

EXPLORANDO AS PROPRIEDADES ANTIFÚNGICAS DE *Eupatorium intermedium* DC

EXPLORING THE ANTIFUNGAL PROPERTIES OF *Eupatorium intermedium* DC

Francisco Bernardo de Barros¹, Adrielle Rodrigues Costa¹, Aline Belém Tavares², Ana Lays Braga³, Dárcio Luiz de Sousa Júnior⁴, Diêgo de Sá Lima¹, Debora Lima Sales¹, Rafael Pereira da Cruz², Joara Nályda Pereira Carneiro¹, Wanderlei do Amaral⁵, Luiz Everson da Silva⁵, Maria Flaviana Bezerra Moraes-Braga¹.

¹Universidade Regional do Cariri, Crato, Ceará, Brasil.

²Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.

³Centro Universitário Paraíso, Juazeiro do Norte, Ceará, Brasil.

⁴Centro Universitário Maurício de Nassau, Juazeiro do Norte, Ceará, Brasil.

⁵Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.

RESUMO

Objetivo: O presente trabalho teve por finalidade avaliar a atividade antifúngica intrínseca do óleo essencial das folhas de *Eupatorium intermedium* DC., de sua combinação com o fluconazol contra cepas de *C. albicans* e *C. tropicalis* e o seu efeito na transição morfológica das espécies. **Método:** O óleo essencial foi obtido pelo método de hidrodestilação. Foram realizados ensaios de microdiluição em placas de 96 poços para determinar a concentração Inibitória de 50% dos fungos (CI⁵⁰) e uma curva de viabilidade celular foi obtida. A Concentração Fungicida Mínima (CFM) foi obtida através da subcultura em Sabourad Dextrose Agar, sendo o efeito da combinação óleo/fluconazol verificado por com concentração subinibitória do óleo. Foram utilizadas câmaras úmidas, sobre uma lâmina de microscopia para verificar o potencial do óleo essencial em inibir a transição morfológica dos fungos. **Resultados:** O óleo de *E. intermedium* de forma isolada apresenta efeito fungistático nas maiores concentrações contra as cepas fúngicas testadas. A combinação entre o óleo e o fluconazol promoveu a potencialização de efeito do fármaco. O óleo inibiu, na maior concentração avaliada, a transição morfológica de *Candida albicans*. **Considerações finais:** O óleo de *E. intermedium* pode ser explorado na potencialização da atividade do Fluconazol contra *Candida* spp., bem como na interferência da capacidade de transição morfológica desses fungos, o que é relevante na patogênese das infecções causadas por *Candida* spp.

Descritores: Óleo essencial; Produto natural; Anti-*Candida*; Transição Morfológica; Sinergismo farmacológico.

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to evaluate the intrinsic antifungal activity of the essential oil of Eupatorium intermedium DC. leaves, its combination with Fluconazole against C. albicans and C. tropicalis strains and its effect on the morphological transition of the species. Method: The essential oil was obtained by the hydrodistillation method. Microdilution assays were carried out in 96-well plates to determine the 50% fungal inhibitory concentration (IC50) and a cell viability curve was obtained. The Minimum Fungicidal Concentration (MFC) was obtained by subculturing on Sabourad Dextrose Agar, and the effect of the oil/Fluconazole combination was verified with a sub-inhibitory concentration of the oil. Moist chambers were used on a microscope slide to check the potential of the essential oil to inhibit the morphological transition of the fungi. Results: E. intermedium oil in isolation shows a fungistatic effect at the highest concentrations against the fungal strains tested. The combination of the oil and Fluconazole promoted the potentiation of the drug's effect. At the highest concentration, the oil inhibited the morphological transition of Candida albicans. Final considerations: E. intermedium oil can be used to potentiate the activity of Fluconazole against Candida spp., as well as to interfere with the morphological transition capacity of these fungi, which is relevant in the pathogenesis of infections caused by Candida spp.

Descriptors: Essential oil; Natural product; Antifungals; Anti-Candida; Morphological Transition; Pharmacological Synergy.

INTRODUÇÃO

A utilização de plantas para fins medicinais pelos seres humanos tem raízes antigas, como evidenciado por relatos históricos em países como China, Grécia, Egito e Índia¹. Atualmente, as técnicas de biologia molecular e biotecnologia estão desempenhando um papel crucial no desenvolvimento de estudos sobre a utilização de plantas medicinais com base na sua constituição química. Isso inclui a busca pelo isolamento de compostos que possam servir como base para novos medicamentos, bem como o aprimoramento dos já existentes². Os compostos do metabolismo secundário estão intimamente relacionados com as propriedades farmacológicas das plantas medicinais. Nesse contexto, estudos indicam que algumas espécies vegetais contêm biocompostos que podem ser eficazes no tratamento de doenças causadas por fungos^{3, 4, 5, 6, 7}. A importância da descoberta de novas substâncias ou terapias antifúngicas está diretamente relacionada ao surgimento de resistência em relação a classes de medicamentos existentes, especialmente os das classes dos azólicos e equinocandinas⁸.

Esse fenômeno envolve mecanismos de resistência intrínseca, presente desde o início em alguns microrganismos e mecanismos de resistência secundária, que podem

surgir em microrganismos anteriormente sensíveis após o contato com um determinado fármaco⁸. Esta resistência é uma preocupação significativa devido a diversos fatores de virulência. Isso inclui a presença de enzimas degradativas, bem como a capacidade de aderir tecidos hospedeiros e formar biofilmes⁹.

