização do extrato bruto foi realizada no Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB.

### 4.3 PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL

As folhas de *Sideroxylon obtusifolium* T.D. Penn (Figura 1 e 2) foram coletadas no período matutino, no mês de Maio de 2018, na região do semiárido nordestino, zona rural do município de Campina Grande, Estado da Paraíba, Brasil (7° 22' 25''S, 35° 59' 32''W).

O espécime de *Sideroxylon obtusifolium* T.D. Penn foi depositado e catalogado na Coleção do Herbário Professor Lauro Pires Xavier do Departamento de Biologia Molecular da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB.

O material vegetal foi acondicionado em sacolas de papel e, em seguida, realizou-se a limpeza do mesmo, eliminando folhas impregnadas por líquens ou matéria contaminante, espinhos presentes nas folhas, que viessem interferir no padrão de qualidade da planta em estudo.

As folhas foram submetidas à secagem em estufa de ar circulante (FANEM – Modelo 330/ 5) a 40°C, por um período de sete dias alcançando a estabilização final do peso. Posteriormente, moídas em moinho de facas (SOLAB – Modelo SL 30), com diâmetro da partícula de 10 mesh, cuja finalidade foi aumentar a superfície de contato e facilitar a extração dos fitoconstituintes das folhas da planta, quando submetidas à solução extratora.



Figura 1: *Sideroxylon obtusifolium* T. D. Penn  
Fonte: GUIMARÃES J.R.M.C, 2018.



Figura 2: Folhas de *S. obtusifolium* T. D. Penn  
Fonte: SILVA C.R; MACHADO L, 2013.

#### 4.4 PRODUÇÃO DO EXTRATO

Para obtenção do extrato hidroetanólico, foi utilizado como solvente o álcool etílico a 70%, das folhas de *S. obtusifolium* T. D. Penn na proporção 200g planta seca e moída para 1 litro de solvente. O método de extração utilizado foi a maceração exaustiva. O extrato foi acondicionado em recipientes de vidro âmbar protegidos da luz e conservados sob refrigeração.

O extrato hidroetanólico foi evaporado sob pressão reduzida em rotaevaporador a 40°C, com rotação de 70 rpm para eliminação do solvente. Posteriormente foi liofilizado (Liofilizador LS 3000 Terroni®) sob temperatura de -20°C a -40°C.

#### 4.5 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

##### 4.5.1 Fracionamento líquido-líquido

O extrato hidroetanólico liofilizado de folhas de *S. Obtusifolium* foi fracionado em funil de separação, utilizando-se o solvente orgânico butanol. Solubilizado 5g do extrato liofilizado em 50 mL de uma solução metanol: água (70:30), obtendo-se a solução-mãe para o fracionamento. Esta solução foi levada ao funil de separação, onde adicionou-se 50 mL do solvente, inicialmente, agitou-se e observou-se a separação da fase. O solvente foi utilizado até o esgotamento total dos compostos da solução-mãe. Cada passagem do solvente pela solução-mãe foi coletada, em seguida evaporado sob pressão reduzida em rotaevaporador a 40°C, com rotação de 70 rpm e armazenado sob refrigeração para posterior submissão aos testes de atividade antimicrobiana.

#### 4.5.2 *Screening* qualitativo da fração n-butanol do extrato *S. obtusifolium*

O perfil fitoquímico da fração n-butanol do extrato hidroetanólico de *S. obtusifolium* foi determinado por meio de *screening* qualitativo (COSTA, 2010; MATOS, 2009).

Para determinação do conteúdo de flavonoides, preparou-se uma solução mãe com 120 mg da fração, em seguida dissolveu-se em 24 mL de metanol. Posteriormente, essa solução foi levada ao ultrassom para que todas as partículas da fração fossem quebradas e dissolvidas totalmente. Filtrou-se a solução, transferiu-se 10 mL da solução mãe para um tubo de ensaio, acrescentou-se 5 gotas de HCl concentrado e raspas de magnésio. O surgimento de uma coloração róseo-alaranjada indicou reação positiva.

O teor de alcaloides foi determinado pesando-se 25 mg da fração do extrato, dissolveu em 5 mL de solução de HCl 5% e em seguida foi realizada a filtragem. Separou-se essa solução em três porções de 1 mL em três tubos de ensaio. Adicionou-se em cada tubo gotas dos reativos de Bouchard, Dragendorff e Mayer. A precipitação ou turvação em pelo menos em uma cavidade foi indicativo de resultado positivo.

