

GLICOALCALOIDES ANTIFÚNGICOS, FLAVONOIDES E OUTROS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Solanum asperum*

Francisco das Chagas L. Pinto, Daniel Esdras de A. Uchoa, Edilberto R. Silveira, Otília Deusdênia L. Pessoa* e Raimundo Braz-Filho[#]

Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, CP 12200, 60021-940 Fortaleza - CE, Brasil

Fernanda M. e Silva, Phellipe N. E. T. Theodoro e Laila S. Espíndola

Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, CP 4478, 70919-970 Brasília - DF, Brasil

Recebido em 7/6/10; aceito em 11/8/10; publicado na web em 26/11/10

ANTIFUNGAL GLYCOALKALOIDS, FLAVONOIDS AND OTHER CHEMICAL CONSTITUENTS OF *Solanum asperum* Rich (Solanaceae). Two glycoalkaloids: solamargine and solasonine; three flavonoids: tiliroside, 7-O- α -L-ramnopyranosyl-kaempferol and 3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopyranosyl]-7-O- α -L-ramnopyranosyl-kaempferol, in addition to the tripeptide Leu-Ile-Val, the amino acid proline and the eicosanoic acid were isolated from *Solanum asperum* (Solanaceae). The structures of all compounds were determined by interpretation of their spectra (IR, MS, ¹H and ¹³C NMR) and comparison with the literature data. All compounds, except the glycoalkaloids, are being reported for the first time for *S. asperum*. Solasonine showed strong activity (MIC < 0.24 μ g/mL) against four filamentous fungi species of the genera *Microsporium* and *Trichophyton*.

Keywords: *Solanum asperum*; antifungal glycoalkaloids; flavonoids.

INTRODUÇÃO

A família Solanaceae é representada por aproximadamente 2000 espécies distribuídas em 95 gêneros, sendo o taxon *Solanum* o mais representativo, com aproximadamente 1500 espécies e 5000 epítetos. As plantas que representam este gênero estão distribuídas preferencialmente nas áreas tropicais e subtropicais do planeta, sendo a América do Sul, o centro de maior diversidade e distribuição.¹ Uma grande fração do total de espécies descritas pode ser encontrada no Brasil, particularmente, na região Nordeste, onde são catalogadas cerca de 350 espécies.² Várias plantas deste gênero são popularmente conhecidas como “jurubebas”, muitas das quais são largamente utilizadas na medicina popular, especialmente no tratamento de doenças da pele ou doenças relacionadas ao fígado e baço.^{3,4}

As plantas do gênero *Solanum* destacam-se pela capacidade de biossintetizar esteroides e alcaloides, livres ou na forma de heterosídeos, metabólitos secundários estruturalmente diversificados e complexos.^{5,6} Estes compostos, em geral, são de interesse terapêutico, visto que apresentam um grande leque de atividades, como citotóxica,⁵ anticâncer,⁷ anti-inflamatória,⁸ antiulcerogênica⁹ e moluscicida.¹⁰ Além disso, são também responsáveis pela resistência natural das espécies em seu ecossistema.¹¹ Compostos fenólicos, principalmente flavonas e flavonóis, incluindo seus heterosídeos, são também identificados com frequência em espécies de *Solanum*.^{1,12}

Como parte de um estudo multidisciplinar, cujo objetivo é investigar plantas da família Solanaceae, na busca por compostos bioativos, especialmente com atividade anticâncer, já foram isoladas várias lactonas esteroidais.^{13,14} Neste trabalho é relatado o resultado obtido com a prospecção química de *Solanum asperum* Rich, popularmente conhecido como “coça-coça” ou “russara”. As plantas desta espécie apresentam porte arbustivo e todas as suas partes são pulverulentas, isto é, ricas em pelos urticantes que se desprendem facilmente e que,

em contato com a pele, provocam intensa coceira, daí o nome popular. Concomitante ao estudo químico foi ainda investigado o potencial antifúngico de algumas das substâncias isoladas.

