

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO DA *LAGUNCULARIA RACEMOSA* (MANGUE BRANCO) EM *CANDIDA ALBICANS* - UM ESTUDO IN VITRO

EVALUATION OF THE ANTIFUNGAL ACTIVITY OF THE *LAGUNCULARIA RACEMOSA* (WHITE MANGUE) EXTRACT IN *CANDIDA ALBICANS* - AN IN VITRO STUDY

Luís Fernando Tenório *

Adriano Costa Ramos**

RESUMO

O manguezal é uma região entre o ambiente terrestre e marinho e apresenta uma rica biodiversidade. Dentre as árvores do manguezal podemos encontrar a *Laguncularia racemosa* que possui propriedades antioxidantes, antimicrobianas e antitumorais. A candidíase é uma infecção oportunista que afeta a mucosa oral, ela é causada pelo fungo *Candida albicans*. Esse trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do extrato, mensurando sua concentração mínima inibitória e identificar os compostos responsáveis pela atividade através da cromatografia gasosa com espectrometria de massas. A metodologia aplicada foi o protocolo para avaliar a atividade antifúngica M27-A3, na qual foi preparada solução estoque dos compostos a uma concentração de 800 µg/mL, tendo sido filtrados em filtro de seringa 0,22µm, em seguida foi preparada uma subcultura da cepa ATCC 14503, a qual foi incubada a 35°C por 24h, os inóculos foram padronizados em espectrofotometro calibrado na escala McFarland a 530 nm de comprimento de onda, a uma transmitância de 90%. Os testes foram realizados em triplicata, tendo os compostos apresentados a mesma CIM para os três inóculos na placa (*trailing*) que mostram que houve ação inibitória na concentração de 50 µg/ml. Foi realizado também a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, com o objetivo de evidenciar os compostos químicos presente no extrato e avaliar qual foi responsável pela atividade antimicrobiana. Diante dos resultados apresentados é possível concluir que o extrato possui eficácia no combate à levedura causadora da candidíase oral.

Palavras-chave: *Laguncularia racemosa*. Mangrove. *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT

The mangrove is a region between the terrestrial and marine environment and has a rich biodiversity. Among the mangrove trees we can find *Laguncularia racemosa*

* Graduando do curso de Odontologia do Centro Universitário Osman da Costa Lins UNIFACOL, Vitória de Santo Antão - PE/ Brasil: EMAIL: luisf.tenorio@unifacol.edu.br.

** Docente do curso de Odontologia do Centro Universitário Osman da Costa Lins UNIFACOL, Vitória de Santo Antão – PE/ Brasil: EMAIL: adrianocr1@gmail.com.

which has antioxidant, antimicrobial and anti-tumor properties. Candidiasis an opportunistic infection that affects the oral mucosa, it is caused by the fungus *Candida albicans*. This work aims to evaluate the antimicrobial activity of the extract, measuring its minimum inhibitory concentration and identify in the compounds responsible for the activity through gas chromatography with mass spectrometry. The Applied methodology was the protocol to evaluate the antifungal activity M27-A3, in which a stock solution of the compounds was prepared at a concentration of 800 µg / mL, having been filtered through a 0.22 µm syringe filter, then a subculture of the strain ATCC 14503, which was incubated at 35 ° C for 24h, the inocula were standardized on a spectrophotometer calibrated on the McFarland scale at 530 nm of wave length, at a transmittance of 90%. The tests were carried out in triplicate, with the compounds having the same MIC for the three inoculants on The plate (trailing) which show that there was no inhibitory action at the concentration of 50 µg / ml. Gas chromatography coupled with mass spectrometry was also carried out, with the objective of showing the Chemical compounds present in the extract and assessing which was responsible for the antimicrobial activity. In view of the results presented, it is possible to conclude that the extract is effective in combating the yeast that causes oral candidiasis.

Keywords: *Laguncularia racemosa*. Mangrove. *Streptococcus mutans*.

1. INTRODUÇÃO

O manguezal é uma região entre o ambiente terrestre e marinho. Apresenta uma rica biodiversidade e tem grande importância para a comunidade ao seu redor, que tira desse ecossistema o seu sustento (GUEDES et al., 2018).

