

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

TÂNIA TASCA MAGALHÃES MENDOZA

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE PLANTAS DA FAMÍLIA *ASTERACEAE* E
EFEITO ANTIFÚNGICO NA ASSOCIAÇÃO COM NISTATINA**

TOLEDO

2023

TÂNIA TASCA MAGALHÃES MENDOZA

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE PLANTAS DA FAMÍLIA *ASTERACEAE* E
EFEITO ANTIFÚNGICO NA ASSOCIAÇÃO COM NISTATINA**

**ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PLANTS OF THE *ASTERACEAE* FAMILY AND
ANTIFUNGAL EFFECT IN ASSOCIATION WITH NYSTATIN**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Tecnólogo em Processos Químicos da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Orientadora: Dr^a Tatiana Shioji Tiunan

TOLEDO

2023



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

TÂNIA TASCA MAGALHÃES MENDOZA

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE PLANTAS DA FAMÍLIA ASTERACEAE E
EFEITO ANTIFÚNGICO NA ASSOCIAÇÃO COM NISTATINA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Tecnólogo em Processo Químicos da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Toledo, 12 de junho de 2023

Dr^a Tatiana Shioji Tiuman
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr^a Camila Vargas Neves
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr^a Danielle Camargo
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

OBS: A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso de
Tecnologia em Processos Químicos.

Dedico a minha família.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Tatiana Shioji Tiuman pela paciência em me auxiliar.

Ao Departamento de Química da Universidade Estadual de Maringá pelo fornecimento dos extratos e frações das plantas para o desenvolvimento deste trabalho.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Toledo pelo apoio às pesquisas científicas.

Ao Laboratório Multiusuário Central Analítica (LABCA) pelo suporte.

À minha família por seu amor, confiança e persistência.

"Na vida, não existe antecipação nem adiamento,
somente o tempo propício de cada um."
Hammed

RESUMO

As plantas medicinais contêm compostos ativos que podem ter atividades terapêuticas específicas. A atividade antioxidante das plantas é um campo de interesse científico, devido ao papel dos radicais livres no desenvolvimento de doenças e processos degenerativos. Além disso, alguns compostos ativos presentes em plantas possuem propriedades antibacterianas e antifúngicas, podendo ser úteis no combate a infecções. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antioxidante de plantas da família *Asteraceae* e verificar o efeito na associação com o antifúngico nistatina. Para tanto utilizou-se o método DPPH para investigar o poder antioxidante de plantas e a quantificação de compostos fenólicos se deu por comparação com o padrão quercetina. A técnica de difusão em disco foi usada para realizar o teste de associação de nistatina com extratos ou frações das plantas contra fungos do gênero *Candida*. *Austroeupatorium inulaefolium*, *Pteurocaulon alopecuroides*, *Stevia leptophylla* e *Vernonanthura discolor* apresentaram as maiores atividades antioxidantes para a fração acetato de etila que pode estar relacionada com o conteúdo de flavonoides. As interações do extrato bruto de *Vernonanthura cuneifolia* e fração clorofórmica de *S. leptophylla* com o agente antifúngico nistatina foram consideradas sinérgicas contra *Candida albicans* e *Candida tropicalis* e extrato bruto *V. discolor* contra *C. tropicalis*. Estudos adicionais devem ser realizados para verificar a possibilidade de aplicação destes produtos naturais como antioxidantes e antifúngicos.

Palavras-chave: plantas medicinais; compostos ativos; flavonoides; *Candida* sp.

ABSTRACT

Medicinal plants contain active compounds that may have specific therapeutic activities. The antioxidant activity of plants is a field of scientific interest due to the role of free radicals in the development of diseases and degenerative processes. In addition, some active compounds present in plants have antibacterial and antifungal properties, which may be helpful in fighting infections. Thus, this work aimed to evaluate the antioxidant activity of plants of the Asteraceae family and verify the effect in association with the antifungal nystatin. For that, the DPPH method was used to investigate plants' antioxidant power, and the phenolic compounds' quantification was done by comparison with the quercetin standard. The disc diffusion technique was used to test the association of nystatin with extracts or fractions of plants against fungi of the genus *Candida*. *Austroeupatorium inulaefolium*, *Pteurocaulon alopecuroides*, *Stevia leptophylla* and *Vernonanthura discolor* showed the highest antioxidant activities for the ethyl acetate fraction, which may be related to the flavonoid content. Interactions of *Vernonanthura cuneifolia* crude extract and *S. leptophylla* chloroform fraction with the antifungal agent nystatin were found to be synergistic against *Candida albicans*, and *Candida tropicalis* and *V. discolor* crude extract against *C. tropicalis*. Additional studies must be carried out to verify the possibility of applying these natural products as antioxidants and antifungals.

Keywords: medicinal plants; active compounds; flavonoids; *Candida* sp

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Espécie <i>Pterocaulon alopecuroides</i>	17
Figura 2: Espécie <i>Stevia leptophylla</i>	18
Figura 3: Espécie <i>Vernonanthura discolor</i>	19
Figura 4: Espécie <i>Vernonanthura cuneifolia</i>	19
Figura 5: Espécie <i>Austroeupatorium inulaeefolium</i>	20
Quadro 1: Plantas da família <i>Asteraceae</i> com atividades antioxidante e antifúngica	22
quadro 2: Espécies de <i>Candida</i> envolvidas em doenças humanas.....	26
Quadro 3: Plantas e seus extratos	31
Gráfico 1: Curva de Calibração DPPH	35
Gráfico 2: Curva de Calibração flavonoides.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados do DPPH e flavonoides.....	37
Tabela 2 - Resultados do ensaio de difusão em disco de nistatina e associação com extratos brutos e frações de plantas da família <i>Asteraceae</i> contra leveduras da espécie <i>Candida</i>	39

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	12
2.2	Objetivos específicos.....	14
3.1	Plantas medicinais	15
3.2	Família Asteraceae	15
3.2.1	<i>Pterocaulon alopecuroides</i>	16
3.2.2	<i>Stevia leptophylla</i>	17
3.2.3	<i>Vernonanthura discolor</i>	18
3.2.4	<i>Vernonathura cuneifolia</i>	19
3.2.5	<i>Austroeupatorium inulaefolium</i>	19
3.3	Atividades biológicas de plantas da família Asteraceae.....	20
3.4	Avaliação antioxidante de produtos naturais	24
3.5	Leveduras do gênero Candida	25
3.6	Sinergismo entre produtos naturais e antifúngicos	28
3.7	Aplicação em produtos.....	29
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1	Material vegetal	31
4.2	Determinação da atividade antioxidante utilizando DPPH	32
4.3	Quantificação de flavonoides	33
4.4	Teste de associação de extratos brutos e frações com nistatina.....	33
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	35
5.1	Atividade antioxidante.....	35
5.2	Efeito da combinação de extratos brutos e frações de plantas com a nistatina	39
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
	REFERÊNCIAS	43

1. INTRODUÇÃO

Utilizar plantas como forma de medicamento é uma prática muito comum em várias culturas ao redor do mundo. Na maioria das vezes, seu uso é associado à medicina popular de países em desenvolvimento (SOARES; FABRI, 2011). Plantas com atividades biológicas já foram estudadas, mas às vezes são preparadas de forma fitoterápica sem um controle de qualidade, apresentando assim substâncias tóxicas ou variação na composição química (NOLDIN *et al.*, 2003).

Planta medicinal é aquela que possui princípio ativo com atividade terapêutica. Ou seja, o princípio ativo é aquele em que os compostos químicos são sintetizados pelas plantas por meio do metabolismo secundário, a partir dos nutrientes da água, e da luz que estas recebem (NOGUEIRA, 2020).

Pela vasta utilização com fins medicinais, observa-se o aumento do interesse científico em avaliar o valor terapêutico, risco e toxicidade de plantas. Em função dos avanços da tecnologia a forma de pesquisar compostos ativos se alterou proporcionando assim o surgimento de novos medicamentos no mercado de forma mais rápida (SOARES; FABRI, 2011).

No Brasil, a família das plantas *Asteraceae* possui 180 gêneros e 2.174 espécies (ROQUE; BAUTISTA, 2008; FLORA CAMPESTRE, 2023). Possuem importância econômica porque são utilizadas como ornamentos, medicamentos, oleaginosas, aromas, inseticidas (BERETTA *et al.*, 2008); além de possuírem propriedades terapêuticas, cosméticas e aromáticas (SOARES; FABRI, 2011). Produzem poliacetilenos, óleos essenciais e terpeno e há evidências de que possuem atividade antibacteriana, antifúngica (cumarinas), anti-helmíntica (extratos apolares), anti-inflamatória e antipirética (MIYAZAKI, 2013).

As plantas possuem uma variedade de antioxidantes porque se protegem contra o estresse oxidativo produzido pela exposição ao sol e oxigênio (CARVALHO, 2019).

Contra o estresse oxidativo o organismo tem sistemas de defesa como sistemas enzimáticos e ação dos antioxidantes não enzimáticos (vitaminas, polifenóis, flavonoides, carotenoides e licopeno) que auxiliam a neutralizar os radicais livres, quelar metais e interromper espécies reativas, como oxigênio (DEL RE; JORGE, 2012).

Os fungos pertencem ao reino *Fungi* e possuem três grupos: leveduras, fungos filamentosos e cogumelos. Os fungos quando infectam os seres humanos geralmente é na pele e sem grandes extensões. Algumas espécies são capazes de provocar infecções mais graves e até levar à morte, se o paciente estiver em estado de imunossupressão. As infecções têm se tornado um grande importante problema de saúde pública por causa da resistência microbiana; além do risco ao paciente trazem como resultado problemas financeiros, pelo fato do tratamento ser muito caro (CANTUÁRIA, 2018). Alguns medicamentos possuem limitações, por isso é necessário buscar por novas drogas antifúngicas (CANTUÁRIA, 2018).

Uma variedade de pesquisas com plantas medicinais tem seu foco na busca de novos remédios. Cerca de 20 % do conglomerado das plantas estão em estudo e 1/3 desses medicamentos são utilizados de recursos naturais à base de plantas. Os medicamentos de origem vegetal possuem efeitos e são seguros. Isso demonstra o papel promissor das plantas como fontes de recursos terapêuticos (CANTUÁRIA, 2018).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Este trabalho teve como objetivo, avaliar a atividade antioxidante de plantas da família *Asteraceae* e verificar o efeito na associação com o antifúngico nistatina.

