



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

EDILEUZA BEZERRA DE ASSIS

**ISOLAMENTO DE SAPONINAS ESTEROIDAIIS DA FASE HEXÂNICA E
AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA DE *Sida santaremnensis* (H. Monteiro)**

CUITÉ –PB
2016

EDILEUZA BEZERRA DE ASSIS

**ISOLAMENTO DE SAPONINAS ESTEROIDAIAS DA FASE HEXÂNICA E
AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA DE *Sida santaremnensis* (H. Monteiro)**

Monografia apresentada a 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 título de Bacharel.

Orientador: Prof. Dr. Wylly Araújo de Oliveira

CUITÉ –PB
2016

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

A848i Assis, Edileuza Bezerra de.

Isolamento de saponinas esteroidais da fase hexânica e avaliação antifúngica de *Sida santaremnensis* (H. Monteiro). / Edileuza Bezerra de Assis. – Cuité: CES, 2016.

47 fl.

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

Orientador: Dr. Willy Araújo de Oliveira.

Coorientadora: Dra. Danielly Albuquerque da Costa.

1. Plantas medicinais. 2. *Sida santaremnensis*. 3. *Candida albicans*. I. Título.

EDILEUZA BEZERRA DE ASSIS

**ISOLAMENTO DE SAPONINAS ESTEROIDAIIS DA FASE HEXÂNICA E
AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA DE *Sida santaremnensis* (H. Monteiro)**

Monografia apresentada a 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 título de Bacharel.

APROVADO EM: 05/09/2016

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Wylly Araújo de Oliveira
(Orientador)

Prof.^a Dr.^a Danielly Albuquerque da Costa
(Examinadora)

Prof.^a Dr.^a Júlia Beatriz Pereira de Souza
(Examinadora)

Dedico ao meu pai que hoje habita e transmite sua energia junto ao brilho das estrelas, me protegendo de todos os males, minha mãe e à minha irmã.

AGRADECIMENTOS

Sou grata a Deus e a Nossa Senhora, por interceder em meus momentos de fragilidade, renovar minhas esperanças, acalmar meu coração e iluminar minha mente durante todas as fases da minha vida acadêmica.

À minha mãe Jacinta Leite e à minha irmã Janeyde Bezerra, que muito me apoiam e sem medir quaisquer esforços sempre estiveram ao meu lado em todas as decisões tomadas, sendo exemplos de força, humildade e caráter. Amo muito vocês!

Em especial, ao meu pai Erivaldo (*in memoriam*), a quem dedico esta conquista. Sei que lá de cima cumpres com o papel de meu anjo da guarda, me protegendo de todos os males e perigos.

Ao meu irmão Joaquim Neto e à minha tia Edileuza Farias, pelo carinho e bem-querer e por sempre torcerem pela minha felicidade.

À Shirley Araújo, pela amizade, conselhos, paciência e convívio durante esses cinco anos.

Meus sinceros agradecimentos aos meus amigos, que foram sem dúvidas, fundamentais nessa fase, na qual sempre demonstraram cuidado e carinho, em especial: Glaucianne Miranda, Danilo Alencar, Jefferson Rodrigues, Paula Mariane, Vivianne Izabelle, Diégina Fernandes e Joyce Azevedo.

A minha companheira de laboratório Ana Laura Cabral, pelos sonhos e conquistas compartilhados.

À professora Dr.^a Danielly Albuquerque, por toda dedicação, auxílio, companheirismo, carinho e tolerância concedida ao meu crescimento pessoal e profissional, sem a qual jamais concluiria esse sonho.

Aos meus professores, Dr. Wylly Araújo e Dr.^a Júlia Beatriz Pereira, meu muito obrigado pela parceria, oportunidade de crescimento e disposição em contribuir de maneira essencial nesse estudo.

Enfim, a todos que de alguma forma participaram dessa conquista, deixo meu cordial obrigado!

O preço de qualquer coisa é a quantidade de vida que você troca por isso.

(Henry David Thoreau)

RESUMO

ASSIS, E. B. **ISOLAMENTO DE SAPONINAS ESTEROIDAIS DA FASE HEXÂNICA E AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA DE *Sida santaremnensis* (H. Monteiro)**, 2016. 47 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2016.

A prática de utilizar elementos da natureza com finalidade de auxiliar o homem é bastante antiga. Com o tempo, a utilização de inúmeras plantas para a contribuição na melhoria da saúde foi ganhando espaço em todo o mundo. Dessa forma, a comunidade científica mundial vem trabalhando no intuito de comprovar o uso popular de plantas medicinais, contribuindo assim para o uso seguro e a descoberta de novos fármacos. A família Malvaceae é constituída por 243 gêneros e 4225 espécies, muitas das quais são largamente usadas na terapêutica, como emolientes, anti-febris, diuréticos, antiinflamatórios, no tratamento de reumatismo, entre outras aplicações. Vislumbrando contribuir com o perfil quimiotaxonômico e farmacológico da família Malvaceae, o presente trabalho investigou a composição química da fase hexânica e avaliou o potencial antifúngico do extrato etanólico bruto e fases de *Sida santaremnensis*, espécie de Malvaceae, presente na flora nordestina, que poderia desaparecer sem nunca ter sido explorada cientificamente. Para tal, a fase hexânica foi submetida a sucessivas cromatografias em coluna, tendo esse procedimento resultado no isolamento de uma mistura de saponinas esteroidais, identificadas como sitosterol 3-*O*- β -D-glicopiranosídeo e estigmasterol 3-*O*- β -D-glicopiranosídeo, relatadas pela primeira vez na espécie estudada. Nos ensaios de atividade antifúngica a maior concentração inibitória testada não foi capaz de inibir o crescimento de nenhuma das cepas de *Candida albicans* avaliadas.

Palavras-chave: Malvaceae, *Sida santaremnensis*, plantas medicinais, saponinas esteroidais; *Candida albicans*.

ABSTRACT

ASSIS, E. B. **ISOLATION OF STEROIDAL SAPONINS OF THE HEXANE PHASE AND ANTIFUNGAL EVALUATION OF *Sida santaremnensis* (H. Monteiro)**. 2016. 47 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2016.

The practice of using elements of nature with the purpose of assist man kind is quite old. With time the use of several plants for the contribution in health improvement has become more popular in the world. In this way, the world scientific community has been working in order to evidence the popular use of medicinal plants, therefore contributing to its safe use and discovery of new drugs. The Malvaceae family consists of 243 genera and 4225 species, many of which are widely used in therapy, such as emollients, anti-febrile, diuretics, anti-inflammatory, in the treatment of rheumatism, among other applications. Aiming to contribute to the chemotaxonomic and pharmacological profile of the Malvaceae family, this study investigated the chemical composition of the hexane phase and evaluated the antifungal potential of crude ethanolic extract and *Sida santaremnensis* phase, Malvaceae specie, present in the Northeastern flora, which could disappear without ever have been explored scientifically. To this end, the hexane phase was subjected to successive column chromatography, this procedure resulted in the isolation of a steroidal saponins mixture, identified as sitosterol 3-*O*- β -D-glucopyranoside and stigmasterol 3-*O*- β -D-glucopyranoside, first reported in the studied species. In the antifungal activity test the inhibitory highest concentration tested was not able to inhibit the growth of any of the analyzed strains of *Candida albicans*.

Keywords: Malvaceae, *Sida santaremnensis*, medicinal plants, steroidal saponins, *Candida albicans*.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

%	Porcentagem
δ	Deslocamento químico em ppm
®	Marca registrada
°C	Grau celsius
μL	Microlitro
AcOEt	Acetato de etila
APT	Attached Proton Test
ATCC	American Type Culture Collection
<i>C.</i>	<i>Candida</i>
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CDCl_3	Clorofórmio deuterado
CH_2Cl_2	Diclorometano
CHCl_3	Clorofórmio
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CSD	Caldo Sabouraud Dextrose
EEB	Extrato Etanólico Bruto
EtOH	Etanol
F.	Fase
Fr.	Fração
G	Gramas
H_2O	Água
Hex.	Hexano
MeOD	Metanol deuterado
MeOH	Metanol
mg	Miligrama
MHz	Megahertz
mL	Mililitros
nm	Nanômetro
P.A	Padrão analítico
ppm	Partes por milhão
Rf's	Fatores de Retenção
RMN ^{13}C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
S.	<i>Sida</i>
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
UV	Ultravioleta

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto de <i>Sida santaremnensis</i>	26
Esquema 2	Processamento cromatográfico da fase hexânica de <i>Sida santaremnensis</i>	27
Esquema 3	Processamento cromatográfico da fração clorofórmio:metanol (85:15) de <i>Sida santaremnensis</i>	28

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Espectro de RMN ^1H ($\text{CDCl}_3:\text{MeOD}$, 500 MHz) de <i>SS-1</i>	32
Figura 2	Espectro de RMN ^{13}C ($\text{CDCl}_3:\text{MeOD}$, 125 MHz) de <i>SS-1</i>	33
Figura 3	Expansão do espectro de RMN ^{13}C , 10-60 ppm ($\text{CDCl}_3:\text{MeOD}$, 125 MHz) de <i>SS-1</i>	33
Figura 4	Expansão do espectro de RMN ^{13}C , 60-145 ppm ($\text{CDCl}_3:\text{MeOD}$, 125 MHz) de <i>SS-1</i>	34
Figura 5	<i>SS-1a</i> (Sitosterol 3- <i>O</i> - β -D- glicopiranosídeo).....	36
Figura 6	<i>SS-1b</i> (Estigmasterol 3- <i>O</i> - β -D-glicopiranosídeo).....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Dados de RMN ^{13}C da mistura <i>SS-1a</i> e <i>SS-1b</i> (δ , CDCl_3 :MeOD, 125 MHz) comparados com amostras autênticas da literatura (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz).....	35
Tabela 2	Concentração inibitória mínima do extrato bruto e fases de <i>S. santaremnensis</i> , contra cepas ATCC de <i>Candida albicans</i>	37

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3 REFERÊNCIAL TEÓRICO	18
3.1 IMPORTÂNCIA DO ESTUDO DAS PLANTAS MEDICINAIS	18
3.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA MALVACEAE	19
3.2.1 Distribuição geográfica e gêneros representativos	19
3.2.2 Aspectos etnofarmacológicos e quimiotaxonômicos	20
3.3 CONSIDERAÇÕES SOBRE O GÊNERO <i>Sida</i>	20
3.3.1 Distribuição geográfica	20
3.3.2 Aspectos etnofarmacológicos	20
3.3.3 Aspectos quimiotaxonômicos.....	21
3.4 CONSIDERAÇÕES SOBRE <i>Sida santaremnensis</i>	21
3.5 SUBSTÂNCIAS VEGETAIS E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	22
4 METODOLOGIA.....	24
4.1 ESTUDO FITOQUÍMICO	24
4.1.1 Materiais.....	24
4.1.1.1 Extrativos.....	24
4.1.1.2 Cromatográficos	24
4.1.1.3 Espectroscópicos	24
4.1.2 Métodos	25
4.1.2.1 Levantamento bibliográfico.....	25
4.1.2.2 Coleta e identificação do material vegetal.....	25
4.1.2.3 Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto de <i>Sida santaremnensis</i>	25
4.1.2.4 Processamento cromatográfico da fase hexânica de <i>Sida santaremnensis</i>	26

4.2 ESTUDO MICROBIOLÓGICO	29
4.2.1 Materiais.....	29
4.2.1.1 Preparação dos extratos de <i>Sida santaremnensis</i>	29
4.2.1.2 Padronização da suspensão fúngica e meio de cultura	29
4.2.2. Métodos	29
4.2.2.1 Microdiluição em caldo	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.2 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE SS-1	31
5.2 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA	36
6 CONCLUSÃO.....	38
REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais tem sido largamente empregado no tratamento e prevenção de várias doenças pela humanidade. Desde os primórdios da existência humana, populações de todo o mundo vem utilizando plantas com fins medicinais e estes conhecimentos foram transmitidos por gerações até se difundirem nas civilizações modernas. Dessa forma, a comunidade científica mundial vem trabalhando no intuito de comprovar o uso popular de plantas medicinais, contribuindo assim para o uso seguro e a descoberta de novos fármacos (AZEVEDO et al., 2014).