Dentre as árvores presentes nas florestas do mangue, encontra-se a *Laguncularia racemosa*, pertencente à família da *Combretaceae* presente nas costas do atlântico, pacífico e na região asiática (YÁÑEZ-LAURA et al., 2004), sendo mais comum em ambientes com menor concentração salina (PETRI et al., 2011).

Figura 1 – Imagem da planta *Laguncularia racemosa*.



Fonte: SILVA, 2019.

É considerada por alguns povos como uma planta medicinal para tratar diarreia e afecções gastrointestinais através de infusões obtidas pelo caule (COELHO-FERREIRA, 2009) e pode ser utilizado também o extrato das folhas que apresenta maior potencial biológico (SILVA, 2019).

Figura 2 – Folhas da *Laguncularia racemosa*.



Fonte: Fauna e Flora do RN, 2019.

O potencial biológico do extrato da *Laguncularia racemosa* fornece atividade antioxidante, atividade antitumoral e atividade antimicrobiana (SILVA, 2019; SHI *et al.*, 2010).

Segundo Shiet *al.* (2010), a atividade antioxidante se dá pela presença de compostos fenólicos, dentre os compostos estudados, o que demonstrou maior potencial antioxidante foi o denominado pinobanksin-3-cafeiolato derivado da di-hidroflavona, que tem a atividade oriunda do grupo cafeína. Outro mecanismo antioxidante encontrado é o sequestro de radicais livres (VALENTÃO *et al.*, 2003).

A atividade antitumoral se dá devido à alta concentração de taninos e outros compostos fenólicos que tem a capacidade de inibir as proteínas quinases com potenciais distintos (SHI *et al.*, 2010).

Embora que fraca, sua atividade antibacteriana demonstrou resultados positivos contra a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilizemicrococcusluteus*(SILVA *et al.*, 2011).

Além de apresentar atividade contra bactérias, a literatura relata a ação do extrato em inibir o crescimento de fungos (SILVA, 2004). Para a odontologia a candidíase oral é a patologia causada por fungos mais recorrente, afetando a mucosa bucal.

A *Candida Albicans* é um tipo de levedura, comumente encontrada na microbiota oral e responsável como causar infecções oportunistas como a Candidíase oral. Dentre os fatores que podem desencadear esse quadro infeccioso temos a depressão imunológica do paciente, o ambiente oral do paciente e a presença do microrganismo (SHENOY & GOTTLIEB, 2019).

Dentre as formas de apresentação da doença, a mais conhecida é a candidíase pseudomembranosa, que tem como característica marcante a presença de pseudomembranas na mucosa bucal, essas placas podem ser removidas facilmente e são constituídos pela *Candidaalbicans*, epitélio descamado e resto de tecido necrótico. A sintomatologia mais comum é ardência na região afetada e sabor desagradável (HELLSTEIN, 2019).

A patologia ainda pode apresentar-se na forma de candidíase eritematosa, que se diferencia da pseudomembranosa, pois pode surgir sem as placas brancas e tem como sintomatologia uma sensação de queimação e perda de papilas na

superfície lingual. Contudo, ela também pode surgir de formas menos comuns como a candidíase crônica hiperplásica e a candidíase mucocutânea (NEVILLE, 2009).

O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do extrato aquoso da *Laguncularia racemosa* frente ao fungo *Candida albicans*, causador da candidíase oral, determinar a concentração mínima inibitória (CMI) e identificar os compostos que favoreceram a atividade antimicrobiana através da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, além de avaliar se a poluição no mangue afetou as propriedades bioativas dos compostos.

O estudo se justifica pela potencial utilização dos compostos extraídos das plantas do mangue e como esse fato pode beneficiar a população que sobrevive desse ecossistema.

2. METODOLOGIA

2.1. Obtenção dos extratos

Os extratos foram obtidos no núcleo de pesquisa em produtos naturais e sintéticos – NPPNS da Faculdade de ciências farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP.

As amostras se encontram diluídas em Hexano. Contudo, para o ensaio clínico será solvido em DMSO para remover os compostos polares que podem alterar o resultado da pesquisa.

Foi utilizado dois extratos de folhas de *Laguncularia racemosa*, sendo um deles colhido na região portuária de SUAPE em Cabo de Santo Agostinho - PE, onde se encontra uma região mais poluída, codificado como LFS1. O outro extrato foi obtido a partir das folhas colhidas no rio Paripe localizado na Ilha de Itamaracá – PE, cujo código é o LFP.

