



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE ODONTOLOGIA

MIRTES MARIA FERREIRA CORRÊA

**CARACTERIZAÇÃO DA FRAÇÃO N-BUTANÓLICA DE *TERMINALIA*
CATAPPA LINN E ANÁLISE DA SUSCEPTIBILIDADE DA *CANDIDA*
*ALBICANS***

SÃO LUÍS-MA
2023

MIRTES MARIA FERREIRA CORRÊA

**CARACTERIZAÇÃO DA FRAÇÃO N-BUTANÓLICA DE *TERMINALIA CATAPPA*
LINN E ANÁLISE DA SUSCEPTIBILIDADE DA *CANDIDA ALBICANS***

Trabalho de conclusão de curso a ser apresentado ao Curso de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do grau de Cirurgiã-Dentista.

Orientadora: Profa. Dra. Leticia Machado Gonçalves
Soares

SÃO LUÍS – MA
2023

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Corrêa, Mirtes Maria Ferreira.

Caracterização da fração n-butanólica de Terminalia catappa Linn e análise da susceptibilidade da Candida albicans / Mirtes Maria Ferreira Corrêa. - 2023.

38 f.

Orientador(a): Leticia Machado Gonçalves Soares.

Curso de Odontologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2023.

1. Biofilmes. 2. Candida albicans. 3. Terminalia. I. Soares, Leticia Machado Gonçalves. II. Título.

CORRÊA, MMF. **CARACTERIZAÇÃO DA FRAÇÃO N-BUTANÓLICA DE *TERMINALIA CATAPPA LINN* E ANÁLISE DA SUSCEPTIBILIDADE DA *CANDIDA ALBICANS***. Trabalho de Conclusão de Curso a ser apresentado ao Curso de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão, como pré-requisito para obtenção do grau de Cirurgiã-Dentista.

Monografia apresentada em: ___ / ___ / ___

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Leticia Machado Gonçalves Soares
(Orientadora)

Profa. Dra. Silvia Carneiro de Lucena Ferreira
(Titular)

Profa. Dra. Cadidja Dayane Sousa do Carmo
(Titular)

Prof. Dr. Márcio Antônio Rodrigues Araújo
(Suplente)

DEDICATÓRIA

A conquista real de um objetivo se inicia na capacidade que temos de sonhar. Ao longo desses 5 anos de graduação pude perceber em cada detalhe que os planos divinos são precisos e mais altos que os meus. Dedico este trabalho à Deus e Nossa Senhora por me permitirem viver essa missão e por sempre estarem à frente de tudo. Dedico este trabalho aos meus pais, Rejane Soares e Luís Alberto, meus pilares, por sempre acreditarem no meu potencial e por fazerem dos meus sonhos seus próprios objetivos e dos meus objetivos sua própria luta. Dedico este trabalho também ao meu namorado Caio Pezzino, que foi minha dupla e essencial companheiro em todo período de graduação. À Alaska e Nina, por serem meus amores de quatro patas e tornarem a rotina mais leve e engraçada.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho se deve ao longo caminho no qual nunca estive sozinha. Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, Nossa Senhora de Fátima e São José de Ribamar, por todo amparo e bênçãos em minha trajetória de vida e jornada acadêmica. Agradeço por abençoarem minhas mãos antes de cada atendimento, acalmarem meu coração antes de qualquer obstáculo, e por me permitirem viver essa missão que é atuar na área da saúde.

Meus mais sinceros agradecimentos aos meus maiores apoiadores e amores da minha vida, meus pais, Rejane Soares e Luís Alberto. A força serena indiscutível de minha mãe, meu girassol que sempre me impulsionou a sonhar cada vez mais alto, realizar com os pés no chão e aprender sempre algo de novo, seja um idioma, um instrumento ou um curso, pois segundo ela eu precisaria (e eu precisei, minha mãe), ela sempre pensa em tudo, não sei o que seria de mim sem ela. O brilho incentivador dos olhos de meu pai, meu grande herói sempre me encorajou a acreditar que o conhecimento e a educação me levariam a voos aparentemente impossíveis, cuidando para que meus sonhos se realizassem e me mostrando com sua sensibilidade de outro mundo, o quanto é possível sermos pessoas essencialmente boas. Vocês são minha maior sorte. Eu amo vocês.

Minha eterna gratidão aos meus avós, Maria José Soares Ferreira (*in memoriam*), Mirtes Santos Corrêa (*in memoriam*) e Luís Carlos Martins Corrêa (*in memoriam*), pois por muitas vezes pude senti-los intercedendo por mim. Ao meu avô Sebastião da Silva Ferreira, por sempre vibrar por minhas vitórias. À minha tia avó Rosa Laura Soares por todo carinho e apoio.

Ao meu grande companheiro de vida e de curso, Caio Pezzino e sua família. Obrigada por sempre estar presente e por viver cada emoção, conquista e sonhos ao meu lado. Sou infinitamente grata por ter tido seu apoio durante toda essa trajetória. Sonhamos com a nossa aprovação, passamos juntos, e assim permanecemos. Cada memória construída fez parte da

profissional que me tornarei, cada sorriso e cada choro não teriam sido os mesmos sem a sua presença. Obrigada por tudo, amo você.

À minha tia e madrinha de Crisma Idalia Soares por me incentivar e torcer por mim desde a infância, por ter estado presente em todas as minhas fases, aconselhando e trazendo alegria e aconchego aos meus dias. Nunca esquecerei nossas idas às aulas de ballet, nossos almoços na correria, suas aulas de matemática e seu constante incentivo à minha educação. Nunca esquecerei o que fizestes por mim (essa conquista também é sua).

À minha prima e irmã Maria Clara Soares, por ser uma grande incentivadora da minha jornada, sem ela a conclusão deste trabalho literalmente não seria possível. Agradeço imensamente por ter me emprestado, em tempo integral, o notebook nessa fase tão decisiva pra mim, agradeço por ter me escutado tantas vezes e por nunca ter deixado eu duvidar que tudo daria certo.

Ao meu grande amigo Felipe Gomes, por nunca medir esforços para ajudar, por sempre ter uma palavra de conforto e por sempre me lembrar que tudo é possível quando queremos que seja. Aos meus amigos que se tornaram irmãos, o meu “squad” Carla Matos, Pedro Paulo, Rebecca Mendonça e Rebeca Raposo por todas as dores divididas, risadas compartilhadas, saibam que vocês foram essenciais para a caminhada ser mais leve, sou grata por termos sido suportes uns dos outros. Aos meus amigos que levarei para a vida Amanda Almeida, Ana Beatriz Duarte, Handerson Carvalho, Israel Monteiro, Joana D’arc e Samira Fonseca, vocês foram fundamentais para que tudo permanecesse nos trilhos, obrigada pelo apoio, amizade e por terem me escolhido assim como escolhi vocês.

Minha imensa gratidão à minha orientadora professora Dra. Leticia Gonçalves, por me permitir vivenciar a pesquisa e aprender sobre assuntos que eu não teria acesso durante a graduação graças à Iniciação Científica, agradeço pela vivência com a Harmonização Orofacial e por termos feito um laço que levarei para toda a vida.

Meus agradecimentos à Professora Dra. Rosana Casanovas, minha orientadora da Iniciação Científica (FAPEMA), por ter acreditado no meu potencial e na minha capacidade e no desenvolvimento de muitos projetos quando até eu mesmo duvidei que conseguiria.