Diante da grande diversidade vegetal mundial, o Brasil é em especial um dos países com maiores perspectivas para exploração econômica da biodiversidade, em função do número expressivo de espécies nativas, das excelentes condições climáticas e edáficas, e do grande potencial hídrico (GUILHERMINO et al., 2012).

Nesse contexto, a região Nordeste destaca-se por possuir rica e abundante biodiversidade, abarcando grande variedade de tipos vegetacionais, que incluem um número expressivo de espécies raras e nunca estudadas, distribuídas em seus diversos biomas como amazônia, caatinga, cerrado e mata atlântica (FORMIGONI; XAVIER; LIMA, 2011).

Em meio a esse imenso acervo vegetal, somente uma pequena parcela tem sido pesquisada cientificamente quanto ao seu potencial medicinal (BITENCOURT; ALMEIDA, 2014). A bioatividade das plantas medicinais é inerente a um grupo de compostos chamados metabólitos secundários. Estes, são sintetizados pelas plantas em resposta aos estímulos sofridos pelo meio ambiente e destacam-se pelo amplo espectro de atividades farmacológicas que detêm (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

A aplicação biotecnológica dos metabólitos secundários não se restringe apenas a área farmacêutica. Na área agrícola atuam como uma barreira à herbivoria sendo uma alternativa aos pesticidas sintéticos (PINTO-ZEVALLOS; ZARBIN, 2013), nas indústrias cosméticas, têm desempenhado papel importante nos tratamentos estéticos (MAGALHÃES; CAMARGO; HIGUCHI, 2014), se estendendo até a área alimentícia, entre outros nichos mercadológicos (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Os produtos naturais oferecem ampla diversidade química, complexidade estrutural e potência biológica, porém, apenas cerca de 5% das espécies vegetais brasileiras foram estudadas sobre o âmbito farmacêutico (SANTOS, 2013).

Sendo assim, o estudo fitoquímico de espécies vegetais é de grande importância, pois, insere-se nesse meio com o objetivo de conhecer os constituintes químicos através do

isolamento, elucidação estrutural e avaliação das propriedades biossintéticas, permitindo a sua utilização como ponto de partida para o desenvolvimento e obtenção de novos fármacos (BRAZ FILHO, 2010).

Vislumbrando os grandes benefícios que as drogas de origem vegetal podem trazer para a humanidade, este projeto se propõe a realizar o estudo fitoquímico e avaliação da atividade antifúngica de *Sida santaremnensis*, espécie de Malvaceae, presente na flora nordestina, popularmente conhecida como vassourinha ou guanxuma, porém, pouco explorada cientificamente.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Investigar a fase hexânica e avaliar a atividade antifúngica da espécie *Sida santaremnensis*, visando enriquecer e contribuir para o conhecimento quimiotaxonômico da família Malvaceae, e quiçá descobrir novos potenciais bioativos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Isolar, purificar e determinar a estrutura dos constituintes químicos da fase hexânica de *Sida santaremnensis* através de métodos cromatográficos e espectroscópicos, respectivamente, definindo-se, portanto, o seu perfil fitoquímico.
- Avaliar a atividade antifúngica dos extratos vegetais obtidos a partir das partes aéreas de *Sida santaremnensis* sobre cepas de *Candida albicans*.

3 REFERÊNCIAL TEÓRICO

3.1 IMPORTÂNCIA DO ESTUDO DAS PLANTAS MEDICINAIS

Desde tempos imemoriais o homem busca estar em direta conexão com o universo vegetal e, por meio de observações e experiências, aprendeu a utilizá-lo para fins medicinais, como tratamento e prevenção de várias enfermidades (ARAÚJO; LEMOS, 2015).

As plantas são importantes fontes de substâncias conhecidas como metabólitos secundários. Estes compostos são produzidos com a função de proteger a planta contra herbívoros, ataque de patógenos, bem como favorecê-la durante a competição com outros vegetais. Fatores externos como temperatura, umidade, proteção contra raios ultravioleta e deficiência de nutrientes também são considerados estímulos para a produção destes compostos (SIMÕES et al., 2010).

Os metabólitos secundários são conhecidos por serem sintetizados em tipos celulares especializados e em distintos estágios do desenvolvimento das plantas, tornando seu isolamento e purificação mais difíceis. Estes constituintes químicos são extremamente diversos e produzidos em pequenas quantidades. Cada família, gênero, e espécie possui sua particularidade, caracterizando-se pela produção de uma ou mais classe de metabólitos característica, podendo ser utilizados como caracteres taxonômicos na classificação das plantas (CIBELE, 2013).

As substâncias oriundas do metabolismo vegetal despertam grande interesse, não só pelas atividades biológicas desempenhadas pelas plantas em resposta aos estímulos ambientais, mas também pelos diversos efeitos farmacológicos sobre a saúde humana, despertando a atenção do campo científico para a busca de novas moléculas bioativas (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Além disso, possuem papel importante na área agrícola, atuando como agentes de controle contra fitopatógenos com potencial ecológico para substituir inseticidas sintéticos, por meio da utilização de extratos brutos e óleos essenciais para a produção de bioherbicidas, uma vez que esses apresentam em sua composição substâncias com propriedades fungicidas e/ou fungitóxicas (MATOS, 1997).

O grande avanço científico e tecnológico da indústria cosmética possibilitou que várias substâncias ativas oriundas do metabolismo secundário vegetal pudessem ser aplicadas em formulações fitocosméticas, agregando atividades farmacológicas contra rugas, acne, envelhecimento, entre outros (MAGALHÃES; CAMARGO; HIGUCHI, 2014; SILVA;

SILVA; ALBUQUERQUE, 2015). Desempenhando, portanto, papel importante por meio de diferentes mecanismos de ação nos tratamentos estéticos em geral com resultados eficientes e satisfatórios (SILVA et al., 2015).

Destaca-se ainda a aplicação dessas substâncias na indústria alimentar, onde apresentam elevado potencial de utilização no desenvolvimento de alimentos funcionais (OLIVEIRA, 2015). Evidenciando desta forma, a importância sobre a valorização da agregação de valor econômico aos produtos naturais e a necessidade de explorar cientificamente a promissora diversidade vegetal brasileira, ainda pouco conhecida (SILVA; CECHINEL FILHO, 2002).

Pesquisas para a identificação dos metabólitos secundários presentes em plantas nativas da flora brasileira são fundamentais para o desenvolvimento de novos fármacos. (PEREIRA; CARDOSO, 2012). Desta forma torna-se imprescindível realizar estudos fitoquímicos, podendo assim, expandir uma informação apropriada e concreta sobre as atividades terapêuticas e segurança no uso de plantas medicinais à população (GUIZZO et al., 2015).

A partir desses estudos, várias substâncias farmacologicamente ativas puderam ser identificadas e isoladas, sendo assim introduzidas na terapêutica, permanecendo até hoje como medicamentos (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Uma vez elucidada a estrutura química de um composto biologicamente ativo, este pode ser submetido a modificações estruturais com o intuito de otimizar a sua atividade terapêutica (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998).

Nessa perspectiva, o isolamento de substâncias ativas a partir de plantas fornece subsídio para serem utilizadas como protótipos para a síntese de novos fármacos ou como fonte de matérias-primas para obtenção de adjuvantes. Permitindo ainda, avaliar seu perfil toxicológico (GUILHERMINO; QUENTAL; BOMTEMPO, 2012; ALMEIDA; SCHEFFER, 2012).

3.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA MALVACEAE

3.2.1 Distribuição geográfica e gêneros representativos

A família Malvaceae é constituída por 243 gêneros e 4225 espécies (STEVENS, 2003). Membros desta família ocorrem por quase todas as partes do mundo, com exceção de

regiões muito frias, e são particularmente abundantes nas regiões tropicais, principalmente na América do Sul (HEYWOOD, 1993).

Estima-se que no Brasil, a família Malvaceae esteja representada por cerca de 68 gêneros e 735 espécies, disseminadas por todas as regiões do país (BOVINI et al., 2010). Dentre os gêneros mais numerosos compoendo esta família estão *Hibiscus* (300), *Sida* (200), *Pavonia* (150), *Abutilon* (100), *Nototriche* (100), *Cristaria* (75) e *Gossypium* (40) (STEVENS, 2003).

3.2.2 Aspectos etnofarmacológicos e quimiotaxonômicos

Com relação ao uso terapêutico, algumas espécies da família destacam-se por serem largamente usadas como emolientes, antifebris, diuréticos, anti-inflamatórios, no tratamento de reumatismos, entre outras aplicações (AHMED; KAZMI; MALIK, 1990).

Estudos químicos realizados com espécies de Malvaceae identificaram a presença de triterpenos (MEIRA-NETO; ALMEIDA, 2015), esteroides, flavonoides (CHAVES, 2012), óleos essenciais, sesquiterpenolactonas (SHARMA; AHMAD, 1989), ácidos graxos (VICKERY, 1981), alcaloides (ROLIM, 2015) entre outros, demonstrando a riqueza em variedade de metabólitos desta família.

3.3 CONSIDERAÇÕES SOBRE O GÊNERO *Sida*

3.3.1 Distribuição geográfica

O gênero *Sida* apresenta ampla distribuição neotropical com várias espécies bem representadas nas Américas. No Brasil, este gênero possui muitos representantes nas regiões Nordeste e Sul e, em menor proporção, nas regiões Norte, Centro-Oeste e Sudeste (BARACHO, 1998).

3.3.2 Aspectos etnofarmacológicos

Espécies de *Sida* são usadas na medicina popular com diversas atividades, como a *Sida acuta* Burm., empregada para neutralizar o veneno da serpente *Bothrops atrox*, tendo esse efeito sido confirmado em laboratório (OTERO et al., 2000).

