

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E TOXICIDADE DAS INFLORESCÊNCIAS DE FLOR-DO-AMAZONAS (*TITHONIA DIVERSIFOLIA*)**

**ANTIFUNGICAL ACTIVITY AND POTENTIAL TOXICITY OF INFLORESCENCES OF FLOWER OF AMAZON (*TITHONIA DIVERSIFOLIA*)**

Márcia N. M. Castro<sup>1</sup>; Maria E. da S. Barros<sup>1</sup>; Rosana G. Rodrigues-Das-Dôres<sup>1</sup>; Ricardo Stefani<sup>2</sup>

1. Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto-MG. Brasil. 35.400-000.

2. Universidade Federal do Mato Grosso. Barra do Garças-MT. Brasil. 78.600-000.

E-mail do autor para correspondência: marcianoelle23\_9@yahoo.com.br

**Recebido em 18/12/2009, Aceito em 01/07/2010**

**RESUMO:** *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray. (Asteraceae) encontra-se amplamente distribuída nas regiões tropicais e subtropicais, desde América Central ao sul do Brasil. Possui inflorescência disposta em capítulos com corola amarela que pode ser propagada por estacas ou sementes. É popularmente utilizada no combate ao alcoolismo, contra dores de estômago e no combate ao envenenamento. A fim de investigar potencial ação antifúngica, coletou-se as inflorescências no Município de Franca, SP, procedendo a seleção, transporte, processamento e secagem que foi realizada em estufa com ventilação forçada (EVF) e estufa convencional (ECV) em temperatura constante de 40°C. Nesses experimentos, o extrato foi preparado usando-se diclorometano PA (EDT), procedendo-se a extração exaustiva, e posterior rotaevaporação. Foi realizado também o fracionamento dos extratos com Hexano (EH), Diclorometano (EDT) e Acetato de Etila (EAC). As frações obtidas e o extrato bruto foram avaliados *in vitro* diante de quatro espécies do gênero *Candida* por metodologia de microdiluição em placas, em RPMI, e toxicidade diante de *Artemia salina*. Os testes antifúngicos tiveram com EH resultados satisfatórios na inibição de cepas do gênero *Candida* de a concentração inibitória mínima (CMI) de 128 µg/mL. A toxicidade inicial dos extratos de capítulos florais foi de 100% de mortalidade com a DL<sub>50</sub> = 10 µg/mL, possuindo alta toxicidade, inferindo-se que o uso interno de extratos de *Tithonia diversifolia* é totalmente desaconselhável.

**Palavras-chave:** secagem, extratos, *Candida*, toxicidade, planta medicinal.

**ABSTRACT:** *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray. (Asteraceae) is widely distributed in tropical and subtropical regions, from Central America to the Southern Brazil. Its inflorescence is arranged in capitula with yellow corolla which can be propagated by cuttings or seeds. It is popularly used to combat alcoholism, stomach pains, and poisoning. In order to investigate potential antifungal activity inflorescences were collected in the city of Franca, Sao Paulo,

Brazil; selection, transportation, processing, and drying were obtained using a hothouse with forced air ventilation (EVF) and hothouse with conventional air ventilation (ECV) at constant 40°C of temperature. In these experiments, the extract was prepared using dichloromethane PA (EDT), carrying out exhaustive extraction and subsequent evaporation of solvent. Was also performed to fractionate the extracts with hexane (EH), dichloromethane (EDT), and ethylacetate (EAC). The obtained fractions and crude extract were evaluated in vitro against four *Candida* species through the methodology of microdilution in plates, in RPMI, and toxicity against *Artemia salina*. The antifungal tests with EH had satisfactory results in the inhibition of strains of *Candida* in the minimum inhibitory concentration (MIC) of 128 mg/mL. The initial toxicity of extracts of flower capitula was 100% mortality with LD<sub>50</sub> = 10 mg/mL, presenting high toxicity, implying that the internal use of extracts of *Tithonia diversifolia* is totally inappropriate.