Grandes instituições são compostas de grandes mestres. Agradeço pela oportunidade de ter aprendido com profissionais que transcendem o conhecimento, que realizam ofício da docência com humanidade e vocação. Meus mais sinceros agradecimentos às professoras Luana Cantanhede, pela excelência e amizade; Suellen Linares, por mudar completamente minha concepção sobre a endodontia; Marcela Franco, pelas conversas e conselhos nas tardes de clínica integrada; Ana Margarida por todos os ensinamentos e por sempre se fazer presente. À Manuel Nunes Júnior (Seu Juninho) por todo aprendizado e risadas no laboratório de prótese durante as minhas tardes de trabalho na pesquisa.

Às professoras titulares da banca examinadora Silvia Lucena e Cadidja do Carmo pela disponibilidade e correções essenciais para melhor aprimoramento do trabalho. Ao professor Suplente Márcio Antônio, pela avaliação e consideração positiva. Aos meus professores do ensino fundamental e médio, por terem lapidado a aluna que hoje alcança o nível superior. Professores brilhantes ensinam para uma profissão. Professores fascinantes ensinam para a vida (Augusto Cury).

“Cada pessoa deve trabalhar para o seu aperfeiçoamento e, ao mesmo tempo, participar da responsabilidade coletiva por toda a humanidade.”

Marie Curie - Primeira mulher a ganhar um prêmio Nobel

SUMÁRIO

1. RESUMO	10
2. ABSTRACT	11
3. REFERENCIAL TEÓRICO	12
3.1. <i>Candidose associada ao uso de prótese dental</i>	12
3.2. <i>Controle do biofilme nas próteses</i>	12
3.3. <i>Terminalia catappa Linn</i>	14
4. ARTIGO	17
Resumo	18
Abstract.....	19
Introdução.....	20
Materiais e métodos	22
Resultados.....	24
Discussão	26
Conclusão	29
Referências	30
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	33
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
7. ANEXOS	36
Anexo : Normas da revista	36

1. RESUMO

A busca por substâncias antifúngicas a partir de insumos naturais representam uma opção promissora para a prevenção e tratamento de infecções fúngicas, como a candidose associada ao uso de prótese dental. Dentre estas plantas, a *Terminalia catappa* Linn é amplamente utilizada na medicina tradicional por exibir atividades biológicas variadas. Estudos anteriores sugeriram que algumas frações do extrato das folhas desta planta (n-butanol) são especialmente eficazes contra bactérias e fungos, mas pouco se sabe sobre os efeitos desta fração de *T. catappa* L. nas células de *C. albicans*. Dada a escassez de informações e considerando a importância da descoberta de novos agentes para o manejo de patologias, este estudo teve como objetivo caracterizar a fração n-butanólica da *T. catappa* e avaliar a susceptibilidade de *C. albicans* a esta fração. Os constituintes químicos da FBUOH foram analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) usando um sistema LC-10AD equipado com um detector de diodos e acoplado a um espectrômetro de massas, usando ionização por electrospray. Para avaliar a susceptibilidade das células planctônicas de *C. albicans* ao FBUOH foram realizadas análises de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM). A caracterização fitoquímica foi capaz de identificar 12 componentes, dentre estes, as principais substâncias foram o ácido elágico, vitexina e rutina, estes últimos da classe dos flavonóides naturais. A análise da susceptibilidade revelou que a quantidade de FBUOH necessária para inibir o crescimento de células planctônicas de *C. albicans* foi de 250.0 µg/mL. Coincidentemente, o valor de CFM foi o mesmo necessário para a CIM. Conclui-se que a caracterização fitoquímica da fração n-butanólica da *Terminalia catappa* Linn identificou componentes com forte atividade fungicida frente às células planctônicas de *C. albicans*.

Palavras-chave: *Terminalia*, biofilme, *Candida albicans*.

2. ABSTRACT

The search for antifungal substances from natural ingredients represents a promising option for the prevention and treatment of fungal infections, such as candidiasis associated with the use of dental prostheses. Among these plants, *Terminalia catappa* Linn is widely used in traditional medicine for exhibiting varied biological activities. Previous studies have suggested that some fractions of the extract of the leaves of this plant (n-butanol) are especially effective against bacteria and fungi, but little is known about the effects of this fraction of *T. catappa* L. on *C. albicans* cells. Given the scarcity of information and considering the importance of discovering new agents for the management of pathologies, this study aimed to characterize the n-butanolic fraction of *T. catappa* and evaluate the susceptibility of *C. albicans* to this fraction. The chemical constituents of FBUOH were analyzed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) using an LC-10AD system equipped with a diode detector and coupled to a mass spectrometer using electrospray ionization. To evaluate the susceptibility of *C. albicans* planktonic cells to FBUOH, Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Fungicide Concentration (MFC) analyzes were performed. The phytochemical characterization was able to identify 12 components, among which the main substances were ellagic acid, vitexin and rutin, the latter belonging to the class of natural flavonoids. Susceptibility analysis revealed that the amount of FBUOH required to inhibit the growth of *C. albicans* planktonic cells was 250.0 $\mu\text{g/mL}$. Coincidentally, the CFM value was the same as that required for the MIC. It is concluded that the phytochemical characterization of the n-butanolic fraction of *Terminalia catappa* Linn identified components with strong fungicidal activity against planktonic cells of *C. albicans*.

Keywords: *Terminalia*, biofilm, *Candida albicans*

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. *Candidose associada ao uso de prótese dental*

As próteses dentais removíveis geralmente são confeccionadas com resina acrílica à base de poli (metil metacrilato), por suas boas qualidades estéticas, biocompatibilidade e custo-benefício (SCHMUTZLER *et al.*, 2021). Uma vez instaladas na cavidade bucal, estas próteses são expostas à saliva e à adesão de microrganismos (CONTALDO *et al.*, 2019). Caso este processo não seja interrompido por meio de higienização adequada ou por tratamento com antifúngicos, resultará no desenvolvimento de comunidades microbianas conhecidas como biofilmes, resultando na patologia conhecida como candidose associada ao uso de próteses (GAD; FOU DA, 2020).

Muitos fatores contribuem para a ocorrência da candidose, incluindo o uso de próteses mal-adaptadas, higiene bucal deficiente, bem condições sistêmicas como xerostomia ou diabetes (CONTALDO *et al.*, 2019). Apesar destes fatores predisponentes, sabe-se que o principal fator etiológico está associado à presença de fungos do gênero *Candida* spp., tendo como principal espécie envolvida em sua etiologia a *C. albicans* (GAD; FOU DA, 2020). Do ponto de vista sistêmico, os microrganismos encontrados no biofilme das próteses podem ser deglutidos ou aspirados, e levar ao desenvolvimento de infecções sistêmicas, tais como a pneumonia aspirativa (ZHANG *et al.*, 2022). Diante deste contexto, destaca-se a importância do adequado controle dos biofilmes formados na superfície das próteses, não somente para saúde bucal, mas também para saúde geral de seus usuários.