A *Sida cordifolia* L. roots., conhecida como malva branca, é usada na medicina folclórica para tratamento de estomatites, bronquite asmática e congestão nasal. Os efeitos antiinflamatórios e analgésicos foram investigados para o extrato aquoso desta planta, mostrando-se bastante significativos, comprovando sua utilização popular. Além disso, estudos com seu óleo essencial relataram atividade antifúngica contra a maioria das cepas testadas (FRANZOTTI et al., 2000; NUNES et al., 2006).

A *Sida rhomboidea* Roxb. é uma erva encontrada em pântanos da Índia, cujas raízes e folhas são usadas como tônico, para cura de febres, doenças do coração e todos os tipos de inflamação. Estudos farmacológicos utilizando extratos desta planta indicaram sua atividade antinociceptiva e antiinflamatória (VENKATESH et al., 1999).

Sida galheirensis Ulbr. ocorre em todos os estados do Nordeste do Brasil, especialmente em meio à caatinga (SILVA et al., 2006). Na medicina popular, as partes aéreas deste vegetal são utilizadas em forma de decocto ou xarope, no combate à tosse ou coqueluche (AGRA et al., 2007).

Sida tuberculata R.E. Fries é utilizada para tratamento de diversas enfermidades na cultura popular, em especial hiperglicemia e hipercolesterolemia. Estudos demonstraram que seus extratos aquosos possuem potencial antimicrobiano contra linhagens de *Candida krusei*. Além disso, a mesma apresenta ação antioxidante e antiinflamatório significativo, comprovando assim seu uso popular medicinal (ROSA, 2013; NORONHA et al., 2016).

3.3.3 Aspectos quimiotaxonômicos

Investigações fitoquímicas com espécies do gênero *Sida* mostraram a presença de uma variedade de metabólitos secundários como: ácidos graxos (SILVA et al., 2010), diterpenos (BHATT; BAXI; PARIKH, 1983), esteroides, flavonoides (SILVA et al., 2006) e compostos nitrogenados (PYREK; CHARI, 1983). Diante da diversidade despertou-se o interesse em estudar uma espécie do gênero, a *Sida santaremnensis*, amplamente distribuída pela região Nordeste do Brasil, porém pouco conhecida no campo científico.

3.4 CONSIDERAÇÕES SOBRE *Sida santaremnensis*

A espécie *Sida santaremnensis* apresenta amplo espectro de distribuição geográfica, concentrando seus registros em quase todo território brasileiro, entretanto não existe relatos sobre sua incidência na região sul do país (BOVINI, 2010). São ausentes informações sobre

suas aplicações medicinais populares na literatura, tendo sido escolhida para estudo com base nas informações etnobotânicas relativas a outras espécies pertencentes ao mesmo gênero.

Os poucos estudos químicos e farmacológicos realizados, demonstraram para o extrato etanólico bruto atividade vasorelaxante (ARCANJO et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2011) antiulcerogênica (OLIVEIRA et al., 2008), antinociceptiva (MENDES et al., 2008) e antiinflamatória (OLIVEIRA, 2008; MOURA, 2010). Baseado nas atividades farmacológicas evidenciadas nesta espécie é de grande importância seu estudo científico, uma vez que na literatura não há relatos sobre seus metabólitos secundários ou atividade antimicrobiana contra *Candida albicans*.

3.5 SUBSTÂNCIAS VEGETAIS E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Historicamente, várias plantas têm sido utilizadas na medicina tradicional como agentes antimicrobianos, desde então diversos estudos embasados nesse conhecimento popular foram desenvolvidos com inúmeras espécies, comprovando portanto, tal atividade (MENDES et al., 2011).

Embora a indústria farmacêutica tenha produzido grande variedade de antimicrobianos com mecanismos de ações diferentes, a utilização indiscriminada e inadequada fez com que grande parte destes perdessem muito rapidamente sua eficácia frente ao crescente número de microrganismos patogênicos resistentes, surgindo a nível mundial como um tema de grande interesse para a saúde pública (DEUS; ALVES; ARRUDA, 2011).

As bactérias são organismos unicelulares e pertencem ao Reino Monera. Algumas espécies do gênero *Sida* possuem atividade antibacteriana, como *S. acuta* Burm. e *S. rhombifolia* L.. Além disso, estudo realizado por Karou et al. (2007) com *Sida alba* L., demonstrou significativo efeito antibacteriano em linhagens gram-positivas e gram-negativas (KAROU, 2007; GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010; ROSA, 2013).

Os fungos ocupam um reino exclusivo, chamado de Reino Fungi, no qual espécies do gênero *Candida* encontram-se inseridas de acordo com sua classificação taxonômica, embora algumas espécies estejam agrupadas na subdivisão Ascomycotina (GIOLO; VIDZINSKI, 2010; NAVES et al., 2013).

Há um importante aumento no número de infecções fúngicas, principalmente, por espécies do gênero *Candida*. (RICHARDSON, 2005). Tais infecções envolvem um espectro amplo de doenças superficiais e invasivas oportunistas que acometem pacientes expostos aos vários fatores de risco, como a imunossupressão por várias causas, uso de antibióticos de

largo espectro, queimaduras, cirurgias extensas e corticoterapia. A utilização prolongada de cateteres juntamente com a antibioticoterapia, também pode facilitar a multiplicação de leveduras no trato gastrointestinal ou pele, facilitando a disseminação do fungo para a corrente sanguínea, provocando um processo grave denominado de candidemia (FENNER et al., 2006; MALUCHE; SANTOS, 2008).

Dentre os fungos do gênero que possui potencial patológico pode-se evidenciar a espécie *Candida albicans*, sendo sua patogenicidade atribuída aos diversos fatores de virulência que lhes permitem colonizar uma variedade de tecidos e disseminar-se (SARDI et al., 2013). Entre os fatores encontram-se os mecanismos específicos e inespecíficos de adesão a substratos inertes e biológicos, dimorfismo, mudança fenotípica, formação de biofilme, produção de toxinas e enzimas extracelulares hidrolíticas, tais como proteases, fosfolipases e hemolisina e evasão da resposta imune do hospedeiro (SAMARANAYAKE et al., 2005; FISHER, 2011).

As infecções desencadeadas por essa levedura têm se mostrado como um grande problema de saúde na população, embora ainda seja pouco rotineiro, alguns estudos têm evidenciado a resistência de *C. albicans* ao fluconazol, principalmente em infecções recorrentes (DALAZEN et al., 2011)

Estudos demonstraram ação antifúngica de algumas espécies do gênero *Sida*, sendo assim, é de suma importância o desenvolvimento de pesquisas voltadas para o estudo e a avaliação da ação antimicrobiana de plantas do gênero em questão, com o intuito de descobrir novos compostos, quiçá mais eficazes e menos tóxicos contra microrganismos patogênicos e multirresistentes (GIOMBELLI, 2012).

4 METODOLOGIA

4.1 ESTUDO FITOQUÍMICO

4.1.1 Materiais

4.1.1.1 Extrativos

Os extratos e frações de *S. santaremnensis* foram preparados utilizando solventes analiticamente puros (P.A) obtidos da marca Impex[®], destacando-se o hexano, clorofórmio e metanol.

Na evaporação dos solventes foi utilizado evaporador rotativo Quimis[®] acoplado a bomba de vácuo e para dissolução das amostras uma chapa aquecedora Thelga, modelo TMA10CF. As pesagens foram realizadas em uma balança analítica Bioprecisa[®], modelo FA-2104N.

4.1.1.2 Cromatográficos

Para iniciar o processo cromatográfico foi realizada cromatografia preparativa *flash* uma única vez, na qual utilizou sílica-gel como fase estacionária e como suporte funil de Büchner forrado com papel filtro e kitassato acoplado a bomba de vácuo da marca Exipump[®]. Por conseguinte, as amostras foram submetidas a cromatografia em coluna, empregando o sephadex LH-20 como fase fixa e como suporte coluna de vidro da marca Vidrolabor[®] com volume de 25 mL.

O acompanhamento cromatográfico foi realizado através de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) e para a detecção das amostras foi utilizado câmara escura UV (254 e 365 nm), marca Marconi[®], modelo MA 544 e iodo sólido como agentes reveladores.

4.1.1.3 Espectroscópicos

A obtenção dos dados espectroscópicos de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H e RMN ¹³C para caracterização estrutural dos metabólitos secundários isolados foi realizada

na Universidade Federal da Paraíba (UFPB) em colaboração com a Prof.^a Dr.^a Maria de Fátima Vanderlei de Souza e Vicente Carlos de Oliveira Costa.

4.1.2 Métodos

4.1.2.1 Levantamento bibliográfico

Durante o desenvolvimento da pesquisa foi realizada de forma contínua a atualização bibliográfica da espécie estudada em bases de periódicos principalmente internacionais, como o Chemical Abstract, Biological Abstracts, NAPRALERT[®] e Web of Science, com a finalidade de introduzir novas ideias e conhecimentos atualizados por meio da frequente coleta de informações.

4.1.2.2 Coleta e identificação do material vegetal

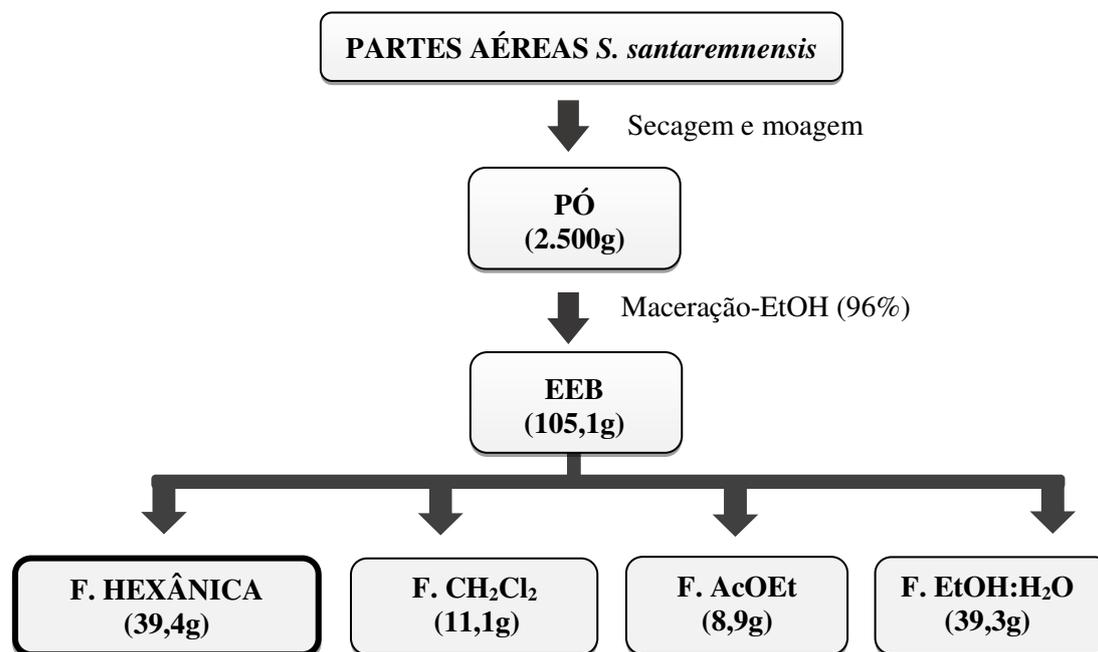
A espécie estudada *Sida santaremnensis* (partes aéreas) foi coletada no Parque Piauí (Teresina-PI) em abril de 2007. Sua identificação botânica foi realizada pela botânica Prof.^a Dr.^a Gardene Maria de Sousa, sendo uma exsicata depositada no herbário Graziella Barroso, sob o código 21867.