PARTE EXPERIMENTAL

Procedimentos experimentais gerais

Os pontos de fusão foram obtidos em equipamento de microdeterminação digital da Mettler Toledo com placa aquecedora FP82HT e central de processamento FP90. As determinações foram realizadas a uma velocidade de aquecimento de 2 °C/min e não foram corrigidas. Os espectros no infravermelho foram registrados em espectrômetro Perkin - Elmer Spectrum 1000 FTIR, utilizando pastilhas de KBr. Os espectros de RMN ¹H e ¹³C, uni e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetro Bruker Avance DRX-500 (500 MHz para ¹H e 125 MHz para ¹³C). Os espectros de massas de baixa resolução foram obtidos em espectrômetro de massa Shimadzu, QP 5000/DI-50, por impacto eletrônico a 70 eV. Nas cromatografias de adsorção utilizou-se gel de sílica 60 da Vetec (\emptyset μ m, 70-230 mesh) e Merck (\emptyset μ m, 230-400 mesh), enquanto nos fracionamentos cromatográficos por exclusão molecular foi empregado Sephadex LH-20 (Pharmacia). As cromatografias em camada delgada analítica (CCDA) foram realizadas em cromatoplaça de sílica gel (Merck) com indicador de fluorescência (F₂₅₄). As substâncias foram reveladas pela exposição a vapores de iodo, ou por aspersão de solução de vanilina/ácido perclórico/EtOH, seguida de aquecimento em estufa (\approx 100 °C), ou ainda por imersão em solução do reagente Dragendorff.

Material vegetal

As folhas e frutos de *S. asperum* foram coletados no município de Guaramiranga, Ceará, em agosto de 2007. A autenticação do material vegetal foi realizada pelo Prof. E. P. Nunes do Departamento de Biologia – UFC. Uma exsicata representando a coleta da planta

*e-mail: opessoa@ufc.br

[#]Prof. *Honoris causa* – UFC, Pesquisador Visitante Emérito

encontra-se depositada no Herbário Prisco Bezerra (EAC) da Universidade Federal do Ceará, sob o número de registro 29232.

Extração e isolamento

Os frutos (74,6 g) e folhas (500 g) de *S. asperum*, secos e triturados, foram separadamente submetidos à maceração exaustiva com EtOH (3 x 0,5 L para os frutos e 3 x 6 L para as folhas). Após evaporação do solvente, sob pressão reduzida, foram obtidos 6,0 g (8%) de extrato dos frutos e 40,0 g (8%) de extrato das folhas. Os resíduos vegetais de frutos e folhas, foram em seguida, extraídos com uma mistura de EtOH/H₂O/AcOH 90:7:3 (8 L). As soluções resultantes de cada extração foram reduzidas em evaporador rotativo a 1/3 do volume inicial e, em seguida, submetidas à partição líquido/líquido. A solução dos frutos (500 mL) foi extraída com CH₂Cl₂ (3 x 50 mL), resultando em 720,0 mg de extrato, enquanto a fase aquosa depois de neutralizada com NH₄OH forneceu um precipitado (300,0 mg) que, em CCDA, mostrou teste positivo com o reagente Dragendorff. A cromatografia por exclusão molecular em Sephadex LH-20 deste precipitado, usando MeOH como eluente, resultou no isolamento de um sólido branco amorfo, o qual foi identificado como sendo o glicoalcaloide solamargina (**1**; 26,0 mg; p.f. 278-279 °C). O extrato etanólico dos frutos (6,0 g) foi dissolvido em MeOH/H₂O (7:3) e particionado com hexano, CH₂Cl₂ e AcOEt (3 x 100 mL para cada solvente). As soluções de cada solvente foram reunidas, secas com Na₂SO₄ anidro, filtradas e concentradas sob pressão reduzida fornecendo as seguintes frações: hexano (800,0 mg), CH₂Cl₂ (410,0 mg) e AcOEt (169,6 mg). Estas frações, juntamente com a fração hidrometanólica, foram submetidas ao teste de Dragendorff, porém, somente a fração hidrometanólica (4,4 g) apresentou teste positivo. Deste modo, este material foi submetido à cromatografia em Sephadex LH-20, utilizando MeOH como eluente. Ao final, foram obtidas 26 frações de 20 mL que, após serem monitoradas por CCDA, foram reunidas em 6 frações (A-I a A-VI). A fração A-II (489 mg), após cromatografia *flash*, usando o sistema de eluição AcOEt/MeOH 6:4, resultou no isolamento de um sólido branco amorfo, identificado como solasonina (**2**; 40,0 mg; p.f. 286-287 °C).