2.2. Obtenção da cultura

A cultura microbiológica de *Candida albicans* foi cedida pelo laboratório da Fungi Nordeste Biotecnologia, onde foram realizados os testes.

2.3. Concentração mínima inibitória

A concentração mínima inibitória (CMI) é um teste realizado em diferentes concentrações sobre as culturas microbianas com a finalidade de determinar a menor concentração eficaz para inibir o crescimento.

Esse teste é conhecido como ensaio do poço, no qual se utiliza da placa com 96 poços inoculados com o microrganismo de escolha em meio de cultivo Sabouraud Dextrose Agar (SDA), em seguida o preenchimento com 20µL com variadas concentrações do produto que é feito através de diluição (BONA *et al*, 2014).

A determinação da concentração mínima inibitória (CMI) *in vitro* seguiu o protocolo M27-A3 (CLSI, 2008).

2.3.1. Preparo do microrganismo

As leveduras serão mantidas em meio Sabouraud Dextrose Agar (SDA) e incubadas a 35°C por 24h.

As suspensões dos isolados serão preparadas em solução salina (0,85g/L), e sua densidade será ajustada de acordo com a escala 0.5 de MacFarland em 90% da transmitância utilizando um espectrofotômetro a 530nm.

O volume do inóculo será posteriormente diluído em RPMI 1640 para uma concentração de $2-5 \times 10^3$ céls.mL⁻¹.

Para os testes de sensibilidade, serão utilizadas placas de microtitulação planas de 96 poços (TPP; Trasadingen, Suíça). O inóculo será adicionado aos poços com os antifúngicos, e as placas serão incubadas a 35°C durante dois dias antes de ler os resultados para determinar da CMI.

2.3.2. Preparo dos compostos

Os compostos a serem testados serão diluídos em DMSO em uma variação de concentração entre 0,4 e 200 µg/mL.

2.4. Análise dos resultados

A análise dos resultados foi feita de forma observacional, sem o auxílio de equipamento leitor de placas. Foi observada a presença das leveduras e em qual concentração foi capaz de inibir completamente a proliferação da *Candida albicans*.

2.5. Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)

Os extratos hexano das folhas foram analisados em Cromatografo a Gás – Acoplado a espectrométo de Massa (GC-EM) utilizando um espectrografo Shimadzu

modelo QP2010 GCMS em um sistema operado por impacto de eletrons (70eV) e a temperatura do injector foi de 260°C, com razão de divisão de 1:5. A coluna DB5 - MS [30 m x 0,25 milímetros ID, espessura do filme 0,25 µm (5% reticulado fenilmetilpolisiloxano)] foi utilizado (Agilent J & W colunas GC), com hélio como gás transportador, com um fluxo de coluna de 1,3 mL/min, e volume de injeção de 1 ml, a temperatura do injector a 260 ° C e à pressão de 97,4 kPa. Uma mistura de hidrocarbonetos lineares (C9-C20, C21-C40), foi injetada sob as mesmas condições, a fim de identificar os constituintes químicos. Os espectros obtidos foram comparados com o banco de dados do equipamento (FFNSC1.3.lib, WILEY7.LIB, NIST08s.LIB, MY LIBRARY.lib).

3. RESULTADOS

3.1. Resultado dos testes de concentração mínima inibitória

Tabela 1- Tabela descritiva dos resultados.

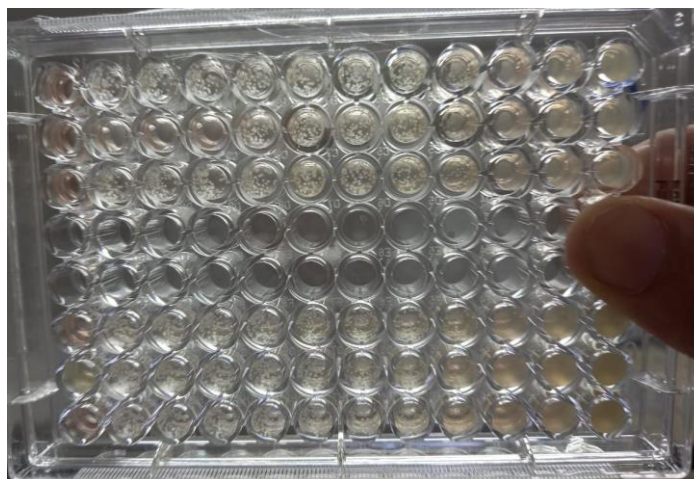
Compostos testados	Solvente utilizado	Cepas	Varição de concentração na placa em µg/mL	CIM obtido em µg/mL	Tempo de incubação para leitura do teste
LFS1	DMSO	<i>Candidaal bicans</i> (AT CC 14053)	200-0,4	50	24 horas
LFP	DMSO	<i>C. albicans</i> (A TCC 14053)	200-0,4	50	24 horas

