

Atividade antifúngica de extratos de casca e folha de *Bixa orellana* L. obtidos por ultrassom e Soxhlet sobre *Sporothrix brasiliensis* (formas leveduriforme e filamentosa)

Antifungal activity of bark and leaf extracts of *Bixa orellana* L. obtained by ultrasound-assisted extraction and Soxhlet extraction against *Sporothrix brasiliensis* (yeast and filamentous forms)

Actividad antifúngica de extractos de corteza y hoja de *Bixa orellana* L., obtenidos por extracción asistida por ultrasonido y Soxhlet, frente a *Sporothrix brasiliensis* (formas levaduriforme y filamentosa)

DOI: 10.34188/bjaerv9n1-129

Submitted: Jan 5th, 2026

Approved: Feb 4 th, 2026

Jackeline da Silva Luciano

Mestre em Biologia da Interação Patógeno-Hospedeiro
Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Leônidas e Maria Deane (ILMD)
Manaus, AM. Brasil
E-mail: jackelineluciano.silva@gmail.com

Kemily Nunes Moya

Mestre em Biologia da Interação Patógeno-hospedeiro
Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Leônidas e Maria Deane (ILMD)
Manaus, AM. Brasil
E-mail: kemilysilva23@hotmail.com

Mesaqueuri Mota Nonato

Mestrando em Biologia da Interação Patógeno-hospedeiro
Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Leônidas e Maria Deane (ILMD)
Manaus, AM. Brasil
E-mail: mesaqueurimn@hotmail.com

Adriana Dantas Gonzaga

Doutora em Biotecnologia
Instituição de formação: Universidade Federal do Amazonas (UFAM)
Manaus, AM. Brasil
E-mail: adrianadantas@ufam.edu.br

Priscila Ferreira de Aquino

Doutora em Bioquímica
Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)
Manaus, AM. Brasil
E-mail: priscila.aquino@fiocruz.br

RESUMO

Considerando o aumento de casos de esporotricose humana e animal em Manaus e as limitações terapêuticas disponíveis, torna-se relevante investigar fontes naturais com potencial antifúngico. Objetiva-se avaliar a atividade antifúngica de extratos de casca e folha de *Bixa orellana* L. (urucum) frente a *Sporothrix brasiliensis* nas formas leveduriforme e filamentosa, comparando os métodos de extração por ultrassom e Soxhlet. Para tanto, procede-se à coleta, identificação, secagem e trituração do material vegetal, seguidas da obtenção de extratos hexânicos e metanólicos por ultrassom e Soxhlet, com posterior concentração. A atividade antifúngica foi determinada por microdiluição em caldo (CLSI), estimando-se a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Fungicida Mínima (CFM) frente à cepa *S. brasiliensis* (CFAM 1499), em ensaios realizados em triplicata e analisados no Minitab. Desse modo, observa-se atividade antifúngica com melhor desempenho do extrato metanólico de folha obtido por Soxhlet (FUMS), com CIM/CFM de 6,25 µg/mL para a forma leveduriforme, seguido do extrato metanólico de casca por ultrassom (CUMU), com CIM/CFM de 12,5 µg/mL. Para a forma filamentosa, o melhor resultado foi CIM/CFM de 12,5 µg/mL, enquanto os demais extratos apresentaram CIM/CFM predominantemente de 25 µg/mL. Conclui-se que *B. orellana* apresenta potencial antifúngico frente a *S. brasiliensis*, reforçando a bioprospecção amazônica para futuras alternativas terapêuticas contra a esporotricose.

Palavras-chave: *Bixa orellana*, esporotricose, *Sporothrix brasiliensis*, atividade antifúngica, extratos vegetais.

ABSTRACT

Considering the rising number of human and animal sporotrichosis cases in Manaus and the limitations of available therapies, investigating natural sources with antifungal potential is relevant. This study aimed to evaluate the antifungal activity of bark and leaf extracts of *Bixa orellana* L. (annatto) against *Sporothrix brasiliensis* in both yeast and filamentous forms, comparing ultrasound-assisted and Soxhlet extractions. For this purpose, plant material was collected, identified, dried, and ground; hexane and methanolic extracts were obtained by ultrasound and Soxhlet, respectively, and subsequently concentrated. Antifungal activity against *S. brasiliensis* (CFAM 1499) was determined by broth microdilution (CLSI), with the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC) determined in triplicate and analyzed in Minitab. The best performance against the yeast form was observed for the methanolic leaf extract obtained by Soxhlet (FUMS), with MIC/MFC of 6.25 µg/mL, followed by the methanolic bark extract obtained by ultrasound (CUMU), with MIC/MFC of 12.5 µg/mL. For the filamentous form, the best result was an MIC/MFC of 12.5 µg/mL, whereas the remaining extracts predominantly showed an MIC/MFC of 25 µg/mL. These findings indicate that *B. orellana* has antifungal potential against *S. brasiliensis*, supporting Amazonian bioprospecting for future therapeutic alternatives for sporotrichosis.

Keywords: *Bixa orellana*, sporotrichosis, *Sporothrix brasiliensis*, antifungal activity, plant extracts

RESUMEN

Considerando el aumento de casos de esporotricosis humana y animal en Manaus y las limitaciones terapéuticas disponibles, resulta relevante investigar fuentes naturales con potencial antifúngico. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad antifúngica de extractos de corteza y hoja de *Bixa orellana* L. (achiote/urucum) frente a *Sporothrix brasiliensis* en sus formas levaduriforme y filamentosa, comparando la extracción asistida por ultrasonido con la extracción por Soxhlet. Para ello, el material vegetal fue recolectado, identificado, seco y triturado; posteriormente se obtuvieron y concentraron extractos hexánicos y metanólicos mediante ultrasonido y Soxhlet. La actividad antifúngica frente a *S. brasiliensis* (CFAM 1499) se determinó por microdilución en caldo (CLSI), estimándose la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración fungicida mínima (CFM) mediante ensayos por triplicado analizados en Minitab. El mejor desempeño frente a la forma levaduriforme se observó para el extracto metanólico de hoja obtenido por Soxhlet (FUMS), con CIM/CFM de 6,25 µg/mL, seguido del extracto metanólico de corteza obtenido por ultrasonido (CUMU), con CIM/CFM de 12,5

µg/mL. Para la forma filamentosa, el mejor resultado fue CIM/CFM de 12,5 µg/mL, mientras que los demás extractos presentaron CIM/CFM predominantemente de 25 µg/mL. Estos hallazgos indican que *B. orellana* posee potencial antifúngico frente a *S. brasiliensis*, lo que respalda la bioprospección amazónica para futuras alternativas terapéuticas contra la esporotricosis.

Palabras clave: *Bixa orellana*, esporotricosis, *Sporothrix brasiliensis*, actividad antifúngica, extractos vegetales.

