

Atividade antifúngica *in vitro* do extrato etanólico de *Mikania cf hirsutissima* contra isolados de *Candida albicans*

In vitro antifungal activity of *Mikania cf hirsutissima* ethanolic extract against *Candida albicans* isolates

Actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de *Mikania cf hirsutissima* contra los aislados de *Candida albicans*

Recebido: 25/03/2022 | Revisado: 02/04/2022 | Aceito: 09/04/2022 | Publicado: 15/04/2022

Carlos Ananias Aparecido Resende

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1310-408X>
Faculdade Pitágoras, Brasil
E-mail: carlos.a.resende@kroton.com

Angelo Elias Meri Junior

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8847-3915>
Universidade Federal de São João del-Rei, Brasil
E-mail: angeloemj@gmail.com

Adrielle Pieve de Castro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1260-5619>
Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil
Centro Universitário de Lavras, Brasil
E-mail: adriellepieve@hotmail.com

Wanderley José Mantovani Bittencourt

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7418-1818>
Centro Universitário de Lavras, Brasil
E-mail: wanderleyjose@unilavras.edu.br

Karina Aparecida Resende

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7812-7042>
Centro Universitário de Lavras, Brasil
E-mail: karinaresendeufs@gmail.com

Helcio Cassemiro Marcondes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5005-6294>
Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil
E-mail: helciocassemiro@yahoo.com.br

Resumo

Mikania hirsutissima (família), comumente conhecida no Brasil pelo nome de "cipó-cabeludo", é amplamente utilizada na medicina popular. As atividades antimicrobianas já foram investigadas, entretanto, nenhum estudo foi realizado para avaliar atividades antifúngicas da planta. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antifúngica do extrato de *Mikania cf hirsutissima* em isolados clínicos e cepas padrão de *Candida albicans* resistentes ao fluconazol e itraconazol. Após a coleta da *Mikania cf hirsutissima* foi realizada a secagem, trituração e pesagem, deixando o material em refugo em álcool absoluto. Posteriormente ao descanso ocorreu a obtenção do extrato bruto do caule e da folha. Foram utilizados isolados clínicos de *Candida albicans* e cepas padrão. Diferentes concentrações etanólicas de folhas e caule foram utilizadas. Para determinar a atividade antioxidante *in vitro* do extrato etanólico aplicou-se o método do radical livre DPPH. A atividade antifúngica dos extratos etanólicos em cepas de *Candida albicans* apresentou resultados satisfatórios, onde o extrato do caule de 100 mg/mL apresentou halos médios de 4,5 mm. Todas as cepas eram resistentes aos antifúngicos itraconazol e fluconazol. As concentrações de extrato testadas para avaliação da atividade antioxidante mostraram capacidade antioxidante em comparação com o padrão de BHA. Os resultados demonstraram atividade antifúngica em isolados de *Candida albicans*, onde todas as partes apresentaram potencial fungicida, mesmo naqueles resistentes ao Fluconazol e Itraconazol. Assim, o posicionamento desses compostos na prática clínica pode contribuir para ampliar as possibilidades de tratamento de infecções causadas por essa espécie de leveduras.

Palavras-chave: Cipó cabeludo; Candidíase; Atividade antifúngica; Concentração inibitória mínima.

Abstract

Mikania hirsutissima (family), commonly known in Brazil by the name of "cipó-cabeludo", is widely used in folk medicine. The antimicrobial activities have already been investigated, however, no studies have been carried out to evaluate the plant's antifungal activities. Therefore, the objective of this work was to evaluate the antifungal activity of

