



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

INSTITUTO DE PESQUISA EM FÁRMACOS E MEDICAMENTOS

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS

E SINTÉTICOS BIOATIVOS



WALLACE AMORIM MACHADO DE QUEIROZ

**Estudo fitoquímico e avaliação biológica pioneiros da espécie *Sida ciliaris* L. (Malvaceae
sensu lato)**

JOÃO PESSOA – PB

2022

WALLACE AMORIM MACHADO DE QUEIROZ

**Estudo fitoquímico e avaliação biológica pioneiros da espécie *Sida ciliaris* L. (Malvaceae
sensu lato)**

*Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Produtos Naturais e
Sintéticos Bioativos, do Centro de Ciências da
Saúde, da Universidade Federal da Paraíba,
como requisito para obtenção do título de
Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos
Bioativos.*

Área de concentração: Farmacoquímica.

Orientadora: Profª. Drª. Maria de Fátima Vanderlei de Souza

JOÃO PESSOA – PB

2022

**Catalogação na publicação
Seção de Catalogação e Classificação**

Q3e Queiroz, Wallace Amorim Machado de.
Estudo fitoquímico e avaliação biológica pioneiros
da espécie *Sida ciliaris* L. (Malvaceae sensu lato) /
Wallace Amorim Machado de Queiroz. - João Pessoa, 2022.
101 f. : il.

Orientação: Maria de Fátima Vanderlei de Souza.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. *Sida ciliaris* L. 2. Malvaceae. 3. Estudo
fitoquímico. 4. Fotoproteção solar. 5. Atividade
antibacteriana. I. Souza, Maria de Fátima Vanderlei de.
II. Título.

UFPB/BC

CDU 561.5/.9(043)

WALLACE AMORIM MACHADO DE QUEIROZ

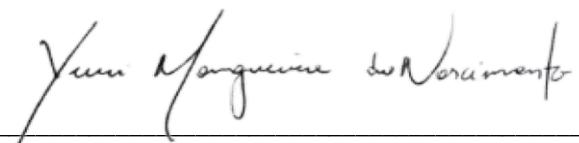
**Estudo fitoquímico e avaliação biológica pioneiros da espécie *Sida ciliaris* L. (Malvaceae
sensu lato)**

Aprovado em:

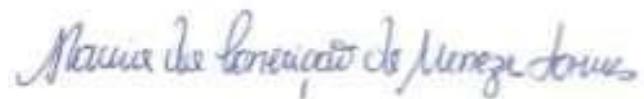
BANCA EXAMINADORA



Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima Vanderlei de Souza
(Orientadora)



Prof. Dr. Yuri Mangueira do Nascimento
(Examinador interno)



Prof^a. Dr^a. Maria da Conceição de Menezes Torres
(Examinador externo)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à **Deus**, que diariamente coloca tantas as bênçãos ao meu dispor que tenho o coração repleto de gratidão. Sempre deixo meu agradecimento a Deus por tudo que Ele colocou no meu caminho.

Ao meu pai (**Washington José de Queiroz**) e a minha mãe (**Socorro Cristine Amorim Machado de Queiroz**), obrigada por tudo que vocês planejaram e fizeram por mim, devo tudo. Foram eles que me proporcionaram esse caminho que levou as minhas conquistas.

À minha namorada **Hallana Pereira Barbosa**, por está sempre do meu lado, por sempre acreditar em mim, por um dia ter cruzado meu caminho e nunca mais ter largado minha mão, pelo apoio incondicional mesmo frente às dificuldades, sei que é a pessoa certa em minha vida.

Aos meus irmãos, **Ester Amorim Machado de Queiroz, Weslley Amorim Machado de Queiroz e Wagner Amorim Machado de Queiroz**, que me ajudaram durante toda a jornada, amo vocês.

Ao meu primo **Arthur Quaresma**, pelo apoio e companheirismo durante todo o mestrado.

Aos amigos, colegas de laboratório e turma que conheci durante a pesquisa: **Ana Laura, Diégina Fernandes, Nikole Durant, Anauara Lima, Vinícius Ferreira, Yanne Celeste, Thalisson Amorim**, e principalmente, **Janderson Albuquerque e Camila Macaúbas**, por terem me recepcionado e me acolhido tão bem e me ajudado sempre que precisei.

À minha orientadora **Prof.^a Dr.^a Maria de Fátima Vanderlei de Souza**, por ter me aceitado como seu aluno e me recepcionado tão bem. Admiro muito sua dedicação e comprometimento com a pesquisa, que mesmo nesse periodo conturbado de pandemia, teve paciência, disponibilidade, dedicação e incentivo, que foram fundamentais para realizar e prosseguir este estudo. Agradeço o apoio incondicional prestado, me ajudando indo para bancada, repassando seus conhecimentos, e por ter se mostrado sempre solícita para sanar minhas dúvidas. As suas críticas construtivas, as discussões e reflexões foram fundamentais ao longo de todo o percurso. Só tenho à agradecer.

À **Prof.^a Dr.^a Yanna Carolina Ferreira Teles**, por sua contribuição na coleta da planta estudada.

À botânica **Prof.^a Dr.^a Maria de Fátima Agra**, por sua contribuição na identificação da espécie estudada.

Ao **Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho**, pela sua contribuição e coordenação nos ensaios de fotoproteção solar detectados para a espécie, pela paciência e pelos conhecimentos passados.

Ao **Prof. Dr. Samuel Cibulski** e a doutoranda **Adrielly Albuquerque** pela contribuição nos ensaios microbiológicos.

À banca examinadora pela disponibilidade em avaliar o trabalho e pelas contribuições do mesmo.

Aos demais professores desta pós-graduação pelos ensinamentos transmitidos, e por terem me norteado quanto aos meus futuros passos como profissional, sendo para mim verdadeiros exemplos de ética e comprometimento.

A todos os funcionários deste programa, em especial: **Carol Mangueira, Yuri Mangueira, Evandro Ferreira, Marcelo Felipe e Roseane Meireles**, que me ajudaram muito durante minha trajetória.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por ter financiado a pesquisa.

Agradeço à todos que torceram por mim. Muito Obrigado!

RESUMO

QUEIROZ, W.A.M. **Estudo fitoquímico e avaliação biológica pioneiros da espécie *Sida ciliaris* L. (Malvaceae sensu lato).** 102 p. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2022.

O uso medicinal de plantas para cura de doenças é uma prática milenar. Essa prática deu à humanidade um grande conhecimento sobre os efeitos terapêuticos e a toxicidade de algumas espécies. Na visibilidade mundial, o Brasil se destaca, pois possui as mais destacadas qualidades diferenciadas de espécies vegetais no mundo. Nesse contexto, o estudo com a espécie *Sida ciliaris* L. da família Malvaceae *sensu lato*, popularmente conhecido como “escova peluda” e “guanxuminha”, teve como objetivo isolar e identificar seus constituintes químicos, bem como avaliar seu potencial fotoprotetor e antibacteriano. As partes aéreas de *S. ciliaris* foram secas e trituradas em moinho mecânico, fornecendo 1,8 Kg de droga vegetal, que foram submetidos à maceração com hexano, hexano /acetato de etila (1:1) e etanol 95%, por 72 horas cada, resultando em seus respectivos extratos. A partir do fracionamento cromatográfico utilizando sílica flash e/ou sephadex LH-20 (Merk) como fases estacionárias e solventes PA como fase móvel, foi possível o isolamento e caracterização estrutural, através de análise dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN de ¹H e ¹³C) Uni e Bidimensional, como também comparações com modelos da literatura, de 4 compostos: uma mistura de feofitinas: (13²-R)-feofitina a (Sc-1a) e (13²-S)-feofitina (Sc-1b) isolada do extrato de Hexano/acetato de etila (1:1); 5,7,3'-trihidroxi-4'-metoxiflavona (Diosmetina) (Sc-2) e a 5,7,3',4'-tetrahidroxiflavona (luteolina) (Sc-3) isoladas da fração metanólica do extrato etanólico bruto, sendo essas inéditas na espécie *S. Ciliares*. Os resultados obtidos para fotoproteção solar dos extratos e fração metanólica, mostraram que as concentrações de 500 e 1000 µg.mL⁻¹ apresentaram-se como potencial fotoprotetor, com FPS > 25, principalmente da fração metanólica, mostrando-se superior ao fator mínimo de proteção solar estabelecido. Porém, a atividade antibacteriana dessas substâncias não se mostraram eficazes frente às cepas gram-positivas *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* e gram-negativos, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella enterica typhimurium*.

Palavras-chave: *Sida ciliaris* L.; Malvaceae; Estudo fitoquímico; Fotoproteção solar; Atividade antibacteriana

ABSTRACT

QUEIROZ, W.A.M. **Pioneering phytochemical study and biological evaluation of the *Sida ciliaris* L. species (Malvaceae *sensu lato*)**. 102 p. Dissertation (Masters in Natural and Synthetic Bioactive Products) – Health Sciences Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa, 2022.

The medicinal use of plants to cure diseases is already an ancient practice, this has given humanity a great knowledge about the therapeutic effects and toxicity of some species. In global visibility, Brazil stands out, as it has the most outstanding differentiated qualities of plant species in the world. In this context, the study with the species *Sida ciliaris* L. from the family Malvaceae *sensu lato*, popularly known as “escova peluda” and “guanxuminha”, aimed to isolate and identify its chemical constituents, as well as to evaluate its photoprotective and antibacterial potential. First, the aerial parts of *S. ciliaris* were dried and ground in a mechanical mill, providing 1.8 kg of plant drug, which were subjected to maceration with hexane, hexane/ethyl acetate (1:1) and 95% ethanol, for 72 hours each, resulting in extractive solutions, which were filtered and concentrated in a rotary evaporator, providing their respective extracts. From the chromatographic fractionation using flash silica and/or sephadex LH-20 (Merk) as stationary phases and PA solvents as mobile phase, it was possible to isolate and structurally characterize, through analysis of the Nuclear Magnetic Resonance spectra (^1H and ^{13}C NMR) Uni and Bidimensional and also comparisons with models from the literature, the compounds: a mixture of pheophytins: (13^2-R)-pheophytin a (*Sc-1a*) and (13^2-S)-pheophytin (*Sc-1b*) isolated from Hexane/ethyl acetate extract (1:1); 5,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavone (Diosmetin) (*Sc-2*) and 5,7,3',4'-tetrahydroxyflavone (luteolin) (*Sc-3*) isolated from the methanolic fraction of the crude ethanol extract, these being unpublished in the species *S. ciliare*s. The results obtained for solar photoprotection of the extracts and methanolic phase, showed that the concentrations of 500 and 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ were presented as photoprotective potential, with $\text{SPF} > 25$, mainly in the methanolic phase, being superior to the minimum factor of established sun protection. However, the antibacterial activity of these substances was not effective against the gram-positive strains *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* and the gram-negative ones, *Klebsiella pneumoniae* and *Salmonella enterica typhimurium*.

Keywords: *Sida ciliaris* L.; Malvaceae; Phytochemical study; Sun photoprotection; antibacterial activity

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APT: Attached Proton Test

CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CC: Cromatografia em Coluna

CCDA: Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CDCl₃: Clorofórmio Deuterado

CD₃OD: Metanol Deuterado

CIM: Concentração Inibitória Mínima

d: Duplo

dd: Duplo dubleto

DEPT: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

EEB: Extrato Etanólico Bruto

EHB: Extrato Hexânico Bruto

EHAB: Extrato Hexânico Acetato Bruto

EtOH: Etanol

FPS: Fator de proteção solar

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Spectroscopy

HMQC: Heteronuclear Multiple Quantum Coherence Spectroscopy

Hz: Hertz

IV: Infravermelho

J: Constante de acoplamento

LMCA: Laboratório Multusuário de Caracterização e Análise

m: *meta*

m: Multipletos

MeOH: Metanol

MHz: Megahertz

MS: Ministério da Saúde

OMS: Organização Mundial de Saúde

o: *orto*

p: *para*

PA: Para Análise

RMN de ^1H : Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

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

s: Singletos

UV: Ultravioleta

δ : Deslocamento químico em ppm

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Classificação filogenética da família Malvaceae <i>sensu lato</i>	26
Esquema 2. Obtenção dos extratos Brutos de <i>Sida ciliaris</i>	45
Esquema 3. Fracionamento cromatográfico do extrato Hexânica/Acetato(1:1) Bruto de <i>S. ciliaris</i>	46
Esquema 4. Fracionamento cromatográfico do extrato Etanólico Bruto de <i>S. ciliaris</i>	48

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição geográfica da Família Malvaceae <i>sensu lato</i> , representada pelas áreas amarelas em destaque no mapa	27
Figura 2. Distribuição geográfica do gênero <i>Sida</i> L., representada pelas áreas amarelas em destaque no mapa	28
Figura 3. Distribuição geográfica da espécie <i>Sida ciliaris</i> L., representada pelas áreas amarelas em destaque no mapa	36
Figura 4. Detalhes botânicos da espécies <i>Sida ciliaris</i> L	37
Figura 5. Radiações eletromagnéticas e seus comprimentos de onda	38
Figura 6. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de <i>Sc-1</i>	59
Figura 7. Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre δ_{H} 7,20 e 9,70 ppm(δ , CDCl_3 , 400 MHz) de <i>Sc-1</i>	59
Figura 8. Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre δ_{H} 3,90 e 6,70 ppm(δ , CDCl_3 , 400MHz) de <i>Sc-1</i>	60
Figura 9. Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre δ_{H} 3,10 e 3,95 ppm(δ , CDCl_3 , 400 MHz) de <i>Sc-1</i>	60
Figura 10. Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre δ_{H} 0,65 e 1,85 ppm(δ , CDCl_3 , 400 MHz) de <i>Sc-1</i>	61
Figura 11. Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de <i>Sc-1</i>	61
Figura 12. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° na região entre δ_{C} 88,0 e 135,0 ppm(δ , CDCl_3 , 100 MHz) de <i>Sc-1</i>	62
Figura 13. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° na região entre δ_{C} 49,0 e 67,0 ppm(δ , CDCl_3 , 100 MHz) de <i>Sc-1</i>	62
Figura 14. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° na região entre δ_{C} 9,0 e 43,0 ppm(δ , CDCl_3 , 100 MHz) de <i>Sc-1</i>	63
Figura 15. Espectro de RMN ^{13}C -BB (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de <i>Sc-1</i>	63
Figura 16. Espectro de RMN ^1H (δ , CD_3COD , 400 MHz) de <i>Sc-2</i>	69
Figura 17. Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre δ_{H} 6,90 e 7,70 ppm(δ , CD_3COD , 400 MHz) de <i>Sc-2</i>	69