1 INTRODUÇÃO

A espécie *Bixa orellana* L. (urucum) pertence à família Bixaceae, é nativa da América do Sul e pode apresentar hábito arbóreo ou arbustivo (Vilar et al., 2014). Seu nome popular “urucum” provém da palavra indígena tupi “ru-ku”, que significa “vermelho”, e a espécie é amplamente utilizada na indústria alimentícia como corante, além de ser empregada em práticas fitoterapêuticas (Vilar et al., 2014). Estudos têm evidenciado o isolamento de uma ampla variedade de fitoquímicos bioativos em *B. orellana*, incluindo carotenoides, esteróis, compostos terpênicos e fenólicos, flavonoides, polifenóis, taninos, quinonas e alcaloides (Coelho dos Santos et al., 2022). Esses compostos, descritos em diferentes matrizes vegetais (com destaque para folhas e sementes), têm sido associados a diversas propriedades farmacológicas, como ações antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas (Coelho dos Santos et al., 2022; Ashraf et al., 2023).

A prospecção de compostos antimicrobianos tem ganhado destaque, uma vez que os extratos de urucum têm demonstrado atividade frente a microrganismos de importância médica, incluindo *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* (Pereira da Silva Junior et al., 2023; Coelho dos Santos et al., 2022). Contudo, permanecem escassos os estudos sobre a atividade antifúngica de *B. orellana* frente a fungos do gênero *Sporothrix*, incluindo espécies de interesse clínico como *S. brasiliensis*, *S. schenckii*, *S. mexicana* e *S. globosa* (Marimon et al., 2007; Rodrigues et al., 2022; Xavier et al., 2023). Essa lacuna reforça a necessidade de explorar alternativas profiláticas e terapêuticas para micoses que afetam humanos e animais, sobretudo em cenários de expansão zoonótica.

A esporotricose causada por *Sporothrix brasiliensis* é considerada um problema de saúde pública, caracterizada por micose subcutânea de evolução subaguda a crônica (Rodrigues et al., 2022; Xavier et al., 2023). A doença ocorre principalmente na América Latina e acomete felinos, cães e humanos, com destaque para surtos zoonóticos associados a gatos (Alvarez et al., 2022; Xavier et al., 2023). No Brasil, a doença apresenta ampla distribuição, com episódios epidêmicos em diferentes estados, sobretudo em contextos de transmissão zoonótica associada a felinos (Alvarez et al., 2022; Poester et al., 2024). No estado do Amazonas, o cenário recente evidencia elevada carga de casos humanos e animais: entre 1º de janeiro e 31 de dezembro de 2025, foram

notificados 2.534 casos humanos, com 1.996 confirmados e registro de um óbito, além de 4.947 casos em animais, com 4.607 confirmados (FVS-RCP, 2026). Esses achados reforçam a relevância epidemiológica da doença na região e a necessidade de estratégias integradas de vigilância e controle.

A esporotricose é classificada como micose de implantação, podendo ocorrer por via ambiental e zoonótica, principalmente pela introdução traumática do agente por arranhaduras ou mordidas de animais infectados e contato com lesões e secreções (Poester et al., 2024; Rodrigues et al., 2022). Embora menos frequente, a transmissão por inalação de conídios pode ocorrer em circunstâncias específicas, dependendo do estado imunológico do hospedeiro (Alvarez et al., 2022).

Além do aumento de casos, estudos têm relatado redução de suscetibilidade/resistência a antifúngicos em *Sporothrix* spp., associada a fatores como termotolerância, formação de biofilme e diversidade genética, o que pode comprometer a resposta terapêutica em determinados contextos (Waller et al., 2021; Nakasu et al., 2021). De fato, há descrição de isolados com resistência ao itraconazol, um dos fármacos mais utilizados no tratamento da esporotricose, incluindo séries de casos envolvendo infecção felina por *S. brasiliensis* resistente (Nakasu et al., 2021; Rodrigues et al., 2022). No manejo da esporotricose, além do desafio epidemiológico, há entraves terapêuticos e comportamentais que afetam o controle da zoonose. A adesão inadequada ao tratamento por parte de tutores, com interrupção prematura diante de melhora clínica inicial e falhas em medidas de biossegurança, pode prolongar a infecção e favorecer a manutenção da transmissão. Adicionalmente, discute-se que a resistência antifúngica pode resultar da interrupção incorreta do tratamento, selecionando cepas mais resistentes, ou refletir resistência primária emergente, o que reforça a importância de farmacovigilância e do desenvolvimento de alternativas terapêuticas (Miranda et al., 2025). Nesse contexto, a vigilância e a notificação tornam-se essenciais: em janeiro de 2026, a FVS-RCP reforçou orientações e fluxos de notificação, destacando a inclusão da esporotricose humana na lista nacional de notificação compulsória (FVS-RCP, 2026).

Diante desse cenário e da necessidade de novas moléculas com atividade antifúngica, a biodiversidade amazônica representa um campo promissor para bioprospecção. A obtenção de compostos bioativos a partir de matrizes vegetais pode ser realizada por meio de técnicas como o ultrassom e o Soxhlet, que, quando associadas a solventes de diferentes polaridades, permitem a recuperação de classes químicas distintas (Souza et al., 2022; Aluko, 2024). A extração assistida por ultrassom favorece a liberação de compostos por cavitação, enquanto a extração Soxhlet promove a recirculação do solvente, podendo aumentar a eficiência de extração conforme a matriz e o solvente empregados (Souza et al., 2022).

Nesse contexto, este estudo tem como objetivo avaliar a atividade antifúngica de extratos

orgânicos de folhas e cascas de *Bixa orellana*, obtidos por ultrassom e Soxhlet com solventes de diferentes polaridades, contra *Sporothrix brasiliensis* nas formas leveduriforme e filamentosa.

2 METODOLOGIA

2.1 CEPA FÚNGICA E CONDIÇÕES DE CULTIVO

A cepa *Sporothrix brasiliensis* (CFAM 1499) foi fornecida pela Coleção de Fungos da Amazônia (CFAM), Instituto Leônidas e Maria Deane (ILMD/Fiocruz Amazônia). O isolado foi obtido previamente de amostra da superfície rostral de felino com esporotricose. Para reativação e obtenção da forma filamentosa, a cepa foi cultivada em ágar Sabouraud por 15 dias a 28 °C. Para indução da forma leveduriforme, fragmentos de micélio aéreo foram coletados com swab estéril e suspensos em solução salina estéril (0,85%) contendo 0,03% de Tween 20; em seguida, a suspensão foi inoculada em placas contendo meio BHI (Brain Heart Infusion) e incubada a 35 °C por 7 dias.

2.2 ISOLAMENTO MONOCONIDIAL E MICROCULTIVO

A cultura fúngica foi submetida ao isolamento monoconidial (diluição seriada), visando aumentar a pureza do cultivo, conforme descrito por Teixeira, Jackisch-Matsuura e Soares (1999). Posteriormente, foi realizado microcultivo para avaliação de micromorfologia, tanto na fase micelial quanto leveduriforme, e a identificação foi conduzida com base em chave dicotômica proposta por Marimon et al. (2007).