Para determinação de esteroides e triterpenoides, preparou-se uma solução mãe com a fração do extrato pesando-se 75 mg dissolvidos em 15 mL de clorofórmio. A solução foi levada ao banho de ultrassom a fim de dissolver totalmente. Posteriormente, filtrou-se a solução em papel filtro utilizando um funil de vidro. Foram filtrados 10 mL da solução mãe sobre carvão ativado. Transferiu-se o filtrado para um tubo de ensaio completamente seco, em seguida foi adicionado 1 mL de anidrido acético e agitado suavemente. Em seguida, adicionou-se 3 gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado e novamente agitou-se. O rápido desenvolvimento de cores que vão do azul evanescente ao verde persistente indicam resultado positivo.

Todas as análises, nesse experimento, foram realizadas em triplicata.

## 4.6 CARACTERIZAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO

### 4.6.1 Microrganismos envolvidos

Foram utilizadas cepas da *American Type Culture Collection* (ATCC): *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida glabrata* (ATCC 90030) e *Candida tropicalis* (ATCC 750), provenientes da Fundação Oswaldo Cruz/RJ, que estão estocadas em amostras no Laboratório de Análises e Diagnóstico, no Departamento de Odontologia da UEPB.

#### 4.6.2 Reativação dos microrganismos e preparo do inóculo

As cepas de referência de *Candida albicans* (ATCC 10231), *C. glabrata* (ATCC 90030) e *Candida tropicalis* (ATCC 750) foram reativadas a partir de sua cultura original em meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose (Difco, Detroit, USA) e incubadas a 37 °C, por 24 h, em atmosfera de aerobiose. Após esse período, três a cinco colônias foram coletadas e suspensas em 10 mL de caldo Agar Sabouraud (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Após incubação a 37°C, por 24 h, o conjunto foi centrifugado e as células suspensas em 10 mL de solução salina estéril (NaCl 0,9%). Em seguida, a concentração de células foi determinada com auxílio de espectrofotômetro, utilizando-se o comprimento de onda de 530 nm. A densidade celular foi estabelecida na absorbância de 0,08- 0,1, equivalente a concentração de  $5 \times 10^6$  UFC/mL.

O preparo do inóculo para os testes de suscetibilidade foi realizado seguindo as recomendações do protocolo M27-A3 para leveduras (CLSI, 2008). O inóculo fúngico foi padronizado em espectrofotômetro (Modelo GT 7220 *BioPet Technologies*, Monte Alto, Brasil) com comprimento de onda de 530nm e absorbância entre 0,08–0,1, correspondendo à concentração de  $5 \times 10^6$  UFC/mL. Nos poços da microplaca, durante os testes de atividade antimicrobiana, esta concentração caiu pela metade, resultando em  $2,5 \times 10^3$  UFC/mL.

#### 4.6.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Fungicida Mínima (CFM)

A atividade antifúngica da fração n-butanol do extrato hidroetanólico de *S. obtusifolium* foi determinada segundo a normatização M27-A3 do *Clinical Laboratory and Standards Institute* (CLSI), por meio da técnica da microdiluição em caldo (CLSI, 2008). A partir desta, foram obtidas a Concentração Inibitória Mínima/CIM e a Concentração Fungicida Mínima/CFM da fração n-butanol do extrato frente às cepas de coleção de cultura.

Microplacas de fundo chato com 96 poços (Cralpast, Cotia, Brasil) foram preparadas inserindo-se 100 µL de meio de cultura caldo Sabouraud Dextrose em todos os poços. Em seguida, 100 µL das diluições da fração n-butanol do extrato de *S. obtusifolium* (4000 µg/mL) foram inseridos na primeira fileira de poços da microplaca. Diluições seriadas (1:2) foi então realizadas por meio da transferência de 100 µL aos poços subsequentes. Em



seguida, 100 µL da suspensão dos microrganismos (diluído 1000× em caldo Ágar Sabouraud Dextrose. Concentração:  $1 \times 10^3$  UFC/mL) foram inseridos em todos os poços. Desse modo, o extrato foi ensaiado entre o intervalo das concentrações 1000 µg/mL e 7,8 µg/mL. Controle de viabilidade dos microrganismos (ausência de antimicrobiano), bem como controle de esterilidade do meio de cultura (ausência de inoculação de microrganismos nos poços), e do veículo (etanol a 40%) foram realizados para garantir acurácia do método. Controle farmacológico com nistatina (controle positivo) foi realizado nas concentrações que variam de 64 a 0,5 µg/mL.

