

AValiação DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DO EXTRATO ETANÓLICO DE FEIJÃO GUANDU (*CAJANUS CAJAN*)

Derlaine Justo dos Santos¹
Cleide Aparecida de Melo²
Jéssica Aparecida da Costa³
Juliana Cristina dos Santos Almeida⁴
Nívea Cristina Vieira Neves⁵
Ana Paula Pôssa⁶
Rosana Gonçalves Rodrigues-das-Dôres⁷

RESUMO

O feijão-guandu é uma espécie perene pertencente à família Fabaceae. É um arbusto ereto, ramificado e peludo, de 1 a 2 metros de altura. Suas folhas são usadas popularmente para diabetes, rouquidão, gastrite, afta, cárie e cicatrização de feridas. Apesar de relatos de usos populares para patologias humanas, o estudo da espécie *Cajanus cajan* é excipiente frente a doenças fúngicas, como as causadas por *Candida spp.* O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica da espécie *Cajanus cajan* frente a espécie de *Candida albicans* ATCC-18804. A amostra vegetal foi coletada em Barroso – MG. O extrato etanólico foi produzido por maceração exaustiva no período de 15 dias. A atividade antifúngica foi avaliada segundo a metodologia proposta pela organização americana *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M27-A2*. As concentrações de extratos testadas foram 1000 µg/mL; 500µg/mL; 250µg/mL; 125 µg/mL; 62,5 µg/mL; 31,25 µg/mL; 15,6 µg/mL; 7,8 µg/mL; 3,9 µg/mL; 1,9 µg/mL; 0,97 µg/mL; 0,48 µg/mL; 0,24 µg/mL e 0,12µg/mL. O antifúngico fluconazol foi usado como controle positivo. O controle do meio RPMI-1640, do solvente e do crescimento fúngico foram realizados. Os testes foram feitos em duplicata. O extrato etanólico das folhas de *Cajanus cajan* demonstrou potencial antifúngico moderado, apresentando uma CIM de 1,9 µg/mL frente a cepa ATCC-18804 de *Candida albicans*.

Palavras-chave: Feijão-guandu; *Cajanus cajan*; atividade antifúngica.

ABSTRACT

¹ Graduada em Farmácia. Fundação Presidente Antônio Carlos. E-mail: derlansj@hotmail.com

² Graduada em Farmácia. Fundação Presidente Antônio Carlos. E-mail: cleidemelo@hotmail.com

³ Graduada em Farmácia. Fundação Presidente Antônio Carlos. E-mail: jcris80@yahoo.com.br

⁴ Mestre em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Ouro Preto. E-mail: jucris78@gmail.com

⁵ Mestre em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Ouro Preto. E-mail: niveacvn@gmail.com

⁶ Mestre em Biotecnologia. Universidade Federal de São João del Rei. E-mail: jcris80@yahoo.com.br

⁷ PhD. Università degli Studi di Messina. E-mail: rosanagr@gmail.com

Pigeon pea is a perennial plant belonging to the Fabaceae family. Its leaves are popularly used for diabetes, hoarseness, gastritis, cold sore, caries and wound healing. Despite reports of popular uses for human pathologies, the study of the *Cajanus cajan* specie is excipient against fungal diseases, such as those caused by *Candida* ssp. The present study aimed to evaluate the antifungal activity of the *Cajanus cajan* against *Candida albicans* species ATCC-18804. The plant sample was collected in Barroso - MG. The ethanolic extract was produced by exhaustive maceration in the period of 15 days. The antifungal activity was evaluated according to the methodology proposed by the American organization *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) M27-A2. The concentrations of extracts tested were 1000 µg/mL; 500µg/mL; 250µg/mL; 125 µg/mL; 62,5 µg/mL; 31,25 µg/mL; 15,6 µg/mL; 7,8 µg/mL; 3,9 µg/mL; 1,9 µg/mL; 0,97 µg/mL; 0,48 µg/mL; 0,24 µg/mL e 0,12µg/mL. As positive control, the antifungal fluconazole was used. Control of RPMI-1640 medium, solvent and fungal growth were performed. The tests were done in duplicate. The ethanolic extract from the leaves of *Cajanus cajan* showed an moderate antifungal potential, presenting a MIC of 1,9 µg/mL against the strain ATCC-18804 of *Candida albicans*.