2.3 COLETA, IDENTIFICAÇÃO E PROCESSAMENTO DO MATERIAL BOTÂNICO

Amostras de *Bixa orellana* L. foram coletadas no Campus da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Amazonas, Brasil. A identificação botânica foi confirmada por comparação morfológica com exsicata depositada no Herbário da Universidade Federal do Amazonas (HUAM), sob o número 10542. Para obtenção dos extratos, foram selecionadas folhas e cascas, que passaram por higienização, corte, pesagem e secagem em estufa a 55 °C por 5 dias. Após a secagem, o material foi triturado com pilão e almofariz.

2.4 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS HEXÂNICO E METANÓLICO

Os extratos foram obtidos por dois métodos: extração assistida por ultrassom e extração por Soxhlet. Para ultrassom, 50 g de folhas e 50 g de cascas previamente trituradas foram extraídos separadamente com 500 mL de metanol PA, e os extratos foram concentrados em rotaevaporador a 40 °C. Para Soxhlet, 50 g de folhas e 50 g de cascas foram acondicionados separadamente em papel filtro e submetidos à extração por 6 h, utilizando 500 mL de hexano PA (balão de 1000 mL). Em

paralelo, foram realizadas extrações por Soxhlet com metanol PA sob as mesmas condições. Após a extração, todas as amostras foram concentradas em rotaevaporador a 40 °C. Os extratos foram codificados conforme o método, o solvente e a parte vegetal (Tabela 1).

Tabela 1 – Tipos de extração e solvente utilizados no experimento com folhas e cascas de urucum.

Tipo de extração e solvente	Amostras	Código de Identificação
Ultrassom e Metanol	Folha	FUMU
Ultrassom e Metanol	Casca	CUMU
Soxhlet e Metanol	Folha	FUMS
Soxhlet e Metanol	Casca	CUMS
Soxhlet e hexano	Folha	FUHS
Soxhlet e hexano	Casca	CUHS

Fonte: Elaborado pelos autores (2026).

O rendimento (%) (1) foi calculado conforme Aluko (2024).

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Massa do extrato seco (g)}}{\text{Massa das folhas e cascas (g)}} \times 100 \quad (1)$$

2.5 ENSAIO DE MICRODILUIÇÃO EM CALDO

A atividade antifúngica foi avaliada por microdiluição em caldo, seguindo as recomendações do CLSI (2008), com base nos documentos M27-A3 (forma leveduriforme) e M38-A2 (forma filamentosa), com adaptações de Brilhante et al. (2014). Para obtenção da forma leveduriforme, *S. brasiliensis* foi cultivada em BHI a 35 °C por 96 h; para obtenção da forma filamentosa, a cepa foi cultivada em BDA a 28 °C por 7 dias. As colônias foram ressuspensas em solução salina estéril (0,85%), homogeneizadas e ajustadas à turbidez 0,5 da escala de McFarland, com confirmação por espectrofotometria a 550 nm. A suspensão padronizada foi diluída 1:50 em RPMI 1640 (Gibco®). Para a fase filamentosa, fragmentos de hifas foram raspados, transferidos para tubo estéril e mantidos em repouso por 10 minutos para sedimentação antes da diluição 1:50 em RPMI 1640.

Os extratos foram preparados em solução de estoque (1 mL), contendo 100 µL de DMSO e 900 µL de água destilada, na concentração inicial de 200 µg/mL. A partir do estoque, foi realizada diluição seriada 1:2 em placas de 96 poços, obtendo-se oito concentrações (100 a 0,78 µg/mL). Os ensaios foram conduzidos em placas de 96 poços, com controles de crescimento (RPMI + inóculo), solvente (DMSO nas mesmas condições do ensaio), antifúngico de referência (itraconazol; Geolab) e esterilidade (RPMI sem inóculo). Após a montagem, foram adicionados 2 µL de resazurina em todos os poços. As placas foram incubadas a 28 °C (fase filamentosa) e a 35 °C (fase leveduriforme), com leituras visuais a intervalos definidos conforme Brilhante et al, 2014. O crescimento foi interpretado pela mudança de cor da resazurina (azul: ausência de crescimento/atividade metabólica; rosa: crescimento/atividade metabólica). A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi definida

como a menor concentração capaz de impedir crescimento visível, por comparação com os controles.

Para determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM), alíquotas de 100 µL dos poços sem evidência de crescimento foram repicadas em BDA e incubadas por 7 dias a 28 °C (fase filamentosa) ou 35 °C (fase leveduriforme). A CFM foi definida como a menor concentração do extrato capaz de impedir completamente o crescimento de colônias após incubação.

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

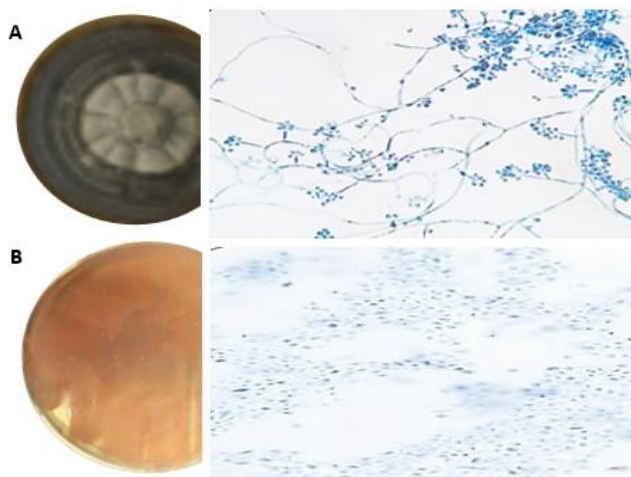
Os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados foram expressos como média geométrica, utilizando o software Minitab 20.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DE *SPOROTHRIX BRASILIENSIS*

Após a reativação e purificação da cepa *Sporothrix brasiliensis* (CFAM 1499), a identificação taxonômica foi confirmada por características morfológicas macro e micromorfológicas compatíveis com o gênero *Sporothrix* e com o dimorfismo térmico descrito para a espécie. Na fase filamentosa, observou-se crescimento em BDA a 28 °C, com micromorfologia que apresentou conídios organizados em arranjos característicos (Figura 1A). Na fase leveduriforme, o cultivo em BHI a 35 °C resultou em macrocolônias compatíveis com a fase parasitária, e as células leveduriformes exibiram morfologia alongada (“formato de charuto”), típica de *Sporothrix* (Figura 1B).

Figura 1 – Caracterização morfológica de *Sporothrix brasiliensis* nas fases dimórficas. (A) Crescimento micelial em BDA a 28 °C por 7 dias e aspecto microscópico com conídios organizados em arranjo tipo “roseta” (400×). (B) Crescimento leveduriforme em BHI a 35 °C por 7 dias e células leveduriformes alongadas, com morfologia ovalado (400×).



