



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

LAEDJA MARIA BARBOSA FERREIRA

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO
DE *Sida ciliaris* Linné (MALVACEAE)**

CUITÉ – PB
2016

LAEDJA MARIA BARBOSA FERREIRA

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO
DE *Sida ciliaris* Linné (MALVACEAE)**

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito obrigatório para obtenção do grau de Bacharel.

Orientador: Prof. Dr. Egberto Santos Carmo

CUITÉ – PB

2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Msc. Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

F383p Ferreira, Laedja Maria Barbosa.

Prospecção fitoquímica e avaliação do potencial antifúngico de *Sida ciliaris* Linné (MALVACEAE). / Laedja Maria Barbosa Ferreira. – Cuité: CES, 2016.

58 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2016.

Orientador: Dr. Egberto Santos Carmo.

1. Fungos. 2. *Sida ciliaris*. 3. Metabólicos secundários. I. Título.

LAEDJA MARIA BARBOSA FERREIRA

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL
ANTIFÚNGICO DE *Sida ciliaris* Linné (MALVACEAE)**

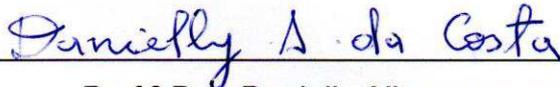
Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito obrigatório para obtenção do grau de bacharel em Farmácia.

Aprovada em 05 / 09 / 2016

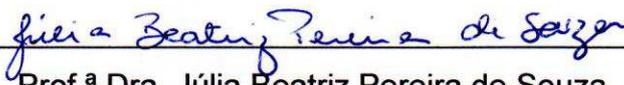
BANCA EXAMINADORA



Prof.. Dr. Egberto Santos Carmo (Orientador)



Prof.ª Dra. Danielly Albuquerque da Costa



Prof.ª Dra. Júlia Beatriz Pereira de Souza

DEDICATÓRIA

*Chegado este momento
De realização e vitória
Sinto tamanha alegria
Com sentimento de glória*

*Por vezes desanimei
Pensei em relutar
Mas foram suas palavras
Que me fizeram avançar*

*Sua garra, sua labuta
Sua força e seu amor
Impulsionaram meus sonhos
Por isso cheguei onde estou*

*Essa vitória te dedico
É minha e sua também
Grandes foram os desafios
Mas Deus me fez ir além*

(Laedja Maria)

Dedico este trabalho, minha carreira e conquistas acadêmicas à minha mãe Maria de Lourdes Barbosa Ferreira, pelo seu apoio incondicional, esforço, amor e sua dedicação na realização deste sonho. Obrigada Mãinha, estou feliz!

AGRADECIMENTOS

A Deus, autor do princípio, pelo dom da vida. Que planejou e planeja grandes coisas em minha vida. Sua proteção, misericórdia e amor foram meu escudo em todos os momentos. Senhor da vida, onipotente e fiel, não permitiu que me sentisse sozinha, esteve sempre ao meu lado me mostrando o caminho certo a seguir.

Aos meus pais, Ricarte Ferreira da Silva e Maria de Lourdes Barbosa Ferreira, pela dedicação e amor em mim depositados. Que formaram o meu caráter com educação, honestidade e justiça, sempre abdicando de suas próprias vontades para priorizar as minhas. Desde cedo alimentando em mim a necessidade do conhecimento.

À minha irmã Riedja Maria Barbosa Ferreira, minha melhor amiga, companheira de infância, razão do meu viver. Pelas suas palavras de força e incentivo, sua amizade, paciência e generosidade, sempre me ensinando a como ser uma pessoa melhor.

Em especial, à minha mãe, Maria de Lourdes Barbosa Ferreira, mulher admirável, autora de tantos benfeitos e de um coração incomparável. Por todo trabalho, noites de sono, desafios e coragem de lutar. Você para mim detém todo merecimento de aplausos, pela mãe amorosa, dedicada, conselheira e amiga, pela esposa amável e companheira, pelo ser humano incrível que és. Só nós duas sabemos o caminho para se chegar até aqui. Nada foi em vão e hoje te agradeço por tudo que fizestes por mim. Quisera eu chegar a ser ao menos metade da mulher que és. Te amo!

À José Ferreira da Silva (In Memoriam), meu estimável e amado avô, que sempre acreditou neste momento e em minha capacidade de conseguir alcançar meus objetivos. Vovô, esta vitória também é sua!

À Catarina Soares (In Memoriam) e José Barbosa da Silva (In Memoriam), avós maternos. Que nunca tiveram a oportunidade de aprender a gramática ou a

matemática, entretanto foram as pessoas mais sábias que tive a oportunidade de conhecer. Vocês, sem dúvidas, tem grande parcela de contribuição ao meu caráter.

À minha avó paterna, Maria Viana Ferreira, pelo seu auxílio nos momentos difíceis e palavras certas de incentivo.

À Monique Viana e Maria Ferreira Viana, a quem agradeço pelo incentivo, ajuda e amor que a mim sempre depositaram. Vocês foram grandes construtoras da ponte que me conduziu a essa realização.

À Cláudia Viana, que foi essencial e precisa no momento certo. Com sua alegria, bondade e coração generoso.

À Danilo Nunes, Luís Gustavo e Elton Pedro, que me mostram diariamente a verdadeira forma de amar: o amor puro e sincero de uma criança.

Ao meu primo Murilo Viana, irmão e amigo. Que compartilhou comigo tantos momentos e que sempre me proporcionou palavras e gestos de incentivo e carinho.

Aos meus familiares, os de perto e de longe. Sempre me apoiando com palavras e ações, incentivando meus sonhos e torcendo pelo meu sucesso.

Aos meus verdadeiros amigos, que foram pessoas tão presentes durante esta longa caminhada. Pelos momentos alegres ou difíceis, em que sempre estiveram ao meu lado, acreditando em mim e me fazendo acreditar em mim mesma.

À Andreia Lígia, minha madrinha, que antes do meu nascer já se fazia presente. Seu apoio e palavras com certeza foram essenciais para esta caminhada.

A Reyvid Felipe, pelo seu carinho, amor e preocupação para comigo. Bom ouvinte e conselheiro, detentor de tantas qualidades e de um coração puro. Sempre acreditando em mim, compreendendo-me e impulsionando meus sonhos com suas palavras e abraço sempre precisos.

Ao amigo Arlan de Souza, irmão que Cuité me presenteou. Você foi sem dúvidas, um amigo companheiro, preocupado e bondoso.

Ao meu orientador, Dr. Egberto Santos Carmo, pela confiança, apoio e dedicação na realização deste trabalho. Meus sinceros agradecimentos tanto na orientação como na trajetória em sala de aula.

À Dra. Danielly Albuquerque da Costa, minha querida mãe acadêmica. Por sua paciência, colaboração e amizade durante todo período acadêmico. Pelo seu apoio e cooperação nos anos de monitoria, sempre solícita e responsável. Pessoa na qual me espelho como ser humano e profissional.

À Dra. Júlia Beatriz Pereira de Souza, pela sua colaboração e avaliação neste trabalho.

À Denise Domingos da Silva, professora que sempre me apoiou na vida acadêmica, pela oportunidade do PIBIC e Monitoria e pela sua dedicação que instigou em mim o amor pela pesquisa.

Aos meus amados professores, construtores do aprender. Pelos ensinamentos, paciência e generosidade de transmitir conhecimentos e colaborar na minha formação acadêmica.

Aos meus colegas de sala de aula, companheiros de jornada e irmãos de graduação. Tantas coisas vivemos juntos, quantas alegrias e realizações. Agradeço pelo acolhimento e pela amizade verdadeira de cada um que compõe a família Farmácia 2016.1.

A todos que colaboraram para a realização deste trabalho de forma direta ou indireta, seja na palavra amiga e incentivadora ou na ajuda para a elaboração do mesmo.

À Universidade Federal de Campina Grande, que através de seus representantes propicia uma educação séria, ética e responsável.

Ao EJC (Encontro de Jovens com Cristo) Araçagi, que foi divisor de águas em minha vida por ser o caminho que me faz estar mais próximo de Deus. Pelo círculo Jovens Verdejantes e as grandes amizades que construí estando nesta família.

À Severina Medeiros e Alex de Lima, pelo apoio e carinho dedicados a mim durante minha permanência em Cuité.

Aos funcionários do Centro de Educação e Saúde, pessoas solícitas e sempre dispostas a propor o bem estar dos educando deste centro.

A todos aqueles que participaram ativamente da construção do meu conhecimento, pessoas que estiveram dispostos a estender a mão para me apoiar e que através de palavras, gestos e ações, contribuíram para que esse momento se realizasse.

Grata sou!

“O saber a gente aprende com os mestres e os livros. A sabedoria, se aprende é com a vida e com os humildes.”

Cora Carolina

RESUMO

A terapia com uso de plantas medicinais tem intensificado as pesquisas voltadas aos estudos fitoquímicos. Associado a esse fato, o aumento da resistência de micro-organismos patogênicos frente aos fármacos de origem sintética, instiga a pesquisa para obtenção de novos antimicrobianos. A *Sida ciliaris* L. é uma espécie da família Malvaceae, presente no Curimataú paraibano e que não apresenta estudos fitoquímicos relatados na literatura. Este fato, associado à busca por substâncias ativas justifica a realização do presente trabalho que teve por objetivo realizar a triagem fitoquímica e avaliação da atividade antifúngica de *Sida ciliaris* L. Os testes químicos foram realizados para identificação das classes de terpenos, esteroides, saponinas, alcaloides, flavonoides e taninos, enquanto a avaliação da atividade antifúngica foi realizada frente às cepas de *Aspergillus flavus*, *Candida tropicalis*, *Trichosporon inkin*, *Rhizopus oryzae*, *Rhodotorula spp.* e *Trichophyton spp.* A análise da composição química da *S. ciliaris* L. identificou classes de compostos de grande importância biológica, destacando-se os esteroides, taninos e alcaloides. Quanto à atividade antifúngica da espécie em questão, esta mostrou-se ausente para todos os micro-organismos testados.

Palavras chave: *Sida ciliaris* L., metabólitos secundários, fungos.

ABSTRACT

The therapy with medicinal plants has intensified the reserches about photochemical studies. Associated with this fact, the increase of the pathogenic microorganism resistance in synthetic drugs, instigates the investigation for obtaining new antimicrobials. The *Sida ciliaris* L. is a species of Malvaceae Family, it is present in Curimataú of the Paraíba, and does not have herbal analysis in the literature. This fact, related to active substances, justifies the realization of this work, it aims achieving a phytochemical screening and evaluating the antifungal activity of the Sida Ciiaris L. The chemical tests was be conducted to identify the terpene, steroid, saponin, alkaloid, flavonoid and tannin classes, while the antifungal activity evaluation will be conducted with the *strains Aspergillus flavus, Candida tropicalis, Trichosporon inkin, Rhizopus oryzae, Rhodotorula spp.e Trichophyton spp.* Analysis of the chemical composition of S. ciliaris L. identified classes of compounds of biological importance such as steroids, tannins and alkaloids. As for the antifungal activity of the species concerned, this proved to be absent for all tested microorganisms.

Key words: *Sida ciliaris* L.,secondary metabolites, fungi.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura do triterpeno lupeol	21
Figura 2: Estrutura básica das saponina	22
Figura 3: Estrutura básica dos flavonoides	23
Figura 4: Estrutura básica de alcaloides	24
Figura 5: <i>Sida ciliaris</i> Linné (Malvaceae)	27
Figura 6: Reação de Liebermann-Buchard em <i>Sida ciliaris</i> L.	40
Figura 7: Reação de Liebermann-Buchard em esteroides	41
Figura 8: Teste de espuma em <i>Sida ciliaris</i> L.	42
Figura 9: Reação de Shinoda em <i>Sida ciliaris</i> L.	43
Figura 10: Reação com Dragendorff em <i>Sida ciliaris</i> L.	45
Figura 11: Reação com gelatina em <i>Sida ciliaris</i> L.	46
Figura 12: Triagem antifúngica de <i>Sida ciliaris</i> L.	48

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Fungos utilizados para o teste de atividade antifúngica	32
Quadro 2: Análise qualitativa da prospecção fitoquímica de <i>Sida ciliaris</i> L.	39

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Reações características para metabólitos secundários	33
Esquema 2: Teste de caracterização para triterpenos e esteroides	34
Esquema 3: Teste de caracterização para saponinas	35
Esquema 4: Teste de caracterização para flavonoides	36
Esquema 5: Teste de caracterização para alcaloides	37
Esquema 6: Teste de caracterização para taninos	37
Esquema 7: <i>Screening</i> fúngico	38