Os fungos do gênero *Candida* são amplamente encontrados em diversos ecossistemas e fazem parte da microbiota humana como microrganismos comensais. No entanto, quando ocorrem alterações na relação entre leveduras e o hospedeiro, elas podem se tornar patogênicas¹⁰. Pacientes com sistemas imunodeprimidos são particularmente suscetíveis ao desenvolvimento de infecções fúngicas, com *Candida albicans* sendo a espécie mais prevalente em infecções oportunistas¹¹.

C. albicans se destaca ainda pela capacidade de alterar sua morfologia celular de acordo com as condições do meio que se desenvolve. Esta espécie de *Candida* pode apresentar uma forma esférica ou filamentosa (pseudo-hifas ou hifas). Na forma filamentosa, estes fungos têm uma maior habilidade de aderir às células do hospedeiro e de invadir os tecidos, o que facilita a disseminação da infecção¹².

C. albicans e *C. tropicalis*, além de outras espécies do gênero, têm demonstrado resistência a medicamentos derivados de azólicos e por este motivo é de extrema importância identificar novos compostos e investigar seu potencial bioativo, seja isoladamente ou em combinação com moléculas existentes, a fim de desenvolver formulações para terapias antifúngicas mais eficazes. Esse esforço é crucial para expandir as opções de tratamento¹³.

No reino vegetal, a presença de diversos compostos naturais com estruturas inovadoras, conhecidos como metabólitos secundários bioativos, tem sido um foco de pesquisa constante devido às propriedades antifúngicas que apresentam. Esse cenário sugere que as plantas possuem um grande potencial para servir como uma valiosa fonte de futuros medicamentos antifúngicos¹⁴.

Além disso, a combinação de compostos químicos encontrados em óleos essenciais pode potencializar a eficácia dos medicamentos já conhecidos, resultando em avanços significativos na busca por novas terapias¹⁴. Nesse sentido, a espécie *Eupatorium intermedium* DC., que pertence à família Asteraceae, é um arbusto

ramificado nativo do Sul do Brasil. A referida família é considerada uma das mais importantes em relação a interesses terapêuticos¹⁵. No entanto, nas bases científicas, são escassos os estudos que relatam as atividades biológicas para esta espécie. Apesar disso, importantes achados, como as atividades, antibacteriana^{16, 17, 18} e antioxidante^{17, 18}, foram descritas. Nos estudos em questão foi demonstrado que o óleo essencial de *E. intermedium* possui importantes componentes, como β -Pineno, α -Pineno e espatulenol^{16, 17, 18}, metabólitos secundários com reconhecida atividade antifúngica¹⁹.

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial do óleo essencial da espécie *E. intermedium* na inibição do crescimento, na reversão da resistência a fármaco comercial, quando associado a este, e o efeito sobre a transição morfológica fúngica frente a cepas de *C. albicans* e *C. tropicalis*.

METODOLOGIA

Coleta do material botânico

O material botânico (inflorescências) da espécie *E. intermedium* DC., foi coletado na reserva particular de patrimônio natural (RPPN) Butuquara, com formação nos campos gerais no município de Palmeira – PR, nas coordenadas geográficas: S 25º 20.461' e W 049º 48.046', altitude 1.071 m. Uma exsicata da planta foi selecionada e identificada, sendo o exemplar da espécie depositado no Herbário das Faculdades Integradas Espíritas (HFIE), com a numeração 8.250.

Extração do óleo essencial

O óleo essencial de *E. intermedium* (OEEI) foi extraído a partir das inflorescências frescas, por hidrodestilação em aparelho Clevenger. 100 g da amostra e 1 L de água destilada foram colocadas em um balão volumétrico de 2 L, em seguida foi aquecido a 100 °C até alcançar a fervura, logo após a temperatura foi reduzida a 75 °C por 4 horas. O óleo foi retirado do aparelho Clevenger com auxílio de uma pipeta e armazenado em

frascos de vidro e microtubos âmbar, sendo mantidos sobre refrigeração até a realização dos testes.

Cepas de fungos e meios de cultura utilizados

O preparo dos microrganismos foi realizado com base nas recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* - CLSI, com algumas alterações²⁰. As cepas utilizadas foram obtidas no Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), *C. albicans* (CA INCQS 40006) e *C. tropicalis* (CT INCQS 40042) e mantidas no Laboratório de Micologia Aplicada do Cariri - LMAC na Universidade Regional do Cariri - URCA. Inicialmente foram inoculadas com Sabouraud Dextrose Agar (SDA, KASVI) e incubadas em estufa por 24 h a 37 °C. Posteriormente, alíquotas de cada microrganismo foram transferidas para tubos de ensaio contendo 3 mL de solução salina estéril (0,9%), com sua turbidez ajustada em 0,5 da escala de MacFarland (1×10^6 a 5×10^6 células por mL). Em seguida, a solução foi diluída (1:50 e depois 1:20) em meio SDB (Sabouraud Dextrose Broth). Os inóculos preparados foram utilizados para ensaios microbianos posteriores¹².

Drogas, reagentes e preparação de solução

Utilizou-se dimetilsulfóxido (DMSO - Merck, Darmstadt, Alemanha) para diluir o óleo essencial, já o fluconazol utilizado nos experimentos como fármaco de referência, foi diluído em água destilada (Capsule - FLUCOMED) para obter uma concentração de 8.192 µg/mL. As soluções estoques do óleo essencial foram preparadas pesando 0,1 g diluindo em 1 mL de DMSO. Posteriormente, foram retirados 737 µL da solução estoque e colocados em tubo Falcon de 9 mL, sendo o volume completado com água destilada estéril, obtendo a concentração desejada (8.192 µg/mL). Na concentração testada, o DMSO não apresenta atividade farmacológica²¹.