2.2 Objetivos específicos

Determinar a atividade antioxidante de extratos e frações de plantas da família *Asteraceae* utilizando a metodologia de DPPH;

Verificar a presença de flavonoides nos extratos e frações;

Avaliar o efeito da associação dos produtos naturais com o antifúngico nistatina, executando a técnica de difusão em disco contra leveduras do gênero *Candida*.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Plantas medicinais

O uso das plantas vai desde estética (emagrecimento) a tratamento de doenças graves ou crônicas (câncer, diabetes, hipertensão, entre outras) (PEDROSO; ANDRADE; PIRES, 2021).

Quando se realiza uma investigação fitoquímica em plantas tem-se como objetivos conhecer seus componentes químicos; e sua purificação é essencial para a identificação dos compostos com potencial biológico. As plantas por suas características são fontes naturais de compostos que exercem funções farmacológicas e justamente por isso são excelente matéria prima para novos fármacos (SILVA, 2015).

A sua eficácia e segurança dependem da identificação correta da planta, de qual parte deve ser usada, como deve ser preparada, a forma de uso e a dose apropriada. A má utilização das plantas pode levar a efeitos adversos bem como ao uso inadequado, uso crônico ou em associação com medicamentos ou até mesmo com outras plantas e fitoterápicos. Por isso o estudo científico – toxicológico e farmacodinâmico - dessas plantas se torna importante porque valida os saberes tradicionais e mantém vivo o saber popular (PEDROSO; ANDRADE; PIRES, 2021).

3.2 Família *Asteraceae*

A família das plantas *Asteraceae* possui o maior número de plantas e compreende por volta, de 1600 gêneros e 23000 espécies; no Brasil, 180 gêneros e 2174 espécies (ROQUE; BAUTISTA, 2008; FLORA CAMPESTRE, 2023). São encontradas em todos os continentes exceto na Antártica e possuem representantes em regiões temperadas e semiáridas (ROQUE, BAUTISTA, 2008). Possuem importância econômica porque são utilizadas como ornamentos, medicamentos, apícolas, oleaginosas, aromáticas, inseticidas e comestíveis. Esta família possui grande diversidade, inclusive pela forma de polinização e dispersão das sementes. Sua expansão se dá por uma evolução química (BERETTA *et al.*, 2008).

As plantas desta família possuem propriedades terapêuticas, cosméticas e aromáticas (SOARES; FABRIS, 2011). Produzem poliacetilenos, óleos essenciais e terpeno e há evidências de que possuem atividade antibacteriana, antifúngica

(cumarinas), anti-helmíntica (extratos apolares), anti-inflamatória e antipirética (MIYAZAKI, 2013).

3.2.1 *Pterocaulon alopecuroides*

O nome *Pterocaulon* tem sua origem no grego “*pteros*” (asas) e “*caulon*” (caule), ou seja, caule alado, sendo uma das principais características da espécie (MEDEIROS-NEVES; TEIXEIRA; POSER, 2018)

A espécie *Pterocaulon alopecuroides* é também conhecida como barbasco, verbasco, branqueja, alecrim das paredes, calção de velho, tingui ou verbasco do Brasil. Tem por volta 80 cm de altura, seus ramos são alados revestidos por uma espécie de pêlo e as folhas são inteiras. Ocorre em terrenos baldios, na beira das estradas ou em pastos, tendo preferência por solo arenoso e drenado (SILVEIRA, 2009).

No gênero *Pterocaulon* foi identificado dentro das diversas estruturas fenólicas, a presença de flavonoides. São utilizados em função de suas atividades biológicas (FERREIRA, 2009).

Na Argentina são utilizadas por indígenas para casos de reumatismo, diarreia e para lavar feridas com larvas de moscas. No Brasil as espécies de *Pterocaulon* são utilizadas para micoses em peles de animais (STEIN *et al*, 2006) além de afecções urinárias, renais e febris (FLORA DE SANTA CATARINA, 2023)

Estudos realizados, as espécies do gênero *Pterocaulon* demonstraram atividade antifúngica, um dihidroflavonol e seis flavonoides com atividade antibacteriana. Esse gênero possui várias espécies que são utilizadas na medicina tradicional em todo o mundo e antibióticos (flavonoides e sesquiterpenos), antivirais (flavonoides) e citotóxicos (extrato de diclorometano) (STEIN *et al*, 2006).

O ensaio antioxidante realizado com a *Pterocaulon alopecuroides* tem atividade elevada para o extrato de acetato de etila (SILVEIRA, 2009). O ensaio para atividade antioxidante também demonstrou intensa atividade para frações de acetato de etila (SILVEIRA, 2009). A mesma planta tem alto metabolismo secundário de polifenóis (ALARCON *et al*, 2010).

Figura 1: Espécie *Pterocaulon alopecuroides*



Fonte: <https://www.flickr.com/photos/mercadanteweb/32746870671/in/photostream/>, 2023

3.2.2 *Stevia leptophylla*

Dentro da família *Asteraceae* é possível identificar o gênero *Stevia* que possui cerca de 230 espécies, sendo a espécie mais expressiva a *Stevia rebaudiana*. A maioria são ervas e arbustos e no século XVI os espanhóis a conheciam, mas somente em 1888 foram novamente pesquisadas.

O doce é o que mais se encontra em suas folhas quando isolado e é considerado seguro para os diabéticos. O chá das ervas auxilia a reduzir a vontade de cigarro e bebidas alcoólicas; a planta molhada propicia refrescância nos olhos e no tensionamento da pele auxiliando na redução das rugas. Auxilia também na cura de manchas, feridas, cortes e arranhões; contribui no controle de peso e pressão arterial. Além de apresentar antimicrobianos, propriedades anti-inflamatórias é fonte de antioxidante. Após estas descobertas o plantio da *Stevia* foi difundido em vários países asiáticos (GANTAIT; DAS; BANERJEE, 2018).

A *Stevia leptophylla* é nativa do Brasil e tem sua presença no sul do estado do Paraná. Foi feita uma avaliação da composição de metabólitos secundários e de atividade antioxidante e citotoxicidade da *Stevia leptophylla*. No metabólito isolado foi encontrado na fração clorofórmio. A atividade antioxidante encontrada foi moderada na fração de acetato de etila. E a citotoxicidade teve um valor considerável para a fração clorofórmica (BERNARDI *et al*, 2016).

Figura 2: Espécie *Stevia leptophylla*



Fonte: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:251420-1>, 2023

3.2.3 *Vernonanthura discolor*

Também chamada de vassourão-preto, é nativa de floresta mista e típica de vegetação com clareiras e florestas jovens. Cresce de forma rápida e tolera baixas temperaturas. Considerada uma opção para áreas de preservação permanente pois prepara o meio ambiente para o desenvolvimento de espécies climáticas (GRZYBOWSKI *et al*, 2019).

No trabalho de Martins-Ramos; Bortoluzzi; Mantovani (2010) é mencionado que não encontraram estudos sob o uso medicinal da planta, apenas a sua composição química que é: friedelanol (álcool terpênico), friedelina e beta-sitosterol (fitosterol).

Figura 3: Espécie *Vernonanthura discolor*



Fonte: <https://sites.unicentro.br/wp/manejoflorestal/8202-2/>, 2023

3.2.4 *Vernonanthura cuneifolia*

É um subarbusto com caule simples e ramificado com folhas abovadas, com 7 a 12 flores. Ocorre nos estados de São Paulo, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Paraná, Santa Catarina e Distrito Federal (SOARES, 2012).

Figura 4: Espécie *Vernonanthura cuneifolia*



Fonte: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:969192-1>, 2023

3.2.5 *Austroeupatorium inulaefolium*

Na Colômbia possui o nome de: sálvia, sálvia amarga, aromático e no Brasil: ínula. Possui atividade contra os vírus: HSV-1 (herpes simplex vírus type 1) e HSV-2

(herpes simplex vírus type 2), em uma concentração $EC_{50} = 200 \mu\text{g/mL}$ (RAMIREZ CARDENAS; ISAZA MEJIA; PEREZ CARDENAS, 2013).

Figura 5: Espécie *Austroeupatorium inulaefolium*



Fonte: <https://www.nossafloranossomeio.eco.br/2022/05/austroeupatorium-inulaefolium.html>,
2023

3.3 Atividades biológicas de plantas da família *Asteraceae*

Contra o estresse oxidativo o organismo tem sistemas de defesa como sistemas enzimáticos e ação dos antioxidantes não enzimáticos (vitaminas, polifenóis, flavonoides, carotenoides e licopeno) que auxiliam a neutralizar os radicais livres, quelar metais e interromper espécies reativas, como oxigênio (DEL RE; JORGE, 2012). A definição de antioxidante como “qualquer substância que, presente em baixas concentrações, quando comparada à do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz” (RIBEIRO *et al*, 2008 *apud* DEL RE; JORGE, 2012). Sob o ponto de vista biológico, antioxidantes são as enzimas ou substâncias orgânicas que podem neutralizar os efeitos prejudiciais da oxidação que acontece nos tecidos animais em função dos radicais livres (CARVALHO, 2019).

Na pesquisa realizada por Fabri *et al* (2011) foi identificado que plantas da família *Asteraceae* possuem significativa atividade antioxidante, reafirmando a importâncias de dados etnofarmacológicos de plantas com bioatividade que contribuem na identificação de atividades biológicas de extratos da medicina popular brasileira que são utilizados.

Pessoas que estão com os mecanismos de defesa contra infecção comprometidos têm maior probabilidade de possuírem infecções fúngicas.

Geralmente os fungos são organismos externos que quando tem contato com o ser humano ou animais causam danos: de micoses simples até mais severas (LIMA *et al*, 2006).

Nas plantas da família *Asteraceae* há um grande interesse pelo fato de que a maioria dos seus representantes são utilizados na ornamentação de ambientes, alimentação, fabricação de cosméticos e na medicina (MONTEIRO, 2015).

No quadro 1 a seguir é possível verificar estudos realizados que comprovam as atividades antioxidante e antifúngica de plantas da família *Asteraceae*.