Mikania cf hirsutissima extract in clinical isolates and standard strains of *Candida albicans* resistant to fluconazole and itraconazole. After the collection of *Mikania cf hirsutissima*, it was dried, crushed and weighed, leaving the material on waste in absolute alcohol. After the rest, the crude extract of the stem and leaf was obtained. Clinical isolates of *Candida albicans* and standard strains were used. Different ethanolic concentrations of leaves and stems were used. To determine the *in vitro* antioxidant activity of the ethanol extract, the DPPH free radical method was applied. The antifungal activity of ethanolic extracts in *Candida albicans* strains showed satisfactory results, where the 100 mg/mL stem extract showed average halos of 4.5 mm. All strains were resistant to the antifungals itraconazole and fluconazole. The extract concentrations tested for the evaluation of antioxidant activity showed antioxidant capacity compared to the standard of BHA. The results showed antifungal activity in *Candida albicans* isolates, where all parts showed fungicidal potential, even in those resistant to Fluconazole and Itraconazole. Thus, the positioning of these compounds in clinical practice may contribute to expand the possibilities of treating infections caused by this species of yeast.

Keywords: Hairy vine; Candidiasis; Antifungal activity; Minimum inhibitory concentration.

Resumen

Mikania hirsutissima (familia), comúnmente conocida en Brasil con el nombre de "cipó-cabeludo", es ampliamente utilizada en la medicina popular. Las actividades antimicrobianas ya han sido investigadas, sin embargo, no se han realizado estudios para evaluar las actividades antifúngicas de la planta. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antifúngica del extracto de *Mikania cf hirsutissima* en aislados clínicos y cepas estándar de *Candida albicans* resistentes a fluconazol e itraconazol. Después de la colecta de *Mikania cf hirsutissima*, se secó, trituró y pesó, dejando el material de desecho en alcohol absoluto. Luego del reposo se obtuvo el extracto crudo de tallo y hoja. Se utilizaron aislados clínicos de *Candida albicans* y cepas estándar. Se utilizaron diferentes concentraciones etanólicas de hojas y tallos. Para determinar la actividad antioxidante *in vitro* del extracto etanólico se aplicó el método de radicales libres DPPH. La actividad antifúngica de los extractos etanólicos en cepas de *Candida albicans* mostró resultados satisfactorios, donde el extracto de tallo de 100 mg/mL presentó halos promedio de 4,5 mm. Todas las cepas fueron resistentes a los antifúngicos itraconazol y fluconazol. Las concentraciones de extracto probadas para la evaluación de la actividad antioxidante mostraron capacidad antioxidante en comparación con el estándar de BHA. Los resultados mostraron actividad antifúngica en aislamientos de *Candida albicans*, donde todas las partes mostraron potencial fungicida, incluso en aquellas resistentes a Fluconazol e Itraconazol. Así, el posicionamiento de estos compuestos en la práctica clínica puede contribuir a ampliar las posibilidades de tratamiento de infecciones causadas por esta especie de levadura.

Palabras clave: Enredadera peluda; Candidiasis; Actividad antifúngica; Concentración mínima inhibitoria.

1. Introdução

As infecções fúngicas causadas por leveduras do gênero *Candida* spp. tem se tornado cada vez mais comuns, contribuindo para o aumento da morbidade e mortalidade em todo o mundo (Bhattacharjee, 2016; Bongomin et al., 2017). Seu perfil varia de uma infecção superficial geralmente autolimitada a uma infecção invasiva potencialmente fatal em pacientes imunocomprometidos (Kaushik et al., 2015). A importância médica da candidíase contrasta com o número limitado de opções de tratamento farmacológico (Pierce & Lopez-Ribot, 2013; Scorzoni et al., 2017). Além disso, o aumento da resistência, a toxicidade do tratamento convencional e os antifúngicos comercialmente disponíveis representam um sério problema de saúde pública e, no futuro, a eficácia do tratamento será um desafio (Pierce & Lopez-Ribot., 2013).