As placas foram então incubadas a 37°C, por 24 h, em aerobiose. Após esse período, a CIM foi definida como a menor concentração das substâncias capaz de inibir o crescimento visível dos microrganismos avaliados. A viabilidade dos microrganismos foi determinada pela utilização do corante resazurina (3 mM), que foi pipetado (50 µL) em todos os poços após o período de incubação para determinação da CIM (24 h). A metabolização do corante pelos microrganismos viáveis resultou na produção de um pigmento de cor rosa. A CIM foi considerada a menor concentração que resultou na inibição do crescimento microbiano.

A CFM foi determinada pela semeadura (10 µL) em placas de Petri contendo o meio de cultura Agar Sabouraud Dextrose, de todos os poços correspondentes a concentrações iguais ou superiores a CIM. Após semeadura, as placas foram incubadas a 37° C por 24 h. Em seguida, a CFM foi considerada a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento dos sub-cultivos.

As análises foram realizadas em triplicata em dias independentes, totalizando nove leituras por experimento.

## 5 RESULTADOS

Por meio de *screening* fitoquímico da fração n-butanol do extrato de *S. obtusifolium*, foram identificados compostos bioativos importantes, como flavonoides, alcaloides e triterpenos, sugerindo os possíveis efeitos antifúngicos da fração sobre *Candida ssp* apresentados neste estudo.

A atividade antifúngica da fração n-butanol do extrato de *S. obtusifolium* e de fármaco padrão sobre as cepas de *Candida* foi avaliada por meio de análises das concentrações capazes de exercer efeitos inibitórios e letais sobre o crescimento dos microrganismos. Os valores da Concentração Inibitória Mínima e Concentração Fungicida Mínima (expressos em  $\mu\text{g/mL}$ ), bem como a descrição da relação CFM/CIM estão descritas na tabela 1.

Tabela 1- Atividade antifúngica da fração n-butanol do extrato de folhas de *S. obtusifolium* e de fármaco padrão sobre *Candida ssp* (valores de CIM e CFM expressos em  $\mu\text{g/mL}$ ).

MICROORGANISMOS/SUBSTÂNCIAS	CIM	CFM	Relação CFM/CIM
<b><i>C. albicans</i> (ATCC 10231)</b>			
Fração n-butanol	250	>1000	>4
Nistatina	8	>64	>8
<b><i>C. glabrata</i> (ATCC 90030)</b>			
Fração n-butanol	500	>1000	>2
Nistatina	8	>64	>8
<b><i>C. tropicalis</i> (ATCC 750)</b>			
Fração n-butanol	250	500	2
Nistatina	8	>64	>8

Diante dos resultados, pode-se observar que a fração n-butanol do extrato de folhas de *S. obtusifolium* apresentou forte potencial de ação sobre a inibição de crescimento de *Candida ssp*, demonstrando valores de CIM que variaram entre 250  $\mu\text{g/mL}$  a 500  $\mu\text{g/mL}$  para esses microrganismos. Observa-se que, as espécies *C. albicans* (ATCC 10231) e *C. tropicalis* (ATCC 750) apresentaram maior sensibilidade à ação antifúngica da fração, diferentemente de *C. glabrata* (ATCC 90030) que demonstrou maior resistência.

No entanto, neste estudo, indica-se que a fração n-butanol apresentou potencial antimicrobiano ativo, demonstrando valores de CIM  $<1000 \mu\text{g/mL}$  para espécies estudadas; e um potencial antimicrobiano moderado (CIM de  $100 \mu\text{g/mL}$  -  $500 \mu\text{g/mL}$ ) de acordo com a classificação de Holetz *et al.* (2002) e Morales *et al.* (2008).

## 6 DISCUSSÃO

A realização de estudos com extratos de plantas medicinais e frações isoladas tem adquirido importância especial em virtude das diferentes atividades biológicas, que podem ser atribuídas à presença de determinados grupos de compostos bioativos (CARTAXO-FURTADO *et al.*, 2015; PEREIRA *et al.*, 2016).