Keywords: Pigeon pea; *Cajanus cajan*; antifungal test.

1. INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), plantas medicinais são todas aquelas que contêm em um ou mais partes de seus órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com propósitos terapêuticos ou que sejam precursoras de semi-síntese, químico farmacêutica (SILVA *et al.*, 2012).

A utilização de plantas medicinais é uma das mais antigas alternativas empregadas no tratamento de vários processos patológicos, tais como diabetes, hipertensão, candidose, dentre outros (SALVAGANI *et al.*, 2008; SOBRINHO, GUEDES-BRUNI, CHRISTO, 2011; FERREIRA, RODRIUGUES E COSTA, 2016).

A *Candida spp* é um fungo leveduriforme que faz parte da microbiota normal de vários sítios anatômicos, sendo capaz de aumentar sua população e passar de colonizante para infectante, podendo ser classificada na clínica médica como infecções superficiais ou oportunistas. A designação acompanha a localização e geralmente está ligada aos pacientes com doenças imunossupressoras, pacientes que apresentam condições de debilidade tais como diabetes, Síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), neoplasias entre outras. É encontrada como flora normal da mucosa oral, da pele, do trato gastrointestinal e urogenital (MKAEILI *et al.*, 2012).

A destruição da microbiota benéfica interfere no sistema imune e endócrino contribuindo com o aumento da população de leveduras e facilmente se tornam resistentes aos antifúngicos usuais já que suas defesas se encontram debilitadas (MKAEILI *et al.*, 2012).

Devido ao aumento da resistência aos antifúngicos e a complexa atividade nas células eucariotas, pois existe uma semelhança dos fungos com as nossas próprias células, é extremamente importante o estudo de novas alternativas terapêuticas para o tratamento da candidose (CORADI, GONÇALVES & GONÇALVES, 2017).

Os estudos da espécie *Cajanus cajan* são mais direcionados para a produção dos grãos verde e constituem uma grande quantidade de vitaminas, proteínas e minerais, existindo poucos estudos da atividade antifúngica da espécie. Atualmente, tem sido empregado na alimentação de animais, entretanto, é utilizado pela população como planta medicinal, com o nome popular de feijão-guandu (ALBERNAZ, 2010; SUN *et al.*, 2017).

Devido à carência de estudos da atividade antifúngica da planta *Cajanus cajan* e a necessidade da descoberta de fármacos para o tratamento da candidose, torna-se extremamente relevante a avaliação da atividade antifúngica frente às espécies *Candida* spp (ANDRADE, 2009; ALBERNAZ, 2010).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade inibitória do extrato etanólico feito a partir das folhas da planta *Cajanus cajan* sobre a espécie *Candida albicans*- 18804 ATCC.

MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Coleta e obtenção das amostras

A coleta das folhas foi realizada em agosto de 2013, na Cidade de Barroso, MG, Brasil. O órgão da planta selecionado para a produção do extrato foi folhas frescas, pré-selecionadas sem manchas ou contaminantes. As folhas foram higienizadas com água e secas, sendo rasuradas em seguida. O processo de produção do extrato foi maceração a frio com álcool a 70% (v/v), segundo metodologia de Simões (1999). O material vegetal (28,86 g) previamente rasurado foi macerado com etanol a 70%, por período de 15 dias a temperatura ambiente. Através da filtração simples as folhas

foram separadas do extrato e em seguida o solvente foi recuperado em evaporador rotativo (Evaporador Rotativo Tecnal TE210) a 40 °C, sob pressão reduzida e o extrato etanólico bruto foi pesado, seco em dessecador por 7 dias. O rendimento do extrato foi de 10,5% e o mesmo foi armazenado em geladeira por um período de 10 dias.

2.2. Atividade antifúngica

Leveduras: origem e manutenção

Para avaliação antifúngica, foi utilizada a linhagem padrão de *Candida albicans*-ATCC 18804. A manutenção da levedura foi adicionada e cultivada em caldo Gypm (glicose 2%, extrato de levedura 0,5%, extrato de malte 1% e fosfato de sódio monobásico 0,2%) com 15% de glicerol estéril e armazenado em ultra freezer a -80°C. Para os ensaios realizados as leveduras foram crescidas em ágar Sabouraud dextrosado (SB) (Sigma-USA) e incubadas em estufa microbiológica a 35° C durante 24-48 horas.