O extrato etanólico das folhas (40,0 g) foi dissolvido em 120 mL de uma mistura MeOH/H₂O (7:3) e extraído (3 x 100 mL) com os solventes hexano, CH₂Cl₂ e AcOEt. As frações obtidas foram secas com Na₂SO₄ anidro, filtradas e concentradas, obtendo-se as frações hexano (11,26 g), CH₂Cl₂ (3,43 g) e AcOEt (1,24 g). A fase hidrometanólica, após ser concentrada, resultou em (23,04 g) de material. Da fração hexânica (11,26 g), após sucessivas cromatografias em coluna usando como eluente misturas de hexano/AcOEt, foi isolado o ácido eicosanoico (8,0 mg), por eluição com hexano/AcOEt 7:3. A fração CH₂Cl₂ (3,34 g) foi submetida à cromatografia em gel de sílica, empregando o sistema de solventes CH₂Cl₂/MeOH, sozinhos ou em gradiente de polaridade crescente. Foram coletadas 40 frações de 10 mL, as quais após monitoramento em CCDA foram reunidas em 8 frações (B-I a B-VIII). A fração B-VII (268,0 mg), obtida por eluição com CH₂Cl₂/MeOH 1:1, foi submetida à cromatografia de exclusão molecular em Sephadex LH-20 e por eluição com MeOH, fornecendo o heterosídeo tilirosídeo (**3**; 21,0 mg; p.f. 264-265 °C). A fração AcOEt (1,24 g), após ser fracionada em Sephadex LH-20, usando MeOH como eluente, resultou em 22 frações que, depois de monitoradas em CCDA, foram reunidas em 6 frações (C-I a C-VI). A fração C-VI (63,6 mg), após cromatografia *flash*, empregando como eluente AcOEt/MeOH 9:1, forneceu outro heterosídeo, o 7-*O*- α -L-ramnopiranosil-kanferol (**4**; 15,0 mg; p.f. 206-207 °C). A fração AcOEt (1,64 g), proveniente da extração com EtOH/H₂O/AcOH 90:7:3 das folhas, após cromatografia de exclusão molecular, utilizando MeOH como fase móvel, resultou no isolamento de um

outro heterosídeo flavonoídico, o 3-*O*-[β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]-7-*O*- α -L-ramnopiranosil-kanferol (**5**, 40 mg; p.f. 197-198 °C). A fração hidrometanólica (23,0 g), remanescente da partição do extrato EtOH das folhas, foi submetida à cromatografia gravitacional utilizando como fase móvel os sistemas de solventes CH₂Cl₂/MeOH/H₂O 8:2:0,1/ 7:3:0,1/ 6:4:0,1 e Me₂CO/MeOH 1:1 (200 mL para cada sistema de solventes). Da fração CH₂Cl₂/MeOH/H₂O 7:3:0,1 (1,8 g), após sucessivos fracionamentos cromatográficos, empregando Sephadex LH-20 e MeOH como eluente, foi isolado um sólido branco amorfo, caracterizado como sendo um tripeptídeo (**6**, 9,3 mg, p.f. 181-182 °C). Da fração CH₂Cl₂/MeOH/H₂O 6:4:0,1 (3,5 g), após sucessivas cromatografias usando Sephadex LH-20, foi obtido o aminoácido, prolina (**7**, 50,0 mg; p.f. 133-134 °C).

Ensaio da atividade antifúngica

Micro-organismos

Os fungos utilizados na avaliação da atividade foram isolados clínicos de dermatófitos das espécies *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*, *Microsporum canis* e *M. gypseum*, e duas leveduras *American Type Culture Collection* (ATCC), *Candida albicans* ATCC 10231 e *C. parapsilosis* ATCC 22019. Os fungos foram mantidos em tubos de ensaio com meio Agar batata dextrose a 35 °C (CLSI Documento M27-A2 e M38-A).^{15,16}