Por meio de *Screening* qualitativo da fração n-butanol, foram identificados compostos bioativos como flavonoides, alcaloides, esteroides e triterpenos. Desse modo, a presença destes compostos sinaliza a possibilidade de atribuir um potencial valor terapêutico promissor para a fração. Esses compostos bioativos apresentam forte atividade antifúngica, o que foi evidenciado neste estudo para as espécies de *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*. Ademais, estas substâncias apresentam propriedades farmacológicas importantes como antimicrobiana, antiinflamatória, anticarcinogênica e antioxidante.

Na literatura, ainda são escassos os estudos sobre o potencial antifúngico da fração n-butanol de *S. obtusifolium*, contudo, os resultados dessa pesquisa corroboram aos apresentados por Sampaio *et al.* (2017) e Pereira *et al.* (2017) que, em seus achados, demonstram um forte potencial antimicrobiano da fração frente ao crescimento de *Candida albicans*.

Nesta pesquisa, a atividade antifúngica foi realizada utilizando o método da microdiluição em caldo da fração butanólica do extrato da quixabeira frente espécies de *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Candida tropicalis*. Os resultados foram promissores indicando uma atividade antifúngica da fração de forte a moderada frente o crescimento destas espécies.

A investigação bioquímica da fração n-butanol permitiu também caracterizá-la quanto a sua atividade antifúngica com base na avaliação da relação CFM/CIM proposta por Siddiqui *et al.* (2013), tendo demonstrado ação fungistática (CFM/CIM  $\geq$  4) para as espécies *C. albicans* e *C. glabrata*, e ação fungicida (CFM/CIM  $<$  4) para *C. tropicalis*. Esses dados permitem corroborar aos resultados sobre a atividade antifúngica da fração sobre *C. albicans* em estudo realizado por Pereira *et al.* (2016).

Diante disso, os resultados deste estudo evidenciam um potencial promissor da fração n-butanol do extrato das folhas de *S. obtusifolium* na atividade antifúngica em infecções ocasionadas pelas espécies *Candida*. Entretanto, por se tratar de um estudo *in vitro*, sugere-se ainda realização de investigações, como testes de toxicidade *in vitro* e *in vivo*, além da atividade antibiofilme, objetivando o desenvolvimento de pesquisas *in vivo*

para uma eventual indicação e utilização na clínica odontológica como forma de terapia antifúngica alternativa.

## 7 CONCLUSÃO

- A fração n-butanol do extrato de *S. obtusifolium* apresenta compostos bioativos, como flavonoides, alcaloides e triterpenos, sugerindo a ação antifúngica sobre as espécies de *Candida* analisadas;
- A fração n-butanol apresentou potencial antimicrobiano sobre o crescimento de *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis*;
- A fração do extrato apresentou ação fungistática sobre *C. albicans* e *C. glabrata* e fungicida sobre *C. tropicalis*.

## REFERÊNCIAS

- ABILIO, V.M.F. *et al.* Atividade antifúngica de produtos naturais indicados por raizeiros para tratamento de candidíase oral. **Rev Cub Estomatol**, Ciudad de La Habana, v.51, n.3, p.259-269, set. 2014.
- AQUINO P.E.A. *et al.* Avaliação da atividade anti-inflamatória tópica e antibacteriana do extrato metanólico das folhas de *Sideroxylon obtusifolium*. **Acta biol. Colomb.** v. 21, n.1. p.131-140, 2016.
- ARAÚJO-NETO V. *et al.* Therapeutic benefits of *Sideroxylon obtusifolium* (Humb. Ex Roem. & Schult.) T.D. Penn., Sapotaceae, in experimental models of pain and inflammation. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 6, p. 933-938, Dez. 2010.
- BANSOD, S.; RAI, M. Antifungal activity of essential oils from Indian medicinal plants against human pathogenic *Aspergillus fumigates* and *A. niger*. **World Journal of Medical Sciences**, v. 3, n. 2, p. 81-88, 2008.
- BETTEGA, P.V.C. *et al.* Fitoterapia: dos canteiros ao balcão da farmácia. **Archives of Oral Research.**, v. 7, n. 1, p. 89-97, 2011.
- CARTAXO-FURTADO, N.A.D.E.O. *et al.* Perfil fitoquímico e determinação da atividade antimicrobiana de *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Myrtaceae) frente a microrganismos bucais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p.1091-1096, 2015.
- CASTRO, R.D; LIMA, E.O. Atividade antifúngica dos óleos essenciais de sassafrás (*Ocotea odorifera* Vell.) e alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) sobre o gênero *Candida*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 2, p. 203-208, 2011.
- CASTRO, R.D *et al.* Brazilian scientific production on herbal medicines used in dentistry. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 16, n. 3, p. 618-627, 2014.
- CASTILHO, A.R; MURATA, R.M; PARDI, V. Produtos naturais em Odontologia. **Revista Saúde**, v. 1, n. 1, p.11-19, 2007.
- CHANDRA, S.; MEJÍA, E.G. Polyphenolic Compounds, antioxidant capacity, and quinone reductase activity of an aqueous extract of *ardisia compressa* in comparison to mate (*Ilex paraguariensis*) and green (*Camellia sinensis*) teas. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3583-3589, 2004.
- CLSI. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Norma M27-A3 NCCLS. **Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras**. Pensylvânia: NCCLS; p. 59, 2008.