3.2. *Controle do biofilme nas próteses*

Para prevenção, bem como para tratamento da candidose, diversos métodos para controle dos biofilmes das próteses podem ser realizados (DUYCK *et al.* 2016). O método mais popular é a escovação mecânica com dentifrício, sendo de fácil acesso e baixo custo (TAN *et al.* 2014; DUYCK *et al.* 2016). Deve-se realizar o procedimento de higienização com escovas próprias de próteses dentárias ou com escovas convencionais e sabão neutro ou dentifrício (LUCENA-FERREIRA *et al.* 2013; MELO; GUERRA 2014). Contudo, a falta de destreza manual e/ou acuidade visual de muitos pacientes idosos, e a falta de orientação adequada sobre o processo de higienização por parte do cirurgião-dentista configuram restrições a esse método (TAN *et al.* 2014; DUYCK *et al.* 2016).

Em situações em que o método mecânico não for suficiente para o adequado controle, a imersão das próteses em soluções desinfetantes ou limpadores químicos tem sido sugerido como um importante método auxiliar (LUCENA-FERREIRA *et al.* 2013; GANTAIT *et al.* 2016). O uso destas soluções químicas é muito útil para complementar a higienização, pois a prótese possui poros em sua superfície e, em algumas situações, as cerdas da escova não conseguem acessar e limpar adequadamente estes poros (PARANHOS *et al.* 2013).

Dentre as soluções desinfetantes, o hipoclorito de sódio é amplamente empregado, por ser capaz de atuar diretamente sobre a matriz do biofilme, sendo capaz de realizar uma limpeza eficiente (DE SOUSA *et al.* 2015; SOUSA-PORTA *et al.* 2013; ARRUDA *et al.* 2018). Embora os resultados sejam promissores, apresenta desvantagens, tais como sabor e odor desagradáveis, além de alteração da resistência e cor da resina acrílica quando usada em regime prolongado (SOUSA-PORTA *et al.* 2013; SALLOUM *et al.* 2014). Além disso, pode promover corrosão de ligas metálicas, contraindicando seu uso para higienização de próteses parciais removíveis (FREDDI, 2020).

Os limpadores químicos são substâncias disponíveis comercialmente, cuja ação de limpeza ocorre inicialmente pelo efeito mecânico exercido pela efervescência produzida

quando o produto é dissolvido na água, resultando em uma solução alcalina de peróxido de hidrogênio (RAJENDRAN *et al.*, 2022). Vários estudos já investigaram o efeito de diferentes limpadores químicos em biofilmes formados na superfície de próteses (SALLOUM *et al.*, 2014; FREDDI, 2020; GRUENDER, 2021), no entanto, observa-se que este método ainda é falho na remoção de biofilmes de *C. albicans* (RAJENDRAN *et al.*, 2022).

Em situações que a candidose torna-se uma infecção recorrente, tem-se recomendado a prescrição de antifúngicos, como a nistatina e fluconazol (BUENO *et al.*, 2015). Entretanto, deve-se intensificar o cuidado com relação à prescrição desses medicamentos, pois o uso indiscriminado pode influenciar na resistência fúngica da *C. albicans* (MADEIRA *et al.* 2016).

Nota-se que as limitações provenientes do controle químico/mecânico dos biofilmes, a possibilidade de resistência antifúngica, têm implicações importantes no insucesso do tratamento da candidose associada ao uso de próteses. Dessa forma, a busca por substâncias antifúngicas a partir de fontes alternativas se tornou uma tendência na literatura médico-odontológica.

3.3. *Terminalia catappa* Linn.

Considerando que a maioria dos agentes antifúngicos existentes no mercado é de origem sintética, o interesse por insumos naturais voltou a receber a atenção dos cientistas na busca de princípios ativos para a formulação de produtos inovadores, eficazes e de baixa toxicidade no controle das infecções fúngicas (ANTUNES *et al.*, 2023). Diminuir custos no tratamento das infecções e favorecer a população com novas opções de terapia consiste em um grande desafio para a ciência.

Dentre os insumos naturais, as plantas utilizadas na medicina popular representam uma opção promissora para a prevenção e tratamento de infecções fúngicas (SHUI *et al.*, 2021).

Dentre estas plantas, cita-se a *Terminalia catappa* Linn, planta amplamente utilizada na medicina tradicional em todo o mundo (CHANG *et al.* 2019). A *Terminalia catappa* Linn é uma grande árvore que cresce em climas subtropicais e tropicais, sendo plantada nos trópicos. O nome genérico se origina do latim “terminalis”, referindo-se às folhas abundantes nas extremidades dos brotos. É uma planta nativa do Sudeste Asiático, cultivada para fins ornamentais e suas nozes são comestíveis (ANAND *et al.* 2015). Em São Paulo, é conhecida como “Chapéu de Sol”, no Rio de Janeiro é chamada de “Amendoeira”, tendo outras terminologias nas demais regiões brasileiras, como “Noz da praia”, “Sete Copas” e “Amendoeira-brava” (VIEIRA; DO NASCIMENTO, 2023).

Esta planta tem sido investigada como possibilidade medicinal em vários estudos farmacêuticos, pois contém uma variedade de componentes químicos que destacam atividades biológicas (TERÇAS *et al.* 2017) (Quadro 1).

Quadro 1 - Atividades biológicas da *Terminalia catappa* Linn descritas na literatura

Atividade Biológica	Componente Químico	Referência
Antioxidante	Punicalagina, punicalina, terfluvina A e B, ácido quebólico, ácido benzóico e seus derivados	Anand et al., 2015
Antidiabético	γ-caroteno	Anand et al., 2015
Anticancerígeno	Punicalagina	Naitik et al., 2012
Antiviral	Ácido elágico	Amalraj & Gopi, 2017
Antiinflamatório	Ácidos triterpênicos, especialmente ácido ursólico e seus derivados	Coulibaly et al., 2014

Antimicrobiano	Flavonas e flavanóis	Shinde et al., 2009
Atividades Hepatoprotetoras	Punicalagina e punicalina	Kinoshita et al., 2007

FONTE: A autoria própria

O extrato de folhas de *T. catappa L.* exibe atividades biológicas variadas como antioxidante (ANAND et al., 2015), antiviral (AMALRAJ; GOPI, 2017), anti-inflamatória (COULIBALY et al., 2014) e antimicrobiana (SHINDE et al., 2009). Estudos anteriores sugeriram que algumas frações do extrato das folhas desta planta (n-butanol) são especialmente eficazes contra bactérias (CHANDRA et al., 2013) e funcionam como um potente antifúngico contra *Candida* spp (TERÇAS et al. 2017), mas pouco se sabe sobre os efeitos de *T. catappa L.* nas células e biofilmes de *Candida albicans* (GONÇALVES et al. 2019).