Fonte: Próprio autor.

Os testes foram feitos em triplicatas para assegurar a veracidade do experimento. Em todos os testes pode-se visualizar a ausência das leveduras quando expostos a uma concentração de 50 µg/mL, que é indicativo de uma boa atividade antifúngica frente à *Candidaal bicans*.

É possível verificar que ambos os extratos obtiveram os mesmos resultados, inibiram o crescimento microbiano em uma concentração de 50 µg/mL.

Figura 3 – Resultado visual na placa de 96 poços.



Fonte: Próprio autor.

3.2. Resultado do teste CG-EM da amostra

Tabela 1 – Picos da CG-EM.

Pico	Tempo de retenção (min.)	Área do pico (%)	Compostos	Massa molecular	Fórmula molecular
1	6.143	1.00	Limoneno	136	C10H16
2	26.633	1.00	Neofitadieno	278	C20H38
3	41.378	2.80	Tetracosano	338	C24H50
4	43.032	40.71	2,6,10,14,18,22-tetracosahexaene,2,6,10,15,19,23-hexamethyl	410	C30H50
5	44.149	22.33	Octacosano	394	C28H58
6	44.436	0.79	1,6,10,14,18,22-tetracosahexaen-3-OL,2,6,10,15,19,23-hexamethyl	426	C30H50O
7	47.199	11.95	Vitamina E	430	C29H50O2
8	48.505	1.79	Octadecanalstearaldehyde	268	C18H36O
9	49.697	3.76	Beta-sitosterol	414	C29H50O

10	50.241	1.79	Beta-amirina	424	C30H48O
11	50.845	12.03	lupeol	426	C30H50O

Fonte: Próprio autor.

A cromatografia do extrato hexano da *Laguncularia racemosada* amostra LFP evidenciou 11 picos (tabela 1) correspondentes a 11 compostos químicos. Os compostos que apresentaram maior área (%) foram: 2,6,10,14,18,22-tetracosahexaene,2,6,10,15,19,23-hexamethyl (40,71%), octacosano (22,33%), lupeol (12,03%), vitamina E (11,95%), Beta-sitosterol (3,76%), tetracosano (2,8%), Beta-amirina (1,79%), octadecanalesteraldeído (1,79%), limoneno (1%), neofitadieno (1%) e 1,6,10,14,18,22-tetracosahexaen-3-OL,2,6,10,15,19,23-hexamethyl (0,79%). Os resultados da amostra LFS1 ainda vão ser processados.

4. DISCUSSÃO

Os produtos de origem vegetal tem grande importância dentro da indústria alimentícia e farmacêutica por causa sua diversidade de compostos. As plantas do mangue, por sua vez, possuem uma rica diversidade de compostos que podem ser utilizados para diversas finalidades, inclusive para inibir o crescimento microbiano.

Com base nos resultados, é possível observar que, apesar da poluição presente na região portuária de SUAPE, as folhas da *Laguncularia racemosam*antiveram as mesmas propriedades e os mesmos compostos bioativos, obtendo o mesmo CMI que a amostra colhida em uma região menos poluída.

Acredita-se que a atividade antimicrobiana esteja relacionada com a ação de metabólitos secundários como os alcaloides, esteroides, taninos, flavonoides e outros compostos (ZHU *et al.*, 2009).

No estudo conduzido por Silva (2019), foi realizada a cromatografia líquida no extrato da *Laguncularia racemosa*, na qual foi evidenciado a presença de composto da classe das flavanas, flavonóis e ácidos fenólicos, o que corrobora com os estudos de Shi e colaboradores (2010), que identificou 27 desses compostos fenólicos.