Fonte: Elaborado pelos autores (2026).

3.2 RENDIMENTO DOS EXTRATOS DE *BIXA ORELLANA*

Apesar de os rendimentos terem sido próximos (5,0–6,0%), observou-se discreto aumento para Soxhlet/hexano (FUHS = 6,0%; CUHS = 5,5%), o que é compatível com o princípio do método, baseado em refluxo e recirculação contínua do solvente, favorecendo maior extração global e, em especial, recuperação de frações apolares quando se utiliza solvente de baixa polaridade. Essa característica do Soxhlet e a influência conjunta do método e do solvente sobre a eficiência e o perfil do extrato são amplamente descritas em revisões sobre técnicas extrativas, que destacam que o rendimento reflete a massa recuperada, mas não necessariamente a concentração relativa de metabólitos bioativos (Souza et al., 2022).

Tabela 2 – Percentual de rendimento dos extratos.

Código de identificação	Massa (g)	Rendimento (%)
FUMU	50g	5,1
CUMU	50g	5,2
FUMS	50g	5,0
CUMS	50g	5,4
FUHS	50g	6,0
CUHS	50g	5,5

Fonte: Elaborado pelos autores (2026).

Entretanto, rendimento, por si só, não prediz maior potência biológica, uma vez que a atividade antifúngica depende do conjunto de metabólitos extraídos e de seu enriquecimento relativo. Em *Bixa orellana*, revisões mostram uma diversidade de constituintes (incluindo fenólicos, flavonoides, taninos, quinonas e outros), cuja extração varia conforme a polaridade do solvente, sendo comum que solventes mais polares (como metanol) concentrem classes frequentemente associadas à atividade antimicrobiana (Vilar et al., 2014; Coelho dos Santos et al., 2022). Assim, os seus rendimentos mais altos em Soxhlet/hexano podem refletir maior recuperação de frações apolares, enquanto a melhor resposta antifúngica observada nos extratos metanólicos é coerente com a hipótese de maior contribuição de compostos polares bioativos, reforçando que rendimento e atividade devem ser interpretados de forma complementar (Souza et al., 2022; Coelho dos Santos et al., 2022).

3.3 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA CONTRA A FORMA LEVEDURIFORME DE *S. BRASILIENSIS*

Os ensaios de microdiluição em caldo (RPML, CLSI M27-A3) demonstraram atividade antifúngica dos extratos de *B. orellana* frente à forma leveduriforme de *S. brasiliensis*, com variação de CIM/CFM conforme o método, o solvente e a parte vegetal (Tabela 3; Figura 2). O melhor desempenho foi observado no extrato metanólico de folha obtido por Soxhlet (FUMS), que

apresentou CIM e CFM de 6,25 µg/mL, indicando efeito fungicida na mesma concentração inibitória. Em seguida, destacou-se o extrato metanólico de casca obtido por ultrassom (CUMU), com CIM/CFM de 12,5 µg/mL. Os demais extratos apresentaram valores mais elevados, especialmente o extrato hexânico de casca por Soxhlet (CUHS), com CIM/CFM de 50 µg/mL.

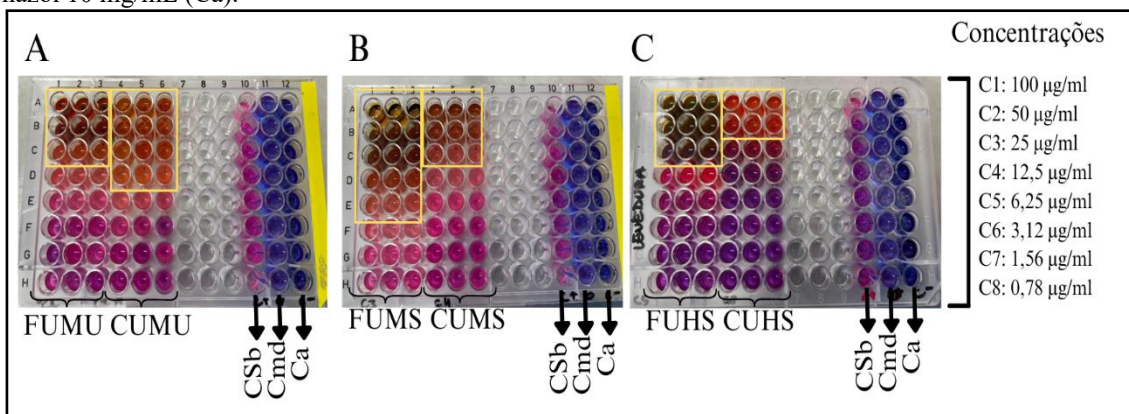
Tabela 3 – Concentrações inibitória mínima (CIM) e fungicida mínima (CFM) de extratos metanólicos e hexânicos de folhas e cascas de urucum contra a levedura *Sporothrix brasiliensis*.

Fungo	Código de Identificação	CIM (µg/mL)	CFM (µg/m)
<i>Sporothrix brasiliensis</i> (levedura)	FUMU	25	50
	CUMU	12,5	12,5
	FUMS	6,25	6,25
	CUMS	25	25
	FUHS	25	25
	CUHS	50	50

Fonte: Elaborado pelos autores (2026).

Já o extrato CUMU, obtido por extração por ultrassom, apresentou CIM e CFM de 12,5 µg/ml, evidenciando atividade antifúngica relevante, embora com valores ligeiramente superiores em comparação ao FUMS. Os ensaios estão demonstrados na (Figura 2).

Figura 2 – Teste de microdiluição em caldo contra leveduras de *Sporothrix brasiliensis* utilizando extratos de folhas e cascas de urucum em placas de poliestireno de 96 poços a 35°C em meio RPMI. A - Extratos metanólicos obtidos pelo método ultrassom FUMU (folha) e CUMU (casca). B - Extratos metanólicos pelo método soxhlet FUMS (folha) e CUMS (casca). C - Extratos hexânicos pelo método soxhlet FUHS (folha) e CUHS (casca). O quadrado amarelo mostra os resultados de concentração inibitória mínima (CIM) e fungicida mínima (CFM). As siglas de controle estão representadas por: Controle positivo de crescimento *S. brasiliensis* (Csb), Meio e DMSO (Cmd), Antifúngico itraconazol 10 mg/mL (Ca).