Quadro 1: Plantas da família Asteraceae com atividades antioxidante e antifúngica.

Planta família Asteraceae	Atividades	Fonte
<i>Achillea millefolium</i> L. (Milefólio)	Óleo essencial: propriedades atividades antibacterianas, antifúngicas, anti-inflamatórias, antioxidantes e antitumorais	Daniel <i>et al.</i> , 2020.
<i>Anvillea radiata</i>	Atividades antioxidante, antifúngica e antibacteriana dos extratos de acetato de etila e n-butanol	Saoud <i>et al.</i> , 2019.
<i>Scolymus hispanicus</i> e <i>Hedypnois cretica</i> (espécies silvestres comestíveis, nativas da bacia do Mediterrâneo)	Foram testadas quanto à sua composição química (compostos fenólicos, tocoferóis e ácidos orgânicos) e atividades antimicrobianas	Petropoulos <i>et al.</i> (2019).
<i>Dittrichia graveolens</i> (L.) Greuter (planta herbácea aromática nativa da região do Mediterrâneo)	Tem sido extensivamente estudada por suas atividades biológicas, incluindo antioxidante, antitumoral, antimicrobiana, antifúngica, antiinflamatória, anticolinesterásica e antitirosinase, e por seu perfil metabólico peculiar.	Ponticelli <i>et al.</i> , 2022.
<i>Artemisia annua</i> L. (artemisinina, conhecida pelas suas diversas virtudes medicinais)	Óleo essencial mostra capacidades antioxidantes notáveis de eliminação de radicais livres DPPH e poder antioxidante redutor férrico e também tem uma boa capacidade antioxidante. Resultados da triagem antimicrobiana <i>in vitro</i> indicam atividade antibacteriana promissora e também mostra atividade antifúngica significativa contra leveduras. As descobertas destacam o óleo essencial como fonte de fortes agentes antioxidantes e antimicrobianos, que podem ser usados como uma forma alternativa de controlar os radicais livres e combater micróbios resistentes a medicamentos.	Chebbac <i>et al.</i> , 2023.
<i>Artemisia vulgaris</i> , (Artemísia) <i>Biden pilosa</i> (picão preto) e <i>Sphagneticola trilobata</i> (margaridão, mal-me-quer)	A atividade antifúngica sobre <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> e <i>C. Parapsilosis</i> . As espécies são capazes de inibir o crescimento das leveduras do gênero <i>Candida</i> .	Linhares Neto <i>et al.</i> , 2018.
<i>Chrysanthemum indicum</i> (crisântemo indiano) e <i>Laggera pterodonta</i>	São ativos contra o crescimento de hifas de diferentes fungos, mas com diferentes graus de potência. Têm potencial para se transformar em novos pesticidas livres de poluição para a proteção de preciosos medicamentos fitoterápicos chineses.	Zeng <i>et al.</i> , 2021.
<i>Ramat</i> (uma planta ornamental de cultivo mundial; é um rico produtor de metabólitos secundários).	Este estudo revela variações na composição química, particularmente de terpenóides, de metabólitos secundários foliares entre diferentes cultivares e suas diferentes habilidades em funcionar como agentes antifúngicos	Xue <i>et al.</i> , 2019.
Óleo essencial de <i>A. Persica Boiss</i>	Tem uma atividade antifúngica aceitável contra cepas de <i>Aspergillus</i> e pode ser usado para prevenir a contaminação fúngica de culturas alimentares	Reza, 2021.

<i>Artemisia negrei</i> L. (planta medicinal e aromática mais difundida nas dobradas montanhas do Médio Atlas, Marrocos)	Óleos vegetais tiveram potente atividade antibacteriana contra Gram-negativos e gram-positivos. O óleo também mostrou atividade antifúngica contra <i>Candida albicans</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> e <i>Aspergillus Niger</i> .	Chebbac <i>et al.</i> , 2021.
<i>Combretaceae</i> , <i>Asteraceae</i> e <i>Lamiaceae</i> (<i>famílias botânicas</i>) (família da hortelã)	Maior número de espécies de plantas com potencial antifúngico, utilizando diferentes metodologias.	Waller <i>et al.</i> , 2016.

Fonte: autoria própria (2023)

3.4 Avaliação antioxidante de produtos naturais

As plantas possuem uma variedade de antioxidantes para se protegerem contra o estresse oxidativo produzido pela exposição ao sol e oxigênio e por isso são consideradas fontes de novos compostos que apresentam a atividade antioxidante natural (CARVALHO, 2019).

A oxidação lipídica pode ocorrer em tecidos animais e vegetais e em produtos que são derivados dos mesmos, como óleos e gorduras. Ocorre quando há a presença do oxigênio com calor, radicais livres, luz, pigmentos e íons metálicos. A oxidação diminui e modifica a estrutura de alimentos tornando-os tóxicos porque degradam as vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais. Existem 3 tipos de oxidação: autooxidação, fotooxidação e termoxidação. A autooxidação ocorre pela formação de radicais livres; a fotooxidação acontece pela presença de radiação UV que degrada os óleos e a termoxidação ocorre quando os óleos e gorduras são submetidos a altas temperaturas sem a presença do alimento. Alimentos que são oxidados podem causar aterosclerose (DEL RE; JORGE, 2012).

Os antioxidantes são formados por compostos aromáticos com pelo menos uma hidroxila e podem ser sintéticos e são utilizados como organosulfurados, fenólicos e terpenos. Os antioxidantes primários interrompem a cadeia de reação doando elétrons ou hidrogênio aos radicais livres; já os antioxidantes secundários auxiliam na complexação de metais, sequestro de oxigênio, decomposição de hidroperóxidos (DEL RE; JORGE, 2012).

Contra o estresse oxidativo o organismo tem sistemas de defesa como sistemas enzimáticos e ação dos antioxidantes não enzimáticos (vitaminas, polifenóis, flavonoides, carotenoides e licopeno) que auxiliam a neutralizar os radicais livres, quelar metais e interromper espécies reativas, como oxigênio (DEL RE; JORGE, 2012). Por isso, a definição de antioxidante como “qualquer substância que, presente em baixas concentrações, quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz” (RIBEIRO *et al*, 2008 *apud* DEL RE; JORGE, 2012).

Os vegetais de maneira geral, possuem dois tipos de metabólitos (SOUZA, 2013):

a) Primários: são encarregados da sobrevivência do vegetal porque exercem ação ativa nos processos de fotossíntese, respiração e fixação de nutrientes;

b) Secundários: se relacionam com as estratégias de defesa das plantas, que são classificados como terpenos, compostos fenólicos e compostos contendo nitrogênio.

Já foram detectados mais de 8000 compostos fenólicos em plantas, na forma de pigmento ou produtos do metabolismo secundário. Estes compostos fenólicos são como antioxidantes que agem doando hidrogênio ou elétrons, mas também como radicais estáveis. Estes compostos fenólicos estão presentes em frutas e vegetais na forma de flavonoides e não flavonoides. Flavonoides são encarregados dos pigmentos naturais e possuem estrutura polifenólicas com baixo peso molecular (SOUZA, 2013).

3.5 Leveduras do gênero *Candida*

Os fungos são classificados como eucariontes pois apresentam uma parede celular onde o principal componente é o polissacarídeo quitina, uma membrana citoplasmática, um citoplasma e um núcleo, com membrana nuclear e material genético (PEREIRA, 2017). Podem ser unicelulares ou multicelulares como cogumelos e os fungos filamentosos.

As leveduras do gênero *Candida* são versáteis e podem ser encontradas em vários ecossistemas como solo, alimentos, água sendo integrantes da microbiota de homens e animais. Atuam pela degradação de proteínas e carboidratos para obterem carbono e nitrogênio para o seu desenvolvimento. *In vitro*, em ágar sabouraud dextrose, se desenvolvem formando coloração de branca a bege com textura lisa ou enrugada, brilhante ou seca.

Os fungos do gênero *Candida* são da família *Saccharomycetaceae* onde as células são unicelulares ou micélios. “São microrganismos polimórficos, ovais, produzem hifas ou pseudo-hifas quando suas formas de brotamentos continuam a crescer em separados, produzindo cadeias de células alongadas ou contraídas na septação entre células [...]” (SILVA; LIMA; SANTOS, LIMA, 2020, p. 4-5)

Este gênero é o principal grupo de leveduras que são capazes de gerar infecções oportunistas nos seres humanos; possui de 150 a 200 espécies e podem estar localizados no trato gastrointestinal, sistema urogenital, pelo e mucosas dos humanos (QUADRO 2). Se a pessoa estiver com o sistema imunológico comprometido a *Candida* pode ser tornar insalubre gerando doenças em vários órgãos desde uma infecção superficial até uma infecção invasiva (VIEIRA; SANTOS 2017).

Quadro 2 – Espécies de *Candida* envolvidas em doenças humanas

Espécie	Frequência	Habitat	Manifestações clínicas	Considerações
<i>C. albicans</i>	+++	Tubo digestivo	Candidoses cutânea mucosa, digestiva, urinária, sistêmica e candidemias	-
<i>C. glabrata</i>	++	Tubo digestivo e vias geniturinárias	Vaginites, candidoses urinaria, sistêmica e candidemia	Muito frequente em pacientes com câncer e pode ser resistente ao fluconazol
<i>C. tropicalis</i>	++	Solo, vegetação, água	Vaginites, candidemias e candidose sistêmica	Muito frequente em pacientes com câncer
<i>C. krusei</i>	++	Laticínios e cerveja	Vaginites e candidemias	Resistência ao fluconazol

Fonte: adaptado de DEVELOUX; BRETAGNE (*apud* MELO e SILVA, 2008)

O número de infecções fúngicas invasivas têm aumentado. Principalmente causadas pelas leveduras do gênero *Candida*, que podem se manifestar de forma superficial ou sistêmica. *Candida glabrata*, *Candida krusei* e *Candida albicans* são resistentes ao fluconazol e são de difícil tratamento e por isso que se busca a descoberta de novos agentes antifúngicos (PEREIRA, 2017).