LISTA DE ABREVIATURAS, FÓRMULAS E SÍMBOLOS

CHCl_3	Clorofórmio
E.E.B.	Extrato Etanólico Bruto
EtOH	Etanol ou Álcool Etílico
HCl	Ácido clorídrico
H_2SO_4	Ácido sulfúrico
L	Litros
L.	Linné
min	Minuto
s	Segundos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
Na_2CO_3	Carbonato de sódio
S.I.	Sistema Internacional de Nomenclatura
spp	Espécies
°C	Graus Celsius
μL	Microlitro
%	Percentual
$[\text{BiI}_4]^-$	Iodeto de bismuto
$[\text{HNR}_3]$	Radical amina
H_2O	Água destilada
$\text{K}(\text{BiI}_4)$	Tetraiodo de bismuto e potássio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
1.1	Objetivo Geral	17
2.2	Objetivos específicos.....	17
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
3.1	Produtos naturais.....	18
3.2	Metabolismo vegetal	19
3.2.1	Origem e classificação	19
3.2.2	Classificação dos metabólitos secundários.....	20
3.2.2.1	Terpenos.....	20
3.2.2.2	Esteroides.....	21
3.2.2.3	Saponinas.....	22
3.2.2.4	Flavonoides	22
3.2.2.5	Alcaloides	24
3.2.2.6	Taninos.....	25
3.3	Aspectos gerais da família Malvaceae	25
3.4	Aspectos gerais do gênero <i>Sida</i>	26
3.5	Aspectos gerais da espécie <i>Sida ciliaris</i> L.	27
3.6	Atividade antifúngica de produtos naturais.....	27
3.7	Micro-organismos fúngicos de importância clínica.....	28
3.7.1	<i>Aspergillus flavus</i>	28
3.7.2	<i>Candida Tropicalis</i>	29
3.7.3	<i>Trichosporon inkin</i>	29
3.7.4	<i>Rhizopus oryzae</i>	30
3.7.5	<i>Rhodotorulla</i> spp.	30
3.7.6	<i>Trichophyton</i> spp.....	30
4	METODOLOGIA	31
4.1	Material.....	31
4.1.1	Material vegetal.....	31

4.1.2	Material de extração, evaporação, medida de massa e solubilização	31
4.1.3	Material para triagem fitoquímica	31
4.1.4	Micro-organismos testes	32
4.2	Métodos.....	32
4.2.1	Identificação da espécie vegetal	32
4.2.2	Obtenção do material em pó e do extrato etanólico bruto.....	32
4.2.3	Obtenção do extrato etanólico bruto	33
4.2.4	Caracterização da triagem fitoquímica.....	33
4.2.5	Testes para caracterização dos metabólitos secundários.....	33
4.2.5.1	<i>Triterpenos e esteroides</i>	34
4.2.5.2	<i>Saponinas</i>	35
4.2.5.3	<i>Flavonoides</i>	35
4.2.5.4	<i>Alcaloides</i>	36
4.2.5.5	<i>Taninos</i>	37
4.2.6	Triagem antifúngica.....	38
4.2.6.1	<i>Pesagem do E.E.B.</i>	38
4.2.6.2	<i>Método de difusão em disco</i>	38
5	RESULTADOS.....	39
5.1	Triterpenos e Esteroides	40
5.2	Saponinas	42
5.3	Flavonoides	43
5.4	Alcaloides	44
5.5	Taninos.....	46
5.6	Teste de avaliação da atividade antifúngica	48
6	CONCLUSÃO	50
	REFERÊNCIAS.....	51

1 INTRODUÇÃO

O uso de vegetais com finalidade terapêutica tem contribuído de forma significativa para o estudo e pesquisa de constituintes químicos que compõem as plantas. Esses constituintes podem ser identificados mediante estudo químico das espécies vegetais. Dessa forma, o estudo fitoquímico objetiva conhecer e identificar os constituintes presentes nas espécies vegetais através de testes específicos e confirmar, na maioria das vezes, o uso popular (SILVA, 2013).

O uso de plantas medicinais como alternativa terapêutica vem atraindo cada vez mais a população e este crescimento requer dos pesquisadores um maior empenho, no intuito de fornecer informações relativas à correta identificação, as características de produção das espécies vegetais (LUZ, 2014).

O Brasil, com a grandeza de seu litoral, de sua flora e, sendo o detentor da maior floresta equatorial e tropical úmida do planeta, apresenta grande vocação para os produtos naturais (PINTO, 2002), sendo portanto, o país com a maior diversidade genética vegetal do mundo, contando com cerca de 100 mil espécies, das quais menos de 1% foram estudadas sob o ponto de vista medicinal (SILVA, 2013), onde o Nordeste brasileiro se apresenta como um dos polos mundiais de biodiversidade mais importante do planeta (FREITAS, 2009).

A importância dos organismos vegetais como fontes de obtenção de substâncias com atividades biológicas instigaram interesses sociais e econômicos, superando obstáculos na construção de cenário crescente, incentivando, inclusive, o interesse das lideranças industriais empenhadas na fabricação de produtos sintéticos (BRAZ FILHO, 2010).

Os vegetais, por sua vez, possibilitam a extração de inúmeras substâncias, em que a maioria delas tem papel importante pela aplicabilidade na alimentação, saúde e agricultura (SILVA; MIRANDA; DA CONCEIÇÃO, 2010).

A fim de conhecer e obter os componentes químicos presentes nas espécies vegetais faz-se necessário proceder a análise fitoquímica (LUZ, 2014).

A família Malvaceae, com predominância herbácea, possui representantes de valor econômico consideráveis no Brasil (BOVINI et al., 2010). Com base no uso tradicional, esta família reporta grande valor fitoterapêutico (MEIRA NETO; ALMEIDA, 2015). Muitos estudos voltados para espécies de Malvaceae relatam seu uso na medicina popular em que citam-se *Malva sylvestris* L. com atividade anti-inflamatória (GIOMBELLI; HORN; COLACITE, 2012; CARRIÓ, 2012); atividade antioxidante para *Pavonia varians* (LEAL, 2007) e uso em doenças respiratórias de *Gossypium arboreum* L. (MEIRA NETO; ALMEIDA, 2015).

Ao longo dos últimos anos, a ocorrência de infecções fúngicas humanas vem apresentando um aumento expressivo e devido o fato de fármacos utilizados na terapia antifúngica causarem resistências nas espécies fúngicas, há um aumento contínuo de pesquisas envolvendo a busca por novos antifúngicos, que apresentem maior potência e segurança (FENNER et al., 2006).

Dentro deste contexto, este trabalho se propôs a realizar uma prospecção química e antifúngica de *Sida ciliaris* L., espécie que ainda não apresenta estudos químicos e microbiológicos relatados na literatura e que possui grande representação no Curimataú paraibano. Tal estudo apresenta-se com grande relevância, tendo em vista a busca atual por novos bioativos com ação antimicrobiana, devido ao aumento da resistência de micro-organismos patogênicos aos produtos sintéticos.

2 OBJETIVOS

1.1 Objetivo Geral

Realizar a prospecção fitoquímica e avaliação do potencial antifúngico de *Sida ciliaris* L. (Malvaceae) a partir do extrato etanólico bruto.

2.2 Objetivos específicos

- Obter o extrato etanólico bruto de *Sida ciliaris* L.
- Identificar as classes de metabólitos secundários presentes em *Sida ciliaris* L. a partir da prospecção fitoquímica;
- Avaliar a atividade antifúngica de *Sida ciliaris* L. frente cepas de *Aspergillus flavus*, *Candida tropicalis*, *Trichosporon inkin*, *Rhizopus oryzae*, *Rhodotorula spp.* e *Trichophyton spp.*

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Produtos naturais

Desde a antiguidade o homem busca meios alternativos e facilitadores para sua sobrevivência e adaptação. Para superar as doenças e males que os acometiam, sempre fizeram o uso de plantas e animais na tentativa de amenizar os problemas relacionados com a saúde (SIMÕES et al., 2010). Os produtos naturais, são portanto, alternativas utilizadas até os tempos atuais através do seu uso direto ou como base para elaboração de novos medicamentos (SOUZA et al., 2013).

Vale ressaltar o importante valor econômico pela utilização desses produtos naturais em alimentos, cosméticos e na indústria farmacêutica, em que grande número desses compostos que foram utilizados na medicina tradicional como remédios, ainda são utilizados nos dias atuais como gomas, resinas, drogas, corantes, etc (GARCIA; CARRIL, 2009). Os produtos naturais representam, portanto, alternativas econômicas positivas para a sociedade. Devido a tais constatações, os produtos naturais e seus derivados sempre tiveram e continuam tendo importância crucial em determinados setores de uma sociedade moderna, mesmo considerando-se o grande número de produtos produzidos por síntese (MONTANARI; BOLZANI, 2001).

Devido ao crescimento da resistência de micro-organismos patogênicos sobre os produtos sintéticos, intensificou-se a procura por novos agentes antimicrobianos a partir de extratos de origem vegetal, uma vez que os mesmos representam uma vasta fonte de substituintes ativos devido a grande diversidade de moléculas com potencial medicinal (BARBOSA FILHO, 2007).

O Brasil dispõe de 25% da biodiversidade do planeta Terra, possuindo um grande potencial de produção de fármacos a partir da extração de princípios ativos de plantas (RIBEIRO; GUIMARÃES, 2013). Dessa forma, a flora brasileira apresenta vasta biodiversidade de espécies vegetais que ainda não tem relatada suas atividades biológicas (LÔBO et al, 2010).

3.2 Metabolismo vegetal

3.2.1 Origem e classificação

O metabolismo é o nome dado ao conjunto de reações químicas que estão ocorrendo em cada célula. Dessa forma, o metabolismo vegetal corresponde às reações que as células vegetais apresentam para síntese de substâncias que são coordenadas pelas rotas metabólicas, sendo estas direcionadas pela presença de enzimas específicas (SIMÕES et al., 2010).

Os constituintes presentes nos produtos naturais são classificados em metabólitos primários e secundários. Os primários são derivados do metabolismo geral e apresentam ocorrência durante toda a vida do vegetal, com isso, são responsáveis pela origem das espécies, enquanto os secundários, que são biossintetizados a partir dos primários, se caracterizam por desempenhar funções específicas, ocorrerem esporadicamente, manifestando-se apenas durante fases específicas de organismo que o produz e estão relacionados com a sobrevivência e perpetuação da espécie vegetal (LOPES; SOUZA; MELO, 2011).

A bioquímica investiga a química dos produtos naturais do metabolismo primário, responsáveis pela síntese de substâncias que são distribuídas amplamente nos seres vivos: lipídeos, aminoácidos, carboidratos, proteínas, ácidos nucleicos e polissacarídeos. Enquanto os produtos naturais do metabolismo secundário são investigados pela química, sendo as substâncias produzidas por esse metabolismo mais características dos grupos taxonômicos, como a família e o gênero (PEREIRA, 2012).

Os metabólitos ditos primários estão relacionados diretamente à manutenção da vida dos organismos vegetais, enquanto os metabólitos secundários são responsáveis pela produção, transformação e acúmulo de substâncias que não estão necessariamente relacionadas de forma direta à manutenção da vida do organismo vegetal, estando restritos a determinado grupo (SILVA, 2004).

As plantas suprem sua capacidade de produzir metabólitos secundários para integrar o mecanismo de defesa contra agressões, tais metabólitos são substâncias de baixo peso molecular que integram o processo de adaptação

das plantas ao seu ambiente (JIMÉNEZ; DUCOING; SOSA, 2003). Além disso, determinados produtos do metabolismo secundário apresentam papel específico, fornecendo cor para flores e frutos, função essencial na reprodução e proteção contra insetos ou herbívoros (GARCIA; CARRIL, 2009).

Os metabólitos secundários vegetais destacam-se também na área da farmacologia devido a seus efeitos biológicos sobre a saúde da espécie humana (PEREIRA, 2012). Portanto, a importância dos metabólitos secundários é baseada nos efeitos farmacológicos, possibilitando o desenvolvimento de novos medicamentos, como por exemplo, a utilização de extratos de plantas com atividade antimicrobiana que são de grande valia para fins medicinais (SILVA, 2004).

3.2.2 Classificação dos metabólitos secundários

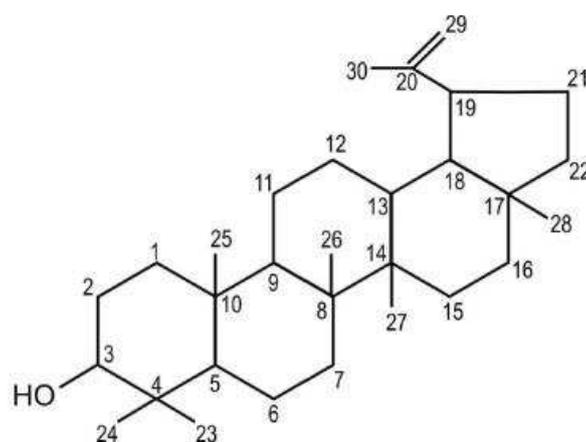
Das principais classes de metabólitos secundários com interesse farmacológico, destacam-se: terpenos, esteroides, saponinas, flavonoides, alcaloides e taninos.

3.2.2.1 *Terpenos*

Essa classe constitui o grupo mais numeroso do metabolismo secundário (GARCIA; CARRIL, 2009). Derivam-se da fusão de carbonos, sendo classificados de acordo com o número de isoprenos que constituem a molécula. (JIMÉNEZ; DUCOING; SOSA, 2004).

O número de unidades de isoprenos incorporadas em determinado terpeno serve como base para a classificação desses compostos. Dessa forma, os monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos e os tetraterpenos possuem 2, 3, 4, 6 ou 8 unidades de isopreno, respectivamente (SILVA, 2011). A maioria deles contém de 10 a 30 átomos de carbono em sua estrutura (Figura 1, p. 21) (SILVA; LIMA, 2016).

Figura 1: Estrutura do triterpeno lupeol



Fonte: Própria autora, 2016.

Os terpenos estão distribuídos amplamente na natureza e são encontrados em abundância nas plantas superiores, sendo também encontrados em menor quantidade em fungos e organismos marinhos (SILVA, 2011). Muitos terpenos apresentam importância comercial para utilização como aromas e fragrâncias em alimentos e cosméticos, além da importância medicinal por suas propriedades anticancerígenas, antiúlcera, antimicrobiano e antimalárico (GARCIA; CARRIL, 2009).