Concentração inibitória mínima

Para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) foram utilizados os protocolos M27-A2¹⁵ para leveduras e o M38-A¹⁶ para fungos filamentosos do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Utilizando-se a técnica de microdiluição em placas de 96 poços foram realizados os cálculos de CIM, sendo utilizado o meio de cultura RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) 1640 (Sigma®) como controle negativo e o itraconazol e fluconazol como controles positivos. As amostras foram dissolvidas em dimetilsulfóxido (DMSO). Os testes foram realizados em triplicata, sendo a concentração de DMSO inferior a 5%. O tempo de incubação foi de 48 h para leveduras e de 72 h para dermatófitos, à 35 °C. A menor concentração capaz de inibir totalmente o crescimento do fungo foi considerada o valor de CIM.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A prospecção química dos frutos de *S. asperum* culminou no isolamento dos glicoalcaloides, solamargina (**1**)¹⁷ e solasonina (**2**),¹⁸ os quais foram recentemente publicados a partir da espécie em estudo, incluindo sua propriedade moluscicida.¹⁰ Das folhas de *S. asperum* foram isolados os flavonoides, tilirosídeo¹⁹ (**3**), 7-*O*- α -L-ramnopiranosil-kanferol (**4**) e 3-*O*-[β -D-glicopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -L-ramnopiranosil]-7-*O*- α -L-ramnopiranosil-kanferol^{20,21} (**5**), um tripeptídeo (**6**) e o aminoácido prolina²² (**7**), Figura 1. Além dos compostos indicados acima, foi isolado o ácido eicosanoico, cuja estrutura foi identificada por CG-EM. As estruturas de **1-6** foram determinadas por RMN ¹H e ¹³C, incluindo experimentos bidimensionais, como COSY, HSQC e HMBC, além de IV e EM.

O composto **6** foi isolado como um sólido branco amorfo, p.f. 181-182 °C. A fórmula molecular C₁₇H₃₃N₃O₄ foi determinada por combinação dos dados de RMN e espectrometria de massa de baixa resolução, que revelou o pico correspondente ao íon molecular *m/z* 343. O espectro no infravermelho apresentou uma banda larga centrada em 3448 cm⁻¹ compatível com vibrações de deformação axial de ligações N-H e O-H que, quando associadas às absorções em 1610, 1548 e 1514 cm⁻¹, podem ser atribuídas tanto a amidas como a grupamentos carboxilatos de aminoácidos. O espectro de RMN ¹H (500 MHz, D₂O) apresentou sinais em δ 3,72 (dd, *J* = 8,4 e 5,1

