UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS NATURAIS E BIOTECNOLOGIA

ANA EMÍLIA FORMIGA MARQUES

ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE FLAVONOIDES DE *Sida santaremnensis* H. MONTEIRO (MALVACEAE) E AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTITUMORAL

CUITÉ – PB

2016

ANA EMÍLIA FORMIGA MARQUES

ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE FLAVONOIDES DE Sida *santaremnensis* H. MONTEIRO (MALVACEAE) E AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTITUMORAL

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Ciências Naturais e Biotecnologia da Universidade Federal de Campina Grande, *Campus* Cuité, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Naturais e Biotecnologia.

Área de concentração: Biotecnologia Industrial

ORIENTADORA: Profª. Drª. Danielly Albuquerque da Costa

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Claudio Roberto Bezerra dos Santos

CUITÉ – PB

2016

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

M357i Marques, Ana Emília Formiga.

Isolamento e caracterização estrutural de flavonoides de *Sida santaremnensis* H. Monteiro (Malvaceae) e avaliação do efeito antiinflamatório e antitumoral. / Ana Emília Formiga Marques. – Cuité: CES, 2016.

89 fl. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais e Biotecnologia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2016.

Orientador: Dra. Danielly Albuquerque da Costa.
Coorientador: Dr. Cláudio Roberto Bezerra dos Santos.

1. Plantas medicinais. 2. Fitoquímica. 3. Malvaceae. 4. *Sida santaremnensis*. 5. Atividade antiinflamatória. 6. Atividade antitumoral. I. Título.

Biblioteca do CES - UFCG CDU 633.88

ANA EMÍLIA FORMIGA MARQUES

ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE FLAVONOIDES DE Sida *santaremnensis* H. MONTEIRO (MALVACEAE) E AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTITUMORAL

Aprovada em ____/_____/_____

COMISSÃO EXAMINADORA:

_____

Profª. Dra. Danielly Albuquerque da Costa

Orientadora – Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

_____

Prof. Dr. Claudio Roberto Bezerra dos Santos

Coorientador – Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

_____

Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas

Examinador Interno – Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

_____

Profª Dra. Giciane Carvalho Vieira

Examinadora Externa– Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

CUITÉ-PB,

2016

DEDICATÓRIA

À minha mãe, Aparecida Formiga, meu maior exemplo de perseverança, sabedoria e amor ao que se faz. Sem seu apoio, nada seria possível.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades, mostrar os caminho nas horas incertas e me suprir em todas as minhas necessidades;

À minha mãe, por ser minha base, por todas as lições de vida, por me dar a oportunidade de hoje ser quem eu sou. Por ter sido a minha primeira mestra e sempre meu maior exemplo;

Aos meus irmãos, Evilásio Neto, Coraci Júnior, Vanessa e Felipe por todo o companheirismo e amizade, admiração e amor em todos os momentos;

A meu irmão Diego Formiga por muitas vezes abrir mão dos seus sonhos para eu ir em busca dos meus, me substituir no trabalho e me apoiar continuamente;

A meu namorado, Ivo Ramalho, pelo incentivo contínuo, por entender minhas omissões e estar ao meu lado nos bons e maus momentos;

A meus tios, minha avó e amigos, que vibraram comigo, desde a aprovação na prova, e sempre fizeram “propaganda” positiva a meu respeito;

À Professora Dra. Daniely Albuquerque que acreditou em meu potencial, aceitou me orientar e durante esses dois anos sempre esteve disponível para ajudar, por fazer eu me apaixonar pela pesquisa com produtos naturais, por ser parte da minha vida nos momentos bons e ruins, sendo referência de profissional e ser humano para mim. Minha sincera admiração e agradecimento;

Ao professor Dr. Cláudio Roberto, por sua ajuda, por acreditar no futuro deste projeto e contribuir para o meu crescimento profissional. Sua participação foi fundamental para a realização deste trabalho;

Aos professores Dr. Juliano Carlo e. Dra. Giciane Carvalho Vieira, por aceitarem participar da banca examinadora e pelas contribuições no trabalho

As minhas amigas, Desterro, Patrícia, Mikaely e Thalita que sempre estiveram ao meu lado, comemorando minhas vitórias e enxugando minhas lágrimas. Serei sempre grata pela amizade de vocês;

Aos colegas do mestrado pelos momentos divididos juntos, especialmente à Amanda, Érica, Mônica, Ageu, Edcleberson, Aluska, Thamara, Ana Cristina, Rafaela, que se tornaram verdadeiros amigos e deixaram mais leve meu trabalho;

Aos professores e funcionários, do Programa de Pós–Graduação em Ciências Naturais e Biotecnologia, por todos os ensinamentos nesse período, solicitude e solidariedade diante das minhas dificuldades;

As colegas de laboratório Edileuza Bezerra e Ana Laura Cabral por me receberem tão bem, me ajudarem e participarem deste trabalho;

A Talissa Mozzini, pelos ensinamentos, paciência e dedicação na realização dos experimentos farmacológicos;

Ao Prof. Dr. Juan Carlos Ramos Gonçalves, da Universidade Federal do Piauí, pela parceria e realização dos experimentos dos testes de atividade antitumoral.

Ao Dr. Vicente Carlos de Oliveira Costa, pela eficiência na execução e processamento dos espectros de RMN;

A todos que foram peças fundamentais na minha formação profissional, meu reconhecimento e minha eterna gratidão!

"O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis". **(José de Alencar)**

RESUMO

FORMIGA, A. E. M**. Isolamento e caracterização estrutural de flavonoides de *Sida santaremnensis* H. Monteiro (MALVACEAE) e avaliação do efeito anti-inflamatório e antitumoral,** 2016. 91 f Dissertação (Programa Pós-graduação em Ciências Naturais e Biotecnologia) - Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2016.

A fitoquímica se dedica à caracterização estrutural, avaliação de propriedades e investigações biossintéticas de substâncias naturais produzidas pelo metabolismo secundário de organismos vivos. Dessa forma, a fitoquímica contribui para a divulgação e geração de novos conhecimentos, colaborando com a manutenção da saúde e a cura de doenças. A família Malvaceae apresenta grande importância econômica, destacando-se na alimentação do homem e de outros animais, na indústria têxtil, na produção de óleos e fibras, na madeireira, como ornamental e na medicina. Nesse trabalho objetivou-se contribuir com o estudo fitoquímico e farmacológico de *Sida santaremnensis,* uma espécie da família Malvaceae, a partir do isolamento, purificação e determinação estrutural de constituintes químicos dessa planta, bem como pela avaliação da atividade antiinflamatória e antitumoral do constituinte isolado de forma majoritária. Através dos métodos cromatográficos usuais foram obtidos dois flavonoides de *Sida santaremnensis*: canferol e canferol 3-O-β-D-glicosil-6''-α-L-ramnosídeo, ambas as moléculas com atividades biológicas comprovadas na literatura, sendo a primeira inédita na espécie. A identificação estrutural dessas substâncias foi realizada utilizando-se o método espectroscópico de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e de Carbono 13 e comparações com dados da literatura. A avaliação imunofarmacológica desenvolvida com o canferol 3-O-β-D-glicosil-6''-α-L-ramnosídeo revelou que este apresenta possível ação anti-inflamatória e essa ação não relacionada com a morte celular. Enquanto a avaliação da atividade antitumoral demonstrou que este flavonoide glicosilado não apresenta atividade contra leucemia promielocítica humana.

Palavras-chave: Estudo fitoquímico. Malvaceae. *Sida santaremnensis.* Atividade antiinflamatória

ABSTRACT

FORMIGA, A. E. M. **Isolation and structural characterization of flavonoids from *Sida santaremnensis* H. Monteiro (MALVACEAE) and evaluation of the anti-inflammatory and antitumor effect.** Master's Thesis, 2016. 91 p. Dissertation (Graduate Program in Natural Sciences and Biotechnology) - Federal University of Campina Grande, Cuité, 2016.

The phytochemical is dedicated to the structural characterization, evaluation of properties and biosynthetic investigations of natural substances produced by the secondary metabolism of living organisms, which contributes to the dissemination and generation of new knowledge. The Malvaceae family has great economic importance, highlighting in the feed of man and other animals, textile industry, in the production of oils and fiber, in the timber, such as ornamental and medicine. This work aimed to contribute to the phytochemical and pharmacological study of *Sida santaremnensis,* a species of Malvaceae family, from the isolation, purification and structure determination of chemical constituents of this plant, as well as the evaluation of the immunomodulatory activity and antitumor isolated constituent a majority manner. Through usual chromatographic methods were obtained two flavonoid in *Sida santaremnensis*: kaempferol and kaempferol 3-O-β-D-glycosyl-6"-α-L-rhamnoside, both molecules with biological activity evidenced in the literature, the first unprecedented in species. The structural identification of these compounds was carried out using the spectroscopic method of Nuclear Magnetic Resonance Hydrogen and Carbon 13 and comparisons with literature data. The evaluation immunopharmacological developed with kaempferol 3-O-β-D-glycosyl-6 "-α-L-rhamnoside showed that this presents potential anti-inflammatory action and that is unrelated to the cell death activity. While the evaluation of the antitumor activity demonstrated that this glycosylated flavonoid does not have activity against human promyelocytic leukemia.

Keywords: Phytochemical study. Malvaceae. *Sida santaremnensis*. anti-inflammatory activity

LISTA DE ABREVIATURAS, FÓRMULAS E SÍMBOLOS

AcOEt: Acetato de Etila

APT: Attached Proton Test

CCDA: Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CD_3OD: Metanol deuterado

CH_2Cl_2: Diclorometano

$CHCl_3$: Clorofórmio

CIP: Classificação Internacional de Patente

CO_2: Dióxido de carbono

COSY: Correlation Spectroscopy

d:dubleto

DMSO: Dimetilsulfóxido

EEB: Extrato Etanólico Bruto

EtOH: Etanol

Fr.: Fração

g: Grama

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HMQC: Heteronuclear Multiple Quantum Correlation

Hex.: Hexano

Hz: Hertz

INPI: Instituto Nacional de Propriedade Intelectual

***J*:** Constante de acoplamento

LPS: lipossacarídeo

m: Multipleto

MeOH: Metanol

mg: miligrama

MHz: Megahertz

MTT: brometo de 3-metil-[4-5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio

NED: N-naftil-etilenodiamina

Rf: Fator de Retenção

RMN ^{13}C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

RMN ^{1}H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RPMI: *Roswell Park Memorial Institute Medium*

SBF: Soro Bovino Fetal

USPTO: United States Patent and Trademark Office

UV: Ultravioleta

δ: Deslocamento químico em ppm

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto de *Sida santaremnensis*..... 38

Esquema 2 – Processamento cromatográfico da fase acetato de etila de *Sida santaremnensis*..... 40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Nomes aceitos de espécies por região do Brasil..... 21
Figura 2 -*Sida santaremnensis* H. Monteiro. Foto: Daniel Dias Rufino Arcanjo, abril de 2007, Parque Piauí - Teresina/PI..... 33
Figura 3: Proposta estrutural para S-1..... 44
Figura 4 - Espectro de RMN ^{1}H (δ, CD_3OD, 200 MHz) de S-1..... 48
Figura 5 - Expansão do espectro de RMN ^{1}H (δ, CD_3OD, 200 MHz) de S-1..... 49
Figura 6 - Espectro de RMN ^{13}C (δ, CD_3OD, 50 MHz) de S-1..... 50
Figura 7 - canferol 3-*O*-β-D-glicosil-6''- α-L-ramnosídeo..... 55
Figura 8 - Espectro de RMN ^{1}H (δ, CD_3OD, 500 MHz) de S-2..... 58
Figura 9 -Expansão 1 do espectro RMN ^{1}H (δ,CD_3OD, 500 MHz) de S-2..... 59
Figura 10 – Expansão 2 do espectro de RMN^{1}H (δ, CD_3OD, 500 M Hz) de S-2 60
Figura 11 - Expansão 3 do espectro de RMN^{1}H (δ, CD_3OD, 500 M Hz) de S-2 61
Figura 12- Espectro de RMN ^{13}C-APT (δ, CD_3OD, 125 M Hz) de S-2..... 62
Figura 13 - Expansão 1 do espectro RMN ^{13}C (δ, CD_3OD, 125 MHz) de S-2..... 63
Figura 14 - Expansão 2 do espectro RMN ^{13}C (δ, CD_3OD, 125 MHz) de S-2..... 64
Figura 15 - Espectro de RMN^{1}H x ^{13}C-HMBC(δ, CD_3OD, 500 e 125MHz) de S-2 65
Figura 16 – Expansão 1 do espectro de RMN^{1}H x ^{13}C - HMBC (δ, CD_3OD, 500 e 125 MHz) de S-2..... 66
Figura 17– Expansão 2 do espectro de RMN^{1}H x ^{13}C - HMBC (δ, CD_3OD, 500 e 125 MHz) de S-2..... 67
Figura 18 – Espectro de RMN^{1}H x ^{13}CHMQC (δ, CD_3OD, 500 e 125 MHz) de S-2..... 68
Figura 19 – Expansão 1 do espectro de RMN^{1}H x ^{13}C HMQC (δ CD_3OD, 500 e 125 MHzδ) de S-2..... 69
Figura 20– Expansão 2 do espectro de RMN^{1}H x ^{13}C HMQC δ CD_3OD, 500 MHzδ) de S-2..... 70
Figura 21 – Efeito do canferol 3-*O*-β-D-glicopiranose (6''-1''') α-L-ramnopiranosídeo na viabilidade Celular. 71
Figura 22-Efeito do canferol 3-*O*-β-D-glicopiranose (6''-1''')α-L-ramnopiranosídeo nos níveis de NO..... 73
Figura 23: Avaliação da citotoxicidade do flavonoide sobre célulasHL-60..... 74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados espectrais de RMN ^{1}H e ^{13}C (δ, CD3OD, 200 e 50 MHz) da substância S-1..... 46

Tabela 2 - Dados comparativos de RMN ^{1}H e ^{13}C de S-1 (δ, CD3OD, 50 MHz) com Mo-1 (δ, CD3OD, 200 e 50 MHz)[4] da literatura (COSTA, 2006)..... 47

Tabela 3 – Número de Patentes depositadas por base de dados envolvendo os termos utilizados..... 51

Tabela 4. Dados espectrais de RMN ^{1}H e ^{13}C (δ, CD3OD, 500 e 125 MHz) da substância S-2..... 56

Tabela 5. Dados de RMN ^{13}C (δ, CD3OD, 125 MHz) da substância S-2 comparados com Mo-1 (δ, CD3OD, 125 MHz) (COSTA, 2006), Mo-2 (δ, DMSO-*d*6, 100 MHz) (TELLES et al., 2015) e Mo-3 (δ, CD3OD) (AGRAWAL, 1989)..... 57

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO..... 16
2 OBJETIVOS 18
2.1 OBJETIVO GERAL..... 18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... 18
3 REVISÃO DE LITERATURA..... 19
3.1 A FAMÍLIA MALVACEAE..... 19
3.1.1 Distribuição e aspectos botânicos..... 19
3.1.2 Aspectos quimiotaxonômicos, etnobotânicos e etonofarmacológicos da família Malvaceae..... 20
3.2 O GÊNERO *Sida*..... 20
3.2.1 Distribuição e aspectos botânicos do gênero *Sida* 20
3.2.2 Aspectos quimiotaxonômicos, etnobotânicos e etonofarmacológicos do gênero *Sida*..... 21
3.2.3 Metabólitos secundários encontrados em *Sida*..... 22
3.2.3.1 Alcaloides..... 22
3.2.3.2 Flavonoides..... 23
3.2.3.3 Terpenos..... 29
3.2.3.4 *Esteroides*..... 30
3.2.3.5 Fenóis simples..... 30
3.3 A ESPÉCIE *Sida santaremnensis* H. Monteiro..... 30
3.4 IMPORTÂNCIA DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS PARA SOCIEDADE..... 32
3.5 O ESTUDO IMUNOFARMACOLÓGICO COM PRODUTOS NATURAIS..... 33
3.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL COM PRODUTOS NATURAIS..... 34
4 EXPERIMENTAL..... 36
4.1 ESTUDO FITOQUÍMICO..... 36
4.1.1.1 – Extrativo 36
4.1.1.2 Cromatográficos..... 36

4.1.1.3 Métodos Espectroscópicos..... 36

4.1.2 – Métodos..... 37

4.1.2.1 Levantamento bibliográfico 37

4.1.2.2 - Coleta do material botânico..... 37

4.1.2.3 Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto de Sida santaremnensis..... 37

4.1.2.4 - Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila de Sida santareminensis..... 39

4.2 ESTUDO IMUNOLÓGICO..... 40

4.2.1 Materiais..... 40

4.2.1.1 Animais..... 40

4.2.2 Métodos..... 41

4.2.2.1 Cultura de macrófagos peritoneais 41

4.2.2.2 Determinação da viabilidade 41

4.2.2.3 Determinação dos níveis de óxido nítrico (NO)..... 42

4.2.2.4 Análise estatística..... 42

4.3 DISPONIBILIZAÇÃO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS PAR AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL..... 43

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 44

5.1 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DA SUBSTÂNCIA S-1..... 44

5.1.1 Prospecção de patentes de canferol..... 51

5.2 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DA SUBSTÂNCIA S-2 53

5.3 ENSAIOS FARMACOLÓGICOS COM A SUBSTÂNCIA S-2..... 71

5.3.1 Viabilidade Celular..... 71

5.3.2 Quantificação de Nitrito 72

5.3.3 Avaliação da atividade antitumoral..... 74

6 CONCLUSÃO..... 76

REFERÊNCIAS..... 77

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento sustentável de um país depende de vários fatores dentre os principais, segundo Braz Filho (2010) está uma política consistente em educação, ciência, tecnologia e inovação, tendo como base a preservação da natureza, a biodiversidade e a exploração racional de fontes naturais necessárias para alimentação, avanço social e econômico, o que poderá assegurar a manutenção da saúde e a cura de doenças.

Fitoquímica – a química de produtos naturais de vegetais – se dedica principalmente à caracterização estrutural, avaliação de propriedades e investigações biossintéticas de substâncias naturais produzidas pelo metabolismo secundário de organismos vivos, contribuindo para a divulgação e geração de novos conhecimentos e formação de recursos humanos qualificados para trabalhar com produtos naturais (BRAZ FILHO, 2010).

Embora a flora nacional seja estimada entre 40 a 55 mil espécies, das quais 10 mil podem ser consideradas medicinais, aromáticas e úteis, menos de 1% foram motivos de estudos adequados, além disso, uma grande quantidade de compostos das vias metabólicas secundárias das plantas medicinais já isolados e com estruturas químicas determinadas ainda não foram estudadas quanto às suas atividades biológicas (BANDEIRA et al., 2011 apud SHULTES, 1991; STARLING et al., 1999). A contínua ameaça à biodiversidade através da destruição de ecossistemas terrestres e marinhos leva à urgência de descobertas sobre esses recursos como fontes de novos agentes bioativos (CRAGG; NEWMAN, 2004).

Por isto, diversas áreas de estudo como a botânica, fitoquímica, bioquímica, farmacologia, imunologia, entre outras têm se empenhado para conhecer a composição química e identificar atividades biológicas das mais diversas plantas. Esses estudos contribuem para o desenvolvimento de novos fármacos que podem trazer inovação em tratamentos ou complementação de tratamentos já existentes, possibilitando menos efeitos adversos e/ou custos menores para a população (BARREIRO, 1990).

Dessa forma, esse trabalho pretende contribuir com o estudo fitoquímico e imunofarmacológico da *Sida santaremnensis* H. Monteiro, que é popularmente conhecida como vassourinha ou guanxuma, porém pouco conhecida no campo científico. Através de parcerias com demais pesquisadores pretende-se disponibilizar

frações, extratos e/ou substâncias puras para avaliar outros potenciais biológicos da espécie, destacando a atividade antitumoral.

Do ponto de vista ecológico, a descoberta de fármacos de origem vegetal é um forte argumento conservacionista, pois permite a valorização da economia da região e incentiva a população à preservação e uso adequado das espécies.

2 OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

- Contribuir com o estudo fitoquímico e farmacológico de *Sida santaremnensis,* uma espécie da família Malvaceae.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar levantamento bibliográfico sobre o gênero *Sida*;
- Isolar, purificar e determinar a estrutura de alguns constituintes químicos de *Sida santaremnensis*, através de métodos cromatográficos e espectroscópicos, respectivamente;
- Avaliar o efeito antiinflamatório do canferol 3-O-β-D-glicosil-6''-α-L-ramnosídeo;
- Quantificar os níveis de óxido nítrico em culturas celulares;
- Avaliar a atividade antitumoral dp o canferol 3-O-β-D-glicosil-6''-α-L-ramnosídeo
- Realizar a prospecção de patentes das substâncias isoladas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A FAMÍLIA MALVACEAE

3.1.1 Distribuição e aspectos botânicos

A família Malvaceae pertencente à ordem Malvales é constituída, de acordo com Stevens (2003), por 243 gêneros e 4225 espécies espalhadas em todo o mundo, principalmente na América do Sul. No Brasil, segundo Grings e Boldrini (2011), podem ser encontrar 68 gêneros distribuídos em todas as regiões, sendo que os gêneros mais representativos são *Pavonia, Abutilon, Sida e Hibiscus.*

Segundo Baracho (1998), as espécies dessa família se apresentam como ervas, subarbustos, arbustos e raramente árvores e são encontradas em todo o mundo. Suas folhas são alternadas, simples ou compostas (palmadas), com margens inteiras ou serrilhadas e com estípulas. O fruto é baciforme, capsular loculicida e esquizocárpico. As flores dessa família são grandes e vistosas, cíclicas, hermafroditas, com pétalas, geralmente, soldadas na base, androceu com muitos estames e anteras com uma única teca.

> O cálice é gamossépalo, pentalobado e de prefloração valvar e a corola é constituída de cinco pétalas livres entre si, diversamente coloridas e sempre adnatas à base do tubo estaminal. O androceu é formado por cinco-muitos estames monadelfos, sendo que o tubo estaminal pode apresentar a parte apical pentadenteada com partes livres de estames diversamente distribuídas por todo o tubo ou apresentar as partes livres de estames concentradas no ápice do tubo. As anteras são sempre monotecas e biesporangiadas, rimosas e reniformes, podendo variar quanto à coloração. No tocante ao gineceu, o ovário é súpero, constituído por cinco-muitos carpelos uni a pluriovulados, com estilete em número igual ao de carpelos ou em dobro deles e estigmas geralmente capitados (TAKEUCHI, 2011, p. 13).

Esta família apresenta grãos de pólen com ornamentação equinada, com as superfícies cobertos de espinhos que se apresentam bem desenvolvidos, mas que assumem formas variadas. Esses grãos são “esferoidais prolato-esferoidais, sendo 3- e 4-colporados para as espécies de *Abutilon* e *Bastardiopsis*, 4- e 5-colporados para *Malvastrum* e pantoporados para *Hibiscus, Pavonia, Peltaea* e *Sida*” (BARTH, 1975).

3.1.2 Aspectos quimiotaxonômicos, etnobotânicos e etonofarmacológicos da família Malvaceae

Alguns constituintes químicos foram encontrados em diversas espécies da família Malvaceae, dentre eles: ácidos graxos (Nakatani et al., 1986), esteroides (Costa et al 2007), terpenos (Ames e Macleod, 1990), ácidos fenólicos (Costa et al, 2007), flavonoides (Wollenweber et al., 1996), glicosídeos flavonoidicos (Nakatani et al, 1986; Silva et al, 2006), cumarinas (Silva, et al, 2006) e alcaloides (Guanatilaka et al., 1980).

Esta família apresenta grande importância econômica, destacando-se na alimentação do homem e de outros animais *(Abelmoschus, Hibiscus e Malva*), nas indústrias textil (*Gossypium*) e madereira (*Hampea, Hibiscus*) e na produção de óleos e de fibras utilizadas na cordoaria e na aniagem (*Abutilon, Sida, Urena*). Inclui também muitos representantes com potencial ornamental *(Abutilon, Hibiscus, Malvaviscus, Pavonia*), além de um número significativo de ervas daninhas especialmente dos gêneros *Herrisantia, Malvastrum e Sida.*

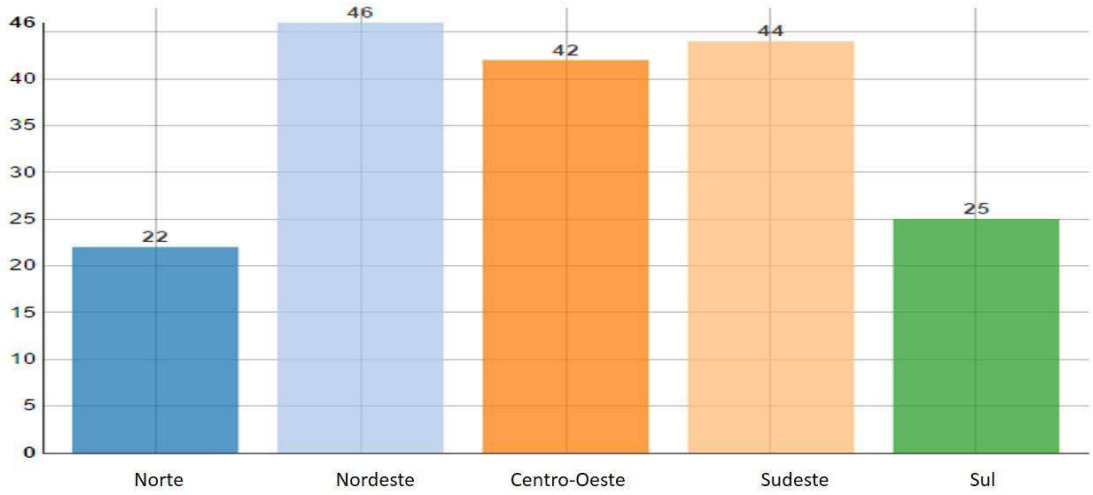
Relata-se, ainda, diversos usos de espécies da família Malvaceae sendo usada na medicina popular e com efeitos comprovados. Para o gênero *Hibiscus* foi relatado atividade antifúngica, hipocolesterolêmica, diurética, laxante, antibacteriana, anti-hipertensiva (Maganha, 2009; Wang, 1997). O gênero *Sida* tem uso atribuído a atividade hepatoprotetora (Wang et al, 1997), antioxidante (Jordan, et al, 2002), anti-hipertensiva, antimalárica (Singh, 2002; Adebayo; Krettli, 2011), antifúngica (Silva et al, 2002), anti-inflamatória (Lardos, 2006), diurética (Ferreira, 2009), já o gênero *Malvastrum* tem sido associado a importantes efeitos antiinflamatórios, antimicrobianos e inseticidas (CARNEIRO, et al, 2014).