3.2.2.2 Esteroides

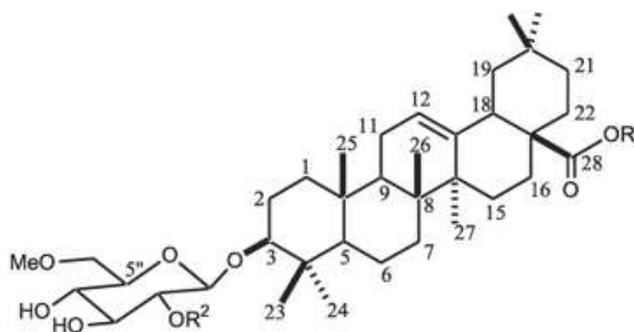
Os esteroides vegetais são compostos com 28 ou 29 carbonos, diferenciado do colesterol (27 carbonos) pela presença de uma ramificação metila ou etila adicional na cadeia carbônica (PEREIRA, 2012). Apresentam um grupo álcool e os representantes mais abundantes nas plantas são o estigmasterol e sitosterol (GARCIA; CARRIL, 2009).

São utilizados como anti-inflamatórios e como anticoncepcionais femininos (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2012) e compõem os lipídeos de membranas e os precursores dos hormônios esteroidais em mamíferos, insetos e plantas (SILVA, 2013).

3.2.2.3 Saponinas

As saponinas constituem um grupo amplamente distribuído na natureza, sendo as mesmas, glicosídeos de esteroides ou triterpenos policíclicos em que sua estrutura é caracterizada como molécula anfipática, apresentando uma parte hidrofílica correspondente ao resíduo de açúcar e uma parte lipofílica, representada por um núcleo esteroidal ou triterpênico, o que as caracteriza em saponinas esteroidais ou saponinas triterpênicas, sendo estas mais abundantes na natureza que as esteroidais (Figura 2, p. 22). De acordo com Schenkel et al. (2007) é essa característica anfipática das saponinas que determina a propriedade de redução superficial da água e suas ações detergente e emulsificante.

Figura 2: Estrutura básica das saponinas



Fonte: Marqui et al., 2008. (Adaptado)

Nas plantas que as produzem, estas apresentam funções como regulação do crescimento, defesa contra insetos e patógenos. Entre outras propriedades físico-químicas e biológicas estão a solubilidade em água relativamente alta e capacidade de desorganização das membranas celulares sanguíneas (PEREIRA, 2012).

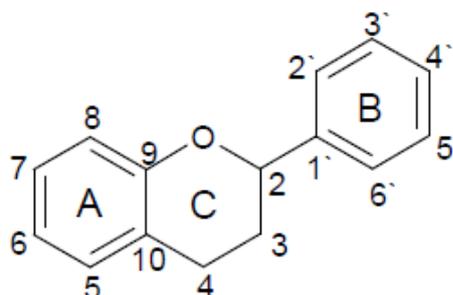
3.2.2.4 Flavonoides

Os flavonoides são compostos largamente distribuídos no reino vegetal. Encontram-se presentes em frutas, folhas, sementes e em outras partes da

planta na forma de glicosídios (presença da molécula de açúcar) ou agliconas (ausência da molécula de açúcar) (ANGELO; JORGE, 2007).

Constituem substâncias de caráter aromático, apresentando 15 átomos de carbono (C15) no seu esqueleto básico. Este grupo de compostos polifenólicos apresenta uma estrutura comum caracterizada por dois anéis aromáticos e um heterociclo oxigenado, formando um sistema C₆-C₃-C₆ (Figura 3, p. 23) (PEREIRA, 2012).

Figura 3: Estrutura básica dos flavonoides



Fonte: Simões, 2010.

Por apresentarem um grande número de compostos, os flavonoides são agrupados de acordo com o processo de substituição dos grupos funcionais que constituem o anel (HUBINGER, 2009), caracterizando-os em: (1) flavanóis, caracterizados pela presença de um grupo hidroxila na posição 3 e ausência de carbonila na posição 4 e de ligação dupla entre os carbonos 2 e 3; (2) flavonóis, apresentando um grupo carbonila na posição 4, um grupo hidroxila na posição 3 e uma ligação dupla entre as posições 2 e 3; (3) flavonas, quando da presença de um grupo carbonila na posição 4 e uma ligação dupla entre as posições 2 e 3; as (4) antocianidinas, com presença de um grupo hidroxila na posição 3 e duas ligações duplas, uma entre as posições 1 e 2 e outra entre os carbonos 3 e 4; (5) flavononas, integradas por um grupo carbonila na posição 4 e ausência de ligação dupla entre as posições 2 e 3; os (6) isoflavonóides, com o anel B ligado ao restante da molécula através do carbono 3, ao invés de estar ligado ao carbono 2 (BRUNETON, 2001; SIMÕES et al, 2010).

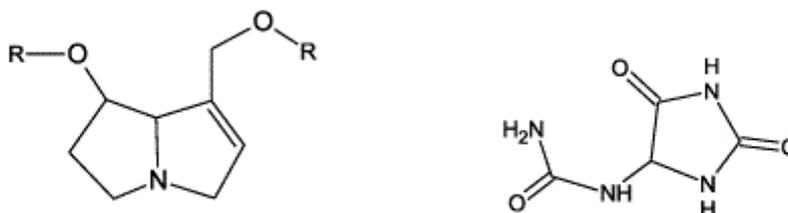
Esses metabólitos, além da utilização na indústria têxtil e alimentícia devido apresentarem cor e poderem ser utilizados como alimentos, ainda têm grande valor nos aspectos farmacológicos, pelas suas propriedades

antitumorais, antioxidante, antiviral, anti-inflamatórias, entre outras (COUTINHO et al, 2009; SIMÕES et al., 2010; YANG et al, 2013; REGINATO et al. 2015). Estudos relatados por Silva et al. (2015) demonstraram ainda minimização do risco de formação da placa aterosclerótica para esta classe de metabólitos.

3.2.2.5 Alcaloides

Os alcaloides são compostos orgânicos cíclicos que apresentam pelo menos um átomo de nitrogênio (N) em um estado de oxidação negativo (Figura 4, p. 24) e sua distribuição é limitada entre os organismos vivos, sendo a maioria proveniente de aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina) e de aminoácidos alifáticos (ornitina, lisina) (SILVA, 2013).

Figura 4: Estrutura básica de alcaloides



Fonte: Veiga Júnior; Pinto, 2005.

A posição do átomo de nitrogênio na estrutura química dos alcaloides diferencia sua classificação. Os alcaloides oriundos de aminoácidos e que contém o átomo de nitrogênio em um anel heterocíclico são ditos alcaloides verdadeiros e aqueles que apresentam o átomo de nitrogênio não pertencente ao anel heterocíclico são ditos protoalcaloides; já os pseudoalcaloides são denominados os compostos que apresentam nitrogênio com ou sem anéis heterocíclicos, todavia não são derivados de aminoácidos (PEREIRA, 2012).

A variedade estrutural dos alcaloides relacionam-se com o amplo espectro das atividades biológicas observada nesses metabólitos. Nos humanos, esses metabólitos produzem respostas fisiológicas e psicológicas, sendo a maioria delas consequência da sua interação com neurotransmissores.

Em doses altas, a maior parte dos alcaloides possuem elevada toxicidade (GARCIA; CARRIL, 2009).

3.2.2.6 Taninos

Os taninos são compostos fenólicos solúveis em água e que apresentam capacidade de formar complexos insolúveis em água com alcaloides, gelatinas e outras proteínas (PEREIRA, 2012).

Ocorrem em uma ampla variedade de vegetais, podendo ser encontrados nas raízes, na casca, nas folhas, nos frutos, nas sementes e na seiva. São classificados em dois grupos: taninos hidrolisáveis e taninos condensados (SILVA; LIMA, 2016).

Os taninos hidrolisáveis possuem em sua estrutura um poliol central, onde as funções hidroxilas encontram-se esterificadas com o ácido gálico ou ácido elágico. Com relação aos taninos condensados, também conhecidos como proantocianidina, são oligômeros e polímeros formados pela condensação de duas ou mais unidades flavan-3-ol e flavan-3,4-diol (SIMÕES et al., 2010).

Atuam nos vegetais com função de proteção contra herbívoros devido seu sabor adstringente. No organismo humano atuam como antioxidante, antisséptico, cicatrizante e vasoconstritor (GARCIA; CARRIL, 2009).

3.3 Aspectos gerais da família Malvaceae

A família Malvaceae é representada por aproximadamente 250 gêneros e 4200 espécies distribuídas em regiões temperadas (ALVES et al, 2011). No Brasil ocorrem cerca de 80 gêneros e 400 espécies (CARVALHO; GAIAD, 2002 apud MEIRA NETO; ALMEIDA, 2015).

Várias espécies da família Malvaceae são estudadas com base no uso tradicional que a caracteriza com elevado potencial fitoterapêutico de suas espécies, como: antitussígeno, diurético e no tratamento de micoses (MEIRA NETO; ALMEIDA, 2015), antimalárico (ADEBAYO; KRETTLI, 2011), analgésica (FERREIRA, 2009), larvicida (GOVINDARAJAN, 2010) e anti-inflamatório (SILVA et al., 2006).

Com relação à importância econômica, representantes de Malvaceae são usados para diversos fins. Das sementes de espécies de *Gossypium* L. podem-se obter fibras de algodão, largamente empregadas na indústria têxtil (SABA, 2007). Constituem representantes de elevado valor econômico, sendo utilizadas na ornamentação em todo o mundo, como as espécies dos gêneros *Alcea*, *Hibiscus* e *Malvaviscus*, como também pela sua utilização na indústria têxtil como *Gossypium* (algodão) e *Urena* (juta). Além disso, espécies, principalmente do gênero *Sida*, um dos maiores da família em número de espécies, são consideradas “daninhas” e/ou “invasoras” e o reconhecimento dessas plantas é importante para evitar infestação em culturas e prejuízos à economia agrícola (BOVINI et al., 2010).

Dentre as principais classes de metabólitos secundários da família Malvaceae foram evidenciados: alcaloides, ácidos graxos, esteroides e flavonoides (SILVA et al., 2006; ROSA, 2013).

3.4 Aspectos gerais do gênero *Sida*

O gênero *Sida*, pertence à família Malvaceae e apresenta ampla distribuição com várias espécies bem representadas nas Américas (SILVA, 2006). Quanto a sua distribuição geográfica, possui ocorrência confirmada em todas as regiões brasileiras, com aproximadamente 90 espécies identificadas (BRANDÃO NETO, 2014).

Apesar de várias espécies do gênero *Sida* serem consideradas plantas daninhas por infestarem diversas culturas, como pastagens e áreas desocupadas (ROSA, 2013), muitas são empregadas na medicina popular com várias atividades farmacológicas comprovadas em laboratório (OTERO, 2000), em que *Sida tuberculata* L., apresentou atividade antifúngica contra *Candida krusei* em estudos realizados por Rosa (2013); Silva (2006), realizou estudo com a *Sida galheirensis* L., comprovando a atividade antioxidante da mesma caracterizada pela presença de flavonoides em sua composição fitoquímica; Como também a *Sida cordifolia* L. que apresentou atividade antimicrobiana com testes realizados pelo uso do óleo essencial para *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* em estudos realizados por Nunes et al. (2006).

3.5 Aspectos gerais da espécie *Sida ciliaris* L.

A *Sida ciliaris* L., denominada popularmente por “escova peluda”, é uma planta nativa, com elevada predominância no Nordeste brasileiro, sendo reconhecida por suas folhas escabrosas e pétalas cor de rosa (ALVES, 2011; BOVINI, 2010). Nenhum relato foi descrito para *Sida ciliaris* L. quanto ao seu uso popular.

Não consta na literatura trabalhos que abordem a fitoquímica e atividade antifúngica de *Sida ciliaris* L. (Figura 5, p. 27), sendo este o primeiro estudo a abordar a caracterização fitoquímica e atividade antifúngica para a espécie.

Figura 5: *Sida ciliaris* Linné (Malvaceae)



Fonte: USDA, 2016.

3.6 Atividade antifúngica de produtos naturais

Fungos são seres heterotróficos e eucarióticos que apresentam cromossomos e nucléolo envoltos por uma membrana nuclear. Os fungos são de uma forma geral, organismos do meio externo que entram em contato com o ser humano e animais e podem causar alguns danos (LIMA et al., 2006).

Quanto a morfologia, os fungos são classificados sob duas formas primárias distintas: leveduras e filamentosos. Os filamentosos apresentam-se sob formas tubulares, ramificadas e contíguas (hifas), enquanto as leveduras caracterizam-se pela forma arredondada, estando isoladas umas das outras (blastocónídeos) (SIDRIM; ROCHA, 2010).

Enquanto as leveduras são unicelulares os fungos filamentosos são multicelulares, ocorrendo ainda um subgrupo dentro dos filamentosos, chamados fungos dimórficos, que se apresentam sob ambas as formas, dependendo principalmente da temperatura, mas sob influência também do teor de CO₂ e condições nutricionais (ANVISA, 2004).

As infecções fúngicas oportunistas têm aumentado nos últimos anos e se instalam principalmente através de ambientes hospitalares (CALIXTO JÚNIOR et al., 2015) e embora a maioria dos antifúngicos existentes no mercado seja de origem sintética, o estudo de produtos naturais voltou a receber a atenção dos cientistas. Entre as principais ferramentas na busca de novos modelos moleculares estão a informação de como as plantas são utilizadas por diferentes grupos étnicos e o estudo farmacológico das preparações utilizadas, abordadas, respectivamente no âmbito da Farmacognosia (FENNER, 2006).