Determinação da Concentração Inibidora de 50% dos fungos (CI₅₀) e viabilidade celular

Microtubos contendo 1350 µL do meio SDB e 150 µL do inóculo foram preparados para serem distribuídos na placa de microdiluição, de acordo com o CLSI¹², (com modificações). Os poços 1 ao 10 da placa foram preenchidos com a adição de 100 µL desta solução em cada poço e posteriormente, foi realizada diluição em série a partir de 100 µL de produto testado (OEEI ou Fluconazol), variando as concentrações da maior para menor (4.096 a 4 µg/mL). Os poços 11 e 12 foram usados, respectivamente, para os controles de crescimento (apenas meio + inóculo) e de esterilidade (apenas meio). Foi realizado controle de diluição, no qual o inóculo foi substituído por soro fisiológico. O teste foi realizado em quadruplicata. As placas foram colocadas na incubadora por um período de 24 horas a 37 °C. A leitura foi realizada usando o espectrofotômetro ELISA em um comprimento de onda de 630 nm e os dados de leitura foram utilizados para determinar o CI₅₀ e obter a curva de viabilidade celular posteriormente²².

Determinação da concentração fungicida mínima – CFM

Em cada poço das placas de teste, foi adicionada uma haste estéril, que após a homogeneização do meio contido no poço foi subcultivada em placas de Petri contendo ASD (Ágar Sabourand Dextrose), por transferência de uma pequena alíquota da solução de teste (meio + inóculo + produto natural) para verificação da viabilidade celular. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h e checadas quanto ao efeito fungistático ou fungicida das colônias. CFM foi definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento da colônia fúngica²².

Efeito antifúngico da combinação entre OEEI e Fluconazol

Na determinação do efeito combinatório de OEEI com fluconazol sobre a resistência fúngica, foi utilizada concentração sub-inibitória do óleo essencial, tendo

como base a Concentração Matriz (CM), isto é, CM/16, em conjunto com a droga antifúngica. Placas de micro diluição contendo o meio de cultura, o inóculo fúngico e o óleo essencial (totalizando 100 μ L) foram adicionadas de 100 μ L de fluconazol em concentrações que variaram de 4.096 a 8 μ g/mL²³. Para o teste, controle de diluição do fluconazol, controle da diluição da modulação e controle da esterilidade do meio de cultura foram realizados. As placas foram incubadas durante 24h a 37 °C e em seguida, lidas em espectrofotômetro a 630 nm²².

Determinação da ação do óleo sobre a morfologia fúngica

Este ensaio foi realizado para determinar se o produto natural causou alguma alteração na morfologia dos fungos, inibindo o desenvolvimento, de estruturas invasoras de tecido. Inicialmente, câmaras micromorfológicas estéreis foram preparadas para as análises morfológicas.

Dentro de câmaras úmidas, sobre uma lâmina de microscopia (estéril) foram adicionados 3 mL de solução contendo meio de cultura e OEEl, nas concentrações CM/4 e CM/16, onde CM é a Concentração Matriz do óleo avaliado (8.192 μ g/mL). Alíquotas dos inóculos foram retiradas das placas de Petri para fazer duas estrias paralelas no meio sólido, que foram cobertas com uma lamínula estéril. As câmaras foram colocadas na estufa por 24 h a 37 °C e posteriormente, inspecionadas sob um microscópio óptico usando uma objetiva de 40 vezes. Uma câmera foi anexada ao microscópio para capturar imagens. Um controle para o crescimento de leveduras (hifas/pseudohifas estimuladas pelo esgotamento do meio) foi realizado, bem como um controle utilizando o antifúngico fluconazol, para fins comparativos²⁴.

Análise estatística

As diferenças entre as médias das concentrações do produto foram determinadas por Análise de variância (ANOVA) de duas vias, com o teste *post hoc* de *Bonferroni* (onde $p < 0,05$ e $p < 0,0001$ foram considerados significativos e $p > 0,05$ não

significativos). Os valores de CI_{50} foram obtidos por regressão não linear com interpolação de incógnitas de curvas padrão obtidas a partir dos valores do crescimento fúngico em função da concentração do produto ($\mu\text{g/mL}$). Foi utilizado o software GraphPad Prism (versão 9.0) para as análises.

RESULTADOS

Atividade antifúngica e efeito modificador da ação de antibiótico

Os valores de CI_{50} foram determinados e demonstraram que o óleo essencial teve altos valores de CI_{50} tanto frente a *C. albicans* quanto *C. tropicalis* (Tabela 1). O resultado obtido pode ser considerado clinicamente irrelevante, devido às concentrações de efeito serem elevadas²⁵. Quando o óleo foi combinado com o fármaco fluconazol, foi observado efeito inibidor em concentrações menores contra as duas cepas em estudo, especialmente contra *C. tropicalis* cuja CI_{50} foi mais baixa do que a apresentada pelo fármaco quando testado isoladamente, como pode ser conferido na Tabela 1. Esse resultado sugere que o óleo potencializou a ação do antifúngico contra esta cepa.

Tabela 1. Atividade intrínseca e combinada do óleo essencial da espécie *Eupatorium intermedium* (OEEI) contra *C. albicans* e *C. tropicalis* - CI_{50} .

Produto avaliado	CA INCQS 40006	CT INCQS 40042
FCZ	186 $\mu\text{g/mL}$	1824 $\mu\text{g/mL}$
OEEI	3857 $\mu\text{g/mL}$	4296 $\mu\text{g/mL}$
OEEI + FCZ	273 $\mu\text{g/mL}$	237 $\mu\text{g/mL}$

CA: *Candida albicans*; CT: *Candida tropicalis*; INCQS: Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde; FCZ: fluconazol. CI_{50} : Concentração Inibidora de 50% dos fungos.