Figura 18. Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre δ_{H} 5,90 e 6,60 ppm (δ , CD ₃ COD, 400 MHz) de <i>Sc-2</i>	70
Figura 19. Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre δ_{H} 3,60 e 4,30 ppm (δ , CD ₃ COD, 400 MHz) de <i>Sc-2</i>	70
Figura 20. Espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CD ₃ COD, 100 MHz) de <i>Sc-2</i>	71
Figura 21. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT na região entre δ_{C} 138 e 190 ppm (δ , CD ₃ COD, 100 MHz) de <i>Sc-2</i>	71
Figura 22. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT na região entre δ_{C} 45 e 135 ppm (δ , CD ₃ COD, 100 MHz) de <i>Sc-2</i>	72
Figura 23. Espectro HSQC (δ , CD ₃ COD, 400 e 100 MHz) de <i>Sc-2</i>	72
Figura 24. Expansão do espectro HSQC na região entre δ_{H} 5,90 e 7,60 ppm e entre δ_{C} 70,0 e 150,0 ppm (δ , CD ₃ COD, 400 e 100 MHz) de <i>Sc-2</i>	73
Figura 25. Expansão do espectro HSQC na região entre δ_{H} 2,50 e 4,80 ppm e entre δ_{C} 25,0 e 90,0 ppm (δ , CD ₃ COD, 400 e 100 MHz) de <i>Sc-2</i>	73
Figura 26. Espectro HMBC (δ , CD ₃ COD, 400 e 100 MHz) de <i>Sc-2</i>	74
Figura 27. Expansão do espectro HMBC na região entre δ_{H} 5,80 e 7,70 ppm e entre δ_{C} 70,0 e 200,0 ppm (δ , CD ₃ COD, 400 e 100 MHz) de <i>Sc-2</i>	74
Figura 28. Expansão do espectro HMBC na região entre δ_{H} 3,60 e 4,16 ppm e entre δ_{C} 125,0 e 200,0 ppm (δ , CD ₃ COD, 400 e 100 MHz) de <i>Sc-2</i>	75
Figura 29. Espectro de RMN ^1H (δ , CD ₃ OD, 400 MHz) de <i>Sc-3</i>	80
Figura 30. Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre δ_{H} 5,9 e 7,7 ppm (δ , CD ₃ OD, 400 MHz) de <i>Sc-3</i>	80
Figura 31. Espectro de RMN ^{13}C (δ , CD ₃ OD, 100 MHz) de <i>Sc-3</i>	81
Figura 32. Expansão do espectro de RMN ^{13}C na região entre δ_{C} 130,0 e 196,0 ppm (δ , CD ₃ OD, 100 MHz) de <i>Sc-3</i>	81
Figura 33. Expansão do espectro de RMN ^{13}C na região entre δ_{C} 85,0 e 135,0 ppm (δ , CD ₃ OD, 100 MHz) de <i>Sc-3</i>	82
Figura 34. Espectro HSQC (δ , CD ₃ COD, 400 e 100 MHz) de <i>Sc-3</i>	82
Figura 35. Expansão do espectro HSQC na região entre δ_{H} 6,1 e 7,5 ppm e entre δ_{C}	83

60,0 e 190,0 ppm (δ , CD₃COD, 400 e 100 MHz) de *Sc-3*

Figura 36. Espectro HMBC (δ , CD₃COD, 400 e 100 MHz) de *Sc-3* 83

Figura 37. Expansão do espectro HMBC na região entre δ_H 5,60 e 7,90 ppm e entre δ_C 70,0 e 220,0 ppm (δ , CD₃COD, 400 e 100 MHz) de *Sc-3* 84

Figura 38. Resultado dos halos de inibição para as substâncias isoladas de *S. ciliaris* L. 87

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Alguns constituintes químicos isolados e identificados em espécies do gênero <i>Sida</i>	30
Quadro 2. Estruturas dos constituintes químicos isolados e identificados em espécies do gênero <i>Sida</i> , citados no Quadro 1	32
Quadro 3. Substâncias isoladas das partes aéreas de <i>Sida ciliaris</i> L.	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Relação efeito eritemogênico (EE) versus intensidade da radiação (I) conforme o comprimento de onda	49
Tabela 2. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de <i>Sc-1</i> (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) com os modelos Mo-1 (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) (FERNANDES, 2021) e Mo-2 (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) (FERNANDES, 2021)	56
Tabela 3. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de <i>Sc-1</i> (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) com os modelos Mo-1 (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) (FERNANDES, 2021) e Mo-2 (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) (FERNANDES, 2021)	58
Tabela 4. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de <i>Sc-2</i> (δ , CD_3OD , 400 e 100 MHz) com os modelos Mo-1 (δ , CD_3OD , 200 e 50 MHz) (SILVA, 2004) e Mo-2 (δ , Acetona- d_6 , 500 e 125 MHz)	67
Tabela 5. Compilação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C , HSQC e HMBC de <i>Sc-2</i> (δ , CD_3OD , 400 e 100 MHz)	68
Tabela 6. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de <i>Sc-3</i> (δ , CD_3COD , 400 MHz) com modelo da literatura Mo-1 (δ , CD_3OD , 200 e 50 MHz)	78
Tabela 7. Compilação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C , HSQC e HMBC de <i>Sc-3</i> (δ , CD_3OD , 400 e 100 MHz)	79
Tabela 8. Resultados de FPS para os extratos e fase metanólica nas concentrações indicadas	85
Tabela 9. Resultado para o ensaio disco-difusão das substâncias isoladas frentes aos micro-organismos testados	88
Tabela 10. Resultado da avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) das substâncias isoladas frentes aos micro-organismos testados	88

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
2 OBJETIVOS.....	21
2.1 Objetivo geral.....	22
2.2 Objetivo específico.....	22
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	23
3.1 Relevância dos produtos naturais.....	24
3.2 Considerações sobre a família Malvaceae <i>sensu lato</i> A. Juss.....	25
3.3 Considerações sobre o gênero <i>Sida</i> L.....	28
3.4 Considerações sobre a espécie <i>Sida ciliaris</i> L.....	38
3.5 Aspectos gerais sobre fotoproteção solar.....	37
3.6 Aspectos gerais sobre Atividade antimicrobiana.....	40
4 METODOLOGIA.....	42
4.1 Levantamento bibliográfico.....	43
4.2 Coleta e identificação do material botânico.....	43
4.3 Estudo fitoquímico.....	43
4.3.1 Isolamento e purificação dos constituintes químicos de <i>Sida ciliaris</i>.....	43
4.3.2 Caracterização estrutural das substâncias isoladas.....	44
4.3.3 Processamento da planta.....	44
4.3.4 Obtenção dos extratos brutos das partes aéreas de <i>Sida ciliaris</i>.....	45
4.4 Fracionamento cromatográfico do extrato hexano/acetato (1:1) bruto das partes aéreas de <i>Sida ciliaris</i> L.....	45
4.5 Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Sida ciliaris</i> L.....	47
4.6 Avaliação do Fator de Proteção Solar do EHB, EHAB, EEB e de sua fração metanólica de <i>Sida ciliaris</i> L.....	49
4.7 Ensaios microbiológicos.....	50
4.7.1 Ensaio disco-difusão.....	50
4.7.2 Determinação da concentração inibitória mínima.....	51
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
5.1 Substâncias isoladas das partes aéreas de <i>Sida ciliaris</i> L.....	53
5.2 Caracterização estrutural das substâncias isoladas de <i>S. Ciliare</i>s L.....	54

5.2.1 Caracterização estrutural de <i>Sc-1</i>	54
5.2.2 Caracterização estrutural de <i>Sc-2</i>	64
5.2.3 Caracterização estrutural de <i>Sc-3</i>	76
5.3 Avaliação fotoprotetora dos extratos e fases de <i>Sida ciliaris</i>.....	85
5.4 Avaliação microbiológica das substâncias isoladas de <i>Sida ciliaris</i>.....	87
6 CONCLUSÃO.....	90
REFERÊNCIAS.....	92

01 | INTRODUÇÃO

Acredita-se que o uso milenar de plantas medicinais para curar doenças forneceu à humanidade um amplo conhecimento dos efeitos terapêuticos e da toxicidade de certas espécies. Apesar do uso tradicional de plantas, apenas um número relativamente pequeno de espécies da biodiversidade no planeta possui pesquisas para apoiar seu uso terapêutico, eficácia e segurança (FIRMINO et al., 2011).

Os produtos naturais têm grande importância na área da saúde, visto que cerca de 60% de todos os princípios ativos encontrados nas formulações dos medicamentos são originários de forma direta ou indireta de um produto natural (NEWMAN; CRAGG, 2020).

Nas últimas décadas, várias plantas medicinais estão sendo utilizadas para a extração de compostos bioativos naturais, uma vez que as drogas semissintéticas e sintéticas apresentam impacto negativo de longo prazo (SUBBULAKSHMI et al. 2012). Os compostos bioativos naturais são pequenas moléculas sintetizadas por plantas, microorganismos marinhos ou microrganismos associados a plantas, como endófitos (SCHOUTEN, 2019a).

O Brasil é uma nação que engloba uma rica biodiversidade, contabilizando cerca de 20% de todas as espécies vivas conhecidas no mundo, disseminadas em alguns biomas vitais, como a Amazônia e a Mata Atlântica, sendo uma das nações com maior potencial para fornecer novos produtos terapêuticos (VALLI et al., 2013; MARTINS et al., 2015).

Diversos extratos e óleos vegetais de espécies da flora brasileira são utilizados em produtos cométicos, como protetores solares, devido à atividade fotoprotetora exercida pelos compostos fenólicos, como por exemplo flavonoides. Desta forma, numerosas plantas têm um potencial crítico para conter os impactos nocivos da luz do dia a um custo mais baixo, uma vez que é natural e sustentável (CARVALHO et al., 2015; MEDEIROS et al., 2021).

Malvaceae sensu lato é uma família encontrada em todo o mundo, compreendendo cerca de 250 gêneros e 4300 espécies, distribuída principalmente em áreas tropicais (FIRMINO, 2018). Os compostos naturais isolados de espécies de Malvaceae são empregados em todo o mundo para o tratamento de doenças como asma e gastrite, possuindo diversas atividades comprovadas cientificamente como: antioxidantes, antiinflamatórias e antibacterianas (GOMES, et al. 2016), como também, substâncias isoladas de algumas de suas espécies mostraram atividades fotoprotetora (SOUSA et al, 2020)

Sida L. é um dos gêneros mais numerosos da família Malvaceae. Suas espécies são usadas na medicina tradicional como agentes anti-hipertensivos, possuindo também atividade vasorrelaxante (CHAVES et al., 2013 e 2017), potencial analgésico (KONATE et al., 2012b), antioxidante (SILVA et al 2006), atividade antiinflamatória e analgésica (KUMAWAT et al., 2012a, 2012b), entre outras.

Tomando como base os estudos realizados por nossa equipe com espécies do gênero *Sida* (SILVA et al, 2006; TELES et al, 2014, 2015, 2016; FERNANDES et al, 2018; CHAVES et al., 2013 e CHAVES et al., 2017) e as suas inúmeras atividades, optamos por realizar o primeiro estudo fitoquímico e avaliação microbiológica e fotoprotetora das partes aéreas da espécie *Sida ciliaris* L., denominada popularmente por “escova peluda” (FERREIRA, 2016), “guanxuminha” (DURIGAN et al, 2018), sendo o seu infuso usado pela medicina tradicional para tratar doenças renais.(OROZCO-MARTÍNEZ et al, 2020).

02 | OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Realizar o estudo fitoquímico da espécie *Sida ciliaris* L., visando contribuir com o conhecimento quimiotaxonômico da família Malvaceae *Sensu lato*, e explorar seu potencial fotoprotetor e antibacteriano

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Isolar, purificar e caracterizar estruturalmente os constituintes químicos das partes aéreas de *Sida ciliaris* L., buscando-se conhecer, através de métodos cromatográficos e espectroscópicos, o perfil de metabólitos secundários produzidos pela espécie;
- ✓ Avaliar o potencial fotoprotetor dos extratos e fase através de espectrofotômetro numa faixa de comprimento de onde de 290 a 320 nm;
- ✓ Avaliar o potencial microbiológico das substâncias isoladas contra 4 linhagens bacterianas patogênicas por meio do ensaio disco-difusão e ensaio de microdiluição através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (MIC).

03 |

FUNDAMENTAÇÃO
TEÓRICA

3.1 Relevância dos produtos naturais

A utilização de plantas para reduzir e remediar as diferentes infecções que afigiam as ordens sociais primitivas vem avançando ao lado da própria humanidade, sendo considerada uma das práticas mais arcaicas utilizadas pelo homem, servindo como premissa crítica para concepções lógicas dentro do mundo moderno. (FIRMINO et al, 2011).

Os vegetais biossintetizam uma variedade de compostos químicos denominados de metabólitos primários e secundários. Esses compostos atuam para manter os exercícios fisiológicos das plantas, além de protegê-las da animosidade externa, como predadores, organismos microscópicos e criaturas que se alimentam dessas plantas (DUARTE et al., 2015).

Os primeiros isolamentos desses metabólitos aconteceram no Reino Unido, no século XIX, com compostos ácidos e bases orgânicos, sendo estes posteriormente chamados de alcalóides. Também naquela época, a morfina, quinina e estricnina estavam sendo isolados de vegetais. Esse fato trouxe os produtos naturais para uma nova era, pois substâncias provenientes de plantas podiam ser purificadas, estudadas e gerenciadas em dosagens exatas. (MENEZES-FILHO; CASTRO, 2019).

Nesse contexto, estudos para identificação de metabólitos secundários em plantas são fundamentais para o avanço de bioproductos. Por isso, é fundamental a realização de estudos fitoquímicas, farmacológicas e/ou biológicos que garantam que os conhecimentos científicos sejam repassados à população e garantam o seu uso com segurança na possível utilização dessas plantas terapêuticas (GUIZZO et al, 2015).

Em termos de investigação e avanço de novas drogas, a exploração de compostos ativos em plantas medicinais aumentou muito nos últimos anos, uma vez que alguns componentes vegetais isolados podem apresentar propriedades bioativas, como compostos fenólicos, flavonóides, taninos, alcalóides (FERNANDES et al, 2020).