C. albicans é responsável por 80% dos casos de candidoses, sendo que *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. krusei* também são responsáveis por volta de 90% dos casos de *Candida* associado a candidíase sistêmica. Fatores como localização geográfica, instituição, mistura de casos, risco do hospedeiro e prática clínica influenciam na prevalência de espécies de *C. albicans*; é o microrganismo que prevalece em infecções superficiais e invasivas e sua patogenicidade de virulência apresentam estruturas filamentosas que facilitam o ataque nos tecidos, termo tolerância e produção de enzimas (BERGAMO, 2018).

C. glabrata atinge principalmente pacientes idosos e é uma doença hospitalar. *C. tropicalis* é um fungo oportunista em indivíduos que têm redução de neutrófilos no sangue e quando há eliminação da microbiota bacteriana em função do uso de antibióticos e agravamento na mucosa do trato gastrointestinal. *C. krusei* um patógeno ocasional em hospitais que se apresenta em pacientes com doenças hematológicas e em transplantados sendo resistente ao uso de fluconazol (BERGAMO, 2018).

Nas últimas décadas, casos e gravidade de infecções fúngicas têm levado a altas taxas de mortalidade e morbidade. Isso deriva do uso generalizado de fármacos que trazem consequências no tratamento pelo surgimento de cepas mais resistentes levando assim a erros no tratamento (BERGAMO, 2018).

Mas os antifúngicos têm limitação de uso em função de perfis de segurança, propriedades farmacocinéticas, efeitos colaterais e a resistência. Essa ineficácia da terapia antifúngica depende de fatores como resistência microbiológica e clínica; resistência essa que é a falta de sensibilidade ao antimicrobiano (BERGAMO, 2018)

Infecções que surgem em função dos fungos tornou-se um fenômeno reconhecido mundialmente; pode levar a pragas e fome resultando inclusive à extinção de espécies e à dificuldade no tratamento de micoses concomitantemente com o aumento de resistência a drogas antifúngicas (FISHER; GOW; GUR, 2016).

Essas infecções fúngicas são de difícil tratamento por causa de diagnósticos não padronizados e por potenciais interações tóxicas entre antifúngicos e imunossupressores usados durante terapias anti-inflamatórias, como aquelas estabelecidas em pacientes críticos com COVID-19 (MINA *et al*, 2022).

Quando se avalia o perfil de sensibilidade dos antifúngicos o que se busca é identificar a forma como se comportam a diversas concentrações dos antifúngicos existentes, que variam de sensíveis a resistentes em função das espécies de *Candida* (SOUZA, 2017).

Durante anos o antifúngico disponível para infecções invasivas foi a anfotericina B deoxicolato mas não era consistentemente efetivo nem adequado para o tratamento fora do hospital. Na década de 1990, os triazóis auxiliaram no desenvolvimento de novos fármacos bem como mudaram a epidemiologia das infecções por *Candida* oferecendo novas opções de tratamento (MELO E SILVA, 2008).

A nistatina é obtida a partir de *Streptomyces noursei* e é um antifúngico polieno. “Esse medicamento liga-se ao ergosterol da membrana fúngica, resultado em extravasamento de eletrólitos intracelulares e morte celular (CARRILO-MUNOZ *et al*, *apud* MELO e SILVA, 2008, p. 47).

A nistatina e suas formulações é conhecida por atuar na membrana celular fúngica, afetando o ergosterol, levando a sua ruptura e morte celular. Os antifúngicos naturais têm vantagens quando comparados aos sintéticos: são menos tóxicos, induzem menos resistência; possuem amplas propriedades antimicrobianas; podem

exercer ação sinérgica e causam um menor impacto ambiental (CASANOVA; COSTA, 2017).

3.6 Sinergismo entre produtos naturais e antifúngicos

O uso incorreto de antimicrobianos gerou uma maior resistência dos microrganismos inclusive aos métodos de conservação de alimentos. Várias combinações antifúngicas comerciais já foram utilizadas, mas nem sempre o resultado é satisfatório. Quando se utiliza compostos naturais, estes podem melhorar a eficácia dos antifúngicos, por sua interação aditiva ou sinérgica. Existe uma variedade de agentes antifúngicos que estão disponíveis, tanto para uso tópico ou sistêmico, que são divididos de acordo com seu alvo de atuação: inibidores da biossíntese do ergosterol, antimetabólicos e inibidores de formação de parede celular.

No trabalho de Lima *et al* (2006) são apresentados alguns estudos que foram realizados e que indicam o sinergismo de óleos essenciais com ampicilina, por exemplo. Contra *S. aureus* foi constatado a diminuição da atividade inibitória da ampicilina. A planta *Eugenia uniflora* teve resultado positivo com relação a algumas cepas de bactérias e fungos.

Como visto anteriormente, os produtos que têm sua origem natural são utilizados no mundo inteiro, mas pouco são utilizados com reconhecimento científico. É importante considerar que a diversidade molecular de produtos de origem natural é superior ao produto sintético (CASTRO, 2010).

Estudar e descobrir produtos naturais com princípios ativos que possuem atividade antimicrobiana isolada ou combinada com antibióticos e/ou antifúngicos de uso comum representam uma forma de fazer frente ao microrganismo multirresistente, além de inibir o contato dos microrganismos com produtos sintéticos, diminuindo assim o risco de novos ou melhores mecanismos de resistência (CASTRO, 2010).

Alguns fármacos são obtidos através da síntese orgânica para serem utilizados no tratamento de infecções micóticas. Por exemplo, como antissépticos como tintura de iodo, violeta de genciana. Observa-se que os produtos naturais são biocompatíveis e possuem atividade farmacológica e menor toxicidade. (DOMINGUES *et al*, 2022). Por isso, pesquisas são desenvolvidas para demonstrar que existem substâncias que possuem menor efeito adverso e baixo custo.

No Brasil é o caso da erva de são João que é muito utilizada como fitoterápico; estão disponíveis formas farmacêuticas, líquidas e sólidas, que são preparadas do

extrato hidroalcoólico de partes da planta em época de floração. Mais de 50 estudos realizados comprovam a efetividade desses extratos em pacientes com depressão. O efeito sinérgico da combinação de plantas pode aumentar a biodisponibilidade de substâncias ativas e/ou reduzir suas doses. Disso pode resultar: a) efeitos farmacocinéticos e b) efeitos farmacodinâmicos. (CASANOVA; COSTA, 2017).

3.7 Aplicação em produtos

Além de serem utilizadas como plantas medicinais pela tradição popular, institutos de pesquisa buscam avaliar o potencial de plantas para a obtenção de novos fármacos ou fitoterápicos sendo mais eficazes e menos tóxicos. A fitoquímica determina os constituintes químicos que são produzidos pelos vegetais (GREGÓRIO, 2008).

Se observa um crescente na busca por novos fármacos a partir dos produtos naturais e isso pode estar relacionado a doenças humanas sejam parasitas, infecções, cânceres, que carecem de terapias mais eficazes e menos tóxicas. Por isso pesquisa e investimentos são necessários para avaliar e validar os efeitos dos produtos (CANTUÁRIA, 2018).

Entre os fármacos antifúngicos estão imidazólicos, polienos, equinocandinas, entre outros, mas apresentam limitações como interações com outros medicamentos, surgimento de novas cepas, entre outros. Por isso a busca por novos agentes microbianos ou otimização dos que já estão no mercado é importante (CANTUÁRIA, 2018).

No século XXI, mais de 50% dos medicamentos são de produtos naturais em uso clínico, e 80% da população faz uso para a atenção primária à saúde. Isso porque os fitoterápicos possuem menos efeitos adversos (BALESTRA *et al*, 2022).

No trabalho de Medeiros *et al* (2018) foi possível concluir que os compostos naturais de cepas *C. tropicalis* dos enantiômeros (R)-(+)- e (S)-(-)-citronelal [(R)-(+)- e (S)-(-)-CT] possuem efeito sinérgico quando associado ao cetoconazol.

Dificuldades encontradas no tratamento de patógenos resistentes a medicamentos criaram a necessidade de novas terapias. Combinações sinérgicas de antibióticos são consideradas estratégias ideais no combate a infecções clínicas e multirresistentes.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Material vegetal

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Microbiologia e também na Central Analítica da Universidade Tecnologia Federal do Paraná – Campus Toledo.

Foram testadas as plantas *Vernonanthura cuneifolia* (VC), *Vernonanthura discolor* (VD), *Pterocaulon alopecuroides* (PA), *Stevia leptophylla* (SL) e *Astro eupatorium inuloefolium* (AI) em extratos bruto e suas frações: hexânica, diclorometano, acetato de etila, hidrometanólica que foram cedidas pelo Departamento de Química (Laboratório Grupo de Síntese e Produtos Naturais) da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Os extratos foram mantidos em congelador e protegidos da luz.

As plantas coletadas são da região de Campos Gerais, no município de Ponta Grossa (PR). As espécies foram identificadas pela Profa. Dra. Marta Regina Barroto do Carmo, do Departamento de Biologia Geral da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). Uma exsicata de cada espécie encontra-se depositada no herbário da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

Quadro 3: Plantas e seus extratos

Planta	Extrato ou Fração
<i>Vernonanthura cuneifolia</i> (VC)	Extrato bruto (EB)
	Hexânica (FHX)
	Diclorometano (FDC)
	Acetato de etila (FAC)
	Hidrometanólica (FHM)
<i>Vernonanthura discolor</i> (VD)	Extrato bruto (EB)
	Hexânica (FHX)
	Diclorometano (FDC)
	Acetato de etila (FAC)
	Hidrometanólica (FHM)
<i>Pterocaulon alopecuroides</i> (PA)	Extrato bruto (EB)
	Hexânica (FHX)
	Diclorometano (FDC)
	Acetato de etila (FAC)
	Hidrometanólica (FHM)
<i>Stevia leptophylla</i> (SL)	Clorofórmica (FCHCl3)

	Butanólica (FbuOH)
	Acetato de etila (FAC)
	Hexânica (FHX)
	Hidrometanólica (FHM)
<i>Astro eupatorium inuloefolium</i> (AI)	Extrato bruto (EB)
	Hexânica (FHX)
	Diclorometano (FDC)
	Acetato de etila (FAC)
	Hidrometanólica (FHM)

Fonte: autoria própria, 2023.