4.1.2.3 Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto de *Sida santaremnensis*

O material coletado foi desidratado ao ar livre, e em seguida triturado em moinho mecânico fornecendo 2.500g do pó da planta (Esquema 1, p. 26). Este foi submetido à maceração em etanol a 96%, processo repetido por oito vezes. Posteriormente, a solução extrativa foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo e o material foi colocado em liofilizador para total eliminação da água. O EEB (105,1g) foi dissolvido em uma solução hidroalcoólica (MeOH:H₂O, 7:3), e submetida ao particionamento com solventes em gradiente crescente de polaridade, utilizando-se o hexano, o CH₂Cl₂ e AcoEt, que após concentrados em evaporador rotativo, resultaram nas respectivas fases: hexânica (39,4g), diclorometânica (11,1g), acetato de etila (8,9g) e hidroalcoólica (39,3g).

Como o estudo fitoquímico de uma planta demanda tempo, neste trabalho, foi priorizado o estudo da fase hexânica.

Esquema 1 – Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto de *Sida santaremnensis*.



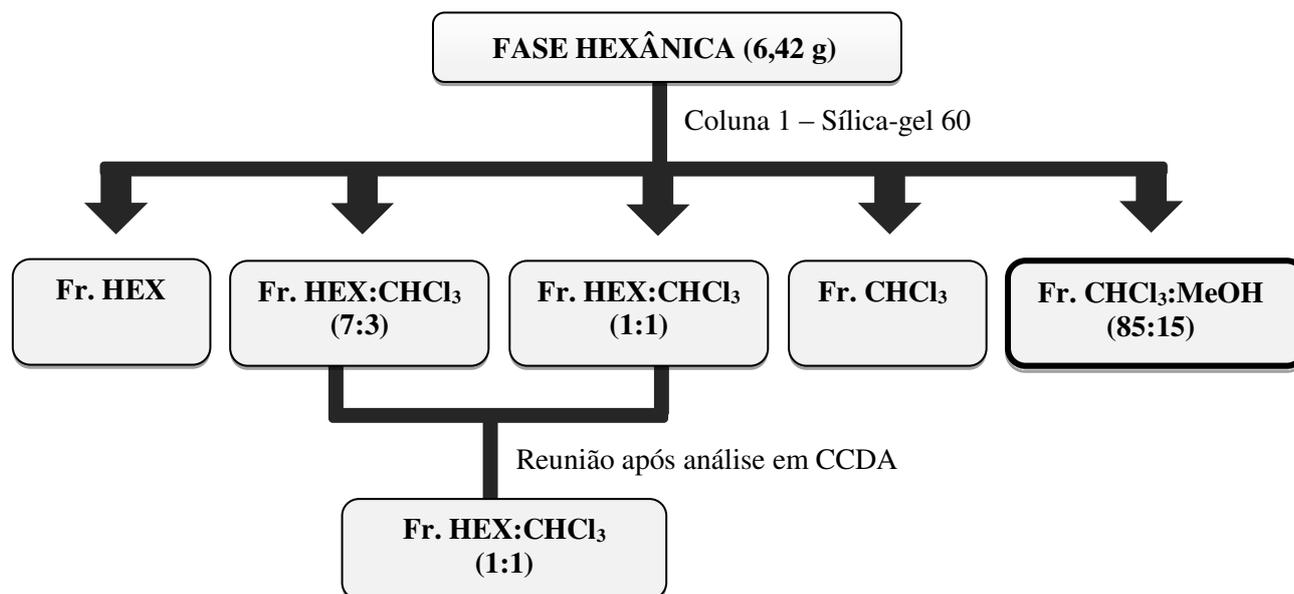
Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

4.1.2.4 Processamento cromatográfico da fase hexânica de *Sida santaremnensis*

Para dar início ao processo cromatográfico, parte da fase hexânica (6,42 g) foi submetida à cromatografia preparativa *flash* (Coluna 1, esquema 2, p. 27) utilizando sílica-gel como fase estacionária e como eluentes solventes de polaridade crescente. Assim, a extração iniciou-se com hexano puro, e em seguida hexano:clorofórmio (7:3), hexano:clorofórmio (1:1), clorofórmio puro e por fim clorofórmio:metanol (85:15).

Por conseguinte, as frações resultantes foram concentradas em evaporador rotativo e aplicadas em CCDA. A partir dos seus fatores de retenção (R_f 's) foram reunidas as frações Hex:CHCl₃ (7:3) e Hex:CHCl₃ (1:1) mantendo a codificação da última, desta forma, resultando em quatro sub-frações. A fração CHCl₃:MeOH (85:15) por seu perfil de polaridade e aspecto em CCDA foi selecionada para dar início à pesquisa (Esquema 2, p. 27).

Esquema 2 – Processamento cromatográfico da fase hexânica de *Sida santaremnensis*.

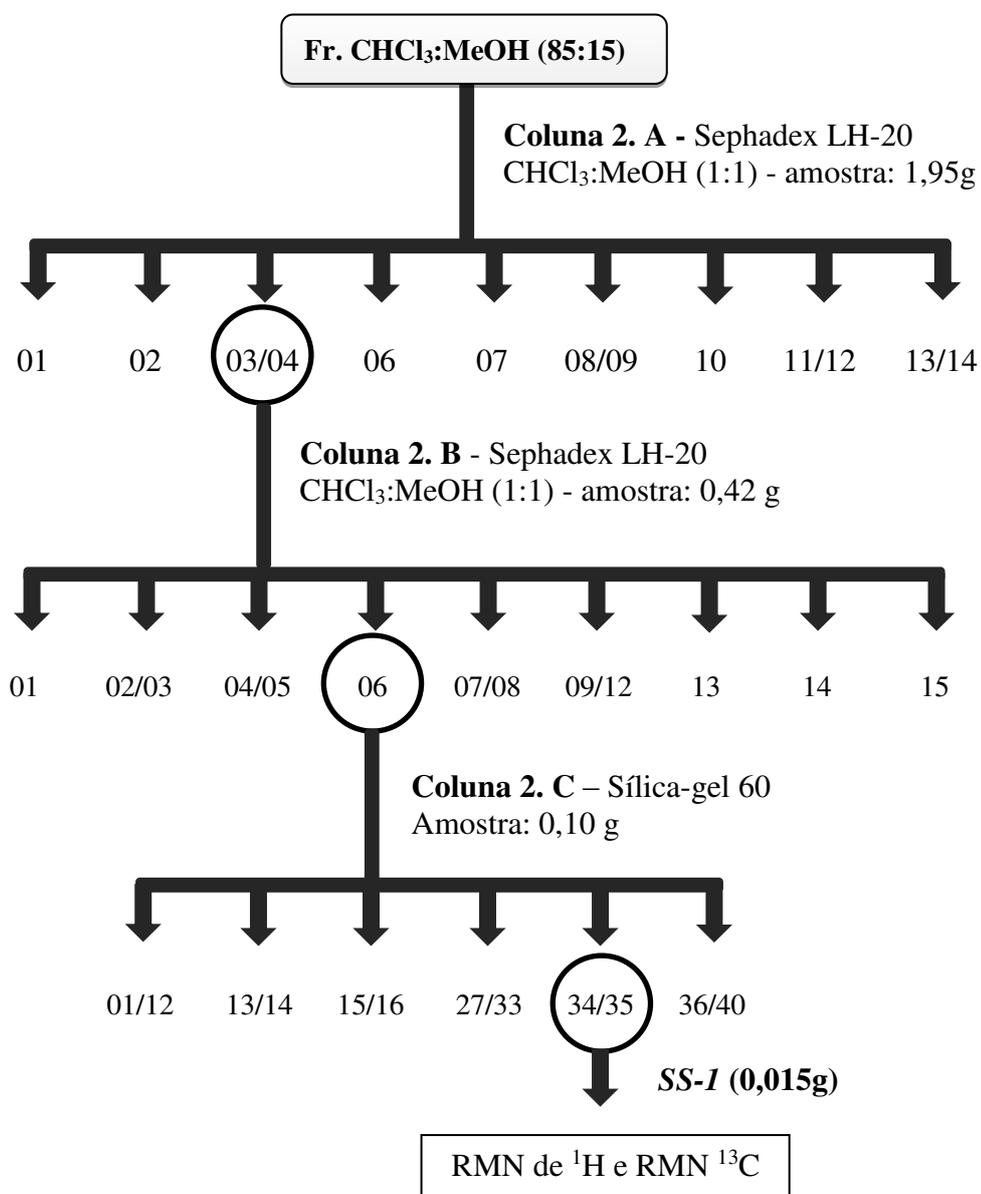


Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

A fração $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (85:15), pesando 1,95 g, foi aplicada em cromatografia em coluna aberta, empregando Sephadex LH-20 e o sistema de solventes $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (1:1) como fase estacionária e móvel (Coluna 2. A, esquema 3, p. 28), respectivamente, resultando em nove sub-frações, após comparação de seus valores de retenção. A fração reunida 03/04 (0,42 g) da coluna 2.A mostrou-se interessante quando analisada por CCDA e foi recromatografada (Coluna 2. B, esquema 3, p. 28) nas mesmas condições, resultando em nove sub-frações (Esquema 3, p. 28).

A fração 06 (0,10 g) da coluna 2. B foi submetida à cromatografia utilizando fase estacionária sílica-gel 60 e fase móvel vários sistemas de solventes com polaridade crescente (Coluna 2. C, esquema 3, p. 28), que resultou em seis sub-frações. Destas, a sub-fração 34/35 (0,015 g) após analisado por CCDA em dois sistemas de solventes distintos, mostrou-se como uma única mancha, sendo codificada como *SS-1* e encaminhada para obtenção de espectros (Esquema 3, p. 28).

Esquema 3 – Processamento cromatográfico da fração clorofórmio:metanol (85:15) de *Sida santaremnensis*



Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

4.2 ESTUDO MICROBIOLÓGICO

4.2.1 Materiais

4.2.1.1 Preparação dos extratos de *Sida santaremnensis*

Para a realização dos testes antimicrobianos uma amostra do EEB e de cada fase resultante do particionamento de *Sida santaremnensis* foi solubilizada com Tween 80 e água deionizada, para homogeneização.

4.2.1.2 Padronização da suspensão fúngica e meio de cultura

As suspensões fúngicas foram padronizadas a partir de culturas contendo as cepas padrão de *Candida albicans* American Type Culture Collection (ATCC) 76485 e 76645, fornecidas pelo Laboratório de Microbiologia e Bioquímica no Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande. Para cada cepa, o inóculo foi preparado em solução salina 0,9% com o intuito de se obter uma suspensão contendo $1-5 \times 10^6$ unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL), a qual foi comparada sua turbidez com tubo de 0,5 na escala de *McFarland*. Como meio de cultura, utilizou-se o Caldo Sabouraud Dextrose (CSD).