Preparo do inóculo

O inóculo foi preparado conforme a metodologia padronizada pela organização americana *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) M27-A3 (2008). Para isto, o isolado de *C. albicans* utilizado foi crescido por 24 horas em ágar Sabouraud dextrosado (SB) a $\pm 35^{\circ}$ C. Após este período 2 a 3 colônias foram retiradas assepticamente com auxílio de uma alça bacteriológica descartável e estas foram suspensas em 5 mL de solução salina estéril a 0,85% e homogeneizadas em vórtex. Posteriormente a turbidez da suspensão de leveduras foi ajustada em espectrofotômetro (FENTO 700 Plus) a fim de se obter uma transmitância de 75% a 80% em comprimento de onda 530 nm o que corresponde a concentração padrão de levedura com 1×10^6 a 5×10^6 células/mL.

A partir desta suspensão foram realizadas duas diluições, primeiramente 1:50 seguida de da diluição de 1:20 em meio RPMI-1640 (INLAB, SP, Brasil) com tampão MOPS (ácido 3-[N- morfolino] propanosulfônico) 0,165 M (SIGMA), pH 7, obtendo-se desta forma a concentração a 1×10^3 a 5×10^3 células/mL, conforme descrito no documento M27-A3 do CLSI (2008).

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

O teste de microdiluição para determinação da CIM foi realizado em meio sintético RPMI-1640 acrescido de MOPS e preparado de acordo com o documento M27-A3 (CLSI, 2008).

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pelo teste de micro diluição em caldo realizado em microplacas de 96 poços (Biofil®), seguindo as orientações contidas no documento M27-A3 (CLSI, 2008).

Os ensaios foram realizados com o extrato bruto etanólico das folhas de *Cajanus cajan* em concentrações 1000 µg/mL; 500µg/mL; 250µg/mL; 125 µg/mL; 62,5 µg/mL; 31,25 µg/mL; 15,6 µg/mL; 7,8 µg/mL; 3,9 µg/mL; 1,9 µg/mL; 0,97 µg/mL; 0,48 µg/mL; 0,24 µg/mL e 0,12µg/mL, conforme preconizado pelo protocolo CLSI (M37-A2). O antifúngico fluconazol solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO) foi utilizado como padrão positivo nas mesmas concentrações que os extratos. O álcool 70°GL foi utilizado como controle negativo. Os controles do meio de cultura, do crescimento fúngico, dos extratos vegetais foram realizados. A espécie usada para o teste foi cepa adquirida da *American Type Culture Collection* (ATCC), sendo determinada como *Candida albicans* (ATCC 18804).

Logo após a micropipetagem dos inóculos, do meio de cultura e dos controles, as microplacas foram tampadas e incubadas a 28°C por 48 horas. Para a leitura dos resultados as placas foram lidas visualmente com auxílio de suporte e espelho. A CIM do extrato de planta foi definida pela menor concentração para o qual se observou a ausência de crescimento visível, ou seja, a nítida transparência, expressos em µg/mL. Todos os testes foram realizados em duplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O resultado da CIM do extrato da planta *Cajanus cajan* contra o isolado de *C. albicans* ATCC- 18804 está demonstrado na **Tabela 1**.

No experimento o controle positivo, do meio, do crescimento fúngico, dos solventes e dos extratos foram adequados.

Tabela 1: Concentração Inibitória Mínima dos extratos vegetais de *Cajanus cajan* sobre o crescimento da levedura *Candida albicans* ATCC- 18804.

Amostras testadas	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)
Extrato bruto etanólico <i>Cajanus cajan</i>	1,9
Fluconazol	0,48

Nas concentrações de 1000 $\mu\text{g/mL}$; 500 $\mu\text{g/mL}$; 250 $\mu\text{g/mL}$; 125 $\mu\text{g/mL}$; 62,5 $\mu\text{g/mL}$; 31,25 $\mu\text{g/mL}$; 15,6 $\mu\text{g/mL}$; 7,8 $\mu\text{g/mL}$ e 3,9 $\mu\text{g/mL}$ o crescimento fúngico foi visivelmente observado. Nas concentrações de 1,9 $\mu\text{g/mL}$; 0,97 $\mu\text{g/mL}$; 0,48 $\mu\text{g/mL}$; 0,24 $\mu\text{g/mL}$ e 0,12 $\mu\text{g/mL}$ não houve crescimento visivelmente observável.