Alguns trabalhos relatam que estudos com extratos de espécies vegetais refletem em focos fundamentais, tais como: desenvolvimentos de novas drogas, dados sobre a viabilidade e segurança dessas espécies com uso etnomedicinal, revelação de novos usos terapêuticos e comprometimento com as informações da memória químico-biológica de espécies de plantas. Nesse cenário, pesquisas de caracterização fitoquímica são de extrema importância, visto que o reconhecimento de metabólitos secundários da planta pode direcionar suas atividades

concebíveis, tais como ação citotóxica, antioxidante, antiinflamatória, entre outras (GOMES et al., 2016)

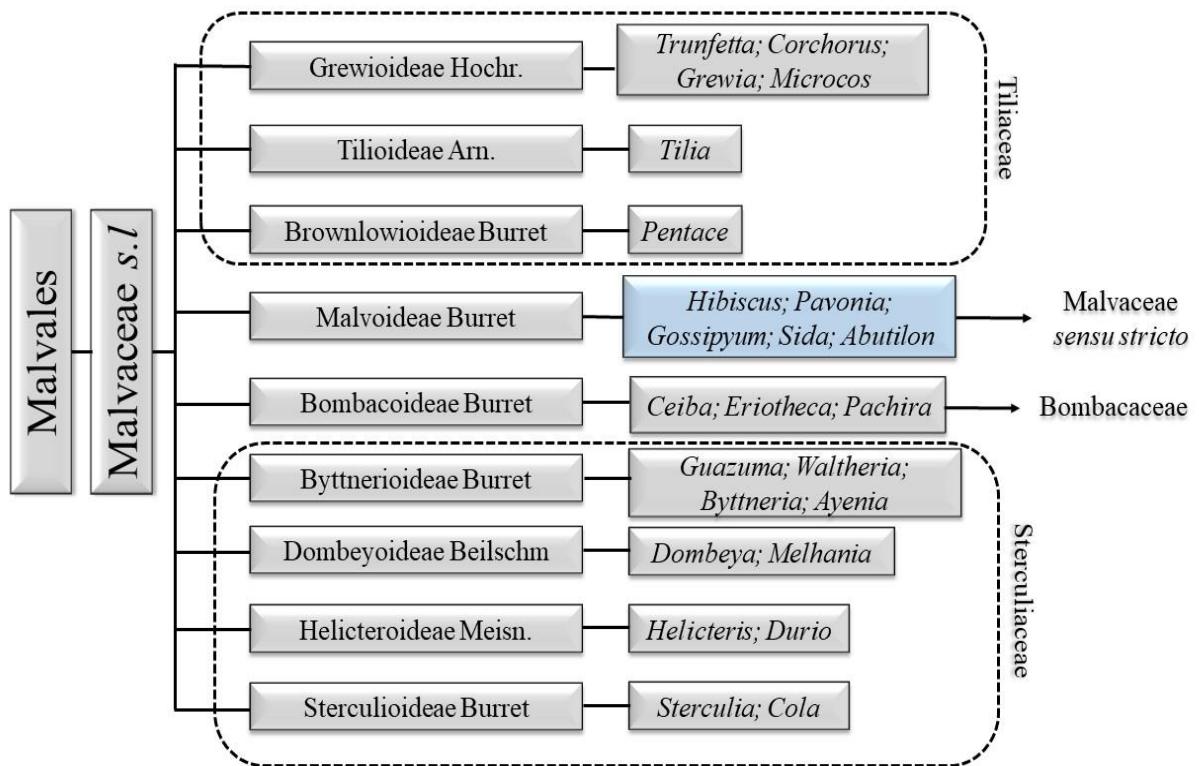
Neste contexto, a família Malvaceae *sensu lato* vêm despertando grande interesse no meio científico, devido sua grande diversidade química e biológica (PORDEUS, 2016; GOMES et al. 2015; TELES et al. 2015; CHAVES et al., 2017; LIMA; CONCEIÇÃO, 2013; ALVES et al., 2011; FERNANDES, 2021) e com várias espécies utilizadas na medicina tradicional, sendo assim, de suma importância investigar seus metabólitos secundárias ainda não exploradas (KONNO; FERNANDES-JÚNIOR, 2017).

3.2 Considerações sobre a família Malvaceae *sensu lato* A. Juss.

Segundo Alves et al. (2011) Malvaceae *sensu stricto* (s.str.) pertence à ordem Malvales (sensu Cronquist 1988), um grupo monofilético, juntamente com outras três famílias estreitamente relacionadas, Bombacaceae, Sterculiaceae e Tiliaceae. Entretanto esta formação sempre foi alvo de conflitos de circunscrição entre vários autores (FRYXELL, 2007). A partir de estudos baseados em dados moleculares associados com dados morfológicos, anatômicos e biogeográficos, foram apresentadas Bombacaceae, Sterculiaceae e Tiliaceae como grupos parafiléticos, sendo apenas Malvaceae s.str. um grupo monofilético. Com base nesses resultados, foi feita a inclusão das subfamílias Bombacaceae, Tiliaceae e Sterculiaceae, nas Malvaceae *sensu lato* (s.l.) (TAKEUCHI, ESTEVES, 2017). Esta proposta foi amplamente aceita e é a utilizada atualmente (APG IV, 2016).

De acordo com o conceito atualmente aceito para Malvaceae *sensu lato*, esta família engloba nove subfamílias: Bombacoideae, Byttnerioideae, Dombeyoideae, Grewioideae, Helicteroideae, Malvoideae, Sterculioideae, Tilioideae e Brownlowioideae, como mostra no esquema 1, pág. 27 (Adaptado de APG IV, 2016).

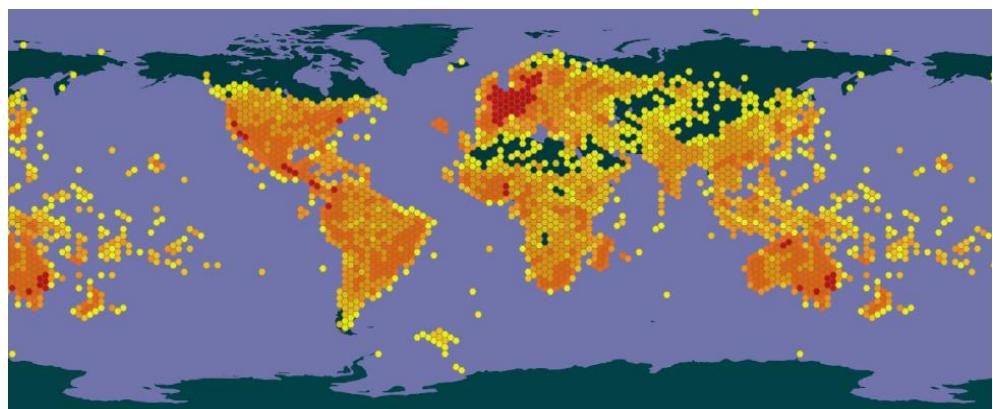
Esquema 1. Classificação filogenética da família Malvaceae *sensu lato*



Fonte: Adaptado de APG IV, 2016.

Malvaceae (*s.l.*) é uma família constituída de ervas, subarbustos, arbustos, lianas e árvores de pequeno e grande porte. Está distribuída nas regiões tropicais e temperadas do globo, sendo predominantemente pantropical, tendo a América do Sul como o centro de riqueza específica (Figura 1, pág. 28) (SOUZA; LORENZI, 2012). Representada por aproximadamente 250 gêneros e 4300 espécies distribuídas em todo o mundo (FIRMINO, 2018). No Brasil cerca de 80 gêneros e 840 espécies, distribuídas em todos os domínios fitogeográficos, sendo 443 espécies endêmicas, fato este que ressalta a importância de Malvaceae na flora brasileira (BOVINI, 2020; FERNANDES, 2021; NASCIMENTO et al., 2020).

Figura 1. Distribuição geográfica da Família Malvaceae *sensu lato*, representada pelas áreas amarelas em destaque no mapa.



Fonte: <https://www.gbif.org/species/6685>

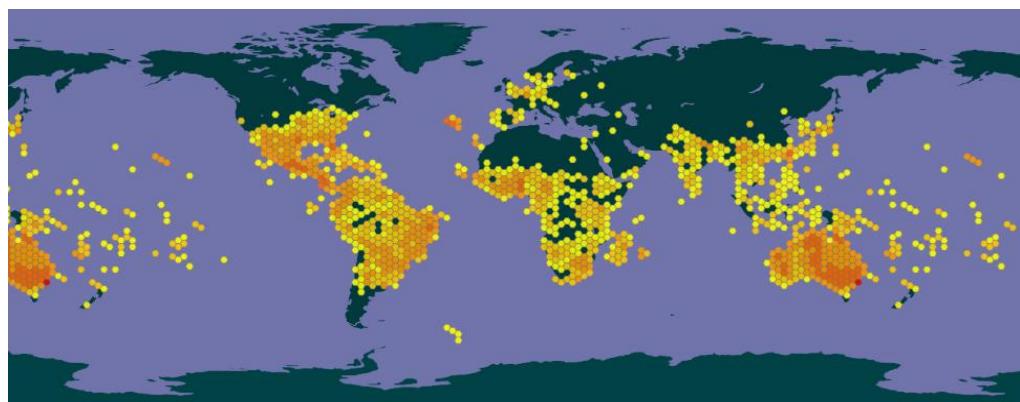
A maioria das plantas desta família tem folhas alternas, básicas ou compostas, arestas inteiras ou serrilhadas, com nervuras auxiliares que em geral não chegam às extremidades da folha. Suas estípulas, inflorescências pontiagudas ou racemosas, regularmente reduzidas a uma única flor, sendo as flores em regra vistosas (SOUZA; LORENZI, 2012).

Algumas espécies pertencentes à Malvaceae apresentam valor econômico, como ornamentais (hibisco: *Hibiscus rosa-sinensis* L.; lanterna-japonesa: *Abutilon* spp.; malvavisco: *Malvaviscus arboreus* Cav.; paineira: *Ceiba speciosa* A. St.-Hil. Ravenna) e como fonte de fibras naturais (algodão: *Gossypium hirsutum* L.), e como alimentícias, destaca-se o quiabo (*Abelmoschus esculentus* L.) utilizado em várias receitas culinárias brasileiras. Outras espécies denominadas de vinagreira (*Hibiscus acetosella* Welw. ex Hiern; *H. sabdariffa* L.) são utilizadas para chás, sucos, geleias e patês, sendo denominadas de plantas alimentícias não convencionais (KINUPP; LORENZI, 2014). Como medicinais, cítase por exemplo espécies estudadas por nossa equipe dos gêneros *Sida*, *Malva* sp., *Wissadula*, *Helicteres* L., e *Waltheria* L., utilizadas como antitérmicos, larvicida, antiespasmódicas, antissifilíticos, antinflamatórios, antimicrobiana e ação hipotensora (SABA, 2007; FERNANDES, 2021; TELES, 2015; CHAVES et al., 2013; CHAVES et al., 2017).

3.3 Considerações sobre o gênero *Sida* L.

O gênero *Sida* L. é um dos mais diversos da família Malvaceae, com mais de 250 espécies distribuídas ao redor do mundo (Figura 2, pág. 29), 189 delas ocorrendo nas Américas e 113 no Brasil (BRANDÃO et al., 2017; SOBREIRA, 2019; RODRIGUES; OLIVEIRA, 2020), sendo identificadas cerca de 108 espécies, destas 65 são endêmicas, encontradas mais facilmente nas regiões Nordeste e Sul do nosso território e, em menor proporção nas demais regiões do Brasil (BOVINI, 2015; NASCIMENTO et al, 2020).

Figura 2. Distribuição geográfica do gênero *Sida* L., representada pelas áreas amarelas em destaque no mapa.



Fonte: <https://www.gbif.org/species/ 3152100>

As plantas do gênero *Sida* são ervas anuais ou perenes, como arbustos, com 0,5 - 2,0 m de altura com pelos estrelados, suas folhas são simples, estreitamente ovaladas a lanceoladas com lâmina foliar inteira e sem nectarinas foliares. As flores são solitárias com cálice campanulado ou em forma de taça e corola amarela ou branca. Os frutos são 5 carpelados com mericarpos delgados e cálices relativamente grandes que envolvem e ocultam os frutos (DINDA et al, 2015).

Morfologicamente, *Sida* se distingue de outros gêneros Malvaceae por duas características principais, um cálice comumente com 10 veias, e esquizocarpo frutas com 5 a 10 mericarpos de uma semente (BRANDAO et al., 2017; RODRIGUES; OLIVEIRA, 2020).

Algumas espécies têm grande importância farmacológica, onde são utilizadas no tratamento de diversos doenças, como asma, úlceras, infecções parasitárias, dores de cabeça e doenças inflamatórias, entre outras (DINDA et al., 2015; AHMED et al., 2018; RODRIGUES; OLIVEIRA, 2020). Diante disso, várias estudos têm sido desenvolvidos para investigar as substâncias responsáveis pelas diversas atividades biológicas e farmacológicas (JINDAL et al., 2012; CHAVES et al., 2013; BIFTU et al., 2014).

De acordo com a literatura, 231 constituintes químicos foram relatados para *Sida*, sendo os de maior predominância alcaloides, flavonoides, ácido graxos e terpenoides. Com destaque para os relatos das atividades biológicas e farmacológicas dos alcaloides e flavonoides (DINDA et al., 2015; RODRIGUES; OLIVEIRA, 2020).

Estudos anteriores demonstraram o potencial farmacológico de várias espécies de *Sida*. *Sida alba* L., por exemplo, possui propriedades atividade antibacteriana (KONATE et al., 2012a). *Sida galheirensis* com atividade antioxidante (SILVA et al., 2006), *Sida acuta* como antibacteriana, antiplasmódial, antioxidante e citotóxica (KAROU et al. 2007) e *Sida rhombifolia* com atividade vasorelaxante (CHAVES et al., 2013 e 2017). *Sida cordifolia* e *Sida acuta* Burm. f. apresentam potencial analgésico (KONATE et al., 2012b). *Sida cordata* Burm. f. tem ação hipoglicêmica (SHAH E KHAN, 2014), e *S. tiagii* Bhandari que atua como antiinflamatório e analgésico (KUMAWAT et al., 2012a, 2012b).