**Keywords:** drying, extracts, *Candida*, toxicity, medicinal plant.

## INTRODUÇÃO

*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray., (basinômio: *Mirasolia diversifolia* Hemsl. - Asteraceae), espécie ruderal, encontra-se amplamente distribuída nas regiões tropicais e subtropicais, desde a América Central até o sul do Brasil. Presente na África Tropical e no sudeste da Ásia (MOBOT, 2009; WANJAU; MUKALAMA; THIJSEN, 1998), sendo utilizada em sistemas agroflorestais, e frequentemente encontrada em lixões, áreas de descarte, margens de rios poluídos ou próximo a cidades e ao longo de rodovias. O nome da espécie é atribuído a Titão, esposo de Aurora, e refere-se ao fato de as flores se abrirem de madrugada. Planta perene ou anual, herbácea com 2,0 a 4,0 m de altura, hastes eretas ou lenhosas. Folhas alternas, pecioladas, de 7,0 a 20,0 cm de comprimento, 4,0 a 20,0 cm de largura; com lóbulos (3-5), profundos ou não, cuneados, subtruncados na base; de bordas serradas a denteadas, pecíolo de 4,0 a 20,0 cm e presença de lígulas

amarelas ou alaranjadas de 3,0 a 6,0 cm. Inflorescência disposta em capítulos com corola amarela (CRONQUIST, 1965; BARROSO et al., 1991). A propagação pode realizar-se por estacas ou sementes, entretanto, as sementes possuem dormência tegumentar (MUOGHALU; CHUBA, 2005).

Tem sinonímia vulgar de girassol comum, bóton de oro, girasola, mirasol, margaritona ou arnica da terra, quil amargo e mirasol, como tara, flor amarillo e arnica, margaridão amarelo, boldo japonês, unha de gavião e rayo de sol ou wild sun flower e mexican sun flower. Especialmente, no Brasil é conhecida como girassol mexicano, flor-do-amazonas, margaridão. (PIO CORRÊA, 1984; ROIG; MESA, 1974; NASH, 1976; RODRÍGUEZ, 1990; RÍOS, 1993). Socioeconomicamente é utilizada, na alimentação animal, atração de insetos, como cerca viva e quebra vento, adubo verde, medicamento fitoterápico e homeopático, devido ao seu sabor amargo, usa-se no combate ao

envenenamento, em entorses, fraturas ósseas, hematomas e contusões, em doenças de pele (pé de atleta), suores noturnos, como diurético, na hepatite, icterícia e cistite. Na medicina tradicional chinesa seu principal uso é na melhoria da função hepática (BOTSARIS, 2002, 2007).

Destaca-se o relato etnobotânico, de remanescentes de Quilombola, retirado de Simão (2001): “A flor-da-amazônia (*Tithonia diversifolia*) é uma planta considerada por eles que “serve pra tudo”, como emagrecer, dor de barriga, mas seu principal uso está relacionado com dores de estômago, úlcera e problemas no fígado. O modo de preparo mais comum é amassar a folha e tomar com água “por ser um remédio amargo”. Nas ilhas de São Tomé e Príncipe no do Golfo da Guiné, as partes aéreas são tradicionalmente usadas em chá (decoção) no tratamento da malária (DO CÉU DE MADUREIRA et al., 2002).