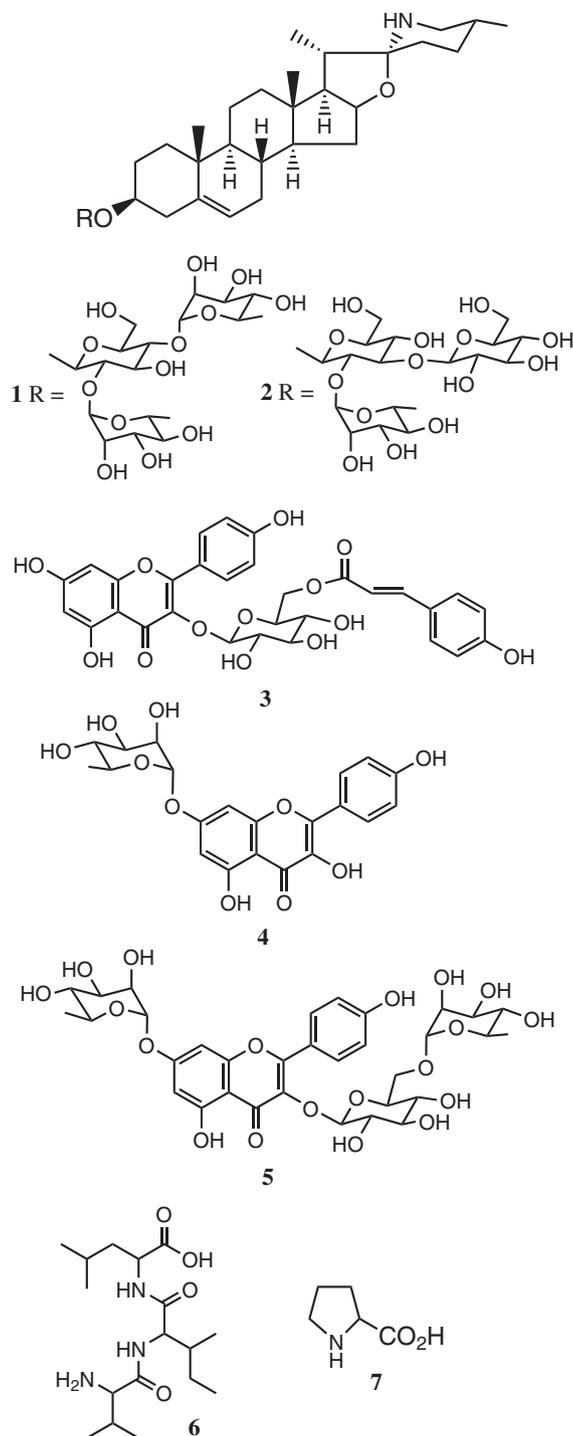


Figura 1. Estruturas dos constituintes químicos isolados de *Solanum asperum*

Hz, H-2), 3,66 (d, $J = 3,9$ Hz, H-2') e 3,60 (d, $J = 4,3$ Hz, H-2'') compatíveis com a presença de átomos de hidrogênio ligados a carbonos α -carbonílicos nitrogenados, uma série de multipletos em δ 2,27 (H-3''); 1,98 (H-3'); 1,73 (H-4); 1,72 (H-3a), 1,69 (H-3b); 1,46 (H-4'a) e 1,25 (H-4'b), referentes a hidrogênios metínicos e metilênicos, além dos sinais em 0,98 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H-4''); 1,00 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H-6'); 1,03 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H-5''); 0,96 (d, $J = 5,9$ Hz, 3H-6); 0,95 (d, $J = 5,8$ Hz, 3H-5) e 0,93 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H-5') correspondentes a seis grupos metilas. No espectro COSY, foram observados correlações que revelaram claramente três sistemas de acoplamentos separados. O espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, D_2O) apresentou sinais correspondentes a dezessete átomos de carbono,

incluindo três grupos carboxilas em δ 174,3 e 174,2 (2 x C=O), seis carbonos metínicos, dos quais três (δ 60,4; 59,6 e 53,5) são nitrogenados, além de dois grupos metilênicos e seis metilas (Tabela 1). A atribuição inequívoca dos sinais correspondentes aos grupos metilas foi realizada através do experimento TOCSY 1D seletivo, no qual a excitação na frequência do sinal em δ 3,72 (H-2) exibiu correlação com os hidrogênios metilênicos δ 1,72 (H-3a)/1,69 (H-3b) e metínico δ 1,73 (H-4), além dos dois metilas em δ 0,96 (3H-6) e 0,95 (3H-5); a irradiação do sinal em δ 3,66 (H-2') mostrou correlação com os hidrogênios metínicos δ 1,98 (H-3') e metílico δ 1,00 (3H-6''). De maneira semelhante, a excitação do sinal em δ 3,60 (H-2'') revelou a correlação com os sinais dos hidrogênios metílicos em δ 1,03 (3H-4'') e 0,98 (3H-5''). A sequência das três unidades de aminoácidos foi confirmada por espectrometria de massa, através dos fragmentos m/z 326 (6a), 272 (6b), 242 (6c), 213 (6d), 129 (6e) e 100 (6f) Daltons, cujas estruturas encontram-se esboçadas na Figura 2. Com estes dados, incluindo-se aqueles obtidos dos espectros HSQC e HMBC (Tabela 1), chegou-se à estrutura do tripeptídeo L-Valil-L-Isoleucil-L-leucina (Leu-Ile-Val), o qual foi previamente relatado de fonte animal (músculo de salmão).²³

Tabela 1. Deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C (D_2O)^a do composto 6

C	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
C-1	174,32	-	H-2	
CH-2	53,50	3,72 (dd, 8,4, 5,1)	2H-3	H-4
CH ₂ -3	39,86	1,72 (m), 1,69 (m)	H-2; H-4	3H-5; 3H-6
CH-4	24,23	1,73 (m)	2H-3; 3H-5; 3H-6	H-2
CH ₃ -5	20,95	0,95 (d, 5,8)	H-4	2H-3
CH ₃ -6	22,09	0,96 (d, 5,9)	H-4	2H-3
C-1'	174,23	-	H-2'	
CH-2'	59,62	3,66 (d, 3,9)		2H-4'; 3H-6'
CH-3'	35,14	1,98 (m)	H-2'; 2H-4'	3H-5'; 3H-6'
CH ₂ -4'	24,52	1,46 (m), 1,25 (m)		H-2'; 3H-6'
CH ₃ -5'	11,16	0,93 (t, 7,4)	2H-4'	
CH ₃ -6'	14,74	1,00 (d, 7,0)		H-2'; 2H-4'
C-1''	174,23	-	H-2''	H-3''
CH-2''	60,45	3,60 (d, 4,3)	H-3''	3H-4''; 3H-5''7
CH-3''	29,14	2,27 (m)	H-2''; 3H-4''; 3H-5''	
CH ₃ -4''	16,70	0,98 (d, 7,0)		H-2''; 3H-5''
CH ₃ -5''	18,01	1,03 (d, 7,0)		H-2''; 3H-4''

^aDeslocamentos químicos (δ) em ppm. Padrão de hidrogenação determinado através da técnica DEPT 135°. Multiplicidade e constante de acoplamento (J) entre parêntesis. J em Hertz.