A viabilidade celular da cepa *C. albicans* INCQS 40006 em função da concentração do OEEI é apresentada na Figura 1A, onde torna-se possível observar que, apenas a partir da concentração 1024 $\mu\text{g/mL}$, a combinação do óleo essencial e

antifúngico começa a diferir do controle (FCZ), tendo uma bioatividade melhorada. Os resultados da atividade combinada (OEEI + FCZ) contra a cepa *C. tropicalis* INCQS 40042 (Figura 1B), foram mais promissores, uma vez que, já na concentração de 32 µg/mL, obteve-se uma diferença notável em relação ao fármaco de referência, indicando uma maior susceptibilidade dessas cepas fúngica ao OEEI.

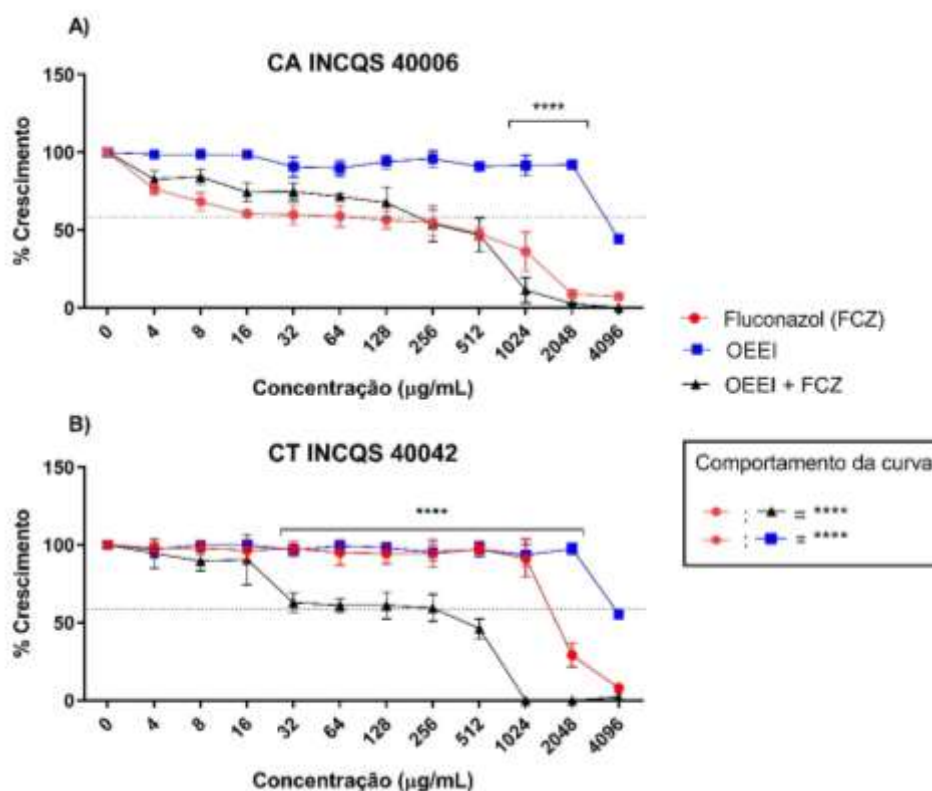


Figura 1. Efeito antifúngico do óleo essencial de *Eupatorium intermedium* (OEEI) isoladamente e associado ao fluconazol (OEEI + FCZ) contra *Candida albicans* INCQS 40006 (A) e contra *Candida tropicalis* INCQS 40042 (B). ns ($p < 0,05$), **** ($p < 0,001$).
INCQS: Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde.

A Concentração Fungicida Mínima do óleo e fluconazol foram investigadas, entretanto não foi identificada dentre as concentrações avaliadas tanto na ação dos produtos avaliados individualmente quanto combinados. Dessa forma, o efeito verificado foi considerado fungistático, uma vez que, após subcultivo do conteúdo dos

poços da microdiluição em placas de Petri, foi observado crescimento de colônias fúngicas e não a supressão destas.

Em relação a ação do óleo sobre a morfologia fúngica, observou-se melhor efeito contra a virulência de *C. albicans* (Figura 2), quando comparado a *C. tropicalis* (Figura 3). Entretanto a redução no tamanho e na quantidade de estruturas filamentosas só foi observada na concentração mais elevada, sem que houvesse, de fato, inibição total. Um melhor efeito foi verificado pela droga utilizada como controle, entretanto, esta também não impediu por completo a expressão gênica das proteínas responsáveis pela transição.