Foram utilizadas partes aéreas das plantas (folhas e caules). Após a separação destas partes, o material foi seco em estufa com circulação de ar a 35 ± 2 °C durante 48h. O material foi triturado com o auxílio de um moinho de facas e macerado exaustivamente por 4 a 5 extrações: o solvente extrator foi colocado em contato com o material vegetal; após 24 horas a solução foi filtrada e o solvente orgânico evaporado em evaporador rotativo. Desse processo obteve-se o extrato bruto das plantas. O solvente etanol foi recuperado e adicionado ao frasco de extração. Esse processo foi repetido de 4 a 5 vezes para que fosse obtida a máxima extração dos constituintes químicos das plantas.

Para o fracionamento, uma parte de cada extrato bruto foi dissolvidas em uma mistura de MeOH/H₂O 1:1 (v/v), e em seguida, foram submetidos à partição com 3 solventes orgânicos em gradiente crescente de polaridade (n-hexano, diclorometano ou clorofórmio e acetato de etila). Após a remoção dos solventes em um evaporador rotativo foram obtidas as frações hexânica, diclorometano ou clorofórmio, acetato de etila e fração remanescente hidrometanólica referente a cada espécie.

4.2 Determinação da atividade antioxidante utilizando DPPH

A metodologia foi desenvolvida segundo Boroski *et al.* (2015). Primeiramente, foi preparada a solução de DPPH $0,1192 \text{ mmol L}^{-1}$ através da dissolução de 4,0 mg de DPPH em um balão volumétrico de 100 mL de metanol. Foi homogeneizado e levado para o banho ultrassônico por 15 minutos e depois transferido para um frasco de vidro âmbar. As amostras foram preparadas pesando-se 25 mg do extrato e dissolvendo em 10 mL de metanol em uma concentração final de $2,5 \text{ mg mL}^{-1}$ de metanol.

Para o procedimento utilizou-se 50 μL da solução do extrato da amostra na cubeta. Ao abrigo da luz adicionou-se 3,0 mL da solução de DPPH e aguardados 30 minutos para a leitura da absorbância no espectrofotômetro com o comprimento de onda a 517 nm. Na construção da curva de calibração foram utilizadas as concentrações de 0, 100, 500, 1000, 1500, 2000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ do padrão Trolox. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.3 Quantificação de flavonoides

Este procedimento foi realizado de acordo com Boroski *et al* (2015). Para o preparo das amostras e padrões foram utilizados em uma concentração final de 2,5 mg mL^{-1} de metanol. A quercetina foi utilizada como padrão para a curva de calibração. A solução padrão de quercetina foi preparada em balão volumétrico pela adição de 10 mg de quercetina em um balão de 5 mL de metanol, resultando na concentração de 2000 mg L^{-1} . Para a construção da curva de calibração foram utilizados os pontos de 0,20, 40, 60, 80, 100 e 160 de concentração da quercetina.

Foram adicionados a 500 μL da solução de extrato da amostra, 250 μL da solução de cloreto de alumínio 5% e 4,25 mL de metanol. Os tubos foram agitados e mantidos em temperatura ambiente por 30 minutos. O branco foi preparado nas mesmas condições, ou seja, 250 μL da solução de cloreto de alumínio em um balão de 5 mL e completar com metanol. A leitura no espectrofotômetro UV-VIS foi feita com o comprimento de onda em 425 nm.

As análises foram feitas em triplicata.

4.4 Teste de associação de extratos brutos e frações com nistatina

Neste teste foi utilizado o meio de cultura caldo Sabouraud Dextrose (CSD) para a manutenção das leveduras e o ágar Sabouraud Dextrose (ASD) para os ensaios microbiológicos. Tanto o ágar como o caldo foram preparados conforme instruções do fabricante, sendo dissolvidos em água destilada e depois esterilizados em autoclave a 120 °C por 15 minutos. Foram inoculados os fungos *Candida albicans* (ATCC 26790), *Candida krusei* (ATCC 34135), *Candida glabrata* (ATCC 2001) e *Candida tropicalis* (ATCC 28707).

A definição de quais extratos seriam utilizados nesta pesquisa se baseou no trabalho de Chiqueti; Tiunan (2021) que determinou a atividade antifúngica destes

extratos e frações contra as mesmas leveduras e verificaram que VC-EB, VDI-EB, SL-FCHCl₃ e SL-FBuOH apresentaram os resultados mais promissores.

Para o teste de sensibilidade ao antifúngico nistatina foi utilizado o método de disco difusão. Para tanto, foram preparadas placas de Petri contendo ASD e para o preparo do inóculo, foi utilizado o método de suspensão direta das colônias das leveduras *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida glabrata* e *Candida tropicalis* em salina, para obter densidade equivalente ao padrão de turbidez 0,5 da escala McFarland, correspondente a aproximadamente $1,5 \times 10^6$ leveduras/mL. Para a inoculação das leveduras nas placas de ASD, um swab estéril foi utilizado e cada microrganismo foi espalhado de forma uniforme na superfície e aguardou-se alguns minutos para secarem.

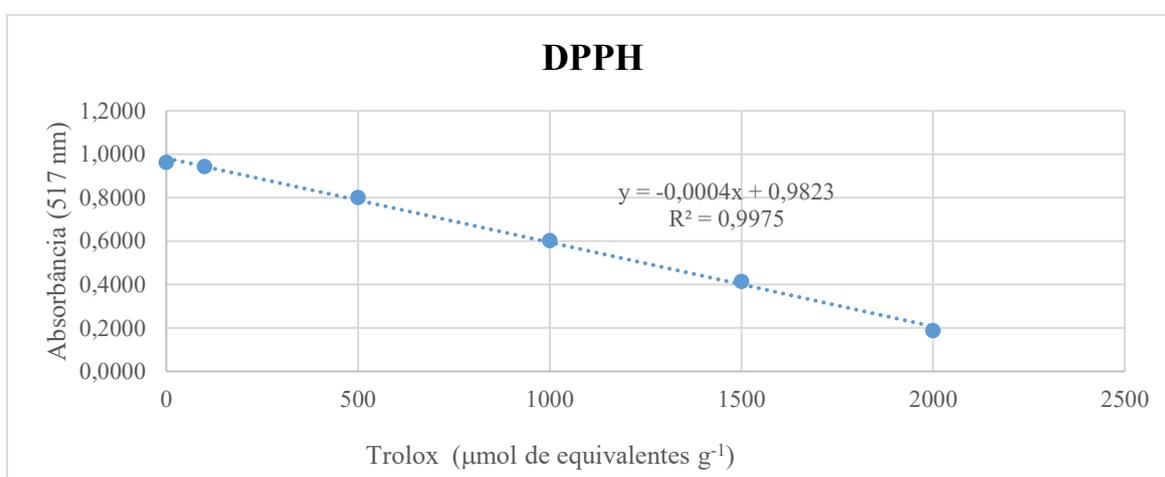
Os extratos brutos e frações das plantas foram pesados (0,0100 g), adicionou-se 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) e agitou-se até completa solubilização. Depois foram acrescentados 900 µL de caldo Sabouraud, obtendo desta forma uma solução de concentração 10 mg/mL. Discos de nistatina (100 U.I. - CECON), foram embebidos com 10 µL das soluções de extratos brutos ou frações. Posteriormente, fez-se a aplicação dos discos contendo nistatina (100 U.I.) na superfície do ágar Sabouraud inoculado com as leveduras e dos discos de antifúngico com os extratos brutos ou frações das plantas. Os testes foram realizados em triplicata. As placas foram incubadas por 24h a 35°C, e após foram verificados os diâmetros dos halos de inibição por meio de paquímetro calibrado.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Atividade antioxidante

O Trolox é derivado do α -tocoferol e por causa do seu potencial antioxidante reage com a molécula do DPPH. Desta forma, foi utilizado como padrão para a curva de calibração (BOROSKI *et al*, 2015), onde obteve-se $R^2 = 0,9975$ e equação da reta $y = -0,0004x + 0,9823$, onde y é a absorbância e x, a concentração de em μmol de equivalentes Trolox g^{-1} (Gráfico 1).

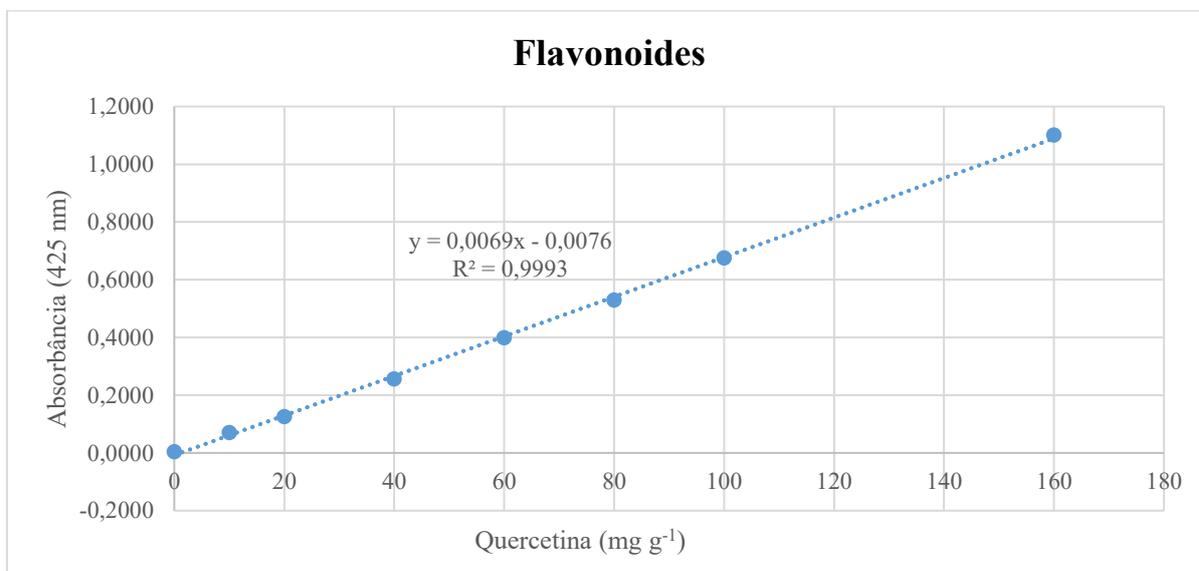
Gráfico 1: Curva de Calibração DPPH



Fonte: autoria própria, 2021

Na determinação de flavonoides, o cloreto de alumínio é um reagente utilizado em espectrometria no UV-visível usando como padrão, a quercetina. Quando o íon alumínio Al^{3+} se complexa com as moléculas dos flavonoides, estabelece o complexo estável de flavonoide $-\text{Al}^{3+}$, onde se observa a cor amarela em que a sua intensidade é proporcional à concentração de flavonoide da amostra analisada (SAVI *et al*, 2017). Neste caso, obteve-se $R^2 = 0,9993$ e equação da reta $y = 0,0069x - 0,0076$, onde y é a absorbância e x, a concentração de quercetina em mg g^{-1} (Gráfico 2).