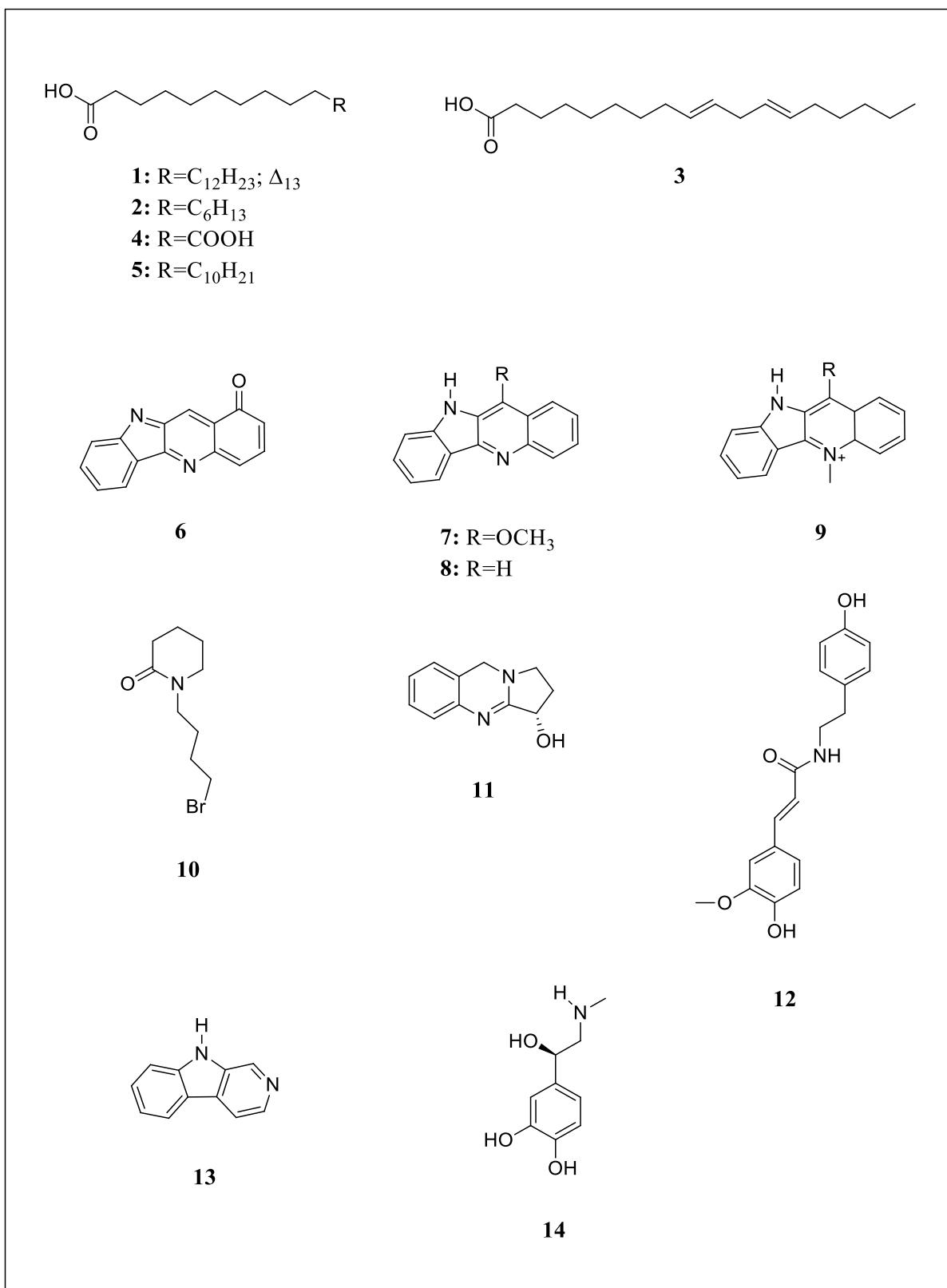
O quadro 1 (pág. 31) elenca alguns constituintes químicos e suas estruturas (Quadro 2, pág. 33) relatados na literatura para espécies do gênero *Sida*, como por exemplo: alcaloides indoquinolínicos (CHAVES et al., 2013 e 2017), ácidos graxos (MAH et al. 2017; CHINONSO AND EMEKA, 2017; KUMAR et al., 2019), esteroides, flavonoides, triterpenos, como mostrado abaixo (KUMAR et al., 2019, CHAVES et al., 2013, 2017).

Quadro 1. Alguns constituintes químicos isolados e identificados em espécies do gênero *Sida*

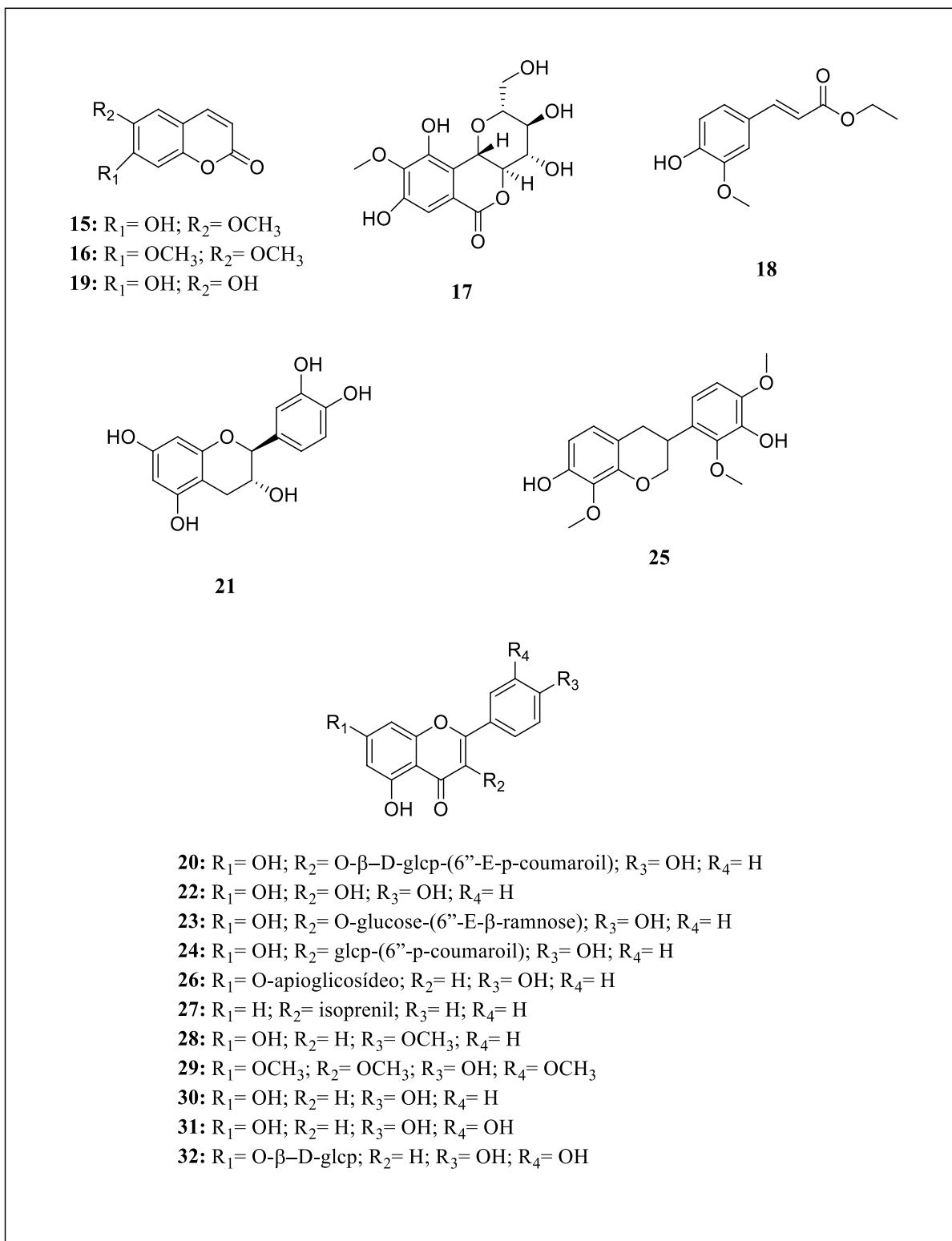
Classe metabólica	Constituinte Químico	Referências
Ácidos graxos	Ácido 13-docosenóico (1); Ácido palmítico (2); Ácido linoléico (3); Áciso undecanodióico (4); Ácido eicosanóico (5).	MAH et al. 2017; CHINONSO AND EMEKA, 2017; KUMAR et al., 2019
Alcaloides	Quindolinona (6) ; 11-Metóxi-quindolina (7); Quindolina (8); Sal de criptolepina (9); 1-(4-Bromobutil)-2-piperidinona (10); Vasicina (11); N-Feruloliltiramina (12); Norhamano (13); Epinefrina (14)	CHAVES et al., 2017; GANESH AND MOHANKU- MAR, 2017; ROSA et al., 2015 e 2018a; KUMAR et al., 2019; SOBREIRA, 2019
Cumarinas	Escopoletina (15); Escoparona (16); Bergenina (17); Etoxi-ferulato (18); Esculetina (19)	CHAVES et al., 2017; KUMAR et al., 2019; SOBREIRA, 2019
Flavonoides	Canferol-3-O- β -D-(6"-E-p-coumaroil)-glucopiranosideo (tilirosídeo) (20); Catequina (21); Canferol (22); Canferol-3-O- β -D-glucose-6"- β -D-ramnose (23); Canferol-3-(6-p-Coumaroil) glucopiranosídeo (24); Duartina (25); Apiina (Apigenina 7-O-apioglucosídeo) (26); 5-Hidroxi-3-isoprenil flavona (27); Acacetina (28); 5,4'-diidroxi-3,7-3'-trimetoxiflavona (29); 5,7,4'-triidroxiflavona (apigenina) (30); 5,7,3',4'-tetraidroxiflavona	CHAVES et al., 2013 e 2017; ROSA et al., 2015 e 2018a; SILVA et al, 2006; SUTRADHAR et al., 2008; SHAH et al. 2017; KUMAR et al., 2019

	(luteolina) (31); luteolina-7-glicosídeo (cinarosídeo) (32)	
Terpenos e esteroides	Lupenona (33); Lupeol (34); Estigmasterol (35); β -Sitosterol (36); Ecdisona (37); 20-Hidroxiecdisona (38)	MAH et al. 2017; HALILU et al. 2016; ROSA et al., 2015, 2018a e 2018b; KUMAR et al., 2019
Outros	Vitamina D3 (39); Vitamina E (40); Desoxiguanosina (41); Guanosina (42); 6-Mercaptopurina (43); Tolueno (44)	GANESH AND MOHANKU- MAR, 2017; CHINONSO AND EMEKA, 2017; KUMAR et al., 2019

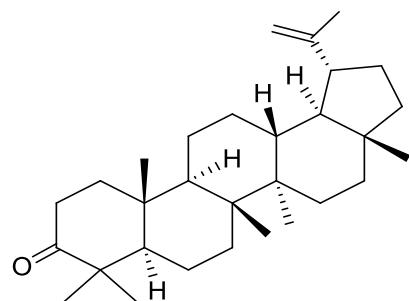
Quadro 2. Estruturas dos constituintes químicos isolados e identificados em espécies do gênero *Sida*, citados no Quadro 1



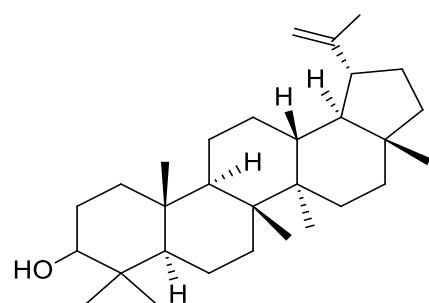
Quadro 2 (continuação). Alguns constituintes químicos isolados e identificados em espécies do gênero *Sida*, citadas no Quadro 1



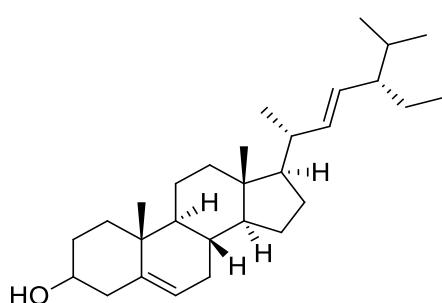
Quadro 2 (continuação). Alguns constituintes químicos isolados e identificados em espécies do gênero *Sida*, citadas no Quadro 1