3.2 GÊNERO *Sida*

3.2.1 Distribuiçãoe aspectos botânicos do gênero *Sida*

No mundo, são relatadas para o gênero *Sida,* cerca de 240 espécies. Dentre as quais 90 destas, de acordo com Brandão (2014), encontram-se no Brasil, distribuídas em todas as regiões do país, sendo mais abundante no Nordeste e Sudeste, conforme figura 1, p. 21 (BOVINI, 2016).

Figura 1 – Nomes aceitos de espécies do gênero Sida por região do Brasil



Fonte: BOVINI, 2016

Esse gênero pertence à família Malvaceae e à ordem Malvales, tendo sido descrito pela primeira vez por Linnaeus em 1753 como aquele que apresenta características de poliandria e ausência de epicálice. Suas espécies são representadas por ervas ou subarbustos, com folhas simples, alternadas e inteiras. Apresentam cálices reduzidos, carpídeos curto-aristados, reticulados ou ornamentados (FRYXELL, 1985)

O polimorfismo é algo que se destaca no gênero *Sida* e ele, de acordo com Bovini (2016) é a causa da dificuldade da delimitação taxonômica desse gênero. De forma geral as espécies desse gênero apresetam: “cálice 10-costados na base, carpídios reticulados nas faces laterais e dorso-basal, sendo geralmente indeiscentes na base e deiscentes ou indeiscentes no ápice e a presença de um óvulo pêndulo por lóculo, são importantes para identificar a espécie.

3.2.2 Aspectos quimiotaxonômicos, etnobotânicos e etonofarmacológicos do gênero *Sida*

Desde a década de 80 que vem sendo realizados estudos fitoquímicos com espécies de *Sida* e nestas têm-se encontrado no decorrer desses anos, metabólitos secundários do tipo: alcaloides, fenóis simples, terpenos e flavonoides (CAVALCANTE et al., 2010).

O gênero *Sida* é um dos maiores da família Malvaceae em número de espécies, as quais são consideradas ervas daninhas, sendo responsabilizadas por diversos prejuízos para a economia agrícola, uma vez que podem causar infestação de culturas (FERREIRA, et al, 1984).

Na medicina popular, diversas espécies desse gênero são conhecidas, como a *Sida acuta* com atividade antimalárica (ADEBAYO; KRETLI, 2011); a *Sida cordifolia* utilizada no tratamento de estomatites, bronquites e congestão nasal (FRANZOTTI, et al, 2000) e a *Sida galherensis*, que de acordo, com Castro e Cavalcante (2010) é utilizada na medicina popular em distúrbios de estômago, febre, tosses e dores nas articulações.

Das espécies de *Sida* já estudadas, muitas já demonstraram efeitos farmacológicos comprovados. Tais como:

A *Sida cordifolia* conhecida como malva branca e utilizada no tratamento de estomatites, bronquites e congestão nasal teve seu efeito anti-inflamatório comprovado em estudos realizados por Franzotti et al. (2000). Enquanto Nunes et al. (2006) comprovaram o efeito antimicrobiano no óleo essencial desta planta.

Sida glutinosa tem suas partes aéreas usadas na medicina popular no tratamento de tuberculose e reumatismo, e este efeito foi comprovado por estudos realizados por Chopra et al. (1992). Além disto, pesquisas exibiram significativo efeito antioxidante desta planta (DAS et al, 2012).

Da *Sida rhombifolia,* segundo Venkatesh et al (1999), utliza-se a raiz como tônica para cura de febres e inflamações. Estudos realizados por Venkatesh et al (1999) comprovaram seus efeitos antinociceptivos e antiiflamatórios.

3.2.3 Metabólitos secundários encontrados em *Sida*

3.2.3.1 Alcaloides

Os alcaloides são compostos orgânicos heterocíclicos de distribuição restrita na natureza, que possuem um ou mais nitrogênios em seu esqueleto carbônico e em pequenas quantidades demonstram atividade farmacológica significativa. Na medicina natural esses compostos estão relacionados a atividades anti-inflamatórias, hipotensora, analgésica, antineoplásica, entre outras (SIMÕES et al, 2010). Diversos estudos tem indicado alcaloides nas mais diferentes espécies de *Sida,* entre eles

Medeiros et al. (2006) que relacionaram a presença dos alcaloides da *Sida acuta* com atividade antimalárica, Dae et al. (2003) associou a presença desses constituintes na *Sida acuta* à inibição de lesões pré-neoplásicas. Sultradha et al. (2006) avaliou e comprovou efeito antiinflamatório e analgésico devido a presença de alcalóides em *Sida cordifolia.* Enquanto Chaves (2016) associou a presença de alcaloides de núcleo indoquinolínico isolados de *Sida rhombifolia* à atividade vasorrelaxante, o que pode justificar o uso popular desta espécie como hipotensora.

3.2.3.2 Flavonoides

Os flavonoides são um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados no reino vegetal. Eles estão presentes em frutas, vegetais, sementes, casca de árvores, raízes, talos e flores (COSTA, et al 2009). De acordo com Havsteen (1883), o termo flavonoide representa um grupo de polifenóis de baixo peso molecular, sintetizado a partir da combinação da via do ácido chiquímico com a via acetato, tendo como esqueleto dois anéis benzênicos ligados a um anel pirano (C6-C3-C6).

A presença de flavonoides nas espécies vegetais tem sido relacionada à defesa das mesmas contra raios ultravioletas, fungos e bactérias, além de servir como agente polinizante (GOLD e LISTER, 2006).

Ensaios laboratoriais realizado por Silva et al. (2006) relacionaram a presença de flavonoide com a ação sequestradora de radicais livres da espécie *Sida galheirensis* em seres humanos. Esses radicais livres causam alterações celulares. Dessa forma, o consumo de flavonoides por humanos tem sido de grande interesse, uma vez que, em pequenas quantidades podem prevenir doenças causadas por radicais livres (Noguchi e Niki, 2000). Araújo (2008) relaciona a presença de agentes sequestradores de radicais livres dos flavonoides com a longevidade e redução de doenças cardiovasculares. Esta classe de metabólitos é muito comum em Malvaceae (SILVA et al., 2005). Já foram isolados vários flavonoides do gênero *Sida* com potencial terapêutico, como exemplificado no quadro 1 e 2 a seguir.

Quadro 1 – Flavonoides isolados a partir de diferentes espécies de *Sida* e atividade biológica registrada na literatura.

Flavonoides	Espécie	Atividade Biológica	Referência
Rutina (3,3',4',5,7 – pentahidroxiflavona – 3- rutinosídeo)	*S. hermaphordita;*	Aumento da resistência e permeabilidade dos vasos capilares; Antioxidante; Anti-inflamatória; Antihiperlipidêmica; Anticonvulsivante Imunossupressora; Anticarciongênica	AFANAS'EV et al., 1989; GUARDIA et al., 2001. HAN, 2009; MACHADO, 2005; MIDDLETON et al., 2000; NASSIRI-ASL, SHARIATI-RAD, ZAMANSOLTANI, 2008; PATHAK et al., 1991.
Canferol (3,4',5,7 – tetrahidroxiflavona)	*S. ellioti;* *S. rhombifolia* *S. hirsuta* *S. spinosa*	Antibacteriana Anti-inflamatória; Anticoagulante; Anticancerígena; Anti-HIV (cultura de células C8166). Inibição do sistema complemento; Antidiarréica; Antiespasmódica; Antiúlcera	BISIGNANO et al., 2000; CAPASSO et al., 1991; CHANG et al., 1998 DELLA et al., 1988;; DIMAS et al., 2000 DI CARLO, 1999; JUNG et al., 1998; KATAOKA et al., 2001; LEE et al., 2005 MAHMOOD et al., 1996
Quercetina (3,5,7,3',4'- pentahidroxiflavona)	*S carpinifolia*	Antioxidante; Antiaterogênica; Antiinflamatória; Antianêmica; Anticancerígena; Antiangiogênica; Pro-oxidante; Antiviral; Anticoagulante; Antialérgica; Antidiabética; Antidiarréica; Antiespasmódica Antiúlcera	AHERNE;O'BRIEN, 1999; CHOI et al., 2001; CORVAZIER; MACLOUF, 1985; DI CARLO et al.., 1999 HAVSTEEN, 1983; HERTOG;HOLLAND, 1996 KIM et al.., 1998; KIM et al.L ., 2005; NOROOZI ET AL., 1998/ PARK ET AL., 2000 PIETTA, 2000; RICHTER et al.., 1999; SCAMBIA et al.1993; SEN et al.., 2005; SMITH et al.., 1992 TAN et al.., 2003. WEY et al.1994; XIAO et al.1998; YOSHIDA et al.., 1990;

Quadro 1 Continuação...

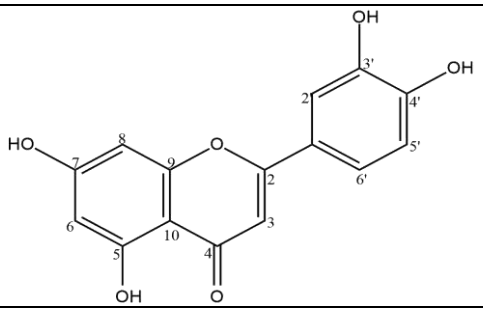
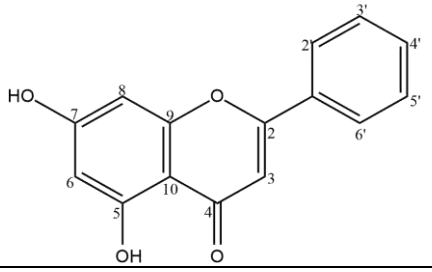
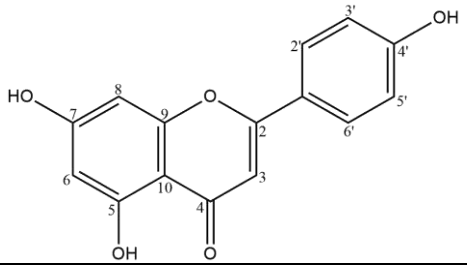
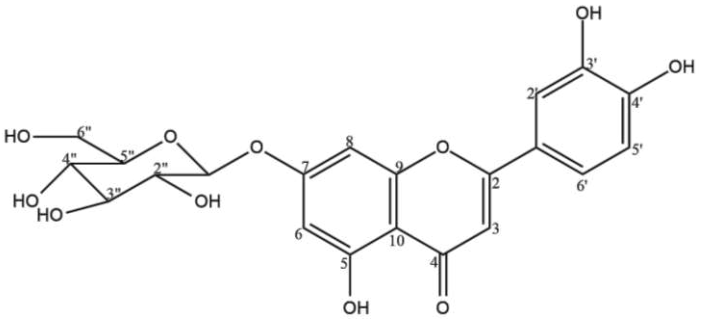
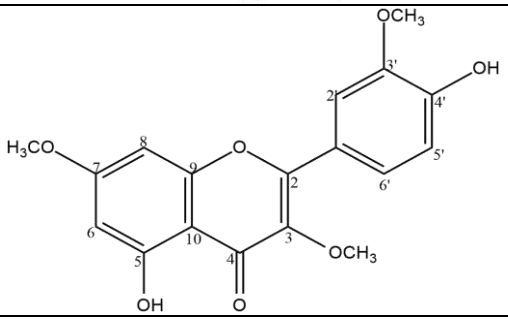
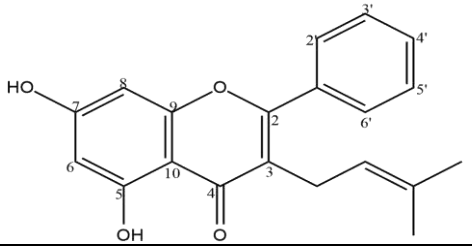
Isoquercitrina (quercetina-3-β-glucofuranosideo)	*S. hermaphrodita;*	Antidiabética Antibacteriana Anticancerígena	DI CARLO ET AL., 1999 KIM ET AL., 2004; WAAGE & HEDIN, 1984
Tirilosídeo (canferol - 3 -O-β-D (6-E-p-coumaroil) glicopiranosideo)	*S. galheirensis*	Antioxidante Bloqueadora – UV; Anti-inflamatória; Hepatoprotetora; Anticancerígena; Anti-HIV;	CHICARO ET AL., 2004; DIMAS ET AL., 2000; ESTEVES-SOUZA ET AL., 2002; JUNG ET AL., 1998; LEE ET AL., 2005 MAHMOOD ET AL., 1996 MATSUDA ET AL., 2002 SALA ET AL., 2003.
Luteolina (5,7,3',4'-tetrahidroxiflavona)	*S. galheirensis*	Antialérgica; Antiinflamatória; Antiedematogênica; Antioxidante; Antimutagênica; Antitumorigênica; Hipoglicemiante; Antibacteriana; Antifúngica;	CALIXTO et al., 2003; CASAGRANDE E et al.., 2001; CHOI et al.., 2007; KIM et al.., 1999 MATSUI et al.2002; MIYAZAWA, 2003; RAMOS et al.2010; RAUH, 2008; SARTORI et al.., 2003; SCHLEMPER et al.1998; UEDA et al.., 2002; XAGORARI et al.2001; ZHAO et al..,2002. ZHENG et al.. 2005;
Crisina (5,7-diidroxiflavona)	*S. cordifolia*	Inibição da aromatase; Neuroprotetora Anticancerígena; Ansiolítica; Antiinflamatoria; Antiespasmódica; Hepatoprotetora; Antioxidante.	DI CARLO et al.., 1999 JEONG et al.1999; MEHRI et al.., 2014; PALADINI et al.., 1999; SALGUEIRO et al.., 1997; SAMARGHANDIAN et al.., 2011
Apigenina (5,7,4' - triidroxiflavona)	*S. galheirensis*	Antiinflamatoria Atividade citotóxica; Ansiolítica Antiespasmódica.	ALONSO, 1998. HARBORNE & WILLIAMS, 2000; SONODA et al.., 2004; SILVA et al. (2006P
Cinarosídeo (luteolina-7-glicosideo)	*S. galheirensis*	Antioxidante; Inibição da biossíntese do colesterol; Antifúngica.	GEBHARDT, 1998; JIANG et al.., 2010; ZHU et al.2005.

Quadro 1. Continuação...

Pachypodol (5,4' - dihidroxi - 3,7,3'- trimetoxiflavona)	*S. galheirensis*	Anti-emética Inibição enzimática; Citotoxicidade; Antimicrobiana; Antimutagênica.	CITOGLOU ET AL., 2003; GONZALEZ ET AL, 2006; HUONG ET AL., 2005; MIYAZAWA ET AL., 2000. YANG ET AL., 1999;
5,7-dihidroxi-3-isoprenil-flavona	*S. cordifolia*	Analgésica; Anti-inflamatória.	SUTRADHAR ET L., 2008;
5- hidroxi- 3-isoprenil-flavona	*S. cordifolia*	Analgésica; Anti-inflamatória.	SUTRADHAR ET L., 2008;
Primuletina (5-hidroxiflavona)	*S. cordifolia*	Antioxidante; Regula a biodisponibilidade e toxicidade de uma variedade de metáis; Antimutagênica.	RESENDE ET AL., 2014. SATHISH, 2008;
Herbacetina (3,4',5,7,8 pentahidroxiflavona)	*S. hermaphrodita*	Antiinflamatória; Antioxidante; Antitumoral ; Tratamento de insuficiência renal	FLINIAUX et al. 2014. LI et al.., 2015; LONG, 2009; QUIAO et al.., 2013;
Quercimeritrina (quercetina-7-glucosídeo)	*S. hermaphrodita*	Antiinflamatória e Antioxidante	BAZYLKO et al.., 2012; SHIN et al.., 2010.

Quadro 2 – Estrutura química de flavonoides isolados a partir de diferentes espécies.

Rutina	
Canferol	
Isoquercetina	
Tirilosídeo	
Quercetina	

Luteolina	
Crisina	
Apigenina	
Cinarosídeo	
Pachypodol	
5,7-dihidroxi – 3-isoprenil-flavona	

5 - hidroxi – 3-isoprenil-flavona	
Primelutina	
Herbacetina	
Quercimeritrina	

3.2.3.3 Terpenos

Os terpenos representam uma classe diversa de metabólitos secundários de origem vegetal formada pela condensação de isopreno, através da via acetato-mevalonato. Os terpenos podem ser classificados como monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos e politerpenos. Sua presença nos vegetais está relacionada a atividade inseticida, protetora e de crescimento (SIMÕES, 1999).

Estudos realizados por Bueno-Sánchez, et al (2009) indicaram que os terpenos podem ter ação antimicrobiana no tratamento de tuberculose em seres

humanos. Chen et al. (2007) isolou a partir da *Sida acuta* diferentes tipos de terpenos e identificou efeitos significantes destes terpenos como antioxidantes.

3.2.3.5 Esteroides

Os esteroides apresentam em sua estrutura um núcleo ciclopentano peridrofenantreno, tendo sua síntese derivada do ácido mevalônico que se combina com o isopreno em sua forma ativa (ROBBERS et al, 1997).

Estes metabólitos exercem atividade biológica anti-inflamatória, anabolizante, cardiotônico, entre outras (SIMÕES et al, 2010).

Estudos realizados por Gomes et al (2011) identificaram uma: “mistura de esteróides (ß-sitosterol e estigmasterol) em *Sida sp.* Bortoluzzi et al. (1994) constataram a presença de vários constituintes químicos em *Sida rhombfolia,* dando maior destaque a esteróides e/ou triterpenos.

3.2.3.6 Fenóis simples

Os compostos fenólicos são encontrados abundantemente nos vegetais, eles caracterizam-se por apresentar um anel aromático ligado a uma hidroxila. Esses compostos podem ser encontrados em diversas partes dos vegetais, sendo abundantes em legumes, frutas, grãos, vegetais até no chocolate, vinho tinto, azeite de oliva, chá verde e café e sua biossíntese pode ser por várias rotas diferentes, sendo a principal a via chiquimato. A presença destes metabólitos nos vegetais está relacionada com defesa contra patógenos enquanto sua presença em seres humanos está relacionada com atividade sequestradora de radicais livres (TAIZ; ZEIGER, 2009; SIMÕES, 2010).

3.4 A ESPÉCIE *Sida santaremnensis* H. Monteiro

A *Sida santaremnensis* pertence a família Malvaceae e é popularmente conhecida como vassourinha ou guanxuma (Figura 2, p. 31). Esta espécie apresenta distribuição tropical sendo comumente encontrada no Brasil na região Nordeste e Sudeste. São plantas herbáceas, semi-arbustivas, consideradas plantas daninhas, com pouco valor comercial (ARIMÉN et al, 2007).

Figura 2:*Sida santaremnensis* H. Monteiro. Foto: Daniel Dias Rufino Arcanjo, abril de 2007, Parque Piauí - Teresina/PI.

.

A referida espécie não apresenta relatos de uso tradicional, contudo, estudos preliminares realizados com o seu extrato etanólico bruto (EEB), através de parcerias estabelecidas com pesquisadores da Universidade Federal do Piauí, indicaram atividade vasorelaxante (ARCANJO et al., 2011), antiulcerogênica (OLIVEIRA et al., 2008), antinociceptiva (MENDES et al., 2008) e antiedematogênica (MOURA, 2010).

Os constituintes químicos, descritos até o momento, para *Sida santaremnensis* corresponde a uma mistura de esteroides glicosilados, identificadas como sitosterol 3-*O*-β-*D*-glicopiranosídeo e o estigmasterol 3-*O*-β-*D*-glicopiranosídeo, isolados da fase hexânica (ASSIS, 2016). Além do canferol 3-O-β-D-glicosil-6''-α-L-ramnosídeo isolado da fase acetato de etila (MELO, 2013).

Estudos demonstraram que o β-sitosterol glicosilado possui atividade anti-inflamatória (BOUIC et al., 1999), o que pode justificar a atividade antiedematogênica observada nos ensaios realizados.

Baseado nas atividades farmacológicas evidenciadas e frente ao pouco estudo fitoquímico de *Sida santaremnensis*, torna-se evidente a necessidade de exploração científica da mesma, de modo a tornar possível a realização de estudos farmacológicos mais detalhados com seus metabólitos secundários para esclarecer melhor as ações apresentadas pelo extrato, se as mesmas devem-se à mistura de constituintes químicos existente ou as substâncias isoladas.

3.4 IMPORTÂNCIA DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS PARA SOCIEDADE

Os metabólitos secundários apresentam estrutura complexa, peso molecular geralmente baixo e atividades biológicas marcantes. A presença deles nos vegetais é responsável por diversas atividades benéficas, dentre elas: defesa contra-ataques de herbívoros, defesa de patógenos, elementos atrativos para polinização. Para os seres humanos, os metabólitos secundários são também de grande importância, pois exercem atividades anti-inflamatórias, analgésica, antioxidante, anticancerígena, antisséptica, cicatrizante, vasoconstrictora, entre outras. Por isso, a indústria farmacêutica tem investido cada vez mais na pesquisa de ações farmacológicas em vegetais (WORLD CANCER RESEARCH FUND, 2007).

No Brasil, a procura por fitoterápicos e plantas medicinais cresce de 10 a 15% ao ano, de acordo com o Ministério da Saúde. Sabe-se que 25% dos medicamentos prescritos no mundo são derivados de plantas e que 44% de todas as drogas novas têm alguma relação com plantas (SILVA et al,2003).

Além da indústria farmacêutica, o conhecimento sobre metabólitos secundários, tem sido alvo da indústria têxtil. A busca pelos chamados “materiais limpos” tem sido incessante pela indústria têxtil, uma vez que, a partir do uso de fibras naturais, haverá uma redução significativa da emissão de poluentes, além de possibilitar a reciclagem e facilitar o descarte (GUIMARÃES, ZONATTI, e BARUQUE-RAMOS, 2014).

Os metabólitos secundários também são utilizados pela indústria de cosméticos, podendo ser utilizados na produção de perfumes, hidratantes, rejuvenescedores ou para o tratamento de celulites (PINTO et al, 2012).

Na agricultura, a busca por metabólitos secundários que possam atuar como biopesticidas tem sido incessante, por serem menos nocivos e facilmente degradados (DELIA et al, 2013).

Diante do exposto, observa-se um crescente interesse dos pesquisadores em todo o mundo pelos compostos oriundos do metabolismo secundário, não só pelas atividades biológicas produzidas pelas plantas em resposta aos estímulos do meio ambiente, mas pela imensa atividade farmacológica que apresentam.

3.5 ESTUDO IMUNOFARMACOLÓGICO COM PRODUTOS NATURAIS

A resposta imunológica é mediada por células e moléculas no intuito de manter a homeostase dos organismos vertebrados (VON BURG, TURCHINOVICH, FINKE, 2015).

As reações do corpo humano contra o ataque de agentes patógenos são conhecidas como respostas imunes, que podem ser adaptativas ou inatas. A resposta imune adaptativa ocorre a partir da produção dos anticorpos contra um patógeno em particular. Já a resposta imune inata está sempre imediatamente disponível a combater uma grande diversidade de patógenos, entretanto não conduz a uma imunidade duradoura e não é específica para nenhum patógeno individual (MURPHY, TRAVERS, WALPORT,2010).

Para elaboração das respostas imunológicas o sistema imune se utiliza de diferentes populações celulares como as células epiteliais, fagócitos e linfócitos para desempenhar a função de combater e eliminar microrganismos (MARTIN et al, 2014).

Murphy, Travers e Walport (2010) explicam que os macrófagos têm papel fundamental na resposta imune ao produzirem e secretarem moléculas que podem atrair outras células para um local onde há uma reação inflamatória, regular o funcionamento de células envolvidas na resposta imune ou aumentar a produção de células que desempenham alguma função na resposta inflamatória.

Os macrófagos podem reconhecer englobar, digerir bactérias, fungos e outras partículas nocivas além de ativar linfócitos para amplificar o potencial de defesa do sistema. Assim, estudar os macrófagos implica em levantar informações cruciais sobre a resposta imune, bem como estudar compostos que interfiram na atividade de macrófagos pode nos levar a descoberta de novas substâncias com potencial anti-inflamatório (MARTIN et al., 2004).

Existem inúmeros estudos que buscam relacionar a ação de flavonoides sobre os macrófagos como anti-inflamatórios. Pesquisa realizada por Saldanha, do Carmo e do Nascimento (2016) comprovou que o extrato metanólico das folhas de *Byrsonima verbascifolia* (BVME) inibiu a produção de NO por macrófagos induzida por lipopolissacarídeo. Essa inibição, de acordo com os autores está relacionada com uma combinação de compostos presentes em *B. verbascifolia*, incluindo catequinas (procianidinas), flavonóides e glicosideos de triterpeno. Essas ações anti-

inflamatórias devem ser mediadas, pelo menos em parte, através a inibição da produção de NO.

Hoi et al (2016) isolou a partir da *Anoectochilus annamensi* um flavonoide biglicosilado 4',5-diidroxi-3,3',7-trimetoxiflavona 4'-O-α-L-ramnopiranosil-(1 → 6)-β-D-glicopiranosideo e testou o efeito antiinflamatório dele a partir da produção induzida por LPS. Os testes comprovaram efeito anti-inflamatório desse flavonoide a partir da inibição do óxido nítrico.