A atividade antiplasmódica dessa planta pode ser atribuída principalmente a lactona sesquiterpênica, Tagitinina C (GOFFIN et al., 2002). Farmacologicamente, destacam-se os relatos de Rai e Acharya (1999), que mostraram que *T. diversifolia* tem atividade antimicótica contra *Fusarium oxysporum* e *Erichophyton*, *in vitro*. Extrato etéreo das partes aéreas da planta teve atividade antiplasmódica bem contra três cepas de *Plasmodium falciparum*, *in vitro*, e contra *Plasmodium berghei*, *in vivo* (BIDLA et al., 2004; ELUFIOYE; AGBEDAHUNSI, 2004). Também tem sido eficaz no tratamento

de cólicas e distúrbios gastrintestinais. Estudos *in vitro* revelaram *T. diversifolia* que contém alguns compostos capazes de agir como agente antitumoral (GU et al., 2002). A análise por HPLC revelou a presença de Tagitinina C e A, lactonas sesquiterpênicas antiplasmódicas (GOFFIN et al., 2002). Foram, ainda, isolados do extrato acetato de etila das partes aéreas de *T. diversifolia*, três novos sesquiterpenoides 2-alpha-hidroxitirofundina, tithofolinolide e 3-alpha acetoxidiversifolola, juntamente com oito lactonas sesquiterpênicas conhecidas como 3 $\beta$ -acetoxi-8 $\beta$ -Isobutirloxireinosina, tagitinina A e tirofundina no com ação antitumoral (GU et al., 2002).

Este estudo visa verificar a possível atividade antifúngica de *T. diversifolia* diante de cepas de *Candida* sp., ressaltando que as leveduras desse gênero são constituídas de aproximadamente 200 diferentes espécies de leveduras, que vivem normalmente nos mais diversos nichos corporais, como orofaringe, cavidade bucal, dobras da pele, secreções brônquicas, vagina, urina e fezes. São patógenos oportunistas frequentemente isolados das superfícies mucosas de indivíduos normais, mas podem levar ao desenvolvimento de infecções denominadas candidíases, que variam desde lesões superficiais até infecções disseminadas (ALVARES; SVIDZINSKI; CONSOLARO, 2007). Entre as espécies que compõem esse gênero, a *Candida albicans* tem maior relevância em função de sua taxa de prevalência em condições

de normalidade e de doença, sendo assim justificável a procura por produtos naturais que possam colaborar na sua terapêutica e controle de infecções fúngicas.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **1 Coleta da amostra**

As inflorescências de *Tithonia diversifolia* foram coletadas no Município de Franca, as margens do Córrego Engenho Queimado, São Paulo (20,518 S, 47,442 O), e transportadas, selecionadas e encaminhadas ao processamento e secagem. Exsicata (material testemunho) encontra-se depositada no Herbário da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo (USP/SP), sob número SPRF 4441.

### **2 Secagem de flores**

As inflorescências, após seleção, foram secas integras, em processo de secagem artificial em dois tratamentos estufa com ventilação forçada (EVF) e estufa convencional (ECV) (TECNAL). Inicialmente, pesou-se em balança analítica de precisão (SARTORIUS) cerca de 3,00 g ( $3,29 \pm 0,18$  g) do material fresco que foi embalado em papel multifoliado, identificado e submetido a secagem em temperatura constante de 40°C, em ambos os tratamentos. O processo de secagem foi feito em intervalos regulares de tempo (TS=24horas), mediante a avaliação da perda de massa e água, até peso constante vinculando a eficácia do processo aos parâmetros sensoriais de

qualidade (cor, odor, aspecto geral inicial e final). Os dados obtidos das variáveis analisadas em cada tratamento (MF, MS, % H<sub>2</sub>O) foram submetidas a ANOVA e teste de média.

### **3 Preparo dos extratos**

Em erlenmeyer, adicionou-se 55,8 g de inflorescências de *T. diversifolia* e 150 mL de diclorometano PA (VETEC), procedendo-se a extração exaustiva. Após 72 horas, filtrou-se o extrato, que foi seco em evaporador rotativo sob refrigeração (BM TECNAL), a temperatura de 40°C, obtendo-se o extrato resinoso que foi colocado sob ventilação em secador artificial obtendo-se o extrato diclorometânico concentrado das inflorescências (EDT), em seguida, calculou-se o rendimento pela fórmula: (peso final/ peso inicial) x100.