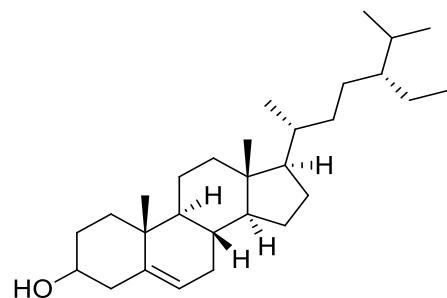
33



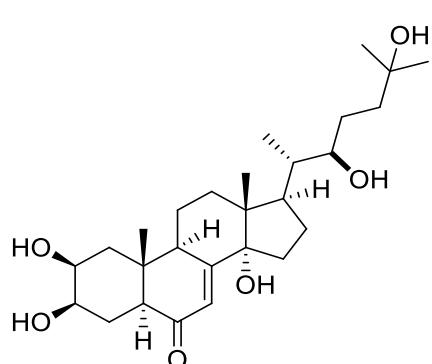
34



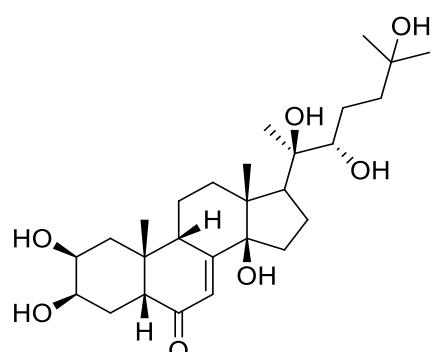
35



36

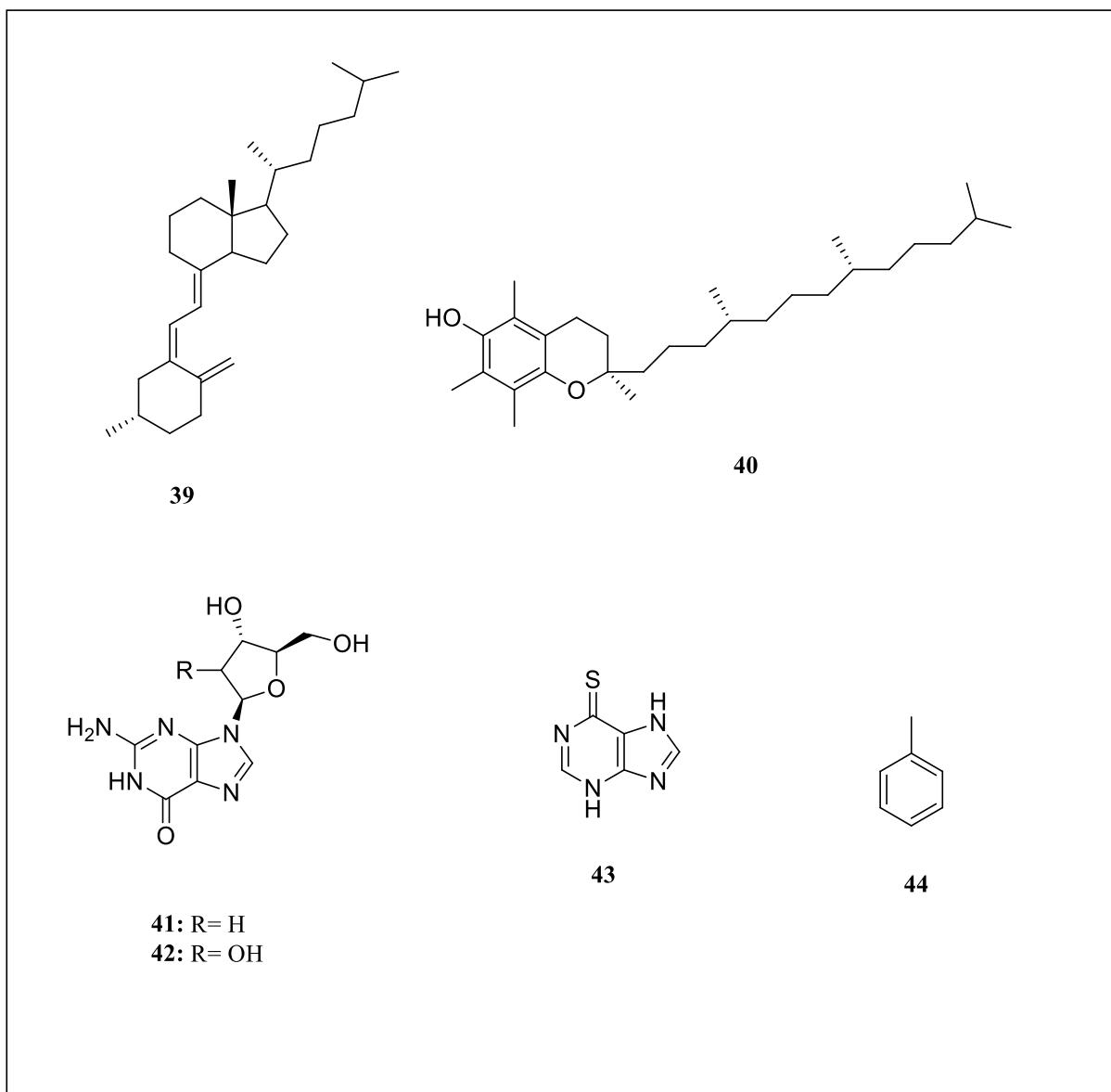


37



38

Quadro 2 (continuação). Alguns constituintes químicos isolados e identificados em espécies do gênero *Sida*, citadas no Quadro 1



3.4 Considerações sobre a espécie *Sida ciliaris* L.

A *Sida ciliaris* L., denominada popularmente por “escova peluda” (FERREIRA, 2016), “guanxuminha” (DURIGAN et al, 2018), é uma planta nativa, com elevada predominância no Nordeste brasileiro, sendo reconhecida por suas folhas escabrosas e pétalas cor de rosa (ALVES, 2011; BOVINI, 2010). Ocorre nas regiões tropicais das Américas, África e Ásia. No Brasil, se distribui nas regiões Norte (Pará), Nordeste (Bahia, Ceará, Pernambuco e Rio Grande do Norte) e Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo) associada aos domínios da Floresta Amazônica, Mata Atlântica e Caatinga (Figura 3, pág. 37) (BOVINI et al. 2015; BOVINI, 2020).

Figura 3. Distribuição geográfica da espécie *Sida ciliaris* L., representada pelas áreas amarelas em destaque no mapa.



Fonte: <https://www.gbif.org/species/ 5406724>

Sida ciliaris é um subarbusto, ereto ou prostrado, com ramos de 20-30 cm, Indumento estrelado, mais adensados nas porções jovens do caule. Lâmina 0,5-2,5 x 0,4-1,0 cm, simétrica, discolores, oblonga, oboval a estreitamente oboval, base não assimétrica, levemente subcordada, ápice geralmente obtuso, às vezes agudo, margem denteada a partir do terço inferior ou metade, com tricomas estrelados. Flores com pétalas róseas a arroxeadas, sépalas 0,4-0,5 cm de comprimento, ovário 5-locular. Fruto – mericarpo – 5, marrons a esbranquiçados, parede dorsal oval, amplamente ornamentada por gloquídios entremeados por tricomas glandulares punctiformes esparsos, parede lateral reticulada, paredes externa e interna ornamentada por gloquídios; Sementes reniformes, marrom-escuras a vináceas (Figura 4, pág. 38) (NASCIMENTO et al, 2020).

Figura 4. Detalhes botânicos da espécies *Sida ciliaris* L.



Fonte: https://www.gbif.org/pt/occurrence/gallery?taxon_key=5406724

De acordo com a etnofarmacologia, o infuso das partes aéreas de *S. ciliaris*, são utilizadas na medicina tradicional para tratar doenças renais (OROZCO-MARTÍNEZ et al., 2020). A literatura cita que foi realizada apenas uma triagem fitoquímica da espécie onde foram detectado a presença de alcaloides, esteroides e taninos (FERREIRA, 2016). Assim, devido a esse escasso estudo, é de grande relevância a investigação fitoquímica e biológica, para contribuição científica da espécie.

3.5 Aspectos gerais sobre fotoproteção solar

A pele é considerada o maior órgão do corpo humano, com capacidades de revestimento, obstrução defensiva contra a radiação solar e outras variáveis externas. Reflete o que acontece no interior do corpo, em expansão para aparecer com ótima aparência, comunica questões relacionadas ao nosso bem-estar. Dentro do corpo humano, possui cerca de 15% do peso corporal, sendo fundamental o seu trabalho de revestimento, que nos descobre e nos protege do mundo exterior. Este órgão fala a uma obstrução defensiva profundamente eficaz, particularmente em relação às mudanças causadas pelo ambiente, como a radiação solar (FREITAS et al., 2020).

É caracterizada por duas camadas essenciais: a epiderme e a derme e, por baixo, uma camada de tecido gorduroso (camada subcutânea) denominada hipoderme, que tem a função de unir a pele ao tecido muscular (RIBEIRO, 2010).

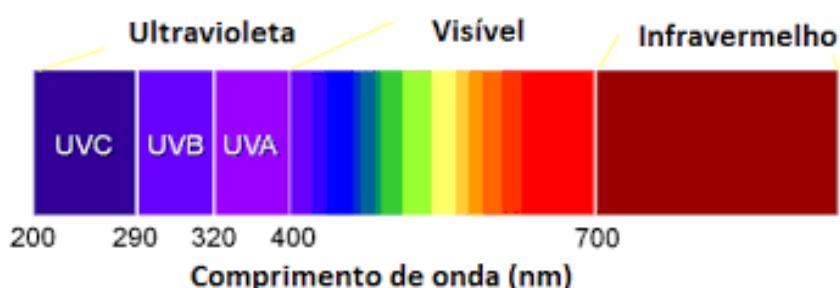
Apesar de a pele possuir inúmeros instrumentos de segurança contra as radiações existentes, todos os indivíduos, independentemente da idade, da cor da pele, estão sujeitos à hostilidade provocada pelo sol (VANZIR; CAMARGO, 2008).

A taxa de diferentes doenças e desordens relacionadas à radiação brilhante baseada no sol se expandiu de forma alarmante. Na verdade, as radiações UVA e UVB orientadas ao sol atingem em conjunto as camadas epidérmicas e dérmicas, proliferando o arranjo de eritema, edema, queima celular, hiperplasia e ocultação resistente (KOHLI et al., 2019).

O sol é responsável por emanar radiações na superfície da Terra, e essas radiações eletromagnéticas são separadas em três intervalos de acordo com seu comprimento de onda: ultravioleta (UV) (100-400 nm), visível (Vis) (400-700 nm) e infravermelho (IR) (mais de 700 nm) (NISHIKAWA et al., 2013).

A radiação ultravioleta é particionada em ultravioleta A (UVA) compreendendo radiação entre 320 e 400 nm (UVA I 340 - 400 nm e UVA II 320 - 340 nm) e ultravioleta B (UVB), com radiação entre 290 a 320 nm e ultravioleta C (UVC), com radiação entre 200 e 280 nm (Figura 5, pág. 39) (BRASIL, 2012; CÔRREA; PIRES, 2013). Essas radiações possuem diversos graus de entrada que estão relacionados à medida de seu comprimento de onda e à área onde ocorreram e foram retidas. Os danos causados à pele acontecem em diferentes níveis da epiderme e derme e essas alterações são átomos agregados, dependendo do tempo e da soma dos feixes que entraram em contato com o tecido (DE LEO, 2012).

Figura 5. Radiações eletromagnéticas e seus comprimentos de onda



Fonte: <https://www.newtoncbraga.com.br/index.php/meio-ambiente-e-saude/17489-ultravioleta-e-saude-solucoes-usando-leds-art4361.html>

Para combater os impactos nocivos da radiação solar, são utilizados os filtros solares, aliás chamados de fotoprotetores, que são formulações farmacêuticas criados para a proteção

da pele e podem ser particionados em compostos inorgânicos e naturais, possuindo, portanto, mecanismo distintos (SUOZZI; TURBAN; GIRADI, 2020).

Os agentes orgânicos ou fotoprotetores químicos são substâncias competentes de interação com a luz ultravioleta, difundindo sua vitalidade nociva, transformando-as em radiação segura para o homem. Com absorção de ultravioleta (UV) encontrada na epiderme, compostos fenólicos, flavonoídes e ésteres de ácido hidroxicinâmico garantem os tecidos da planta contra a radiação prejudicial. A significância dos compostos fenólicos atuando como protetores solares foram considerados utilizando estimativas de fluorescência da clorofila para avaliar a transmitância UV epidérmica, bem como a relação entre a proteção UV epidérmica e a substância metabólica fenólica (MOROCHO-JÁCOME et al., 2021).

A maior parte dos compostos fenólicos nas plantas é para proteger suas partes do fotodano, agindo como agentes antioxidantes, onde seus níveis podem mudar com as condições naturais para neutralizar esse fotodano potencial. Os flavonoides, em extratos de origem vegetal, têm ótima execução contra os impactos da radiação ultravioleta, além disso levando em consideração sua capacidade antioxidante, atuando como instrumento de inibição e geração de radicais livres, eles se acumulam na pele e servem como uma tela UVB eficaz. Assim, os flavonoides desempenham um papel vital na resistência fotossintética contra o componente UVB da radiação solar (ROSA et al., 2008; MEDEIROS et al., 2021).

Uma ampla variedade de fitomoléculas, como epicatequina, ácido gálico, hidroxicavicol, ácidos hidroxicinâmicos e ácidos hidroxibenzoicos, entre outros, eliminam os radicais livres das células da pele, evitam a perda da água transepidérmica e possui um fator de proteção solar (FPS) igual a ou mais proeminente do que 15, o que contribui para a garantia da pele contra as rugas, levando a uma pele mais brilhante, saudável e jovem (MOROCHO-JÁCOME et al., 2021; KIM, 2014; PEREIRA et al., 2015).

A estratégia de avaliação do FPS é obtida por meio de testes *in vivo* utilizando voluntários humanos, que mostram quantas vezes a pele pode ficar exposta ao sol, sem chance de eritema. Quanto maior o FPS, mais tempo a pele ficará protegida da radiação UVB (MOROCHO-JÁCOME et al., 2021).

Testes *in vitro* foram propostos para ajudar na determinação do FPS. Mansur et al (1986) relacionaram a determinação *in vivo* e *in vitro* por uma estratégia espectrofotométrica, utilizada para levantar a plausibilidade de que uma substância é possivelmente defensiva em testes *in vivo* (FLOR; DAVALOS; CORREA, 2007).

No Brasil, a partir de 2012, a ANVISA decidiu que para um fotoprotetor ser aprovado pelo órgão, as empresas testassem suas substâncias *in vivo* de acordo com estratégias criadas

pelo FDA americano e pela organização europeia COLIPA, com FPS mínimo de 6,0 e garantia UVA 1/3 da estima do FPS expressa no rótulo (BRASIL, 2012).

3.6 Aspectos gerais sobre Atividade antimicrobiana

O potencial de crescimento social e financeiro da grande variedade de espécies vegetais da flora brasileira, nos mostra o grande compromisso que temos com a ciência, nos levando a buscar o verdadeiro valor de pesquisar sobre produtos naturais (CUTRIM et al., 2019).

Linhos de investigação têm sido desenvolvidas por alguns analistas, com base nas propriedades anti-infecciosas de várias plantas utilizadas na medicina humana. A forma de desenvolvimento e planejamento de antimicrobianos de fontes naturais foi reforçada devido ao aumento da resistência de microrganismos prejudiciais à saúde contra a maioria dos antimicrobianos já utilizados no mercado. Dentro disso, muitas pesquisas evidenciam a capacidade de constituintes vegetais como agentes antimicrobianos alternativos, eficientes e viáveis para o controle do crescimento e da sobrevivência de patógenos (CUTRIM et al., 2019)

Nesse contexto, a resistência bacteriana aumenta cada vez mais os problemas de saúde pública atual, onde a maioria dos antibióticos disponíveis no mercado perderem sua eficácia, e que ainda, a utilização de antibióticos sintéticos apresenta diversos efeitos colaterais, tais como o aumento do risco da resistência bacteriana e várias reações adversas. Desta forma, a busca por novos medicamentos mais potentes e eficazes é constante, e diante disso, destaca-se a utilização dos produtos naturais como fonte de substâncias potencialmente ativas (ALVES; LUZ; FRAGA, 2017).