Elisha et al (2016) associaram a capacidade de eliminação de radicais livres dos extratos ricos em flavonoide com um potencial de reforço imunitário, isso porque os flavonoides podem interferir nas diferentes fases da cascata do ácido araquidônico nas vias da ciclooxigenase ou lipoxigenase, afim de aliviar as respostas inflamatórias.

Nesta perspectiva, os produtos naturais despontam como fontes inesgotáveis de compostos bioativos incluindo aqueles com potencial de modular a resposta imunológica como alcaloides e flavonoides (BEZERRA-SANTOS et al, 2012; SALEH et al, 2014).

3.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL COM PRODUTOS NATURAIS

Os tumores malignos são responsáveis por um número expressivo e crescente de pacientes em todo o mundo, e representam a segunda causa de morte da população mundial (SRIVASTAVA, 2005).

A história dos medicamentos anticâncer está intimamente relacionada aos produtos naturais, sendo que mais de 60% dos medicamentos utilizados tem em alguma instância sua origem relacionada a uma fonte natural (COSTA-LOTUFO, et al 2010). Dentre estes se destacam a vimblastina (1, Velban®) e a vincristina (2, Oncovin®) e os análogos vindesina (3, Eldisine®) e vinorelbina (4, Navelbine®); o paclitaxel (5, Taxol®) e o análogo docetaxel (6, Taxotere®); a podofilotoxina (7) e os análogos, etoposídeo (8, Etopophos®) e teniposídeo (9, Vumon®); e a camptotecina (10) e os análogos, topotecano (11, Hycamtin®) e irinotecano (12, Camptosar®) (PINTO, et al, 2002)

Apesar da introdução de novos fármacos no arsenal terapêutico do câncer, vários tumores ainda não dispõem de tratamento adequado. As fontes naturais ainda estão disponíveis em abundância e oferecem as melhores possibilidades de

encontrar substâncias de interesse terapêutico. Portanto, torna-se imperativo a necessidade de encontrar, desenvolver, e introduzir no arsenal médico, modalidades terapêuticas mais eficientes que possam oferecer ao número crescente de pacientes com doenças malignas disseminadas, oportunidades reais de controle das células neoplásicas (COSTA-LOTUFO, et al 2010).

Uma das técnicas preliminares empregadas atualmente no estudo de atividade antitumoral de produtos sintéticos e naturais é o screening sob células tumorais de diversas linhagens in vitro, o que possibilita a análise de grande número de amostras simultaneamente, representando a metodologia mais simples comparativamente aos ensaios in vivo, sendo realizado em vários laboratórios em todo o mundo (NEIDLE et al, 2005). Os métodos colorimétricos que quantificam a proliferação celular de células em cultura são considerados rápidos e baratos para a avaliação de atividade antitumoral de um vasto número de extratos de produtos naturais, permitindo facilmente guiar o isolamento e purificação de seus produtos ativos (BETANCUR-GAVIS et al, 1999).

Um dos ensaios colorimétricos para a avaliação de proliferação celular ou citotoxidade (IC50) mais comumente utilizados na atualidade é o ensaio de MTT descrito por Mosmann (1983). Este ensaio baseia-se na medida do dano induzido pela droga no metabolismo celular de glicídeos usualmente através da atividade de desidrogenases. Desta forma esta reação ocorre somente em células vivas e que estejam com suas mitocôndrias ativas, configurando-se assim um ensaio versátil e quantitativo que é medido espectrofotometricamente (MOSMANN, 1983).

4 EXPERIMENTAL

4.1 ESTUDO FITOQUÍMICO

4.1.1 Materiais

4.1.1.1 – Extrativo

O extrato etanólico bruto (EEB) de *Sida santaremnensis* foi obtido através de maceração. As frações foram preparadas utilizando solventes analiticamente puros, da marca Impex®, sendo utilizado principalmente metanol, clorofórmio e hexano.

As soluções extrativas e frações foram concentradas em evaporador rotativo da marca Quimio® acoplado a bomba de vácuo, sob temperatura entre 40 e 60ºC à pressão reduzida.

Para dissolução foi utilizada a chapa aquecedora da marca Thelga®, com modelo TMA10CF. A pesagem das amostras foi realizada em uma balança analítica Bioprecisa®, modelo FA-2104N.

4.1.1.2 Cromatográficos

Para as cromatografias em coluna utilizou-se como fase fixa sephadex LH-20, tendo como suporte colunas de vidro da marca Vidrolabor® com volume de 25 mL. Como fase móvel utilizou-se o metanol. O monitoramento das frações foi realizado por Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) da Silicycle TLC – Aluminum F254.

As substâncias em análise foram visualizadas pelo uso de uma câmera escura ultravioleta (UV), marca Marconi, modelo MA 544, sob os comprimentos de onda de 254 e 366 nm, bem como pela impregnação das placas em cubas de vidro saturadas por vapores de iodo. A pureza da amostra foi determinada quando observou-se uma única mancha após eluição das placas analíticas em no mínimo três sistemas de eluentes diferentes, além dos espectros.

4.1.1.3 Métodos Espectroscópicos

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de RMN ^{1}H e ^{13}C para caracterização estrutural dos metabólitos secundários isolados foram obtidos na

Universidade Federal da Paraíba (UFPB) em colaboração com a Professora Dr.ª Maria de Fátima Vanderlei de Souza e Vicente Carlos de Oliveira Costa. Utilizou-se, para tanto, um espectrômetro da marca MERCURY-VARIAN operando a 500 MHz (^{1}H) e 125 MHz (^{13}C), otimizados para as técnicas uni e bidimensionais. O solvente deuterado utilizado foi o metanol (CD_3OD).

4.1.2 Métodos

4.1.2.1 Levantamento bibliográfico

Durante o desenvolvimento da pesquisa, foi feita a atualização bibliográfica contínua sobre o gênero e a família da espécie estudada no *Chemical Abstract*, *Biological Abstracts, NAPRALERT e Web of Science*, com a constante coleta de informações, visando a implementação de novas ideias e conhecimentos atualizados.

4.1.2.2 - Coleta do material botânico

A planta total foi coletada no Parque Piauí (Teresina-PI) em abril de 2007. Sua identificação botânica foi realizada pela botânica Prof.ª Dr.ª Gardene Maria de Sousa, sendo uma exsicata depositada no herbário Graziella Barroso, sob o código 21867.

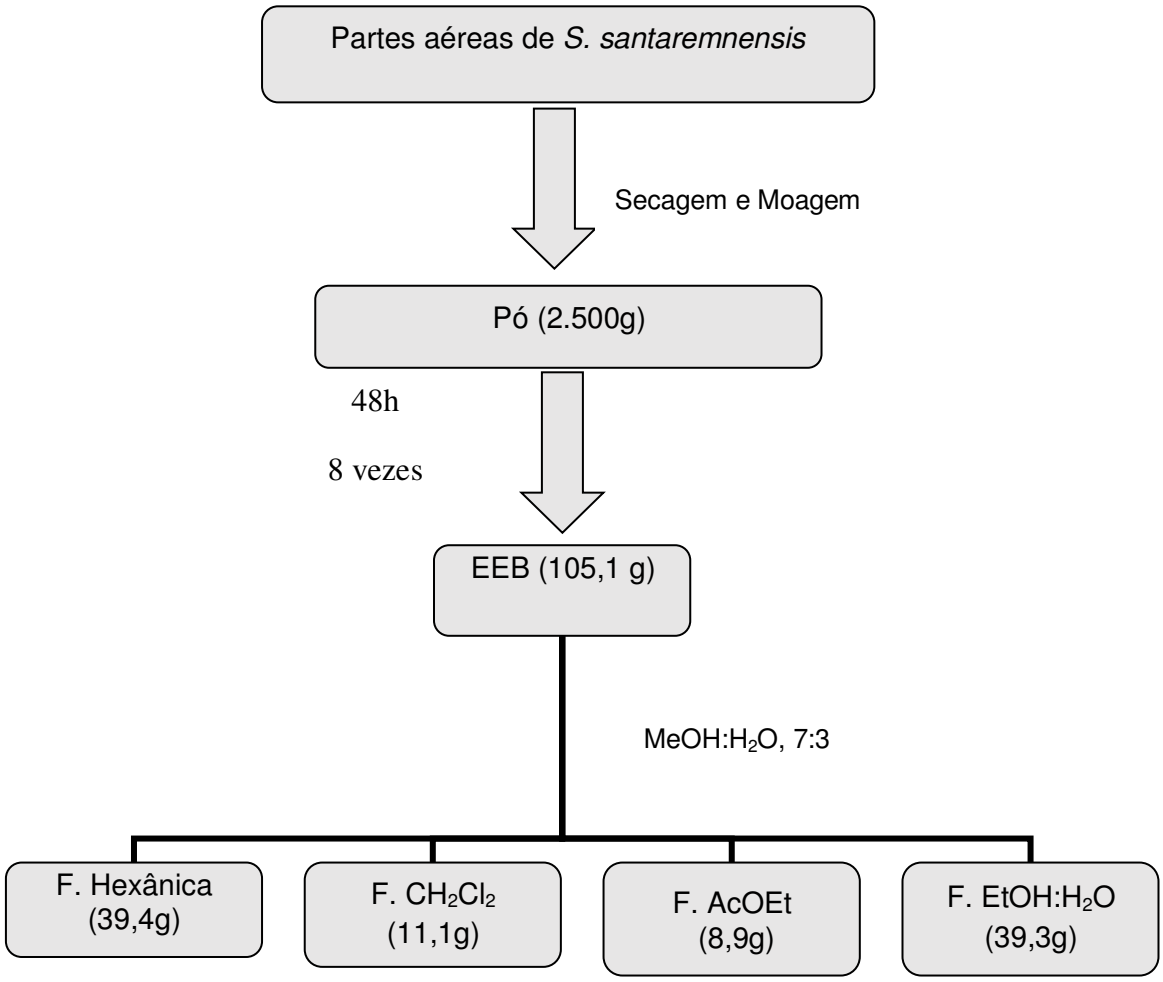
4.1.2.3 Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto de Sida santaremnensis

O material coletado foi desidratado ao ar livre em temperatura ambiente por 30 dias e posteriormente triturado em moinho mecânico, fornecendo 2.500 g de pó da planta (Esquema 1, p 38). Esse, por sua vez, foi submetido à maceração por um período de 48h em etanol 96%, sendo este processo repetido 8 vezes. Após filtração e concentração da solução extrativa em evaporador rotativo, o material foi colocado em liofilizador para total eliminação da água. O EEB resultante (105,1g) foi dissolvido em uma solução hidroetanólica ($MeOH:H_2O$, 7:3), e submetida ao particionamento com solventes em gradiente crescente de polaridade, utilizando-se o hexano, o diclorometano (CH_2Cl_2) e acetato de etila (AcOEt), que após concentrados em evaporador rotativo, resultaram nas respectivas fases: hexânica (39,4g),

diclorometânica (11,1g), acetato de etila (8,9g) e hidroetanólica (39,3g), Esquema 1, p.38

Como o estudo fitoquímico de uma planta demanda tempo, neste trabalho, foi priorizado o estudo da fase acetato de etila, por ter apresentado durante a triagem fitoquímica previamente realizada, a presença de flavonoides.

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



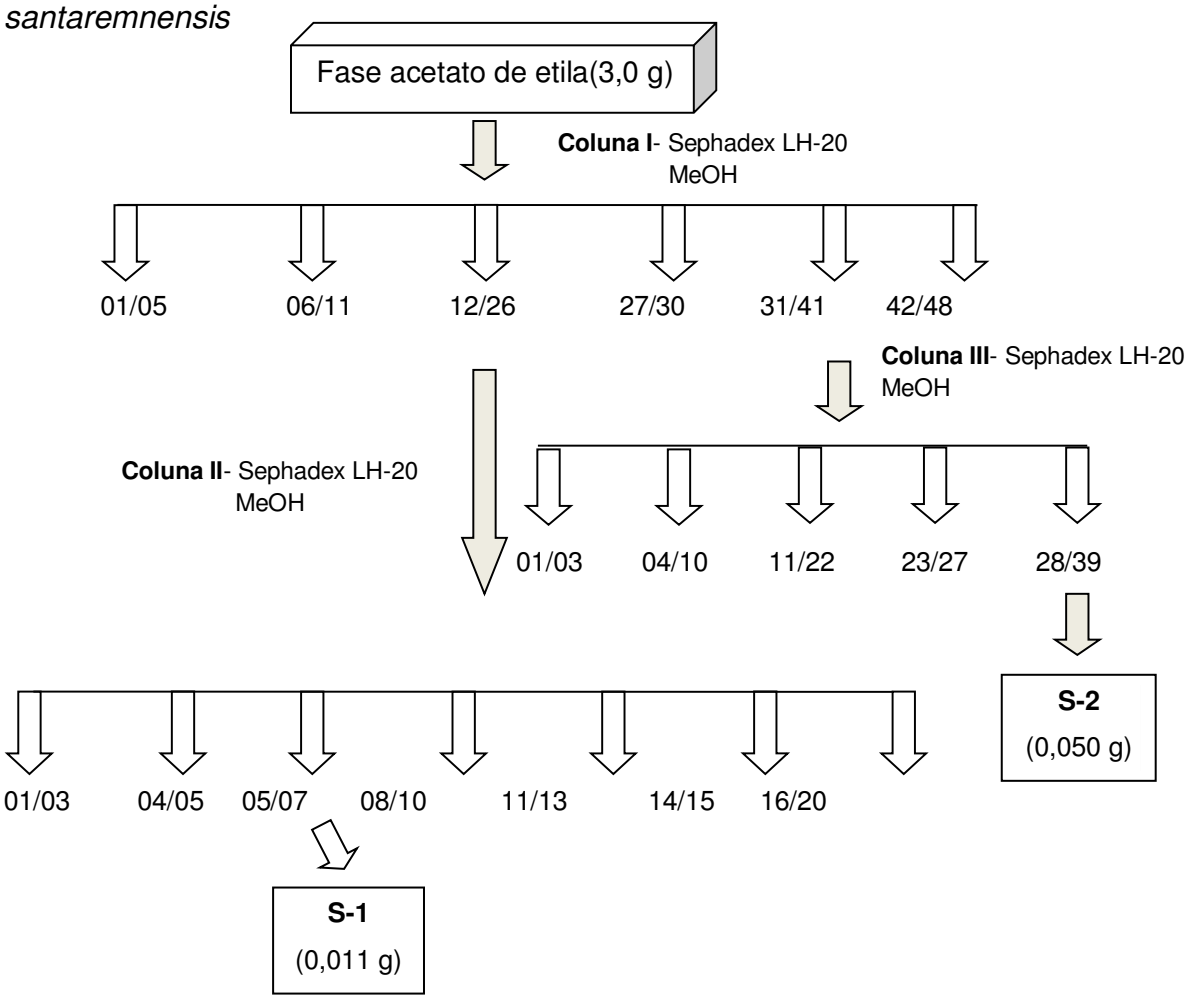
4.1.2.4 Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila de Sida santareminensis

Uma alíquota da fase acetato de etila (3,0g) foi submetida à cromatografia em coluna de sephadex LH-20 e eluída com metanol fornecendo 48 frações de 5 mL (Coluna I). Em seguida, estas foram analisadas por CCDA, reveladas em vapores de iodo e reunidas de acordo com seus fatores de retenção (Rf´s), obtendo-se seis grupos de frações conforme apresentado no esquema 2 (p. 40).

A sub-fração 12/26, resultante da coluna I, posteriormente foi recromatografada (Coluna II) nas mesmas condições anteriores, resultando em 20 frações, que depois de comparadas e reunidas de forma semelhante à anterior resultaram em sete grupos. A subfração 05/07 resultante da coluna II apresentou-se pura sendo codificada como S-1 (0,011 g) e encaminhada para obtenção dos espectros de RMN ^{1}H e ^{13}C (Esquema 2, p.40).

Dando continuidade ao processo cromatográfico, a fração 31/41 resultante da coluna I (Esquema 2, p.38) foi recromatografada fornecendo 39 frações de 5mL (Coluna III). Após analisadas por CCDA e Rf's foram reunidas em cinco grupos. A sub-fração 28/39 mostrou-se pura, sendo codificada como S-2 (0,050 g), (Esquema 2, p.40). Semelhante a S-1, esta fração também foi enviada para obtenção dos espectros de RMN ^{1}H e ^{13}C.

Esquema 2 – Processamento cromatográfico da fase acetato de etila de *Sida santaremnensis*



4.2 ESTUDO IMUNOLÓGICO

4.2.1 Materiais

4.2.1.1 Animais

Foram utilizados camundongos fêmeas da raça *swiss* com 6 a 8 semanas de idade. Todos os animais foram fornecidos pelo biotério Thomas George da Universidade Federal da Paraíba, Campus I, João Pessoa.

Todos os protocolos envolvendo a utilização de animais realizados neste trabalho seguiram as recomendações do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) e foram aprovados de acordo com a certidão CEUA n. 036-2015.

4.2.2 Métodos

4.2.2.1 Cultura de macrófagos peritoneais

Camundongos da raça *swiss* foram estimulados com 2 mL de tioglicolato (4%) na cavidade peritoneal. Após 4 dias, os animais foram eutanasiados para obtenção dos macrófagos peritoneais. Para tanto, 10 mL da solução de PBS estéril suplementada com 3% de soro fetal bovino (SBF) foi injetada na cavidade peritoneal e o lavado peritoneal foi coletado.

As suspensões celulares foram centrifugadas a 1200 rpm a 4ºC por 10 minutos e ressuspendidas em 1 mL de meio RPMI completo (RPMI + 10% SBF, 100 U.I. de penincilina e 100 µg/mL de estreptomicina) e a viabilidade celular determinada utilizando o corante Azul de Trypan. As células foram ressuspensas na concentração de 4 x 10^5 células/mL de meio RPMI completo e distribuídas em poços de placa de 96 poços (200 µL/poço) (Davies, Gordon, 2005; Vasconcelos et al, 2012). Em seguida, as células foram cultivadas por 24 horas, na presença ou na ausência de 1µg/Ml lipopolissacarídeo (LPS), seguida da adição ou não de diferentes concentrações da substância S-2. Após 24 horas de incubação foi realizada a análise da viabilidade celular (VANCONCELOS et al, 2012).

A avaliação imunofarmacológica foi realizada apenas com a substância codificada como S-2, pois a S-1 apresentou baixo rendimento.

4.2.2.2 Determinação da viabilidade

A viabilidade celular foi determinada pelo uso do brometo de 3-metil-[4-5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio (MTT). Neste método, o MTT é reduzido por desidrogenases mitocondriais em células metabolicamente ativas formando o cristal de formazan um produto de cor roxa solúvel em DMSO (REILLY et al., 1998).

Às células foram adicionados 90 µL de meio RPMI completo e 10 µL de uma suspensão de MTT a 5 mg/mL. Essas suspensões celulares foram incubadas por 4 horas à temperatura de 37°C e 5% de CO_2. Após esse período, o sobrenadante foi removido e 100 µL de DMSO foram adicionados em cada poço para dissolver os cristais de formazan formados.

A viabilidade celular foi quantificada pela medida da densidade óptica no comprimento de onda de 570 nm, determinada por um leitor de microplacas (Spectramax 190 – Molecular Device). A média dos valores das absorbâncias obtidas nas células não tratadas foi considerada como 100% de viabilidade (MOSMANN, 1983; WILSON, 2000).

4.2.2.3 Determinação dos níveis de óxido nítrico (NO)

A produção de NO foi avaliada *in vitro* pela dosagem do seu produto de degradação mais estável, o nitrito, pelo método colorimétrico indireto conhecido como reação de Griess (GREEN et al., 1982). Neste método, o nitrito reage com a sulfanilamida em meio ácido para formar um composto intermediário, o sal de diazônio. Em seguida, este sal reage com *N*-naftil-etilenodiamina (NED) formando um composto azo estável de coloração púrpura, podendo assim ser analisado em espectrofotômetro em comprimento de onda de 540 nm.

Foram adicionados 100 µL de reagente de Griess a 100 µL dos sobrenadantes obtidos da cultura com macrófagos peritoneais murino. Esse reagente é constituído pela mistura de duas soluções A e B na proporção 1:1, que foram preparadas imediatamente antes do uso. A solução A é constituída por: naftiletilenodiamino 0,1% (p/v) em ácido orto-fosfórico 5% (v/v) e a solução B por sulfonamina p-aminobenzeno 1% (p/v) em ácido fosfórico 5% (v/v). Após reagir por 10 minutos a temperatura ambiente, foi realizada a leitura utilizando filtro de 540 nm em leitor de microplaca (Spectramax 190 – Molecular Device). Os resultados em µMforam determinados pela comparação com a curva padrão (realizada com nitrito de sódio nas concentrações de 200; 100; 50; 25; 12,5; 6.25; 3,125 e 1,5 µM).

4.2.2.4 Análise estatística

Os dados obtidos neste trabalho foram analisados utilizando-se o teste t de Student, ANOVA seguido pelo teste de Tukey pós-ensaio utilizando o software GraphPadPrism 5.0 (GraphPad, San Diego, CA). Os valores foram expressos como média ± erro padrão da média (S.E.M.), e os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

4.3 DISPONIBILIZAÇÃO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL

Das substâncias isoladas, apenas a S-2, como já mencionado anteriormente, apresentou quantidade suficiente para avaliação da atividade antitumoral em ensaios farmacológicos pré-clínicos, através de parceria estabelecida com o pesquisador Prof. Dr. Juan Carlos Ramos Gonçalves, da Universidade Federal do Piauí. Para isso, foi realizado o cultivo celular com células da linhagem HL-60 (leucemia promielocítica humana) que foram obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ, Brasil) e cultivadas em frascos de cultivo celular contendo meio RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, EUA), suplementados com 10% de SBF (soro bovino fetal) e 1 % de antibióticos (penicilina/estreptomicina). As células foram mantidas em incubadora com 5% de CO_2 a 37 ºC, e os meios de cultura trocados a cada 48 horas. Estoques de cada linhagem foram congelados em nitrogênio (N_2) líquido. Todos os procedimentos de cultivo celular foram realizados em ambiente estéril, no interior de capela de fluxo laminar. Antes da realização dos experimentos, as células foram contadas em câmara de Neubauer e a viabilidade determinada utilizando-se o reagente Azul de Tripan. As células foram plaqueadas para experimentação apenas quando a viabilidade se encontrava acima de 90% (COULIDIATI et al., 2015).

Após o cultivo de células foram realizados ensaios *in vitro* de atividade antitumoral por redução de MTT, para tanto, as células foram incubadas com concentrações variadas das drogas testadas (5, 50 e 500 µg/mL), em placas de 96 poços por 24 h, a 37ºC com 5% de CO_2, na densidade de 5 x 10^4 células/poço. Em seguida, o sobrenadante foi parcialmente removido, seguido da adição do MTT (5 mg/mL em PBS) (m/v). Após um período de 4 h, adicionou-se DMSO em cada poço e em seguida colocou-se a placa sob agitação por 30 min. Após o período, as placas foram lidas em espectrofotômetro do tipo ELISA, a 570 nm (GONÇALVES et al., 2016).

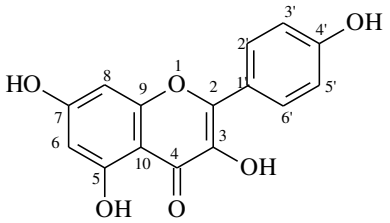
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DA SUBSTÂNCIA S-1

A substância codificada como S-1 apresentou-se na forma de um pó amarelo, com ponto de fusão 266,8 ºC. Em seus espectros de RMN ^{1}H (Figuras 4 e 5, p 50 e 51) apresentou apenas sinais para hidrogênios aromáticos, o que levou a sugerir que esta substância possui um núcleo flavonoídico, uma vez que os flavonoides são substâncias comuns em Malvaceae (SILVA et al., 2005).

Esta proposta foi fortalecida pelas absorções em δ_H 6,17 (*d*, 1H, *J* = 2,0 Hz) e δ_H 6,39 (*d*, 1H, *J* = 2,0 Hz), mostrando acoplamento meta, atribuídos aos hidrogênios 6 e 8, respectivamente, comum em flavonoides com substituintes nos carbonos 5 e 7 (HARBONE, 1994). Outros dois dupletos em δ_H 6,89 (2H, *J* = 9,0 Hz) e δ_H 8,08 (2H, *J* = 9,0 Hz), acoplando orto, indicaram a presença de um sistema AA'BB' (SILVERSTEIN & WEBSTER, 2000), permitindo assim sugerir para S-1 um esqueleto flavonoídico com anel B *p*-substituído. A ausência de absorção para um singleto entre δ_H 6,39 – 6,94 atribuído ao hidrogênio 3 de núcleo não substituído em C-3, além da não existência de absorções para unidade (s) osídica(s) ou outros grupos como metoxila, acetato, etc, nos levou a sugerir que S-1 possui um padrão de substituição do tipo 3,5,7,4', onde todos os substituintes são hidroxilas (Figura 3, p.46; Tabelas 1, p.48.).

Figura3: Proposta estrutural para S-1



O espectro de RMN ^{13}C unidimensional (Figura 6, p. 50) mostrou absorções que favoreceram sugestões feitas pelo RMN ^{1}H (Figura, 5 p. 49), tais como a presença de um sistema AA'BB', que é fortalecida pelas absorções exibidas em δ_C 116,28 e δ_C 130,68, referentes aos carbonos metínicos 3',5' e 2',6', respectivamente.

No espectro RMN ^{13}C percebe-se 11 sinais para carbonos condizentes a 13 carbonos, os C-4 e C-6 não foram visíveis pelo fato da substância ter sido obtida em pequena quantidade e o tempo de processamento ter sido de apenas 35 minutos.