Na natureza, há grande quantidade de plantas que se apresentam resistentes a diferentes patógenos (VENTUROSO et al., 2010), por isso, os produtos de origem vegetal estão sendo cada vez mais estudados, na tentativa de obter novas substâncias candidatas ao tratamento dessas infecções que acometem os seres vivos (FENNER et al., 2006).

Atualmente, o foco das pesquisas envolvendo produtos naturais tem como propósito a obtenção de princípios ativos contidos nas espécies vegetais para uma possível aplicação no tratamento de infecções causadas por microrganismos, entre eles, os fungos (ABRANTES et al., 2013).

3.7 Micro-organismos fúngicos de importância clínica

Os fungos apresentam capacidade de colonizar os seres vivos, podendo desencadear diversos quadros infecciosos com formas clínicas localizadas ou disseminadas (ANVISA, 2004). Dentre as formas de importância clínica, temos:

3.7.1 *Aspergillus flavus*

A maior parte das infecções fúngicas em humanos é causada por *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus terreus* e como principal responsável temos o *Aspergillus fumigatus* (CARVALHO, 2013). O *Aspergillus flavus*, causador da Aspergilose, é um fungo filamentosos caracterizado como patógeno oportunista, sapróbio e comum em solos (MONTEIRO, 2012). A inalação de esporos é a via mais comum de transmissão e os surtos de aspergilose são associados a reformas e construções, dentro e ao redor de hospitais. Doença pulmonar e, mais raramente, sinusite, são as manifestações de aspergilose (ANVISA, 2004). Suas colônias apresentam uma textura cotonosa e lanosa com coloração amarelo-esverdeada quando semeados em meio Ágar Sabouraud Dextrose por 7 dias à temperatura ambiente (CARVALHO, 2013).

3.7.2 *Candida Tropicalis*

A *Candida tropicalis* é uma levedura diploide de reprodução assexuada responsável por 4% a 24% dos casos de candidemia, considerada a segunda espécie mais comumente isolada. A infecção por esse agente pode ocorrer em pacientes de todas as idades, mas acomete principalmente pacientes adultos e idosos com maior frequência (OLLIVIER, 2008; MENEZES, 2009).

Diferentemente de *C. albicans*, que está associada à microbiota, a detecção de *C. tropicalis* é associada à infecção. *C. tropicalis* apresenta-se mais virulenta que *C. albicans* em pacientes com complicações hematológicas malignas (BARBEDO; SGARBI 2010).

3.7.3 *Trichosporon inkin*

A espécie *Trichosporon inkin*, caracterizada como levedura assexuada, ocorre como uma parte natural da microbiota da pele, vias respiratórias e via digestiva e que em Ágar Sabouraud Dextrose formam colônias brancas ovaladas que se assemelham a bacilos enfileirados com blastósporos ao microscópio. A espécie é o agente responsável clássico de piedra branca, uma micose superficial estrita (SIDRIM; ROCHA, 2010)

3.7.4 *Rhizopus oryzae*

O *Rhizopus oryzae* é um fungo filamentosso saprófito, agente patogênico humano oportunista e causador de zigomicoses. Essa espécie caracteriza-se pela produção de esporos sexuais e assexuais (SIDRIM; ROCHA, 2010), entretanto, para muitas espécies de *Rhizopus*, o estágio sexual é desconhecido ou raramente é produzido (ELLIS, 1985)

3.7.5 *Rhodotorulla* spp.

Leveduras do gênero *Rhodotorula* incluem colônias detectáveis visualmente após um período de 24 a 48 horas de incubação, apresentando aspecto mucoso e de coloração que varia de amarelo a vermelho (ALMEIDA, 2005). São células leveduriformes e ovais que já foram consideradas não patogênicas, porém nas últimas décadas se destaca como um agente etiológico oportunista, principalmente em pacientes imunocomprometidos (TUON; COSTA, 2008).

3.7.6 *Trichophyton* spp.

O gênero *Trichophyton* caracteriza-se como agente comum das micoses superficiais (PEIXOTO, 2010) que são afecções cutâneas, geralmente circunscritas, do homem e de animais domésticos, causadas por diversos fungos queratinofílicos denominados em conjunto dermatófitos (MORAES, 2001). São fungos queratinofílicos, pois utilizam a queratina como meio de nutrição, apresentando geralmente, uma quantidade de microconídeos ovulares ou redondos dispostos em cachos (SIDRIM; ROCHA, 2010).

4 METODOLOGIA

4.1 Material

4.1.1 Material vegetal

Folhas de *Sida ciliaris* L. (Malvaceae) foram coletadas na área do Olho D'água da Bica no Município de Cuité–PB com o uso de tesouras e facas, tendo o processo de secagem sido realizado em estufa com circulação de ar AmericanLab 102/100 e trituração em moinho de facas GlenLab A-20-70.

4.1.2 Material de extração, evaporação, medida de massa e solubilização

Para o processo de extração, foi utilizado um macerador de 2 litros e como líquido extrator o álcool etílico 96%, além de erlenmeyer e papel filtro qualitativo. A evaporação ocorreu com evaporador rotativo Quimis, modelo Q344B2 sendo o mesmo acoplado a bomba de vácuo Exipump, modelo AC (vazão 37 L/min; vácuo máx.: 600 mmHg; pressão: 20/25 pi.). Após o processo de evaporação, o material vegetal teve a massa medida através balança analítica bioprecisa, modelo FA2104N. Para solubilização e/ou aquecimento das amostras, utilizou-se uma chapa aquecedora Fisatom 752A.

4.1.3 Material para triagem fitoquímica

Para a triagem fitoquímica foram utilizados os seguintes solventes: álcool etílico; clorofórmio e água e como reagentes: anidrido acético; ácido sulfúrico; solução de gelatina 5%; cloreto férrico; magnésio metálico; carbonato de sódio e reagente de Dragendorff. Além disso, utilizou-se também as vidrarias de laboratório necessárias, por exemplo, tubos de ensaios, erlenmeyers, béqueres e pipetas devidamente identificados.

4.1.4 Micro-organismos testes

Os micro-organismos utilizados para o teste de atividade antifúngica (Quadro 1, p.32) pertencem ao Laboratório de Microbiologia Clínica do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande. Todos os fungos foram mantidos em meio Ágar Sabouraud até a preparação do inóculo.

Quadro 1: Fungos utilizados para o teste de atividade antifúngica

Classificação	Classificação
Filamentoso	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Rhizopus oryzae</i> <i>Trichopryton spp.</i>
Levedura	<i>Candida tropicalis</i> <i>Trichosporon inkin</i> <i>Rhodotorula spp.</i>

Fonte: Própria autora

4.2 Métodos

4.2.1 Identificação da espécie vegetal

A identificação da planta foi realizada pelo biólogo Dr. Carlos Alberto Garcia. Posteriormente, uma exsicata da espécie vegetal foi registrada e acondicionada no Herbário do Centro de Educação e Saúde da UFCG, e a maior parte do material coletado foi encaminhado ao Laboratório de Farmacobotânica e Farmacognosia do referido Centro para dar prosseguimento à pesquisa.

4.2.2 Obtenção do material em pó e do extrato etanólico bruto

Após coleta das partes aéreas de *Sida ciliaris L.*, estas foram secas em estufa com circulação de ar sob temperatura de 40 °C durante um período de aproximadamente 32 horas, e posteriormente, trituradas em moinho de facas.

Após obtenção do pó, o material foi pesado em balança semi-analítica resultando em 126,75g.

4.2.3 Obtenção do extrato etanólico bruto

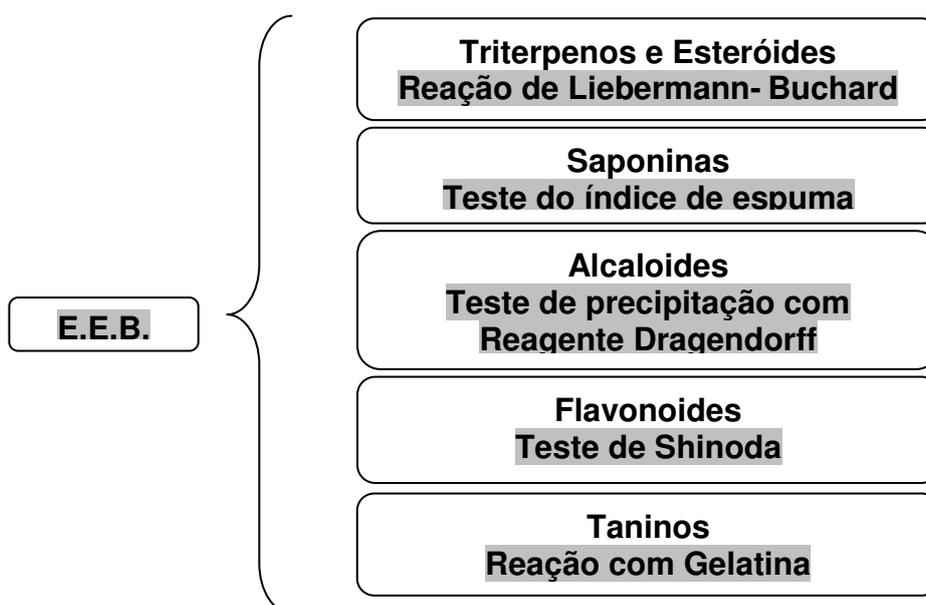
Após o processo de secagem e trituração, o pó da planta foi submetido ao processo de maceração em álcool etílico a 96%, utilizando aproximadamente 1,4 L do solvente em 110g da planta, padronizando-se um período de 48h. Esse processo foi repetido duas vezes e a solução extrativa, após concentrada em evaporador rotativo, resultou em 76,91g do extrato etanólico bruto (E.E.B.) de *Sida ciliaris* L.

4.2.4 Caracterização da triagem fitoquímica

O extrato etanólico bruto da espécie *Sida ciliaris* L. (Malvaceae) foi submetido à triagem fitoquímica preliminar para caracterização dos possíveis metabólitos secundários presentes na planta. Para tal, seguiu-se a metodologia de Matos (1997) e a Farmacopeia Brasileira. (BRASIL, 2010)

4.2.5 Testes para caracterização dos metabólitos secundários

Esquema 1: Reações características para metabólitos secundários



Fonte: Própria autora

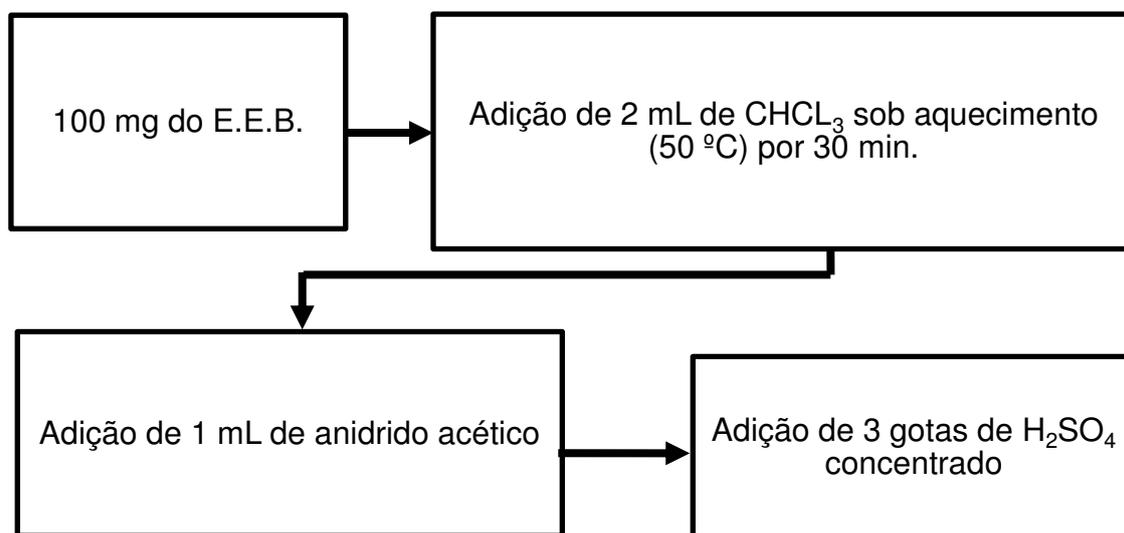
Para todos os testes, foram padronizados a massa de 100 mg do extrato etanólico bruto.

4.2.5.1 Triterpenos e esteroides

Para identificação de triterpenos ou esteroides na espécie vegetal realizou-se o teste de Lieberman-Buchard.

Ao E.E.B de *S. ciliaris* L. adicionou-se 2 mL de CHCl_3 (clorofórmio) e posteriormente o mesmo foi submetido ao aquecimento durante 30 minutos. Em um tubo de ensaio, transferiu-se 1 mL da solução com posterior adição de 1 mL de anidrido acético realizando leve agitação. Em seguida, adicionou-se 3 gotas de H_2SO_4 (ácido sulfúrico) concentrado e observou-se mudança na coloração (Esquema 2, p. 34).