O tratamento de infecções por *Candida* spp. ainda é considerado desafiador. Alguns antifúngicos, como os da classe dos polienos (anfotericina B), por exemplo, apresentam diversos efeitos adversos e tóxicos como nefrotoxicidade, toxicidade hematológica e hepatotoxicidade (Campoy & Adrio, 2017; Falci & Pasqualotto, 2015). Além disso, os antifúngicos clinicamente disponíveis não apresentam alta eficácia para o tratamento das infecções, sobretudo invasivas, o tratamento é oneroso e deve ser realizado por um longo período, o que dificulta a adesão ao tratamento. Ainda, a ação fungistática de alguns compostos como os azólicos, favorecem a seleção de cepas resistentes (Andrade Júnior, Souza, Cordeiro, Silva, & Lima, 2020; Dalla Lana et al., 2016).

Diante o aumento dos relatos de toxicidade e resistência antifúngica relacionados com os compostos antifúngicos disponíveis comercialmente e o considerável aumento do número de infecções fúngicas, surge a necessidade da busca por novos compostos ativos. Nos últimos anos, o investimento da indústria farmacêutica na pesquisa e desenvolvimento de novos compostos antifúngicos tem sido baixo, o que é atribuído ao custo elevado e a utilização por curto período, gerando menor

retorno financeiro (Isham & Ghannoum., 2010).

Esse reconhecimento enfatiza a necessidade de desenvolver novos e mais eficazes agentes antifúngicos (Lima *et al.*, 2019) a fim de complementar o arsenal antifúngico atual. Compostos naturais são atrativos para essa finalidade devido ao seu amplo espectro de atividades biológicas com aplicações versáteis (Duraipandiyan & Ignacimuthu., 2011; Hashem *et al.*, 2019; Hossain *et al.*, 2019; Mahlo *et al.*, 2016). Com base nessa perspectiva, estudos têm demonstrado que diferentes classes de compostos foram isoladas a partir de várias partes de plantas do gênero *Mikania*, como cumarinas e derivados, sesquiterpenos, lactonas sesquiterpênicas, diterpenos, fitoesteróis, terpenóides e flavonóides podendo ser associadas às diversas atividades farmacológicas dessas plantas (Gasparetto *et al.*, 2013; Rufatto *et al.*, 2012). Em geral, as principais atividades farmacológicas são: ação anti-inflamatória, antialérgica, analgésica e antioxidante (Lazzari Almeida *et al.*, 2017).

A espécie *Mikania hirsutissima*, vulgarmente chamada por “cipó-cabeludo” é comumente utilizada na medicina popular, possui forte potencial para atividades antimicrobianas (Calfee, 2000; Johann *et al.*, 2011). Baratto *et al.* (2008), mostraram que o extrato etanólico das folhas de *M. hirsutissima* DC apresentou-se ativo contra cepas de *Staphylococcus aureus*, no entanto, possíveis efeitos antifúngicos dessa espécie ainda não foram explorados. Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo avaliar o potencial antifúngico do extrato de *Mikania hirsutissima* em isolados clínicos e cepas-padrão de *Candida albicans* resistentes ao fluconazol e itraconazol.

2. Metodologia

2.1 Material botânico e preparação das amostras

Mikania cf hirsutissima foi coletada no município de Camacho - MG no período de agosto de 2013 a outubro de 2013, utilizando caule e folhas. Após a coleta, a planta foi seca por sete dias em condições ambientais até peso constante. Posteriormente a secagem, as folhas foram separadas, trituradas em moinhos de faca e pesadas. Em seguida, as partes das plantas foram acondicionadas em frasco âmbar previamente identificado, com álcool absoluto (10 % p/v) por um período de sete dias. Após o período de repouso, o extrato foi transferido para o rotavapor para obter o extrato bruto das folhas. Após a extração, o extrato bruto foi transferido para uma placa de petri para secagem.

2.2 Microrganismos

Foram utilizados 05 isolados clínicos de *Candida albicans*, previamente identificados a nível de espécie na instituição de origem, fornecidos pela seção de Micologia do Laboratório Biocenter LTDA, localizado na cidade de Divinópolis – MG e uma cepa-padrão (*Candida albicans* ATCC 10231). As amostras foram mantidas sob refrigeração até preparo do inóculo de trabalho.