4.2.2. Métodos

4.2.2.1 Microdiluição em caldo

A avaliação da atividade antifúngica foi conduzida por meio do método de microdiluição em caldo, de acordo com as normas propostas pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), para determinação da concentração inibitória mínima (CIM). Os experimentos foram realizados em uma placa com 96 cavidades, e o extrato da planta testado nas concentrações de 1024 a 2 $\mu\text{g/mL}$, em diluições seriadas 1:2. A avaliação da CIM foi conduzida com aproximadamente $1-5 \times 10^5$ UFC/mL do microrganismo em cada cavidade. As placas foram incubadas a 37°C por 24-48 horas. Após esse período observou-se o crescimento fúngico visível, sendo considerada a CIM como a menor concentração da substância que inibiu o crescimento do microrganismo. Utilizou-se CSD com o microrganismo como

controle positivo e como controle negativo, apenas o meio CSD. Todos os testes foram realizados em triplicata (CLSI, 2002).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.2 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE *SS-I*

O fracionamento da fase hexânica de *Sida santaremnensis* resultou no isolamento de 15 mg de um sólido branco, amorfo, que foi codificado como *SS-I*.

No espectro de RMN ^1H de *SS-I* (Figura 1, p. 32) observou-se um envelope de absorções entre δ_{H} 0,56 - 2,26, típicos de hidrogênios ligados a carbonos saturados, característico de núcleo esteroidal ou triterpênico (AHMED et al., 1992), além de sinais na região de hidrogênios olefínicos, sendo a absorção em δ 5,21 atribuída ao H6 e as absorções entre δ 4,84 e 5,02 atribuída aos átomos de hidrogênio H22 e H23 de esteroides. A presença de glicose em *SS-I* foi sugerida pela presença de um sinal em δ 4,30 típico de hidrogênio anomérico, juntamente com absorções na região entre δ 3,05 a 3,57 característicos de hidrogênios carbinólicos (KOJIMA et al., 1990; PAVIA et al., 2010).

Os espectros de RMN ^{13}C obtidos segundo a técnica APT (Figuras 2 a 4, p. 33 e 34) corroboraram com a proposta anterior, da presença de unidade de glicose, ao exibir sinal em δ_{C} 100,85 referente ao carbono anomérico (C-1') da unidade osídica (AQUINO et al., 1988), bem como absorções na região entre δ_{C} 69,95 - 78,88, condizentes com absorções de carbonos metínicos oxigenados. Uma absorção em δ_{C} 61,59 referente a carbono metilênico oxigenado, confirma que a unidade osídica trata-se de uma molécula de glicose. Observou-se também valores entre δ_{C} 11,80 -12,00, característicos de carbonos metílicos de esteroides (BREITMAIER; VOELTER, 1990). Absorções em δ_{C} 140,05 e δ_{C} 121,86 correspondem, respectivamente, aos carbonos 5 e 6 do esqueleto de esteroides como o sitosterol e estigmasterol, sendo que, para este último, observou-se ainda sinais menos intensos em δ_{C} 138,00 e δ_{C} 129,00, referentes aos carbonos olefínicos 22 e 23, respectivamente, o que levou a sugerir que *SS-I* seria uma mistura de compostos de natureza esteroidal.

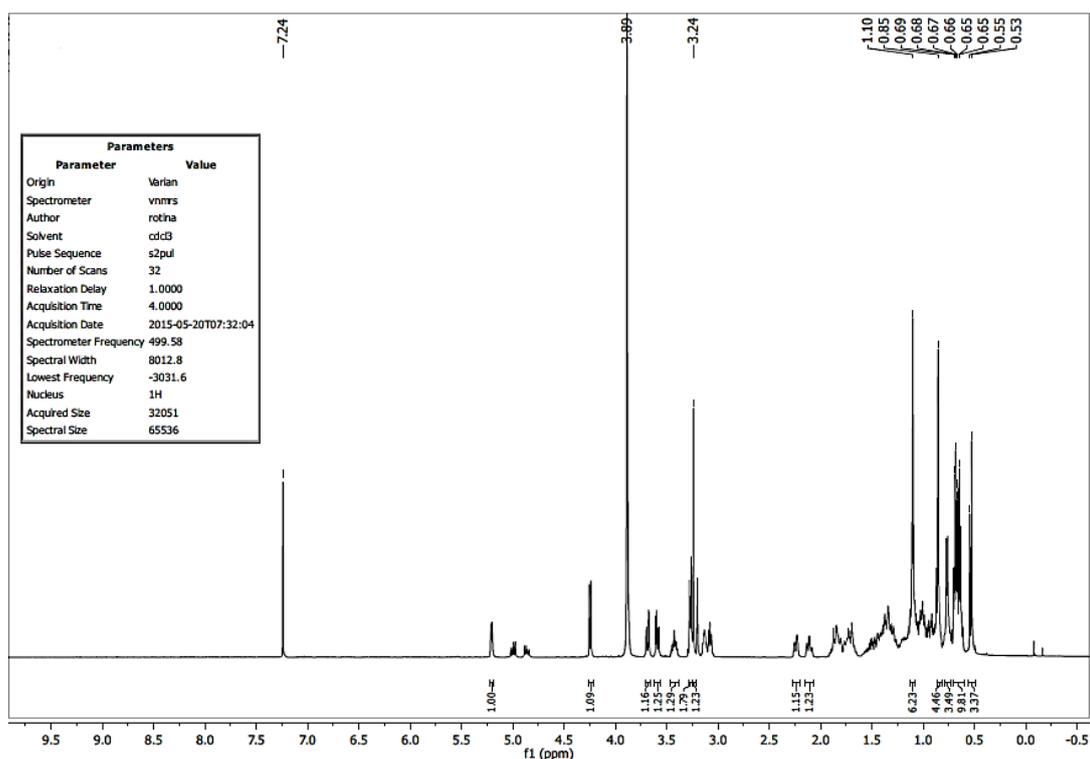
Os dados espectrais quando comparados com aqueles da literatura para o sitosterol 3-*O*- β -D- glicopiranosídeo e o estigmasterol 3-*O*- β -D-glicopiranosídeo (Tabela 1, p. 35), evidenciaram que a substância em questão trata-se de uma mistura dessas saponinas esteroidais, sendo codificadas como *SS-Ia* e *SS-Ib*, respectivamente (Figuras 5 e 6, p. 36).

Estas substâncias são amplamente distribuídas em plantas e, não raramente, são obtidas na forma de misturas, haja vista a dificuldade de separação, devido à grande semelhança entre as propriedades químicas e físicas. Na família Malvaceae, já foram isoladas

em forma de mistura em algumas espécies, como *Backeridesia pickelli* H. Monteiro (COSTA et al., 2007), *Sida galheirensis* Ulbr (SILVA et al., 2006) e *Herissantia tiubae* K. Shum Brizick (SILVA et al., 2009), contudo, este é o primeiro relato em *Sida santaremnensis*.

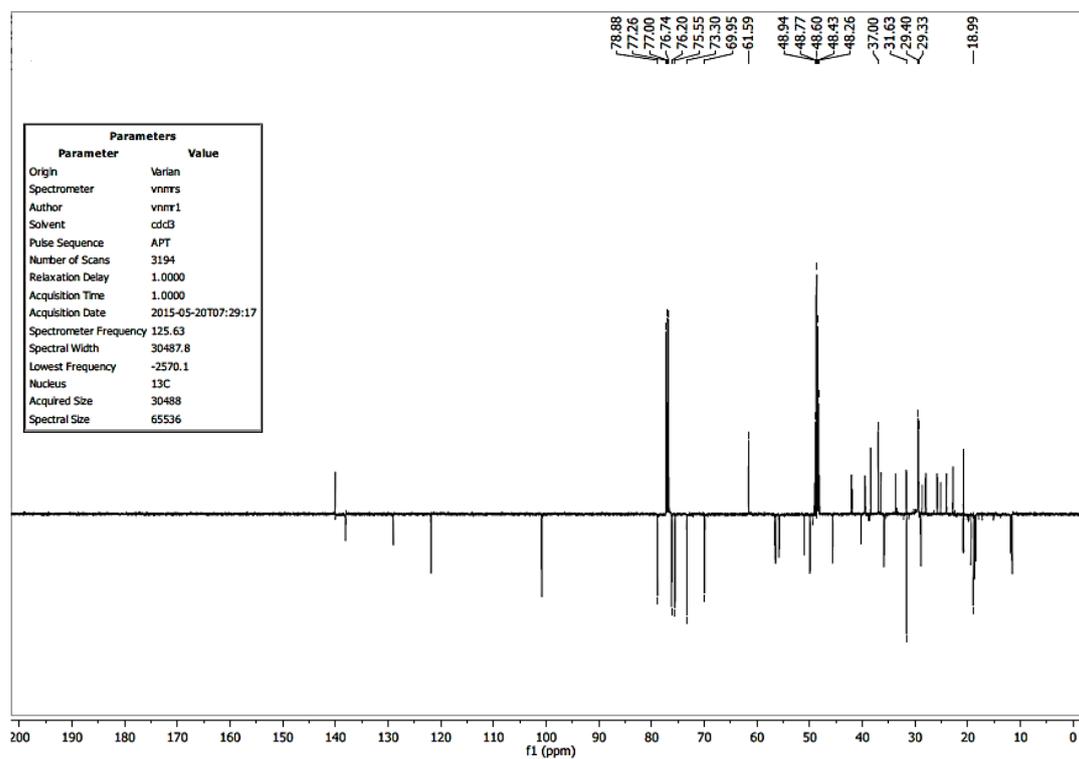
Estudos demonstram que o β -sitosterol glicosilado possui atividades anti-inflamatória, antineoplásica, antipirética e imunomodulatória (BOUIC et al., 1999). Apesar de não ter sido encontrado na literatura relato de atividade para o estigmasterol glicosilado, para seu resíduo genina ou aglicona, são descritas diversas ações, destacando-se: atividade anti-inflamatória (PEREIRA et al., 2006), anticancerígena, bem como antihepatotóxica, hipocolesterolêmica e sedativa (AGRICULTURAL RESEARCH SERVICES, 2009).

Figura 1 – Espectro de RMN ^1H ($\text{CDCl}_3:\text{MeOD}$, 500 MHz) de *SS-I*.