Esquema 2: Teste de caracterização para triterpenos e esteroides



Fonte: Própria autora

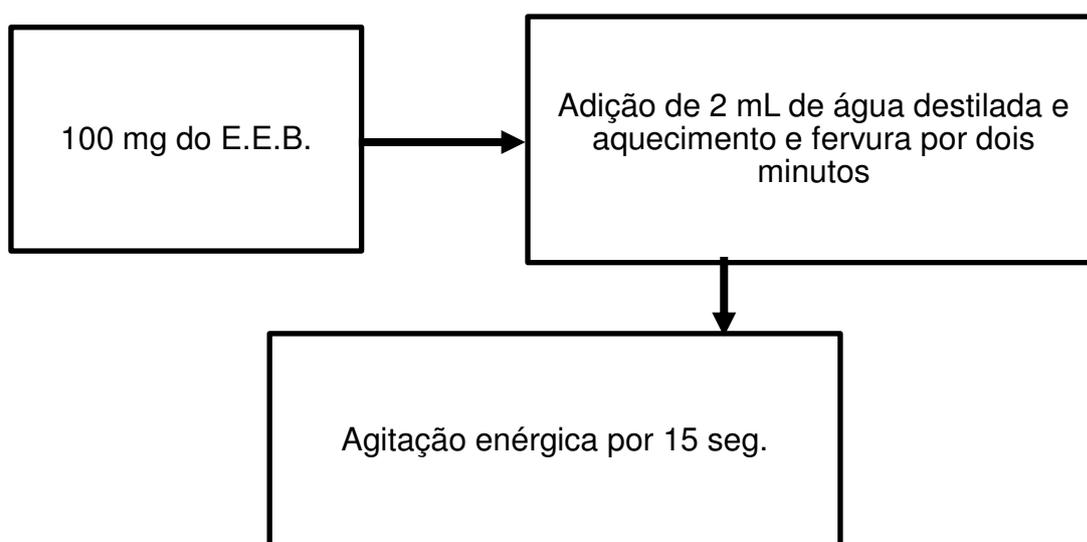
A presença de coloração parda até vermelha é indicativo da presença de triterpenóides pentacíclicos livres, enquanto a observação de cor azul evanescente seguida de verde permanente confirma a presença de esteroides livres.

4.2.5.2 Saponinas

A presença de saponinas no E.E.B de *S. ciliaris* L. foi determinada pelo teste de espuma, que por sua vez, tem presença confirmada quando há formação persistente e abundante da espuma por mais de 15 minutos:

Em um tubo de ensaio, adicionou-se 2 mL de H₂O (água) destilada em 100 mg da amostra e levou-se ao aquecimento aguardando a fervura por dois minutos. Após resfriamento do material agitou-se energeticamente por 15 segundos e observou-se a formação ou não de espuma persistente (Esquema 3, p. 35).

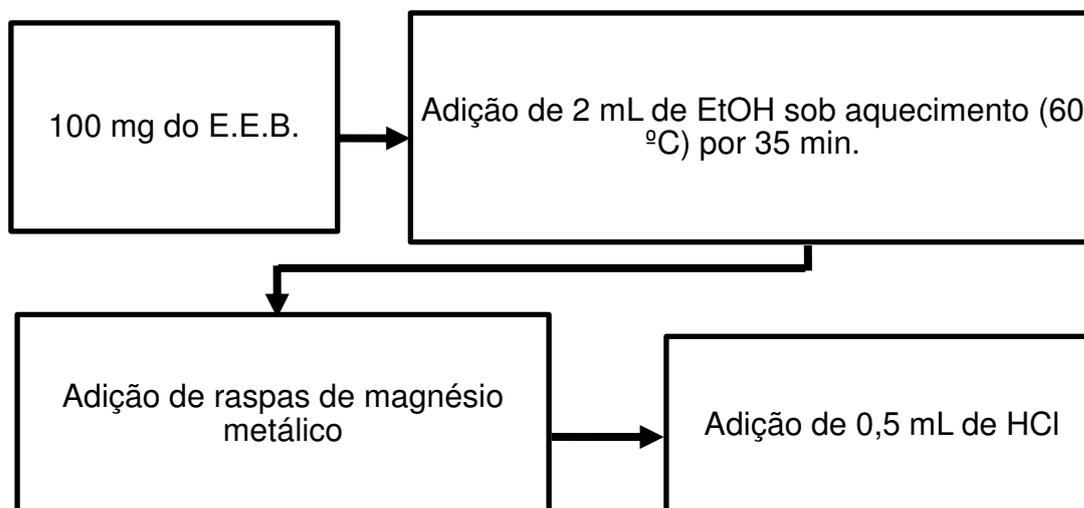
Esquema 3: Teste de caracterização para saponinas



Fonte: Própria autora

4.2.5.3 Flavonoides

Para detecção de flavonoides no E.E.B de *S. ciliaris* L. foi realizado o teste de shinoda ou cianidina que consistiu em adicionar 2 mL de etanol 96% em 100 mg do extrato vegetal submetendo ao aquecimento a 60 °C durante 35 minutos. Transferiu-se a solução para um tubo de ensaio e adicionou-se raspas de magnésio metálico, em seguida adicionou-se 0,5 mL de ácido clorídrico concentrado (Esquema 4, p. 36).

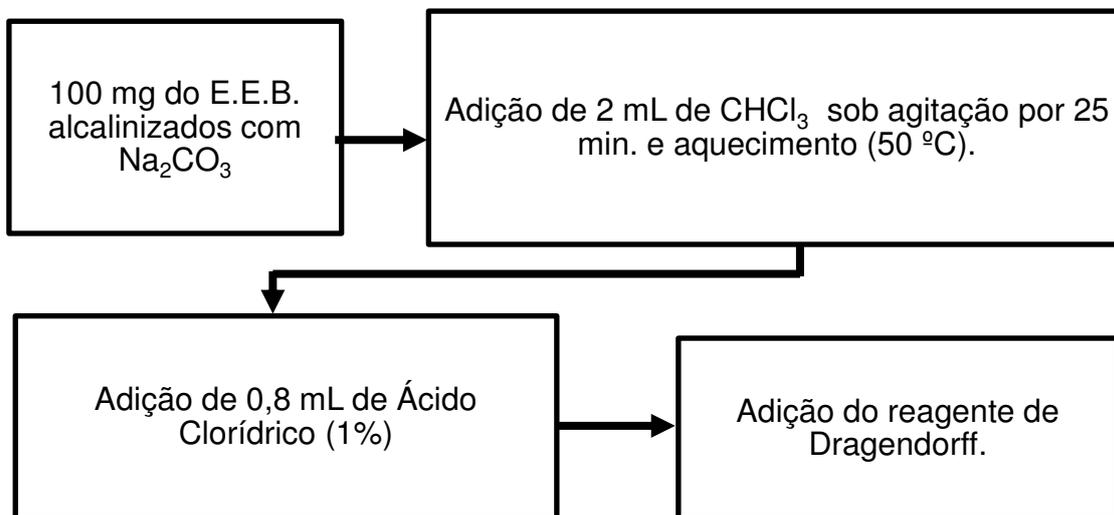
Esquema 4: Teste de caracterização para flavonoides

Fonte: Própria autora

O resultado positivo é indicado pelo surgimento da coloração rósea-avermelhada o que caracteriza a presença de flavonoides no material.

4.2.5.4 Alcaloides

Para identificação de alcaloides no E.E.B de *S. ciliaris* L. foi utilizado o reagente geral de Dragendorff. Inicialmente, alcalinizou-se a amostra com 2,5 mL de Na_2CO_3 e agitou-se com bastão de vidro, deixando-a em repouso por 10 minutos. Adicionou-se 2 mL de CHCl_3 e agitou-se por 25 minutos, levando ao aquecimento à temperatura de 50 °C e repetiu-se a extração adicionando 2 mL de CHCl_3 . Transferiu-se para um tubo de ensaio 1 mL da solução extrativa e acrescentou-se 0,8 mL de HCl (ácido clorídrico) 1%. Gotejou-se, por fim, o reagente de Dragendorff e realizou-se uma leve agitação, observando se houve precipitação ou turvação no meio (Esquema 5, p.37).

Esquema 5: Teste de caracterização para alcaloides

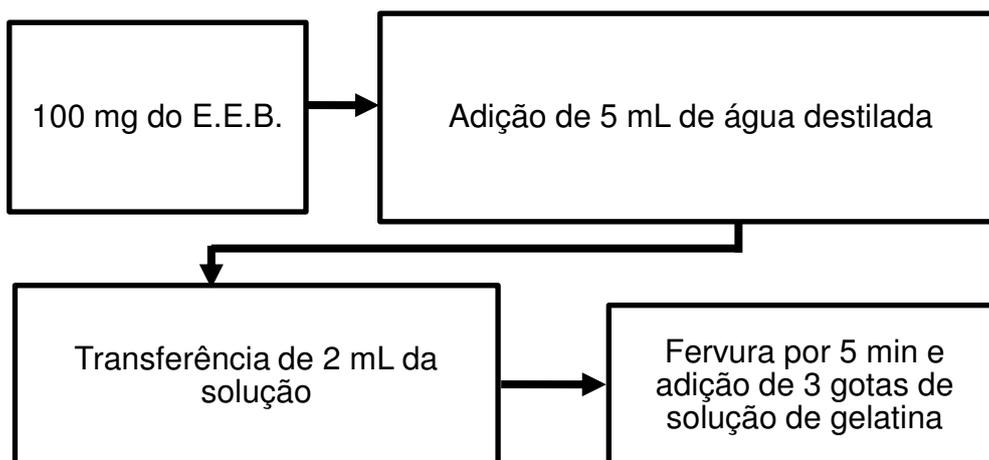
Fonte: Própria autora

4.2.5.5 Taninos

Para identificação de taninos no E.E.B de *S. ciliaris* L. realizou-se o teste com solução de gelatina 2%.

Em 100 mg da referida amostra foram adicionados 5 mL de H_2O destilada, submetendo à fervura por um período de 5 minutos e executou-se, em seguida, a reação de identificação genérica: transferiu-se para um tubo de ensaio 2 mL da solução e adicionou-se 3 gotas de solução de gelatina 2% observando mudança no meio (Esquema 6, p. 37).

Esquema 6: Teste de caracterização para taninos



Fonte: Própria autora

Precipitação e turvação são reações confirmatórias da presença de taninos uma vez que estes metabólitos tem propriedade de precipitar proteínas.

4.2.6 Triagem antifúngica

4.2.6.1 Pesagem do E.E.B.

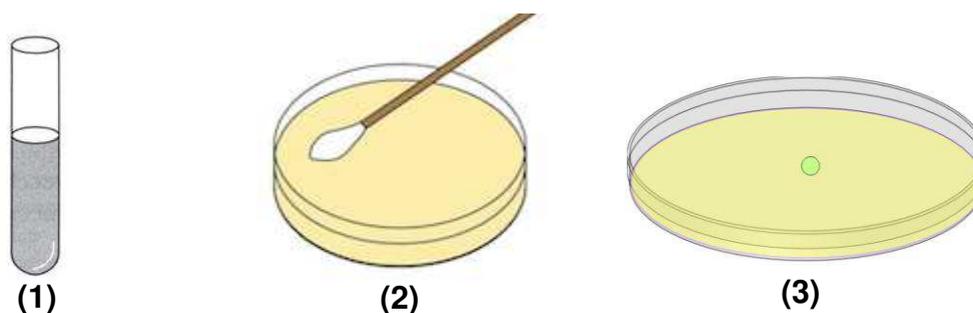
Para preparação do E.E.B. para os testes antifúngicos, será pesado 0,02 g do E.E.B. em balança analítica que posteriormente serão diluídos em 2 mL de água destilada, obtendo uma concentração inicial de 10000 µg/mL.

4.2.6.2 Método de difusão em disco

Os testes de atividade antifúngica foram preparados segundo a metodologia de Bauer et al. (1966). As suspensões foram preparadas com 3×10^6 células/mL (Escala de MacFarland) **(1)** para as leveduras e suspensões contendo hifas e esporos para os dermatófitos. Utilizando um *swab* as suspensões foram semeadas em placas de Petri **(2)**, contendo 20 ml do meio Ágar Sabouraud Dextrose solidificado e em seguida adicionados os discos de papel embebidos com o E.E.B **(3)**, correspondendo 20 µL da solução (Esquema 7, p. 41).

Os discos foram depositados no centro da placa e incubados em estufa com temperaturas de 37 °C e a análise de inibição observadas após 7 dias para fungos filamentosos e 24 horas para leveduras. Os resultados foram avaliados de acordo com a formação de halos de inibição em torno dos discos. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Esquema 7: *Screening* fúngico



Fonte: Própria autora

5 RESULTADOS

A triagem fitoquímica do extrato etanólico bruto (EEB) de *Sida ciliaris* Linné revelou a presença de classes importantes de metabólitos secundários, conforme se verifica no Quadro 2 (p. 39). Os resultados foram considerados positivos pela formação de precipitados, surgimento de coloração característica ou formação de espuma, e negativos pela ausência dos mesmos.

Quadro 2: Análise qualitativa da prospecção fitoquímica de *Sida ciliaris* L.