Neste trabalho, os compostos 1 e 2 foram avaliados sobre as leveduras *Candida albicans* e *C. parapsilosis* e em fungos filamentosos *Microsporium canis*, *M. gypseum*, *Trichophyton rubrum* e *T. mentagrophytes* (Tabela 2). O glicoalcaloide 1 apresentou valores de CIM de 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para leveduras e 62,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para os filamentosos, enquanto o glicoalcaloide 2 foi mais ativo, com valores de 62,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ sobre as leveduras e 0,24 $\mu\text{g}/\text{mL}$, sobre os filamentosos. Esses compostos possuem estruturas semelhantes, entretanto o espectro de atividade é diferente. A potente atividade do glicoalcaloide 2 para dermatófitos é bastante promissora, sobretudo considerando-se que o controle positivo itraconazol apresentou valores de CIM entre 0,5-8,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Esses resultados são de importância clínica,

Tabela 2. Valores da concentração inibitória mínima (CIM), em µg/mL de solamargina (**1**) e solasonina (**2**) sobre leveduras e fungos filamentosos

Composto	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>T. rubrum</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>M. canis</i>	<i>M. gypseum</i>
Solamargina	125	125	62,5	62,5	62,5	62,5
Solasonina	62,5	62,5	0,24	0,24	0,24	0,24
^a Itraconazol	0,5	0,25	0,5	1	8	0,5
^a Fluconazol	1	1	64	> 64	> 64	16
^b RPMI 100%	-	-	-	-	-	-

^aControles positivos, ^bControle negativo, - não ativo.