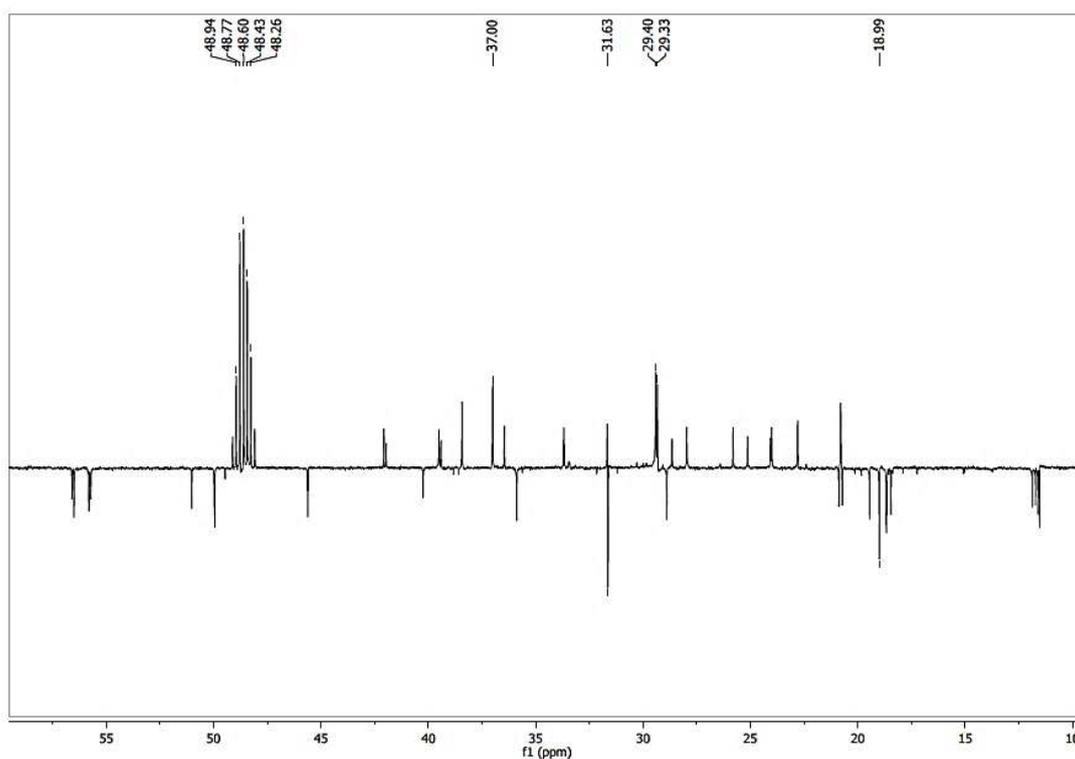
Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

Figura 3 – Espectro de RMN ^{13}C ($\text{CDCl}_3:\text{MeOD}$, 125 MHz) de *SS-1*.



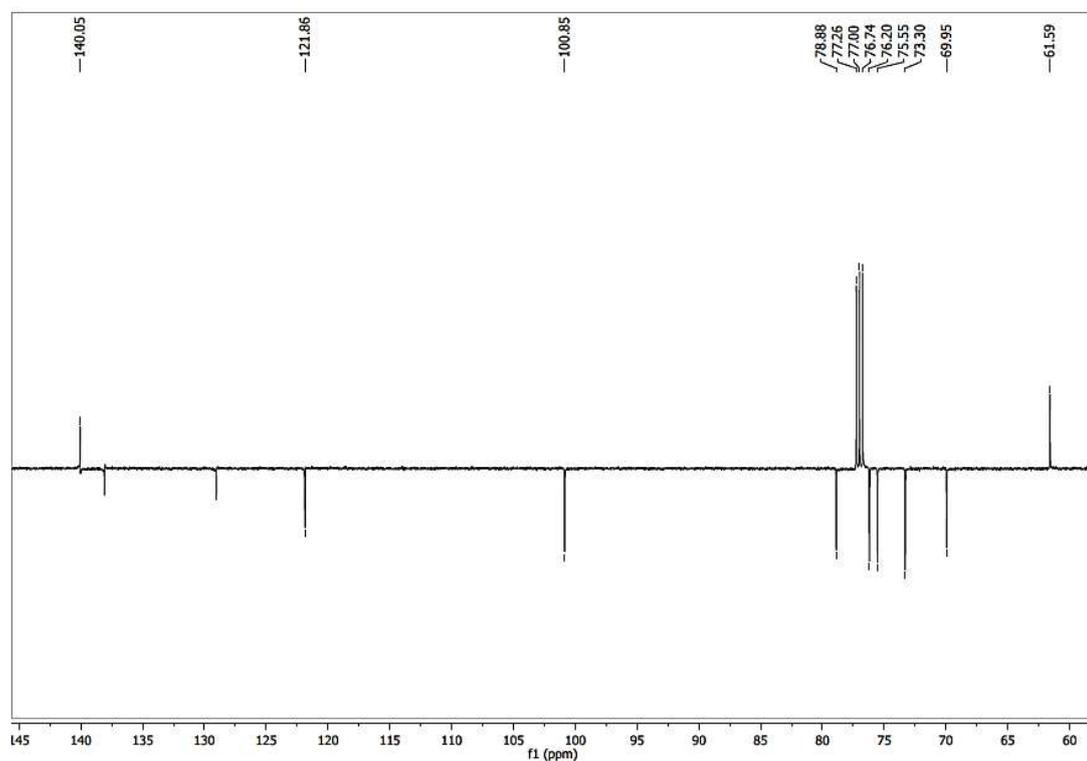
Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

Figura 4 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C , 10-60 ppm ($\text{CDCl}_3:\text{MeOD}$, 125 MHz) de *SS-1*.



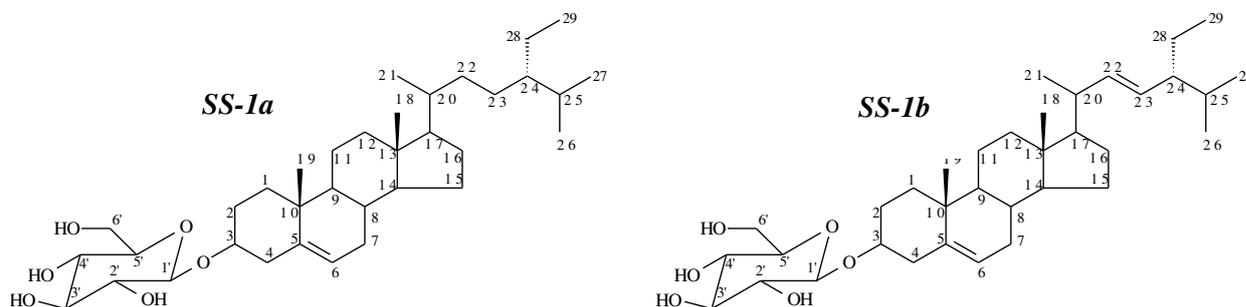
Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

Figura 6 – Expansão do espectro de RMN ^{13}C , 60-145 ppm ($\text{CDCl}_3:\text{MeOD}$, 125 MHz) de *SS-1*.



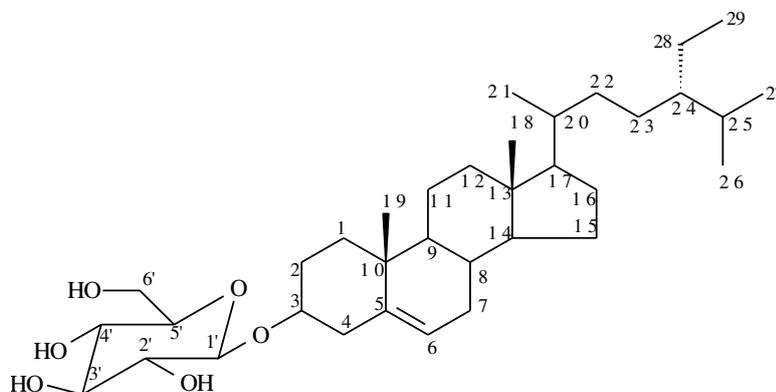
Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

Tabela 1 – Dados de RMN ^{13}C da mistura *SS-1a* e *SS-1b* (δ , $\text{CDCl}_3\text{:MeOD}$, 125 MHz) comparados com amostras autênticas da literatura (δ , $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz).

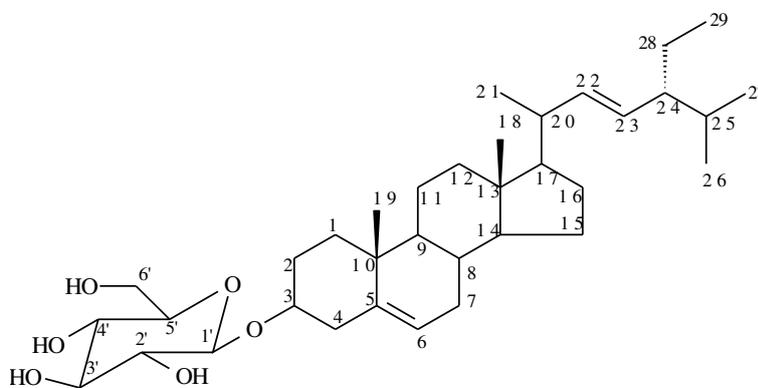


C	<i>SS-1a</i>	sitosterol 3-O- β -D-glicopiranosídeo	<i>SS-1b</i>	estigmasterol 3-O- β -D-glicopiranosídeo
	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c
1	37,00	37,60	37,00	37,60
2	29,33	30,30	29,40	30,30
3	75,55	78,30	75,55	78,30
4	38,60	39,40	38,60	39,40
5	140,05	141,00	140,05	141,00
6	121,86	122,00	121,86	122,00
7	31,63	32,20	31,63	32,20
8	31,62	32,10	31,62	32,10
9	49,80	50,40	49,80	50,40
10	36,60	37,00	36,60	37,00
11	19,95	21,40	19,95	21,40
12	39,50	40,00	39,40	39,90
13	42,00	42,40	41,90	42,40
14	56,40	57,00	56,50	57,10
15	24,00	24,60	24,20	24,70
16	27,80	28,70	28,50	29,40
17	56,10	56,30	56,00	56,20
18	11,80	12,00	11,90	12,30
19	18,99	19,30	18,99	19,30
20	36,00	36,50	40,00	36,90
21	18,60	19,10	21,00	21,70
22	33,40	34,30	138,00	138,90
23	26,00	26,40	129,00	129,50
24	45,20	46,10	50,90	51,50
25	28,80	29,50	31,62	32,20
26	18,80	19,50	19,90	21,40
27	19,50	20,10	19,50	20,10
28	23,00	23,40	25,00	25,80
29	12,00	12,20	12,20	12,60
1'	100,85	102,60	100,85	102,60
2'	73,30	75,40	73,30	75,40
3'	78,88	78,70	78,88	78,70
4'	69,95	71,70	69,95	71,70
5'	76,20	78,50	76,20	78,50
6'	61,59	62,90	61,59	62,90

Fonte: KOJIMA et al., 1990; Dados da pesquisa, 2016.

Figura 8 –*SS-1a* (Sitosterol 3-*O*- β -D- glicopiranosídeo)

Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

Figura 10 –*SS-1b* (Estigmasterol 3-*O*- β -D-glicopiranosídeo)

Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

5.2 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

Os resultados encontrados após o teste de concentração inibitória mínima o extrato etanólico bruto (EEB) e as fases hexânica (HEX), acetato de etila (AcOEt), hidroalcoólica (EtOH:H₂O) e diclorometânica (CH₂Cl₂) de *S. santaremnensis* não apresentaram atividade antifúngica nas condições experimentais utilizadas, uma vez que a maior concentração

inibitória testada (1.024µg/mL) não foi capaz de inibir o crescimento de nenhuma das cepas de *Candida albicans* (ATCC 76485 e 76645) avaliadas (Tabela 2, p. 37).