2.3 Padronização da suspensão fúngica

Culturas de levedura de 48 horas de crescimento em caldo Sabouraud dextrose (SDC) foram transferidas para PBS pH 7,2 e ajustadas para turvação de acordo com a escala de 0,5 de McFarland (106 UFC/mL) que foi confirmada por leitura espectrofotométrica a 625 nm com valor de absorvância entre 0,08 e 0,10 que foram então usados nos testes.

2.4 Atividade antifúngica pelo método de microdiluição em caldo

Uma alíquota de 100 µL de *Candida albicans* foi semeada em Sabouraud Agar Dextrose. A concentração do extrato etanólico de *Mikania cf hirsutissima* utilizada nas seguintes concentrações 50mg/mL (folha e caule) e 100 mg/mL (folha e caule) dissolvido em 100 mL de metanol, uma rede de 25 µg/mL foi inoculada nos micro poços e realizada a diluição seriada. Após o preparo de todo o procedimento, as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas (CLSI, 2008). A atividade antifúngica

da *Mikania cf hirsutissima* foi obtida a partir de extrato etanólico contra 05 isolados clínicos de *Candida albicans* e uma cepa padrão ATCC – 10231. Foram utilizados como controle positivo dois fármacos da classe dos azóis, sendo eles o Itraconazol (10 µg) e o Fluconazol (25 µg). Estes fármacos foram escolhidos, pois as cepas apresentaram resistência antifúngica.

3. Resultados

Os resultados mostram que todos os extratos na concentração de 100 mg/mL apresentaram atividade antifúngica e os extratos na concentração 50 mg/mL não apresentaram atividade antifúngica (Tabela 1).

Tabela 1. Atividade fungicida das partes da *Mikania hirsutissima*.

Micro-organismo N°	Parte da Planta / Concentração		Diâmetro do Halo	
			Folha	Caule
CA 1203			0,8 mm	0,8 mm
CA 1152			0,8 mm	0,7 mm
CA 1083	Folha 100 mg/mL	Caule 100 mg/mL	0,7 mm	11,0 mm
CA 1176			0,7 mm	0,8 mm
CA 1417			0,6 mm	12,0 mm
CA – ATCC – 10231			0,5 mm	0,3 mm
MÉDIA DE DIAMETRO DOS HALOS			0,6 mm	4,5 mm

Fonte: Autores.

Três cepas de *Candida albicans* foram resistentes, uma sensível e duas intermediárias de acordo com as recomendações do *Clinical Standard Laboratory Institute* (CLSI, 2019) ao Fluconazol 25 µg como demonstrado na tabela. Todas as cepas de *Candida albicans* apresentaram resistência ao Itraconazol 10 µg (Tabela 2).

Tabela 2. Análise dos diâmetros de inibição dos antifúngicos fluconazol e itraconazol.

Microorganismo n°	Fármaco/µg	Diâmetro do halo	Referência*
CA 1203		16,0 mm	> 19 mm – sensível
CA 1152		0,0 mm	
CA 1083	FLUCONAZOL 25 µg	0,0 mm	19 – 14 mm Intermediário
CA 1176		20,0 mm	
CA 1417		15,0 mm	< 14 mm – Resistente
CA – ATCC – 10231		0,0 mm	
CA 1203	ITRACONAZOL 10 µg	0,7 mm	≥ 20 mm – sensível
CA 1152		0,0 mm	
CA 1083		0,4 mm	12 – 19 mm Intermediário
CA 1176		0,7 mm	
CA 1417		0,9 mm	≤ 11 mm - Resistente
CA – ATCC – 10231		0,0 mm	

*NCLLS (CLSI) – Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts – M44 – P. 2019. Fonte: Autores.