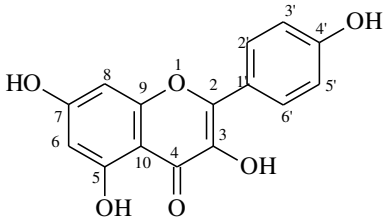
Contudo, os sinais apresentados pelo espectro de hidrogênio apresentando um sistema AA'BB' típico de anel B de flavonoide e um padrão de substituição 5,7-dioxigenado proposto para o anel A, não deixam dúvida que a substância em questão se trata da 3,5,7,4' tetrahidroxiflavona, conhecida como canferol. Esta proposta pôde ser corroborada através da comparação com dados da literatura, segundo mostra a tabela 2, p.47.

Esta substância já foi descrita para outras espécies de Malvaceae, a exemplo de *Herissantia crispa* (COSTA et al., 2009) e *Pavonia malacophylla* (Link e Otto) Garcke (CHAVES, 2016), contudo está sendo descrita pela primeira vez em *Sida santaremnensis.* No gênero *Sida,* o canferol já foi isolado nas espécies *Sida ellioti, Sida rhombifolia, Sida hirsuta e Sida spinosa* e as atividades farmacológicas relatadas na literatura para este constituinte químico são diversas, destacando-se antibacteriana, anti-inflamatória, anticoagulante; anticancerígena; anti-HIV (cultura de células C8166), inibição do sistema complemento, antidiarreica, antiespasmódica e antiulcerogênica (BISIGNANO et al., 2000; CAPASSO et al., 1991; CHANG et al., 1998; DELLA et al., 1988;; DIMAS et al., 2000; DI CARLO, 1999; JUNG et al., 1998; KATAOKA et al., 2001; LEE et al., 2005;MAHMOOD et al., 1996).

Os registros da literatura demonstram que a presença deste constituinte na forma glicosilada é bastante frequente em Malvaceae. Pode-se destacar como exemplos o canferol 3-*O*-β-D-(6''-*E*-p-cumaroil) glicosídeo (tilirosídeo), isolado de espécies dos gêneros *Sida* (SILVA et al., 2006)*, Herissantia* (COSTA et al., 2009; SILVA et al., 2005)*, Backeridesia* (COSTA et al., 2007)*, Wissadula* (GOMES et al., 2011A), *Sidastrum* (CAVALCANTE et al., 2010; GOMES et al., 2011B), *Pavonia* (CASEMIRO-JUNIOR et al., 2013; MAZZOTTI et al., 2015), *Waltheria* (ROLIM, 2015); e a lespedina (canferol - 3,7-di-*O*-α-L-ramnopiranosideo) isolada do gênero *Herissantia* (COSTA et al., 2009; SILVA et al., 2005).

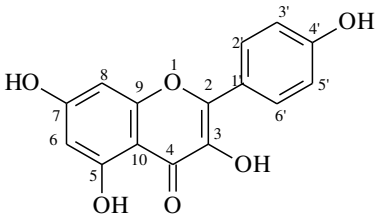
.

Tabela 1. Dados espectrais de RMN ^{1}H e ^{13}C (δ, CD_3OD, 200 e 50 MHz) da substância S-1.



Nº	H	C
2	-	148,0
3	-	137,1
4	-	
5	-	164,3
6	6,17 (*d*, 1H, *J*=2 Hz)	
7	-	165,7
8	6,39 (*d,* 1H, *J*=2 Hz))	94,5
9	-	158,3
10	-	104,5
1'	-	123,7
2',6'	8,08 (*d,* 2H, *J*=9,0 Hz)	130,7
3',5'	6,89 (*d,* 2H, *J*=9,0 Hz)	116,3
4'	-	160,6

Tabela 2 - Dados comparativos de RMN ^{1}H e ^{13}C de S-1 (δ, CD_3OD, 50 MHz) com Mo-1 (δ, CD_3OD, 200 e 50 MHz) da literatura (COSTA, 2006).



	S-1		Mo-1	
C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C
2	-	148,0	-	148,0
3	-	137,1	-	137,2
4	-	-	-	177,4
5	-	164,3	-	162,5
6	6,17 (*d*, 1H, *J*=2 Hz)	-	6,16 (*d*, 1H, *J* = 1,9 Hz)	99,2
7	-	165,7	-	165,6
8	6,39 (*d,* 1H, *J*=2 Hz)	94,5	6,37 (*d*, 1H, *J* = 1,9 Hz)	94,5
9	-	158,3	-	158,2
10	-	104,5	-	104,5
1'	-	123,7	-	123,7
2',6'	8,08 (*d,* 2H, *J*=9,0 Hz)	130,7	8,07 (*d,* 2H, *J* = 8,8 Hz)	130,7
3',5'	6,89 (*d,* 2H, *J*=9,0 Hz)	116,3	6,89 (*d,*2H, *J* = 8,8 Hz)	116,3
4'	-	160,6	-	160,5

Figura 4 Espectro de RMN ^{1}H (δ, CD_3OD, 200 MHz) de S-1

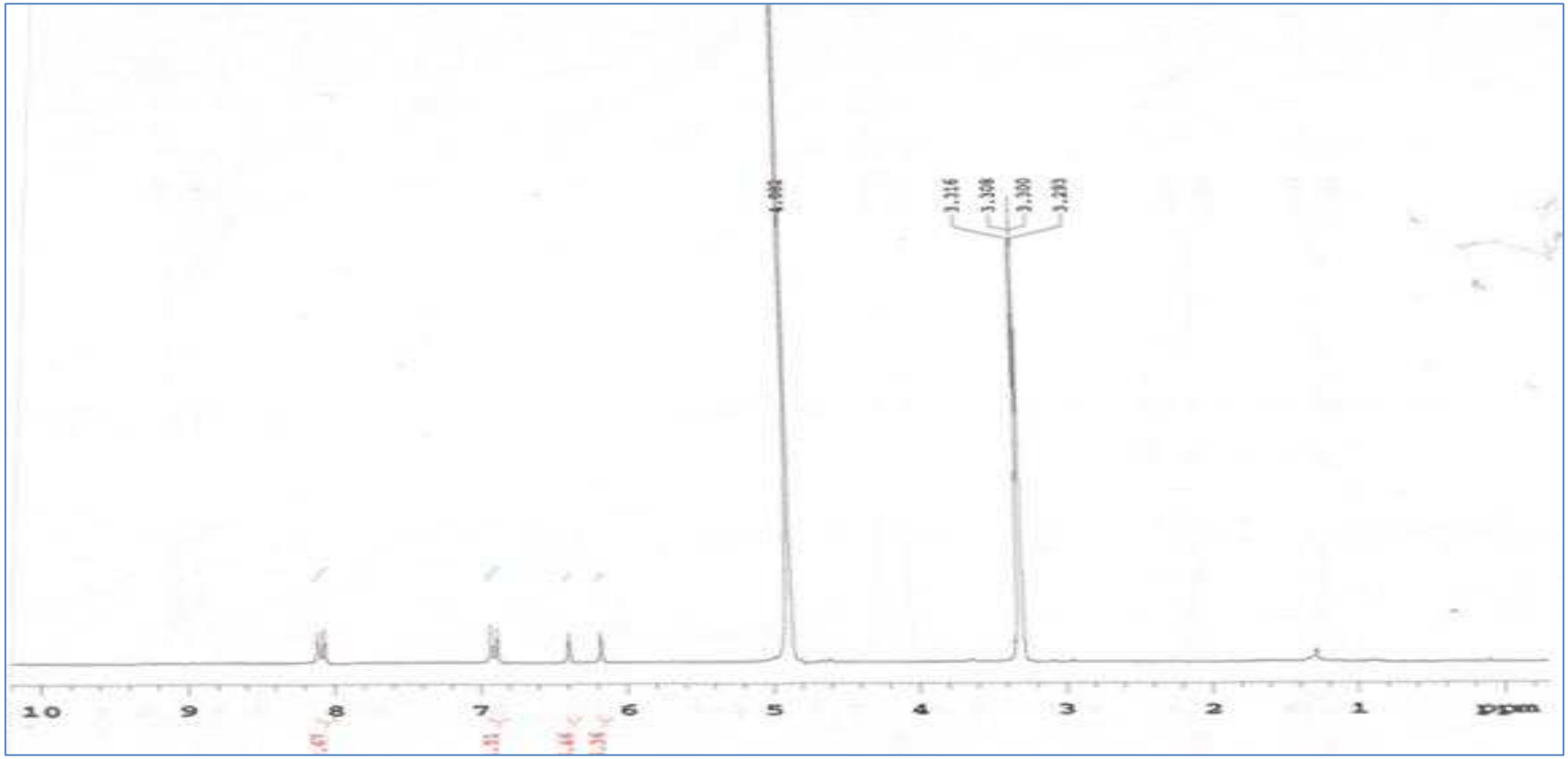


Figura 5 Expansão do espectro de RMN ^{1}H (δ, CD_3OD, 200 MHz) de S-1

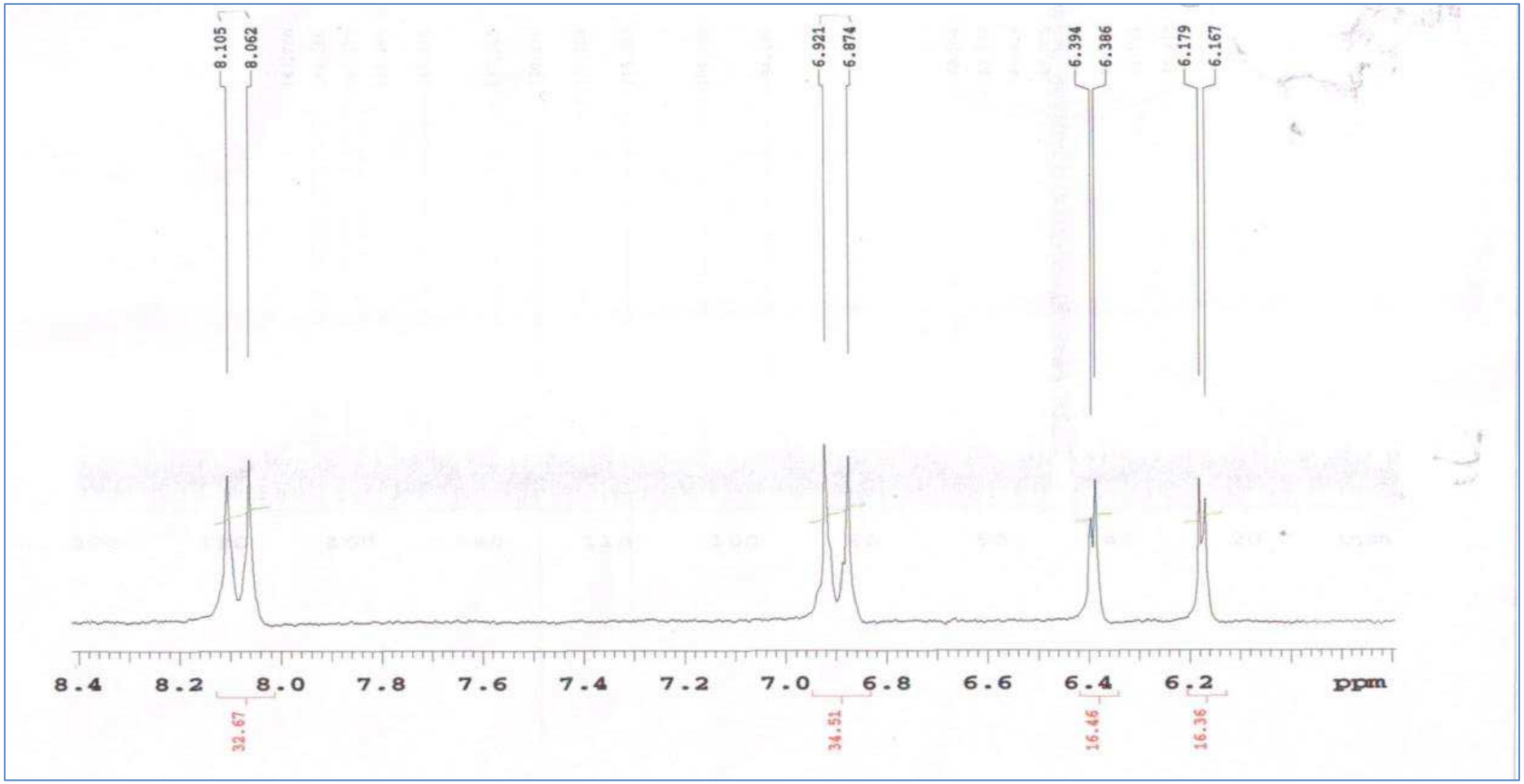
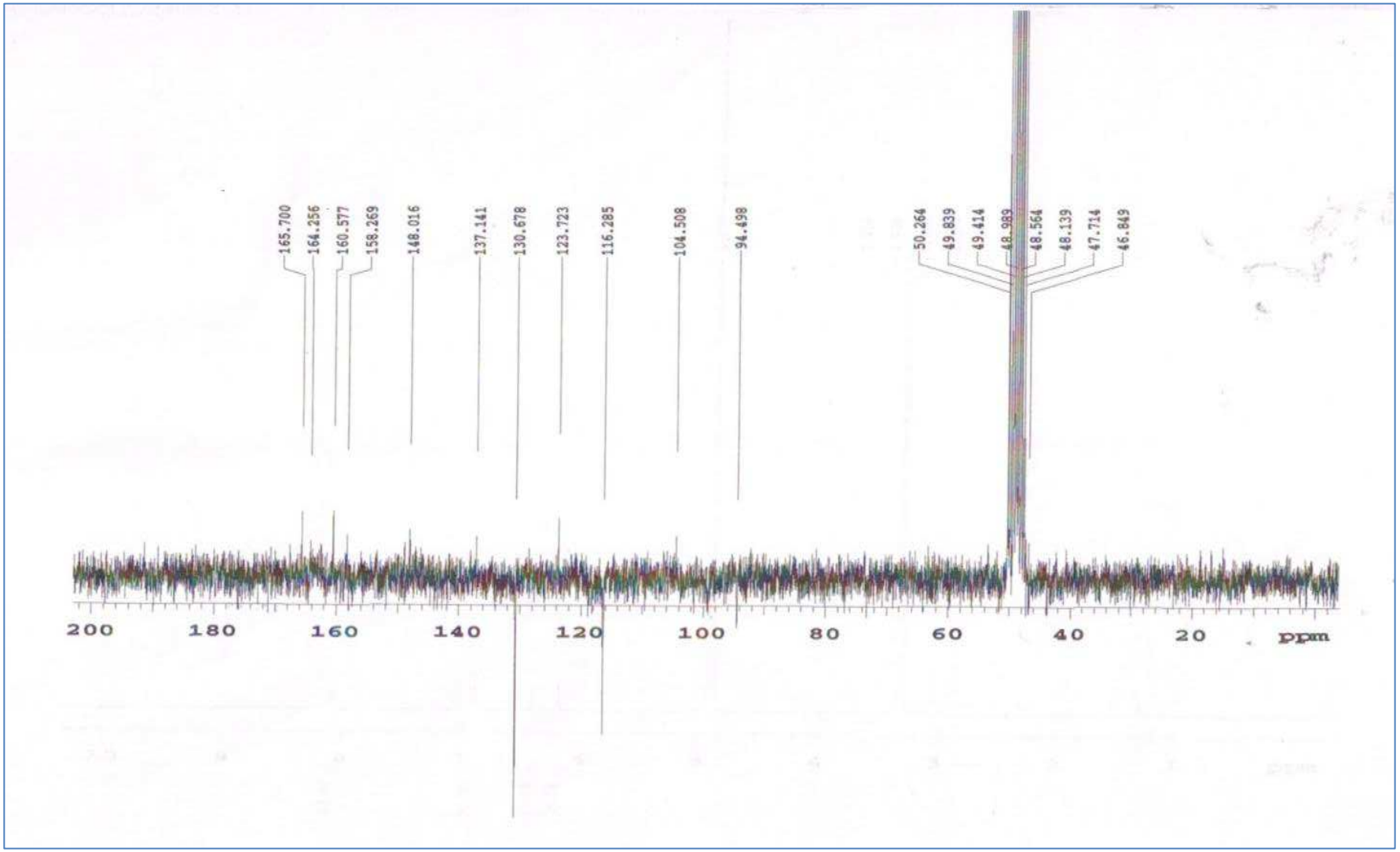


Figura 6 Espectro de RMN ^{13}C (δ, CD_3OD, 50 MHz) de S-1



5.1.1 Prospecção de patentes de canferol

Com o objetivo de realizar um levantamento das tecnologias protegidas ou descritas em documentos de patentes referentes a aplicação de canferol nas diversas áreas, efetuou-se a busca de registros patenteados utilizando as bases de dados nos bancos de patentes: *European Patent Office* (Espacenet), o *United States Patent and Trademark Office* (USPTO), bem como no Banco de dados do Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), do Brasil.

A busca foi realizada utilizando-se as palavras-chave "canferol, kaempferol, 3,5,7,4' tetrahidroxiflavona e 3,5,7,4 - trihydroxyflavone), nos idiomas português e inglês nos campos de pesquisa "título" e "resumo". Os documentos encontrados foram analisados individualmente, a fim de caracterizar o avanço tecnológico considerando a classificação internacional de patentes (CIP). As patentes foram compactadas e exportadas no software *Microsoft Office Excel 2010*.

Inicialmente, foi avaliado o número de pedidos de patentes depositados por bases de dados (Tabela 3, p. 51). A partir dos resultados encontrados, observa-se que a base de dados USPTO apresenta o maior número de patentes depositadas, totalizando 941, seguido do Espacenet com 465. O INPI teve como resultado apenas 2 patentes depositadas. Mesmo o Brasil sendo reconhecido internacionalmente por sua biodiversidade e com diversas moléculas já reconhecidas em sua espécie vegetal, inclusive outros flavonoides, o número de patentes é irrisório quando comparado aos outros países. Isso demonstra que essa biodiversidade não está sendo utilizada para promover pesquisas e produção de novos processos e produtos no mercado.

Tabela 3 – Número de patentes depositadas por base de dados envolvendo os termos utilizados.

Banco de Patentes	Kaempferol	Canferol
USPTO	941	0
WIPO	40	0
ESPACENET	465	0
INPI	1	1

As patentes são classificadas em relação a sua aplicação, agrupando os registros com classificações similares em um mesmo domínio ou subdomínio. Ao

todo são 8 seções, 21 subseções, 120 classes, 628 subclasses e 69000 grupos organizados de acordo com suas aplicações, com códigos, formando a Classificação Internacional de Patentes (CIP) (AMADEI; TORKOMIAN, 2009).

As patentes aqui analisadas foram organizadas quanto à CIP, é necessário ressaltar que as mesmas são classificadas em mais de uma subclasse, a fim de caracterizá-la melhor. Das patentes relativas ao canferol a maior parte pertence a seção A – relativa às necessidades humanas. Há ainda patentes classificadas na seção C, – relativas a química e/ou metalúrgica, seção G – relativas a medição e testes B - relativa a transporte, execuções de separação e transportes.

Em relação ao canferol existem patentes alocadas nas classes A61K que se refere a preparações para fins médicos, odontológicos ou higiênicos; classificadas como A23L – referente a alimentos, produtos alimentícios ou bebidas não alcoólicas; na C07311 que se refere a compostos heterocíclicos contendo anéis de seis membros que têm um átomo de oxigênio como único heteroátomo, condensados com outros anéis, tem-se ainda patentes alocadas na subclasse A61Q que trata de produtos relacionados a uso específico de cosméticos ou preparações similares para higiene pessoal, mais especificamente como preparações para peles com ações antienvelhecimento e/ou combate de inflamações dérmicas.

Foram também classificadas quanto a sua composição como G01N que se refere à investigação ou análise dos materiais pela determinação de suas propriedades químicas ou físicas A23D, óleos ou gorduras comestíveis, p. ex. margarinas, gorduras para bolo, óleo para cozinhar , B01J processos químicos ou físicos, p. ex. catálise, química coloidal; aparelhos pertinentes aos mesmos; C07H que são “compostos acíclicos, carbocíclicos ou heterocíclicos contendo outros elementos que não o carbono, o hidrogênio, o halogênio, o nitrogênio, o enxofre, o selênio ou o telúrio”. 8% foram classificadas como A61P: “atividade terapêutica específica de compostos químicos ou preparações medicinais”.

As subclasses A23L (alimentos ou produtos alimentícios; seu beneficiamento, não abrangido por outras classes), A21D (tratamento, p. ex. conservação, de farinhas ou massas, p. ex. pela adição de materiais; cozimento; produtos de panificação; conservação dos mesmos), A01N (conservação de corpos de seres humanos ou animais ou plantas ou partes dos mesmos; biocidas, p. ex. como desinfetantes como pesticidas ou como herbicidas; repelentes ou atrativos de pestes; reguladores do crescimento de

plantas) C08B (polissacarídeos; seus derivados) e C12P (processos de fermentação ou processos que utilizem enzimas para sintetizar uma composição ou composto químico desejado ou para separar isômeros ópticos de uma mistura racêmica) também foram encontradas.

A maior proporção da subclasse A61K se justifica a partir das pesquisas que demonstram a imensa utilização de flavonoides na indústria farmacêutica para o desenvolvimento de novos produtos aplicados a finalidades médicas, odontológicas e higiênicas.

5.2 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DA SUBSTÂNCIA S-2

A substância codificada como S-2 também se apresentou na forma de um pó amarelo, ponto de fusão 225,8 ºC e seu espectro de RMN ^{1}H e expansões (Figuras 8,9,10 e 11 p. 58, 59, 60 e 61) quando comparados com o espectro de RMN ^{1}H da substância S-1, descrita anteriormente em *Sida santaremnensis,* exibiu alguns sinais semelhantes entre si, sugerindo que ambas apresentavam um núcleo em comum. Esta proposta pôde ser corroborada pela presença de dois dubletos com sinais intensos emδ6,83 (2H, *J*=10Hz), δ 7,99 (2H, *J*=10Hz), acoplando *orto*, o que permitiu sugerir um sistema AA'BB', típico de esqueleto flavonoídico com anel B *p*-substituído, bem como pelos sinais em δ 6,11 (*d*, 1H, *J*=5,0 Hz) e δ 6,27 (d, 1H, *J*=5,0HZ), mostrando acoplamento *meta*, atribuídos aos hidrogênios 6 e 8 respectivamente, comum em flavonoides com substituintes nos cabonos 5 e 7 (HARBONE, 1994), semelhante ao observado para S-1. A ausência de sinal para um singleto entre δ 6,39 e 6,94 característico do hidrogênio 3 das 5,7-diidroflavonas, sugere que esta posição esteja substituída.

Todavia, em S-2 (Figura 8, p.58), diferentemente de S-1(Figura 4, p 48), foi verificada absorções para H anoméricos em δH 5,04 (d, 1H, *J*=5,0 Hz) e δH 4,50 (sl, 1H), que juntamente com as absorções de H carbinólicos entre δH 3,22-3,79 (Figura, 11, p.61) (Tabela 4, p.56) fizeram sugerir a existência de duas unidades de açúcar em S-2, uma dessas unidades trataria-se da ramose pela metila em δH 1,11 (d, 3H,*J*=5,0 Hz) (Figura 8, p.58), atribuído ao H-6''' do referido açúcar e a segunda poderia tratar-se da glicose (NOGUEIRA et al., 2013).

Através da avaliação do espectro de RMN ^{13}C de S-2e sua expansão (Figuras 12 e 13, p.62 e 63), foi possível observar deslocamentos químicos para o padrão de

canferol (3,5,7,4'-tetrahidroxiflavona) pelos picos em δ179,06, referente ao grupo carbonila, bem como em δ135,48, δ162,51. δ 165,68 e δ161,19, condizentes com os carbonos não hidrogenados 3,5,7,4', respectivamente, segundo comparações com S-1 (Tabela 1, p. 46) e dados da literatura (CHAVES, 2016). Estes espectros mostraram ainda sinais que enriqueceram as sugestões feitas pelo espectro de RMN ^{1}H (Figura 8, p.58), como por exemplo, a presença de um sistema AA'BB', aqui fortalecida pelos picos exibidos em δ116,02 e δ132,29, referentes aos carbonos 3', 5' e 2', 6', respectivamente, do anel B do flavonoide.

A existência de duas unidades de açúcar (glicose e ramnose) na molécula de S-2 foi corroborada, no espectro de RMN ^{13}C (Figuras 12 e 14, p. 62 e 64), pelos sinais para 2C anoméricos em δ 104,76 e δ102,24, atribuídos respectivamente, ao C-anomérico da glicose (C-1'') e C anomérico da ramnose (C-1'''), além dos sinais em δ 17,9 referente a metila da unidade de ramnose e o deslocamento em δ 68,5 característico de carbono oximetilênico da glicose (Tabela 5, p. 57). O deslocamento em δ 68,5 fez sugerir que a unidade de ramnose estaria ligada ao C-6'' da glicose. Quando o carbono oximetilênico da glicose está na sua forma livre, o mesmo absorve em torno de δC 61,3 (TELES et al., 2015), Tabela 5, p.57. Esses dados indicam que S-2 possui como substituinte uma unidade de β-D-glicosil-6´´-α-L-ramnosídeo. Tornou-se necessário, portanto, determinar o sítio da aglicona onde ocorreria a glicosilação.

O sistema AA'BB' atribuído ao anel B do flavonoide foi ratificado pelo espectro HMBC e expansões de S-2 (Figuras 15, 16,17, p.65, 66 e 67), ao mostrar correlação a duas ligações entre os hidrogênios 3',5' com os hidrogênios 2',6' e também com o carbono 4' (^{3}J). Este espectro mostrou ainda o acoplamento a três ligações entre o hidrogênio anomérico H-1'' (δ 5,04) com o carbono da posição 3 (δ135,48), permitindo, assim, estabelecer que o resíduo glicosídico se encontrava na posição 3 do núcleo flavonoídico. A ligação da unidade de ramnose ao carbono oximetilênico da glicose (C-6'') foi confirmada por este espectro quando mostrou correlações a três ligações dos hidrogênios oximetilênicos H-6'' (δ 3,35 e δ3,77) com o carbono anomérico do H-1''' da molécula da ramnose em δ 102,24.