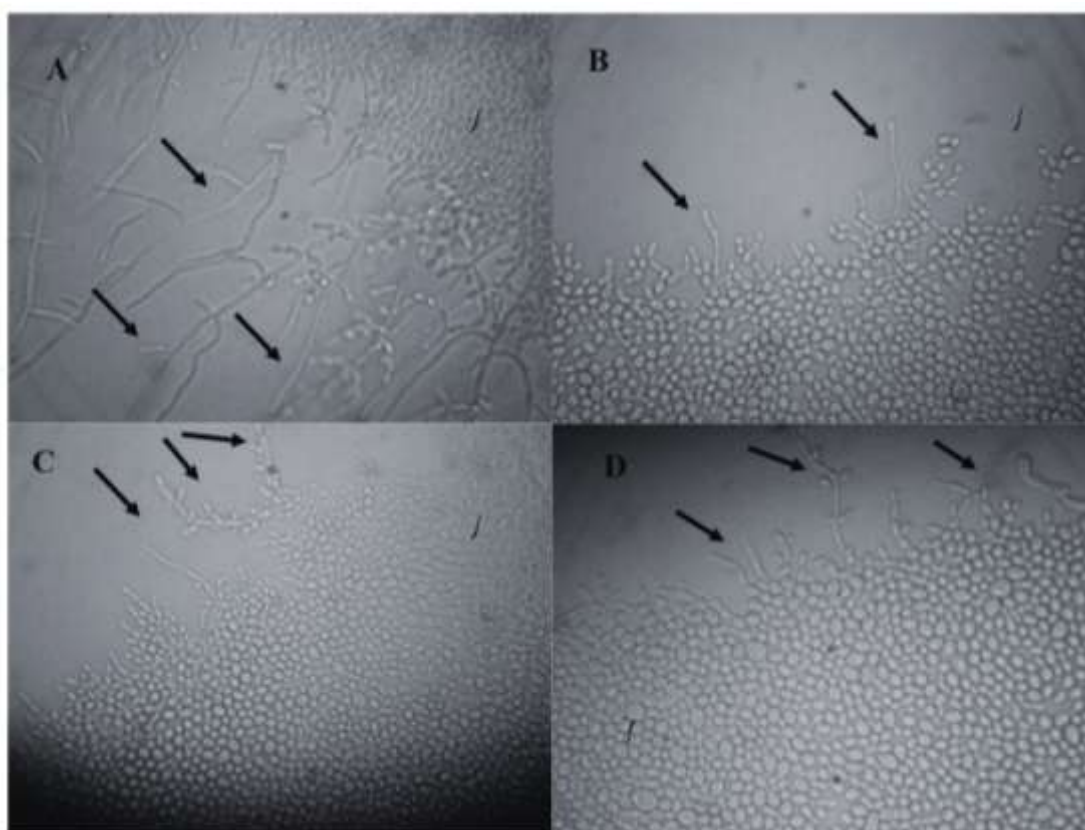


Figura 2. Avaliação do efeito inibitório progressivo do óleo essencial de *Eupatorium intermedium* (OEEI) na transição morfológica de *Candida albicans* INCQS 40006. As setas indicam a formação de hifas. **A** - Controle negativo, **B** - Fluconazol (CM/16), **C** - OEEI CM/16, **D** - OEEI CM/4, sendo CM a Concentração Matriz (8192 µg/mL); INCQS: Instituto Nacional de Controle de qualidade em Saúde.

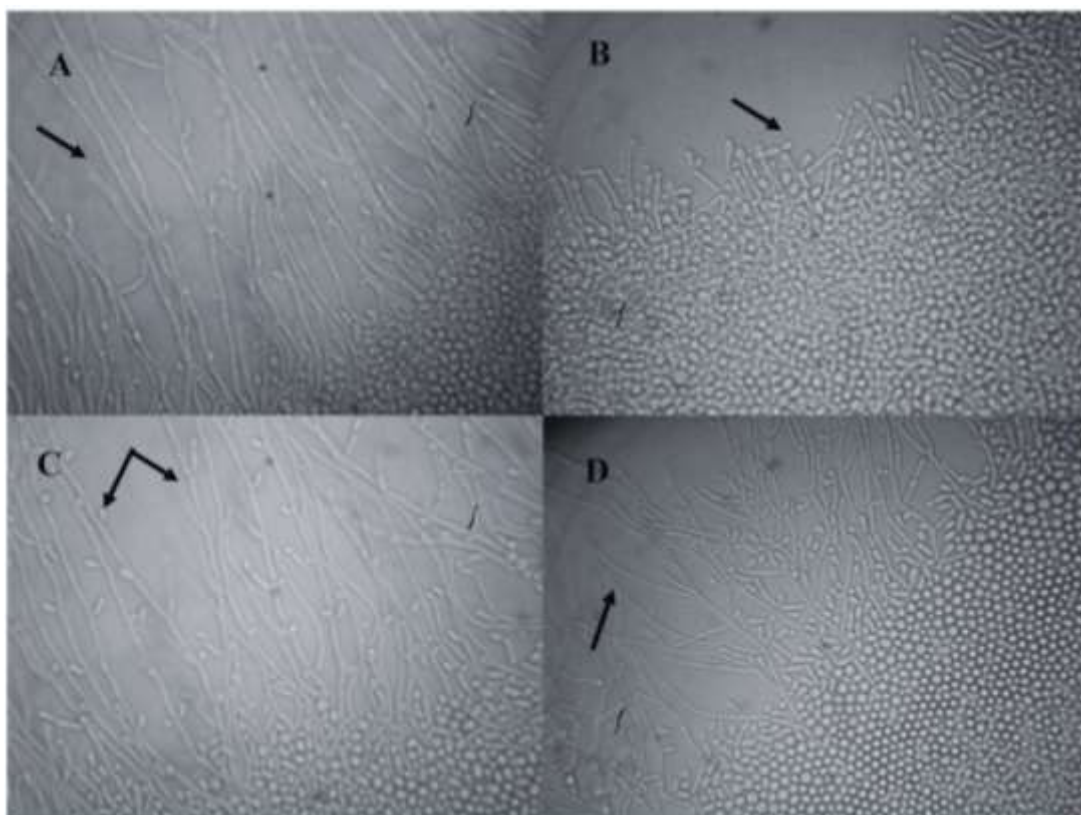


Figura 3. Avaliação do efeito inibitório progressivo do óleo essencial de *Eupatorium intermedium* (OEEI) na transição morfológica de *Candida tropicalis* INCS 40042 em transição morfológica fúngica. As setas indicam a formação de hifas. **A** - Controle negativo, **B** - Fluconazol (CM/16), **C** - OEEi CM/16, **D** - OEEi CM/4, sendo CM a Concentração Matriz (8192 µg/mL); INCQS: Instituto Nacional de Controle de qualidade em Saúde.