4. Discussão

Até o presente momento, não encontramos na literatura estudos que avaliassem a atividade antifúngica da *Mikania hirsutissima* contra cepas de *C. albicans*, mostrando a relevância desse estudo inicial para futuras aplicações clínicas.

A atividade farmacológica de compostos naturais está relacionada com seus constituintes químicos presentes. Dentre os constituintes dessa espécie, destaca-se o ácido caurenóico, um diterpeno, esqueleto tetracíclico rígido, conhecido como caurano. Os cauranos são biosintetizados por fungos e plantas como um metabólito secundário (Matos *et al.*, 2018). O ácido caurenóico é formado por anéis (A, B e C) peridrofenantremo, ligado por uma ponte entre C8 – C13 é uma unidade de ciclo pentano (Anel D). As partes da *Mikania ssp.* que apresentam maior concentração de ácido caurenóico são as partes áreas das plantas (Marques Fonseca *et al.*, 2021).

O ácido caurenóico é um ácido fraco, estes tipos de ácidos promovem transporte de prótons através de membrana, este ácido é de fácil ionização e hidrosolubilidade em pH 7 (Wilkins *et al.*, 2002). Acredita-se que o caurano tenha a propriedade de inibir o crescimento de *Candida albicans*, podendo ser este, um dos responsáveis pela atividade antifúngica aqui observada (Amaral *et al.*, 2009), como reforça um estudo realizado por Oga *et al.* (1985), no qual demonstrou que o ácido caurenóico presente nas espécies de *Mikania*, apresenta atividade contra a *Candida albicans*.

Muitas vezes o fungo age como fator gerador de novos fármacos a partir de compostos naturais, Gonçalves *et al.* (2018) em seu estudo utilizaram o fungo *Aspergillus terreus*, onde ocorre a biotransformação do ácido caurenóico, esta ação se dá através de enzimas fúngicas, assim gerando um novo composto biotransformado, no qual será analisado sua ação farmacológica. Neste mesmo estudo o autor relata que a carboxila C19 é responsável pela ação antiplasmótica do ácido caurenóico.

Os teores de cumarinas muitas vezes pode ter sido modificado no gênero *Mikania* em razão de tempo e temperatura, estas perdas estão relacionadas com abertura do anel cumarínico e isomerização do composto da forma trans (Amaral *et al.*, 2009). As cumarinas herniarina (7 - metoxicumarina) se manifestam pela inibição das hifas, alterando a morfologia nuclear das vesículas e a mudança da densidade do citoplasma, apresentando anormalidades nas mitocôndrias, na parede celular das bactérias e nas estruturas dos fungos (Ali *et al.*, 2021). Dessa forma, sugere-se que a *Mikania hirsutissima* possui potencial atividade antifúngica por apresentar uma concentração considerável dessa cumarina.

Além disso, estudos relatam que o humuleno (sesquiterpeno) se concentra nas partes áreas e raízes das plantas, podendo ser encontrado também em óleos essenciais. Este, por sua vez, é um importante precursor fúngico das plantas, em que apresenta forte ação sob a *Candida albicans*, assim o humuleno se trata de uma parte integradora para ação antifúngica da *Mikania hirsutissima* sob as cepas de *Candida albicans* (Mendes de Lacerda Leite *et al.*, 2021)

No presente estudo, todos os isolados clínicos de *C. albicans* incluídos apresentavam resistência ao itraconazol, 50 % foram resistentes ao fluconazol e 16.66 % foram sensíveis ao extrato etanólico de *Mikania cf hirsutissima*. Os isolados clínicos que mais se mostraram resistentes ao itraconazol (CA1152 e CA ATCC 10231), isolados no qual não apresentaram nenhum halo de sensibilidade o isolado CA1083, CA1152 e ATCC 10231 apresentaram resistência ao fluconazol.