As correlações diretas de ^{1}H e ^{13}C obtidos nos espectros de HMQC (Figuras 18,19 e20, p. 68, 69 e 70) de S-2 são apresentadas na tabela 5 (p 57).

A compilação dos dados espectrais de RMN ^{1}H e ^{13}C uni e bidimensionais e a comparação com os valores da literatura (CHAVES et al, 2016; SILVA et al, 2004),

permitiram identificar S-2 como sendo o canferol 3-O-β-D-glicosil-6''-α-L-ramnosídeo (Figura 7, p. 55), isolado pela segunda vez em *Sida santaremnensis* e já relatado anteriormente nas espécies *S. rhombifolia* e *S. acuta* (CHAVES, 2016; AHMED et al., 2011). O diferencial do isolamento desta substância em relação a primeira vez foi a quantidade, anteriormente foi obtido apenas 5,0 mg e neste trabalho 50,0 mg, o que permitiu disponibilizar esta molécula para os ensaios imunofarmacológicos e de atividade antitumoral.

Testes realizados por Al-Musayayeub (2011) com o canferol 3-O-β-D-glicosil-6''-α-L-ramnosídeo comprovaram potente atividade antioxidante e antiglicante.

Como já citado anteriormente, os flavonoides glicosilados são muito comuns na família Malvaceae, sendo importante destacar que este constituinte (canferol 3-O-β-D-glicosil-6''-α-L-ramnosídeo) apresentou-se de forma majoritária na fase acetato de etila de *Sida santaremnensis.*

Ao realizar a prospecção tecnológica dessa substância nos sites do USPTO, WIPO, ESPACENET e INPI, não foram encontradas patentes depositadas.

Figura 7: canferol 3-*O*-β-D-glicosil-6''- α-L-ramnosídeo

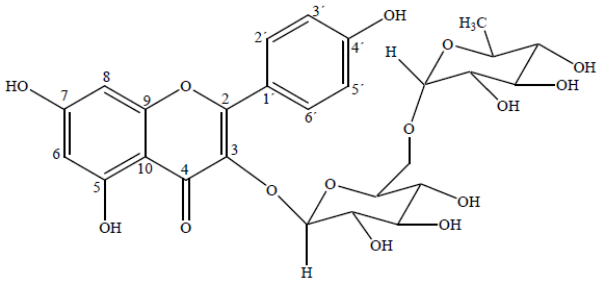
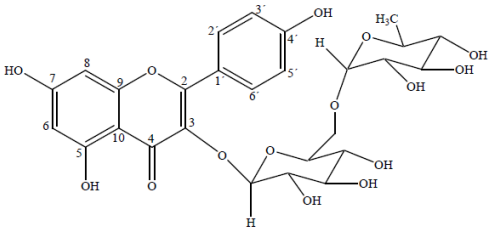


Tabela 4. Dados espectrais de RMN ^{1}H e ^{13}C (δ, CD_3OD, 500 e 125 MHz) da substância S-2



	HMQC		HMBC	
	H	**C**	$^{2}J_{H,C}$	$^{3}J_{H,C}$
2	-	159,23	-	H-2', H-6'
3	-	135,48	-	H-1''
4	-	179,06	-	-
5	-	162,51	H-6	-
6	6,11 (*d*, 1H, 5,0 Hz)	99,93	H-8	-
7	-	165,68	H-6, H-8	-
8	6,27 (*d,* 1H, 5,0 Hz)	94,96	-	H-6
9	-	158,16	H-8	-
10	-	105,45	-	H-6, H-8
1'	-	122,55	-	H-3', H-5'
2',6'	7,99 (*d,* 2H, *J*=10 Hz)	132,29	H-3', H-5'	-
3',5'	6,83 (*d,* 2H, *J*=10 Hz)	116,02	H-2', H-6'	-
4'	-	161,19	H-3'. H-5'	H-2', H-6'
1''	5,04 (*d*, 1H, *J*=5,0 Hz)	104,76	-	-
2''	3,44 *m*	75,63	H-3''	-
3''	3,44 *m*	77,97	H-2''	-
4''	3,26 *m*	71,27	H-3'', H-5''	-
5''	3,35 *m*	76,91	H-6''	-
6''	3,77 *m* 3,35 *m*	68,50	-	H-1'''
1'''	4,50	102,24	-	-
2'''	3,65 *m*	71,90	H-1'''	-
3'''	3,53 *m*	72,22	H-4'''	-
4'''	3,27 *m*	73,83	H-3''', H-5'''	H-6'''
5'''	3,42 *m*	69,59	H-6''', H-4'''	-
6'''	1,11 (*d,* 1H, *J*=5,0 Hz)	17,86	-	-

Tabela 5. Dados de RMN ^{13}C (δ, CD_3OD, 125 MHz) da substância S-2 comparados com Mo-1 (δ, CD_3OD, 125 MHz) (COSTA, 2006), Mo-2 (δ, DMSO-*d*, 100 MHz) (TELLES et al., 2015) e Mo-3(δ,CD_3OD)(AGRAWAL, 1989)

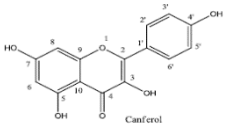
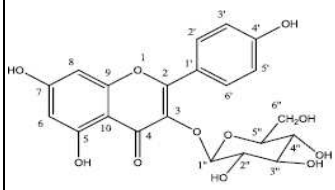
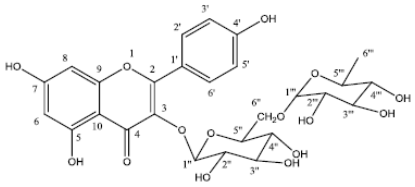
	S-2	**Mo-1** Canferol 	**Mo-2** astragalina 	**Mo-3** canferol 3-*O*-β-D-glicosil-6''- α-L-ramnosídeo 
	δ C	δC	δC	δC
2	159,23	148,01	155,6	158,7
3	135,48	137,15	133,5	135,5
4	179,06	177,37	177,1	179,4
5	162,51	162,52	160,0	163,0
6	99,93	99,24	101,9	100,0
7	165,68	165,59	163,1	166,2
8	94,96	94,45	94,9	95,0
9	158,16	158,25	155,7	159,4
10	105,45	104,52	103,5	105,6
1'	122,55	123,73	122,7	122,8
2',6'	132,29	130,68	131,2	132,4
3',5'	116,02	116,29	115,5	116,2
4'	161,19	160,55	160,5	161,5
1''	104,76		101,9	104,6
2''	75,6		74,7	75,6
3''	77,9		77,9	78,1
4''	71,3		70,3	71,5
5''	76,9		76,9	77,8
6''	68,5		61,3	68,6
1'''	102,24		-	102,6
2'''	71,9		-	72,1
3'''	72,2		-	72,3
4'''	73,8		-	73,4
5'''	69,5		-	69,7
6'''	17,8		-	17,9