Nos estudos de Shi (2019), o composto natural que apresentou melhor potencial antioxidante foi o composto pinobanksin-3-cafeiolato, sua ação assemelha-se a vitamina E Trolox. Acredita-se que sua ação é oriunda do grupo cafeiolato

através do sequestro de radicais livres. Além do mecanismo de sequestro de radicais livres proporcionado pelos antioxidantes, foi testada a inibição de proteínas quinases humanas, cuja ação causa fosforilação de proteínas e está ligada ao desenvolvimento de câncer, onde os 5 compostos fenólicos estudados foram capazes de inibir a maioria das proteínas quinases estudadas. Dessa forma, é possível correlacionar à atividade antitumoral ao sequestro de radicais livres e inibição de proteínas quinases.

De acordo com os nossos resultados de CG-EM foi encontrada a alfa-tocoferol, mais conhecida como vitamina E. Essa substância se apresenta como um potente antioxidante e inibidor da proteína quinase, além de inibir a agregação plaquetária e aumentar a vasodilatação, sendo um importante produto biológico para prevenir complicações cardiovasculares (GUIMARÃES & VIANA, 2010).

Outro composto, que tem propriedades antioxidantes, encontrado através da CG-EM foi o Beta-sitosterol, que é pertencente à classe dos fitoesteróis. Esse composto inibe o crescimento de várias células tumorais, sendo evidenciado experimentalmente, causando fosforilação de proteínas quinases e ligação a radicais livres (BASKAR *et al.*, 2012).

Os estudos de Pinho (2014) destacam, através de experimentos, a ação anti-inflamatória do composto, que age no mecanismo de formação de edema inibindo a ação da fosfolipase A2 na cascata da inflamação e associou esse efeito anti-inflamatório a presença dos flavonóides.

Segundo nossa análise de cromatografia gasosa, foi detectada a presença do lupeol, essa substância tem sido estudada atualmente pelo seu potencial de inibir o desenvolvimento de cânceres, além de evitar a disseminação de células metastáticas. Outro mecanismo de ação bastante estudado na literatura é a ação anti-inflamatória através de inibição de prostaglandinas e modulação do sistema imunológico, sendo eficaz em tratamento de inflamações crônicas como artrite reumatóide e asma brônquica (SALEEM, 2009).

A substância Beta-amirina, encontrada em nosso estudo, possui diversas atividades biológicas, sendo uma substância de grande importância farmacológica, através de estudos experimentais, foi possível constatar sua atividade gastroprotetora, hepatoprotetora, antinocicepsiva e anti-inflamatória. Sua atividade anti-inflamatória se origina pela supressão de citocinas e inibição da COX-2 (MELO, 2009). Segundo Simplício (2017), as beta-amirinas, ainda que de moderadas a

fracas, possuem ações antibacterianas, antifúngicas e antiparasitárias, que podem ser potencializadas farmacologicamente. A literatura relata a ação antimicrobiana dessa substância sob culturas de *Streptococcus mutans* (bactéria causadora da cárie) e *Candida albicans* (fungo causador da candidíase oral).

Simplício (2017) estudou o mecanismo antimicrobiano das beta-amirinas, ainda que não conclusivo, algumas hipóteses merecem ser destacadas como alterações na membrana celular, induzindo alterações na permeabilidade do microrganismo e interferência na estrutura da parede celular bacteriana. Contudo, um possível mecanismo antifúngico relatado consiste na inibição da enzima CYP51 presente na membrana celular, causando interferências no crescimento da célula e um colapso.

Os compostos fenólicos, além de potente atividade oxidante, são responsáveis pela ação antimicrobiana (ARBOS, STEVANI & CASTANHA, 2013; CABRAL, 2009). Dessa forma, podem estar envolvidos na inibição do crescimento da *C. albicans*. Contudo, os nossos resultados apontam para ação dos terpenos, triterpenos e diterpenos.

Dos compostos encontrados através da CG-EM, o limoneno, pertencente ao grupo dos terpenos, foi um dos compostos responsáveis pela ação antifúngica nesse estudo. Viriato (2014) testou 15 tipos de terpenos em 11 espécies de *Candida*, no qual o limoneno foi capaz de inibir o crescimento microbiano da *Candida albicans*.