Vários metabólitos secundários são relatados em relação as suas propriedades antimicrobianas (HALILU et al., 2016; TELES et al., 2014), dentre estes, alcaloides (GANESH AND MOHANKU- MAR, 2017), saponinas (DONG et al., 2020), composto porfirínico (GOMES et al., 2015) e terpenoides (ROSA et al., 2015) e principalmente, compostos fenólicos, destacando-se os flavonoides (SILVA et al., 2006; SILVA et al., 2009; GOMES et al, 2011), são largamente investigados e que possuem potencial atividade antimicrobiana.

Os compostos fenólicos são fundamentais no desenvolvimento e geração de plantas e são regularmente moldados sob condições de estresse, como infecções, radiação UV, entre outros (KIM et al., 2016; MIKOŁAJCZAK et al., 2021; VUOLO et al., 2019).

A estrutura e composição química dos compostos fenólicos influenciam seu modo de atividade e ação antibacteriana, basicamente com relação à posição e número de grupos de hidroxila dentro do anel fenólico (MIKOŁAJCZAK et al., 2021; VUOLO et al., 2019).

O mecanismo de ação antibacteriana dos compostos fenólicos provenientes de fontes naturais não é totalmente compreendido. A maioria dos estudos com esses compostos mostraram ação na membrana celular bacteriana, tanto em bactérias Gram-positivas quanto em Gram-negativas (LI et al., 2014; LOU et al., 2012; TSOU et al., 2016). Alguns estudos mostraram, ainda, ação na parede celular, com rompimento da membrana citoplasmática e danos nas proteínas de membrana, extravasamento de conteúdo intracelular, como também alguns estudos demonstraram que ocorre atividade inibitória da DNA girase, inibição da atividade da helicase e inibição de bombas de efluxo (BORGES et al., 2015; KIM et al., 2016; MIKOŁAJCZAK et al., 2021; REMPE et al., 2017).

Algumas espécies do gênero *Sida* se destacam por sua pronunciada atividade antimicrobiana. Infusões de folhas e raízes de *S. tuberculata*, por exemplo, tiveram resultados clínicos significativos contra *Candida krusei* (ROSA et al, 2015). Também foi observado atividade antibacteriana de *S. cordifolia* contra *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* (HALILU et al, 2016).

No estudo de George et al. (2017), o extrato etanólico de *S. acuta* apresentou maior atividade antimicrobiana do que a ciprofloxacina, onde a atividade antimicrobiana foi atribuída aos alcaloides presentes no extrato. *Sida acuta* também mostrou atividade antibacteriana considerável contra cepas de *S. aureus* (CHUMPOL et al., 2018).

04 | METODOLOGIA

4.1 Levantamento bibliográfico

O levantamento bibliográfico da espécie *Sida ciliaris* L. foi realizado, no decorrer de todo o estudo, utilizando recursos disponíveis como, por exemplo, através de anais de eventos nacionais e internacionais, portal periódicos CAPES, *SciFinder*, *Web of Science*, além de outras fontes disponíveis na Internet.

4.2 Coleta e identificação do material botânico

O material botânico de *Sida ciliare*s L. (partes aéreas), foi coletado na zona urbana do município de Brejo do Cruz – PB, em abril de 2021. Sua identificação botânica foi realizada pela Prof^a Dr^a Maria de Fátima Agra/CBioTec/UFPB, e sua exsicata depositada no Herbário Prof^a Dr^a Rita Baltazar de Lima/Patos-PB, sob n° de tombamento 7572. Esta pesquisa foi registrada no Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Genéticos e de Conhecimento Tradicional Associado (SisGen – A568B8A).

4.3 Estudo fitoquímico

O estudo fitoquímico das partes aéreas de *S. ciliaris* foi realizado nas dependências do Laboratório de Fitoquímica Prof. Dr. Raimundo Braz Filho e Laboratório Multusuário de Caracterização e Análise (LMCA), pertencentes ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/CCS/UFPB e também no Laboratório de Bioquímica – CSTR/UFCG.

4.3.1 Isolamento e purificação dos constituintes químicos de *Sida ciliaris*

O isolamento e identificação dos constituintes químicos foi realizado através de métodos cromatográficos, como: Cromatografia em Coluna com sílica gel 60 (Merck), sílica flash e/ou sephadex LH-20 (Merck) e Amberlite XAD-2, tendo como suportes colunas de

vidro cilíndricas com dimensões variando de acordo com a quantidade de amostra a ser cromatografada e Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (CCDP). Como fase móvel foram utilizados solventes PA.

A Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) foi empregada para a análise do perfil cromatográfico dos compostos obtidos em todos os processos, foram evidenciadas pelo uso de radiação ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm, que exibem substâncias insaturadas e reveladas por meio de impregnação das placas em cubas de vidro saturadas por vapores de iodo, além do NP (difenilboriloxietilamina) para compostos fenólicos.

4.3.2 Caracterização estrutural das substâncias isoladas

A identificação ou elucidação estrutural das substâncias isoladas foi realizada através da análise dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono treze (RMN ^1H e RMN ^{13}C) uni e bidimensionais, além de comparações com modelos da literatura.

Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear das substâncias isoladas foram obtidos utilizando o espectrômetro BRUKER-ASCEND a 400 MHz (^1H) e 100 MHz (^{13}C) do LMCA-UFPB. Os solventes utilizados na dissolução das amostras foram clorofórmio e metanol deuterados (CDCl_3 , CD_3COD , respectivamente), Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz.

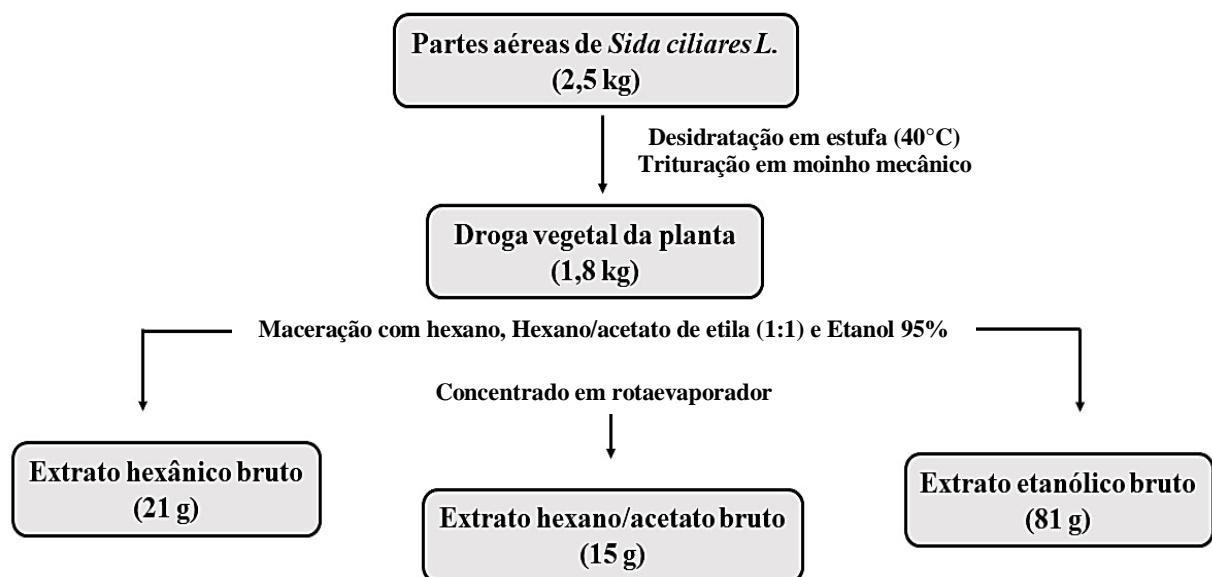
4.3.3 Processamento da planta

As partes aéreas de *S. ciliares* (2.532,1 g) foram desidratadas em estufa com ar circulante a 40 °C durante 72 horas. Em seguida, o material seco foi submetido à Trituração em moinho mecânico fornecendo 1,80 Kg do pó.

4.3.4 Obtenção dos extratos brutos das partes aéreas de *Sida ciliaris*

O pó (1,80 Kg) foi submetido à maceração durante 72 horas, utilizando-se como líquido extrator, hexano, hexano/acetato (1:1) e etanol a 95 % sendo tal processo repetido 3 vezes, resultando na solução extrativa, que foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida, obtendo-se 21,0 g do extrato hexânico bruto (EHB), 15,0 g do extrato hexano/acetato (1:1) bruto (EHAB) e 81,9 g do extrato etanólico bruto (EEB) (Esquema 2, pág. 46).

Esquema 2. Obtenção dos extratos brutos de *Sida ciliaris*.

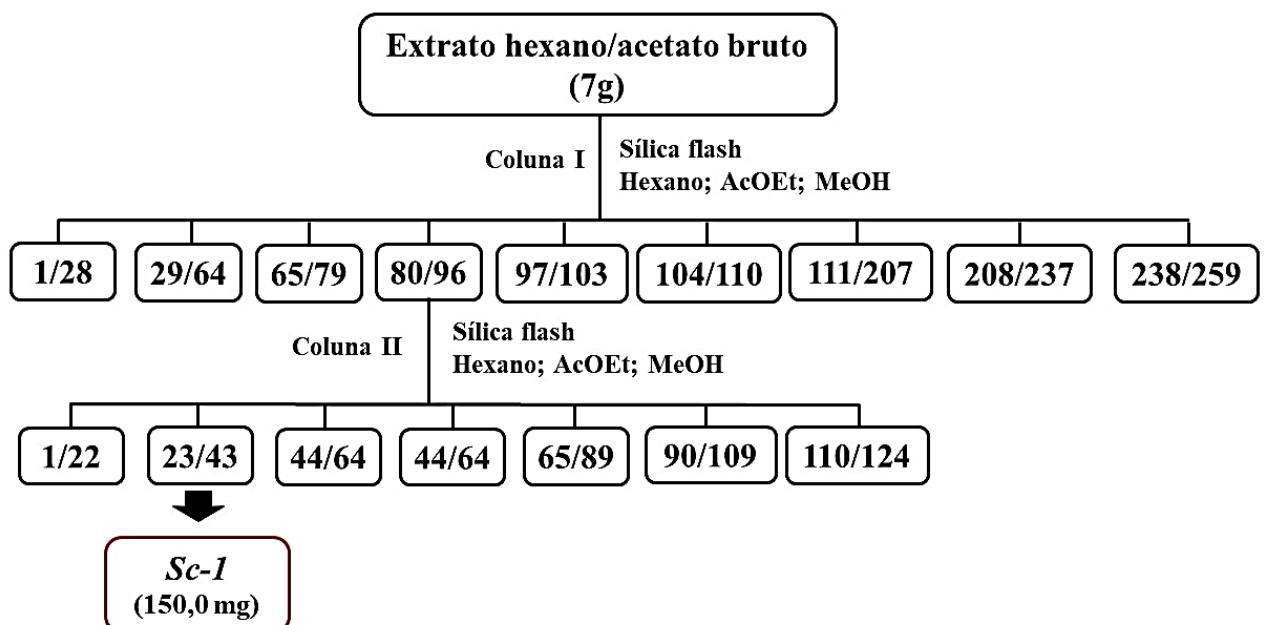


4.4 Fracionamento cromatográfico do extrato hexano/acetato (1:1) bruto (EHAB) das partes aéreas de *Sida ciliaris*

Uma alíquota do extrato hexano/acetato (1:1) (7 g) foi submetida à cromatografia em coluna utilizando sílica flash (coluna I) como fase estacionária e, como eluentes os solventes: hexano, acetato de etila e metanol, sozinhos ou em misturas binárias, com gradiente crescente de polaridade. Desta coluna foram coletadas 260 frações que foram

concentradas em evaporador rotativo sob pressão reduzida, onde as mesmas foram reunidas de acordo com semelhança por CCDA, e por se mostrar promissora, a fração 80-96 (550 mg) foi submetida a uma cromatografia em coluna utilizando sílica flash (coluna II) como fase estacionária e adotando o sistema de solvente utilizado no processo cromatográfico descrito anteriormente, resultando em 124 frações, que foram concentradas em evaporador rotativo, analisadas por CCDA, onde a fração 23-43 (150 mg) mostrou-se na cor verde escuro, foi identificada na forma de mistura e codificada como **Sc-1** (Esquema 3, pág. 47).

Esquema 3. Fracionamento cromatográfico do extrato Hexânica/Aacetato(1:1) Bruto de *S. ciliaris*

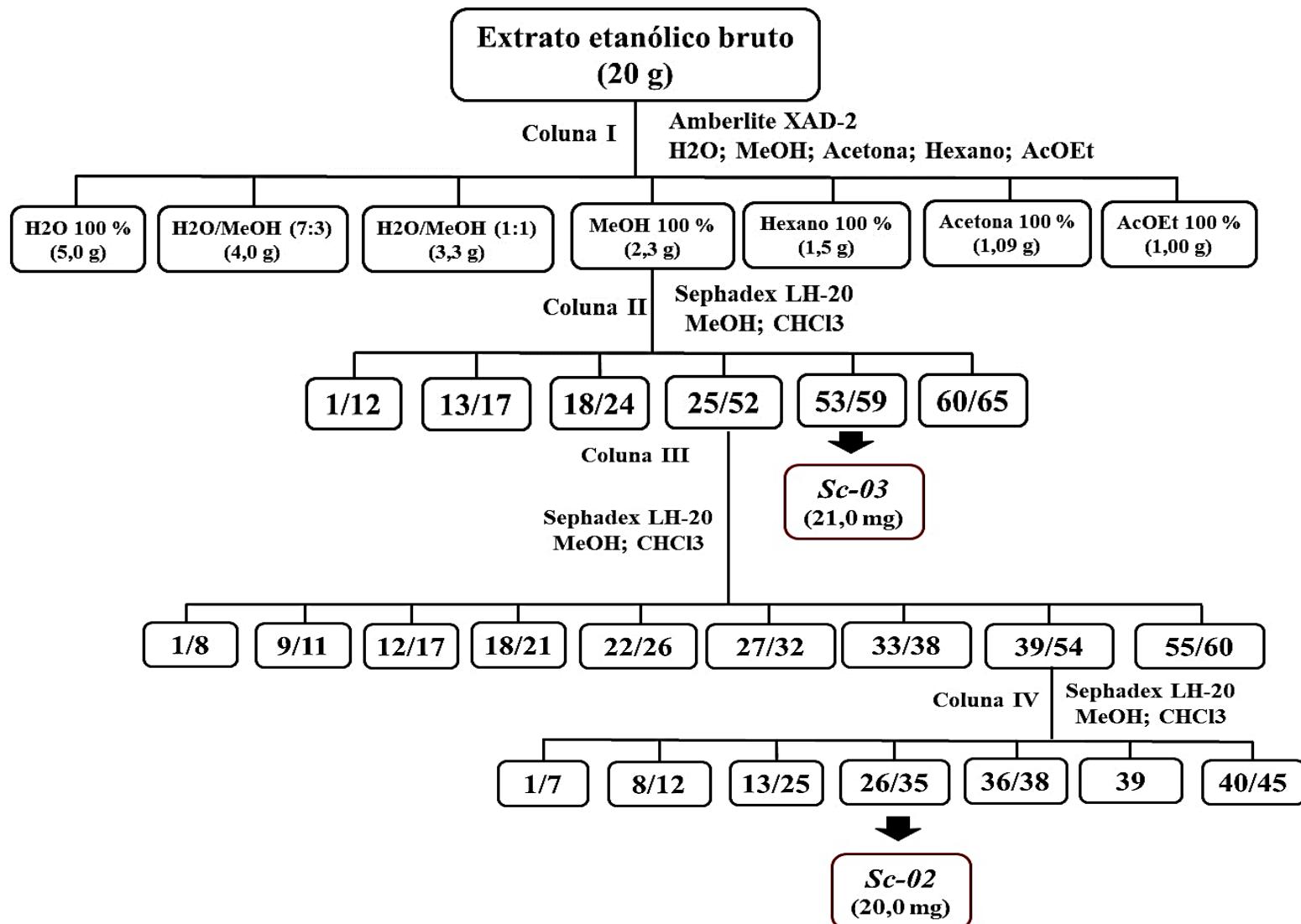


4.5 Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico bruto (EEB) das partes aéreas de *S. ciliaris*