4. ARTIGO

Caracterização da fração n-butanólica de *Terminalia catappa* Linn e análise da susceptibilidade da *Candida albicans*

Characterization of the n-butanolic fraction of *Terminalia catappa* Linn and analysis of susceptibility to *Candida albicans*

Mirtes Maria Ferreira Corrêa

Universidade Federal do Maranhão -UFMA

E-mail: mirtes.mfc@discente.ufma.br

São Luís, Brasil

Letícia Machado Gonçalves

Universidade Federal do Maranhão – UFMA

E-mail: leticia.goncalves@ufma.br

São Luís, Brasil

Autor Correspondente

Letícia Machado Gonçalves

Universidade Federal do Maranhão, Avenida dos Portugueses, 1966, Vila Bacanga, São Luís - MA, 65080-805. E-mail: leticia.goncalves@ufma.br

**Artigo a ser submetido para a Revista Brazilian Journal of Health Review*

Resumo

Este estudo objetivou realizar a caracterização fitoquímica da fração n-butanólica da *Terminalia catappa* Linn (FBuOH) e avaliar a susceptibilidade de *Candida albicans* a esta fração. Os constituintes químicos da FBuOH foram analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) usando um sistema LC-10AD equipado com um detector de diodos e acoplado a um espectrômetro de massas, usando ionização por electrospray. Para avaliar a susceptibilidade das células planctônicas de *C. albicans* ao FBuTC foram realizadas análises de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM). A caracterização fitoquímica foi capaz de identificar 12 componentes, dentre estes, as principais substâncias foram o ácido elágico, vitexina e rutina, estes últimos da classe dos flavonóides naturais. A análise da susceptibilidade revelou que a quantidade de FBuOH necessária para inibir o crescimento de células planctônicas de *C. albicans* foi de 250.0 µg/mL. Coincidentemente, o valor de CFM foi o mesmo necessário para a CIM. Conclui-se que a caracterização fitoquímica da fração n-butanólica da *Terminalia catappa* Linn. identificou componentes com forte atividade fungicida frente às células planctônicas de *C. albicans*.

Palavras-chave: *Terminalia*, biofilme, *Candida albicans*

Abstract

This study aimed to carry out the phytochemical characterization of the n-butanolic fraction of *Terminalia catappa* Linn (FBuOH) and to evaluate the susceptibility of *Candida albicans* to this fraction. The chemical constituents of FBuOH were analyzed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) using an LC-10AD system equipped with a diode detector and coupled to a mass spectrometer using electrospray ionization. To evaluate the susceptibility of *C. albicans* planktonic cells to FBuOH, Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Fungicide Concentration (MFC) analyzes were performed. The phytochemical characterization was able to identify 12 components, among which the main substances were ellagic acid, vitexin and rutin, the latter belonging to the class of natural flavonoids. Susceptibility analysis revealed that the amount of FBuOH required to inhibit the growth of *C. albicans* planktonic cells was 250.0 $\mu\text{g/mL}$. Coincidentally, the CFM value was the same as that required for the MIC. It is concluded that the phytochemical characterization of the n-butanolic fraction of *Terminalia catappa* Linn identified components with strong fungicidal activity against planktonic cells of *C. albicans*.

Keywords: *Terminalia*, biofilm, *Candida albicans*

Introdução

A *Candida albicans* é o principal microrganismo envolvido na etiologia da candidose associada ao uso de próteses (MACHADO-GONÇALVES *et al.*, 2018). Este fungo é naturalmente encontrado na cavidade oral, podendo formar comunidades complexas denominadas de biofilmes, os quais podem aderir à superfície dos dentes remanescentes, mucosa circundante e superfícies acrílicas, como as próteses dentais (FREIRES *et al.*, 2016).

Este patógeno está naturalmente presente na flora da cavidade oral. A transição deste fungo, de uma condição de comensalismo, para uma situação de parasitismo pode ocorrer durante um desequilíbrio entre o hospedeiro e o fungo (MACHADO-GONÇALVES *et al.*, 2018). Este desequilíbrio está relacionado a fatores locais e/ou sistêmicos, tais como uso de próteses mal-adaptadas, higiene bucal deficiente, dieta rica em carboidratos, hipossalivação, além de desordens endócrinas e imunológicas (CONTALDO *et al.*, 2019). Diante deste contexto, destaca-se a importância do adequado controle dos biofilmes formados na superfície das próteses, não somente para saúde bucal, mas também para saúde geral de seus usuários.

Uma variedade de métodos para controle dos biofilmes pode ser realizada para prevenção, bem como para tratamento da candidose (DUYCK *et al.*, 2016). O método mais popular é a escovação mecânica com dentífrício, sendo de fácil acesso e baixo custo (TAN *et al.*, 2014; DUYCK *et al.*, 2016). No entanto, a resina acrílica apresenta poros em sua superfície e, em algumas situações, as cerdas da escova não conseguem acessar e limpar adequadamente estes poros (PARANHOS *et al.* 2013). Somado a isto, sabe-se que muitos usuários de próteses são pacientes idosos, os quais podem apresentar acuidade visual diminuída ou mesmo perda da habilidade motora, comprometendo a escovação adequada (TAN *et al.* 2014; DUYCK *et al.* 2016).

A imersão das próteses em soluções desinfetantes ou limpadores químicos tem sido sugerido como um importante método auxiliar (LUCENA-FERREIRA *et al.*, 2013; GANTAIT *et al.*, 2016). Porém, em situações que a candidose torna-se uma infecção persistente ou mesmo recorrente, tem-se preconizado a prescrição de antifúngicos (*i.e.* nistatina e fluconazol (BUENO *et al.*, 2015). No entanto, a prescrição das medicações deve ser realizada com significativa cautela, pois o uso indiscriminado pode ter sido o fator dominante para a seleção de cepas resistentes de *C. albicans* (MADEIRA *et al.*, 2016).

Percebe-se que as limitações oferecidas pelo controle químico/mecânico dos biofilmes, bem como a resistência antifúngica, têm implicações importantes no insucesso do tratamento da candidose associada ao uso de próteses. Dessa forma, a busca por substâncias antifúngicas a partir de insumos naturais representam uma opção promissora para a prevenção e tratamento de infecções fúngicas (VIEIRA *et al.*, 2014).

Dentre estas plantas, cita-se a *Terminalia catappa* Linn, planta amplamente utilizada na medicina tradicional em todo o mundo (CHANG *et al.*, 2019). O extrato de folhas de *T. catappa* L. exibe atividades biológicas variadas como antioxidante (ANAND *et al.*, 2015), antiviral (AMALRAJ; GOPI, 2017), anti-inflamatória (COULIBALY *et al.*, 2014) e antimicrobiana (SHINDE *et al.*, 2009). Estudos anteriores sugeriram que algumas frações do extrato das folhas desta planta (n-butanol) são especialmente eficazes contra bactérias (CHANDRA *et al.*, 2013) e funcionam como um potente antifúngico contra *Candida* spp (TERÇAS *et al.* 2017), mas pouco se sabe sobre os efeitos desta fração de *T. catappa* L. nas células de *C. albicans* (GONÇALVES *et al.* 2019).

Dada a escassez de informações a respeito da ação de *Terminalia catappa* Linn em cepas de *C. albicans* e considerando a importância da descoberta de novos agentes para o manejo de patologias como a candidose associada ao uso de próteses, este estudo teve como objetivo

caracterizar a fração n-butanólica da *T. catappa* e avaliar a susceptibilidade de *C. albicans* a esta fração.

Materiais e métodos

Coleta, identificação botânica e preparo da fração butanólica

As folhas de *T. catappa* Linn foram cultivadas no campo experimental da Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Maranhão, Brasil. A amostra foi coletada de Janeiro de 2022 a Maio de 2022. A exsicata foi preparada e enviada ao Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão para identificação botânica.

As folhas foram secadas separadamente em uma estufa com circulação de ar de 37°C durante 48 horas, seguidas de trituração em um moinho. O material seco e triturado (aproximadamente 200g) foi macerado com etanol 70% durante 24 horas, à temperatura ambiente. Este processo foi repetido quatro vezes, obtendo-se um extrato hidroalcoólico, o qual foi filtrado e depois concentrado utilizando rota- evaporador (MACHADO-GONÇALVES *et al.*, 2018).