Analisando os dados obtidos, verificou-se que o isolado clínico CA1152 apresentou uma alta resistência a terapia antifúngica sintética proposta neste estudo (fluconazol/ itraconazol). Essa resistência pode estar relacionada com a dificuldade em adesão à terapia antifúngica, devido a diversos fatores efeitos indesejáveis como nefrotoxicidade, toxicidade hematológica e hepatotoxicidade (Campoy & Adrio, 2017; Falci & Pasqualotto, 2015). Além disso, o tratamento antifúngico clinicamente disponível é oneroso e deve ser realizado por um longo período, o que dificulta a adesão ao tratamento. Ainda, a ação fungistática de alguns compostos como os azólicos, favorecem a seleção de cepas resistentes dificultando o desenvolvimento de uma terapia eficaz para tratamento de infecções causadas por *Candida albicans*.

Os resultados obtidos neste estudo apontam que o extrato da *Mikania cf hirsutissima*, apresentou de forma satisfatória,

atividade antifúngica sobre os isolados clínicos testados, no qual todas as partes das plantas evidenciaram seu potencial uso fungicida, mesmo aquelas que resistentes ao fluconazol e o itraconazol. Este efeito antifúngico da *Mikania cf hirsutissima*, ocorre possivelmente devido a sua composição fitoquímica, portanto, mais estudos são necessários a fim de elucidar os mecanismos envolvidos na atividade farmacológica observada.

5. Considerações Finais

Este estudo mostrou satisfatoriamente o potencial efeito antifúngico dos extratos de *Mikania hirsutissima* contra isolados de *C. albicans*, no qual todas as partes da planta apresentaram potencial fungicida, mesmo os isolados sendo resistentes aos antifúngicos fluconazol e itraconazol. Além disso, aponta a necessidade de novas pesquisas para elucidação do potencial ação antifúngica, para que o posicionamento desses compostos na prática clínica, possa contribuir na ampliação das possibilidades de tratamento de infecções causadas por essa espécie de leveduras. Portanto, sugere-se a execução de um estudo pré-clínico *in vivo* para melhor elucidação da atividade farmacológica.

Conflitos de interesse

Os autores declaram que não possuem conflitos de interesse.

Contribuição dos autores

C. A. A. Resende desenvolveu o presente trabalho como aluno do curso de Farmácia da Faculdade Pitágoras, Divinópolis - MG. A. E. M. Junior, A. P. Castro e K. A. Resende auxiliaram na escrita, interpretação e discussão dos resultados encontrados. A. E. M. Junior e A. P. Castro aprimoraram e realizaram adequações ao manuscrito. W. J. M. Bittencourt foi responsável pela co-orientação deste trabalho. H. C. Marcondes foi responsável por fornecer suporte metodológico e pela orientação deste trabalho.