Uma aliquota do extrato etanólico das partes aéreas de *Sida ciliaris* (20 g) foi submetida a filtração em amberlite XAD-2 (coluna I) eluida com água, metanol, hexano, acetona e acetato de etila, sozinhos ou em misturas binárias, com gradiente decrescente de polaridade. Desta coluna foram coletadas 7 frações que foram concentradas em evaporador rotativo sob pressão reduzida, obtendo-se 2,3 g da fração metanólica; 1,5 g da fração hexânica; 1,0 g da fração acetona e 1,0 g da fração acetato de etila (Esquema 4, pág. 49). A fração metanólica foi submetida a uma cromatografia em coluna utilizando sephadex LH-20 (coluna II) como fase estacionária e adotando o sistema de eluentes metanol e clorofórmio, sozinhos ou em misturas binárias, resultando em 65 frações, que foram concentradas em evaporador rotativo, analisadas por CCDA, onde a fração 53-59 (21 mg) mostrou-se como aspecto de pó amarelado, e codificada como **Sc-3**.

A partir da fração 25-52 da mesma coluna (coluna II), através de sucessivas colunas cromatográficas utilizando sephadex LH-20 (coluna III e IV) como fase estacionária e adotando o mesmo sistema de solventes mencionado anteriormente, a fração 26-35 (20 mg) foi analisada por CCDA, onde mostrou-se como aspecto de pó amarelado, sendo codificada como **Sc-2**.

Esquema 4. Fracionamento cromatográfico do extrato Etanólico Bruto de *S. ciliaris*



4.6 Avaliação do Fator de Proteção Solar do EHB, EHAB, EEB e de sua fração metanólica de *Sida ciliaris* L.

Os ensaios de fotoproteção solar *in vitro* foram realizados no Laboratório de Bioquímica da Universidade Federal de Campina Grande, na cidade de Patos, sob a coordenação do Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho.

A espectrofotometria de absorção dos extratos Hexânico Bruto (EHB), Hexano-Aacetato (1:1) (EHAB), Extrato Etanólico Bruto (EEB) e fração metanólica proveniente do EEB aconteceu no espectro da radiação ultravioleta como proposto por Mansuret al.(1986), assim realizou-se varreduras de 290 a 320nm (em intervalos de 5 nm) com duração de 5 minutos, sendo que ao término desse tempo foi efetuado as mensurações das absorbâncias. Para a leitura utilizou-se o espectrofotômetro digital (Biospectro®) com cubeta de quartzo de 1cm. Após a mensuração das absorbâncias, os dados foram submetidos à equação de Mansur et al. (1986) para aferir o FPS *in vitro*. Esse método coloca em lista o efeito eritematogênico e a intensidade da radiação (EE X I) que foram medidos por Sayre et al. (1979), esses são demonstrados na Tabela 1 (pág. 50), logo abaixo:

Tabela 1. Relação efeito eritemogênico (EE) versus intensidade da radiação (I) conforme o comprimento de onda

λ/nm	EE x I
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
310	0,0180

Sendo que a fórmula de Mansur et al. (1986) é também composta pela leitura espectrofotométrica da absorbância da solução e fator de correção (= 10). Essa equação pode ser observada, a seguir:

$$\text{FPS espetrofotométrico} = \text{FC.} \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \cdot \text{I}(\lambda) \cdot \text{Abs}(\lambda) \text{ 290}$$

Na qual: FPS = fator de proteção solar; FC = fator de correção, calculado de acordo com dois filtros solares de FPS conhecidos e testados em seres humanos de tal forma que um creme contendo 8% de homossalato resultasse no FPS 4; EE(λ) = efeito eritemogênico da radiação de comprimento de onda; I (λ) = a intensidade da luz solar no comprimento de onda e Abs (λ) = a absorbância da formulação no comprimento de onda.

4.7 Ensaios microbiológicos

Os ensaios microbiológicos foram realizados no Laboratório de Biotecnologia Celular e Molecular do Departamento de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba, sob a coordenação do Prof. Dr. Demetrius Antônio Machado de Araújo. As cepas utilizadas fazem parte da coleção microbiológica do referido laboratório que incluem as cepas American Type Culture Collection (ATCC), sendo elas: ATCC 14458, ATCC 29641, ATCC 700603 e ATCC 14028.

A avaliação da atividade antimicrobiana foi investigada de dois compostos isolados a Diosmetina (Sc-2) e Luteolina (Sc-3) frente à 4 linhagens bacterianas patogênicas por meio do ensaio disco-difusão e ensaio de microdiluição por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (MIC), seguindo a metodologia estabelecida pelo Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI).

4.7.1 Ensaio disco-difusão

Inicialmente, foi preparada uma suspensão do composto em metanol (1 mg/mL). Em seguida, 10 μL da suspensão foi adicionada ao disco de papel Whatman qualitativo com diâmetro igual a 6 mm. Aguardou-se 1 h, a temperatura ambiente para que o solvente evaporasse do disco. Posteriormente, cada disco foi posicionado sobre a placa contendo ágar Muller-Hinton previamente inoculada com uma suspensão da bactéria patogênica teste com uma turbidimetria igual a 0,5 McFarland (equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC/ mL). Os diâmetros das zonas de inibição foram mensurados após 20 h de incubação a 37 °C. Os microrganismos patogênicos testes incluíram os gram-positivos *Staphylococcus aureus* (ATCC 14458) e

Staphylococcus epidermidis (ATCC 29641) e os gram-negativos, *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) e *Salmonella enterica typhimurium* (ATCC 14028) (NÚNEZ-MONTERO et al., 2019).

4.7.2 Determinação da concentração inibitória mínima

A atividade inibitória dos compostos foi inferida por meio do ensaio de microdiluição por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (MIC), conforme descrito pelo Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012b). Inicialmente, os compostos foram diluídos serialmente em meio Muller-Hinton (512, 256, 128, 64, 32, 16, 8 e 4 µg/mL). 90 µL das diluições foram distribuídas em triplicata na placa de 96 poços. Em seguida, cada poço foi inoculado com 10 µL da suspensão do microrganismo patogênico teste com aproximadamente 5×10^5 UFC/ mL. Os microrganismos patogênicos teste foram os mesmos utilizados no ensaio disco-difusão. Após inocular os microrganismos, a placa foi incubada a 37 °C durante 20 h. Adicionalmente, o controle positivo utilizado foi a ampicilina nas concentrações 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0,5 e 0,25 µg/ mL. Enquanto que o controle negativo foi preparado com 90 µL de meio Miller-Hinton e 10 µL de inóculo. E o branco, também utilizado como controle de qualidade do ensaio, foi preparado com 100 µL do meio de cultivo. A densidade óptica foi mensurada a 630 nm para estimar o crescimento microbiano exposto a diferentes concentrações dos compostos avaliados e determinar a concentração inibitória mínima através da diferença de crescimento quando comparado ao controle negativo (NÚNEZ-MONTERO et al., 2019)

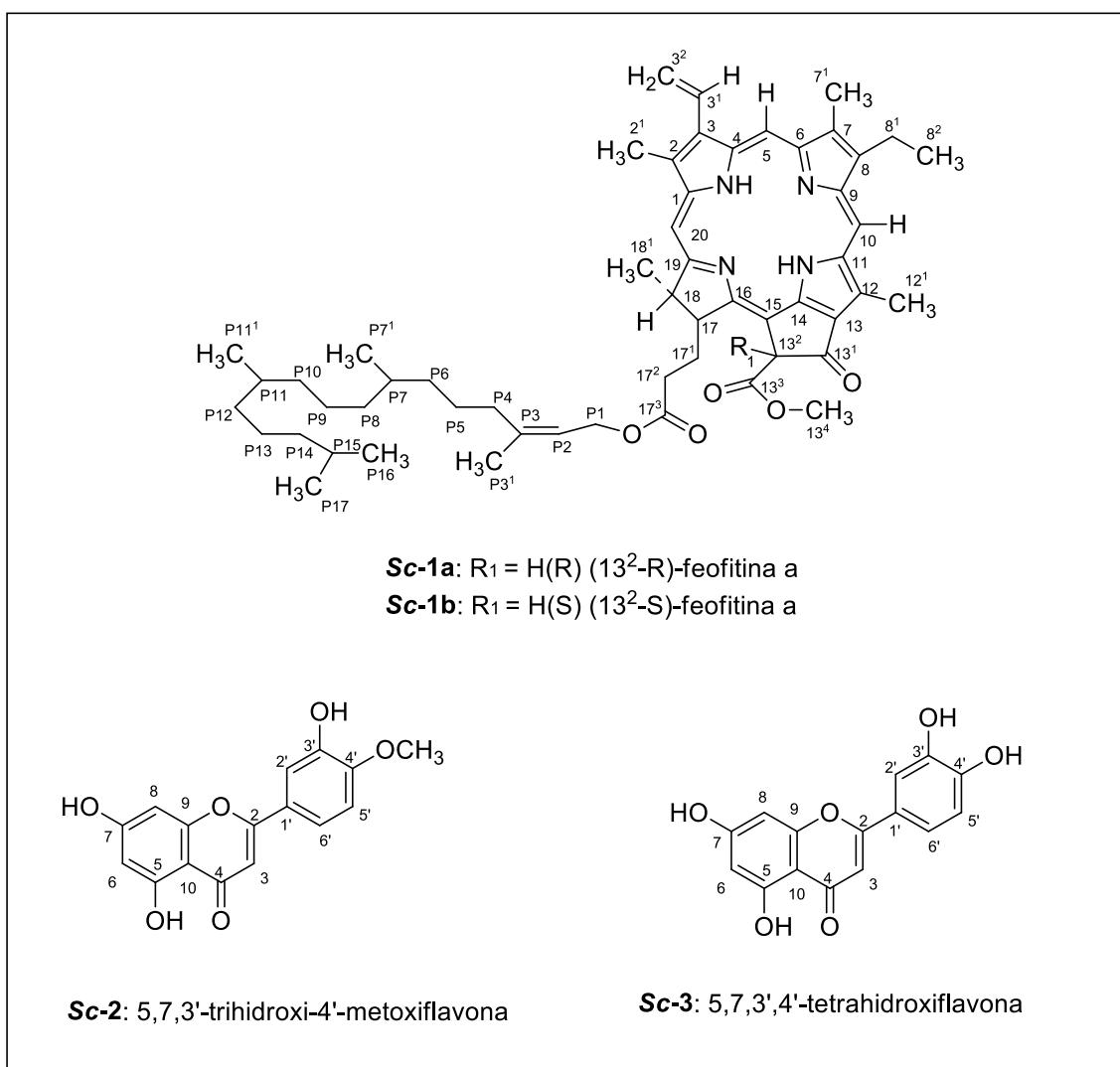
05 |

RESULTADOS E
DISCUSSÃO

5.1 Substâncias isoladas das partes aéreas de *Sida ciliaris* L.

O estudo fitoquímico das partes aéreas de *Sida ciliaris* L. conduziu ao isolamento e identificação de 4 constituintes químicos (Quadro 3, pág. 54), cujas estruturas foram elucidadas através de análise dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN de ¹H e ¹³C) Uni e Bidimensional e também comparações com modelos da literatura.

Quadro 3. Substâncias isoladas das partes aéreas de *Sida ciliaris* L.



5.2 Caracterização estrutural das substâncias isoladas de *S. Ciliares* L.

5.2.1 Caracterização estrutural de *Sc-1*

A substância codificada como *Sc-1* se apresentou com aspecto de sólido amorfó verde escuro. O espectro de RMN ^1H (Figura 6 à 10, págs. 60 à 62) apresentaram sinais característicos de substâncias com núcleo porfirínico, encontrando-se os mesmos duplicados, o que nos levou a propor que *Sc-1* tratava-se de uma mistura de duas substâncias, ambas apresentando tal núcleo. Nestes espectros foi possível identificar os sinais referentes a este esqueleto, com destaque para seis singletos atribuídos a hidrogênios olefínicos em δ_{H} 9,50 e 9,46 (H-10), δ_{H} 9,36 e 9,32 (H-5), δ_{H} 8,50 e 8,55 (H-20), todos integrando para um hidrogênio cada (FERNANDES, 2021)

Foram observados seis singletos atribuídos aos hidrogênios das seis metilas olefínicas δ_{H} 3,73 e 3,71 para os H-12¹, δ_{H} 3,39 e 3,38 para os H-2¹, δ_{H} 3,21 e 3,20 (H-7¹). Como também hidrogênios vinílicos em δ_{H} 7,99 (H-3¹) (m), δ_{H} 6,30 (m), δ_{H} 6,18 (m) compatíveis com os hidrogênios ligados aos carbonos da posição 3 de ambos os derivados das feofitinas (CHAVES et al. 2013).