O extrato hidroalcoólico bruto foi liofilizado, ressuspenso em 600 ml de MeOH/H₂O (Merck, Darmstadt, Alemanha) (80:20, v/v). As amostras foram sequencialmente submetidas à partição líquido-líquido com hexano (Merck, Darmstadt, Alemanha), seguido por acetato de etila (Merck, Darmstadt, Alemanha), então n-butanol (Merck, Darmstadt, Alemanha), resultando em três frações com polaridades diferentes: a fração hexânica (FHEX), que foi a fração menos polar; a fração de acetato de etila (FAcOEt) com polaridade intermediária; e a fração n-butanol (FBuOH), a fração mais polar (GONÇALVES *et al.*, 2019, TERÇAS *et al.*, 2017).

Caracterização fitoquímica da fração n-butanólica

Os constituintes químicos da FBUOH foram analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) usando um sistema LC-10AD (Shimadzu, Japão) equipado com um detector de díodos (DAD) e acoplado a um espectrômetro de massas Esquire 3000 Plus (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha), usando ionização por electrospray (ESI). A separação foi realizada com coluna Phenomenex Kinetex C-18 (250 × 4,6 mm, 5 µm; Torrance, CA, EUA).

O ácido fosfórico foi usado como fase móvel A e metanol como fase móvel B. O gradiente de eluição foi preparado como se segue: 5-20 min de 55 a 10% A, e depois durante 20-30 min de 10 a 0% A. O volume de injeção consistiu de 20 µL de amostra reconstituída e taxa de fluxo de 1 mL/min. A detecção foi realizada por um DAD a 470 nm e um método de espectrometria de massa direta (-ESI) com a voltagem mantida em 4,0 kV, fonte de íons de 40 V e temperatura capilar de 320 °C. Os compostos foram identificados com base no tempo de retenção e massa molecular (ZAGO *et al.*, 2019).

Testes de Suscetibilidade

Para avaliar a susceptibilidade das células planctônicas de *C. albicans* ao FBU TC foram realizadas análises de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM). Como grupo controle, foi preparada solução de Fluconazol, o qual tem sua ação bem estabelecida na literatura (FALAH-TAFTI *et al.*, 2010; SHARMA *et al.*, 2014; RAWAT *et al.*, 2017; DI STASIO *et al.*, 2018; KRISHNAMOORTHY *et al.*, 2019).

Foi utilizada uma cepa de referência de *C. albicans* (ATCC 90028). A cepa foi reativada de sua cultura original em placas de ágar Sabouraud dextrose (SDA) a 37°C, por 24 h (MADEIRA *et al.*, 2016; DI STASIO *et al.*, 2018; GONÇALVES *et al.*, 2019). Para preparo do

inóculo, colônias foram suspensas em caldo Yeast Nitrogen Base (YNB) enriquecido com 50 mM de glicose. Este conjunto foi incubado por 20 h, a 37°C e, em seguida, foi centrifugado (5000 rpm, 4°C) e lavado com solução salina. Uma alíquota de células centrifugadas foi transferida para um tubo contendo solução salina, e a turbidez deste conteúdo foi ajustada com espectrofotômetro, assegurando uma suspensão de aproximadamente 10⁷ células/mL (MADEIRA *et al.* 2016; GONÇALVES *et al.* 2018).

A CIM da FBU_{TC} foi determinada pelo método de micro diluição em caldo preconizado pelo Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI 2018). A partir da concentração inicial da FBU_{TC}, o qual foi definido em testes pilotos, foram feitas diluições seriadas em placas de 96 poços. Os poços contendo as diferentes diluições das FBU_{TC}, controles (positivos e negativos) e o inóculo foram incubados a 37°C por 48 h. A leitura do teste foi por comparação visual e o CIM correspondeu à menor concentração da FBU_{TC} que impediu o crescimento visível das células planctônicas.

Cada concentração do teste anterior que não apresentou crescimento visível foi inoculada em placa de SDA. Após 24 h de incubação a 37°C, as leituras das CFMs foram realizadas com base no crescimento dos controles, sendo considerada CFM, a menor concentração da FBU_{TC} que impediu o crescimento fúngico ($\geq 99.9\%$.)

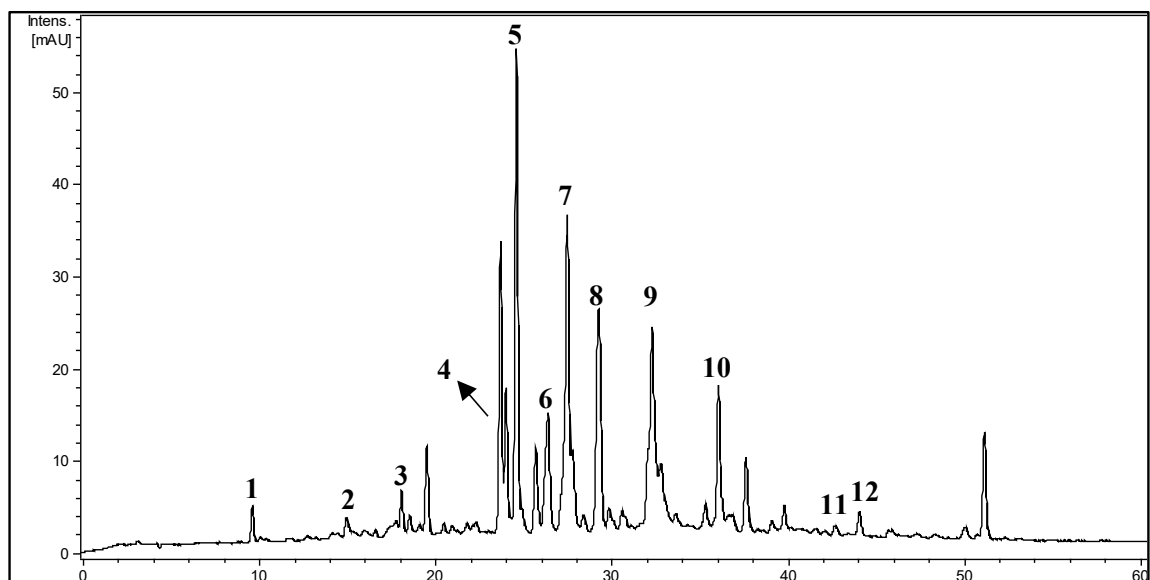
Resultados

Caracterização fitoquímica da fração n-butanólica

Considerando a caracterização fitoquímica por CLAE, a análise foi realizada para determinar as massas moleculares dos íons detectados e identificar os componentes presentes no FBU_{OH}. Pode-se observar no cromatograma a resposta do detector em função do tempo de

eluição, sendo identificados 12 picos, cada pico correspondente a saída de um componente químico encontrado (Figura 1). Os componentes químicos estão descritos na Tabela 1.