Nascimento et al. (2015) demonstraram que as fases hexânica e hidroalcoólica de *S. santaremnensis*, quando testadas contra *Rhodotorulla* spp. não inibiram a grande maioria das cepas ensaiadas. Apesar desta espécie não ter apresentado atividade antifúngica, outras espécies do gênero *Sida* são documentadas com esta atividade, como *Sida cordifolia* L. roots, na qual seu extrato metanólico exibiu atividade antifúngica significativa contra *Fusarium verticillioides* (MAHESH; SATISH, 2008). Estudo realizado por Rosa (2013) com extratos aquosos de *Sida tuberculata* R.E. Fries demonstrou que a mesma possui atividade antifúngica contra *Candida krusei*. Estes dados corroboram com o fato de que cada espécie apresenta suas peculiaridades, e os fatores ambientais referentes a solo e clima podem estar interferindo diretamente no teor de princípios ativos.

Tabela 2 – Concentração inibitória mínima do extrato bruto e fases de *S. santaremnensis*, contra cepas ATCC de *Candida albicans*.

<i>S. santaremnensis</i>	Cepas de <i>C. albicans</i>	
	ATCC 76485	ATCC 76645
EEB	> 1.024µg/mL	> 1.024µg/mL
HEX	> 1.024µg/mL	> 1.024µg/mL
AcOEt	> 1.024µg/mL	> 1.024µg/mL
EtOH:H ₂ O	> 1.024µg/mL	> 1.024µg/mL
CH ₂ Cl ₂	> 1.024µg/mL	> 1.024µg/mL

Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

6 CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico da fase hexânica de *Sida santaremnensis* possibilitou o isolamento de uma mistura de saponinas esteroidais, identificadas como sitosterol 3-*O*- β -D-glicopiranosídeo e o estigmasterol 3-*O*- β -D-glicopiranosídeo, através de métodos espectroscópicos de RMN ^1H e ^{13}C unidimensionais e comparação com dados da literatura.

No estudo microbiológico, as fases e o extrato etanólico bruto de *S. santaremnensis* não apresentaram atividade contra cepas de *Candida albicans* por meio do teste de concentração inibitória mínima. Embora o gênero *Sida* apresente diversas atividades terapêuticas, estudos para determinação da CIM de espécies do gênero, como *S. santaremnensis* ainda são escassos, sendo inéditos na literatura resultados da ação antifúngica de *S. santaremnensis* contra cepas de *Candida albicans*.

Este trabalho fornece importantes conhecimentos sobre a espécie estudada, despertando o interesse para estudos em outras áreas. O isolamento dessa mistura de substâncias contribui para o enriquecimento quimiotaxonômico da família Malvaceae e melhor conhecimento de uma espécie pertencente à vegetação do Nordeste Brasileiro.

REFERÊNCIAS

AGRA, M. F.; BARACHO, G. S.; BASÍLIO, I. J. D.; NURIT, K.; COELHO, V. P.; BARBOSA, D. A. Sinopse da flora medicinal do cariri paraibano. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 3, p. 323-330, 2007.

AGRICULTURAL RESEARCH SERVICES. **Phytochemical and Ethnobotanical databases**. Disponível em: < <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/duke/chemical.plstigmasterol>>. Acesso em: 19 mai. 2016.

AHMED, W.; AHMAD, Z.; MALIK, A. Stigmasterol galactoside from *Rhynchosia minima*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 11, p. 4038-4039, 1992.

AHMED, Z.; KAZMI, S. N.; MALIK, A. A new pentacyclic triterpene from *Abutium pakistanicum*. **Journal of Natural Products**, v. 53, n. 5, p. 1342-1344, 1990.

ALMEIDA, R. B.; SCHEFFER, T. P. Estudo sobre a utilização de recursos vegetais com potencial terapêutico. **Revista de Saúde Pública de Santa Catarina**, v. 5, n. 1, p. 59-71, 2012.

AQUINO, R.; SIMONE, F.; PIZZA, C.; CERRI, R.; MELLO, J. F. Quinovic acid glycosides from *Guettarda platypoda*. **Phytochemistry**, v. 27, n. 9, p. 2927-2930, 1988.

ARAUJO, J. L.; LEMOS, J. R. Estudo etnobotânico sobre plantas medicinais na comunidade de Curral Velho, Luís Correia, Piauí, Brasil. **Revista Biotemas**, v. 28, n. p. 2, 2015.

ARCANJO, D. D. R.; OLIVEIRA, N. N. P. M.; FERREIRA-FILHO, E. S.; COSTA, D. A.; CHAVES, M. H.; BORGES, A. C. R.; OLIVEIRA, A. P.; OLIVEIRA, R. C. Vasorelaxant response induced by *Sida santaremnensis* H. Monteiro ethanol extract on rat superior mesenteric artery. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 65, p. 14587-14597, 2011.

AZEVEDO, L. F. P.; FARIA, T. S. A.; PESSANHA, F. F.; ARAUJO, M. F.; LEMOS, G. C. S. Triagem fitoquímica e atividade antioxidante de *Costus spicatus* (Jacq.) S.w. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, p. 209-215, 2014.

BARACHO, G. S. **Taxonomia do gênero *Sida* L. seção *cordifoliae* (DC.) Fryxell (Malvaceae) no Brasil**. Dissertação (Mestrado em Botânica), Recife – PE, 1998.

BHATT, D. J.; BAXI, A. J.; PARIKH, A. R. Chemical investigations of the leaves of *Sida rhombifolia* Linn. **Journal of the Indian Chemical Society**, v. 60, n. 98, 1983.

BITENCOURT, A. P. R.; ALMEIDA, S. S. M. S. Estudo fitoquímico, toxicológico e microbiológico das folhas de *Costus spicatus* Jacq. **Biota Amazônia**, v. 4, n. 4, p. 75-79, 2014.

BOUIC, P. J.; LAMPRECHT, J. H. Plant sterol and sterolins: A review of their immunomodulating properties. **Alternative Medicine Review**, v. 4, p. 170-177, 1999.

BOVINI, M.G. Malvaceae *s.str.* na Reserva Rio das Pedras, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. **Rodriguésia**, v. 61, n. 2, p. 289-301, 2010.

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

BREITMAIER, E.; VOELTER, W. **Carbon-13 NMR Spectroscopy: high resolution methods and applications in organic chemistry and biochemistry**. 3. completely rev. ed. – Weinheim, New York: VHC, 1990.

CARDOSO, T. F. **Papel do ATP na infecção de Macrófagos por *Candida albicans***. 2013. 42 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2013.

CASTRO, R. D.; LIMA, E. O. Atividade antifúngica dos óleos essenciais de sassafrás (*Ocotea odorifera* Vell.) e alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) sobre o gênero *Candida*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 2, p. 203-8, 2011.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química nova**, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.

CHAVES, O. S. “**Novas substâncias para Malvaceas: *Sida rhombifolia* L.**” 2012. 174 f. Dissertação (Pós-graduação em Produtos Sintéticos e Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.

CIBELE, M.A.S. **Metabólitos secundários de plantas do semi-árido de pernambuco – Uma inovação no controle de fitopatógenos**. 109 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

CLSI. **Método de referência para testes de diluição em caldo para determinação da sensibilidade de leveduras à terapia antifúngica: norma aprovada- segunda edição.** M27-A2, vol. 22, n. 15, 2002.

COSTA, D. A.; MATIAS, W. N.; LIMA, I. O.; XAVIER, A. L.; COSTA, V. B. M.; DINIZ, M. F. F. M.; AGRA, M. F.; BATISTA, L. M.; SOUZA, M. F. V.; SILVA, D. A. First secondary metabolites from *Herissantia crispa* L. (Brizicky) and the toxicity activity against *Artemia salina* Leach. **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 48-50, 2009.

COSTA, D. A.; SILVA, D. A.; CAVALCANTI, A. C.; MEDEIROS, M. A. A.; LIMA, J. T.; CAVALCANTE, J. M. S.; SILVA, B. A.; AGRA, M. F.; SOUZA, M. F. V. Chemical constituents from *Bakeridesia pickelli* (H. Monteiro) (Malvaceae) and the relaxant activity of kaempferol-3-O- β -D-(6'-E-p-coumaroyl) glucopyranoside on guinea-pig ileum. **Química Nova**, v. 30, n. 4, 2007.

DALAZEN, D.; ZANROSSO, D.; WANDERLEY, L.; SILVA, N. L.; FUENTEFRIA, A. M. Comparação do perfil de suscetibilidade entre isolados clínicos de *Candida* spp. orais e vulvovaginais no Sul do Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina laboratorial**, v. 47, n. 1, p. 31-36, 2011.

DEUS, R. J. A. D.; ALVES, C. N.; ARRUDA, M. S. P. A. Avaliação do efeito antifúngico do óleo resina e do óleo essencial de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 1-7, 2011.

FARIAS, J. E. S. **Manejo de açazais, riqueza florística e uso tradicional de espécies de várzeas do estuário amazônico.** 2012. 90 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Tropical) – Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2012.

FENNER, R.; BETTI, A. H.; MENTZ, L. A.; RATES, S. M. K. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 3, p. 369-394, 2006.

FISHER, J. F. *Candida* Urinary Tract Infections—Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment: Executive Summary. **Clinical Infectious Diseases**, v. 52, n. 6, p. S429-S432, 2011.

FORMIGONI, M. H.; XAVIER, A. C.; LIMA, J. S. S. Análise temporal da vegetação na região do Nordeste através de dados EVI do MODIS. **Ciência Florestal**, v. 21, n. 1, p. 1-8, 2011.

FRANZOTTI, E. M.; SANTOS, C. V. F.; RODRIGUES, H. M. S. L.; MOURAO, R. H. V.; ANDRADE, M. R.; ANTONIOLLI, A. R. Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Sida cordifolia* L. (malva-branca). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, p. 273-278, 2000.

GIOLO, M. P.; SVIDZINSKI, T. I. E. Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnostico laboratorial da candidemia. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 46, n. 3, p. 225-234, jun. 2010.

GIOMBELLI, L. F.; 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.

GUILHERMINO, J. F.; QUENTAL, C.; BOMTEMPO, J. V. Sistema de inovação em fitomedicamentos: os desafios da gestão para o desenvolvimento de fitomedicamentos a partir da biodiversidade brasileira. **Revista Fitos Eletrônica**, v.7, n.3, p. 169-184, 2012.

GUILHERMINO, J. F.; SIANI, A. C.; QUENTAL, C.; BOMTEMPO, J. V. Desafios e complexidade para inovação a partir da biodiversidade brasileira. **Revista de Pesquisa e Inovação Farmacêutica**, v. 4, n. 1, p. 18-30, 2012.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

GUIZZO, P. L.; BREDDA, T. C. C.; SCARPA, M. V. C.; NAVARRO, F. F. Controle de qualidade e triagem fitoquímica da droga vegetal das folhas de *Morus nigra* L.(MORACEAE). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 36, n. 2, p. 259-265, 2015.