DISCUSSÃO

No presente estudo foram realizados testes para avaliar a ação do óleo essencial de *Eupatorium intermedium* DC (OEEI) contra cepas fúngicas de *C. albicans* e *C. tropicalis*, tanto de forma isolada como em combinação com o medicamento Fluconazol.

No que se refere a ensaios antifúngicos realizados com espécies do gênero *Eupatorium*, há resultados na literatura que indicam que as espécies deste gênero

apresentam atividade antifúngica contra uma variedade de fungos, incluindo fungos filamentosos, dermatófitos e leveduras²⁶. Quanto às avaliações realizadas a partir da utilização de óleos essenciais de espécies deste gênero, não há muitos registros nas bases científicas sobre este tipo de ensaio, sendo relatada a ação contra fungos dos gêneros de *Trichophyton* e *Microsporum*, onde foram observadas sensibilidade e inibição de crescimento²⁷. Isso sugere que as espécies de *Eupatorium* têm o potencial de serem fontes valiosas de compostos com atividade antifúngica, o que é relevante para o desenvolvimento de novas terapias.

Os dados da literatura indicam também que a composição química do óleo essencial das inflorescências de *E. intermedium* foi previamente determinada em estudos anteriores, tendo como resultados uma predominância de monoterpenos como α -Pineno, β -Pineno, Limoneno e Sabineno. Em relação aos sesquiterpenos foram encontrados os compostos: β -cariofileno, germacreno D, espatulenol, biciclogermacreno e óxido de cariofileno¹⁷. Estudos da sua composição química realizados recentemente, reafirmam esses achados, tanto para o óleo obtido nas inflorescências quanto para as folhas desta espécie¹⁶.

β -Pineno e α -Pineno, apresentam uma ampla gama de atividades biológicas, com destaque para as atividades antifúngica, antibacteriana e anti-inflamatória¹⁹. Outro composto citado no óleo em estudo, é o Limoneno, que é um solvente com atividades antibacteriana e antifúngica já relatadas^{28, 29}. O Sabineno apresenta ação analgésica, anti-inflamatória e antifúngica³⁰, já o Epatulenol exibe uma considerável atividade antifúngica¹⁹.

O óxido de Cariofileno é um composto que apresenta ação inseticida, antimicrobiana, antifúngica, analgésica e antiparasitária³¹. Em um estudo utilizando o óleo essencial de *Eupatorium fortunei*, tanto o óleo essencial, quanto o β -cariofileno isolado se mostraram efetivos contra espécies fúngicas³².

Contra fungos e bactérias, os óleos essenciais causam alterações em funções relevantes para a sobrevivência microbiana³³. A interação dos componentes do óleo essencial com os alvos moleculares presentes nesses organismos é capaz de desencadear alterações na permeabilidade da membrana plasmática ou causar a

inibição da formação da parede celular fúngica³³. Isso permite deduzir que a baixa atividade apresentada por OEEI contra cepas fúngicas se justifica pela ocorrência de interações insuficientes entre os componentes do óleo e as estruturas alvo, em decorrência de uma possível baixa concentração de componentes químicos com ação antifúngica que estão contidos no óleo.

Foi verificado que OEEI provocou uma potencialização do fármaco fluconazol. Esse resultado pode estar relacionado a composição qualitativa e quantitativa de compostos químicos do óleo essencial. Tais resultados estão de acordo com os observados em outro estudo, onde também foi utilizada uma espécie do gênero *Eupatorium*, e cujos resultados da atividade combinada utilizando o óleo essencial das folhas de *E. fortunei*, também se mostraram promissores³². Associações desse tipo podem ser uma alternativa na luta contra o aumento da resistência de micro-organismos aos fármacos de uso clínico.

Os óleos essenciais têm se mostrado importantes inibidores da transição morfológica fúngica de *Candida* ssp., atuando, dessa forma, como um importante inibidor da virulência. Usando a mesma metodologia adotada na presente pesquisa, um outro estudo verificou que os óleos essenciais das folhas de *Piper diospyrifolium* e de *Piper mikanianum* obtiveram uma potente inibição do pleomorfismo para as espécies de *C. albicans* e *C. tropicalis*²⁴. Dessa forma, apesar de OEEI não ter se mostrado capaz de inibir totalmente a transição morfológica nas cepas testadas neste estudo, a capacidade de reduzir a proliferação de hifas e pseudo-hifas é um fator importante para redução da virulência dos patógenos oportunistas.

Na análise da concentração fungicida mínima (CFM) foi verificada uma ação fungistática para ambas as linhagens de *Candida* testadas. Este efeito de inibição de crescimento foi observado em outras espécies do gênero *Eupatorium*, sendo comprovado em outros testes realizados contra fungos dermatófitos (*Trichophyton* e *Microsporum*) que demonstraram a inibição de crescimento das cepas fúngicas^{26, 27}.

Tendo em vista que o não desenvolvimento de novas células leveduriformes, provocada por um composto fungistático proporciona ao sistema imune da vítima melhores condições para se encarregar da eliminação da infecção³⁴, tal característica

pode se mostrar útil na prevenção de eventuais infecções bacterianas oportunistas provocada pela ausência súbita de células fúngicas concorrentes.

É importante destacar que *E. intermedium* trata-se de uma espécie ainda pouco estudada no que diz respeito a atividades antimicrobianas. Os dados disponíveis na literatura científica tratam apenas para a ação antibacteriana do seu óleo essencial, não sendo analisado o seu efeito sobre cepas de fungos do gênero *Candida* em trabalhos anteriores. Portanto, os resultados apresentados neste trabalho tratam-se de dados inéditos por ser o primeiro a relatar a ação dessa espécie vegetal contra cepas fúngicas desse gênero.