Gráfico 2: Curva de Calibração Flavonoides



Fonte: autoria própria, 2021

Foi possível observar na Tabela 1 que, exceto para *V. cuneifolia*, as demais plantas apresentaram maiores atividades antioxidantes utilizando o DPPH para a fração acetato de etila (FAC).

A. inulaefolium apresentou atividade antioxidante para AI-FAC com $1445,95 \pm 47,35 \mu\text{mol ET g}^{-1}$, de modo que este efeito pode estar relacionado à presença de flavonoides, que mostrou um teor de $110,69 \pm 29,88 \text{ mg de quercetina g}^{-1}$.

Para *P. alopecuroides*, PA-FAC apresentou maior efeito com a utilização do DPPH com $3551,06 \pm 443,14 \mu\text{mol ET g}^{-1}$, onde também apresentou uma alta concentração de flavonoides ($116,71 \pm 0,27 \text{ mg de quercetina g}^{-1}$). Dado esse que vai ao encontro do que Ferreira (2009) comentou sobre a planta *Pterocaulon*: a presença de flavonoides.

No caso de *S. leptophylla*, SL-FAC mostrou $2937,29 \pm 77,64 \mu\text{mol ET g}^{-1}$, também com alto valor de flavonoides ($260,58 \pm 47,25 \text{ mg de quercetina g}^{-1}$). Fato este que está conforme Bernardi *et al* (2009): atividade moderada para a fração de acetato de etila para a *Stevia*.

V. discolor teve máxima atividade com o DPPH para VD-FAC ($1161,21 \pm 4,02 \mu\text{mol ET g}^{-1}$), mas o maior conteúdo de flavonoides, neste caso, foi encontrado em VDI-FHX ($59,49 \pm 3,88 \text{ mg de quercetina g}^{-1}$).

V. cuneifolia apresentou a melhor atividade antioxidante para o extrato bruto (VC-EB) com $1137,04 \pm 0,72 \mu\text{mol ET g}^{-1}$, com $52,12 \pm 1,80 \text{ mg de quercetina g}^{-1}$ para

teor de flavonoides, neste caso, um dos maiores se comparado com as frações obtidas destes extratos.

Tabela 1: Resultados do DPPH e flavonoides

Planta	Extratos ou frações	DPPH ($\mu\text{mol ET g}^{-1}$)	Flavonoides (mg de quercetina g^{-1})
<i>Austro eupatorium inulaefolium</i>	AI-EB	228,29 \pm 18,21	37,89 \pm 0,52
	AI-FHX	108,69 \pm 4,89	29,75 \pm 6,57
	AI-FDC	233,36 \pm 13,71	51,07 \pm 7,35
	AI-FAC	1445,98 \pm 47,35	110,69 \pm 29,88
	AI-FHM	414,13 \pm 19,41	27,72 \pm 0,25
<i>Pterocaulon alopecuroides</i>	PA-EB	904,97 \pm 3,21	148,73 \pm 2,45
	PA-FHX	126,97 \pm 7,37	41,34 \pm 2,10
	PA-FDC	1341,63 \pm 94,10	178,35 \pm 37,85
	PA-FAC	3551,06 \pm 443,14	116,71 \pm 0,27
<i>Stevia leptophylla</i>	PA-FHM	1367,42 \pm 24,66	12,27 \pm 0,18
	SL-FHX	78,71 \pm 26,26	28,64 \pm 1,16
	SL-FCHCL3	322,46 \pm 29,32	41,28 \pm 0,57
	SL-FAC	2937,29 \pm 77,64	260,58 \pm 47,25
	SL-FBuOH	1066,58 \pm 218,44	62,63 \pm 5,32
<i>Vernonanthura cuneifolia</i>	SL-FHM	552,88 \pm 12,50	12,10 \pm 0,11
	VC-EB	1137,04 \pm 0,72	52,12 \pm 1,80
	VC-FHX	74,31 \pm 11,12	60,74 \pm 2,32
	VC-FDC	767,46 \pm 12,14	39,29 \pm 0,89
	VC-FAC	735,73 \pm 2,79	37,14 \pm 1,76
<i>Vernonanthura discolor</i>	VC-FHM	699,30 \pm 94,06	30,20 \pm 1,25
	VDI-EB	894,54 \pm 37,44	36,76 \pm 2,99
	VDI-FHX	0	59,49 \pm 3,88
	VD-FDC	269,63 \pm 6,61	47,97 \pm 4,11
	VDI-FAC	1161,21 \pm 4,02	30,67 \pm 1,18
	VDI-FHM	1137,04 \pm 2,60	10,24 \pm 0,15

Legenda: ET: equivalentes Trolox, AI: *Austro eupatorium inulaefolium*, PT: *Pterocaulon alopecuroides*, SL: *Stevia leptophylla*, VC: *Vernonanthura cuneifolia*, VDI: *Vernonanthura discolor*, EB: extrato bruto, FHX: fração hexano, FDC: fração diclorometano, FAC: fração acetato de etila, FHM: fração hidrometanólica, FCHCl3: fração clorofórmio, FbuOH: fração butanólica.

Fonte: Autoria própria (2021).

As plantas da família *Asteraceae* têm tendência ao acúmulo de poliacetilenos, diterpenoides, lactonas e flavonoides, que protegem contra os herbívoros e invasão de microrganismo; sendo assim uma vantagem seletiva pertencente a maioria das espécies que pertencem a esta família (MONTEIRO, 2015).

A importância de plantas possuírem flavonoides parece indicar que há alta atividade antioxidante, o que é capaz de reduzir os efeitos prejudiciais gerados pelos radicais livres (MONTEIRO, 2015). Eles estão presentes *in natura* em alguns alimentos, por exemplo no vinho tinto, que possui mais flavonoides do que o vinho branco, porque é amadurecido do suco de uva com sementes e cascas; por outro lado o vinho branco vem da separação do suco da semente e da casca (FONSECA *et al*, 2016).

E no caso dessa pesquisa, observa-se que a planta *Pterocaulon alopecuroides* possui atividade antioxidante para o extrato de acetato de etila, conforme apresentado por Silveira (2009). As cumarinas desta planta possuem atividade antimicrobiana quando associada; quando isoladas, são inativas.

Em estudos realizados por Souza (2007) chegou-se à conclusão de que em 33 espécies do gênero *Eutpatorium* (família *Asteraceae*) apresentaram resposta a ensaios de bioatividade, inclusive antioxidante.

Por isso é importante escolher os antioxidantes naturais e qual sua aplicação em produtos porque eles variam em sua concentração, fórmulas e interações com outros ingredientes.

Os dados desta pesquisa estão de acordo com Miyazaki (2013) onde narra que plantas da família *Asteraceae* possuem atividade antifúngica bem como tem elevada atividade para extrato de acetato de etila (SILVEIRA, 2009).

5.2 Efeito da combinação de extratos brutos e frações de plantas com a nistatina

Dentre os métodos para determinar o grau de sensibilidade a um antimicrobiano está o teste de disco-difusão, que é muito utilizado e auxilia na avaliação dos microrganismos frente a produtos farmacêuticos e resulta em evidências de que há resistência em função da degradação de agentes microbianos pelos microrganismos (CARDOSO, 2022).

A partir dos testes de difusão em disco, os halos de inibição foram medidos e os resultados estão na Tabela 2.

Tabela 2 - Resultados do ensaio de difusão em disco de nistatina e associação com extratos brutos e frações de plantas da família Asteraceae contra leveduras da espécie *Candida*.

Os halos são expressos em mm

Levedura	Substâncias Testadas				
	Nistatina	Nistatina + VC- EB	Nistatina +VDI- EB	Nistatina +SL- FCHCl ₃	Nistatina +SL- FBuOH
<i>C. albicans</i>	11,97 ± 0,06	18,30 ± 0,66	12,75 ± 0,57	14,64 ± 0,42	13,20 ± 0,22
<i>C. krusei</i>	13,16 ± 0,69	13,51 ± 0,64	13,81 ± 0,78	14,04 ± 0,62	11,50 ± 1,87
<i>C. glabrata</i>	15,40 ± 1,35	13,61 ± 0,54	12,23 ± 0,41	13,87 ± 0,51	12,61 ± 1,14
<i>C. tropicalis</i>	13,26 ± 0,26	15,27 ± 0,87	15,67 ± 0,84	15,63 ± 0,12	12,24 ± 2,16

Legenda: VC: *Vernonanthura cuneifolia*, VDI: *Vernonanthura discolor*; SL: *Stevia leptophylla*; EB: extrato bruto, FCHCl₃: fração clorofórmica; FBuOH: fração butanólica.

Fonte: Autoria própria (2022).

Quando foi avaliado o antifúngico nistatina (100 U.I.) a interpretação dos resultados foi realizada de acordo com os critérios recomendados pelo Centro de Controle e Produtos para Diagnósticos Ltda (CECON): quando a zona de inibição é > 10 mm significa que é sensível e quando a zona de inibição é ≤ 10mm é resistente.

Ao avaliar as interações dos extratos brutos e frações de plantas da família Asteraceae com a nistatina foi considerado sinergismo quando o halo de inibição da combinação foi ≥ 2 mm em relação ao antifúngico isolado e como antagonismo quando foi menor que a nistatina isolada. O efeito indiferente foi determinado quando a combinação foi < 2 mm ou igual à nistatina isolada (MEDEIROS *et al*, 2018)

No caso das leveduras *C. albicans* e *C. tropicalis* VC-EB e SL-FCHCl₃ apresentaram efeito sinérgico com a nistatina de modo que este mesmo efeito ainda foi visualizado com VDI-EB para a última levedura. Para a levedura *C. krusei* a SL-FBuOH mostrou efeito antagônico com a nistatina e para *C. glabrata* todas as associações demonstraram este mesmo efeito. Nas demais associações testadas com as leveduras do gênero *Candida*, todas foram consideradas indiferentes. Talvez isso seja devido à resistência que as leveduras desenvolvem com o passar do tempo ou porque os extratos não são adequados a essas leveduras. Isso vem ao encontro de vários artigos mencionados neste trabalho. Como visto nos dados, a nistatina é sensível às leveduras porque o halo de inibição é >10 mm mas quando associada aos extratos somente com a planta VC-EB foi mais perceptível essa combinação.