Classe de Metabólitos	Reação/Teste	Resultado
Triterpenos	Liebermann-Buchard	-
Esteroides	Liebermann-Buchard	+
Saponinas	Teste de Espuma	-
Flavonoides	Shinoda	-
Alcaloides	Dragendorff	+
Taninos	Reação com Gelatina	+

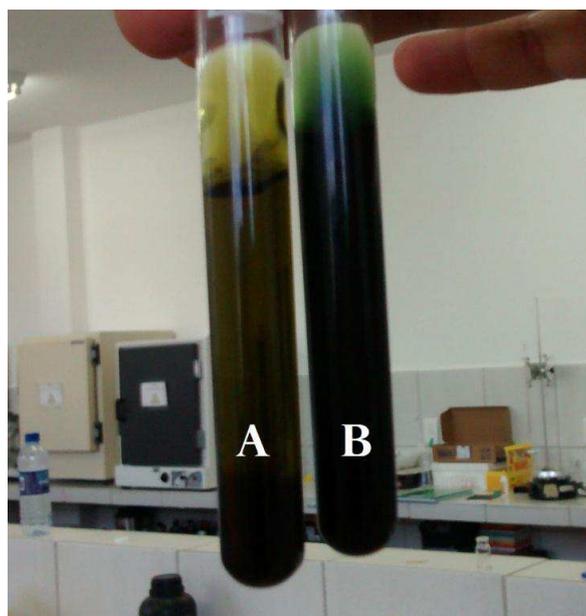
(+) Presença do constituinte / (-) Ausência do constituinte

Fonte: Própria autora

5.1 Triterpenos e Esteroides

Através do teste de Liebermann-Buchard (reação colorimétrica), foram analisadas as possíveis presenças de esteroides e triterpenos em *Sida ciliaris* L. O teste indicou a presença de esteroides no extrato etanólico bruto com a formação de coloração azul evanescente seguida de verde permanente (Figura 6, p. 40). Entretanto, apresentou resultado negativo para presença de triterpenos, identificado pela ausência de coloração amarelo-parda, típica dessa classe de metabólitos frente a esse teste.

Figura 6: Reação de Liebermann-Buchard em *Sida ciliaris* L.



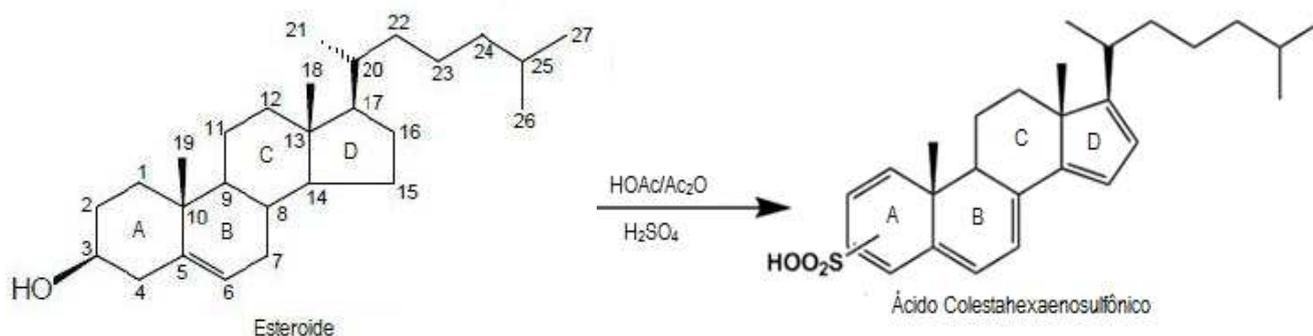
(A): Branco / (B): Com reagente

Fonte: Própria autora

O mecanismo pelo qual o reagente de Liebermann-Buchard (anidrido acético + ácido sulfúrico concentrado) induz a mudança colorimétrica do meio ainda não foi totalmente elucidado, entretanto, há evidências de que este reagente é o responsável por promover a desidratação e desidrogenação no sistema de anéis do ciclopentanoperidrofenantreno formando um esteroide aromático. A presença de 2 ligações duplas conjugadas no anel B ou 1 ligação

dupla e um grupo metileno desimpedido no C7 dos esteroides (Figura 7, p. 40) seriam primordiais para a ocorrência da reação colorimétrica (QUEIROZ, 2009; KREPSKY, 2014).

Figura 7: Reação de Liebermann-Buchard em esteroides



Fonte: Queiroz, 2009 (Adaptado pela autora)

Os esteroides são encontrados na forma livre e combinados como ésteres ou glicosídeos, apresentam um núcleo ciclopentanoperidrofenantreno em sua estrutura e são componentes dos lipídios de membrana e precursores de hormônios esteroides em mamíferos, plantas e insetos (BRUNETON 2001; SILVA, 2013). Esteróis vegetais são substâncias naturais de células vegetais que apresentam função biológica semelhante às do colesterol nas células animais. Estudos realizados demonstraram que estes metabólitos favorecem na redução dos níveis do colesterol LDL sérico, sem alterar os níveis do colesterol HDL e dos triglicerídeos (BERNARDES, 2010).

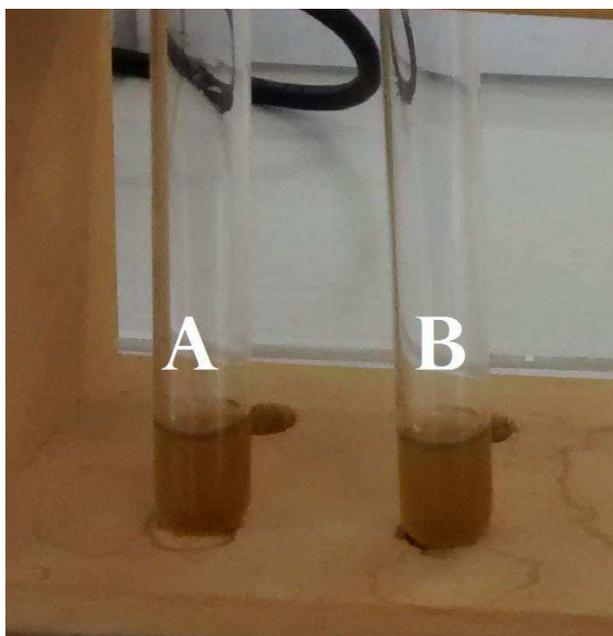
Eles apresentam funções biológicas variadas, destacando-se como precursores da vitamina D₃, anti-inflamatórios, hipolipemiantes, contribuem na síntese de anticoncepcionais orais por participar da mediação dos hormônios sexuais, realizam a regulação fisiológica dos eletrólitos (hormônios adrenocorticais), contribuem para digestão de ácidos biliares (gorduras) e atuam como inibidores da bomba de sódio e potássio com ação cardiotônica (SALGADO, 2008; SILVA; DA CONCEIÇÃO, 2010; SILVA, 2012)

Estudos realizados por Wang et al. (2008) e Noronha et al. (2016), identificaram a presença de derivados esteroidais como compostos majoritários na composição fitoquímica de outras espécies do gênero *Sida*, como a *S. tuberculata* R.E Fries, *S. acuta* Burm. e *S. rhombifolia* L.

5.2 Saponinas

O teste de espuma, utilizado para identificação de saponinas, que baseia-se na diminuição da tensão superficial da água (solvente), não apresentou formação e persistência de espuma por 15 minutos, indicando um resultado negativo (Figura 8, p. 42) para presença dessa classe de metabólitos no extrato bruto de *Sida ciliaris* L..

Figura 8: Teste de espuma em *Sida ciliaris* L.



(A): Branco / (B): Com agitação

Fonte: Própria autora

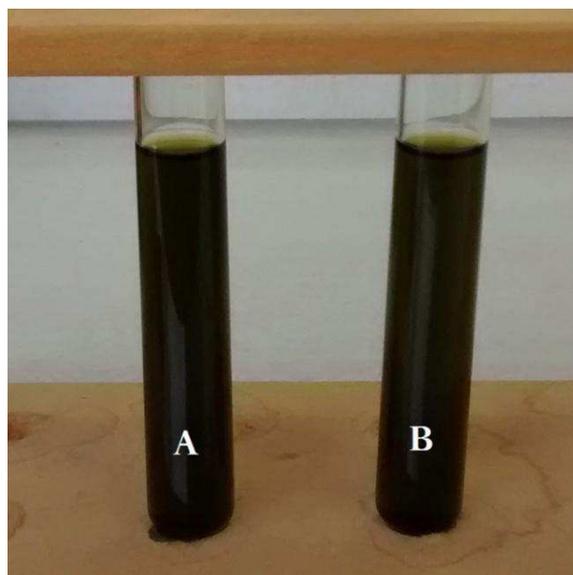
Este resultado diverge do descrito para outras espécies de *Sida* como *S. santaremnensis* H. Monteiro (MELO e COSTA, 2011 apud NASCIMENTO et al., 2015) e *S. planicaulis* Cav. (SOBREIRA et al, 2015) que apresentaram resultado positivo para a presença desta classe de metabólito secundário, podendo-se observar que mesmo plantas pertencentes a um mesmo gênero, não necessariamente apresentam as mesmas classes de constituintes químicos.

5.3 Flavonoides

Através da reação de Shinoda ou Cianidina (reação colorimétrica) foi avaliado a presença ou a ausência de flavonoides no extrato bruto de *Sida ciliaris* Linné. A reação de Shinoda caracteriza-se pela utilização de magnésio metálico em meio ácido (HCl), que promove a redução dos derivados flavônicos desenvolvendo colorações variáveis em função de suas estruturas químicas: Flavona - amarelo a vermelho; Flavonol e Diidroflavonol - vermelho a vermelho-sangue; Flavanona - vermelho a violeta; Derivados antociânicos - vermelho tornando-se rosa. Chalconas, auronas, diidrochalconas, isoflavonas, isoflavanonas apresentam reação negativa, por não promover alteração na coloração (KREPSKY, 2014).

Com a triagem fitoquímica, identificou-se que *Sida ciliaris* L. apresentou resultado negativo para flavonoides (flavonas, flavonóis e flavononas) através da reação de Shinoda (Figura 9, p.43), já que visualmente não foi evidenciada mudança de coloração característica após realização do teste.

Figura 9: Reação de Shinoda em *Sida ciliaris* L.



(A): Branco / (B): Com reação

Fonte: Própria autora

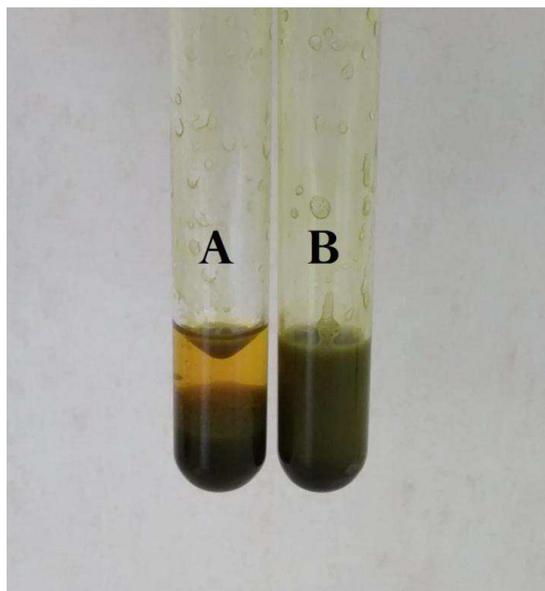
Apesar da reação de Shinoda não revelar a presença de todos os tipos de flavonoides, entre eles chalconas, auronas, diidrochalconas, isoflavonas, isoflavanonas, como descrito anteriormente, estes tipos de flavonoides não são comuns em espécies pertencentes a família Malvaceae, o que permitiu chegar-se a esta conclusão.

Dois novos flavonóides foram isolados dos extratos clorofórmicos de *Sida cordifolia* L., 5,7-dihidroxi-3-isoprenil-flavona e 5-hidroxi-3-isoprenil-flavona, os quais demonstraram possuir efeitos analgésicos e anti-inflamatórios em ratos. (SHUTRADHAR, 2008 apud ROSA, 2013). Compostos flavônicos foram identificados por Silva et al. (2006) na espécie *Sida galheirensis* Ulbr, destacando-se: 5,4'-dihidroxi-3,7,3'-trimetoxiflavona, 5,7,4'-trihidroxiflavona, 5,7,3',4'-tetrahidroxiflavona, luteolina 7-O- β -D-glicopiranosídeo e canferol-3-O- β -D-(6"-E-p-coumaroil)glicopiranosídeo. Calixto Júnior et al. (2015) identificaram a presença de flavonoides com atividade antioxidante na espécie *Luehea paniculata* Mart. da família Malvaceae.

Sendo os flavonoides, comuns em espécies de Malvaceae, este resultado foi o mais surpreendente, pois há registros da presença deste grupo de metabólitos em diverso gêneros e espécies da família. No gênero *Sida* já foram registrados em *S. rhombifolia* L. (CHAVES, 2016), *S. galheirensis* Ulbr. (SILVA et al., 2006) , *S. santaremnensis* H. Monteiro (MELO et al., 2012) e *S. planicaulis* Cav. (SOBREIRA et al, 2015).

5.4 Alcaloides

O extrato etanólico bruto de *Sida ciliaris* L. foi submetido à reação com o reagente de Dragendorff e indicou possível presença de alcaloides devido a formação de precipitado (Figura 10, p. 45).

Figura 10: Reação com Dragendorff em *Sida ciliaris* L.**(A): Com reação / (B): Branco****Fonte: Própria autora**

O Dragendorff é uma solução de tetraiodo de bismuto e potássio $K(BiI_4)$. Em condições ácidas, as aminas terciárias ficam no seu estado protonado e a adição do reagente leva à formação de um precipitado corado entre $[BiI_4]^-$ (Iodeto de bismuto) e $[HNR_3]^+$ (Radical amina). O sal precipita, permitindo a detecção destes compostos. Essa reação de complexação envolve os pares de elétrons do nitrogênio e os orbitais dos metais pesados desse reagente, sendo um reagente não específico para alcaloides, já que a precipitação não está limitada a esta classe de metabólito, mas a todas as substâncias (principalmente, nitrogenadas) com pares de elétrons livres que possam se complexar com estes reagentes, como as proteínas, aminas, cumarinas, entre outras. Este fato, possibilita obter um resultado falso positivo para presença de alcaloides (BRUNETTON, 2001; ACOSTA, 2008; JOHANSON et al., 2010).