Figura 8 - Espectro de RMN ^{1}H (δ, CD_3OD, 500 MHz) de S-2

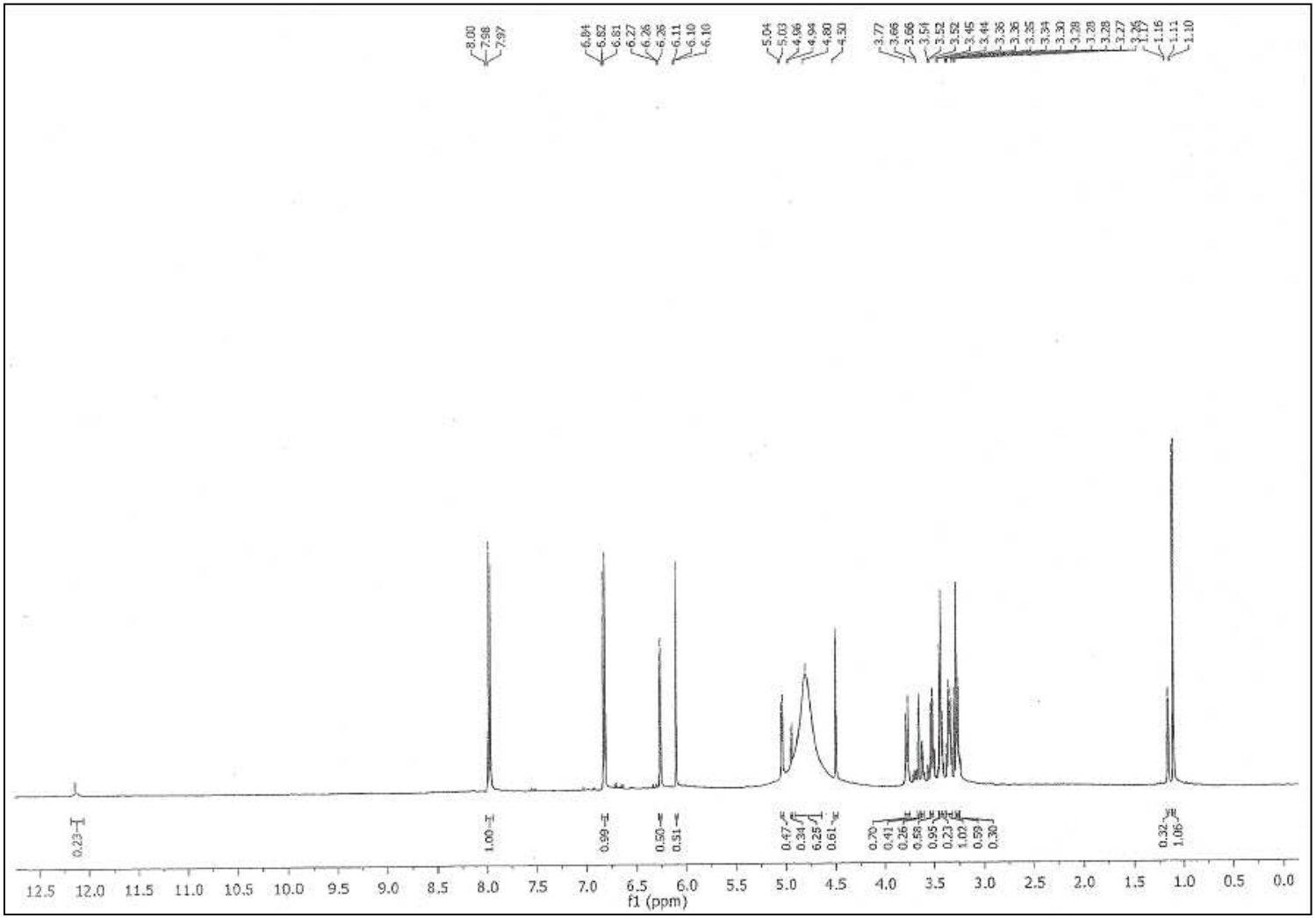


Figura 9 - Expansão 1 do espectro RMN ^{1}H (δ,CD_3OD, 500 MHz) de S-2

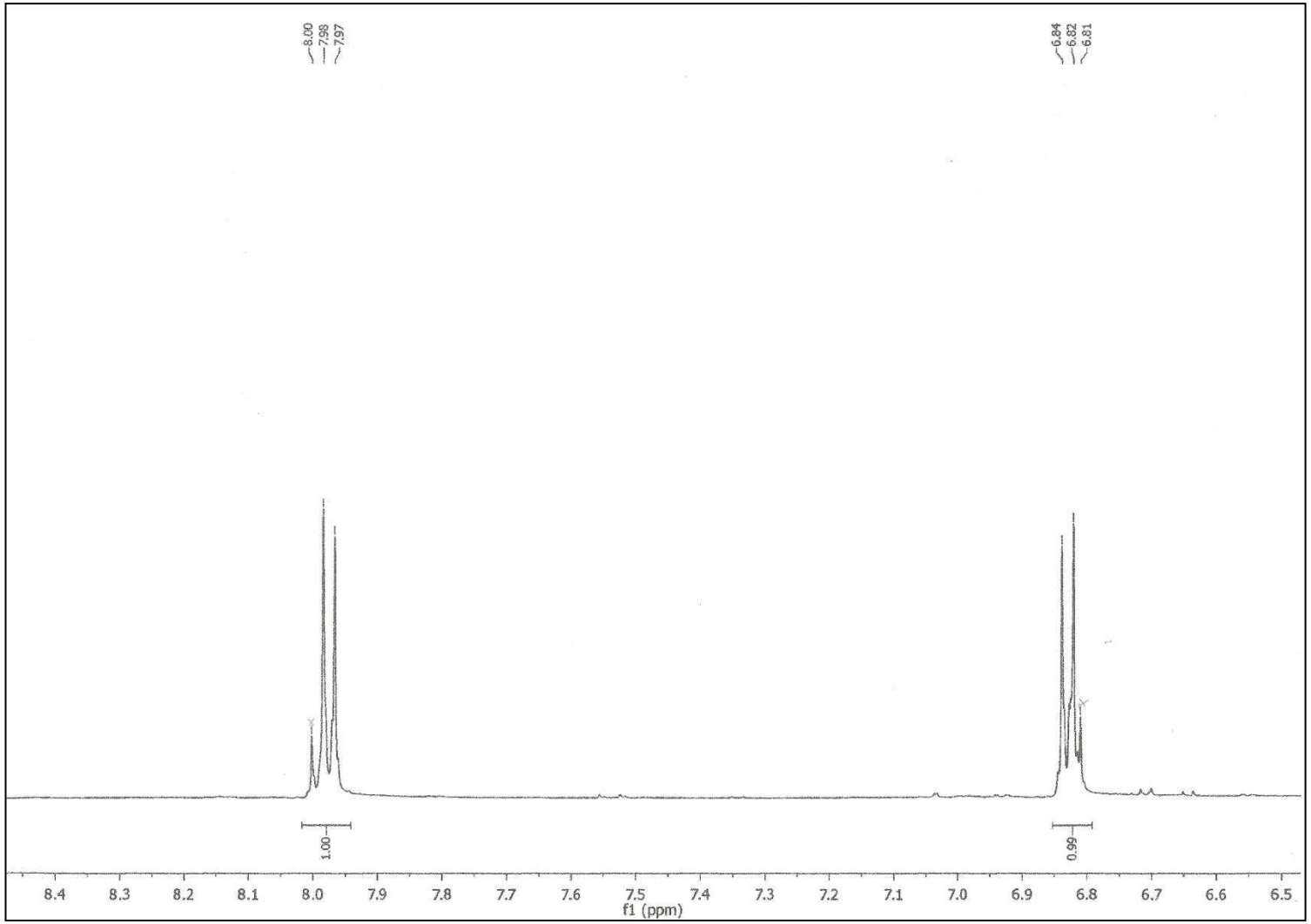


Figura 10 – Expansão 2 do espectro de RMN^{1}H (δ, CD_3OD, 500 M Hz) de S-2

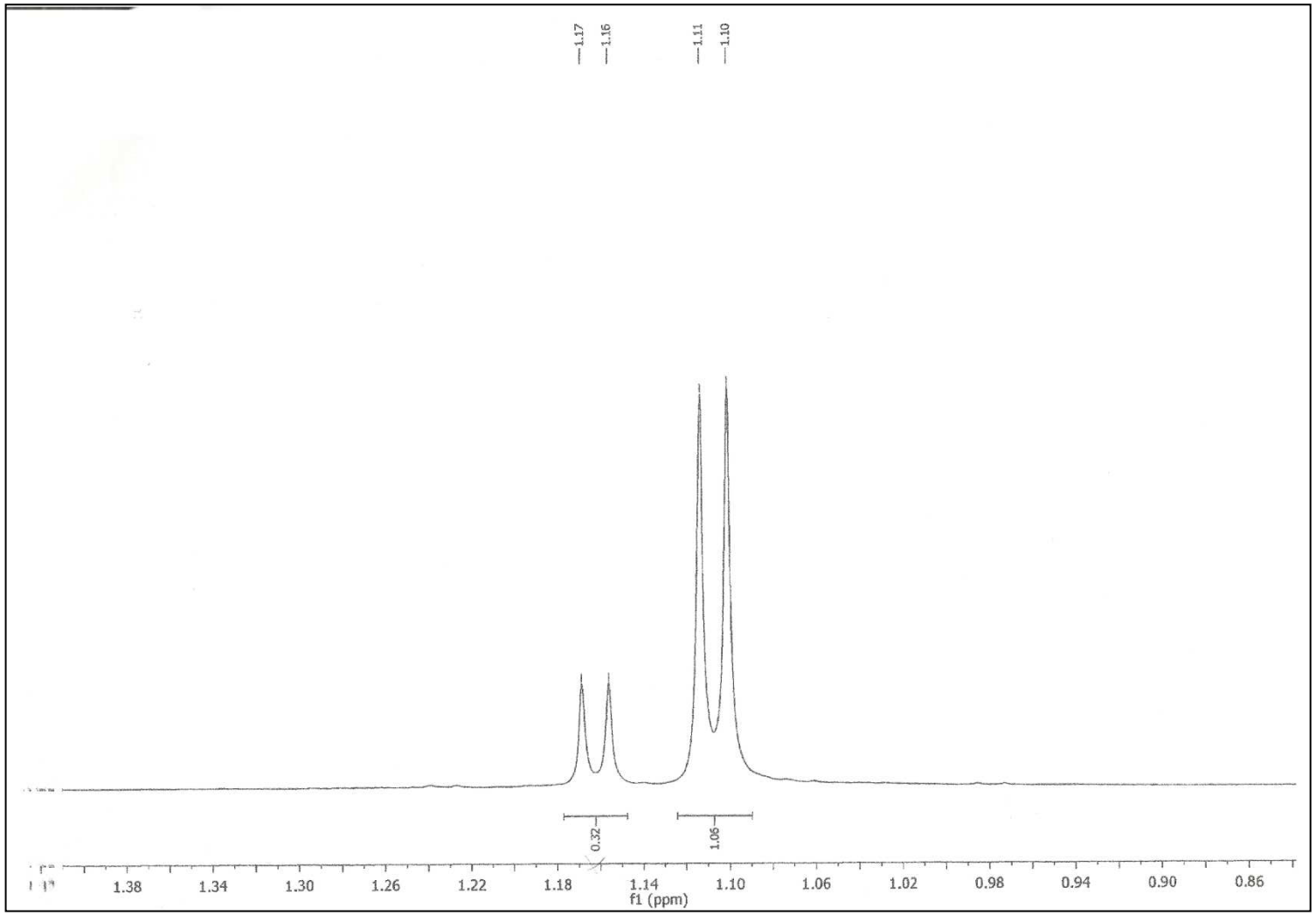


Figura 11 - Expansão 3 do espectro de RMN^{1}H (δ, CD_3OD, 500 M Hz) de S-2

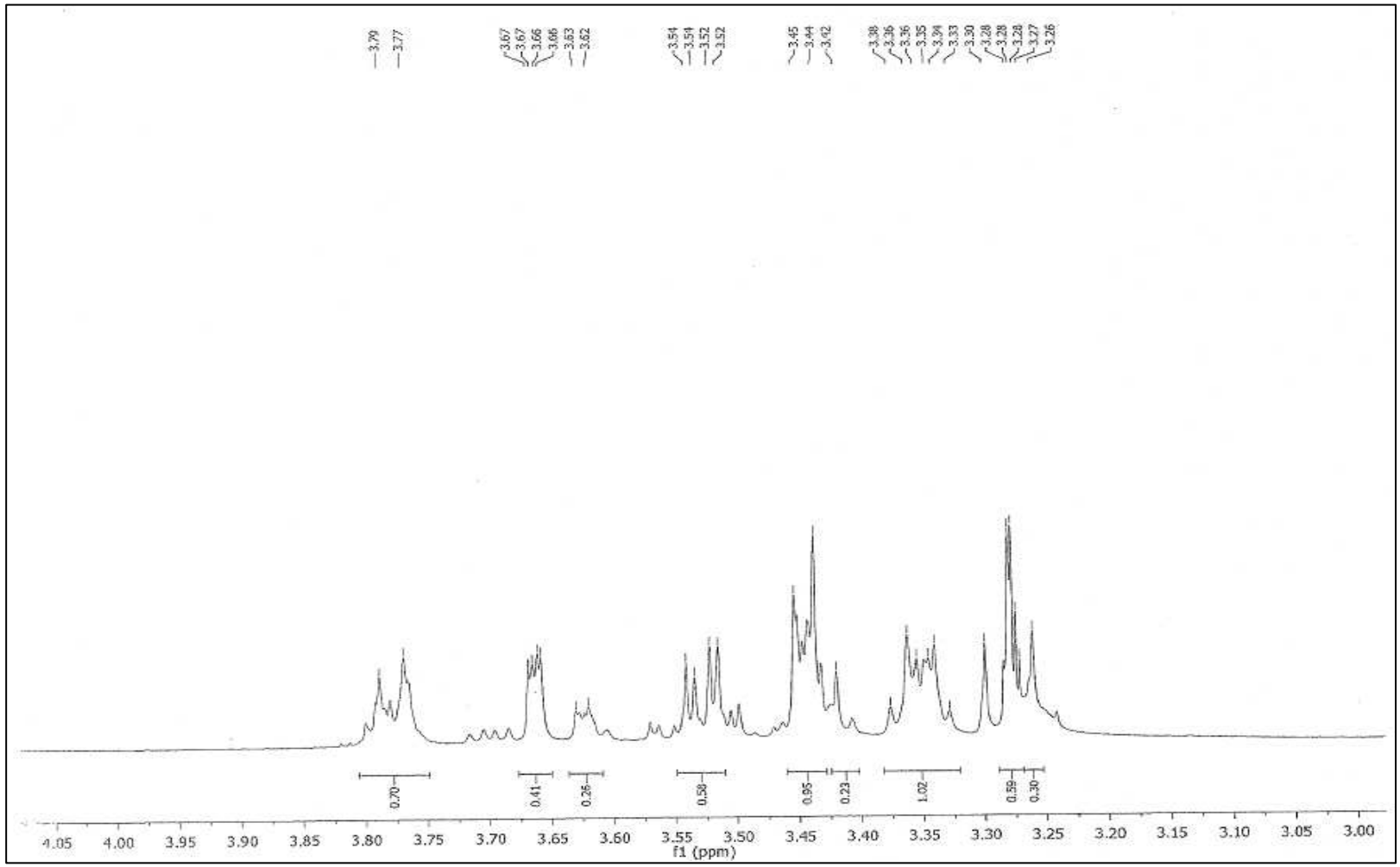


Figura 12 - Espectro de RMN ^{13}C-APT (δ, CD_3OD, 125 M Hz) de S-2

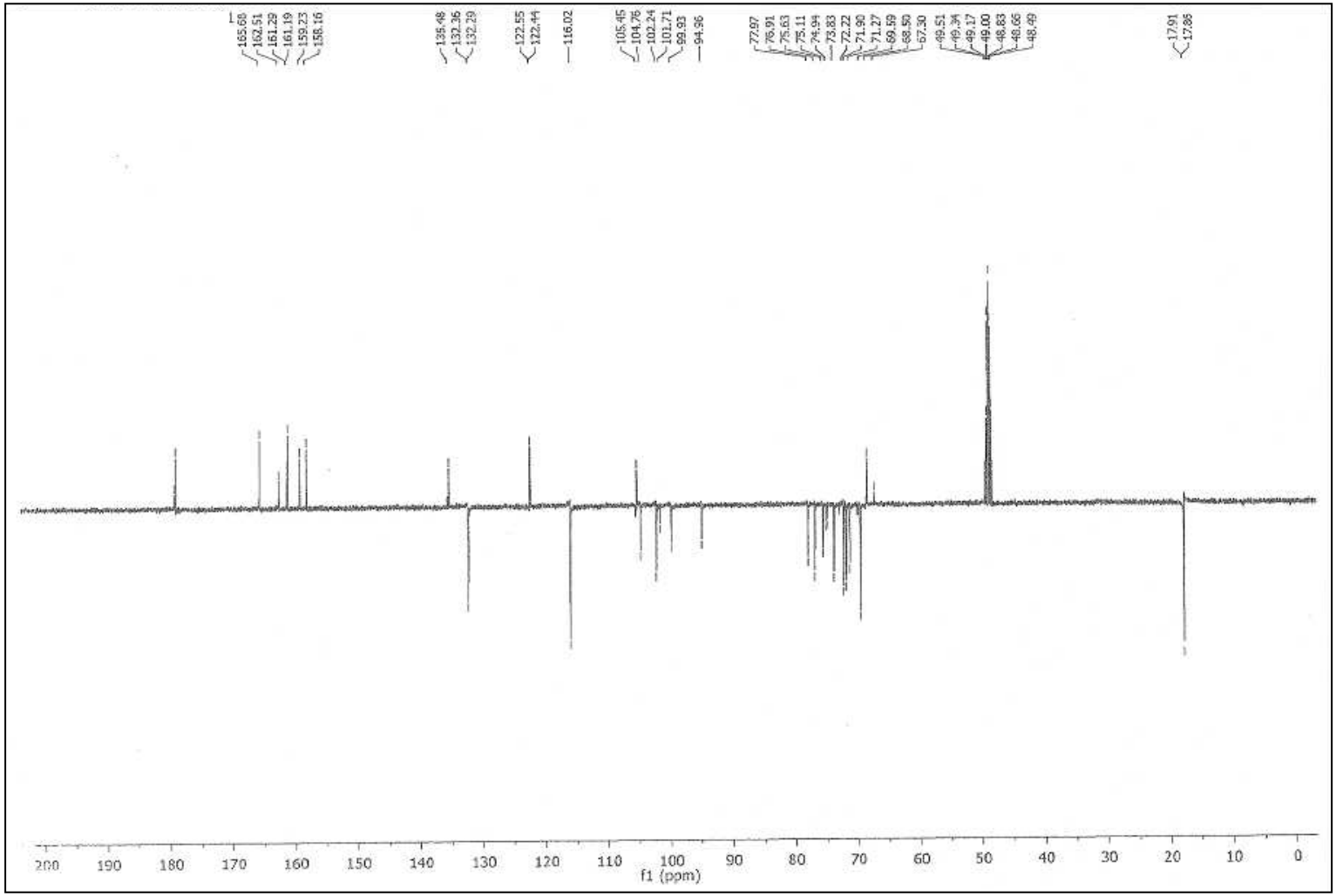


Figura 13 - Expansão 1 do espectro RMN ^{13}C (δ, CD_3OD, 125 MHz) de S-2

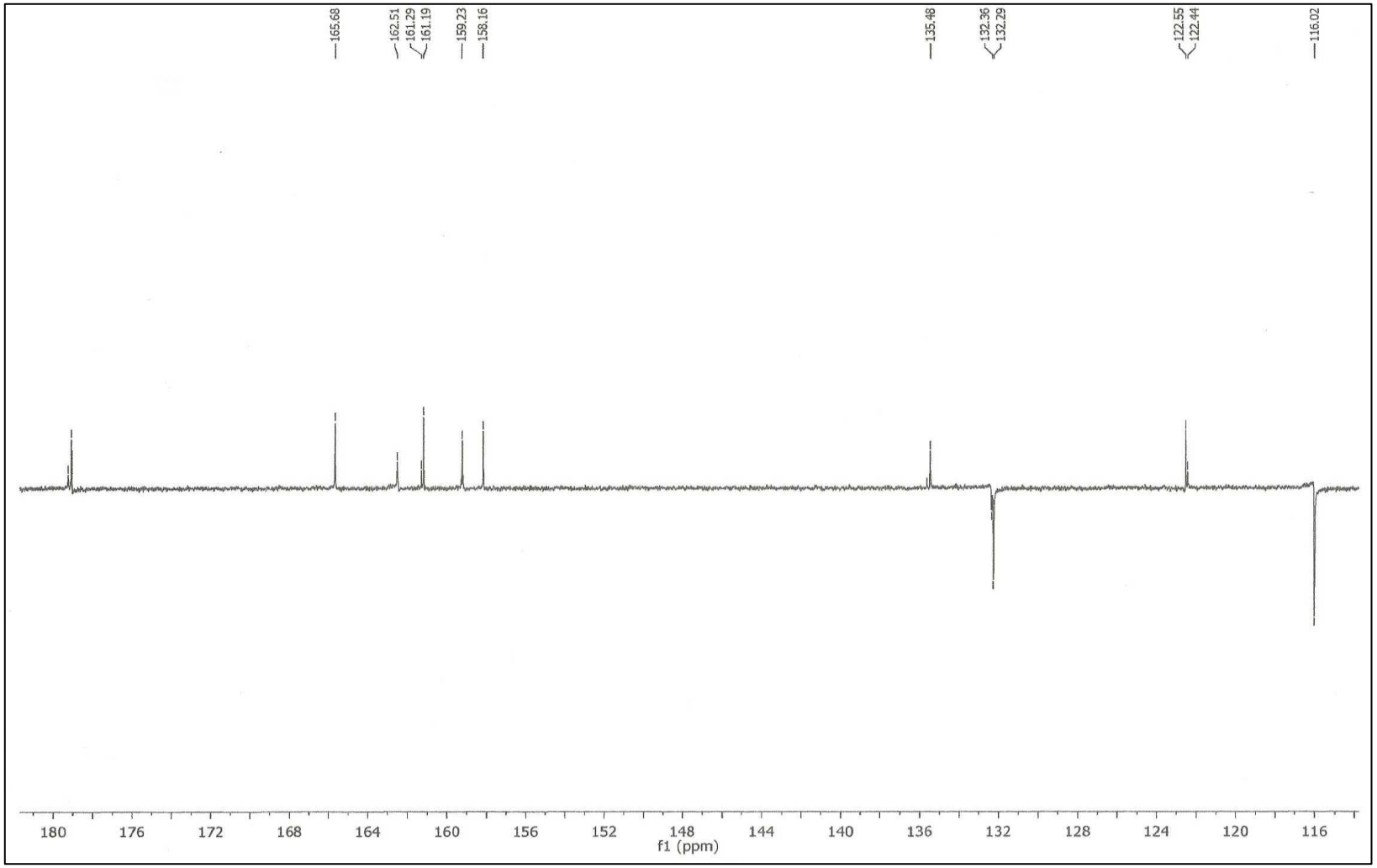


Figura 14. Expansão 2 do espectro RMN ^{13}C (δ, CD_3OD, 125 MHz) de S-2

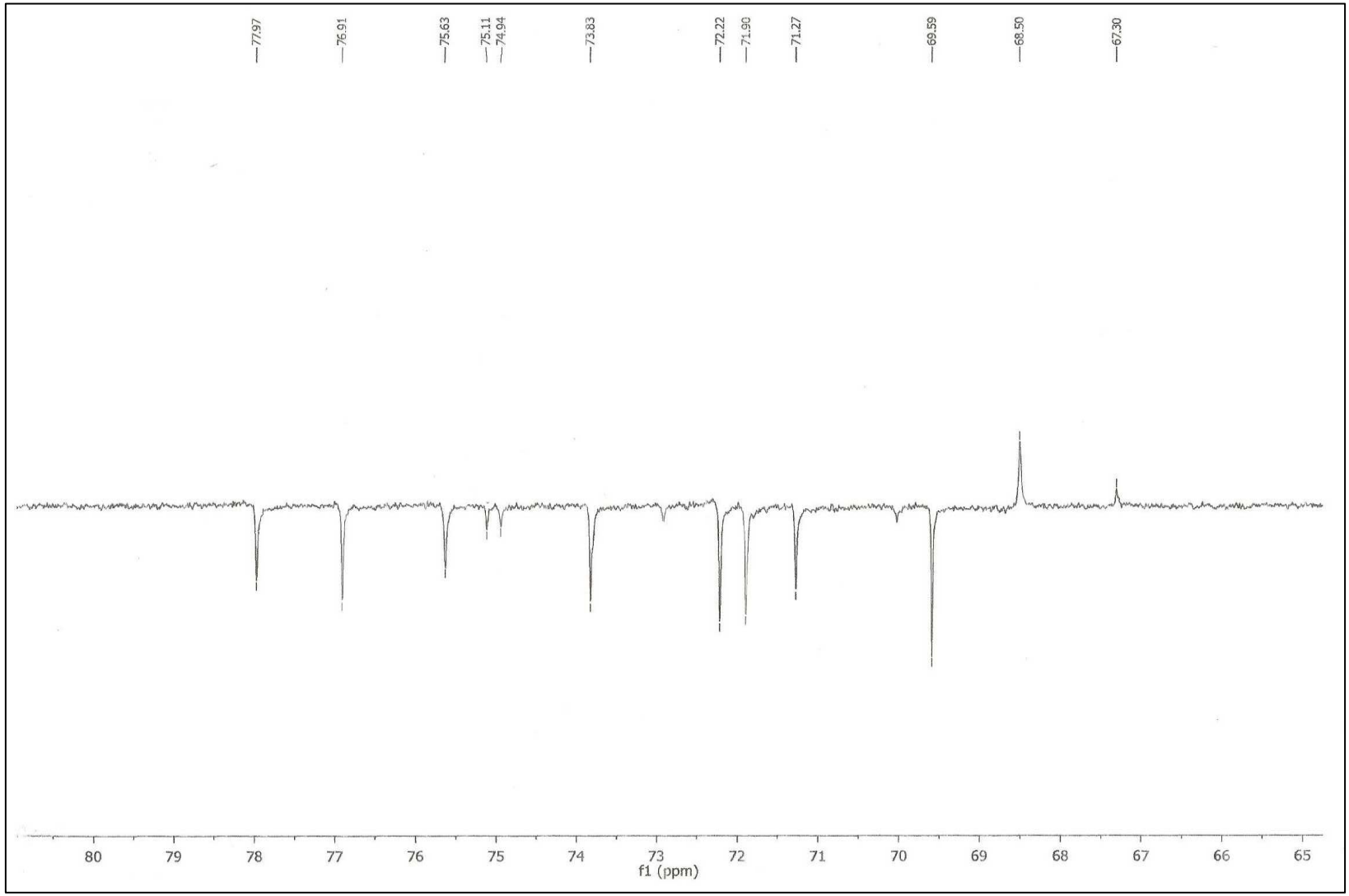


Figura 15– Espectro de RMN^{1}H x ^{13}C - HMBC (δ, CD_3OD, 500 e 125 MHz) de S-2

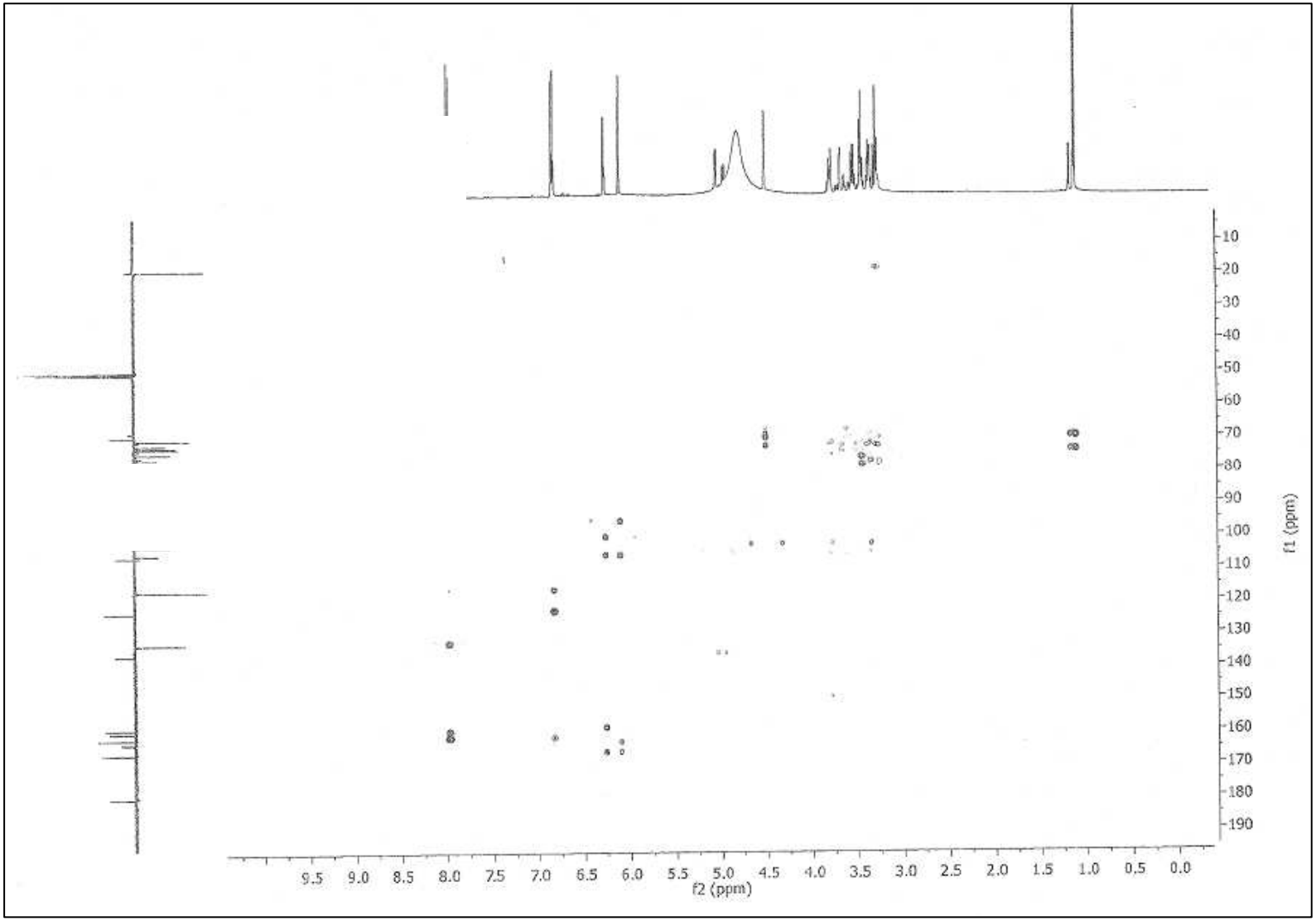


Figura 16 – Expansão 1 do espectro de RMN^{1}H x ^{13}C - HMBC (δ, CD_3OD, 500 e 125 MHz) de S-2

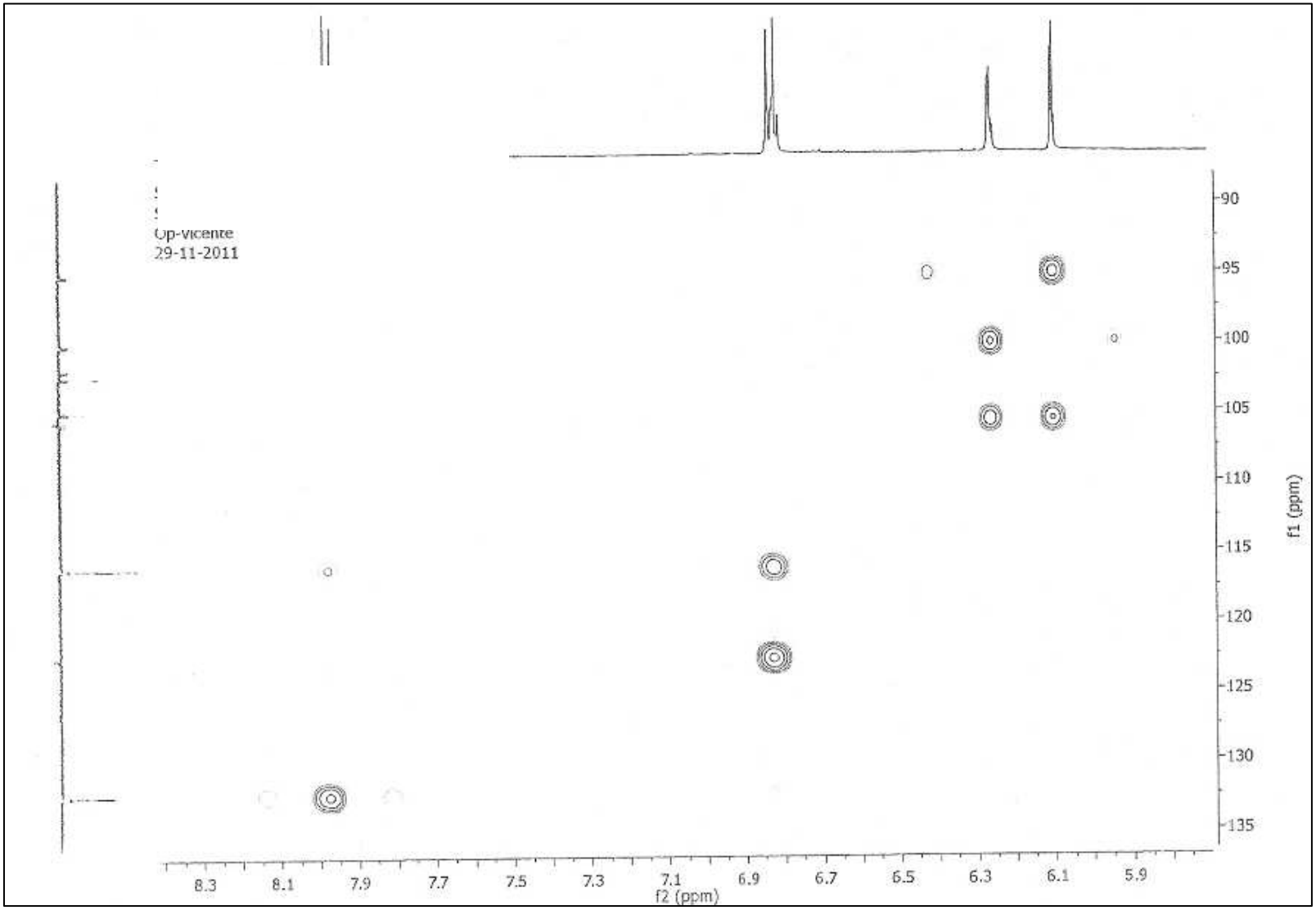


Figura 17 – Expansão 2 do espectro de RMN^{1}H x ^{13}C -HMBC (δ, CD_3OD, 500 e 125 MHz) de S-2

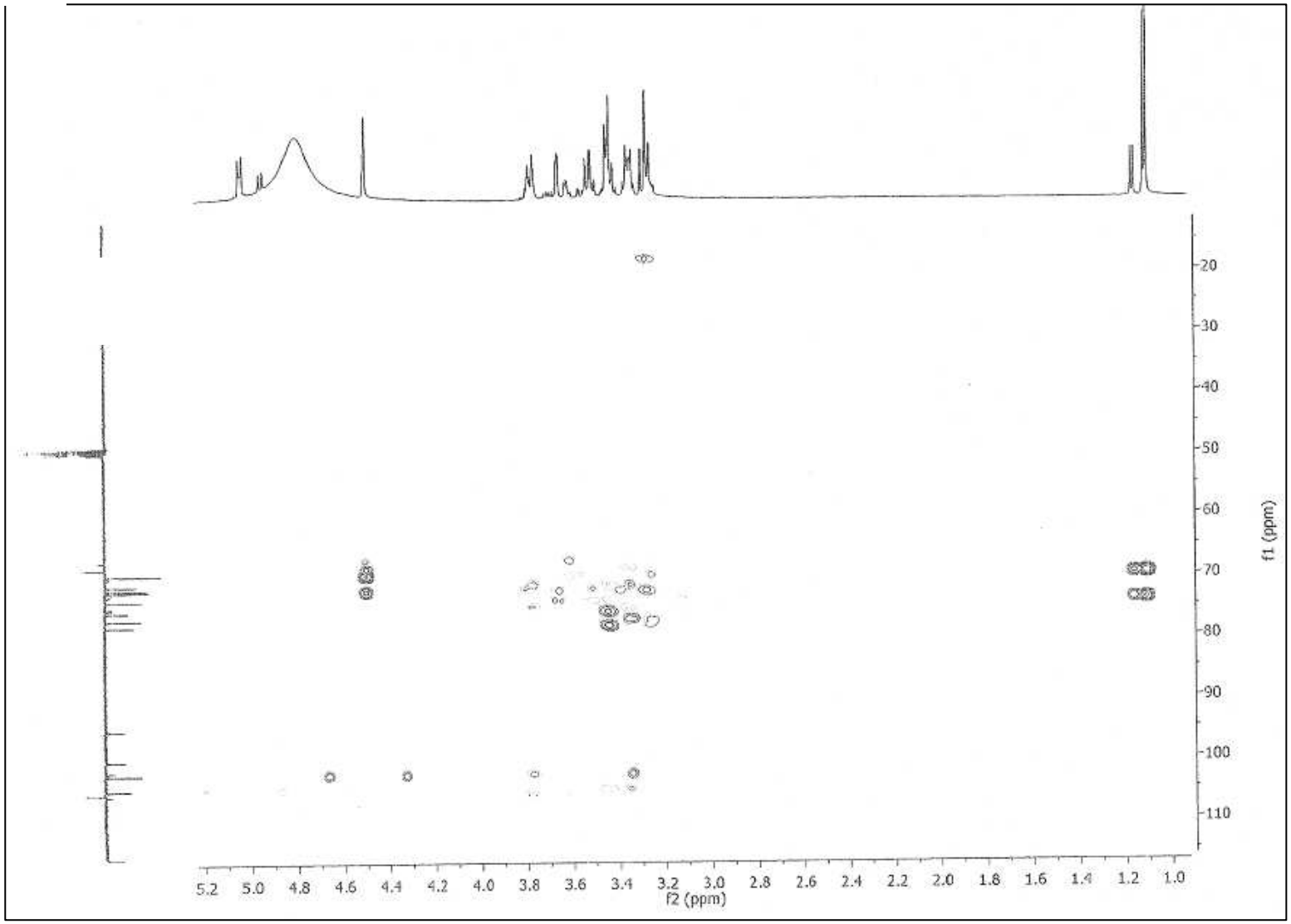


Figura 18 – Espectro de RMN^{1}H x ^{13}C HMQC (δ, CD_3OD, 500 e 125 MHz) de S-2

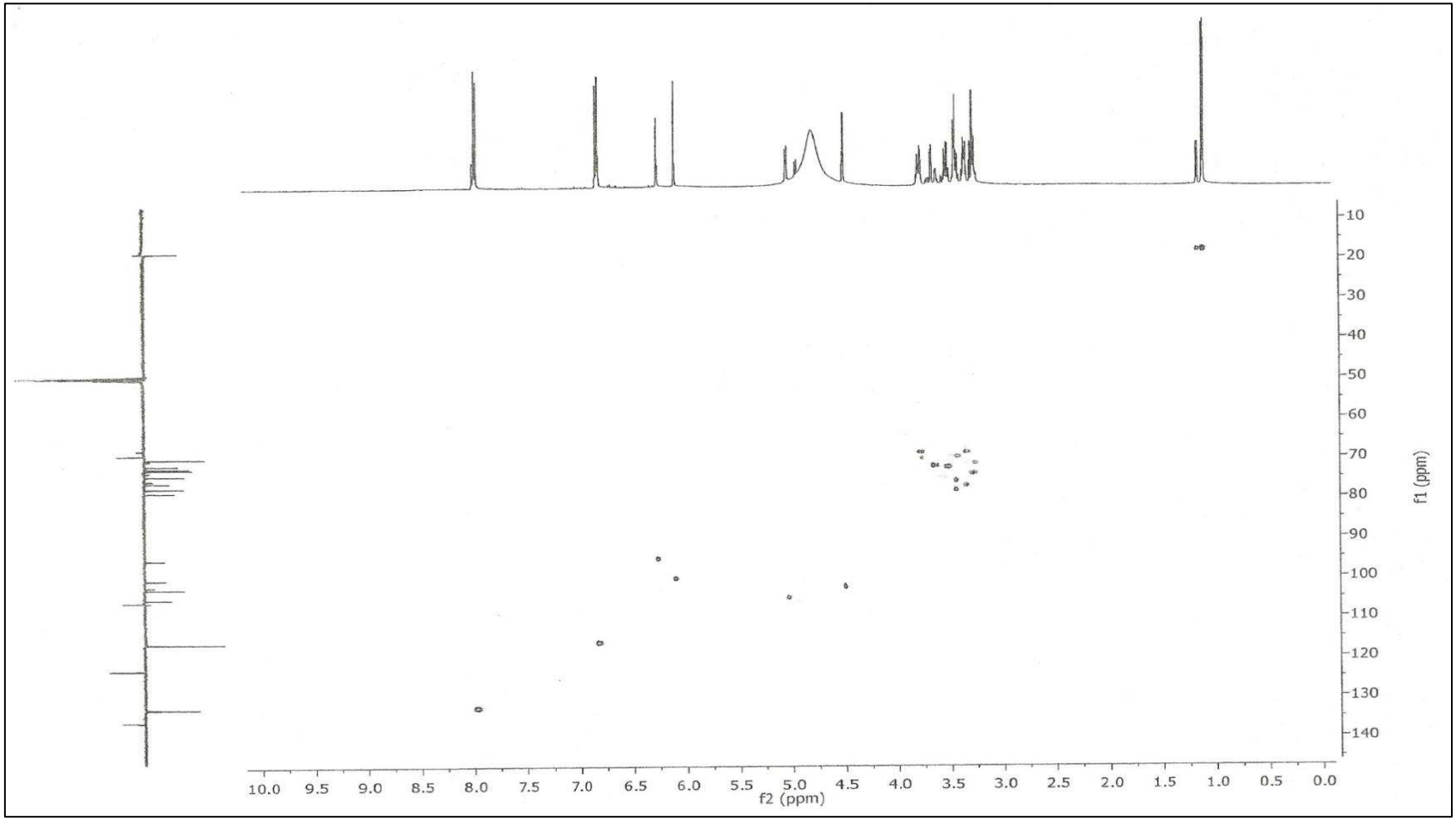


Figura 19 – Expansão 1 do espectro de RMN^{1}H x ^{13}C HMQC (δ CD_3OD, 500 e 125 MHzδ) de S-2