### **4 Fracionamento dos extratos**

1,85 gramas de extrato seco (EDT) foram redissolvidos em 15 mL de água destilada iniciando-se o fracionamento. Os solventes utilizados na partição foram hexano PA, diclorometano PA e acetato de etila PA (VETEC) utilizando-se extrações sucessivas de 30 mL de cada solvente, por polaridade, constante dielétrica e coeficiente de partição. Os extratos obtidos (EH; ED e EAC) das partições foram levados a ventilação direta na obtenção do extrato seco, calculando-se os rendimentos de cada extrato obtido, pela fórmula: (peso final/ peso inicial) x 100.

### **5 Atividade antifúngica**

As frações obtidas (EH, ED e EAC) e o extrato bruto (EDT) foram avaliados *in vitro* diante de quatro espécies do gênero *Candida* sendo elas: *C. albicans* (ATCC 18804), *C. tropicalis* (ATCC 750), *C. parapsilosis* (ATCC 22019) e *C. krusei* (ATCC 6258), pela metodologia de microdiluição em placas. Utilizou-se na realização dos testes, 12 mg das frações de extratos. Os extratos foram dissolvidos em 6 mL de dimetilsulfóxido (DMSO-VETEC) obtendo-se a concentração padrão de 2.000 µg/mL. A concentração padrão de 1.024 µg/mL foi obtida adicionando-se em tubo separado 5,12 mL de cada Extrato/DMSO somados a 4,88 mL de RPMI, sendo, 10 mL totais, com concentração padrão final de 1.024 µg/mL.

Na realização das diluições seriadas foram utilizadas 10 tubos de ensaio, com numeração de 1 a 10, contendo previamente 5 mL de RPMI. Na primeira diluição, foi retirada alíquota de 5 mL do tubo de ensaio que continha a preparação das frações e transferido ao primeiro tubo, homogeneizou-se e retirou-se alíquota semelhante do primeiro transferindo ao segundo e assim sucessivamente (diluições sucessivas). Assim, obteve-se o total de 10 concentrações que variaram de 512 µg/mL a 1 µg/mL dos tratamentos EH, ED, EAC e EDT.

Os padrões usados foram Cetoconazol® e Fluconazol®. A metodologia utilizada foi a diluições sucessivas obtendo-se as concentrações de 32 a 0,0625 µg/mL (Cetoconazol) e 64 a 0,125 µg/mL (Fluconazol). O

controle foi solução de RPMI (SIGMA). Os inóculos de *Candida* sp. foram preparados entre 0,5 e 2,5 x 10<sup>3</sup> UFC/mL. No plaqueamento foram utilizadas placas multipiços com capacidade de 200 µL e pipeta multicanal (GILSON). Todos os tratamentos foram feitos com duas repetições. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica (TECNAL) a temperatura de 28°C durante 48 h. Após esse período, fez-se a leitura por reflexão em espelho, observando-se a concentração inibitória mínima (CMI), que é a menor concentração capaz de inibir completamente o crescimento microbiano. Todo o procedimento foi todo realizado com material estéril e em capela de fluxo laminar (QUIMIS).

## 6 Toxicidade

A toxicidade inicial dos extratos de *T. diversifolia* foram avaliados diante de *Artemia salina*. Na obtenção de *Artemia salina*, ovos desse microcrustáceo foram colocados para eclodir em aquário com solução salina (sal marinho artificial Red Sea®) na concentração 38,0 g/L, sob oxigenação e radiação luminosa por 48 h (temperatura de 28°C).

40,0 mg de extrato seco (EAC) foi diluído em 4,0 mL de Etanol PA (VETEC) e dessa solução retirou-se alíquotas de 5; 50; 250 e 500 µL que foram transferidos para tubos de ensaio estéreis, constituindo 4 tratamentos com 4 repetições.