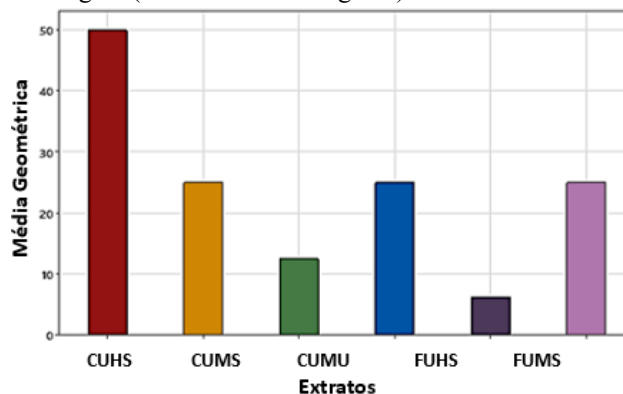


Fonte: Elaborado pelos autores (2026).

A análise estatística evidenciou que o extrato metanólico de folha obtido por Soxhlet (FUMS) apresentou a maior atividade inibitória frente à forma leveduriforme de *Sporothrix brasiliensis* ($p < 0,001$), conforme demonstrado no Gráfico 1. Esse extrato destacou-se por apresentar a menor média geométrica de CIM (6,25 µg/mL), indicando eficácia em concentrações substancialmente mais baixas para inibir o crescimento fúngico. Em contraste, o extrato hexânico

de casca obtido por Soxhlet (CUHS) apresentou a maior média geométrica (50 µg/mL), sugerindo menor potência, uma vez que requer concentrações mais elevadas para atingir um efeito inibitório comparável ao observado com o FUMS.

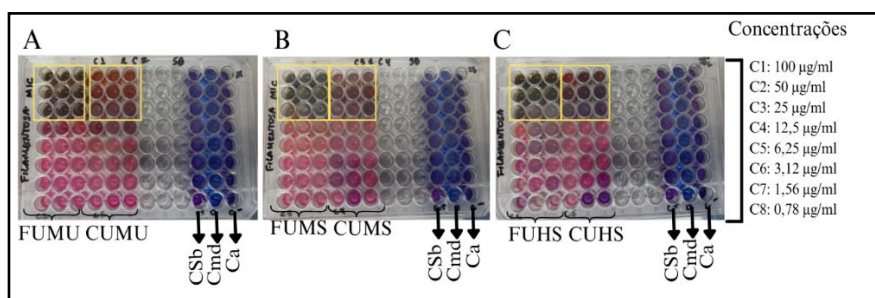
Gráfico 1 – Média geométrica da Concentração Inibitória Mínima (CIM; µg/mL) dos extratos de folhas e cascas de *Bixa orellana* obtidos por ultrassom ou Soxhlet, com metanol ou hexano, frente a *Sporothrix brasiliensis* na forma leveduriforme. Extratos avaliados: FUMU e CUMU (metanol/ultrassom), FUMS e CUMS (metanol/Soxhlet), FUHS e CUHS (hexano/Soxhlet). Controles: Csb, controle de crescimento (*S. brasiliensis*); Cmd, controle com solvente (meio + DMSO); Ca, controle com antifúngico (itraconazol a 10 mg/mL).



Fonte: Elaborado pelos autores (2026).

Os ensaios de microdiluição em caldo RPMI, conduzidos conforme o protocolo CLSI M38-A2 para a forma filamentosa, evidenciaram atividade antifúngica dos extratos frente a *Sporothrix brasiliensis*. O melhor desempenho foi observado no extrato metanólico de casca obtido por ultrassom (CUMU), com CIM/CFM de 12,5 µg/mL, indicando maior atividade em comparação aos demais extratos. Os extratos FUMU, FUMS, CUMS, FUHS e CUHS apresentaram valores semelhantes entre si, com CIM/CFM de 25 µg/mL, sugerindo atividade equivalente nas condições testadas. O ensaio está ilustrado na Figura 3, e os resultados consolidados encontram-se na Tabela 4.

Figura 3 – Teste de microdiluição em caldo (RPMI 1640) frente a *Sporothrix brasiliensis* na forma filamentosa, realizado em placas de poliestireno de 96 poços a 28 °C. (A) Extratos metanólicos obtidos por ultrassom: FUMU (folha) e CUMU (casca). (B) Extratos metanólicos obtidos por Soxhlet: FUMS (folha) e CUMS (casca). (C) Extratos hexânicos obtidos por Soxhlet: FUHS (folha) e CUHS (casca). O quadrado amarelo indica as concentrações correspondentes à Concentração Inibitória Mínima (CIM) e à Concentração Fungicida Mínima (CFM). Controles: Csb, controle de crescimento (*S. brasiliensis*); Cmd, controle de solvente (meio + DMSO); Ca, controle com antifúngico (itraconazol 10 mg/mL).



Fonte: Elaborado pelos autores (2026).

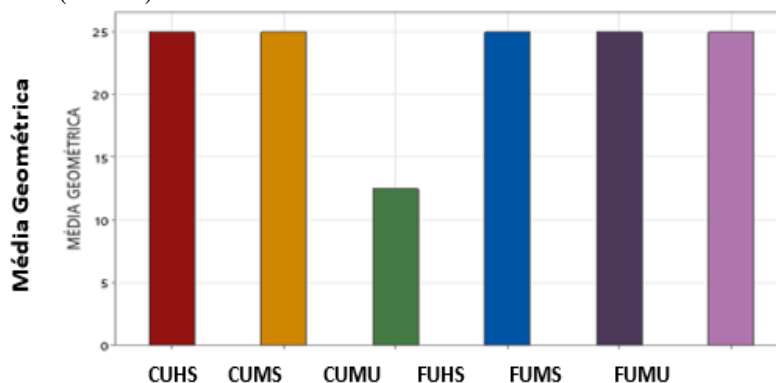
Tabela 4 – Concentrações inibitória mínima (MIC) e fungicida mínima (CFM) de extratos metanólicos e hexânicos de folhas e cascas de urucum contra *Sporothrix brasiliensis* filamentoso.

Fungo	Código de Identificação	CIM (µg/mL)	CFM (µg/mL)
<i>Sporothrix brasiliensis</i> (filamentoso)	FUMU	25	25
	CUMU	12,5	12,5
	FUMS	25	25
	CUMS	25	25
	FUHS	25	25
	CUHS	25	25

Fonte: Elaborado pelos autores (2026).

A análise estatística demonstrou que o extrato metanólico da casca de urucum obtido pelo método ultrassom (CUMU) apresentou a melhor atividade inibitória frente à forma filamentosa de *Sporothrix brasiliensis* com ($p < 0,001$), conforme ilustrado no Gráfico 2. Este extrato destacou-se por apresentar a menor média geométrica, em torno de 12,5, indicando que é eficaz em concentrações mais baixas para inibir o crescimento do fungo. Todos os outros extratos apresentaram média geométrica igual, não diferenciando o método nem o solvente, embora a atividade inibitória requer uma quantidade maior do composto para alcançar o mesmo efeito observado com o FUMS para forma leveduriforme.