A presença de alcaloides é comum na família Malvaceae, e no gênero *Sida* há registro de isolamento desta classe em várias espécies, destacando-se por exemplo, *S. rhombifolia* L., de onde isolou-se o sal de criptolepina, que apresentou excelente atividade antimicrobiana frente as cepas: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mutans* e *Candida albicans* (CHAVES, 2016). Na triagem fitoquímica das espécies *S. santaremnensis* H. Monteiro e *S. planicaulis* Cav. também foi detectada a

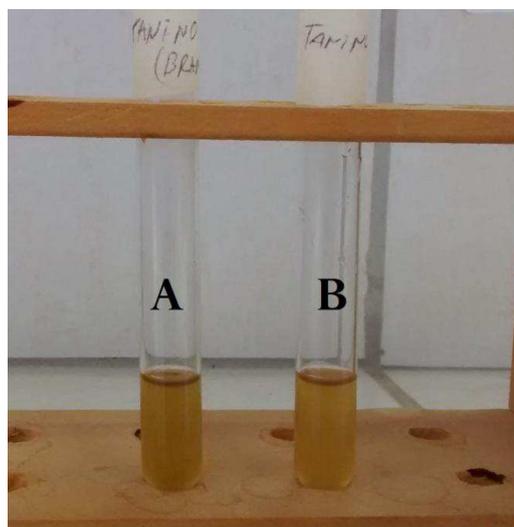
possível presença de alcaloide (MELO e COSTA, 2011 apud NASCIMENTO et al., 2015; SOBREIRA et al., 2015), esta possibilidade não está descartada, já que este tipo de metabólito ocorre em outras espécies pertencentes à esta família.

Cabezas et al. (2007) e Luiz Junior & Marcucci (2016) relataram algumas atividades biológicas dos alcaloides encontrados em espécies vegetais, dentre elas: antitumorais, antidepressivo, analgésicos, antimaláricos, antineoplásicos, anti-inflamatórios, antivirais, atividade hipotensiva, ação emética e expectorante, o que torna esta classe de grande interesse aos pesquisadores que objetivam a descoberta de novos potenciais bioativos.

5.5 Taninos

O ensaio com solução de gelatina para identificação de taninos confirmou sua presença no extrato bruto de *Sida ciliaris* L. através de turvação do meio (Figura 11, p. 46), relacionando-se ao fato de que os taninos possuem capacidade de precipitar proteínas em solução. A capacidade de ligação entre taninos e proteínas varia conforme a estrutura química do metabólito podendo formar complexos reversíveis (estabelecidos por pontes de hidrogênio) e irreversíveis (ligações covalentes) (SIMÕES, et al, 2010).

Figura 11: Reação com gelatina em *Sida ciliaris* L.



(A): Branco (B): Com reação

Fonte: Própria autora

Essa ligação ocorre, provavelmente, através de pontes de hidrogênio entre os grupos fenólicos dos taninos e determinados sítios das proteínas, proporcionando determinada estabilidade a estas substâncias. Para que essas ligações se formem é necessário que o peso molecular dos taninos esteja compreendido entre limites bem definidos; se este for muito elevado, a molécula não pode se intercalar entre os espaços interfibrilares das proteínas ou macromoléculas; se é excessivamente baixo, a molécula fenólica se intercala, mas não forma um número suficiente de ligações que assegure a estabilidade da combinação (BRUNETON, 2001).

A presença de taninos em *S. ciliaris* L. está de acordo com resultados apresentados para outras espécies de Malvaceae, em especial *S. planicaulis* Cav. e *S. santaremnensis* H. Monteiro (MELO e COSTA, 2011 apud NASCIMENTO et al., 2015; SOBREIRA et al, 2015).

As aplicações de drogas com taninos estão relacionadas, principalmente, com suas propriedades adstringentes (MONTEIRO et al. 2005). Plantas ricas em taninos são utilizadas pela medicina popular como anti-diarréico; anti-hemorragico, por propiciarem um efeito vasoconstritor sobre vasos superficiais (SIMÕES et al., 2010). O uso deste tipo de constituinte para tratamento da diarreia explica-se pelo fato de que sua ação adstringente não cessa apenas o fluxo intestinal (redução do movimento peristáltico) mas também controla a irritação no intestino delgado (CHENG et al., 2002). Além disso, os taninos auxiliam no processo de cura de feridas e queimaduras através de uma camada protetora formada pelo complexo tanino/proteína sobre a pele danificada, proporcionando a reestruturação do epitélio (SIMÕES, et al. 2010).

Pessuto et al. (2009) estabeleceram correlações entre a capacidade antioxidante de extratos vegetais e a atividade de sequestro de radicais livres por taninos de espécies vegetais, demonstrando a eficiência destas substâncias na captura destes radicais. O efeito anti-inflamatório dos mesmos propicia a indicação de plantas ricas nesses metabólitos para gastrite, esofagites, enterite e distúrbios intestinais irritantes (CHENG et al., 2002).

Estudos apontam os taninos como inibidores do crescimento microbiano e seu mecanismo está associado à formação de complexos entre os taninos e a parede celular bacteriana, fazendo com que ocorra a inibição do transporte

de nutrientes para a célula, ocasionando a morte destas. Demais estudos demonstram que os taninos alteram morfológicamente a estrutura das bactérias (ALMEIDA, 2014). Pereira et al. (2015), concluíram que uma solução de taninos obtida da casca de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) apresentou atividade antibacteriana *in vitro* sobre linhagens de *Staphylococcus aureus* resistentes ou sensíveis a antibióticos sintéticos. Essa classe de constituintes apresenta efeitos inibitórios sobre bactérias e fungos, explicando-se tal fato por três hipóteses: (1) inibição das enzimas de bactérias e fungos com complexação dos taninos em seus substratos; (2) ação sobre membranas celulares dos micro-organismos, alterando o metabolismo dos mesmos; (3) através da complexação dos taninos com íons metálicos, minimizando, desta forma, a disponibilidade desses elementos que são essenciais para o metabolismo dos micro-organismos (SIMÕES, et al., 2010).

5.6 Teste de avaliação da atividade antifúngica

Através do método de difusão em disco, a triagem antifúngica (*screening*) comprova que o extrato etanólico bruto de *Sida ciliaris* L. não apresentou atividade antifúngica para nenhuma das cepas testadas: *Aspergillus flavus* (1), *Rhodotorulla* spp. (2), *Trichosporon inkin* (3), *Tricophyton* spp. (4), *Candida tropicalis* e *Rhizopus oryzae* (Figura 12, p. 48)

Figura 12: Triagem antifúngica de *Sida ciliaris* L.



Fonte: Própria autora

Como o E.E.B de *Sida ciliaris* L. apresentou resultado negativo para atividade antifúngica, não foi necessário realizar a avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato. É importante salientar que nem todas as espécies de *Sida* apresentam este perfil. A *S. tuberculata*, por exemplo, após avaliação da atividade antifúngica, pelo método de microdiluição, revelou uma promissora ação dos extratos aquosos frente a cepas de *Candida krusei*. Os valores de CIM obtidos demonstraram um efeito fungistático significativo em baixas concentrações tanto para os extratos das folhas quanto para o das raízes (ROSA, 2013). Pode-se destacar também a *S. rhombifolia* L., cujo alcaloide isolado (sal de criptolepina), quando testado sua CIM frente a cepa do fungo *C. albicans*, bem como cepas bacterianas *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. mutans*, mostraram resultados promissores (CHAVES, 2016).

Apesar da presença de taninos ter sido confirmada no E.E.B. de *Sida ciliaris* L., sua presença não se mostrou majoritária, como observado para alcaloides e esteroides, o que pode justificar a ausência da atividade antifúngica frente às cepas analisadas.

6 CONCLUSÃO

A análise da composição química da *S. ciliaris* L. mostrou-se interessante, pois classes de compostos de grande importância biológica foram identificados, como alcaloides, esteroides e taninos e corroboram com os metabólitos secundários comumente encontrados em Malvaceae. Além disso, este estudo representa o primeiro nessa vertente com a espécie em questão, contribuindo para aumento do interesse na realização de novos estudos.

Em relação a atividade antifúngica, o Extrato Etanólico Bruto de *Sida ciliaris* L. não apresentou atividade frente as cepas de *Aspergillus flavus*, *Candida tropicalis*, *Trichosporon inkin*, *Rhizopus oryzae*, *Rhodotorulla spp.* e *Tricophyton spp.*, entretanto, outras atividades biológicas podem ser avaliadas tomando como base o estudo fitoquímico dessa espécie e os respectivos constituintes presentes na mesma. A identificação de metabólitos secundários proposto neste trabalho através da triagem fitoquímica, possibilita portanto, o direcionamento a futuros trabalhos de isolamento e caracterização de metabólitos ativos.

Vale ressaltar que este estudo é pioneiro quanto à prospecção fitoquímica de *Sida ciliaris* L., o que agrega valor para os dados quimiotaxonômicos da família Malvaceae e do gênero *Sida*.

REFERÊNCIAS

ABRANTES, M.R.; et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre leveduras *Candida* não *albicans*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.93, n. 3, p. 227-233, 2013.

ACOSTA, G.J.A. **Alcaloides y compuestos nitrogenados**. Universidade de Antioquia, Medellín, 2008.

ADEBAYO J.O.; KRETTLI A. U. Potential antimalarials from Nigerian plants: A review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, p. 289-302, 2011.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Detecção e identificação dos fungos de importância médica. MóduloVII., 24 p. 2004. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_7_2004.pdf>. Acesso em: abr. 2016.

ALVES, I.M.; DANTAS, I.C.; MELO, J.I.M.; FELISMINO, D.C. A família Malvaceae *sensu lato* em uma área do Agreste Paraibano, Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Biologia e Farmácia**, v. 6, n. 1, 2011.

ALMEIDA, G.M.D. ***Rhodotorula* spp. Isoladas de hemocultura no Hospital das Clínicas da faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo: características clínicas e microbiológicas**. [Tese] apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo – SP, 2005.

ALMEIDA, L.P. **Determinação de taninos em extratos de casca de banana**. [Trabalho de conclusão de curso] apresentado à Universidade Federal de Alfenas. Poços de Caldas, MG, 2014.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

BARBEDO, L. S.; SGARBI, D.B.G. Candidíase. **Jornal Bras. Doenças Sex .Transm.**, v. 22, n. 1, p. 22-38, 2010.

BARBOSA FILHO J.M; et al. Natural products with antileprotic activity. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.17, n.1, p.141-148, 2007.

BAYER, C.; et al. Support for an expanded family concept of Malvaceae within a recircumscribed Order Malvales: a combined analysis of Plastid atpB and rbcL DNA sequences. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 129, p. 267-303, 1999.

BERNARDES, P.M.G. Dieta mediterrânica: esteróis e estanois. **Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar**. Universidade do Porto, 2010.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira / Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Vol. 2, Brasília: Anvisa, 2010.

BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.

BRANDÃO NETO, J.L.S. **O gênero *Sida* L. (Malvaceae) no estado de Pernambuco, Brasil.** [Dissertação] apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife – PE, 2014.

BOVINI, M.G.; CARVALHO-OKANO, R.M.; VIEIRA, M.F. **Malvaceae A. Juss. no parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil.** [Dissertação] apresentada ao Curso de Graduação em Botânica, da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – MG, 2010.

BRUNETON, J. **Farmagonosia: Fitoquímica, Plantas Medicinales.** Ed.I ACRIBIA S.A/ Zaragoza, Espanha, 2. ed , 1099 pp., 2001.

CABEZAS, F; ARGOTI, J.; MARTINEZ, S.; CODINA, C.; BATISDA, J. VILADOMAT, F. Alcaloides y actividad biológica en *Eucharis amazonica*, *E. Grandiflora*, *Caliphurria subedentata* y *Crinum kunthianum*, especies colombianas de *Amaryllidaceae*. **Scientia et Technica**, n. 33, p. 237-242, 2007.

CALIXTO JÚNIOR, J.T.; et al. Phytochemical Analysis and Modulation of Antibiotic Activity by *Luehea paniculata* Mart. & Zucc. (Malvaceae) in Multiresistant Clinical Isolates of *Candida spp.* **BioMed Research International**, 2015.

CARRIÓ, E.; VALLÉS, J. Ethnobotany of medicinal plants used in Eastern Mallorca (Balearic Islands, Mediterranean Sea). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 141, p. 1021-1040, 2012.

CARVALHO, L.I.C. **Aspergillus Aspergilose – Desafios No Combate Da Doença.** [Dissertação] apresentada à Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2013.

CHAVES, O.S. **Estudo fitoquímico e antimicrobiano de duas espécies de Malvaceae: *Pavonia malacophylla* (Link e Otto) Garcke e *Sida rhombifolia* L.** [Dissertação] apresentada ao programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, da Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa– PB, 2016.

CHENG, H.Y. et al. Antiherpes simplex virus type 2 activity of casuarinin from the bark of *Terminalia arjuna* Linn. Antiviral Research, **US National Library of Medicine**, v. 55, p. 447-455, 2002.

COUTINHO, M.A.S.; MUZITANO, M.F.; COSTA, S.S. Flavonoides: Potenciais Agentes Terapêuticos para o Processo Inflamatório. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 3, p. 241-256, 2009.

ELLIS, J.J. Species And varieties in the *Rhizopus Arrhizus-Rhizopus Oryzae* group as indicated by their DNA complementarity. **The New York Botanical Garden, Bronx**, v. 77, n. 2, p. 243-247, 1985.

FENNER, R.; et al. **Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 42, n. 3, p. 369-394, 2006.