Com o crescente número de pessoas imuno debilitadas, condição esta que é um dos principais fatores de risco para infecções oportunistas, principalmente as do gênero *Candida*, os estudos sobre fungos oportunistas devem ser uma pauta importante no cenário mundial de saúde. Desta forma, encontrar novas formulações antifúngicas tem se mostrado algo imprescindível, de maneira que os resultados obtidos nesta pesquisa servem de contribuição para o desenvolvimento de novas terapias antifúngicas.

CONCLUSÕES

Na avaliação da atividade antifúngica, foi observada potencialização de efeito quando OEEI foi associado com o antifúngico fluconazol. O óleo em si não demonstrou atividade fungicida nas concentrações analisadas. No entanto, ele exerceu um papel de inibição na transição morfológica, que é um fator de virulência importante em fungos de *Candida albicans*. Esses resultados indicam que o óleo de *E. intermedium* pode ser eficaz na interferência da capacidade de transição morfológica desses fungos, o que é relevante na patogênese das infecções causadas por *Candida*.

REFERÊNCIAS

1. Jamshidi-Kia F, Lorigooini Z, Amini-Khoei H. Medicinal plants: Past history and future perspective. J. Herbmed. Pharmacol. 2018;7(1):1-7.
<https://doi.org/10.15171/jhp.2018.01>
2. Simões CMO, Schenkel EP, de Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. vol. 1, Porto Alegre: Artmed Editora; 2017.
3. Reichling J. Plant–microbe interactions and secondary metabolites with antibacterial, antifungal and antiviral properties. Ann. Plant. Rev. online. 2018;39:214-347.
<https://doi.org/10.1002/9781119312994.apr0420>
4. Morais-Braga MFB, Fonseca VJA, Carneiro JNP, dos Santos ATL, de Freitas MA, dos Santos AG, et al. *Piper tuberculatum* Jacq. Essential oil and its impact on the control of *Candida* spp. and *Pichia kudriavzevii*: increased efficacy of fluconazole and inhibition of virulence. J Ethnopharmacol. 2025;120840. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2025.120840>
5. Fonseca VJA, Braga AL, de Almeida RS, da Silva TG, da Silva JCP, de Lima LF, et al. Lectins ConA and ConM extracted from *Canavalia ensiformis* (L.) DC and *Canavalia rosea* (Sw.) DC inhibit planktonic *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. Arch Microbiol. 2022;204(6):346. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-02959-x>
6. Silva FDS, Silva LED, Amaral WD, Lima LFD, Souza ARSD, Confortin C, et al. Chemical composition and antifungal evaluation of essential oil from fresh leaves of *Myrcia spectabilis* DC against *Candida* spp. and *Pichia kudriavzevii*. Chem Biodivers. 2026;23(6):e71374. <https://doi.org/10.1002/cbdv.71374>
7. Farias NS, Souza-Salgado LD, de Barros FB, Oliveira MAN D, Macedo MJF, Souza FDS, et al. Antifungal efficacy against *Candida* spp. Strains and synthesis via Heck–Matsuda

arylation of aryl-camphene-type derivatives. ACS Omega. 2026;11(12):18939-51.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.5c11226>

8. Gulati M, Nobile, CJ. *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. Microbes. Infect. 2016;18(5):310-321.
<https://doi.org/10.1016/j.micinf.2016.01.002>

9. Czechowicz P, Nowicka J, Gościński G. Virulence factors of *Candida* spp. and host immune response important in the pathogenesis of vulvovaginal candidiasis. Int. J. Mol. Sci. 2022;23(11):5895. <https://doi.org/10.3390/ijms23115895>

10. Romo JA, Kumamoto CA. On commensalism of *Candida*. J. Fungi. 2020;6(1):16.
<https://doi.org/10.3390/jof6010016>

11. Badiie P, Badali H, Boekhout T, Diba K, Moghadam AG, Nasab AH, et al. Antifungal susceptibility testing of *Candida* species isolated from the immunocompromised patients admitted to ten university hospitals in Iran: comparison of colonizing and infecting isolates. BMC Infect. Dis. 2017;7(1):727. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2825-7>

12. Prasad P, Tippana M. Morphogenic plasticity: The pathogenic attribute of *Candida albicans*. Curr. Genet. 2023;69(2-3):77-89.
<https://doi.org/10.1007/s00294-023-01263-5>

13. Pristov KE, Ghannoum MA. Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. Clin. Microbiol. Infect. 2019;25(7):792-798.
<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.028>

14. Mishra, KK, Chanchal DK, Anil KS, Rajnikant P, Pankaj K, Saraswati P, et al. Medicinal Plants Having Antifungal Properties. In: Bassam H, organizer. Medicinal Plants-Use in

Prevention and Treatment of Diseases. IntechOpen; 2020.
<http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.90674>

15. Rolnik A, Olas B. The plants of the Asteraceae family as agents in the protection of human health. Int. J. Mol. Sci. 2021;22(6):3009. <https://doi.org/10.3390/ijms22063009>

16. Oliveira C, Confortin C, Amaral W, Moritz AHL, Alberton MD, Silva LE. *Eupatorium intermedium*: Chemical Characterization and Biological Activity. JROPC. 2023;1(2):65-72. <https://doi.org/10.58985/jeopc.2023.v01i02.10>

17. Czaikoski K, Mesomo MC, Scheer AP, Santa ORD, Queiroga CL, Corazza ML. Composition and biological activity of *Eupatorium intermedium* flower extracts obtained from scCO₂ and compressed propane. J. Supercrit. Fluids. 2015;97:145–153.
<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.10.008>

18. Czaikoski K, Mesomo MC, Scheer ADP, Queiroga CL, Deschamps C, Corazza ML, et al. Chemical composition and biological activity of *Eupatorium intermedium* essential oil. J Essent Oil Res. 2017;29(1):93-100. <https://doi.org/10.1080/10412905.2016.1191382>.