O composto neofitadieno faz parte do grupo dos diterpenos e alcenos, de acordo com a base de dados Pubchem da biblioteca nacional de medicina, esse composto possui atividade antimicrobiana e antiinflamatória. Ele demonstrou ação antifúngica contra o *Aspergillus niger* e fungos do gênero dos *Cladosporium* (PERES, 2012).

No estudo de Silva (2019) foi avaliado o CMI do extrato para algumas cepas bacterianas no qual o resultado obtido foi de baixa atividade, visto que a concentração mínima inibitória foi de pelo menos 1600 µg/mL, enquanto no presente estudo a concentração mínima para inibir o crescimento fúngico da *Candida albicans* foi de 50 µg/mL. Segundo Sartoratto e colaboradores (2004), valores entre 50 a 500 µg/mL podem ser considerado uma forte ação antimicrobiana, enquanto valores de 600 a 1500 µg/mL resposta moderada e acima de 1500 µg/mL, fraca. Dessa forma, a atividade antifúngica do extrato de *Laguncularia racemosa* pode ser considerada forte.

Silva (2004) avaliou a atividade antifúngica do extrato, que analisou se ocorreria atividade antimicrobiana, para tal, foi testado o extrato de folhas, que resultou em um potencial para inibir levedura e inibição de fungos dermatófitos. Testou-se também o extrato de cascas da *Laguncularia racemosa* e sua ação antifúngica, contudo, o resultado foi negativo para a atividade antimicrobiana. Esse estudo veio a corroborar com nosso ao detectar a atividade antimicrobiana no extrato de folhas e assemelha-se pelo inócuo testado ser de *Candida*.

Além das ações mencionadas, o extrato de *L. racemosa* possui atividade hemostática através da ação dos flavonoides do grupo quercetina (RODRIGUES, 2015).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados apresentados é possível concluir que os extratos de folhas da *Laguncularia racemosa* possuem eficácia no combate à levedura causadora da candidíase oral.

Esse estudo se mostra relevante pelo seu potencial em inibir o crescimento fúngico, contudo, é necessária a realização de estudos adicionais para avaliar sua ação diante de outras cepas e dessa forma compreender sua ação antimicrobiana.

De acordo com a literatura, nosso extrato se mostra com um potencial farmacológico alto, podendo ser utilizado para o desenvolvimento de produtos naturais, inclusive para a área odontológica, como antifúngicos, dentifrícios, colutórios, entre outros.

Além da atividade antifúngica demonstrada através do nosso experimento, a literatura relata diversos potenciais biológicos do extrato como antiinflamatório, analgésico, antitumoral, antioxidante, abrindo a possibilidade para estudos futuros que venham a explorar o extrato da *Laguncularia racemosa* e todo seu potencial.

REFERÊNCIAS

ARBOS, Kettelin Aparecida; STEVANI, Pamela Caroline; CASTANHA, Raquel de Fátima. Atividade antimicrobiana, antioxidante e teor de compostos fenólicos em casca e amêndoa de frutos de manga. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 2, p. 161-165, Apr. 2013.

BASKAR, Arul Albert, AL NUMAIR, Kalid S.; PAULRAJ, Micheal Gabriel; ALSAIF, Mohammed A.; MUAMAR, May Al; IGNACIMUTHU, Savarimuthu. β -sitosterol prevents lipid peroxidation and improves antioxidant status and histoarchitecture in rats with 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer. **J Med Food**. 2012.

BONA, Eliana Almeida Mira de; PINTO, Fabiana Gisele da Silva; FRUET, Thomas Kehrwald; JORGE, Tereza Cristina Marinho; MOURA, Alexandre Carvalho de. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 81, n. 3, p. 218-225, Sept. 2014.

CABRAL, Ingridy Simone Ribeiro et al. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 32, n. 6, p. 1523-1527, 2009.

COELHO-FERREIRA, Márlia. Medicinal knowledge and plant utilization in an Amazonian coastal community of Marudá, Pará State (Brazil). **J Ethnopharmacol**. 2009 Oct 29; 126(1):159-75. doi: 10.1016/j.jep.2009.07.016. Epub Jul 24. PMID: 19632314. 2009.