Figura 1 - Cromatograma de Íon Total da Fração n-butanólica de *Terminalia Catappa* Linn adquirido por LC-ESI-IT/MS



Fonte: Autoria própria

Tabela 1 - Composição Química da Fração n-butanólica de *Terminalia catappa* Linn

	[M-H] ⁻	MS ⁿ fragments	Compound
1	331	169; 125	1-O-galloyl- glucose (ácido gálico)
2	633	303	Galloyl-HHDP-hexoside (fenol glicosilado)
3	533	443	Guaiacyl(8-5)ferulic acid hexoside (fenol glicosilado)
4	615	463; 301	Dehydro-galloyl-HHDP-hexoside (fenol glicosilado)
5	447	301	Ellagic acid-deoxyhexoside (tanino)

6	483	331; 169	Digalloyl-hexoside
7	431	287	Vitexin (flavonóide)
8	609	447; 301	Rutin (flavonóide)
9	301	433; 301	Ellagic Acid (fenol glicosilado)
10	303	151	Taxifolin (flavonóide)
11	521	344	Cyclolariciresinol hexoside (fenol glicosilado)
12	433	301	Ellagic acid-pentoside (fenol glicosilado)

Fonte: Autoria própria

Testes de suscetibilidade

A análise revelou que a quantidade de FBUOH necessária para inibir o crescimento de células planctônicas de *C. albicans* foi de 250.0 µg/mL. Coincidentemente, o valor de CFM foi o mesmo necessário para a CIM. Dessa forma, a relação CFM:CIM demonstrou que a FBUOH é considerada fungicida contra *C. albicans*, uma vez que os extratos são fungicidas quando a relação CFM:CIM está entre 1:1 a 2:1, conforme proposto anteriormente (GONÇALVES *et al.*, 2019). Os valores de CIM e CFM para fluconazol utilizado como grupo controle foram 0.5 µg/mL e > 64 µg/mL, respectivamente.

Discussão

T. catappa L. é uma planta amplamente utilizadas na medicina tradicional em todo o mundo (CHANG *et al.*, 2019), exibindo atividades biológicas variadas como antioxidante (ANAND *et al.*, 2015), antiviral (AMALRAJ; GOPI, 2017), anti-inflamatória (COULIBALY

et al., 2014) e antimicrobiana (SHINDE *et al.*, 2009). No entanto, estudos sobre as propriedades antifúngicas desta planta são escassos e pouco se sabe sobre a atividade antifúngica de frações específicas obtidas a partir de suas folhas. Neste estudo, foram apresentadas evidências importantes sobre o potencial antifúngico da fração n-butanólica da *T. catappa L.* para as células planctônicas de *C. albicans*.

A caracterização por HPLC da FBUOH foi capaz de identificar 12 componentes químicos. Dentre estes, a principal substância de saída foi o ácido gálico (1-*O*-galloyl- glucose (β -glucogalina)). Ainda, foi identificada a presença do ácido elágico, a vitexina e a rutina, estes últimos da classe dos flavonóides naturais. A caracterização obtida neste estudo corrobora com achado anterior, em que foram identificados principalmente ácido gálico, taninos hidrolisáveis (punicalina e punicaligina), flavonóides e fenóis glicosilados (TERÇAS *et al.*, 2017).

Pesquisas anteriores mostram que o ácido gálico obtido a partir do extrato encontrado em outras plantas tem um potencial antimicrobiano (Chanwitheesuk *et al.*, 2007). Ainda, sabe-se que o 1-*O*-galloyl- glucose (β -glucogalina) encontrado neste estudo corresponde a um intermediário na biossíntese de taninos hidrolisáveis (OLIVAS-AGUIRRE *et al.*, 2015), os quais também são associados com forte atividade antimicrobiana contra bactérias e leveduras (LIM *et al.*, 2006; OKUDA, 2005; AHN *et al.*, 2005). Este efeito foi sugerido por envolver a precipitação de proteínas ou a remoção de metal e íons de hidrogênio a partir de enzimas microbianas, modificando processos metabólicos vitais nestes microrganismos (OKUDA, 2005).

A vitexina e a rutina são flavonóides, cuja atividade antioxidante, anti-inflamatória, anti-hipertensiva e anticancerígena já foram relatadas (ZHAO *et al.*, 2021). Em um estudo em camundongos foi realizada associação entre a rutina e a patologia de tau (característico da Doença de Alzheimer), sendo demonstrados diversos efeitos biológicos, como antimicrobianos, anticancerígeno, antitrombótico, cardioprotetor e atividades neuroprotetoras (SUN *et al.*, 2021).

Os flavonóides também estão relacionados à inativação de enzimas responsáveis pela adesão celular, que é considerada um importante fator de virulência de *Candida* assim como impedem o transporte de proteínas e causam ruptura da célula fúngica (KINOSHITA *et al.*, 2007; TERÇAS *et al.*, 2017).

Os compostos fenólicos glicosilados têm apresentado propriedades antifúngicas de interesse. Especificamente, os ácidos fenólicos demonstraram atividade promissora *in vitro* e *in vivo* contra espécies de *Candida* (OZCELIK *et al.*, 2011; TEODORO *et al.*, 2015). A presença do ácido elágico ocorreu em dois picos de destaque, cujas atividades biológicas são descritas tais como antioxidante e/ou anticarcinogênica, além de ser um potente inibidor da indução química do câncer (ABE-MATSUMOTO *et al.*, 2008).

Os testes de suscetibilidade demonstram que o FBuOH tem comportamento fungicida contra células planctônicas de *C. albicans*, uma vez que os extratos são fungicidas quando a relação CFM:CIM está entre 1:1 a 2:1 (GONÇALVES *et al.*, 2019). Em relação aos resultados de CIM, foi proposta uma classificação para a atividade antimicrobiana de produtos vegetais da seguinte maneira: inibidores fortes, CIM até 0,5 mg/mL; inibidores moderados, CIM entre 0,6 e 1,5 mg/mL; e inibidores fracos, CIM acima de 1,6 mg/mL (ALIGIANNIS *et al.*, 2001). Considerando esta classificação, o FBuOH foi considerado um inibidor forte.

A potente atividade antifúngica pode ser justificada pela composição química encontrada do FBuOH, principalmente o ácido gálico, taninos, flavonóides e compostos fenólicos. No entanto, é importante frisar que os testes de CIM e CFM são realizados em células de *Candida* em sua forma planctônica. Considerando que a maioria destas células estão associadas a biofilmes na cavidade bucal, e que os biofilmes diferem substancialmente das células planctônicas em termos de maior resistência antifúngica, investigar o comportamento de células organizadas como biofilmes quando expostas ao FBuOH, seria de grande interesse.

Conclusão

Conclui-se que a caracterização fitoquímica da fração n-butanólica da *Terminalia catappa* Linn identificou componentes com forte atividade fungicida frente às células planctônicas de *C. albicans*.

Referências do artigo

ANAND, Arumugam; DIVYA, Natarajan; KOTTI, Pannerselvam. An updated review of Terminalia catappa. **Pharmacognosy reviews**, v. 9, n. 18, p. 93, 2015.

ABE-MATSUMOTO, Lucile Tiemi. Ácido elágico em alimentos regionais brasileiros. 2008. Dissertação (Mestrado em Bromatologia) - **Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2008. doi:10.11606/D.9.2017.tde-06102017-180612. Acesso em: 2023-07-09.

AHN, Young-Joon et al. Antifungal activity and mode of action of Galla rhois-derived phenolics against phytopathogenic fungi. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 81, n. 2, p. 105-112, 2005.

ARRUDA, CNF, et al. Evaluation of biofilm removal and adverse effects on acrylic resin by diluted concentrations of sodium hypochlorite and Ricinus communis solutions. **Gerodontology**. 2018.