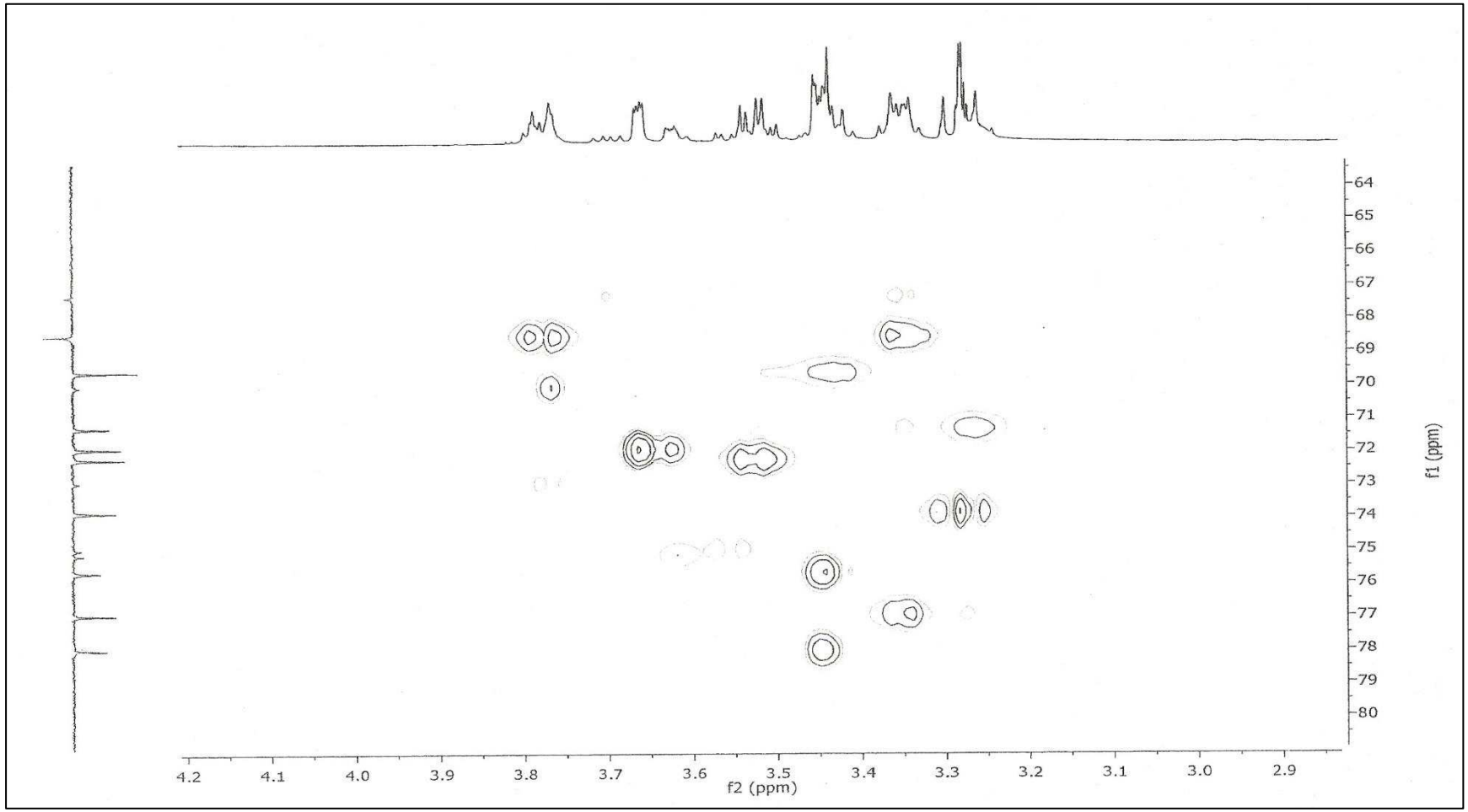
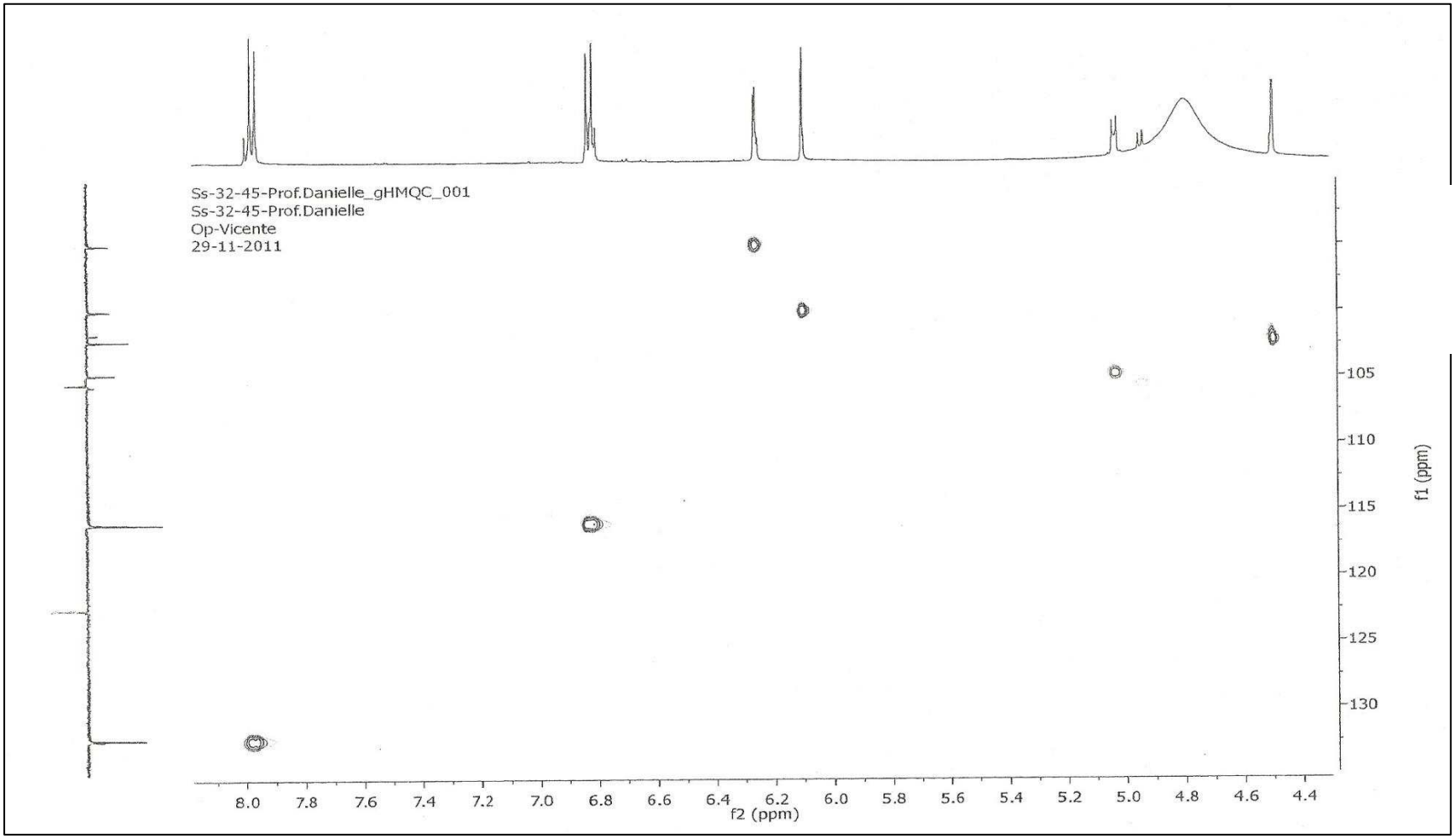


Figura 20 – Expansão 2 do espectro de RMN^{1}H x ^{13}C HMQC δ CD_3OD, 500 MHzδ) de S-2

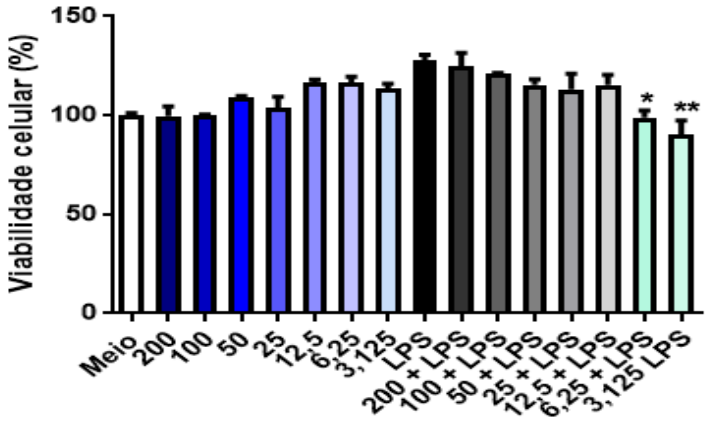


5.3 ENSAIOS FARMACOLÓGICOS COM A SUBSTÂNCIA S-2

5.3.1 Viabilidade Celular

A viablidade celular foi medida a partir do ensaio de MTT. Abaixo, a figura 21 mostra o efeito do canferol 3-*O*-β-D-glicopiranose (6''-1''')α-L-ramnopiranosídeo na viabilidade celular. O composto estudado não alterou significativamente a viabilidade dos macrófagos nas concentrações de 3,125 a 200 µM indicando baixa toxicidade do composto estudado. No entanto, as culturas estimuladas com LPS apresentaram um percentual de viabilidade aumentado comparado com as culturas não estimuladas sugerindo a indução de proliferação celular induzida por LPS. Por outro lado, as culturas estimuladas com LPS e tratadas com o composto em estudo nas concentrações 3, 125 ($p<0,05$) e 6,25 ($p<0,05$.) apresentaram redução da viabilidade celular indicando que o composto pode apresentar efeito inibitório na proliferação de macrófagos estimulados com LPS indicando uma possível atividade imunomodulatória.

Figura 21 – Efeito do canferol 3-*O*-β-D-glicopiranose (6''-1''') α-L-ramnopiranosídeo na viabilidade Celular.



O efeito do canferol 3-*O*-β-D-glicopiranose (6''-1''') α-L-ramnopiranosídeo na viabilidade celular foi determinada pelo ensaio do MTT. As culturas de macrófagos peritoneais foram semeadas em meio RPMI, estimuladas com LPS ou LPS + canferol 3-*O*-β-D-glicopiranose (6''-1''') α-L-ramnopiranosídeo em diferentes concentrações. Os dados foram analisados utilizando o teste ANOVA seguido do teste de Turkey e, estão representados como média±EPM, a partir de três experimentos isolados em triplicata (n= 3x3).

Estes resultados coincidem com Santos (2010) que a partir de testes MTT, pode comprovar que os flavonoides do tipo flavonol, como galangina, canferol, quercetina e miricetina não induzem toxicidade ou morte celular, o que possibilita a aplicação destes como fármacos de origem natural no tratamento de doenças inflamatórias. No entanto, testes realizados por Militão (2005) avaliaram a citotoxidade em flavonoides, do qual, observou-se que as flavonas apigenina, nepetina e acacetina demonstraram potente atividade citotóxica, sendo a apigenina o composto com maior capacidade de reduzir a viabilidade celular, isto pode ser justificado pela ausência da hidroxila em C-3. No grupo das flavonas quando esta posição é ocupada com grupamento hidroxila ou resíduo de açúcar a atividade citotóxica diminui. Costa-Lotufo (2003) verificou que a ausência do grupo metoxila em flavonoides é responsável por aumento da viabilidade celular.

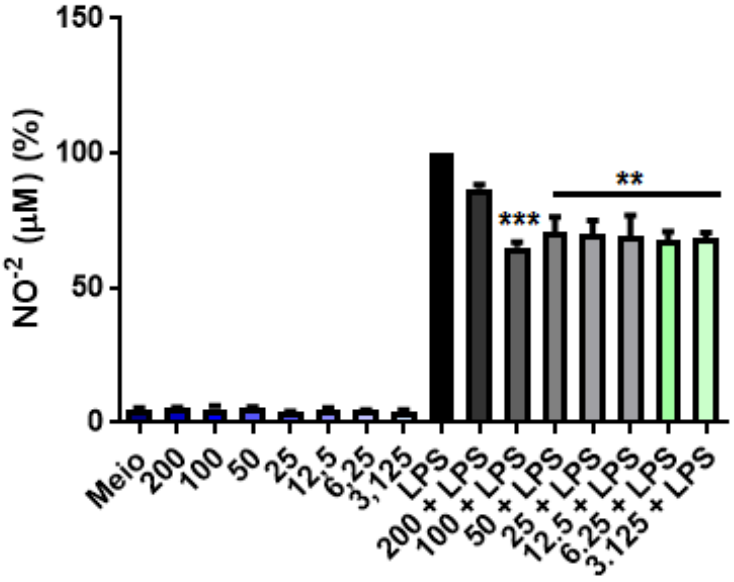
5.3.2 Quantificação de Nitrito

O canferol 3-*O*-β-D-glicopiranose (6''-1''') α-L-ramnopiranosídeo diminuiu a produção de NO por células ativadas de forma significativa. Chen et al. (2001) afirma que a a produção induzida de NO irá refletir no grau de inflamação e servirá de medida para avaliar o efeito de medicamentos sobre o processo inflamatório.

Como demonstrado na figura 22 (p. 73), a estimulação dos macrófagos com LPS resultou no aumento da síntese de NO quando comparado com células cultivadas apenas com meio (controle negativo).

A presença do canferol 3-*O*-β-D-glicopiranose (6''-1''') α-L-ramnopiranosídeo diminuiu a produção de NO por células ativadas de forma significativa, promovendo, assim a redução na produção de nitrito quando comparadas com as células tratadas apenas com LPS. Na figura 22, observa-se este efeito de forma mais significativa na concentração de LPS vs 3.125 μM até LPS vs 50 μM +LPS com $p<0,01$, este efeito foi ainda mais significante quando a concentração LPS versus 100 μM+LPS, com $p<0,001$

Figura 22 - Efeito do canferol 3-*O*-β-D-glicopiranose (6''-1''') α-L-ramnopiranosídeo nos níveis de NO.



Para determinar a produção de nitrito este reagiu com a sulfanilamida, formando o sal de diazônio que reagiu com o NED e foi analisado em espectrofotômetro em comprimento de onda de 540 nm. Os resultados foram expressos ± EPM de pelo menos três experimentos independentes em duplicata, e analisados utilizando o ANOVA seguido do pós-teste de Tukey. ** $p < 0,01$ e ***$p<0,001$ quando comprados ao grupo controle

O efeito de inibição da formação de nitrito pode ser interpretada como um indicativo de uma possível atividade anti-inflamatória. Maia (2009) associa a presença de agentes sequestradores de NO como agentes anti-inflamatórios, uma vez que podem diminuir o efeito danoso da inflamação e auxiliar na homeostase.

Estes resultados corroboram com Lima et al (2016), em que extrato hidroetanólico de *Herissantia tiubae* demonstrou baixa toxicidade e capacidade de reduzir significativamente a produção de NO em cultura de camundongos

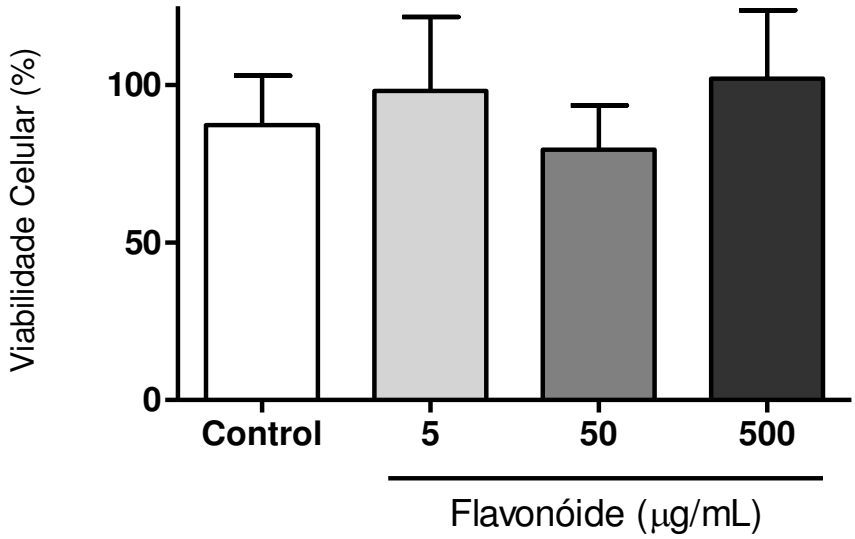
Os resultados obtidos neste trabalho evidenciam, pela primeira vez, que o flavonoide isolado de forma majoritária da *Sida santaremnensis* possui um efeito anti-inflamatório que envolve a inibição da produção de NO. Esses resultados contribuem para o conhecimento das atividades biológicas da espécie e, além disso, após estudos adicionais, fornecem a possibilidade de desenvolvimento de novas drogas derivadas de produtos de origem natural.

5.3.3 Avaliação da atividade antitumoral

Para avaliação de atividade antitumoral foi determinado a viabilidade celular a partir de ensaio do MTT em meio RPMI, acrescida de várias concentrações do flavonoide isolado.

Ao comparar a placa controle com as placas de concentração 5µg, 50 µg e 500 µg não foi promovido redução na viabilidade celular. O que indica que o canferol 3-O-β-D-glicosil-6''- α-L-ramnosídeo não apresenta citotoxicidade contra a linhagem testada.

Figura 23: Avaliação da citotoxicidade do flavonoide sobre célulasHL-60



A viabilidade celular foi determinada pelo ensaio do MTT, após 24h de incubação das células HL-60 em meio RPMI, acrescido de variadas concentrações do flavonóide (5–500 µg/mL%). Os valores estão representados como média±EPM, a partir de três experimentos isolados em triplicata (n= 3x3). ANOVA seguido do teste de Dunnet.

Santos et al (2014) avaliou a citotoxicidade de diferentes extratos de *Bauhinia purpurea,* da região Amazônica, contendo flavonoides (kaempferitrina, quercetina e rutina), e assim como nesse estudo, observou que nenhum dos extratos apresentou taxa de inibição maior que 40% contra as linhagens testadas, o que demonstra baixa toxicidade destes flavonoides. Estudo realizado por Pereira et al. (2015), comprovou potencial antitumoral do flavonol morina a partir do envolvimento da via intrínseca da morte celular por apoptose. Estes fatos corroboram com a relação estrutura-

atividade dos flavonoides, citada anteriormente, onde as flavonas apresentam menor viabilidade celular e maior potencial citotóxico, quando comparada com os flavonóis simples ou glicosilados.

6 CONCLUSÃO

O estudo realizado permitiu:

Isolar e caracterizar estruturalmente dois flavonoides de *S. santaremnensis*, identificados como canferol e canferol 3-*O*-β-D-glicosil-6''- α-L-ramnosídeo, sendo o primeiro inédito na espécie.

A avaliação imunofarmacológica desenvolvida com o canferol 3-O-β-D-glicosil-6''-α-L-ramnosídeo revelou que este apresenta possível ação anti-inflamatória, sendo necessário mais testes para comprovar tais efeitos.

O flavonoide glicosilado, isoladao de forma majoritária, foi submetido à avaliação da atividade antitumoral, por meio de parceria com pesquisadores da UFPI e não apresentou atividade contra leucemia promielocítica humana.

A procura por patentes relacionadas às substâncias isoladas mostrou-se como um fator preocupante no Brasil, pois revela que as pesquisas relacionadas às ciências básicas que lidam com a identificação e caracterização de biomoléculas com potencial terapêutico, em especial a química e a farmacologia, não estão sendo utilizadas para promover a produção de novos produtos no mercado.

Os dados apresentados demonstram a importância de mais pesquisas com *Sida santaremnesis,* de forma a ampliar os conhecimentos tanto do ponto de vista químico, bem como imunológico, visando uma utilização futura da substância testada dessa planta tanto como medicamento quanto para atuar em sinergismos com outras drogas.

REFERÊNCIAS

ADEBAYO J. O.; KRETTLI A. U. Potential antimalarials from Nigerian plants: A review. **J. Ethnopharmacol**, v. 133, p. 767-788, 2011.

AFANAS'EV, J. B.; et al ., Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. **Biochem. Pharmacol.**, Amsterdam, v. 38, p. 1763-1769, 1989.

AGRAWAL, P. K. **Carbon-13 NMR of Flavonoids: Studies in Organic Chemistry.** Lucknov India: Elsevier, 1989.

AHERNE, S. A.; O'BRIEN, N. M. The flavonoids, myricetin, quercetin and rutin, protect against cholestan-3β, 5α, 6β-triol-induced toxicity in chinese hamster ovary cells in vitro. **Nutr. Res.**, v. 19, p. 749-760, 1999.

ALONSO JÚNIOR. **Tratado de fitomedicina - Bases clinicas y farmacológicas**. Isis Ediciones S.R.L. Buenos Aires, 1998.

AMES, J. MACLEOD, G. Volatile components of okra. **Phytochem.** v 29, n. 4, 1990.

ARCANJO, D. D. R.; et al. Vasorelaxant response inducedby *Sida santaremnensis* H. Monteiro ethanolextractonrat superior mesentericartery. **Afr J Biotechnol**. 10, n. 65, p. 14587-14597, 2011.

ARMIÉN A.G. et al Spontaneous and experimental glycoprotein storage disease of goats induced by*Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* (Convolvulaceae). **Vet. Pathol.** v.44 p: 170-184, 2007.

ASSIS, E.B. Isolamento de saponinas esteroidais da fase hexânica e avaliação antifúngica de *Sida santaremnensis* (H. Monteiro) [Monografia]. Universidade Federal de Campina Grande, 2016.

BANDEIRA, J.M et al . Composição do óleo essencial de quatro espécies do gênero *Plectranthus*. **Rev. Bras. Plantas Med.**, Botucatu , v. 13, n. 2, p. 157-164, 2011.

BARACHO, G. S. **Taxonomia do gênero *Sida* L. seção cordifoliae (DC.) Fryxell (Malvaceae) no Brasil**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, 1998.

BARREIRO, E. J. Produtos naturais bioativos de origem vegetal e o desenvolvimento de fármacos. **Quím. Nova**. Rio de Janeiro, v.13, n.1, p.29-39, 1990.

BARTH, O. M. **Catálogo sistemático dos pólens das plantas arbóreas do Brasil Meridional: XVIII** - **Malvaceae**, v. 73, n. 1-2, p. 1-18, 1975 .

BAZYLKO, A. et al. Determination of antioxidant activity of extracts and fractions obtained from Galinsoga parviflora and Galinsoga quadriradiata, and a qualitative

study of the most active fractions using TLC and HPLC methods. **Nat. Prod. Res.**, v. 26, n. 17, p. 1584-1593, 2012.

BETANCUR-GALVIS, L. A.; SAEZ,J.; GRANADOS,H.; SALAZAR, A.; OSSA, J. E. Antitumor and antiviral activity of colombian medicinal plant extracts. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz,** v.94, p.531-535, 1999

BISIGNANO, G.; et al. Antimicrobial activity of *mitracarpus scaber* extract and isolated constituents. **Lett. in Appl. Microbiol.**, V. 30, p. 105–108, 2000.

BOONPHONG, S et al. Bioactive Compounds from *Bauhinia purpurea* Possessing Antimalarial, Antimycobacterial, Antifungal, Anti-inflammatory, and Cytotoxic Activities. ***J. Nat. Prod***., v*70 n.*5, p: 795–801, 2007.

BORTOLUZZI, M. et al. Estudo fitoquímico de Sida rhombifolia L. (Malvaceae) e aspectos anatômicos da raiz. **Lecta-USF** v12. p: 81–97. 1994.

BOUIC, P. J.; LAMPRECHT, J. H. Plants teroland sterolins: A review of their immunemodulating properties. Alternative Medicine Review, v. 4, p. 170-177, 1999.

BOURICHE, H.; et al Effect of *Cleome arabica* leaf extract, rutin and quercetin on soybean lipoxygenase activity and on generation of inflammatory eicosanoids by human neutrophils. **Prostaglandins, Leucotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 72, p. 195-201, 2005.

BOVINI, M.G. et al. Malvaceae A. Juss.no Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia,** v. 52 n.81. p: 17-47. 2001.

BOVINI, M.G..***Sida* in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
Disponivel em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB9203>. Acesso em: 8. Maio2016.

BRANDÃO, J. L. **O gênero *Sida* L. (Malvaceae) no estado de Pernambuco, Brasil.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2014.

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

BUENO-SANCHEZ, Juan Gabriel et al. Anti-tubercular activity of eleven aromatic and medicinal plants occurring in Colombia. **Biomédica**, Bogotá, v. 29, n. 1, p. 51-60, Mar. 2009.

CALIXTO, J.B.; et al Anti-inflammatory compounds f plant origin. Part I. action on arachidonic acid pathway, nitric oxide and nuclear factor KB (NF-KB). **Planta Med.,** v. 69, p. 973-983, 2003.

CARNEIRO, F.M. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil, **Ver. Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais**. UEG/Câmpus de Iporá, v.3, n. 2, p.44-75 – jul/dez 2014

CASAGRANDE, F; DARBON, J.M. Effects of structurally related flavonoids on cell cycle progression of human melanoma cells: regulation of cyclin-dependent kinases CDK2 and CDK1. **Biochem. Pharmacol.**, v. 61, n. 10, p. 1205-1215, 2001.

CASIMIRO-JÚNIOR, F.; et al. Substâncias Isoladas de *Pavoni acancellata* (L.) (MALVACEAE). **36º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ)**, Águas de Lindoia-SP, 2013.

CAVALCANTE, et al. .Steroidal and phenolic compounds from *Sidastrum paniculatum*(l.)Fryxell and evaluation of cytotoxic and anti-inflammatory activities**. Quím. Nova***,* 33, 4, pp. 846-849, 2010.

CHANG, C. E; Malvaceae In : **Flora of Taiwan Huang**, T.C. et al. (eds) 2 ed, vol. 3, Editorial Committee, Department of Botany, National Taiwan University, Taipai, Taiwan, pp 746-750, 1993

CHANG, F. R.; et al . Antiplatelet aggregation constituents from *Annona purpurea*. **J. Nat. Prod.**, v. 61, p. 1457-1461, 1998.

CHAVES, O.S. **Estudo fitoquímico e antimicrobiano de duas espécies de Malvaceae: *Pavonia malacophylla* (Link e Otto) Garcke e *Sida rhombifolia* L .** Tese de Doutorado. Universidade Federal da Paraíba ,2016

CHEN, C.-R., et al. Tocopherols and Triterpenoids from *Sida acuta*.**J. Chinese Chemical Soc.**, 54: 41–45, 2007

CHICARO, P.; et al Flavonoids from *Lychnophora passeriana* (Asteraceae): potential antioxidants and UV-protectants. **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 32, p. 239-243, 2004.

CHOI, C.W et al. Antioxidant constituents and a new triterpenoid glycoside fromFlos Lonicerae. **Arch. Pharmacal Res,** v. 30, n. 1, p. 1-7, 2007.

CHOI, J. A.;et al . Induction of cell cycle arrest and apoptosis in human breast cancer cells by quercetin. **Int. J. Oncol.**, v. 19, p. 837-844, 2001.

ÇITOGLOU GS, et al. Antifungal flavonoids from Ballota glandulosissima. **Pharm. Biol.,** v 41 p: 483–486, 2003.

ÇITOGLOU GSet al . Antifungal diterpenoids and flavonoids from Ballota inaequidens. **Pharm Biol**, v. 42 p: 659–663, 2004.