Gráfico 2 – Média geométrica dos valores de concentração inibitória mínima (µg/mL) dos extratos metanólicos e hexânicos de folha (FUMU, FUMS, FUHS) e casca (CUMU, CUMS, CUHS) obtidos pelos. Extrato da casca de urucum hexano sohxlet (CUHS), Extrato da casca de urucum metanol sohxlet (CUMS), Extrato da casca de urucum metanol ultrassom (CUMU), Folha do urucum hexano sohxlet (FUHS), Extrato de urucum metanol sohxlet (FUMS), Folha do urucum metanol ultrassom (FUMU).



Fonte: Elaborado pelos autores (2026).

Os resultados deste estudo evidenciaram a ação antifúngica de extratos de folhas e cascas de *Bixa orellana* (urucum) contra *Sporothrix brasiliensis*, reforçando o potencial biotecnológico dessa espécie amazônica como fonte de metabólitos bioativos. A relevância dos achados é sustentada pelo fato de que, embora *B. orellana* seja amplamente reconhecida por suas aplicações industriais e uso tradicional, com descrição de múltiplas classes fitoquímicas e atividades farmacológicas (Vilar et al., 2014; Coelho dos Santos et al., 2022; Ashraf et al., 2023), permanecem limitados os estudos direcionados à atividade antifúngica frente a *Sporothrix* spp., especialmente quando utilizam-se

cascas como matriz vegetal. No presente conjunto de dados, essa lacuna é diretamente preenchida ao demonstrar que extratos provenientes de folhas e cascas apresentaram CIM/CFM mensuráveis contra as duas morfologias do patógeno, com destaque para FUMS (6,25 $\mu\text{g/mL}$ na levedura) e CUMU (12,5 $\mu\text{g/mL}$ na levedura e no filamentosos), indicando potencial promissor para bioprospecção (Coelho dos Santos et al., 2022).

No que se refere ao rendimento dos extratos, observou-se maior percentual para Soxhlet com hexano, atingindo 6,0% para folhas (FUHS) e 5,5% para cascas (CUHS). Esse resultado é compatível com a lógica do Soxhlet (refluxo e recirculação), favorecendo a extração de frações apolares e aumentando a massa recuperada em comparação a métodos mais brandos (Souza et al., 2022). Contudo, seus próprios resultados mostram que maior rendimento não se traduziu em maior potência antifúngica, pois justamente o extrato hexânico de casca por Soxhlet (CUHS), apesar do bom rendimento (5,5%), apresentou a pior resposta frente à levedura (CIM/CFM = 50 $\mu\text{g/mL}$). Assim, sugere-se que a extração com solvente apolar recuperou maior quantidade de material, porém com menor enriquecimento dos compostos bioativos relevantes para a atividade anti-*Sporothrix*.

Esse contraste entre rendimento e atividade também é coerente com a literatura sobre extração de urucum, que frequentemente reporta rendimentos muito superiores quando o foco é pigmentos em sementes e em frações lipofílicas, com técnicas e solventes direcionados. Nobre et al. (2006) reportaram rendimento de 30% na extração supercrítica associada a etanol, e Chuyen e Eun (2021) observaram 44% utilizando acetona; ainda que esses números não sejam diretamente comparáveis aos deste estudo (por envolverem sementes e objetivos distintos), eles ilustram como o método, o solvente e o tecido vegetal modulam simultaneamente rendimento e composição (Nobre et al., 2006; Chuyen e Eun, 2021; Aluko, 2024). No seu caso, a maior potência antifúngica concentrou-se nos extratos metanólicos, mostrando que, para folhas e cascas, o critério de seleção do extrato mais promissor deve priorizar o CIM/CFM, e não apenas o rendimento.

A avaliação por microdiluição em caldo evidenciou que a atividade antifúngica foi mais pronunciada nos extratos metanólicos, sobretudo contra a forma leveduriforme de *S. brasiliensis*. O extrato metanólico de folha obtido por Soxhlet (FUMS) foi o mais potente, com CIM/CFM de 6,25 $\mu\text{g/mL}$, enquanto o extrato metanólico de casca obtido por ultrassom (CUMU) apresentou CIM/CFM de 12,5 $\mu\text{g/mL}$. Em contraste, extratos como FUMU, CUMS e FUHS exibiram CIM/CFM de 25 $\mu\text{g/mL}$, e o CUHS atingiu 50 $\mu\text{g/mL}$, evidenciando queda de potência principalmente nas frações apolares. Como a fase leveduriforme se relaciona à forma parasitária associada às infecções em mamíferos, a identificação de extratos com efeito fungicida em baixa concentração (como FUMS com CFM = CIM) é particularmente relevante (Rodrigues et al., 2022;

Xavier et al., 2023).

Na forma filamentosa, a discriminação entre tratamentos foi menor, mas um padrão permaneceu: CUMU novamente apresentou o melhor resultado (CIM/CFM de 12,5 µg/mL), enquanto FUMU, FUMS, CUMS, FUHS e CUHS se agruparam em 25 µg/mL. Esse perfil sugere que, no intervalo de concentrações testado, a fase micelial pode ser menos sensível às variações do extrato ou apresentar um “teto” de efeito para a maioria das amostras, mas, ainda assim, evidencia que a combinação casca + metanol + ultrassom gera um extrato mais consistente entre as morfologias. Além disso, a diferença entre CUMU (12,5 µg/mL) e CUMS (25 µg/mL) na levedura indica que, especificamente para casca, o ultrassom pode ter preservado/otimizado a recuperação de compostos bioativos em comparação ao Soxhlet, possivelmente por reduzir degradação térmica associada ao refluxo (Souza et al., 2022), o que aparece refletido diretamente nos seus valores de CIM/CFM.

A superioridade dos extratos metanólicos observada nos seus dados (FUMS e CUMU) é biologicamente plausível considerando o perfil fitoquímico descrito para *B. orellana*. Revisões apontam a presença de flavonoides, polifenóis, taninos, quinonas, terpenoides, alcaloides e carotenoides (bixina/norbixina), além de tocotrienóis (Vilar et al., 2014; Coelho dos Santos et al., 2022; Shahid-ul-Islam et al., 2016; Rodrigues et al., 2007). Como o metanol favorece a extração de fenólicos e flavonoides, seus resultados sugerem que esses grupos podem estar mais relacionados ao efeito antifúngico observado do que as frações apolares recuperadas em hexano. Isso se alinha a mecanismos descritos para tais classes: fenólicos/taninos podem afetar integridade de membrana e interação com proteínas, flavonoides podem complexar enzimas essenciais, e alcaloides podem interferir em processos estruturais, culminando em redução de viabilidade (Karmakar et al., 2018; Yan et al., 2021). No seu conjunto experimental, o fato de FUMS apresentar CFM igual à CIM na levedura (6,25 µg/mL) é compatível com um efeito fungicida precoce, potencialmente relacionado a mecanismos que comprometam estruturas essenciais, como a membrana e a parede celular.