Em seqüência, evaporou-se o solvente e adicionou-se 5,0mL (por tubo) de solução salina (0,389 g/L) nos

tratamentos, resultando nas concentrações de 10, 100, 500 e 1.000 µg/mL constituindo os tratamentos T10-1, T100-2, T500-3 e T1000-4. Os controles utilizados foram Lapachol (SIGMA), preparado com o mesmo procedimento (TRAT 5 a TRAT 8), e solução salina (TRAT 9).

Em cada repetição, dos 9 tratamentos, colocou-se dez *A. salina*, que permaneceram durante 24 h nas soluções, e em seguida analisou-se o

índice de mortalidade, calculando a DL<sub>50</sub> pelo método de Probitos. Os dados foram submetidos a análise de variância e de média (SAEG® 9.1).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

### 1 Secagem

Os teores de massa fresca e perda de água nos tratamentos ECV e EVF estão dispostos nas tabelas 1 e 2.

**Tabela 1 – Resumo da análise de variância dos teores de massa fresca (MF), massa seca (MS) em miligramas e percentual perda de água (PPA) (%) nos tratamentos de secagem em ECV (estufa convencional) e EVF (estufa ventilada)**

FV	GL	QM		
		MF	MS	PPA
TRAT	1	0,025 <sup>ns</sup>	0,015 <sup>ns</sup>	7,47 <sup>ns</sup>
RES	6	0,037	0,034	21,98
CV (%)		5,86	39,02	5,47

\*\* e \* - Significativo a 1% e 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> - Não significativo a 5% de probabilidade.

**Tabela 2 – Comparações entre médias dos teores de massa fresca (MF), massa seca (MS) em miligramas e percentual perda de água (PPA) (%) nos tratamentos de secagem TEC (estufa convencional) e TEV (estufa ventilada)**

TRATAMENTOS	MÉDIAS		
	MF	MS	PPA
ECV	3,23 A	0,43 A	86,67 A
TEV	3,34 A	0,52 A	84,74 A

As médias seguidas de uma mesma letra não variaram estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Ambos os métodos de secagem foram eficazes, nos quesitos massa seca (0,47 ± 0,17g), e, em perda de água (85,70 ± 4,46g), resultando em umidade residual de 14%, o que torna a matéria-prima vegetal mais plausível de conservação. Por se tratar de flores, a coloração original da corola (amarelo intenso) deve ser preservada mesmo após a secagem, característica observada nesses processos.

### 2 Rendimento do extrato e das frações obtidas por partição

O peso total do extrato foi de 1,85 g, com rendimento de 3,31%. As frações obtidas pelo método de partição tiveram os pesos finais de 0,7356 g em hexano (EH), 0,4556 g em acetato de etila (EAC) e 0,5449 g em diclorometano (ED), e respectivamente os rendimentos de 39,76%; 24,67% e 29,45%.

Souza e Marques (2008) calcularam o rendimento de extratos etanólicos de folhas e galhos de *T. diversifolia*, e

afirmam que o extrato bruto etanólico da folha teve rendimento de 84,9% e dos galhos de 94,9%, o que é destoante com os resultados encontrados.

Os resultados desses extratos obtidos por partição, no entanto foram proporcionais a afinidade dos compostos ativos pelas solventes e em de acordo com o coeficiente de partição dessas.

### 3 Atividade antifúngica

Os testes antifúngicos realizados com a fração hexânica (EH) tiveram resultados satisfatórios na inibição de cepas do gênero *Candida*, com concentração inibitória mínima (CMI) de 128 µg/mL, o melhor resultado nas condições experimentais. Os controles experimentais de Cetoconazol e Fluconazol atingiram os resultados esperados, sendo a inibição do Cetoconazol de 0,5 µg/mL em *C. albicans*, 1,0 µg/mL *C. tropicalis* e 0,25 µg/mL em *C. krusei* e de 8 µg/mL em *C. parapsilosis*. A inibição do fluconazol foi de 2 µg/mL em *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. krusei* e de 8 µg/mL em *C. tropicalis*.