CLSI. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Norma M27-A2. **Método de referência para testes de diluição em caldo para determinação da sensibilidade de leveduras à terapia antifúngica**. 2. ed. Pennsylvania: NCCLS; 51p. 2002.

COLOMBO, A.L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 1, p. 599-607, 2003.

COSTA, R. S. **Estudos de Pré-Formulação e Formulação de *Heliotropium indicum* (L.) DC (Boraginaceae)**. 2010. 139 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)– Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, Belém, 2010.

DANTAS, Alessandra da Silva *et al.* Cell biology of *Candida albicans*–host interactions. **Current opinion in microbiology**, v. 34, p. 111-118, 2016.

FARAH, C.S.; LYNCH, N.; MCCULLOUGH, MJ. Oral fungal infections: an update for the general practitioner. **Australian Dental Journal**, v. 5 ( Suppl 1), p. 48-54, 2010.

FRANCISCO, K.M.S. Fitoterapia: uma opção para o tratamento odontológico. **RevistaSaúde**, v. 4, n. 1, p. 18-24, 2010.

FIGUEIREDO, F.J.; LIMA, V.L.A.G. Antioxidant activity of anthocyanins from quixabeira (*Sideroxylon obtusifolium*). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 17, n.3, p. 473-479, 2015.

HOLETZ, F.B. *et al.* Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.97, n.7, p.1027-1031, 2002.

HASENCLEVER, Lia *et al.* A indústria de fitoterápicos brasileira: desafios e oportunidades. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, p. 2559-2569, 2017.

JESUS, R. P. F. S. *et al.* Ação antibacteriana e antiaderente de *Pithecello biumcochliocarpum* (gomez) Macbr sobre microrganismos orais. **Odontologia Clínica-Científica (Online)**, v. 9, n. 4, p. 331-335, 2010.

JUNQUEIRA, J.C. *et al.* Oral colonization by yeasts in HIV-positive patients in Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo**, v. 54, n. 1, p. 17-24, jan./fev, 2012.

LALLA, R. V; PATTON, L.L; DONGARI-BAGTZOGLU, A. Oral Candidiasis: Pathogenesis, Clinical Presentation, Diagnosis and Treatment Strategies. **CDA Journal**, v. 41, n. 4, p. 263-268, 2013.

LEITE, N.S. *et al.* Avaliação das atividades cicatrizante, anti-inflamatória tópica e antioxidante do extrato etanólico da *Sideroxylon obtusifolium* (quixabeira). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 17, n.1, p. 164-170, 2015.