Quando comparados à literatura, seus dados também seguem o padrão de variação da atividade antimicrobiana do urucum conforme solvente, parte vegetal e metodologia. Estudos com folhas já haviam demonstrado atividade antifúngica contra dermatófitos e *Candida* sp. (Freixa et al., 1998; Irobi et al., 1996; Singh e Vidyasagar, 2017; Penna et al., 1994), mas o seu estudo avança ao quantificar CIM/CFM por microdiluição e direcionar o ensaio a *S. brasiliensis*, espécie de elevada relevância sanitária e associada a surtos zoonóticos (Rodrigues et al., 2022; Xavier et al., 2023; Poester et al., 2024). Além disso, sua comparação interna entre matrizes (folha vs casca) evidencia que a casca pode ser tão relevante quanto a folha, pois CUMU se manteve entre os melhores extratos em ambas as morfologias (12,5 µg/mL), reforçando a importância de investigar

tecidos vegetais menos explorados.

Do ponto de vista clínico-epidemiológico, a ligação com a necessidade de novas alternativas antifúngicas é direta: *S. brasiliensis* está associada à expansão da esporotricose e há relatos de redução de suscetibilidade/resistência antifúngica em *Sporothrix* spp., incluindo resistência ao itraconazol, especialmente em casos felinos (Waller et al., 2021; Nakasu et al., 2021). Nesse contexto, seus extratos mais potentes — FUMS (6,25 µg/mL na levedura) e CUMU (12,5 µg/mL na levedura e no filamentosos) — destacam-se como pontos de partida para prospecção de moléculas, sobretudo por apresentarem efeito fungicida (CFM) em concentrações baixas no intervalo testado. A diferença marcante observada para CUHS (50 µg/mL na levedura), apesar do bom rendimento, reforça ainda mais que a priorização deve recair sobre extratos com melhor perfil de CIM/CFM.

Por fim, os próprios padrões internos do seu conjunto de dados direcionam os próximos passos: como FUMS apresentou maior atividade antifúngica na levedura, o fracionamento guiado por bioatividade desse extrato tende a maximizar a chance de isolar compostos ativos; como CUMU foi o melhor e mais estável entre morfologias, ele é candidato robusto para caracterização química e validação em mais isolados. Além disso, a discrepância entre alto rendimento do hexano/Soxhlet e baixa potência antifúngica (CUHS com CIM/CFM = 50 µg/mL) indica que investigações químicas devem priorizar frações polares e semi-polares, em linha com o que se conhece sobre extração e perfil de metabólitos em *B. orellana* (Souza et al., 2022; Coelho dos Santos et al., 2022; Aluko, 2024). Em síntese, seus resultados sustentam *B. orellana* como fonte promissora de metabólitos antifúngicos anti-*Sporothrix*, especialmente em extratos metanólicos de folha (Soxhlet) e de casca (ultrassom), e justificam o avanço para a identificação de compostos, a avaliação de citotoxicidade/seletividade e a validação em séries adicionais de isolados de *S. brasiliensis*.

4 CONCLUSÃO

Foram determinadas as Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) e as Concentrações Fungicidas Mínimas (CFM) dos extratos de folhas e cascas de *Bixa orellana* frente a *Sporothrix brasiliensis* nas formas leveduriforme e filamentosa. Na forma leveduriforme, os melhores resultados foram obtidos com o extrato metanólico de folha por Soxhlet (FUMS), com CIM/CFM de 6,25 µg/mL, e com o extrato metanólico de casca por ultrassom (CUMU), com CIM/CFM de 12,5 µg/mL, evidenciando efeito fungicida em baixas concentrações. Na forma filamentosa, o extrato CUMU apresentou o melhor desempenho (CIM/CFM de 12,5 µg/mL), enquanto os demais extratos exibiram atividade semelhante entre si (CIM/CFM de 25 µg/mL), independentemente do método de extração e do solvente empregado.

Em conjunto, os dados indicam que *B. orellana* constitui uma fonte promissora de metabólitos com atividade anti-*Sporothrix*, sobretudo em extratos metanólicos de folha (Soxhlet) e de casca (ultrassom). Em relação às limitações da pesquisa, este estudo foi conduzido com um único isolado de *Sporothrix brasiliensis*, o que limita a generalização dos achados para outros isolados e contextos. Além disso, foram avaliados extratos brutos de *Bixa orellana*, sem identificação dos metabólitos responsáveis pela atividade, o que limita as inferências mecanísticas. A determinação de CIM/CFM por microdiluição, com leitura por resazurina ou avaliação visual, pode introduzir variações na interpretação, sobretudo em inibições parciais. Por se tratar de ensaio *in vitro*, não foram avaliadas a citotoxicidade, a seletividade e os parâmetros de segurança/eficácia em condições biológicas complexas. Sendo assim, estudos futuros devem ampliar o número de isolados avaliados e avançar para a prospecção fitoquímica, com fracionamento guiado pela bioatividade, caracterização dos compostos ativos e investigações de mecanismos de ação, de seletividade e de segurança. Esses esforços poderão subsidiar o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas para o manejo da esporotricose humana e animal no Brasil.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com o apoio das agências de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM). Agradecimentos também são dirigidos ao Programa de Pós-Graduação em Biologia da Interação Patógeno-Hospedeiro (PPGBio - Interação) do Instituto Leônidas e Maria Deane - ILMD/Fiocruz Amazônia, em parceria com a Coleção de fungos da Amazônia (CFAM) - ILMD/Fiocruz Amazônia, à Dra. A Aní Beatriz Jackisch Matsuura, pela cessão da cepa de *Sporothrix brasiliensis*, e à Universidade Federal do Amazonas (UFAM).