O poder antimicrobiano de produtos vegetais foi proposta uma escala por Aligianis *et al.* (2001), a partir de resultados obtidos de concentrações inibitórias mínimas obtidas através de técnica de microdiluição. Produtos cuja CIM seja de até 0,5 $\mu\text{g/mL}$ possuem forte poder antimicrobiano. Concentrações entre 0,6 e 1,9 $\mu\text{g/mL}$ são munidos de moderado poder antimicrobiano. Já aqueles produtos com valores de CIM acima de 2,0 $\mu\text{g/mL}$ são tidos como fraco poder antimicrobiano.

A avaliação quantitativa da atividade antifúngica (determinação da Concentração Inibitória Mínima – CIM) demonstrou que o extrato bruto etanólico das folhas de feijão-guandu (*Cajanus cajan*) tem moderada atividade antimicrobiana contra *C.albicans* na concentração de 1,9 $\mu\text{g/mL}$.

Diversas partes de *Cajanus cajan*, principalmente as folhas, têm sido extensivamente pesquisadas por conta de suas propriedades etnofarmacológicas. Na realização do ensaio antifúngico por Brito (2011) foi encontrado para o extrato das folhas valor CIM de 256 $\mu\text{g/mL}$ frente a *Candida albicans*, sendo que não usou a mesma espécie de *Candida* e alguns outros fatores podem influenciar como a secagem, as partes da folha, a época de coleta, entre outros.

As leveduras do gênero *Candida* têm grande importância pela alta frequência com que colonizam e infectam o hospedeiro humano. Espécies de *Candida* são encontradas no tubo gastrintestinal em 20% a 80% da população adulta saudável.

Esses micro-organismos comensais tornam-se patogênicos, caso ocorram alterações nos mecanismos de defesa do hospedeiro ou o comprometimento de barreiras anatômicas

secundariamente a queimaduras ou procedimentos médicos invasivos (COLOMBO & GUIMARÃES, 2003).

As espécies de *Candida* são as leveduras mais usualmente envolvidas na etiologia de infecções micóticas. A candidose caracteriza-se como a infecção fúngica mais comum sendo *Candida albicans* seu agente etiológico mais frequente (COLOMBO & GUIMARÃES, 2003).

Atualmente, no mercado farmacêutico existe uma vasta gama de medicamentos para o tratamento de infecções micóticas, dentre eles podem ser citados os antissépticos (tintura de iodo, violeta genciana, ácido salicílico e benzóico, quinonas), compostos azóis (cetoconazol, fluconazol, miconazol) e os compostos de selênio e anfotericina B. Entretanto, as infecções fúngicas são de difícil tratamento devido à resistência adquirida pelos microorganismos frente aos agentes antimicóticos (LIMA *et al.*, 2006; TEIXEIRA, 2013; LIMA, 2014; GASTELÚ *et al.*, 2016; LANCHÁ *et al.*, 2016). Portanto, torna-se interessante o estudo de uma substância que possa auxiliar ou efetivamente tratar quadros de infecções fúngicas, principalmente causadas por espécies do gênero *Candida*.

Candida albicans é espécie mais associada a diversos quadros patológicos relacionados a infecções superficiais e invasivas em diferentes sítios anatômicos. Esta espécie é naturalmente sensível a uma gama grande de antifúngicos, entretanto casos de resistência têm sido associados ao uso prolongado de azólicos (COLOMBO & GUIMARÃES, 2003, MENEZES *et al.*, 2016).

Várias espécies vegetais são utilizadas popularmente para o tratamento da candidose como camomila (*Matricaria chamomilla*), anis (*Pimpinella anisum* L.), menta (*Mentha piperita*) (SANTOS *et al.*, 2016), feijão guandu (*Cajanus cajan*), amora (*Morus alba* L.), barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* Mart. Coville), transagem (*Plantago major* L.), dentre outras (PAIVA *et al.*, 2017).

A espécie feijão guandu possui vários metabólitos na sua composição como flavonoides, taninos, saponinas, cumarinas, isoflavonas e estilbenos. As folhas são ricas em compostos polifenólicos que estão relacionados à atividade biológica da espécie para o tratamento de diversas patologias humanas (MATHEW *et al.*, 2017).