CORVAZIER, E.; MACLOUF, J. Interference of some flavonoids and non-steroidal anti-inflamatory drugs with oxidative metabolism of arachidonic acid by human platelets and neutrophils. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 835, p. 315-321, 1985.

COSTA, D.A. **Constituintes químicos de *Bakeridesia pickelli* (H. Monteiro) e *Herissantia crispa* L. (Brizicky) (Malvaceae)**. 207 p. Doutorado em Química de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2006.

COSTA, D.A.; et al Chemical constituents from *Bakeridesia pickeli i* (H. Monteiro) (Malvaceae) and therelaxant activity of kaempferol-3-O-β-D-(6´´-E-*p*-coumaroyl) glucopyranosideonguinea-pigileum. **Quím. Nova***,* 30, 4, pp. 901-903, 2007.

COSTA, D.A.; et al. First secondary metabolites from *Herissantia crispa* L (Brizicky) and the toxicity activity against *Artemia salina* Leach. **Quím. Nova***, v.* 32, n. 1, pp. 48-50, 2009.

COSTA-LOTUFO LV et al. Antiproliferative effects of several compounds isolated from *Amburana cearensis* A. C. Smith. **Z. Naturforsch**. v.58 p: 675-680, 2003

Coulidiati, T. H, et al, Distinct effects of novel naphtoquinone-based triazoles in human leukaemic cell lines. *J Pharm Pharmacol*, v. 67: p: 1682–1695, 2015

DAE, S. J.; et al. *Compounds obtained from Sida acuta with the potential to induce quinone reductase and to inhibit 7,12-dimethylbenz-[a]anthracene-induced preneoplastic lesions in a mouse mammary organ culture model.* **Arch. Pharm. Res.***,*v 2. n.8*,* p: 585-590, 2003*.*

DAS, N. et al. A new flavonol glucoside from the aerial parts of sida glutinosa. *Asian* ***Nat Prod Res****.* v. 13 n.10. p: 965-71, oct, 2011.

DELLA, L. R.; et al. Anti-inflamatory activity of benzopyrones that are inhibitors of ciclo and lipo-oxygenase. **Pharmacol. Res. Community**, v. 20, n. 5 (Suppl.), p. 91-94, 1988.

DI CARLO, G.; et al . Minireview flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Sci.**, v. 65, n. 4, p. 337-353, 1999.

DIMAS, K.; et al . Citotoxic activity of kaempferol gkycosides against human leukaemic cells lines in vitro. **Pharmacol. Res.**, v. 41, p.85-88, 2000.

DINDA, B, et alThe genus Sida L. a traditional medicine: Its ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological data for commercial exploitation in herbal drugs industry, **J. Ethnopharmacol;**, v 176, p: 135-176, oct, 2015.

DUTRA, M. G. **Plantas medicinais, fitoterápicos e saúde pública: um diagnóstico situacional em Anápolis, Goiás**. 2009. Dissertação (Mestrado em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente) – Centro Universitário de Anápolis, Anápolis 2009. Disponívelem: Acessoem 14.Maio.2016

ELISHA IL; et al. The anti-arthritic, anti-inflammatory, antioxidant activity and relationships with total phenolics and total flavonoids of nine South African plants used traditionally to treat arthritis. **BMC Complement Altern Med**. v.23; n.16.p:307, Aug, 2016.

ESTEVES-SOUZA, A.; et al Citotoxic activities against ehrlich carcinoma and human K562 leukaemia of alkaloids and flavonoid from two solanum species. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 13, n. 6, p. 838-842, 2002.

FERREIRA, M.B.; et al. Plantas daninhas com possibilidades de forrageiras para bovinos em condições de cerrado.**Planta Daninha** v. 7.n.1. p: 41-48, 1984.

FLINIAUX, Ophélie et al. Microwave-assisted extraction of herbacetin diglucoside from flax (Linum usitatissimum L.) seed cakes and its quantification using an RP-HPLC-UV system. **Molecules**, v. 19, n. 3, p. 3025-3037, 2014.

FRYXELL, P. *Sidussidarum* V.The North and Central American species of *Sida*. v. 11. p: 62-91, 1985.

GEBHARDT, R. Inhibition of cholesterol biosynthesis in primary cultured rat hepatocytes by artichoke (Cynara scolymus L.) extracts. **J. Pharmacol.** and Experimental Therapeutics, v.286, p.274-286, 1998.

GOES, A. M. et al .Viabilidade celular de nanofibras de polímeros biodegradáveis e seus nanocompósitos com argila montmorilonita. **Polímeros**, São Carlos , v. 22, n. 1, p. 34-41, 2012 .

GOLD, K. LISTER, C.*In*: ANDERSEN, O.M. MARKAHAM, K.R (ed) **Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications**. Nova York: Taylor & Francis Group, 2006.

GOMES, R. A. et al . Phenolic compounds from *Sidastrummicranthum* (A. St.-Hil.) Fryxell and evaluation of acacetin and 7,4'-Di-O-methylisoscutellarein as motulator of bacterial drug resistence. **Quím. Nova**, São Paulo , v. 34, n. 8, p. 1385-1388, 2011.

GOMES, R.A.; et al Phenolic compounds from *Sida strummicranthum*(a. St.-hil.) Fryxell and evaluationo facacetinand 7,4'-di-o-methylisoscutellarein as motulator of bacterial drug resistence. **Quim. Nova***,* Vol. 34, No. 8, p.1385-1388, 2011B.

GOMES, R.A.; et al. Constituintes químicos de *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl MALVACEAE . 34a **RASBQ**. Florianópolis-SC, 2011A.

GONZÁLEZ-VÁZQUEZ, Rl et al. Pachypodol from Croton ciliato glanduliferus Ort. as water-splitting enzyme inhibitor on thylakoids. **J. Agric. Food Chem.,** v. 54, n. 4, p. 1217-1221, 2006.

GUANATILAKA, L. et al. Studies on Medicinal Plants of Sri Lanka. **Planta Med** v. 3. n. 5. p. 66-72, 1980.

GUARDIA, T et al ., Anti-inflamatory properties os plant flavonoids. Effect of rutin, quercetin and hiperidin on adjuvant arthritis in rat. **Il Pharmacology**, v. 56, p. 683-687.

HAN, Y., Rutin has therapeutic effect on septic arthritis caused by Candida albicans. **Internat Immunopharm.**, v. 9, p. 207-211, 2009.

HARBONE, J. B. The Flavonoids – **Advances in Research since 1986**.1st ed., London, Cahpman& Hall., 1994.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 481-504, 2000.

HAVSTEEN, B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. **Biochem. Pharmacol.**, v. 32, p. 1141-1148, 1983.

HERTOG, M. G. L.; HOLLAND, P. C. H. Potential health effects of the dietary flavonol quercetin. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 50, p. 63-71, 1996.

HOI TM, et al. Flavonoids from *Anoectochilusannamensis* and their anti-inflammatory activity. **Nat. Prod. Commun**.v.11 n5.p: 613-4, 2016

HUONG DT, et al. A new flavone and cytotoxic activity of flavonoid constituents isolated from Miliusa balansae (Annonaceae). **Pharmazie** v 60 p: 627–629, 2005

JEONG HJ, et al Inhibition of aromatase activity by flavonoids. **Arch Pharm Res**. V.22 p:309-312, 2012

JIANG, X; et al . Excellent combination of HPLC-RSD-DAD-ESI/MS and HSCCC experiments to screen and identify radical scavengers from Neo-Taraxacum siphonanthun. **J. Braz. Chem. Soc**. [online]. v.21, n.8, p. 1524-1529, 2010

JORDAN, B.R et al.Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L.) extract. **Food Res. Int.** v 35. Nn.4, p. 351-356, 2002.

JUNG, K. Y.; OH, S. R.; PARK, S. H., ANH, K. S.; LEE, J. J.; LEE, H. K. Anti-complement activity of tiliroside from the flower buds of *Magnolia fargesii*. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 21, n. 10, p. 1077-1078, 1998.

KARKER M, et al. New sulphated flavonoids from *Tamarix africana* and biological activities of Its polar extract**. Planta Med**. Jul 12, 2016.

KATAOKA, M.; et al . Antibacterial action of tryptanthrin and kaempferol, isolated from the indigo plant (*Polygonum tinctorium* Lour.), against *Helicobacter pylori* – infected Mongolian gerbils. **J Gastroenterol.**, v. 36, n. 1, p. 5-9, 2001.

KIM, H. Y. et al. Flavonol glycosides from the leaves of *Eucommia ulmoides* with glycation inhibitory activity. **J. Ethnopharmacol.**, v. 93, p. 227-230, 2004.

KIM, S. H et al Supression of multidrug resistance via inhibition of heat shock factor by quercetin in MDR cells. **EMM**, v. 30, p. 87-92, 1998.

LARDOS, A. The botanical *materia medica* of the *Iatrosophikon*—A collection of prescriptions from a monastery in Cyprus. **J. Ethnopharmacol**., v. 104 N.6, P 387–406, 2006

LEE, S. Y.; et al Flavonoids from the leaves of *Litsea japonica* and their anti-complement activity. **Phytother. Res.**, v. 19, n. 4, p. 273-276, 2005.

LI, L. et al. Herbacetin inhibits inducible nitric oxide synthase via JNK and nuclear factor-κB in LPS-stimulated RAW264. 7 cells. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 765, p. 115-123, 2015..

LIMA, A.L.A. et al . Anti-inflammatory activity and acute toxicity studies of hydroalcoholic extract of Herissantiatiubae. **Rev. bBras. Farmacogn.**, Curitiba , v. 26, n. 2, p. 225-232, Apr. 2016.

LONG, M. **Applications of kidney secreted bone growth factor and pharmaceutical use of flavonol and flavonol glycosides for stimulating the secretion of kidney secreted bone growth factor**. U.S. Patent Application 11/825,765, 7 jul. 2007.

MACHADO, H.; **Atividade dos flavonóides rutina e naringina sobre o tumor ascítico de Erlich "in vivo"**. 2006. 125f. Dissertacão (Mestrado) – Programa de Pós-Graduacão em Bioquímica Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2005.

MACIEL, MAM. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quim. Nova**, v. 25, n. 3, p:429-438, 2002.

MAGANHA EG. **Avaliação da atividade biológica *in vitro* e *in vivo* do extrato etanólico das flores de *Hibiscustiliaceus* L** [Tese]. Programa de Pós-Graduação Genética e Toxicologia Aplicada. Universidade Luterana do Brasil, 2009.

MAHMOOD, N.; et al activity and mechanisms of action of pure compounds isolated from *Rosa damascena*. **BBRC**, v. 229, n. 1579, p. 73-79, 1996.

MAIA, M.S., BICUDO, S.D. Radicais livres, antioxidantes e função espermática em mamíferos: uma revisão Freeradicals, antioxidantandspermfunction in mammals: a review **Rev. Bras. Reprod**. Anim., Belo Horizonte, v.33, n.4, p.183-193, Oct./Dez. 2009. Disponível em www.cbra.org.br

MARTIN, B. V.; FEDELE, A.; FERLAY, P.; GROLIER, E.; ROCK, D.; GRUFFAT, Y.; CHILLIARD, Y. Effects of grass-based diets on the content of micronutrients and fatty acids in bovine and caprine dairy products. *Grassland Science in Europe*, Londres, v. 9, n. 2, p. 876- 886, 2004.

MATLAWSK, I. Investigation of flavonoid compounds of selected species from Malvaceae family. **Herba Pol**, v. 36, n. 3, p. 65-69, 1990.

MATSUDA, H.; et al . Hepatoprotective principles from the flowers of *Tilia argentea* (Linden): Structure requirements of tiliroside and mechanisms of action. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 10, p. 707-712, 2002.

MATSUI, T et al. Luteolin, a flavone, does not suppress postprandial glucose absorption through an inhibition of α-glucosidase action. **Biosci., Biotechnol., Biochem.**, v. 66, n. 3, p. 689-692, 2002.

MEHRI, S et al. Chrysin reduced acrylamide-induced neurotoxicity in both in vitro and in vivo assessments. **Iran Biomed J.**, v. 18, n. 2, p. 101, 2014.

MELO, D.B. et al. Fitoterapia, por que não?. **RBMFC.** v. 7 p. 49:52 Florianópolis, 2012

MELO, J.F.S. **Prospecção fitoquímica e estudo da fase acetato de etila de *Sida santaremnensis* H. Monteiro (Malvaceae).** [Monografia]. Universidade Federal de Campina Grande, 2013.

MENDES, R. M. B.; et al. Estudo do efeito antinociceptivo de *Sida santaremnensis* (Malvaceae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FARMACOLOGIA E TERAPÊUTICA EXPERIMENTAL, 40., 2008, Águas de Lindóia. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <http://asp.sbfte .org.br /pub/media/Setor07_2008.pdf>. Acesso em: 29 mai. 2016.

MIDDLETON, E.; et al ., The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. **Pharmacol. Rev.**, v. 53, p. 673-751, 2000.

MILITÃO, GCG. **Potencial antitumoral de flavonóides isolados de plantas do nordeste brasileiro : estudos preliminares da relação estrutura-atividade citotóxica.** (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Ceará, 2005

MIYAZAWA M, et al . Antimutagenic activity of flavonoids from Pogostemon cablin. **J. Agric. Food Chem.** 48: 642–647, 2000

MIYAZAWA, H; HISAMA, M. Antimutagenic activity of flavonoids from Chrysanthemum morifolium. . **Biosci., Biotechnol., Biochem.**, v. 67, n. 10, p. 2091-2099, 2003.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods,** v.65, p.55-63, 1983

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

MURPHY, K.; et al. **Imunobiologia de Janeway** [recurso eletrônico; tradução Ana Paula Franco Lambert ... [et al.]. – 7.ed. – Porto Alegre : Artmed, 2010

NAKATANI, T. et al Effect of sepsis on activity of pyruvate dehydrogenase complex in skeletal muscle and liver **Americ. Jour. of Physiol.End and Met**. Vol. 250 no. 6, 1986

NASSIRI-ALS, M.; et al. Anticonvulsive effects of intracerebroventicular administration of rutin in rats. Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry, v. 32, p. 989-993, 2008.

NEIDLE, S.; THURSTON, D. E. Chemical approaches to the discovery and development of cancer therapies. **Nat. Rev.,** v.5, p.285-296, 2005.

NOGUCHI, N. NIKI, E. Phenolic antioxidants: A rationale for design and evaluation of novel antioxidant drug for atherosclerosis. **Free Radi Biol and Med.** v. 28 n.10. p. 1538–1546, 2000.

NOGUEIRA, T.B.S.S; et al. First Chemical Constituents from *Cordia exaltata* Lamand Antimicrobial Activity of Two Neolignans. **Molecules**, v. 18 n 9; p.11086-11099, 2013.

NOROOZI, et al . Effects of flavonoids and vitamic C on oxidative DNA damage to human lymphocytes. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 67, p. 1210-1218, 1998.

OLIVEIRA, E. T.; et al. Atividade antiedematogênica de Sida santaremnensis H. Monteiro (Malvaceae) em modelos animais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FARMACOLOGIA E TERAPÊUTICA EXPERIMENTAL,v.40., 2008, Águas de Lindóia. **Anais eletrônicos**. Disponível em: <http; hasp.sbfte.org.br/pub/media/stor 05-2008.pdf>. Acesso em: 18 de mar. 2016.

PALADINI AC, et al. Flavonoids and the central nervous system: from forgotten factors to potent anxiolytic compounds. **J Pharm Pharmacol**. 1999; 51:519-526

PARK, C. H.; et al Quercetin, a potent inhibitor against β-catenin/ Tcf signaling in SW480 cólon cancer cells. **Biochem. Biophys. Res. Commun**., v. 328, p. 227-234, 2005.

PATHAK, D. et al., Flavonoids as medicinal agents: recent advances. **Fitoterapia,** Amsterdam, v. 57, n. 5, p. 371-389, 1991.

PEREIRA, W.L. Ação antiproliferativado flavonoide morina e do extrato da folha de oliveira (Oleaeuropaea L.) contra a linhagem de célula H460. **Rev. Bras. Pl. Med**., Campinas, v.17, n.4, supl. I, p.798-806, 2015.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **J. Nat. Prod.**, v. 63, p. 1035-1042, 2000.

PINTO, A. C. et al . Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Quím. Nova**, v. 25, n. 1, p. 45-61, Mai 2002 .

QIAO, Y et al. Herbacetin induces apoptosis in HepG2 cells: Involvements of ROS and PI3K/Akt pathway. **Food Chem. Toxicol.**, v. 51, p. 426-433, 2013.

QIAO, Y et al. In vitro free radical scavenging and protein oxidation inhibitory effects of herbacetin. **Food Chem. Toxicol**. v. 34, p. 106–110, 2013.

RAMOS, A.A.; et al. Protective effects of ursolic acid and luteolin against oxidative DNA damage include enhancement of DNA repair in Caco-2 cells. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 692, n. 1, p. 6-11, 2010.

RAUH, Laryssa Kathlin. **Avaliação da atividade antiinflamatória tópica da Vernonia scorpioides (Lam) Persons em modelos de inflamação cutânea em camundongos**. 2008. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná, 2008.

RESENDE, F A. et al. Differences in the hydroxylation pattern of flavonoids alter their chemoprotective effect against direct-and indirect-acting mutagens**. Food Chem.**, v. 155, p. 251-255, 2014.

RICHTER, M.; EBERMANN, R.; MARIAN, B. Quercetin-induced apoptosis in colorectal tumor cells: possible role of EGF receptor signaling. **Nutr. Cancer**, v. 34, p. 88-89, 1999.

ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. **Farmacognosia e Farmaco-biotecnologia**, 1. ed. São Paulo: Editorial premier, 1997.

ROBINSON, M.M; ZHANG, X.**The world medicines situation 2011: traditional medicines: global situation, issues and challenges.** Geneva: WHO, 12p, 2011

ROLIM, Y.M. **Estudo Fitoquímico de *Waltheria viscosíssima* (Malvaceae)**. 88 pp. Dissertação/PgPNSB/UFPB, 2015.

ROSOANAIVO, P. et al. Cassinopin, a kaempferol trirhamnoside from *Cassinopismada gascariensis.* **Phytochemistry**, v. 29, n.6, p. 2040-2043, 1990.

SALA, A.; et al. Assement of the radical scanvenger activity of tiliroside. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 461, p. 53-61, 2003.

SALDANHA, A.A.,et al Chemical composition and anti-inflammatory activity of the leaves of *Byrsonima verbascifolia* **J Nat Med** v.70. p: 760.

SALGUERIRO JB, et al. Anxiolytic natural and synthetic flavonoid ligands of the central benzodiazepine receptor have no effect on memory tasks in rats. **Pharmacol Biochem Behav**. 1997; 58:887-891.

SAMARGHANDIAN, S; et al . Chrysin reduces proliferation and induces apoptosis in the human prostate cancer cell line pc-3. **Clinics**, v. 66, n. 6, p. 1073-1079, 2011.

SANTOS, K. F. R.; et al ., Hypolipidaemic effects of neringenin, rutin, nicotinic acid and their associations. **Pharmacol. Res.**, v. 40, n. 6, p. 493-496, 1999.

SANTOS, P.M dos et al . Perfil de flavonoides e avaliação do potencial antioxidante e citotóxico de Bauhinia purpurea (Fabaceae) da região amazônica.**Quím. Nova**, São Paulo , v. 37, n. 1, p. 89-94, 2014 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422014000100017&lng=en&nrm=iso>. access on 16 Oct. 2016. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422014000100017.

SARTORI, M. R. K. et al. Antifungal activity of fractions and two pure compounds of flowers from Wedelia paludosa (Acmela brasiliensis)(Asteraceae). **Die Pharmazie-Int. J. Pharm. Sci**, v. 58, n. 8, p. 567-569, 2003.

SATHISH, R. Sai et al. A fluorescent fluoride ion probe based on a self-organized ensemble of 5-hydroxyflavone–Al (III) complex. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 69, n. 1, p. 282-285, 2008.

SCAMBIA, G.; et al . Quercetin induces type-II estrogen-binding sites in strogen-receptor-negative (MDA-MB231) and estrogen-receptor-positive (MCF-7) human breast cancer cell lines. **Int. J. Cancer**, v. 54, p. 462-466, 1993.

SCHLEMPER, S. R. M.; et al . Atividade antibacteriana de frações semi-purificadas e compostos puros de Wedelia paludosa (Compositae). **Alcance** (Itajaí), v.5, n. 2, p.14-18, 1998.

SEN, G.; MANDAL, S.; et al . Therapeutic use of quercetin in the control of infection and anemia associated with visceral leishmaniasis. **FRBM**, v. 38, p. 1257-1264, 2005.

SHEN, S. C.; et al. In vitro and in vivo inhibitory activities of rutin, woyonin and quercetin on lipopolysaccharide-induced nitric oxide and prostaglandin E (2) production. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 446, p. 187-194, 2002.

SHIN, S et al. Identification of secondary metabolites with antioxidant and antimicrobial activities from Artemisia iwayomogi and Chrysanthemum zawadskii. **J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.**, v. 53, n. 6, p. 716-723, 2010.

SILVA, A.A.R., et al. Protective effect of *Chresta martii* extract against indomethacin-induced gastric lesions in mice **J. Nat. Med.** v 67 p: 143, 2013

SILVA, D.A.; et al. Constituintes Químicos e Atividade Antioxidante de *Sida galheirensis* Ulbr. (Malvaceae). **Quím. Nova**, 29, 6, pp. 1250-1256, 2006.

SILVA, D.A.; et al. Flavonóides glicosilados de *Herissantia tiubae* (K. Schum) Brizicky (Malvaceae) e testes farmacológicos preliminares do canferol 3,7-di-O-a-L-ramnopiranosídeo, **Rev. Bras. Farmacog.**, 15, 1, pp. 23-29, 2005.

SIMÕES, C. M. O.; et al **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1102 p, 2010.

SINGH, A. K.; et al. Medical ethnobotany of the tribals of Sonaghati of Sonbhadra district, Uttar Pradesh, India.**J. Ethnopharmacol.,** v. 81, p. 31-41, 2002.

SMITH, C.; et al . Protection by albumin against the pro-oxidant actions of phenolic dietary components. **Food and Chem. Toxicol.**, v. 30, p. 483-489, 1992.

SONODA, M et al. Cytotoxic activities of flavonoids from two *Scutellaria* plants in Chinese medicine. **J. Ethnopharmacol.**, v. 91, n. 1, p. 65-68, 2004.

SOUZA, G.S.B. Taxonomia do gênero *Sida* L. seção Cordil'oliae (De.) Fryxell (Malvaceae) no Brasil. **Acta Bot. Bras**. v. 12 n.3. p: 263-348,1998

SRIVASTAVA V, et al. Plant-based anticancer molecules: A chemical and biological profile of some important leads. **Bioorg. Med. Chem.** v 12. n. 21, p. 5892–5908, 2005.

STEVENS, P. F. Angiosperm Phylogeny Website. Versão 4, 2003. Disponível em: http://www.mobot.org/MOBOT/research/Apweb/

SUTRADHAR, R.K; et al. Three new flavonol C- Glycosides from *S. cordifolia* Linn, **J of Iran Cheml Soc**, Vol. 4, No. 2, June 2007, 175-181

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009

TAKEUCHI, C. E**studo taxonômico de Abutilon Mill. (Malvoideae Malvaceae) no Estado de São Paulo**. Dissertação (Mestrado) -- Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2011

TAN, W. F.; et al Quercetin, a dietary-derived flavonoid, possesses antiangiogenic potential. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 459, p. 255-262, 2003.

TELES, Y.C.F.; et al. New Sulphated Flavonoids from *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl (Malvaceae). Molecules **Basel. Online**, v. 20, p. 20161-20172, 2015

UEDA, H.; YAMAZAKI, M. Luteolin as an anti-inflammatory and anti-allergic constituent of *Perilla frutescens*. **Biol& Pharm. Bull.**v.25 n.9, p. 1197-1202, 2002.

VON BURG, N., TURCHINOVICH, G., FINKE, D. Maintenance of Immune Homeostasis through ILC/T Cell Interactions. *Frontiers in Immunology*; v. *6*, n. 416, 2015

WAAGE, S. K.; HEDIN, P. A. Biologically-active flavonoids from *Gossypium arboreum*. **Phytochemistry**, v. 23, n. 11, p. 2509-2511, 1984.

WANG, C.J. Protective effects of dried flower extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. against oxidative stress in rat primary hepatocytes**. Food and Chem. Toxicol.**, v: 35, n:12. p:1159-1164 , 1997.

WEY, Y. A.; et al Induction of apoptosis by quercetin: involvement of heat shock protein. **Cancer Res.**, v. 15, p. 4952-4957, 1994.

WORLD CANCER RESEARCH FUND. **Food, Nutrition, and the Prevention of Cancer: A Global Perspective.**Washington**,** DC: American Institute for Cancer Research, 987p, 2007.

XAGORARI, Ai et al. Luteolin inhibits an endotoxin-stimulated phosphorylation cascade and proinflammatory cytokine production in macrophages. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 296, n. 1, p. 181-187, 2001.

YANG, Y. et al. Anti-emetic principles of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.**Phytomedicine**, v. 6, n. 2, p. 89-93, 1999.

YOSHIDA, M.; et al . The effect of quercetin of cell cycle progression and growth of human gastric cancer cells. **Federation of European Biochemical Societies Letters**, v. 260, p. 10-13, 1990.

ZHAO, W. et al. Luteolin inhibits proliferation and collagen synthesis of hepatic stellate cells. **Chin. J. Hepatol.**, v. 10, n. 3, p. 204-206, 2002.

ZHENG, Y.N.; et al . Effects ofcompounds in leaves of *Salix matsudana* on arachidonic acid metabolism**. YakugakuZasshi,** v. 125 (12), p. 1005-1008, 2005.

ZHU, X.F., ZHANG, H.X.; LO, R. Antifungal activity of *Cynara scolymus* L. leaves. **Fitoterapia**, v.76, p.108-111, 2005.