No trabalho realizado por Fenner *et al* (2006) encontraram 409 espécies de vegetais que são utilizadas para tratamento de sinais e sintomas, que estão distribuídas em 98 famílias, sendo a segunda mais mencionada, plantas da família *Asteraceae*. Essa família é uma das prioritárias em estudos de avaliação antifúngica.

Mudanças nos processos intracelulares dos antifúngicos e alterações nas enzimas responsáveis pelas vias metabólicas são mecanismos que podem levar à resistência antifúngica. Essas alterações podem ocorrer em fungos, tornando-os menos suscetíveis aos efeitos dos antifúngicos.

No caso específico dos polienos, como a nistatina, as alterações nas vias de síntese do ergosterol e no conteúdo de ergosterol na membrana têm sido identificadas como um dos principais motivos de resistência adquirida. O ergosterol é um componente essencial da membrana dos fungos, e os polienos agem ligando-se ao ergosterol, alterando a integridade da membrana e levando à morte celular do fungo. Portanto, quando ocorrem mudanças nas vias de síntese do ergosterol ou na quantidade de ergosterol presente na membrana, os polienos podem ter sua eficácia reduzida, que pode ser o caso da indiferença das plantas e seus extratos neste trabalho (ARAUJO, 2018).

É importante ressaltar que a resistência antifúngica pode ser multifatorial e envolve diferentes mecanismos. Os fungos podem desenvolver resistência através de mutações genéticas ou por transferência de genes de resistência entre diferentes espécies de fungos. Além disso, a exposição repetida aos antifúngicos pode selecionar cepas resistentes ao longo do tempo (ARAUJO, 2018).

Os estudos sobre resistência antifúngica e os mecanismos envolvidos são de extrema importância para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas e o uso adequado dos antifúngicos disponíveis.

Giordani, Santin e Cleff, (2015) detectaram 78 famílias e 208 espécies de vegetais, sendo que família *Asteraceae* foi uma das que apresentou um número maior de espécies. Conforme os autores, 428 extratos vegetais apresentaram ação anti-*Candida*, entre eles diclorometânicos, aquosos, etanólicos e metanólicos.

Em pesquisa realizada por Giordani, Santin e Cleff (2015) foi utilizado hidroxichavicol isolado a partir da fração clorofórmica do extrato da planta sobre 124 cepas de fungos e entre eles estão *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. tropicalis* constatando a ação antifúngica sobre todos os microrganismos. Com isso pode-se observar que há interesse da comunidade científica em obter extratos com ação sobre

leveduras do gênero *Candida* sendo que existem muitas plantas com potencial de inibição. Algumas dessas plantas necessitam de concentrações mais altas dos extratos e apresentam baixa inibição de crescimento ou eliminação destas leveduras. Diferenças na atividade dos extratos podem ocorrer com base nos métodos de avaliação, tipo de avaliação, parte vegetal utilizada. Como resultado disso, pode-se observar que as plantas da família Asteraceae são antifúngicas (GIORDANI, SANTIN e CLEFF, 2015).

Os dados desta pesquisa estão de acordo com Miyazaki (2013) onde narra que plantas da família *Asteraceae* possuem atividade antifúngica.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Do conhecimento adquirido para a realização deste trabalho constata-se que há uma busca por novos agentes antimicrobianos, especialmente de fontes naturais. Ou seja, são fontes de produtos biologicamente ativos, sendo possível sua síntese para fármacos. E que é possível que algumas plantas possuam atividade contra agentes resistentes a antibióticos. Com esta pesquisa, verificou-se a partir das plantas avaliadas que *A. inulaefolium*, *P. alopecuroides*, *S. leptophylla* e *V. discolor* apresentaram as maiores atividades antioxidantes para a fração acetato de etila. Esta atividade pode estar relacionada com o conteúdo de flavonoides existente nesta fração, uma vez que apresentaram altos valores quando comparados ao extrato bruto ou demais frações. Assim, plantas da família *Asteraceae* podem constituir fontes de compostos antioxidantes e estudos adicionais devem ser realizados.

Pela técnica de difusão em disco é possível determinar a sensibilidade de substâncias antifúngicas de forma rápida e prática. Desta forma foi possível avaliar neste estudo, o efeito dos extratos brutos ou frações de plantas da família *Asteraceae* com antifúngico nistatina. As interações de VC-EB e SL-FCHCl₃ com o agente antifúngico foram consideradas positivas contra *C. albicans* e *C. tropicalis* e VDI-EB contra *C. tropicalis*, ou seja, apresentaram efeito sinérgico.

Cruzando as informações é possível observar que a planta *Vernonanthura cuneifolia* em seu extrato bruto é a que responde melhor tanto como antioxidantes quanto na associação com nistatina. Também se observa nesta planta um teor de flavonoides.

Estudos adicionais devem ser realizados para complementar os resultados alcançados nesta pesquisa, e verificar a possibilidade de utilização de produtos naturais associados a antifúngicos para combater infecções causadas por leveduras do gênero *Candida*.

REFERÊNCIAS

- ALARCÓN, R.; PACCIARONI, A.; PEÑALOZA, L.; URIBURU, M. L.; BOEMO, A.; SOSA, V. *Phenolic compounds from Pterocaulon alopecuroides*. **Biochemical systematics and ecology**, 2010, Vol.38(5), pp.1059-1064.
- ARAUJO, L. F. **Plantas medicinais no controle de fungos patogênicos humanos**. TCC: UFU: Patos de Minas, 2018.
- BALESTRA, A.F.S.O; *et al.* **Avaliação da atividade antifúngica de *Sapium haemospermum* sobre *Candida parapsilosis***. TCC Universidade Evangélica de Goiás, 2022.
- BERETTA, M. E., FERNANDES, A. C., SCHNEIDER, A. & RITTER, M. R. **A família Asteraceae no Parque Estadual de Itapuã**, Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências*, 2008, 6(3): 189- 216.
- BERGAMO, V. Z. **Prospecção de novas moléculas, biopolímeros e suas associações com atividade antifúngica e antibiofilme sobre espécies patogênicas de *Candida***. Tese de doutorado UFRGS, Instituto de Ciências Básica da Saúde, PPG em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Porto Alegre (RS), 2018.
- BERNARDI, D. I. *et al.* Estudo químico e biológico de *Stevia Leptophylla* SCH.BIP. EX BAKER (Asteraceae). **25º Encontro Anual de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Maringá**, 13 e 14 de outubro de 2016
- BOROSKI, M.; *et al.* **Antioxidantes: princípios e métodos analíticos**. 1ª ed. Curitiba: Appris, 2015.
- CANTUÁRIA, V. L. **Estudo fitoquímico e atividade biológica da espécie *Eremanthus erythropappus* (DC) MacLeish (Asteraceae)**. Dissertação de mestrado para o Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas.; UFVJM: Diamantina, 2018.
- CARDOSO, L. A. **Revisão Bibliográfica sobre a atividade antimicrobiana in vitro e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do extrato de *Melaleuca alternifolia* e de *Zingiber officinale* frente as cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans***, 2022.
<https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/36099>
- CARVALHO, C. R. S. de. **Potencial antioxidante e teor de compostos fenólicos dos chás de Hortelã (*Mentha spicata*), Camomila (*Matricaria chamomilla*) e Capim-cidreira (*Cymbopogon citratus*)**. Monografia apresentada ao Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito final para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia. UFU, Instituto de Biotecnologia. Patos de Minas (MG) julho de 2019, disponível em <<https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/25959/4/PotencialAntioxidanteTeor.pdf>>, acesso em 20/07/2021.

CASANOVA, L.M.; COSTA, S.S. Interações Sinérgicas em Produtos Naturais: Potencial Terapêutico e Desafios. **Rev. Virtual Quim.** 2017;9(2):575-595

CASTRO, R.D. **Atividade antifúngica do óleo essencial de *Cinnamomun zeylanicum* Blume (canela) e de sua associação com antifúngicos sintéticos sobre espécies de *Candida***. Tese de doutorado em produtos naturais. UFFPB, 2010.

CHEBBAC, K. *et al.* Antimicrobial and Antioxidant Properties of Chemically Analyzed Essential Oil of *Artemisia annua* L. (Asteraceae) Native to Mediterranean Area. **Life.** 2023, 13(3), pp. 807

CHIQUETI, J.; TIUMAN, T. S., Atividade anti-Candida de extratos e frações de espécies da família Asteraceae., **XXVI Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da UTFPR**, 2021. Disponível em <https://eventos.utfpr.edu.br/sicite/sicite2021/paper/view/7927>

DANIEL, P. S. *et al.* Composition and antimicrobial activity of essential oil of yarrow ('*Achillea millefolium*' L.). **Australian Journal of Crop Science**, 2020, 14(3), pp. 545–550.

DEL RE, P.V; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v. 14, n. 2, p. 389-399, 2012, Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722012000200021&lng=en&nrm=iso>. access on 16 Dec. 2020. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722012000200021>.

DOMINGUES, J. de J.; OLIVEIRA, L. T. A.; COSTA, M. D. M. de A.; SILVA, L. de A. M.; NASCIMENTO, F.; DIETRICH, L. Use of phytotherapy and other vegetable and mineral components in the manufacture of natural dental products: Literature review. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. e57610313678, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i3.13678. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/13678>. Acesso em: 27 may. 2023.

FABRI, R.L *et al.* Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família Asteraceae. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v. 13, n. 2, p. 183-189, 2011. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722011000200009&lng=en&nrm=iso>. access on 20 Sept. 2020. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722011000200009>.