19. Cascaes MM, da Silva SHM, de Oliveira MS, Cruz JN, de Moraes ÂAB, do Nascimento LD, et al. Exploring the chemical composition, in vitro and in silico study of the anticandidal properties of annonaceae species essential oils from the Amazon. PLoS One. 2023;18(8):e0289991. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0289991>

20. CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard-fourth edition. CLSI document M27- A4. Wayne, PA. 2017.

21 Liu J, Zhang H, Zhang L, Li T, Liu N, Liu Q. Effect of various concentrations of common organic solvents on the growth and proliferation ability of *Candida glabrata* and their

permissible limits for addition in drug susceptibility testing. PeerJ. 2023;(11):e16444.

<https://doi.org/10.7717/peerj.16444>

22. Morais-Braga MFB, Sales DL, Carneiro JNP, Machado AJT, Santos ATL, Freitas MA, et al. *Psidium guajava* L. and *Psidium brownianum* Mart ex DC.: chemical composition and anti-candida effect in association with fluconazole, Microb. Pathog. 2016;95:200–207.

<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.04.013>

23. Coutinho HDM, Costa JGM, Lima EO, Falcão-Silva VS, Siqueira-Júnior JP. Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. Chemotherapy. 2008;54(4):328–330.

<https://doi.org/10.1159/000151267>

24. Morais-Braga MFB, Carneiro JN, Machado AJ, Sales DL, Brito DI, Albuquerque RS, et al. High-performance liquid chromatography-diode array detector, fungistatic, and anti-morphogenical analysis of extracts from *Psidium brownianum* Mart. DC. against yeasts of the genus *Candida*. Int.J. Food. Prop. 2016;19(8):1837-1851.

<https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1079786>

25. Houghton PJ, Howes MJ, Lee CC, Steventon G. Uses and abuses of in vitro tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. J. Ethnopharmacol. 2007; 110(3): 391-400.

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.01.032>

26. Sobrinho ACN, Souza EB, Rocha MFAG, Albuquerque MRJR, Bandeira PN, Santos HES, et al. Cytotoxicity, antifungal and antioxidant activities of the essential oil from *Eupatorium ballotifolium* Kunth (Asteraceae). Afr. J. Pharmacy Pharmacol. 2016;10:346-

355. <http://dx.doi.org/10.5897/AJPP2016.4537>

27. Sobrinho ACN, Morais SM, Souza EB, Fontenelle ROS. The genus *Eupatorium* L. (Asteraceae): A review of their antimicrobial activity. Journal of medicinal plant research. 2017;11(3):43-57. <https://doi.org/10.5897/JMPR2016.6313>
28. Leite-Andrade MC, de Araújo Neto LN, Buonafina-Paz MDS, dos Santos FAG, Alves AIS, de Castro MCAB, et al. Antifungal effect and inhibition of the virulence mechanism of D-limonene against *Candida parapsilosis*. Molecules, 2022;27(24):8884. <https://doi.org/10.3390/molecules27248884>
29. Yu H, Lin ZX, Xiang WL, Huang M, Tang J, Lu Y, et al. Antifungal activity and mechanism of D-limonene against foodborne opportunistic pathogen *Candida tropicalis*. Lwt. 2022;159:113144. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113144>
30. Guerrero A, Guerrero, E, Cartuche L, Cumbicus N, Morocho V. Chemical Profiling of *Hedyosmum cumbalense* and *Hedyosmum spectabile* (Chloranthaceae) Essential Oils, and Their Antimicrobial, Antioxidant, and Anticholinesterase Properties. Plants. 2022;12(1):39. <https://doi.org/10.3390/plants12010039>
31. Delgado C, Mendez-Callejas G, Celis C. Caryophyllene oxide, the active compound isolated from leaves of *Hymenaea courbaril* L.(Fabaceae) with antiproliferative and apoptotic effects on PC-3 androgen-independent prostate cancer cell line. Molecules. 2021;26(20):6142. <https://doi.org/10.3390/molecules26206142>
32. Li QQ, Huo YY, Chen CJ, Zeng ZY, Xu FR, Cheng YX, et al. (2020). Biological activities of two essential oils from *Pogostemon cablin* and *Eupatorium fortunei* and their major components against fungi isolated from *Panax notoginseng*. Chem. Biodivers. 2020;17(12):e2000520. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202000520>

33. de Sousa DP, Damasceno ROS, Amorati R, Elshabrawy HA, de Castro RD, Bezerra DP, Nunes VRV, Gomes RC, Lima TC. Essential Oils: Chemistry and Pharmacological Activities. *Biomolecules*. 2023;13(7):1144. <https://doi.org/10.3390/biom13071144>.

34. Jeffery-Smith A, Taori SK, Schelenz S, Jeffery K, Johnson EM, Borman A, et al. *Candida auris*: a review of the literature. *Clin. Microbiol. Rev.* 2018;31(1):10-1128. <https://doi.org/10.1128/cmr.00029-17>

Autor Correspondente: Francisco Bernardo de Barros

E-mail: bernardobarros1989@gmail.com

Recebido em: 2026-13-07

Aprovado: 2026-22-07