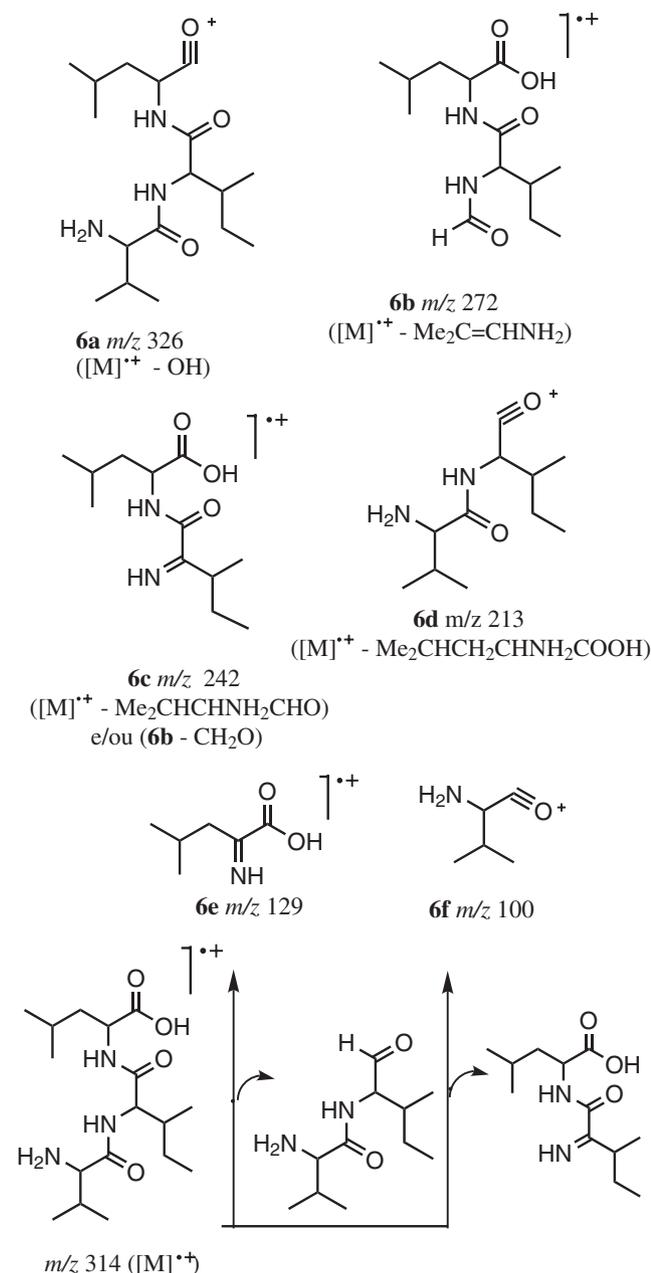


Figura 2. Estruturas pontuais de fragmentos gerados no espectrômetro de massa, por impacto eletrônico (EIMS), e utilizados na proposição da estrutura do tripeptídeo Leu-Ile-Val (**6**)

uma vez que, cerca de 22% dos pacientes HIV positivos apresentam micoses promovidas principalmente por dermatófitos^{24,25} e 40% das manifestações cutâneas em transplantados renais são promovidas

por fungos.²⁶ Este é o primeiro relato da atividade dos glicoalcaloides **1** e **2** em fungos patogênicos humanos, pois são descritos apenas pela ação em fungos endofíticos.²⁷ Existe uma predominância de *T. rubrum* como principal agente etiológico em várias regiões geográficas do mundo, como Japão, Estados Unidos, México e Brasil.²⁸ No entanto, alguns estudos mostram o aparecimento de outros dermatófitos como principais agentes causadores de infecção, entre eles o *T. mentagrophytes* e o *M. canis*.^{29,30} A efetividade do tratamento tópico de infecções fúngicas continua sendo um importante desafio em dermatologia. Apesar do amplo espectro de ação dos antifúngicos tópicos, em dermatófitos e leveduras, altas taxas de recidiva e recorrência de sintomas continuam sendo problemas clínicos importantes.³¹ Infecções nas unhas, difíceis de erradicar, podem apresentar níveis de recorrência de 25 a 40% dos casos, mesmo em uso de antifúngicos sistêmicos.³² Compostos como o glicoalcaloide **2** poderiam ser uma alternativa de opção para o desenvolvimento de formulação tópica para o tratamento de micoses.

CONCLUSÃO

A prospecção química das folhas e frutos de *S. asperum* resultou no isolamento de uma série de metabólitos secundários pertencentes a classes estruturais distintas como glicoalcaloides, flavonoides e peptídeos. Com exceção dos glicoalcaloides, os demais compostos estão sendo relatados pela primeira vez a partir da espécie, constituindo-se interessante contribuição para o conhecimento químico do gênero. Este é o primeiro relato da atividade dos glicoalcaloides solamargina e solasonina em fungos patogênicos humanos. Esse estudo demonstra a importância da investigação antifúngica de produtos naturais de origem vegetal, aliada à preservação da biodiversidade. Soma-se a isto que alternativas quimioterápicas para o tratamento de infecções fúngicas são de fundamental relevância para a saúde pública.

MATERIAL SUPLEMENTAR

As Figuras 1S a 6S estão disponíveis em <http://quimicanova.sbq.org.br>, na forma de arquivo PDF, com acesso livre.

AGRADECIMENTOS

Ao apoio financeiro das instituições de apoio à pesquisa CNPq, CAPES, PRONEX, FUNCAP e FAPDF.

REFERÊNCIAS

- Sarmento Silva, T. M.; Carvalho, M. G.; Braz-Filho, R.; Agra, M. F.; *Quim. Nova* **2003**, *26*, 517.
- Agra, M. F.; Bhattacharyya, J. Em *Solanaceae IV. Advances in Biology and Utilization*; Nee, M.; Symon, D. E.; Lester, R. N.; Jessop, J. P., eds.; Royal Botanic Gardens: Kew, 1999.
- Matos, F. J. A.; *Plantas da Medicina Popular do Nordeste*, Edições UFC: Fortaleza, 1999.