O potencial de toxicidade está em acordo ao encontrado para produtos naturais como visto em substâncias isoladas de *v* a CIM foi de 200 µg/mL. Em *Nectandra megapotamica*, seis substâncias foram ativas diante das cepas dos gêneros *Candida* (CIM = 100 µg/mL) destacando-se os valores de CIM de 50 µg/mL obtidos diante de 6 [(-)-epicatequina] (SARMENTO; GARCEZ, 2009).

Assim, *T. diversifolia* poderá ser usada, futuramente, diante de cepas resistentes de *Candida*, em como fitofármaco ou como fitoterápico tópico. Novos estudos, com produtos naturais surgem, a cada dia, possibilitando o seu uso como coadjuvante a tratamentos decorrentes, por exemplo, das comorbidades do diabetes (neuropatia) ou de infecções fúngicas oportunistas.

### 4 Toxicidade

*Artemia salina* Leach. é um microcrustáceo invertebrado usado como teste alternativo na determinação de toxicidade e fototoxicidade de produtos naturais; altamente sensível a substâncias tóxicas podendo ser comparado ao fibroblasto de humano (UTYAMA et al., 2007).

Nos resultados obtidos em *Artemia salina* as médias dos extratos de acetato de etila dos capítulos florais foram de 100% de mortalidade a DL<sub>50</sub> = 10 µg/mL, possuindo alta toxicidade. Segundo Carvalho et al. (2009), o uso indiscriminado de certas plantas medicinais sem o conhecimento verdadeiro de seu potencial tóxico pode causar efeitos nocivos e não desejados, o que foi verificado nessas condições experimentais.

Souza e Marques (2008) analisaram a toxicidade de extratos etanólicos de folhas e galhos de *T. diversifolia* diante de *A. salina* nas concentrações de 250, 125, 62,5 e 31,5 ppm, destacando que apenas o extrato bruto das folhas teve atividade citotóxica, com DL<sub>50</sub> de 26,25 ppm, o

que é consoante com a toxicidade detectada para flores.

Giuliani e Mondolo (2008), avaliando o potencial citotóxico de extratos de folhas de *T. diversifolia* diante de *A. salina* afirmam que eles têm alta taxa de toxicidade.

Dessa forma é desaconselhável o uso interno das inflorescências como feito popularmente no tratamento de distúrbios hepáticos e pulmonares, assim como o uso da preparação de chás dos capítulos florais (infusão) ou de tinturas por terem alta periculosidade ( $DL_{50} = 10 \mu\text{g/mL}$ ).

Fator importante que valida sua potencial toxicidade pode ser visto em Oyewole, Magaji e Awoyinka (2004, 2007) que comprovaram, *in vivo*, que no extrato aquoso de *T. diversifolia* a  $DL_{50}$  foi de 120 mg/kg, enquanto que a dose máxima tolerada (DMT), que é a dosagem máxima de segurança de administração, foi de 100 mg/kg de peso corporal. Os autores, ainda, relatam que peso corporal nos animais experimentais foi reduzido em média de 5,9% e 9,8% em 7 e 14 dias de tratamento, respectivamente e houve aumento significativo no nível sérico de TGP, nesse período. Também, verificaram que a administração prolongada do extrato, teve efeito tóxico sobre os parâmetros sanguíneos ocorrendo hemólise progressiva ou hemorragias.