FERREIRA, M. C. Medicinal knowledge and plant utilization in an Amazonian coastal community of Marudá, Pará State (Brazil). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 126,p. 159-175, 2009.

FREITAS, T.; LOCATELLI, E. Ecologia da polinização de *Chrysobalanus icaco* L. (Chrysobalanaceae): uma espécie fixadora de dunas. **Anais do IX Congresso de Ecologia do Brasil**, , São Lourenço – MG, 2009.

GARCIA, A.A.; CARRIL, E.P.U. Metabolismo secundário de plantas. **Reduca**, v. 2, n. 3, p. 119-145, 2009.

GIOMBELLI, L.; HORN, A.C.; COLACITE, J. Perfil fitoquímico e atividade antimicrobiana das folhas de *Malva sylvestris* (Malvaceae). **Revista de Biologia e Saúde da Unisep**, v. 5, n. 2, p. 17-22, 2012.

GOVINDARAJAN, M. Larvicidal and repellent activities of *Sida acuta* Burm. F. (Family: Malvaceae) against three important vector mosquitoes. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, p. 691-695, 2010.

GUPTA, R et al. Effect of Saponins of *Albizia lebbek* (L.) Benth bark on the reproductive system of male albino rats. **Journal of Ethnopharmacol**, v. 96, p. 31-36, 2005.

HUBINGER, S.Z. **Estudo farmacognóstico e desenvolvimento de fitocosmético de ação antioxidante dos frutos de *Dimorphandra mollis* Benth. (Leguminosae-Caesalpinioideae)**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara – SP, 2009.

JIMÉNEZ, G.S.; DUCOING, H.P.; SOSA, M.R. La Participación de los Metabolitos Secundarios em la Defensa de las Plantas. **Revista Mexicana de Fitopatologia**, vol. 21, n. 3, 2003.

JOHANSON. L. et al. **Extração, isolamento e caracterização das metilxantinas**. [Trabalho], Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ. RJ, 2010. Disponível em: <http://dc348.4shared.com/doc/rc5Uk1Kd/preview.html>, acesso em 30/06/2016, as 10h20min.

KIM J.Y. et al. Inhibitory effect of the saponins derived from roots of *Platycodon grandifloru* on Carrageenam-induced inflammation. **Biosci Biotechnol Biochem** v. 70, p. 858-864, 2006.

- KREPSKY, P. B. **Análise fitoquímica preliminar**. Disponível em: <http://pt.scribd.com/doc/130272094/analise-fitoquimica-041112#download>, acesso em 03/05/16, às 11h32min.
- LACAILLE-DUBOIS, M.A.; WAGNER, H. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. **Phytomedicine**, v.2, p. 363-386, 1996.
- LEAL, R.S. et al. Perfil etnobotânico e atividade antioxidante de *Cleoma spinosa* (Brassicaceae) e *Pavonia varians* (Malvaceae). **Revista Fitos**, v. 3, n. 3, p. 25-31, 2007.
- LIMA, I.O.; et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 197-201, 2006.
- LÔBO, K.M.S.; et al. Avaliação da atividade antibacteriana e prospecção fitoquímica de *Solanum paniculatum* Lam. e *Operculina hamiltonii* (G. Don) D. F. Austin & Staples, do semi-árido paraibano. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.12, n. 2, p. 227- 233, 2010.
- LOPES, N.P.; SOUZA, G.H.B.; MELLO, J.C.P. **Farmacognosia: coletânea científica**. Ouro Preto: UFOP, 2011.
- LUIZ JÚNIOR, H.; MARCUCCI, M.C. Uso tradicional terapêutico de espécies pertencentes ao gênero vegetal *Eucharis* Planchon & Linden (Amaryllidaceae). **Revista Fitos**, v. 10, n. 1, p. 13-22, 2016.
- LUZ, H.S. et. al. Prospecção fitoquímica de *Himatanthus drasticus* Plumel (Apocinaceae), da mesorregião leste maranhense. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.16, n. 3, p. 657-662, 2014.
- MARQUI, S.R.; et al. Saponinas antifúngicas de *Swartzia langsdorffii*. **Química Nova**, vol. 31, n. 4, p. 828-831, 2008.
- MATOS, F.J. A. Introdução à Fitoquímica Experimental. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997.
- MEIRA NETO, R.A.; ALMEIDA, S.S.M.S. Avaliação fitoquímica, microbiológica e citotóxica das folhas de *Gossypium arboreum* L. (Malvaceae). **Biota Amazonia Open Journal System**, v. 5, n. 2, p. 18-22, 2015.
- MELO, J.F.S.; CHAVES, M.H.; SOUZA, M.F.V.; COSTA, D.A. Flavonóide glicosilado de *Sida santaremnensis* H. Monteiro (Malvaceae). **IV Simpósio Nacional de Produtos Naturais**, realizado no período de 25 a 28 de setembro de 2012, no Tropical Hotel Tambaú, na cidade de João Pessoa – PB.
- MENEZES, E.A.; MENDES, L.G.; CUNHA, F.A. Resistência a antifúngicos de *Candida tropicalis* isoladas no Estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 3, p. 354-355, 2009.

MONTANARI, C.A.; BOLZANI, V.S. Planejamento Racional de Fármacos Baseado em Produtos Naturais. **Química Nova**, vol. 24, n.1, p. 105-111, 2001.

MORAES, M.A.P. Pseudomicetoma dermatofítico: relato de um caso devido a *Trichophyton tonsurans*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 3, p. 291-294, 2001.

MONTEIRO, M.C.P. **Identificação de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* em solos preservados do Cerrado**. [Dissertação] apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal de Lavras. Lavras – MG, 2012.

NASCIMENTO, J.P.; COSTA, D.A.; LIMA, E.O.; ALENCAR, M. C. B.; CARMO, E.S. Avaliação do potencial antimicrobiano do extrato etanólico bruto e frações da *Sida santaremnensis* H. MONTEIRO (MALVACEAE) sobre cepas de *Rhodotorula* spp. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 10, n.2, p. 118 - 125, abr-jun, 2015.

NUNES, X.P.; et al. Antimicrobial activity of the essential oil of *Sida cordifolia* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol. 16, p. 642-644, 2006.

OLIVEIRA, K.B.; OLIVEIRA, B.H. **Obtenção de substâncias bioativas através da biotransformação de produtos naturais**. Revista Eletrônica de Farmácia, v. 9, n. 1, p. 89-99, 2012.

OLIVIER, M.D.; et al. Clonal Population of Flucytosine- Resistant *Candida tropicalis* from Blood Cultures, Paris, France. **Emerging Infectious Diseases**, vol. 14, n. 4, p. 557-565, 2008.

OTERO, R.; et al. Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia. Part I: Traditional use of plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 73, n. 233, 2000.

PEGEL, K.H. The importance of sitosterol and sitosterolin in human and animal nutrition. **South African Journal of Science**, v. 93, p. 263-268, 1997.

PEIXOTO, I.; et al. Dermatofitose por *Trichophyton rubrum* como infecção oportunista em pacientes com doença de Cushing. **Bras Dermatol.**, v. 85, n. 6, p. 888-90, 2010.

PEREIRA, J.R. CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

PEREIRA, A.V.; et al. Taninos da casca do Cajueiro: atividade antimicrobiana. **Revista Agropecuária Técnica**, v. 36, n. 1, p. 121-127, 2015.

PESSUTO, M.B.; COSTA, I.C.C.; DE SOUZA, A.B.; NICOLI, F.M.; DE MELLO, J.J.P. Atividade antioxidante de extratos e taninos condensados das folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 412-416, 2009.

PINTO, A.C.; et al. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, vol. 25, supl. 1, p. 45-61, 2002.

PINTO, G.A.S. **Produção de Tanase por *Aspergillus niger***. [Tese] apresentada ao programa da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro - RJ, 2003.

QUEIROZ, G.S. **Análise de esteróides em extratos vegetais e estudo fitoquímico e biológico preliminar de *Brunfelsia uniflora***. [Relatório] apresentado ao departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis – SC, 2009.

REGINATO, F.Z.; SILVA, A.R.H.; BAUERMANNC.L.F. Evaluation of the flavonoides use in the treatment of the inflammation. **Revista Cubana de Farmacia**, v. 49, n. 3, p. 569-582, 2015.

RIBEIRO, K.S.; GUIMARÃES, A.L.A. O uso de medicamentos à base de plantas medicinais por médicos do SUS no município de Teresópolis/RJ. **Revista Agrogeoambiental**, Edição Especial n. 1, p. 61-65, 2013.

SILVA, L.R.; MARTINS, L.V.; CLOU, I.B.F.; DEUS, M.S.M.; FERREIRA, P.M.P.; PERON, A.P. Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta Toxicológica Argentina**, v. 23, n. 1, p. 36-43, 2015.

ROSA, H.S. **Caracterização e determinação da atividade antifúngica *in vitro* de extratos obtidos de *sida tuberculata* R.E. FRIES (Malvaceae)**. [Dissertação] apresentada ao programa de pós graduação *Stricto sensu* em Bioquímica, da Universidade Federal do Pampa. Uruguaiana – RS, 2013.

SABA, M.D. **Morfologia policlínica de Malvaceae**: implicações taxonômicas e filogenéticas. [Tese] apresentada ao programa de Pós-Graduação em Botânica, da Universidade Estadual de Feira de Santana. Feira de Santana – BA, 2007.

SALGADO, J. M., **Guia dos Funcionais: Dieta Alimentar para Manter a Saúde e Evitar Doenças**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Ediouro, v.1, 2009.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; ATHAYDEM, L. Saponinas. In: SIMÕES, M. O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2007, p.711-740.

SHIMIZU, K, OZEKI, M, TANAKA, K, et al. Suppression of Glucose absorption by extracts from the leaves of *Gymnema inodorum*. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 59, p. 753-757, 1997.

SIDRIN, J.J.C.; ROCHA, M.F.G. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brasil. 2010.

SILVA, A.C.O.; LIMA, R.A. Identificação das classes de metabólitos secundários no extrato etanólico dos frutos e folhas de *Eugenia uniflora* L. **Revista Eletrônica em gestão Educacional e Tecnologia Ambiental**, v. 20, n. 1, p. 381-388, 2016.

SILVA, C.M.A. **Metabólitos secundários de plantas do Semi-árido de Pernambuco – uma inovação no controle de fitopatógenos**. [Dissertação] apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia, da Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 2013.

SILVA, D. A. et al. Constituintes químicos e atividade antioxidante de *Sida galheirensis* ULBR. (Malvaceae). **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1250-1254, 2006.

SILVA, E.E.S. **Estudo fitoquímico e atividade biológica in vitro de Alternanthera brasiliana (L.) Kuntze (Amaranthaceae)**. [Dissertação] apresentada ao programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais do Semiárido, da Universidade Federal do Vale do São Francisco. Petrolina – PE, 2013.

SILVA, K.A.B.S. **Efeito anti-hiperalgésico e antiinflamatório de triterpenos pentacíclicos em modelos experimentais de hiperalgisia crônica: participação do sistema canabinóide**. [Tese] submetida ao curso de Pós-Graduação em Farmacologia do Centro de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis – SC, 2011.

SILVA, M.R.O. **Deteção da atividade antifúngica de extratos de plantas do Manguezal de Vila Velha, Itamaracá-PE**. [Dissertação] apresentada ao curso de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, da Universidade Federal de Pernambuco. Recife – PE, 2004.

SILVA, N.L.A.; MIRANDA, F.A.A.; DA CONCEIÇÃO, G.M. Triagem Fitoquímica de Plantas de Cerrado, da Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**, vol. 6, n. 2, 2010.

SILVA, R.L.; et al. Effect of the aqueous extract of *Sida cordifolia* on liver regeneration after partial hepatectomy. **Acta Cirúrgica Brasileira**, vol 21 Supl. 1, p. 37-39, 2006.

SIMÕES, C. M. O. et. al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Ed. da UFSC, 2010.

SOBREIRA, A.L.C.; SANTOS, C.A.G.; SOUZA, M.F.V.; COSTA, D.A. **Triagem fitoquímica de *Sida planicaulis* Cav. (Malvaceae)**. X Simpósio Brasileiro de Farmacognosia e V Simpósio Brasileiro de Plantas Medicinais do Vale do São Francisco. Realizado de 16 a 19 de setembro de 2015, Juazeiro-BA.

SOUZA, C.M.P; et al. Utilização de Plantas Medicinais com Atividade Antimicrobiana por Usuários do Serviço Público de Saúde em Campina Grande – Paraíba. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 2, p. 188-193, 2013.

TUON, F.F.; COSTA, S.F. *Rhodotorula* infection. A systematic review of 128 cases from literature. **Rev. Iberoam. Micol.**, v. 25, p. 135-140, 2008.

USDA. Flora of North America. Disponível em: <http://plants.usda.gov>. National Plant Data Center, Baton Rouge, LA 70874-4490 USA. Acesso em: 10 de Março de 2016.

VEIGA JÚNIOR, V.F.; PINTO, A.C. Plantas Medicinais: *cura segura?* **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VENTUROSO, L.R.; et al. Influência de diferentes metodologias de esterilização sobre a atividade antifúngica de extratos aquosos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de plantas medicinais**, v. 12, n. 4, p. 499-505, 2010.

WINA, E.; MUETZEL,S.; BECKER,K. The Impact of Saponins or Saponin Containing Plant Materials on Ruminant Production - A Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 21, p. 8093–8105, 2005.

YANG, G.M. et al. Antitumor effects of two extracts from *Oxytropis falcata* on hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 11, n. 5, p. 519-524, 2013.