Referências

- Ali, E. M., Alkuwayti, M. A., Aldayel, M. F., & Abdallah, B. M. (2021). Coumarin derivative, 5'-hydroxy-auraptene, extracted from *Lotus lalambensis*, displays antifungal and anti-aflatoxigenic activities against *Aspergillus flavus*. *Journal of King Saud University - Science*, 33(1), 101216. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.10.013>
- Amaral, M. da P. H. do, Vieira, F. P., Leite, M. N., Amaral, L. H. do, Pinheiro, L. C., Fonseca, B. G., ... Varejão, E. V. (2009). Determinação do teor de cumarina no xarope de guaco armazenado em diferentes temperaturas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(2b), 607–611. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000400017>
- Andrade Júnior, F. P. de, Souza, H. D. da S., Cordeiro, L. V., Silva, D. de F., & Lima, E. de O. (2020). *Microsporum* spp como causador de dermatofitoses: uma revisão. *Research, Society and Development*, 9(5), e133953194. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i5.3194>
- Baratto, L., Lang, K. L., Vanz, D. C., Reginatto, F. H., Oliveira, J. B., & Falkenberg, M. (2008). Investigação das atividades alelopática e antimicrobiana de *Mikania laevigata* (Asteraceae) obtida de cultivos hidropônico e tradicional. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18(4), 577–582. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000400014>
- Bhattacharjee, P. (2016). Epidemiology and antifungal susceptibility of *Candida* species in a tertiary care hospital, Kolkata, India. *Current Medical Mycology*, 2(2), 0–0. <https://doi.org/10.18869/acadpub.cmm.2.2.5>
- Bongomin, F., Gago, S., Oladele, R., & Denning, D. (2017). Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases—Estimate Precision. *Journal of Fungi*, 3(4), 57. <https://doi.org/10.3390/jof3040057>
- Calfee, J. E. (2000). The Increasing Necessity for Market-Based Pharmaceutical Prices*. *PharmacoEconomics*, 18(Supplement 1), 47–57. <https://doi.org/10.2165/00019053-200018001-00007>
- Campoy, S., & Adrio, J. L. (2017). Antifungals. *Biochemical Pharmacology*, 133, 86–96. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.11.019>
- Dalla Lana, D. F., Batista, B. G., Alves, S. H., & Fuentesfria, A. M. (2016). Dermatofitoses: agentes etiológicos, formas clínicas, terapêutica e novas perspectivas de tratamento. *Clinical & Biomedical Research*, 36(4), 230–241. <https://doi.org/10.4322/2357-9730.68880>
- de Lazzari Almeida, C., Xavier, R. M., Borghi, A. A., dos Santos, V. F., & Sawaya, A. C. H. F. (2017). Effect of seasonality and growth conditions on the content of coumarin, chlorogenic acid and dicaffeoylquinic acids in *Mikania laevigata* Schultz and *Mikania glomerata* Sprengel (Asteraceae) by UHPLC–

MS/MS. *International Journal of Mass Spectrometry*, 418, 162–172. <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2016.09.016>

Duraipandiyar, V., & Ignacimuthu, S. (2011). Antifungal activity of traditional medicinal plants from Tamil Nadu, India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(2), S204–S215. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60157-3](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60157-3)

Falci, D. R., & Pasqualotto, A. C. (2015). Anfotericina B: uma revisão sobre suas diferentes formulações, efeitos adversos e toxicidade. *Clinical & Biomedical Research*, 35(2), 65–82. <https://doi.org/10.4322/2357-9730.56021>

Gasparetto, J. C., Francisco, T. M. G. De, & Pontarolo, R. (2013). Chemical constituents of *Mikania glomerata* Spreng and *Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(13), 753–765. <https://doi.org/10.5897/JMPR12.626>

Gonçalves, T. P. R., Parreira, A. G., Lima, W. G. de, & Coimbra, M. C. (2018). Potencial antifúngico e antibacteriano de extratos vegetais da região de Divinópolis/MG. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*, 9(3), 25–37. <https://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2018.003.0003>

Hashem, M., Alamri, S. A., Shathan, A. A., Alshehri, S. R. Z., Mostafa, Y. S., & El-kott, A. (2019). Antifungal efficiency of wild plants against human-opportunistic pathogens. *Journal de Mycologie Médicale*, 29(2), 168–173. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2019.02.004>

Hossain, M. A., Biva, I. J., Kidd, S. E., Whittle, J. D., Griesser, H. J., & Coad, B. R. (2019). Antifungal Activity in Compounds from the Australian Desert Plant *Eremophila altemifolia* with Potency Against *Cryptococcus* spp. *Antibiotics*, 8(2), 34. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8020034>

Isham, N., & Ghannoum, M. A. (2010). Antifungal activity of miconazole against recent *Candida* strains. *Mycoses*, 53(5), 434–437. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2009.01728.x>

Johann, S., Mendes, B. G., Missau, F. C., Resende, M. A. de, & Pizzolatti, M. G. (2011). Antifungal activity of five species of *Polygala*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(3), 1065–1075. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000300027>