- LOPES, A.C. **Tratado de clínica médica**. São Paulo: Roca, v. 3, n. 1, p. 5366, 2006.
- MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3. ed. Fortaleza: Edições UFC, p.150, 2009.
- MARIANI, T.R.; SILVA, S.O.; CARLI, J.P. Prevalência de candidose bucal em pacientes hospitalizados e avaliação dos fatores de risco. **Salusvita**, Bauru, v. 35, n. 3, p. 379-395, 2016.
- MARQUES, Paola Alvares *et al.* Prescrição farmacêutica de medicamentos fitoterápicos. **Brazilian Journal of Natural Sciences**, v. 2, n. 1, p. 15-15, 2019.
- MONGE, R.A. *et al.* The MAP Kinase signal transduction network in *Candida albicans*. **Microbiology**, v. 152, n. 1, p. 905-12, 2006.
- MORALES, G. Antimicrobial activity of three baccharis species used in the traditional medicine of Northern Chile. **Molecules**, v.13, n. 4, p.790-794, 2008.
- MUADCHEINGKA, T.; TANTIVITAYAKUL, P. Distribution of *Candida albicans* and non-*albicans Candida* species in oral candidiasis patients: Correlation between cell surface hydrophobicity and biofilm forming activities. **Archives of Oral Biology**, v. 60, p. 894-901, 2015.
- MÜLLER, V. *et al.* *Candida albicans* triggers activation of distinct signaling pathways to establish a proinflammatory gene expression program in primary human endothelial cells. **The Journal of Immunology**, v. 179, n. 1, p. 8435-45, 2007.
- NÓBREGA, Andressa Lacerda *et al.* A importância da orientação dos profissionais das equipes de saúde da família a cerca do uso da fitoterapia. **Revista Brasileira de Educação e Saúde**, v. 7, n. 1, p. 43-48, 2017.
- NWODO, U. U. *et al.* Assessment of *Tamarindusindica* extracts for antibacterial activity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, p. 6385-6396, 2011.
- OLIVEIRA, M.A.C. **Plantas medicinais utilizadas para problemas bucais: estudo etnobotânico em diferentes biomas da Paraíba**. 2010. 111p. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.
- OLIVEIRA, A.P. *et al.* Metabolite profiling of the leaves of the brazilian folk medicine *Sideroxylon obtusifolium*. **Planta Medica**, v.78, n.7, p.703-710, 2012.
- OROZCO, A.S.; ZHOU, X.; FILLER, S.G. Mechanisms of the proinflammatory response of endothelial cells to *Candida albicans* infection. **Infection and Immunity**, v. 68, n. 3, p.1134-41, 2000.
- SALERNO, C. *et al.* Candida-associated denture stomatitis. **Medicina Oral Patologia**

**Oral y Cir. Bucal**, v. 16, n. 2, p. 39-43, 2011.

SIDDIQUI, Z.N. *et al.* Synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of novel halopyrazole derivatives. **Journal of Saudi Chemical Society**, v.17, n.2, p. 237–243. 2013.

PEREIRA, J. V. *et al.* Antifungal potential of *Sideroxylon obtusifolium* and *Syzygium cumini* and their mode of action against *Candida albicans*. **Pharmaceutical biology**, v. 54, n. 10, p. 2312–2319, 2016.

PORTELA, Gislaine Simões. **Bioprospecção de plantas medicinais com atividade antimicrobiana e anti-quorum sensing**. 2011. 93 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

REIS, L.F.C. *et al.* Chemical characterization and evaluation of antibacterial, antifungal, antimycobacterial, and cytotoxic activities of *Talinumpaniculatum*. **RevInstMedtrop, S. Paulo**, São Paulo, v. 57, n. 5, p. 397-405, 2015.

ROCHA, E.A.L.S.S. Potencial antimicrobiano de seis plantas do semiárido paraibano contra bactérias relacionadas à infecção endodôntica. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v. 34, n. 3, p. 351-355, 2013.

RITO, D.I.V. *et al.* Análise fitoquímica e atividade antifúngica do óleo essencial de folhas de *Lippiasidoides* Cham. e do Timol contra cepas de *Candida* spp **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 17, n. 4, supl. 2, p. 836-844, 2015.

SAMPAIO, T.P.D. *et al.* Antimicrobial Potential of Plant Extracts and Chemical Fractions of *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. & Schult.)T.D. Penn on Oral Microorganisms. **The Journal of Contemporary Dental Practice**, v. 18, n. 5, p. 392-398, 2017.

SANTOS, K.K.A. **Atividade antiepinastigota, citotóxica e fungicida de plantas medicinais da Região do Cariri**. 2011. Dissertação (Mestrado). Universidade Regional do Cariri, Ceará, 2011.

SILVA-ROCHA *et al.* *Candida* species distribution, genotyping and virulence factors of *Candida albicans* isolated from the oral cavity of kidney transplant recipients of two geographic regions of Brazil. **BMC Oral Health**, v.15, p. 14-20, 2014.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. Micro-organismos e doenças humanas. In: TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. **Microbiologia**. Porto Alegre, RS: Artmed, 2012

WINGETER, M.A. *et al.* Identificação microbiológica e sensibilidade *in vitro* de *Candida* isoladas da cavidade oral. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 3, p.272-6, 2007.