Orientina, apigenina, luteolina, vitexina e apigenina-6,8-di-C- α -arabinopiranosídeo são alguns flavonoides descritos na literatura presentes nas folhas de *Cajanus cajan* (AARON, PAULL & COLGRAVE, 2015).

Os flavonoides luteolina, vitexina e apigenina isolados das folhas de feijão guandu demonstraram atividade antimicrobiana significativa em diversos estudos relatados na literatura (MORALES & MORALES, 2016; SAGOLSHEMCHA, DEVI & SINGH, 2017).

A atividade antifúngica do extrato etanólico das folhas de feijão guandu pode estar relacionada com a presença dos compostos fenólicos descritos na literatura para a espécie, principalmente os flavonoides.

CONCLUSÃO

O extrato etanólico das folhas de *Cajanus cajan* demonstrou ação antifúngica frente a *Candida albicans* ATCC 18804, nas concentrações de 1,9 $\mu\text{g/mL}$; 0,97 $\mu\text{g/mL}$; 0,48 $\mu\text{g/mL}$; 0,24 $\mu\text{g/mL}$ e 0,12 $\mu\text{g/mL}$.

A concentração inibitória mínima (CIM) do extrato estudado foi de 1,9 $\mu\text{g/mL}$. Portanto, o extrato etanólico das folhas de *Cajanus cajan* apresentou ação antifúngica frente à espécie de *Candida albicans* ATCC 18804, podendo abrir perspectivas no sentido de desenvolver um fitoterápico eficaz e de baixo custo para candidose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARON, N.; PAULL, C.A.; COLGRAVE, M. **The flavonoid profile of pigeon pea, *Cajanus cajan*: a review.** Springerplus, v. 4:125, 2015.

ALBERNAZ, L.C. **Atividades antiparasitárias e antifúngicas de plantas do cerrado: *Speranthea Odoratissima* e *Drospyros hispida*.** Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Escola Doutoral do Museu Nacional De história natural de Paris, Universidade de Brasília, Brasília, 2010.

ALIGIANNIS, N.; KALPOUTZAKIS, E.; MITADU, S.; CHINOU, I.B. **Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species.** J. Agric. Food Chem. v.49, 2001.

ANDRADE, A. P. S. **Organogênese in vitro em feijão guandu (*Cajanus cajan*).** Dissertação (Pós Graduação em genética e Melhoramento, para obtenção do título de Magister Scientiae) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

BRITO, S.A. **Estudo químico e biológico de *Cajanus cajan*.** Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Regional Do Cariri, Crato, 2011.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Reference method for broth antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard. 2 ed. CLSI document. n. 27-a3. wayne, PA:CLSI, 2008.

COLOMBO, A.L. & GUIMARÃES, T. **Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida spp.*** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 36(5), 599 – 607, 2003.

CORADI, S.T.; GONÇALVES, G.C. & GONÇALVES, M.R.C. **Identificação de leveduras do gênero *Candida* em amostras de urina, diferenciando estágios de colonização e infecção.** Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, v.38, 2017.

FERREIRA, L.B.; RODRIGUES, M.O.; COSTA, J.M. **Etnobotânica das Plantas Medicinais Cultivadas nos Quintais do Bairro de Algodal em Abaetetuba/PA.** Revista Fitos, v.10, n.3, 2016.

GASTELÚ, J.E.V.; NAKATA, H.M.; SALCEDO-MONCADA, D.; PINEDA-MEÍJA, M.; PERFECTO, D.R.; ZAMBRANO DE LA PEÑA, L.S.; CADILLO, E.E.M.; ROJAS, G.A.M.; PETKOVA-GUEORGUIEVA, M.; ÁLVAREZ, R.M.B. **Efecto Antimicótico in vitro de *Origanum vulgare* sobre cepas de *Candida albicans*.** Odontologia Sanmarquina, v.19, n.2, 2016.

LANCHA, M.R.P.; LANCHAS, M.R.P.; MUÑOZ, Y.P.; ANDREU, C.M.F.; MACHÍN, G.M.; ILLNAIT, M.T. **Susceptibilidad antifúngica de aislados vaginales de *Candida spp.*** Revista Cubana de Medicina Tropical, v.68, n.3, 2016.