FAUNA E FLORA DO RN. Disponível em <<https://faunaefloradorn.blogspot.com/2019/01/mangue-branco-laguncularia-racemosa-l.html#>>. Acesso em 01 dez. 2020.

GUEDES, Fernanda Alves de Freitas; ROSSETTO, Priscilla de Barros; GUIMARAES, Fabia; WILWERTH, Mauricio Wolf; PAES, Jorge Eduardo Santos; NICOLAS, Marisa Fabiana; REINERT, Fernanda; PEIXOTO, Raquel Silva; ALVES-FERREIRA, Marcio. Characterization of *Laguncularia racemosa* transcriptome and molecular response to oil pollution. **Aquatic Toxicology** 205: 36–50. 2018

GUIMARÃES, Marcela Rodrigues Moreira; VIANNA, Lucia Marques Alves. Vitamina E e função cognitiva: Uma revisão de literatura. **Rev Neurocienc**, 18(2):249-255. 2010.

HELLSTEIN, Jhon W., MAREK, Cindy L. Candidíase: Manifestações vermelhas e brancas na cavidade oral. **Head Neck Pathol**. Março de 2019; 13 (1): 25-32. doi: 10.1007 / s12105-019-01004-6. PMID: 30693459; PMCID: PMC6405794. 2019.

Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais. (CLSI). Método de referência para teste de sensibilidade antifúngica à diluição do caldo de leveduras. 3^a ed. Wayne: Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais; 2008.

MELO, Caroline Mourão. Estudo do efeito farmacológico da alfa e beta-amirina, uma mistura de triterpenos isolada de *Protium heptaphyllum*, na pancreatite aguda experimental. 153 f. **Tese (Doutorado em Farmacologia)** - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

NEVILLE, Brad W. **Patologia oral e maxilofacial**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

ZHU, Feng; CHEN, Xin; YUAN, Yihua; HUANG, Meizhen; SUN, Huilin; XIANG, Wenzhou. The chemical investigation of the 394 mangrove plant *Avicennia marina* and its endophytes. **The Open Natural Products Journal** 395. 2009.

PERES, Julio Cesar Fernandes; CARVALHO, Luciana Retz de; GONÇALEZ, Edlayne; BERIAN, Luis Otávio Saggion; FELICIO, Joana D'arc. Evaluation of antifungal activity of seaweed extracts. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 36, n. 3, p. 294-299, June 2012.

PETRI, Detony José Calenzani; BERNINI, Elaine; SOUZA, Leandro Marelli de and REZENDE, Carlos Eduardo. Distribuição das espécies e estrutura do manguezal do rio Benevente, Anchieta, ES. **Biota Neotrop.**, Campinas, v. 11, n. 3, p. 107-116, Sept. 2011.

PINHO, Marcus Vinicius Terashima. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade farmacológica de extratos obtidos de *Laguncularia racemosa* e atividade inibitória sobre SPLA2 extraída de *Bothrops jararacuçu*. In: **XXIX Reunião Anual da FeSBE, 2014, Caxambu - MG.**, Campinas, SP, v. s.n, 2014.

RODRIGUES, Caroline Fabri Bittencourt; GAETA, Henrique Hessel; BELCHOR, Mariana Novo; FERREIRA, Marcelo José Pena; PINHO, Marcus Vinicius Terashima; TOYAMA, Daniela de Oliveira; TOYAMA, Marcos Hikari. "Evaluation of Potential Thrombin Inhibitors from the White Mangrove (*Laguncularia racemosa* (L.) CF Gaertn.)." **Mar. Drugs** 13, no. 7: 4505-4519. 2015.

SALEEM, Mohammad. "Lupeol, um novo triterpeno dietético anti-inflamatório e anticâncer." **Cancer Letters** vol. 285,2 p.109-15. 2009.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELENA, C.; FIGUEIRA, G. M.. DUARTE, M. C. T.; REHDER, V.L.G. "Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil," **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 275–280, 2004.

SILVA, Elivânia Maria da. **Caracterização fotoquímica, atividade antioxidante e funções biológicas do extrato aquoso das folhas de *Laguncularia racemosa* (L.) C.F. Gaertn / Elivânia Maria da Silva.** – 2019.