HEYWOOD, V. H. **Flowering Plants on the World**. London: Edited. B. T. Batsford Ltda., 1993.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. A importância das plantas medicinais: Princípios ativos de plantas superiores. **Editora da Universidade Federal de São Carlos**, v. 1, p. 152, 2003.

KAROU, S. D.; NADEMBEGA, W. M. C; ILBOUDO, D. P.; OUERMI, D.; GBEASSOR, M.; SOUZA, C.; SIMPORE, J. *Sida acuta* Burm. f.: a medicinal plant with numerous potencies. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 25, 2007.

KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A. OGURA, H. Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2351-2355, 1990.

MAGALHÃES, B. H.; CAMARGO, M. F.; HIGUCHI, C. T. Indicação de uso de espécies vegetais para o tratamento da celulite com fins cosméticos. **InterfacEHS - Revista de Saúde, Meio Ambiente e Sustentabilidade**, v. 8, n. 3, 2014.

MAHESH, B.; SATISH, S. Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant and human pathogens. **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 4, n. 5, p. 839-843, 2008.

MALUCHE, M. E.; SANTOS J. I. *Candida* sp. e infecções hospitalares: aspectos epidemiológicos e laboratoriais. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 40, n. 1, p. 65-67, 2008.

MATOS, F. J. A. As plantas da farmácia viva. **Editora da Universidade Federal do Ceará**, v. 1, p. 57, 1997.

MEIRA-NETO, R. A.; ALMEIDA, S. S. M. S. Avaliação fitoquímica, microbiológica e citotóxica das folhas de *Gossypium arboreum* L. (Malvaceae). **Biota Amazônia**, v. 5, n. 2, p. 18-22, 2015.

MENDES, L. P. M.; MACIEL, K. M.; VIEIRA, A. B. R.; MENDONÇA, L. C. V.; SILVA, R. M. F.; ROLIM NETO, P. J.; BARBOSA, W. L. R.; VIEIRA, J. M. S. Atividade antimicrobiana de extratos etanólicos de *Peperomia pellucida* e *Portulaca pilosa*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 1, p. 121-125, 2011.

MENDES, R. M. B.; FIGUEIREDO, K. A.; LOPES, L. S.; PEREIRA, S. S.; OLIVEIRA, A. P. COSTA, D. A.; CHAVES, M. H.; ALMEIDA, F. R. C. Estudo do efeito antinociceptivo de *Sida santaremnensis* (Malvaceae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FARMACOLOGIA E TERAPÊUTICA EXPERIMENTAL, 40., 2008, Águas de Lindóia. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <http://asp.sbftc.org.br/pub/media/Setor07_2008.pdf>. Acesso em: 29 mai. 2016.

MOURA, W. R. A. **Ensaio farmacológico das atividades antiinflamatória, citotoxicidade e toxicidade aguda da *Copaifera luetzelburgii*, HARM E *Sida santaremnensis***, MONTEIRO. 2010. 69 f. Tese (Doutorado) Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2010.

NASCIMENTO, Josefa Paula.; COSTA, Danielly Albuquerque.; LIMA, Edeltrudes de Oliveira.; ALENCAR Maria Carmem Batista.; CARMO, Egberto Santos. 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, 2015.

NAVES, P. L. F.; SANTANA, D. P.; RIBEIRO, E. L.; MENEZES, A. C. S. Novas abordagens sobre os fatores de virulência de *Candida albicans*. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 12, n. 2, p. 229-233, 2013.

NORONHA, D. S.; ROSA, H.; SALGUEIRO, A. C.; SILVA, M. D.; MENDEZ, A. S. L.; FOLMER, V. Composição fitoquímica e efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios dos extratos de *Sida tuberculata*. In: SALÃO INTERNACIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA, 7., 2016, Bragança. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <<http://publicase.unipampa.edu.br/index.php/siepe/article/view/16581/5629>>. Acesso em: 15 mai. 2016.

NUNES, X. P.; MAIA, G. L. A.; ALMEIDA, J. R. G. S.; PEREIRA, F. O.; LIMA, E. O. Antimicrobial activity of the essential oil of *Sida cordifolia* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 642-644, 2006.

OLIVEIRA, E. T.; BRITO, C. A.; OLIVEIRA, M. R. C.; CHAVES, M. H.; OLIVEIRA, F. A. Calcium and potassium channels involvement on vasorelaxation of *Sida santaremnensis* H. Monteiro (Malvaceae)... In: REUNIÃO REGIONAL, FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 26., 2011, Rio de Janeiro. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <http://www.fesbe.org.br/fesbe2011/programa/programa_fesbe2011_PAG01_324.pdf>. Acesso em: 29 maio. 2016.

OLIVEIRA, E. T.; BRITO, C. A.; OLIVEIRA, M. R. C.; CHAVES, M. H.; OLIVEIRA, F. A. Atividade antiedematogênica de *Sida santaremnensis* H. Monteiro (Malvaceae) em modelos animais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FARMACOLOGIA E TERAPÊUTICA EXPERIMENTAL, 40., 2008, Águas de Lindóia. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <http://hasp.sbfte.org.br/pub/media/stor_05-2008.pdf>. Acesso em: 18 de mar. 2016.

OLIVEIRA, F. S.; RIBEIRO, A.; CALHELHA, R. C.; JUNIOR, B. D.; BARREIRO, M. F.; FERREIRA, I. C. Potencial anti-angiogênico de iogurtes com extratos ricos em derivados de apigenina. In: ENCONTRO DE JOVENS INVESTIGADORES DO INSTITUTO POLITÉCNICO DE BRAGANÇA, 3., 2015, Bragança. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <<https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/12646/3/Oral%20Nac.%2072.pdf>>. Acesso em: 15 de jun. 2016.

OTERO, R.; NÚÑEZ, V.; BARONA, J.; FONNEGRA, R.; JIMÉNEZ, S. L.; OSORIO, R. G.; SALDARRIAGA, M.; DÍAZ, A. Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia Part III: Neutralization of the haemorrhagic effect of *Bothrops atrox* venom. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 73, n. 1-2, p. 233-241, 2000.

PAVIA, D. L.; KRIZ, G. S.; LAMPMAN, G. M.; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectrometria**. Tradução da 4ª ed. norte-americana, São Paulo: CENGAGE, 2010.

PEREIRA, M. M.; SOUZA JÚNIOR, S. N.; ALCÂNTARA, A. F. C.; PILÓ-VELOSO, D.; ALVES, R. B.; MACHADO, P. O.; AZEVEDO, A. O.; MOREIRA, F. H.; CASTRO, M. S. A.; RASLAN, D. S. Constituintes químicos e estudo biológico de *Aspidosperma nitidum* (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 3, p. 1-8, 2006.

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

PINTO-ZEVALLOS, D. M.; ZARBIN, P. H.G. A química na agricultura: perspectivas para o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1509-1513, 2013.

PYREK, J.; CHARI, M.; **Abstracts of 24th Annual Meeting American Society of Pharmacognosy**, Mississippi, USA, 1983.

ROLIM, Y. M. **Alcaloides e glicosídeo flavonoídico de *Waltheria viscosissima* A. St. Hil-Malvaceae**. 2015. 85 f. Dissertação (Pós-graduação em Produtos Sintéticos e Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

ROSA, H. S. **Caracterização e determinação da atividade antifúngica *in vitro* de extratos obtidos de *Sida tuberculata* R.E. Fries (Malvaceae)**. 2013. 91 f. Dissertação (Pós-graduação *Stricto sensu* em Bioquímica) – Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, 2013.

SAMARANAYAKE, Y. H.; DASSANAYAKE, R. S.; JAYATILAKE, J. A. M. S.; CHEUNG, B. P. K.; YAU, J. Y. Y.; YEUNG, K. W. S.; SAMARANAYAKE, L. P. Phospholipase B enzyme expression is not associated with other virulence attributes in *Candida albicans* isolates from patients with human immunodeficiency virus infection. **Journal of Medical Microbiology**, v. 54, p. 583–593. 2005.

SANTOS, D.S. **Estudo fitoquímico sazonal e potencial antimicrobiano das raízes de *Vetiveria zizanioides***. 2013. 67 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2013.

SARDI, J. C. O.; SCORZONI, L.; BERNARDI, T.; FUSCO-ALMEIDA, A. M.; GIANNINI, M. J. S. M. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. **Journal of Medical Microbiology**, v. 62, p. 10–24. 2013.

SHARMA, P.V.; AHMAD, Z. A. Two sesquiterpenes lactones from *Abutilon indicum*. **Phytochemistry**, v. 34, n. 3, p. 843-845, 1989.

SILVA, A. C. O.; OLIVEIRA, A. F. M.; SANTOS, D. Y. A. C.; SILVA, S. I. An approach to chemotaxonomy to the fatty acid content of some Malvaceae species. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, p. 1035–1038, 2010.

SILVA, D. A.; FALÇÃO-SILVA, V. S.; GOMES, A. Y. S.; COSTA, D. A.; LEMOS, V. S.; AGRA, M. F.; BRAZ-FILHO, R.; SIQUEIRA-JUNIOR, J. P.; SOUZA, M. F. V. Triterpenes and phenolic compounds isolated from the aerial parts of *Herissantia tiubae* and evaluation of 5,4'9,-dihydroxy-3,6,7,8,3'-pentamethoxyflavone as a modulator of bacterial drug resistance. **Pharmaceutical Biology**, v. 47, n. 4, p. 279-284, 2009.

SILVA, D. A.; SILVA, T. M. S.; LINS, A. C.; COSTA, D. A.; CAVALCANTE, J. M. S.; MATIAS, W. N.; SOUZA, M. F. V.; BRAZ FILHO, R. Constituintes químicos e atividade antioxidante de *Sida galheirensis* Ulbr. (Malvaceae). **Química Nova**, v. 29, n. 6, 2006.

SILVA, L. I.; SILVA, G. F.; ALBUQUERQUE, P. M. Desenvolvimento e avaliação de um fitocosmético utilizando extratos e óleo essencial de *Aniba canelilla*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 20., 2014, Florianópolis. **Anais eletrônicos...** Disponível em: < <http://pdf.blucher.com.br.s3-east1.amazonaws.com/chemicalengineeringproceedings/cobeq2014/0123-26927-163715.pdf>>. Acesso em: 22 de jul. 2016.

SILVA, M. L.; CECHINEL FILHO, V. Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 449–454, 2002.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: Da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFSC e UFRGS Editora, 2010. 1102 p.

STEVENS, P. F. **Angiosperm Phylogeny Website**. Version 12, May 2012. Disponível em: <<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>>. Acesso em: 28 de mai. 2016.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**, 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

VENKATESH, S.; REDDY, Y. S. R.; SURESH, B.; REDDY, B. M.; RAMESH, M. Antinociceptive and anti-inflammatory activity of *Sida rhomboidea* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, p. 229-232, 1999.

VICKERY, J. R. The occurrence of dihydromalvalic acid in some seed oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 58, n. 6, p. 731-732, 1981.