Kaushik, N., Pujalte, G. G. A., & Reese, S. T. (2015). Superficial Fungal Infections. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 42(4), 501–516. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2015.08.004>

Lima, W. G., Alves-Nascimento, L. A., Andrade, J. T., Vieira, L., de Azambuja Ribeiro, R. I. M., Thomé, R. G., ... Soares, A. C. (2019). Are the Statins promising antifungal agents against invasive candidiasis? *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 111, 270–281. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.076>

Mahlo, S. M., Chauke, H. R., McGaw, L., & Eloff, J. (2016). Antioxidant and antifungal activity of selected medicinal plant extracts against phytopathogenic fungi. *Africa Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicine*, 13(4), 216–222. <https://doi.org/10.21010/ajtcam.v13i4.28>

Marques Fonseca, M. C., de Ávila, M. B. R., Coutinho, Í. A. C., das Dôres, R. G. R., Meira, R. M. S. A., & Silva, A. F. (2021). Biomass production, essential oil's yield and composition of three genotypes of *Mikania laevigata* Sch. Bip. ex Baker. *Acta Physiologiae Plantarum*, 43(5), 71. <https://doi.org/10.1007/s11738-021-03241-1>

Matos, D. M. de, Viana, M. R., Alvim, M. C. de O., Carvalho, L. S. A. de, Leite, L. H. R., Da Silva Filho, A. A., & Nascimento, J. W. L. (2018). Pharmacokinetic profile and oral bioavailability of Kaurenoic acid from *Copaifera* spp. in rats. *Fitoterapia*, 128, 142–147. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2018.05.013>

Mendes de Lacerda Leite, G., de Oliveira Barbosa, M., Pereira Lopes, M. J., de Araújo Delmondes, G., Bezerra, D. S., Araújo, I. M., ... Kerntof, M. R. (2021). Pharmacological and toxicological activities of α -humulene and its isomers: A systematic review. *Trends in Food Science & Technology*, 115, 255–274. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.049>

Oga, S., Akisue, M., Akisue, G., & Oliveira, F. (1985). Parametros físicos e químicos e efeito antiedema dos extratos fluidos de guaco (*mikania glomerata* sprengel) e de guaco de mato (*mikania laevigata* schultz bip. Ex baker). *Anais de Farmacia e Química de Sao Paulo*, 25(1–2), 50–54. <https://biblat.unam.mx/pt/revista/anais-de-farmacia-e-quimica-de-sao-paulo/articulo/parametros-fisicos-e-quimicos-e-efeito-antiedema-dos-extratos-fluidos-de-guaco-mikania-glomerata-sprengel-e-de-guaco-de-mato-mikania-laevigata-schultz-bip-ex-baker>

Pierce, C. G., & Lopez-Ribot, J. L. (2013). Candidiasis drug discovery and development: new approaches targeting virulence for discovering and identifying new drugs. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 8(9), 1117–1126. <https://doi.org/10.1517/17460441.2013.807245>

Rufatto, L. C., Gower, A., Schwambach, J., & Moura, S. (2012). Genus *Mikania*: chemical composition and phytotherapeutical activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22(6), 1384–1403. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000099>

Scorzoni, L., de Paula e Silva, A. C. A., Marcos, C. M., Assato, P. A., de Melo, W. C. M. A., de Oliveira, H. C., ... Fusco-Almeida, A. M. (2017). Antifungal Therapy: New Advances in the Understanding and Treatment of Mycosis. *Frontiers in Microbiology*, 08. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00036>

Wilkens, M., Alarcón, C., Urzúa, A., & Mendoza, L. (2002). Characterization of the Bactericidal Activity of the Natural Diterpene Kaurenoic Acid. *Planta Medica*, 68(5), 452–454. <https://doi.org/10.1055/s-2002-32086>