Em contrapartida, tal biotoxicidade pode vir validar seu uso como agente antitumoral, leishmanicida ou tripanossomicida, molusquicida, ou mesmo antiparasitário e, ou, como

agente alelopático ou nematicida, tal como verificado por Mascena et al. (2007), onde extrato etanólico de *T. diversifolia* nas concentrações de 500 e 250  $\mu\text{g/mL}$  exibiu 100% de inibição do crescimento parasitário, com  $IC_{50}$  de 51,62  $\mu\text{g/mL}$ , por Slomp (2007) onde a ação nematicida de *T. diversifolia* teve resultados de  $DL_{50}$  (12 e 24hs, respectivamente) de 199,68 ppm e 7,68 ppm, e por Gu et al. (2002) onde isolaram-se compostos do extrato das partes aéreas de *T. diversifolia* com potencial atividade quimiopreventiva e antiproliferativa.

*T. diversifolia* é importante espécie vegetal que, até o presente momento, era vista apenas como bioindicadora e que tem amplo uso em paisagismo. No entanto, popularmente, suas flores são utilizadas em beberagens contra o alcoolismo, e, é comum relato de uso do pó de suas flores na alimentação de dependentes químicos. Este estudo comprovou que tal uso é muito perigoso, pois flores de *T. diversifolia* possuem alta toxicidade  $DL_{50} = 10 \mu\text{g/mL}$ , o que, *per se*, já é fator de risco ao uso interno. Recomenda-se, assim, estudos de formulações de uso externo com extratos de *T. diversifolia*.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao prof. Dr. Tanus J. Nagem, da Universidade Federal de Ouro Preto, e, ao Herbário da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, pela identificação da espécie.



## REFERÊNCIAS

ALVARES CA, SVIDZINSKI TIE, CONSOLARO MEL. Candidíase vulvovaginal: fatores predisponentes do hospedeiro e virulência das leveduras. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, Rio de Janeiro, 2007, 43(5): 319-327.

BARROSO GM et al. *Sistemática de angiospermas do Brasil*. Viçosa: Editora UFV, 1991.

BIDLA G. et al. Antiplasmodial activity of seven plants used in African folk medicine. *Indian J Pharmacol*. 2004, 36(4): 245-246.

BOTSARIS AS. Plants used traditionally to treat malaria in Brazil: the archives of Flora Medicinal. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, London, 2007, 3(18): 1-8.

\_\_\_\_\_. *Fitoterapia chinesa e plantas brasileiras*. São Paulo: Icone., 2002. 550 p.

CARVALHO, C. A. et al. Cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus* Miers – Bignoniaceae): Estudo fitoquímico e toxicológico envolvendo *Artemia salina*. *Revista eletrônica de Farmácia*, Goiânia, 2009, 6(1): 51-57.

CRONQUIST A. *The evolution and classification of flowering plants*. New York: Botanical Garden, 1965.

DO CÊU MADUREIRA, M. et al. Antimalarial activity of medicinal plants used in traditional medicine in S. Tomé and Príncipe islands. *J. Ethno Pharmacology*, 2002, 81(1): 23 - 29.

ELUFIOYE TO, AGBEDAHUNSI JM. Antimalarial activities of *Tithonia diversifolia* (Asteraceae) and *Crossopteryx febrifuga* (Rubiaceae) on mice in vivo. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004,93(2-3): 167-171.

GIULIANI M, MODOLO AK. Potencial citotóxico de extratos de *Tithonia diversifolia* e *Myracrodruon urundeuva*. XII Encontro de Iniciação Científica da UCDB, Mato Grosso, 3 a 4 nov. 2008. Disponível em: <[http://www.gpec.ucdb.br/pistori/pibic/anais/XII\\_Caderno\\_de\\_resumos\\_PIBIC.pdf](http://www.gpec.ucdb.br/pistori/pibic/anais/XII_Caderno_de_resumos_PIBIC.pdf)>. Acesso em: 10 dez. 2009.

GOFFIN E et al. In vitro antiplasmodial activity of *Tithonia diversifolia* and identification of its main active constituent: Tagitinin C. *Planta Medica*, 2002, 68(6): 543-545.

GU JQ et al. Sesquiterpenoids from *Tithonia diversifolia* with potential cancer chemopreventive agents. *Journal of Natural Products*, Washington, 2002, 65(4): 532-536.