SILVA, Michelle Rose de Oliveira; ALMEIDA, Ana Carolina de; ARRUDA, Felipe Viegas; GUSMAO, Norma Buarque. Endophytic fungi from Brazilian mangrove plant *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. (Combretaceae): their antimicrobial potential. In: A. Mendez-Vilas. (Org.). **Science against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances**. 01ed. Badajoz: Formatex Research Center, v. 02, p. 1260-1266, 2011.

SILVA, Michelle Rose de Oliveira. Detecção de atividade antifúngica de extratos de plantas de manguezal de Vila Velha de Itamaracá (PE). Recife (PE), 2004.

SIMPLICIO, Fernanda Guilhon. Estudo químico e farmacológico do gênero *Byrsonima* (Malpighiaceae) para o desenvolvimento de novos anti-inflamatórios e antimicrobianos. 2017. 2019 f. **Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal)** - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2017.

SHENOY, Adele; GOTTLIEB, Alice. Probiotics for oral and vulvovaginal candidiasis: A review. **Dermatol Ther.** 2019 Jul;32(4):e12970. doi: 10.1111/dth.12970. PMID: 31112355. 2019.

SHI, Cui; XU, Min-Juan; BAYER, Mirko; DENG, Zhi-Wei; HUBBUTAT, Michael HG; WAEJEN, Wim; PROKSCH, Peter; LIN, Wen-Han.

Phenolic compounds and their anti-oxidative properties and protein kinase inhibition from the Chinese mangrove plant *Laguncularia racemosa* [Phytochemistry 71(4). 435–442]. *Phytochemistry*, Volume 71, Issues 8–9, June 2010, Pages 1025. 2010.

VALENTÃO. Patrícia; FERNANDES, Eduarda; CARVALHO, Félix; Andrade, Paula Branquinho de; SEABRA, Rosa Maria; BASTOS, Maria de Lourdes. Hydroxyl radical and hypochlorous acid scavenging activity of small centaury (*Centaurium erythraea*) infusion. A comparative study with green tea (*Camellia sinensis*). **Phytomedicine**, V.10, p. 5, 2003.

VIRIATO, Airton. Terpenoides com atividade antifúngica para *Candida Berkhout*, causadoras de infecções hospitalares. **O mundo da saúde**, São Paulo. 38(1): 40-50. 2014.

YÁÑEZ-ESPINOSA, Laura; TERRAZAS, Teresa; LOPEZ-MATA, Lauro; VALDEZ-HERNÁNDEZ, Juanl. Wood variation in *Laguncularia racemosa* and its effect on fibre quality. **Wood Science and Technology**. 38. 217-226. 10.1007/s00226-004-0228-6. 2004.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, que é minha fonte de inspiração e força maior. Aos meus pais Cícero e Ceça, e ao meu irmão Marcello Henrique, que me incentivaram e apoiaram durante todos esses anos, sendo essenciais para a realização do meu sonho. Aos meus avós, por todo o carinho que tem por mim e por todos os ensinamentos que fizeram de mim quem eu sou. A toda minha família, sem eles não conseguiria chegar até aqui.

Agradeçoem especial a minhanoivaMikaelly Santana, portodocarinho, companheirismo e apoioduranteminhapesquisa. Foi de fundamental importância para a conclusãodestetrabalho. Serei eternamentegratopor me ajudar com a escritamesmodurante a madrugada.

Aomeuorientador Adriano Costa, que se dedicouaoprojeto e sonhoujuntocomigo, semsuaajuda e orientação, a conclusão do mesmonãoseriapossível. Ao professor Gibson Gomes, quecontribuiuativamente, me cedendo as amostras e me ajudando com a pesquisa, seusdirecionamentosforamessenciais para aelaboração e finalização do projeto. Ao professor Libânio e equipe da Fungi Nordeste, quefoiessencial para a realização dos testes microbiológicos.

A minhadupla de faculdade e amiga para toda a vida, Alyce Mendes, que sempre me incentivou, tersuaamizadefoiessencial para encarar as dificuldades do curso de uma forma maisleve e discontraída. A minhaprimeiraDuplaemtriagem, Maria Paula.

Aosmeus amigos e colegas de apartamento Juliana, Alana, Clara, Thiago e, em especial, a Reynolds, que me ajudou a corrigir a formataçãodeste e de outros trabalhosdiversasvezes.