4. Lorenzi, H.; Matos, F. J. A.; *Plantas Mediciniais do Brasil: Nativas e Exóticas Cultivadas*, Instituto Plantarum: Nova Odessa, 2002.
5. Ikeda, T.; Tsumagari, H.; Nohara, T.; *Biol. Pharm. Bull.* **2003**, *26*, 1198.
6. Distl, M.; Wink, M.; *Potato Res.* **2009**, *52*, 79.
7. Friedman, M.; Lee, K.-R.; Kim, H.-J.; Lee, I.-S.; Kozukue, N.; *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 6162.
8. Edwin, J. E.; Edwin, S.; Saini, V.; Deb, L.; Gupta, V. B.; Wate, S. P.; Busari, K. P.; *Nat. Prod. Res.* **2008**, *22*, 269.
9. Mallika, J.; Shyamala, D. C. S.; *J. Ethnopharmacol.* **2006**, *104*, 156.
10. Silva, T. M. S.; Camara, C. A.; Freire, K. R. L.; Silva, T. G.; Agra, M. F.; Bhattacharyya, J.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2008**, *19*, 1048.
11. Friedman, M.; *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 8655.
12. Hale, A. L.; Reddivari, L.; Nzaramba, M. N.; Bamberg, J. B.; Miller Jr, J. C.; *Am. J. Pot. Res.* **2008**, *85*, 332.
13. Veras, M. L.; Bezerra, M. Z. B.; Lemos, T. L. G.; Uchoa, D. E. A.; Braz-Filho, R.; Chai, H. B.; Cordell, G. A.; Pessoa, O. D. L.; *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 710.
14. Veras, M. L.; Bezerra, M. Z. B.; Braz-Filho, R.; Pessoa, O. D. L.; Montenegro, R. C.; Pessoa, C.; Moraes, M. O.; Costa-Lotufo, L. V.; *Planta Med.* **2004**, *70*, 551.
15. CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute; *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts*, Approved Standard, 2nd ed., Document M27-A2, CLSI: Pennsylvania, 2002.
16. CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute; *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi*, Approved Standard, Document M38-A, CLSI: Pennsylvania, 2002.
17. Wanyonyi, A. W.; Chhabra, S. C.; Mkoji, G.; Eilert, U.; Njue, W. M.; *Phytochemistry* **2002**, *59*, 79.
18. Ridout, C. L.; Price, K. R.; Coxon, D. T.; Fenwick, G. R.; *Pharmazie* **1989**, *44*, 732.
19. Lencina, C.; Pires, V. S.; Gosmann, G.; Taketa, A. T. C.; Schenkel, E. P.; *Rev. Bras. Farmacog.* **2001**, *11*, 89.
20. Agrawal, P. K.; *Carbon-13 NMR of Flavonoids*, Elsevier: Amsterdam, 1989.
21. Silva, T. M. S.; Carvalho, M. G.; Braz-Filho, R.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 1119.
22. Pretsch, E.; Bühlmann, P.; Affolter, C.; *Structure Determination of Organic Compounds. Tables of Spectral Data*, Springer-Verlag: Berlin, 2000.
23. Enari, H.; Takahashi, Y.; Kawarasaki, M.; Tada, M.; Tatsuta, K.; *Fisheries Sci.* **2008**, *74*, 911.
24. Porro, A. M.; Yoshioka, M. C. N.; *Anais Bras. Dermatol.* **2000**, *75*, 665.
25. Souza, L. B.; Pinto, L. P.; Medeiros, A. M. C.; Junior, R. F. A.; Mesquita, O. J. X.; *Pesqui. Odontol. Bras.* **2000**, *14*, 79.
26. Vettorato, G.; Carvalho, A. V. E.; Lecompte, S. M.; Trez, E. G.; Garcia, V. D.; Keitel, E.; *Anais Bras. Dermatol.* **2003**, *78*, 282.
27. Gipollini, M. L.; Levey, D. J.; *Ecology* **1997**, *78*, 799.
28. Welsh, O.; Welsh, E.; Ocampo-Candiani, J.; Gomez, M.; Vera-Cabrera, L.; *Mycoses* **2006**, *49*, 119.
29. Dolenc-Voljc, M.; *Mycoses* **2005**, *48*, 181.
30. Panasiti, V.; Devirgiliis, V.; Borri, R. G.; Mancini, M.; Curzio, M.; Rossi, M.; Bottoni, U.; Calvieri, S.; *Med. Mycol.* **2007**, *45*, 57.
31. Pfaller, M. A.; Sutton, D. A.; *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **2006**, *56*, 147.
32. Woodfolk, J. A.; *Clin. Microbiol. Rev.* **2005**, *18*, 30.