FENNER R. *et al.* Plantas utilizadas na medicina popular com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol.42, n.3, jul/set. 2006

FERREIRA, G. **Avaliação da atividade antioxidantes de espécies de *pterocaulon* (Asteraceae)**. Dissertação (mestrado). Porto Alegre: UFRGS, 2009

FISHER, M.C.; GOW, N.A.R.; GUR, S.J.. Tackling emerging fungal threats to animal health, food security and ecosystem resilience, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1709), 2016.

FLORA CAMPESTRE disponível em <https://www.ufrgs.br/floracampestre/familia-asteraceae/>, data de acesso 14/06/2023.

FLORA DE SANTA CATARINA, disponível em <https://floradesantacatarina.wordpress.com/asteraceae/pterocaulon-alopecuroides/>, data de acesso 15/05/2023

FONSECA, K.Z. **Perguntas mais frequentes sobre flavonoides**. UFRB: Ba, 2016

GANTAIT, S.; DAS, A.; BANERJEE, J. (2018). Geographical Distribution, Botanical Description and Self-Incompatibility Mechanism of Genus *Stevia*. ***Sugar Tech***. 20. 1-10. DOI: 10.1007/s12355-017-0563-1

GIORDANI, C.; SANTIN, R.; CLEFF, M.B. Levantamento de extratos vegetais com ação anti-*Candida* no período de 2005-2013. ***Rev. Bras. Pl. Med.***, Campinas, v.17, n.1, p.175-185, 2015.

GREGÓRIO, L. E. **Fitoquímica e atividades biológicas de plantas do gênero *Mikania (Asteracea)***, Tese de doutorado USP: Ribeirão Preto, 2008, disponível em < <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/59/59138/tde-02062010-180700/publico/DOUTORADO.pdf> >, data de acesso 20/07/2021.

GRZYBOWSKI, C. R. S.; *et al.* Processing and physical and physiological quality of the native forest seeds of *Vernonanthura discolor*. *Acta Sci., Agron.*, Maringá, v. 41, e39574, 2019

LIMA, I.O., OLIVEIRA, R.A.G.; LIMA E.O., FARIAS N.M.P., SOUZA, E.L..Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. ***Rev. Bras. Farmacog.*** Brazilian Journal of Pharmacognosy 2006; 16(2):197-201. Disponível em < <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/CSjMBzTNRvtPZHhrjxm9Qcd/?lang=pt&format=pdf> > data de acesso 19/07/2021.

MARTINS-RAMOS, D.; BORTOLUZZI, R.L.C.; MANTOVANI, A. Plantas medicinais de um remascente de Floresta Ombrófila Mista Altomontana, Urupema, Santa Catarina, Brasil. ***Revista brasileira de plantas medicinais***, Botucatu, v. 12, n. 3, p. 380-397, Sept. 2010.

MEDEIROS-NEVES, B.; TEIXEIRA, H. F.; POSER, G. L. V. The genus *Pterocaulon* (Asteraceae) – A review on traditional medicinal uses, chemical constituents and biological properties. ***Journal of Ethnopharmacology***. 2018, 224, 451-464

MEDEIROS, C. I. S. *et al.* Atividade Anti-*Candida Tropicalis* Dos Enantiômeros (R)-(-) & (S)-(-)-Citronelal Em Associação Com Cetoconazol. ***Revista Ciências Médicas e Biológicas***, vol. 17, no. 1, 2018, p. 61.

MELO E SILVA, F. Potencial antifúngico de extratos de plantas medicinais do cerrado brasileiro. Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da UNB. UNB, Brasília, 2008

MINA, S. *et al.* COVID-19 and Fungal Infections: a Double Debacle. **Microbes and Infection**, vol. 24, no. 8, 2022, p. 105039.

MIYAZAKI, C. M. S. **Estudo das atividades biológicas in vitro da 5-(2,3-dihidroxi-3-metilbulixi) -6,7-metilenedioxycumarina isolada de *Pterocaulon lorentzii* Malme e *Pterocaulon alopecuroides* dc. com ênfase na atividade anti-helmintica em nematoides gastrintestinais de ovinos.** Tese de doutorado. Curitiba: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, 2013.

MONTEIRO, A. C. G. **Atividade biológica e avaliação preliminar da fenologia de *Eupatorium maximilianii* SCHRAD. (mata pasto).** Tese de Doutorado apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes-RJ, Junho de 2015, Disponível em <<https://uenf.br/posgraduacao/producao-vegetal/wp-content/uploads/sites/10/2015/08/Tese-Ana-Carolina-final.pdf> > acesso em 20/07/2021.

NCCLS. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Sixth Edition. **NCCLS document M7-A6.** 2003

NCCLS. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras; Norma Aprovada—Segunda Edição. Norma M27-A2 do NCCLS (ISBN 1-56238-469-4), 2002.

NOGUEIRA, A. Apêndice A – **material didático impresso** (apostila), disponível em http://www1.pucminas.br/imagedb/documento/DOC_DSC_NOME_ARQUI20131023144609.pdf, acesso em 18/11/2020.

NOLDIN, V.F. *et al.* Composição química e atividade biológica de *Cynara scolymus* L. cultivada no Brasil. **Química Nova**, v.26, n.3, p.331-4, 2003.

PEDROSO, R.S.; ANDRADE, G.; PIRES, R.H. **Plantas medicinais: uma abordagem sobre o uso seguro e racional**, 2021, disponível em <https://doi.org/10.1590/S0103-73312021310218>

PEREIRA, J.A. **Atividade antifúngica do geraniol sobre leveduras multirresistentes do gênero *Candida* e perfil farmacológico e toxicológico em estudos *in silico*.** Tese de doutorado. UFPB/CCS, 2017.

PETROPOULOS, S.A. *et al.* Bioactive compounds content and antimicrobial activities of wild edible Asteraceae species of the Mediterranean flora under commercial cultivation conditions. **Food Research International**, 119, 2019, pp. 859–868

PONTICELLI, M. *et al.* *Dittrichia graveolens* (L.) Greuter, a Rapidly Spreading Invasive Plant: Chemistry and Bioactivity. **Molecules**, 2022, 27(3), pp. 895.

RAMIREZ CARDENAS, A.; ISAZA MEJIA, G.; PEREZ CARDENAS, J. E. Vegetal species studied by their antimicrobial, immunomodulatory and hypoglycemic properties in Caldas-Colombia, South America. **Biosalud**, Manizales, v. 12, n. 1, p. 59-82, June, 2013

REZA, D. B. Chemical composition of essential oil and antifungal activity of *Artemisia persica* Boiss. from Iran. **Journal of Food Science and Technology**, 2021, 58(4), pp.1313-1318

ROQUE, N.; BAUTISTA., H. **Asteraceae**: caracterização e morfologia floral. Salvador: EDUFBA, 2008. 73 p.

SAOUD, D.H. *et al.* Biological activities of extracts and metabolites isolated from *Anvillea radiata* Coss. & Dur. (Asteraceae). **South African Journal of Botany**, 121, 2019, pp. 386–393

SAVI, P. do R. S *et al.* **Análise de flavonoides totais presentes em algumas frutas e hortaliças convencionais e orgânicas mais consumidas na região Sul do Brasil**. DOI: 10.12957/demetra.2017.22391

SILVA, L. A. L. da. **Investigação fitoquímica da espécie *Vernonanthura tweediana* (Backer) H. Rob.** Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2015. Disponível em <<https://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/135808>> acesso em 19/11/2020.

SILVA, S. L.; LIMA, M. E. de; SANTOS, R. D. T. dos; LIMA, E. de O. Onicomioses por fungos do gênero *Candida*: uma revisão de literatura. **Research, Society and Development** [S. l.], v. 9, n. 8, p. e560985771, 2020. DOI: 10.33448/rsd-v9i8.5771. Disponível em: <https://www.rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/5771>. Acesso em: 20 jul. 2021.

SILVEIRA, C. S. **Estudo Químico e Farmacológico de *Bidens segetum Martius ex Colla e Pterocaulon alopecuroides* (Lamark) De Candolle**. Tese (Doutorado). Rio de Janeiro: UFRJ, 2009.

SOARES, P. N. **Taxonomia de *Acilepidopsis*, *Chrysolaena*, *Echinocoryne*, *Stenocephalum* e *Vernonanthura* (Vernnieae, Astecacea) de Minas Gerais, Brasil**. Dissertação (Mestrado). Uberlândia: UFU, 2012.

SOARES, T. V., FABRI, R. L. **Composição química e avaliação do potencial antioxidante e citotóxico das folhas de *Eremanthus erythropappus* (DC) mcleish (candeia)**. ISSN 1808-0804 Vol. VIII (3), 41 - 52, 2011

SOUZA, A.C. de. **Caracterização e relação de leveduras do gênero *Candida* isoladas das mucosas oral e vaginal de mulheres com lesões causadas por HPV de alto risco para câncer do colo do útero**. 2016. Dissertação (Mestrado em

Diagnóstico Bucal) - Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017. doi:10.11606/D.23.2017.tde-03072017-155030. Acesso em: 2021-07-20.

SOUZA, Â. M. de **Avaliação do potencial antimicrobiano de *Eugenia pyriformis* Cambess, Myrtaceae e estudo da associação sinérgica com agentes antibacterianos e antifúngicos de uso clínico**. Dissertação de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. UFPR: Curitiba, 2013.

STEIN, A. C. **Análise química de espécies pterocaulon (Asteraceae) e determinação da atividade antifúngica**. Dissertação de mestrado Ciências Farmaceuticas UFRGS, 2005.

VIEIRA, A. J. H.; SANTOS, J. I. dos. Mecanismos de resistência de *Candida albicans* aos antifúngicos anfotericina B, fluconazol e caspofungina. **RBAC**. 2017;49(3):235-9. Disponível em < <http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2017/11/RBAC-vol-49-3-2017-revista-completa-corrigida.pdf#page=18> > data de acesso 20/07/2021

XUE, H. *et al.* Characterization of Composition and Antifungal Properties of Leaf Secondary Metabolites from Thirteen Cultivars of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. *Molecules*, 2019, 24(23), pp. 4202

ZENG, Z.Y. *et al.* Inhibitory effects of essential oils from Asteraceae plant against pathogenic fungi of *Panax notoginseng*. **Journal of Applied Microbiology**, 2021, 130(2), pp. 592–603