ALIGIANNIS, Nektarios et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two Origanum species. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 49, n. 9, p. 4168-4170, 2001.

ALLYN, Ovin Qonita; KUSUMAWATI, Eko; NUGROHO, Rudy Agung. Antimicrobial activity of Terminalia catappa brown leaf extracts against Staphylococcus aureus ATCC 25923 and Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853. **F1000Research**, v. 7, 2018.

CHANG, Zihao et al. A comprehensive review of the structure elucidation of tannins from terminalia Linn. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2019, 2019.

CHANWITHEESUK, Anchana et al. Antimicrobial gallic acid from Caesalpinia mimosoides Lamk. **Food chemistry**, v. 100, n. 3, p. 1044-1048, 2007.

CLSI. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, approved standard. CLSI Document M27-A3. CLSI, Pennsylvania, USA. 2008.

DE SOUSA, S.R. P, et al. Evaluation of sodium hypochlorite as a denture cleanser: a clinical study. **Gerodontology**. v.32, n. 4, p. 260-66, 2015.

DI STASIO, D.; LAURITANO, D.; MINERVINI, G. et al. Management of denture stomatitis: a narrative review. **J of Biological Regulators and Homeostatic Agents**. v.32, n.2, p.113-116, 2018.

FALAH-TAFTI, A, et al. A comparison of the efficacy of Nystatin and Fluconazole incorporated into Tissue Conditioner on the In Vitro attachment and colonization of Candida albicans. **Dent Res J (Isfahan)**. v.7, n.1, p.18-22, 2010.

FREDDI, Rafael Nogueira. Efeito de soluções higienizadoras em ligas metálicas de cobalto-cromo para próteses dentárias: uma revisão sistemática de estudos in vitro. 2020.

FREIRES, IA; et al. O efeito de óleos essenciais e frações bioativas em biofilmes de *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*: uma análise confocal. **Complemento baseado em Evid Alternat Med.** 2015;2015:871316.

GONÇALVES, L. M. et al. Effects of *Terminalia catappa* Linn. Extract on *Candida albicans* biofilms developed on denture acrylic resin discs. **J. Clin. Exp. Dent.** v.10, p.642–7, 2018.

GONÇALVES, L. M. et al. Effect of *Terminalia catappa* Linn. on Biofilms of *Candida albicans* and *Candida glabrata* and on Changes in Color and Roughness of Acrylic Resin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.** V.19, p.1-8, 2019.

GRUENDER, Julia et al. Randomized trial in split-mouth design to evaluate the effectiveness of manual and machine-aided cleaning of removable partial dentures. **Int J Prosthodont,** 2021.

KRISHNAMOORTHY, G.; NARAYANA, A.I.; PERALAM, P.Y.; BALKRISHNAN, D. To study the effect of *Cocos nucifera* oil when incorporated into tissue conditioner on its tensile strength and antifungal activity: An in vitro study. **J Indian Prosthodont Soc.** v.19, n.3, p.225–232, 2019.

LIM, S. H.; DARAH, I.; JAIN, K. Antimicrobial activities of tannins extracted from *Rhizophora apiculata* barks. **Journal of Tropical Forest Science,** p. 59-65, 2006.

MACHADO-GONÇALVES, Leticia et al. Effects of *Terminalia catappa* Linn. Extract on *Candida albicans* biofilms developed on denture acrylic resin discs. **Journal of clinical and experimental dentistry,** v. 10, n. 7, p. e642, 2018.

MELO, I.A.; GUERRA, R.C. Oral candidiasis: a focus on denture stomatitis. **Salusvita.** v.33, n.3, p. 389-414, 2014.

OLIVAS-AGUIRRE, Francisco Javier et al. Taninos hidrolizables: bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. **Nutrición hospitalaria,** v. 31, n. 1, p. 55-66, 2015.

OKUDA, Takuo. Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. **Phytochemistry,** v. 66, n. 17, p. 2012-2031, 2005.

ÖZÇELİK, Berrin; KARTAL, Murat; ORHAN, Ilkay. Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids. **Pharmaceutical biology,** v. 49, n. 4, p. 396-402, 2011.

PARANHOS, H.F. et al. Complete denture biofilm after brushing with specific denture paste, neutral soap and artificial saliva. **Braz Dent J.** v.24, n.1, p.47-52, 2013.

RAJENDRAN, Arun et al. Comparative evaluation of efficacy of three different denture cleansing methods in reducing *Candida albicans* count in removable partial denture wearers: A randomized controlled trial. **The Journal of Indian Prosthodontic Society,** v. 22, n. 3, p. 256-261, 2022.

SALLOUM, A.M. Effect of 5.25 % sodium hypochlorite on color stability of acrylic

and silicone based soft liners and a denture base acrylic resin. **J Indian Prosthodont Soc.** v.12, n.2, p.179-86, 2014.

SHARMA, S.; HEGDE, V. Comparative Evaluation of Antifungal Activity of Melaleuca Oil and Fluconazole when Incorporated in Tissue Conditioner: An In Vitro Study. **J of Prosthodontics.** v.23, p. 367-373, 2014.

SOUSA-PORTA, SR; LUCENA-FERREIRA, SC; DA SILVA, WJ; DEL BEL CURY, AA. Evaluation of sodium hypochlorite as a denture cleanser: a clinical study. **Gerodontology.** 2013;12.

SUN, Xiao-ying et al. Rutin prevents tau pathology and neuroinflammation in a mouse model of Alzheimer's disease. **Journal of neuroinflammation**, v. 18, n. 1, p. 1-14, 2021.

TEODORO, Guilherme R. et al. Potential use of phenolic acids as anti-Candida agents: A review. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 1420, 2015.

TERÇAS, A.G. et al. Phytochemical Characterization of Terminalia catappa Linn. Extracts and Their antifungal Activities against Candida spp. **Front Microbiol.** v. 10, n.8, P. 595, 2017.

ZAGO, P.M.W.; BRANCO, S.J.S.C.; FECURY, L.A.B.; CARVALHO, L.T.; ROCHA, C.Q.; MADEIRA, P.L.B., et al. Anti-biofilm Action of Chenopodium ambrosioides Extract, Cytotoxic Potential and Effects on Acrylic Denture Surface. **Frontiers Microbiology.** v.10, p.1-9, 2019.

ZHAO, Chuan-Rong et al. Vitexin inhibits APEX1 to counteract the flow-induced endothelial inflammation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 118, n. 48, p. e2115158118, 2021.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que a caracterização fitoquímica da fração n-butanólica da *Terminalia catappa* Linn identificou componentes com forte atividade fungicida frente às células planctônicas de *C. albicans*. Este estudo servirá de base para pesquisas futuras envolvendo biofilmes, uma vez que estes diferem substancialmente das células planctônicas em termos de maior resistência antifúngica.

6. REFERÊNCIAS REFERENCIAL TEÓRICO

AMALRAJ, A.; GOPI, S. Medicinal properties of Terminalia arjuna: A review. *J Tradit Complement Med.* v. 7, n. 1, p.65-78, 2016.

ANAND, Arumugam; DIVYA, Natarajan; KOTTI, Pannerselvam. An updated review of Terminalia catappa. *Pharmacognosy reviews*, v. 9, n. 18, p. 93, 2015.