REFERÊNCIAS

- Aluko E. Ethanol-Based Extraction of Annatto (*Bixa Orellana* L.) and Characterization of the Bixin and Norbixin. *ACS Omega*. 23 de abril de 2024;9(16):18273–7.
- Alvarez CM, Oliveira MME, Pires RH. Sporotrichosis: A Review of a Neglected Disease in the Last 50 Years in Brazil. *Microorganisms*. 30 de outubro de 2022;10(11):2152.
- Ashraf A, Ijaz MU, Muzammil S, Nazir MM, Zafar S, Zihad SMNK, et al. The role of bixin as antioxidant, anti-inflammatory, anticancer, and skin protecting natural product extracted from *Bixa orellana* L. *Fitoterapia*. setembro de 2023;169:105612.
- Brilhante RSN, Malaquias ÂDM, Caetano ÉP, Castelo-Branco DDSCM, Lima RACD, Marques FJDF, et al. In vitro inhibitory effect of miltefosine against strains of *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* and *Sporothrix* spp. *Medical Mycology*. 1o de abril de 2014;52(3):320–5.
- Chuyen HV, Eun JB. Effects of different extraction methods on the extraction yield, degradation of bixin and formation of harmful volatile compounds in the extracts from annatto seeds. *Food Res*. 7 de novembro de 2021;5(6):42–8.
- CLSI M27-A3-Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard—Third Edition. CLSI document M27-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008.
- Coelho Dos Santos D, Silva Barboza AD, Ribeiro JS, Rodrigues Junior SA, Campos ÂD, Lund RG. *Bixa orellana* L. (Achiote, Annatto) as an antimicrobial agent: A scoping review of its efficiency and technological prospecting. *Journal of Ethnopharmacology*. abril de 2022;287:114961.
- CLSI M38-A2-Clinical and Laboratory Standards Institute. Method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. 2nd ed. Approved standard. CLSI document M38-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- Freixa, B., Roser, V., Vargas, L., Lozano, N., Adzet, T., Cañigual, S., 1998. Screening for antifungal activity of nineteen Latin American plants. *Phytotherapy Research*. 12, 427–430.
- Fundação De Vigilância Em Saúde Do Amazonas - Dr^a Rosemary Costa Pinto (FVS-RCP 2026). Boletim epidemiológico da esporotricose humana e animal no estado do Amazonas. [25 de janeiro 2026];. Disponível em: <https://www.fvs.am.gov.br/publicacoes#>
- Irobi, O. N., Moo-Young, M., & Anderson, W. A. (1996). Antimicrobial Activity of Annatto (*Bixa orellana*) Extract. *International Journal of Pharmacognosy*, 34(2), 87–90.
- Kar, B. Chandar, S.S. Rachana, H. Bhattacharya, D. Bhattacharya .Antibacterial and genotoxic activity of *Bixa orellana*, a folk medicine and food supplement against multidrug resistant clinical isolates *J. Herb. Med.*, 100502 (2021).
- Karmakar, U.K.; S. Sultana, S. Nishi, N.N. Biswas, L. Hossain, S. Sheikh Antioxidant, analgesic, antimicrobial, and anthelmintic activity of the dried seeds of *Bixa orellana* (L) *Int. J. Pharm.* (Hyderabad, India), 8 (2018), pp. 150-163.
- Marimon R, Cano J, Gené J, Sutton DA, Kawasaki M, Guarro J. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, Three New *Sporothrix* Species of Clinical Interest. *J Clin Microbiol*. outubro de 2007;45(10):3198–206.

Miranda, B. N. de; Abreu, F. dos S. de; Souza, J. G. T. dos S.; Branco, M. C. Esporotricose cutânea felina: um estudo sobre a conscientização e o comportamento dos tutores: uma pesquisa de campo. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, v. 8, n. 4, e82985, 2025.

Nakasu CCT, Waller SB, Ripoll MK, Ferreira MRA, Conceição FR, Gomes ADR, et al. Feline sporotrichosis: a case series of itraconazole-resistant *Sporothrix brasiliensis* infection. *Braz J Microbiol.* março de 2021;52(1):163–71.

Nobre BP, Mendes RL, Queiroz EM, Pessoa FLP, Coelho JP, Palavra AF. Supercritical carbon dioxide extraction of pigments from *Bixa orellana* seeds (experiments and modeling). *Braz J Chem Eng.* junho de 2006;23(2):251–8.

Penna C, A, Radice M, Gutkind GO, et al. Atividades antibacterianas e antifúngicas de algumas plantas argentinas. *Fitoterapia.* 1994;65(2):172–174.

Pereira Da Silva Junior JP, Da Costa Nogueira J, Rocha Gomes W, Freitas ADGD. Avaliação In Vitro do Potencial Antimicrobiano de Extratos do Urucum (*Bixa orellana* L.). *UNICIÊNCIAS.* 13 de dezembro de 2023;27(2):130–3.

Poester VR, Xavier MO, Munhoz LS, Basso RP, Zancopé-Oliveira RM, Freitas DFS, et al. *Sporothrix brasiliensis* Causing Atypical Sporotrichosis in Brazil: A Systematic Review. *JoF.* 13 de abril de 2024;10(4):287.

Rodrigues AM, Gonçalves SS, De Carvalho JA, Borba-Santos LP, Rozental S, Camargo ZPD. Current Progress on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment of Sporotrichosis and Their Future Trends. *JoF.* 26 de julho de 2022;8(8):776.

Rodrigues SM, Soares VLF, De Oliveira TM, Gesteira AS, Otoni WC, Costa MGC. Isolation and Purification of RNA from Tissues Rich in Polyphenols, Polysaccharides, and Pigments of Annatto (*Bixa orellana* L.). *Mol Biotechnol.* novembro de 2007;37(3):220–4.

Shahid-ul-Islam, Rather LJ, Mohammad F. Phytochemistry, biological activities and potential of annatto in natural colorant production for industrial applications – A review. *Journal of Advanced Research.* maio de 2016;7(3):499–514.

Singh, P., Vidyasagar, G., 2017. Antidermatophytic activity of young leaves methanolic extract of *Bixa orellana*. *Biology.* 212601720.

Souza RR, Gasparoti PS, De Paula JAM. Obtenção de extratos de plantas medicinais: uma revisão de escopo dos métodos extrativos modernos em comparação ao método clássico por soxhlet. *Movimenta.* 16 de maio de 2022;15(1):e20220013.

Sumathi P.; Parvathi, A. Antibacterial potential of the aqueous and organic extracts of *Bixa orellana* L. *Int. J. Pharma Bio Sci.*, 2 (2011), pp. 193-202.

Teixeira MF, Jackisch-Matsuura AB, Soares CSS. *Micologia Médica - Manual de Laboratório.* Vol. 1. 1999. 128 p.

Venugopalan, A.; Giridhar, P. Bacterial growth inhibition potential of annatto plant parts *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 2 (3) (2012), pp. S1879-S1882.

Vilar DDA, Vilar MSDA, Moura TFADLE, Raffin FN, Oliveira MRD, Franco CFDO, et al. Traditional Uses, Chemical Constituents, and Biological Activities of *Bixa orellana* L.: A Review. *The Scientific World Journal*. 2014;2014:1–11.

Waller SB, Dalla Lana DF, Quatrin PM, Ferreira MRA, Fuentefria AM, Mezzari A. Antifungal resistance on *Sporothrix* species: an overview. *Braz J Microbiol*. março de 2021;52(1):73–80.

Waller, S.B.; Dalla Lana, D.F; Quatrin, P.M. et al. resistência antifúngica na *Sporothrix* espécie *Sporothrix*: uma visão geral. *Braz J Microbiol* 52, 73–80 (2021).

Xavier MO, Poester VR, Trápaga MR, Stevens DA. *Sporothrix brasiliensis*: Epidemiology, Therapy, and Recent Developments. *JoF*. 13 de setembro de 2023;9(9):921.

Yan, Y; X. Li, C. Zhang, L. Lv, B. Gao, M. Li. Research progress on antibacterial activities and mechanisms of natural alkaloids: a review *Antibiotics*, 10 (3) (2021), p. 318.