LIMA, I.O.; OLIVEIRA, R.A.G.; LIMA, E.O.; FARIAS, N.M.P.; SOUZA, E.L. **Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*.** Revista Brasileira de Farmacognosia. 16(2), 197-201, 2006.

LIMA, R.A.; NETO, M. F. **Atividade antifúngica do extrato etanólico dos frutos de *Solanum grandiflorum* sobre *Rhizoctonia solani* in vitro.** Revista Saúde e Pesquisa, v.7, n.1, p.103-108, 2014.

MATHEW, D.; LIDIYA, J.P.; MANILA, T.M.; DIVYASREE, P.; SANDHYA RAJAN, V.T.K. **Therapeutic molecules for multiple human diseases identified from pigeon pea (*Cajanus cajan* L. Millsp) through GC-MS and molecular docking.** Food Science and Human Wellness, 116, 2017.

MENEZES, E.A.; BARBOSA, A.C.L.; CUNHA, M.C.S.O.; MENDES, L.G.; CUNHA, F.A. **Suscetibilidade a antifúngicos e fatores de virulência de *Candida spp.***

isoladas em Russas, Ceará. Revista Brasileira de Análises Clínicas. v. 48, n.1. 2016.

MIKAEILI, Ali et al. **Anti-candida activity of Astragalus vírus in the in vitro and in vivo guinea pig models of cutaneous and systemic candidiasis.** Revista Brasileira de Farmacognosia, Curitiba, v.22, n.5, p 1035-1034, 2012.

MORALES, J.E.C. & MORALES, J.M.C. Monografia (Trabajo de Titulación de Química y Farmacéutica) – Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guayaquil, Guayaquil, 2017.

PAIVA, K.O.; OLIVEIRA, G.L.; FARIAS, D.F.A.; MÜLLER, T.S. **Plantas medicinais utilizadas em transtornos do sistema geniturinário por mulheres ribeirinhas, Caravelas, Bahia.** Revista Fitos, Supl. 1-126, 2017.

SAGOLSHEMCHA, R.; DEVI, Y.N.; SINGH, W.R. **Plant Growth Promoting Effect and Biocontrol Potential of *Rhizobium* spp. against *Macrophomina phaseolina*.** Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci., n.6(6): 2695-2701, 2017.

SALVAGNINI Luiz Estevão, et al. **Avaliação da atividade antibacteriana de folhas de *Myrtuscommunes* L. (Mirtaceae).** Revista Brasileira de Farmacognosia, João Pessoa v.18, n.2, p.241-244, abr./jun. 2008.

SANTOS, J.E.F.; JÚNIOR, A.A.S.; BARBOSA, R.N.; SANTOS, A.C.S.; LOPES, D.H.G.; OLIVEIRA, N.T.; GOMES, B.S. **Atividade antifúngica in vitro de plantas medicinais frente a leveduras isoladas de secreção vaginal.** Revista de Saúde e Biologia, v.3, 2016.

SILVA, Jhonata Lemos et al. **Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o crescimento in vitro de fitopatógenos.** Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável, Mossoró, v. 7, n. 1, p. 80-86, jan./mar. 2012.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et al. Farmacognosia da planta ao medicamento. 1. ed. Florianópolis: 1999.

SOBRINHO, F.A.P.; GUEDES-BRUNI, R.R.; CHRISTO, A.G. **Uso de plantas medicinais no entorno da Reserva Biológica de Tinguá, Nova Iguaçu, RJ.** Revista Acadêmica Ciência Animal, v.9, n.2, 2011.

SUN, J.; NIU, L.; WANG, Q.; ZANG, Y.; ZU, Y.; FU, Y. **Production of Laccase by a New *Myrothecium verrucaria* MD-R-16 Isolated from Pigeon Pea (*Cajanus cajan* L. Millsp. and its Application on Dye Decolorization.** Molecules, v.22(4), 2017.

TEIXEIRA, A.P. **Avaliação da atividade antifúngica dos extratos hidroalcóolicos de *Citrus aurantium* L. e *Passiflora edulis* sobre as espécies de *Candida* relacionadas às candidíases oral e vulvovaginal.** Trabalho de Conclusão de Curso (Farmácia), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2013.