ANTUNES FILHO, Sérgio et al. Biosynthesis of Nanoparticles Using Plant Extracts and Essential Oils. *Molecules*, v. 28, n. 7, p. 3060, 2023.

BUENO, M.G. et al. Effect of antimicrobial agents incorporated into resilient denture relines on the Candida albicans biofilm. *Oral Dis.* v.21, n.1, p.57-65, 2015.

CHANDRA, S. et al. Antimicrobial, antioxidant, and synergistic properties of two nutraceutical plants: Terminalia catappa L. and Colocasia esculenta L. *Turk J Biol.* v. 37, p. 81-91, 2013.

CHANG, Zihao et al. A comprehensive review of the structure elucidation of tannins from terminalia Linn. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2019, 2019.

CONTALDO, M. et al. Association between denture stomatitis, candida species and diabetic status. *Journal of biological regulators and homeostatic agents*, v. 33, n. 3 Suppl. 1, p. 35-41. DENTAL SUPPLEMENT, 2019.

COULIBALY, K. et al. Antibacterial properties studies of trunk barks of Terminalia ivorensis (Combretaceae), a commercial and medicinal specie, on some methicillin resistant Staphylococci spp strains. *Afr Health Sci.* v. 14, n.3, p.753-6, 2014.

DUYCK, J. et al. Impact of Denture Cleaning Method and Overnight Storage Condition on Denture Biofilm Mass and Composition: A Cross-Over Randomized Clinical Trial. *PLoS One.* v.11, n.1, 2016.

GAD, Mohammed Moustafa; FOUDA, Shaimaa Mohamed. Current perspectives and the future of Candida albicans-associated denture stomatitis treatment. *Dental and medical problems*, v. 57, n. 1, p. 95-102, 2020.

GANTAIT, S; BHATTACHARYYA, J; DAS, S; BISWAS, S; GHATI, A; GHOSH, S et al. Comparative assessment of the effectiveness of different cleaning methods on the growth of Candida albicans over acrylic surface. *Contemp Clin Dent.* 2016;7(3):336-342.

GONÇALVES, L. M. et al. Effect of Terminalia catappa Linn. on Biofilms of Candida albicans and Candida glabrata and on Changes in Color and Roughness of Acrylic Resin. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* V.19, p.1-8, 2019.

KINOSHITA S. et al. Antioxidant and hepatoprotective actions of medicinal herb, Terminalia catappa L. from Okinawa Island and its tannin corilagin. *Phytomedicine.* 2007 Nov;14(11):755-62. doi: 10.1016/j.phymed.2006.12.012. Epub 2007 Feb 12. PMID: 17293097. LUCENA-FERREIRA, S.C.; CAVALCANTI, I.M.; CURY, A.A. Efficacy of denture cleansers in reducing microbial counts from removable partial dentures: a short-term clinical evaluation. *Braz Dent J.* v.24, n.4, p.353-6, 2013.

MADEIRA, Petrus LB et al. In vitro effects of lemongrass extract on *Candida albicans* biofilms, human cells viability, and denture surface. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 6, p. 71, 2016.

NAITIK, P. et al. Efeito da *Terminalia catappa* no perfil lipídico em fibrossarcoma transplantado em ratos. **Índio j. Pharmacol.** 44, 390–392. doi: 10.4103/0253-7613.96345, 2012.

SCHMUTZLER, Anne et al. Cleaning of removable dental prostheses—a systematic review. **Journal of Evidence Based Dental Practice**, v. 21, n. 4, p. 101644, 2021.

SHINDE, S.L, et al. A diversidade de compostos antibacterianos de espécies de *Terminalia* (Combretaceae). **Pak. J. Biol. ciência** 12, 1483-1486. doi: 10.3923/pjbs.2009.1483.1486.

SHUI, Yusen et al. Phytotherapy in the management of denture stomatitis: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 8, p. 4111-4126, 2021.

TAN, C.M.; TSOI, J.K.; SENEVIRATNE, C.J.; MATINLINNA, J.P. Evaluation of the *Candida albicans* removal and mechanical properties of denture acrylics cleaned by a low-cost powered toothbrush. **J Prosthodont Res.** v.19, 2014.

TERÇAS, A.G. et al. Phytochemical Characterization of *Terminalia catappa* Linn. Extracts and Their antifungal Activities against *Candida* spp. **Front Microbiol.** v. 10, n.8, P. 595, 2017.

VIEIRA, Denise RP et al. Plant species used in dental diseases: ethnopharmacology aspects and antimicrobial activity evaluation. **Journal of ethnopharmacology**, v. 155, n. 3, p. 1441-1449, 2014.

VIEIRA, João Ângelo; DO NASCIMENTO, Mascarenhas. Desenvolvimento e Caracterização de Bebidas Fermentadas Alcoólicas do fruto da Castanholeira (*Terminalia catappa* Linn) **Variedades Branca e Roxa.** 2023.

ZHANG, Jingxiang et al. Differential Oral Microbial Input Determines Two Microbiota Pneumo-Types Associated with Health Status. **Advanced Science**, v. 9, n. 32, p. 2203115, 2022.

7. ANEXOS

ANEXO A: NORMAS DA REVISTA

Submissions

[Make a new submission](#) or [view your pending submissions](#).

Submission Preparation Checklist

As part of the submission process, authors are required to check off their submission's compliance with all of the following items, and submissions may be returned to authors that do not adhere to these guidelines.



Author Guidelines

BJHR accepts only original articles, not published in other journals. We accept articles presented at events, provided that this information is made available by the authors.

The standards for formatting and preparation of originals are:

- Maximum of 20 pages;
- Maximum 8 authors;
- Times New Roman font size 12, line spacing 1.5;
- Figures and Tables should appear together with the text, editable, in font 10, both for the content and for the title (which should come just above the graphic elements) and font (which should come just below the graphic element).
- Title in Portuguese and English, at the beginning of the file, with source 14;
- Abstract, along with keywords, with simple spacing, just below the title;
- The submitted file should not contain the identification of the authors.

Upon receipt of the originals, the editor makes a prior review of content adequacy and verification of plagiarism and sends, within one week after receipt, for the analysis of at least two external reviewers, who can: accept the paper, accept with modifications, requires modifications and requests a new version for correction or refusal of the article.

This journal adopts as editorial policy the guidelines of good practices of scientific publication of the National Association of Research and Post-Graduation in Administration (ANPAD), available at:
http://www.anpad.org.br/diversos/boas_praticas.pdf.

Publication Fee

- This journal does not charge a submission fee;
- This paper charges the publication of articles, in the amount of R\$ 495.00 per paper to be published.

Privacy Statement

- The content of the papers is the sole responsibility of the authors.
- It is allowed the total or partial reproduction of the content of the papers, provided the source is mentioned.
- Papers with plagiarism will be rejected, and the author of the plagiarism will lose the right to publish in this journal.
- The names and addresses informed in this journal will be used exclusively for the services provided by this publication and are not available for other purposes or to third parties.
- As soon as you submit the papers, the authors give the copyright of your papers to BJHR.
- If you regret the submission, the author has the right to ask BJHR not to publish your paper.
- However, this request must occur within two months before the release of the number that the paper will be published.
- BJHR uses the Creative Commons CC BY license. Information about this license can be found at:
<https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/br/>

Mais informações sobre as normas da revista no site:

<https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/about/submissions>