MASCENA Z et al. Atividade leishmanicida das folhas de *Tithonia diversifolia* A.GRAY. II Seminário de Iniciação Científica. Maranhão 29 nov. a 1º dez. 2007,1: 29.

MOBOT. Disponível em: <[www.mobot.org/mobot/tropicos/most/welcome.shtml](http://www.mobot.org/mobot/tropicos/most/welcome.shtml)>. Acesso em: 20 nov. 2009.

MUOGHALU J I, CHUBA DK. Seed germination and reproductive strategies of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray and *Tithonia rotundifolia* (P.M) Blake. *Applied Ecology and Environmental Research*. Budapest, 2005, 3(1): 39-46.

NASH D. Flora de Guatemala. *Fieldiana: Botany*, Washington, 1976, 24(XII): 323-325.

OWOYELE VB et al. Studies on the anti-inflammatory and analgesic properties of *Tithonia diversifolia* leaf extract. *J. Ethnol. Pharmacol.*, 2004, 90(2/3): 317-321.

OYEWOLE IO, MAGAJI ZJ, AWOYINKA O. A. Biochemical and toxicological studies of aqueous extract of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) leaves in wister albino rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, Lagos, 2007, 1(2): 30-33.

PIO CORRÊA M. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro: IBDF, 1984. 6 .

RAI MK, ACHARYA D. Screening of some asteraceous plants for antimycotic activity. *Compositae Newsletter*, Stockholm, 1999, 34: 37-43.

RÍOS CI. Efecto de la densidad de siembra y altura de corte sobre la producción de biomasa del botón de oro *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray, evaluada en cortes sucesivos. Investigación, validación y capacitación en Sistemas Agropecuarios Sostenibles. *Informe de Avance*. 1993, 1(1): 81-83.

RODRÍGUEZ E. *Mirasol (Tithonia diversifolia; Hemsl y Gray) posible alternativa forrajera no convencional para la alimentación animal en el trópico*. S.l: s.n, 1990.

ROIG JTY, MESA A. *Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba*. La Habana: Editorial Científico-Técnica, 1974. p. 949.

SARMENTO UC, GARCEZ WS. *Busca de substâncias bioativas de plantas – ensaios com substâncias puras*. 2009. 14 p. Relatório (Iniciação científica)–Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande.

SIMÃO CG. *Levantamento etnobotânico em quintais de comunidades remanescentes de quilombos*. 2001. 62 p. Monografia (Ciências Biológicas)–Fundação Instituto de Terras do Estado de São Paulo “José Gomes da Silva”, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

SLOMP, L. *Prospecção de extratos etanólicos de plantas medicinais na busca por nematocidas*. 2007. 43 p. Dissertação (Mestrado)–Escola de Biotecnologia da Universidade de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

SOUZA JF, MARQUES MM. Estudo químico, biológico e farmacológico da espécie vegetal *Tithonia diversifolia* (girassol mexicano). *XII Encontro de Iniciação Científica da UCDB*. Mato Grosso, 3 a 4 nov. 2008. Disponível em: <[http://www.gpec.ucdb.br/pistori/pibic/anais/XII\\_Caderno\\_de\\_resumos\\_PIBIC.pdf](http://www.gpec.ucdb.br/pistori/pibic/anais/XII_Caderno_de_resumos_PIBIC.pdf)>. Acesso em: 10 dez. 2009.

UTYAMA IKA et al. Determinação da atividade antibacteriana e toxicidade do ácido acético e vinagres branco e tinto. *Revista Eletrônica de Farmácia*, Goiânia, v. 4, n. 2, p. 202-207, 2007.

WANJAU, S.; MUKALAMA, J.; THIJSSEN, R. Biomass transfer: Harvesting free fertiliser. *ILEIA Newsletter*, 1998, 13(3): 25-28.