O envelope de absorções dentro da região de hidrogênios metílicos e metilênicos δ_{H} 0,60 e 1,70 sugere a presença da cadeia fitil (-C₂₀H₃₉) na molécula, dado que apoia a especulação de que a substância pode ser uma mistura da feofitina a. O aparecimento de um simpleto em δ_{H} 6,25 alusivo ao H-13² permitiu sugerir que esta posição encontra-se uma hidrogenada, e também que *Sc-1* poderia tratar-se da feofitina a (NOGUEIRA et al. 2013; BRITO-FILHO et al. 2017; FERNANDES, 2021).

Os dados de RMN de ^{13}C (Figuras 11 à 15, págs. 62 a 64) apresentaram sinais intensos e outros duplicados, fato que fortaleceu a hipótese de que *Sc-1* tratava-se de uma mistura de duas substâncias de núcleo porfirínico. A semelhança dos sinais e valores permitiram propor que *Sc-1* trata-se da feofitina-a (GOMES et al. 2015; BRITO-FILHO et al., 2017). Além disso, é possível observar a presença de outros sinais que confirmam a presença da cadeia fitilica nas duas substâncias, onde a maioria dos sinais estão presentes entre δ_{C} 17,42 e 61,40.

De acordo com os deslocamentos químicos, análise dos dados dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C e comparações com dados da literatura (Tabela 2 e 3, págs. 57 à 59), foi possível identificar *Sc-1* como uma mistura dos isômeros ópticos *R* e *S* denominados (13²-*R*)-feofitina

a (*Sc-1a*), (13^2 -*S*)-feofitina *a* (*Sc-1b*). Sendo essa mistura relatada pela primeira vez na espécie *S. ciliaris*.

Sc-1:

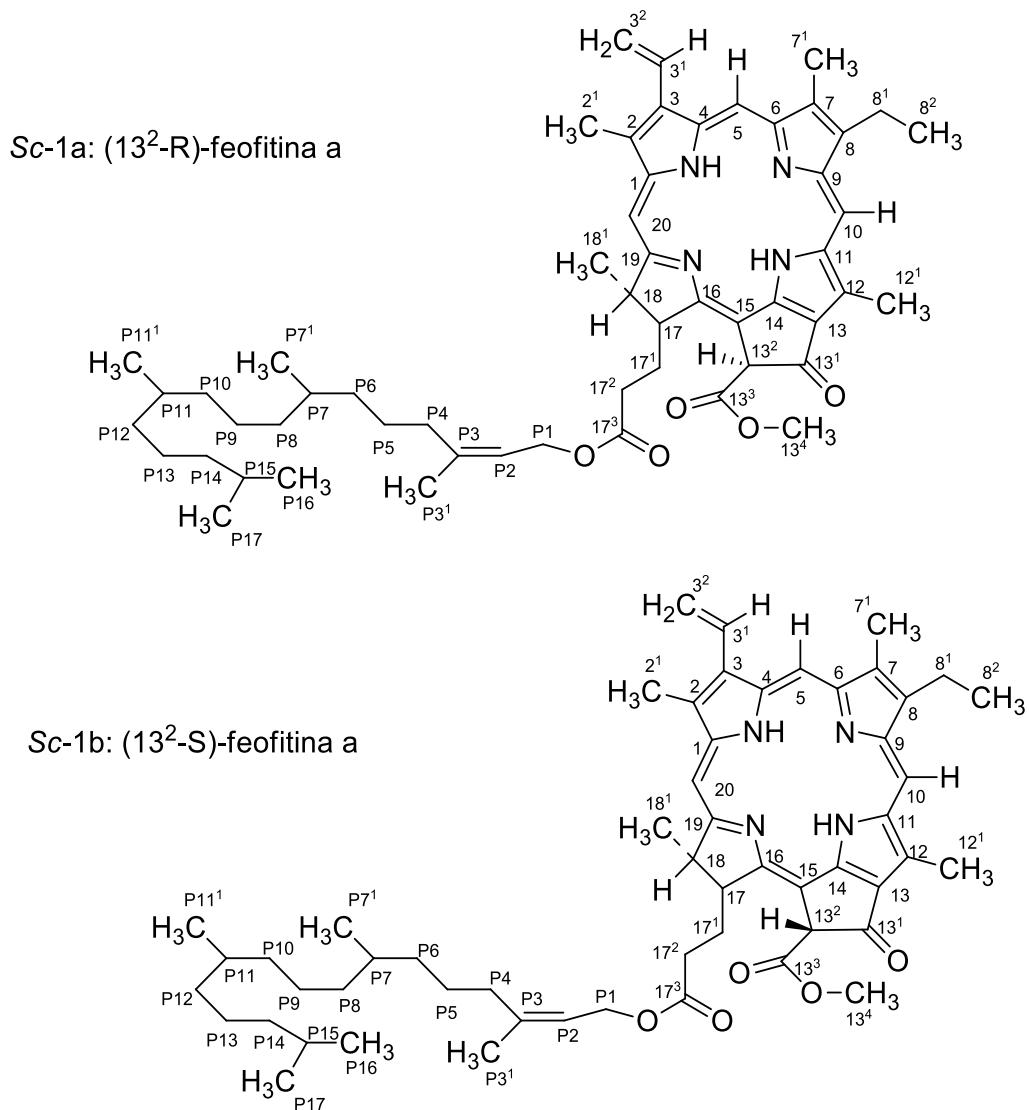


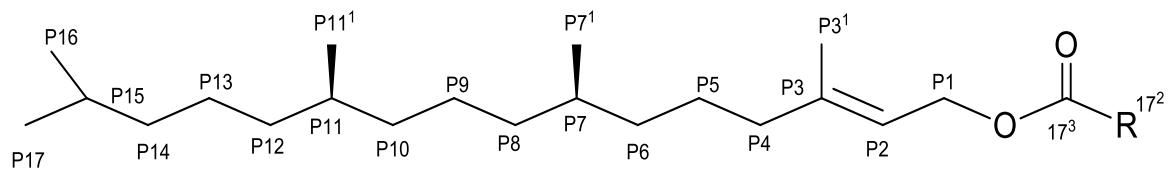
Tabela 2. Dados comparativos de RMN ¹H e ¹³C de *Sc-1* (δ , CDCl₃, 400 e 100 MHz) com os modelos Mo-1 (δ , CDCl₃, 500 e 125 MHz) (CHAVES et al., 2013)

Mo-1 (feofitina <i>a</i>)			<i>Sc-1a</i>		<i>Sc-1b</i>	
C	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	142,2	—	142,1	—	142,1	—
2	131,8	—	132,0	—	131,9	—
2¹	12,3	3,37 (s, 3H)	12,1	3,39 (s, 3H)	12,1	3,38 (s, 3H)
3	136,7	—	136,5	—	136,3	—
3¹	129,2	7,92 (dd, <i>J</i> = 17,3 e 11,2 Hz, 1H)	129,1	7,99 (m, 1H)	129,1	7,96 (m, 1H)
3²	122,9	6,25 (<i>trans</i>) (<i>d-J</i> =17,3 Hz) e 6,15 (<i>cis</i>) (<i>d-J</i> =11,2 Hz, 1H)	122,8	6,29 (<i>trans</i>) (<i>d-J</i> =16 Hz) e 6,18 (<i>cis</i>) (<i>d-J</i> =12 Hz, 1H)	122,8	6,25 (<i>trans</i>) (<i>d-J</i> = 16 Hz) e 6,16 (<i>cis</i>) (<i>d-J</i> =12 Hz, 1H)
4	136,7	—	136,3	—	136,2	—
5	97,5	9,28 (s, 1H)	97,5	9,36 (s, 1H)	97,5	9,32 (s, 1H)
6	155,6	—	155,7	—	155,7	—
7	136,3	—	136,3	—	136,2	—
7¹	11,3	3,15 (s, 3H)	11,2	3,21 (s, 3H)	11,2	3,20 (s, 3H)
8	145,3	—	145,2	—	145,2	—
8¹	19,6	3,60 (s, 3H)	19,7	3,68 (sl, 3H)	19,7	3,65 (s, 3H)
8²	17,5	1,66 (m)	16,3	1,69 (m)	16,3	1,69 (m)
9	149,9	—	151,0	—	149,7	—
10	104,7	9,44 (s, 1H)	104,6	9,50 (s, 1H)	104,4	9,46 (s, 1H)
11	138,1	—	137,9	—	137,9	—
12	128,5	—	129,1	—	129,1	—
12¹	12,3	3,68 (s, 3H)	12,1	3,73 (s, 3H)	12,1	3,71 (s, 3H)
13	128,1	-	127,1	-	127,0	-
13¹	189,8	-	189,7	-	189,7	-

Tabela 2 (continuação). Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de *Sc-1* (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) com os modelos Mo-1 (δ , CDCl_3 , 500 e 125 MHz) (CHAVES et al., 2013)

Mo-3 (feofitina a)			<i>Sc-1a</i>		<i>Sc-1b</i>	
C	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
13²	64,9	6,29 (s, 1H)	65,1	6,25 (s, 1H)	65,0	6,14 (s, 1H)
13³	173,1	-	173,0	-	172,3	-
13⁴	53,2	3,91 (s, 3H)	53,0	3,68 (s, 3H)	52,9	3,62 (s, 3H)
14	149,9	-	149,7	-	151,0	-
15	105,5	-	105,8	-	105,8	-
16	161,2	-	161,3	-	162,7	-
17	51,55	4,04 (m)	51,7	4,46 (m,1H)	51,1	4,20 (m, 1H)
17¹	29,9	-	31,9	-	31,9	-
17²	31,4	-	31,5	-	31,2	-
17³	173,2	-	172,3	-	173,0	-
18	50,3	-	50,8	-	50,1	-
18¹	23,4	1,85 (d, $J= 7,3$ Hz)	22,7	1,58 (m)	22,6	1,60 (m)
19	172,5	-	173,0	-	172,3	-
20	93,4	8,57 (s, 1H)	93,2	8,46 (s, 1H)	93,1	8,56 (s, 1H)

Tabela 3. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de *Sc-1* (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) com os modelos Mo-1 (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) (FERNANDES et al, 2018) e Mo-2 (δ , CDCl_3 , 400 e 100 MHz) (FERNANDES et al, 2018)



	Mo-1	<i>Sc-01a</i>	Mo-2	<i>Sc-01b</i>
C	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}
P1	61,51	61,40	61,72	61,50
P2	117,84	117,73	117,99	117,80
P3	143,01	142,86	142,91	142,84
P4	39,95	39,80	39,91	39,36
P5	25,13	25,55	25,10	24,99
P6	36,77	36,72	36,74	36,64
P7	32,88	33,06	32,86	32,70
P8	37,51	37,39	37,49	37,33
P9	24,54	24,78	24,52	24,42
P10	37,44	37,39	37,41	37,33
P11	32,75	32,76	32,72	32,62
P12	37,38	37,39	37,36	37,33
P13	24,89	24,88	24,89	24,78
P14	39,47	39,36	39,47	39,36
P15	28,08	27,97	28,08	27,97
P16	22,78	22,72	22,78	22,67
P17	22,74	22,72	22,74	22,72
P11¹	19,84	19,66	19,78	19,73
P7¹	22,83	23,08	22,83	23,08
P3¹	17,53	17,42	17,53	17,42

Figura 6. Espectro de RMN ^1H (δ , CDCl_3 , 400 MHz) de *Sc-1*

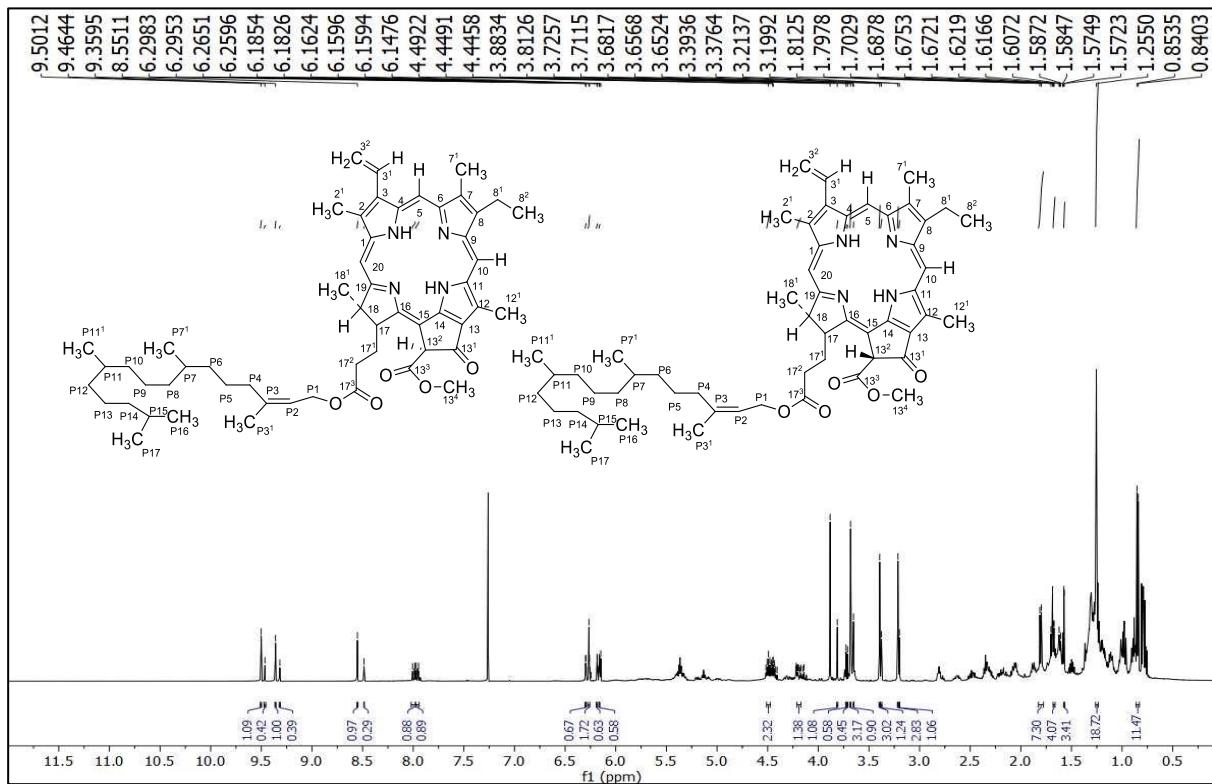


Figura 7. Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre δ_{H} 7,20 e 9,70 ppm(δ , CDCl_3 , 400 MHz) de *Sc-1*

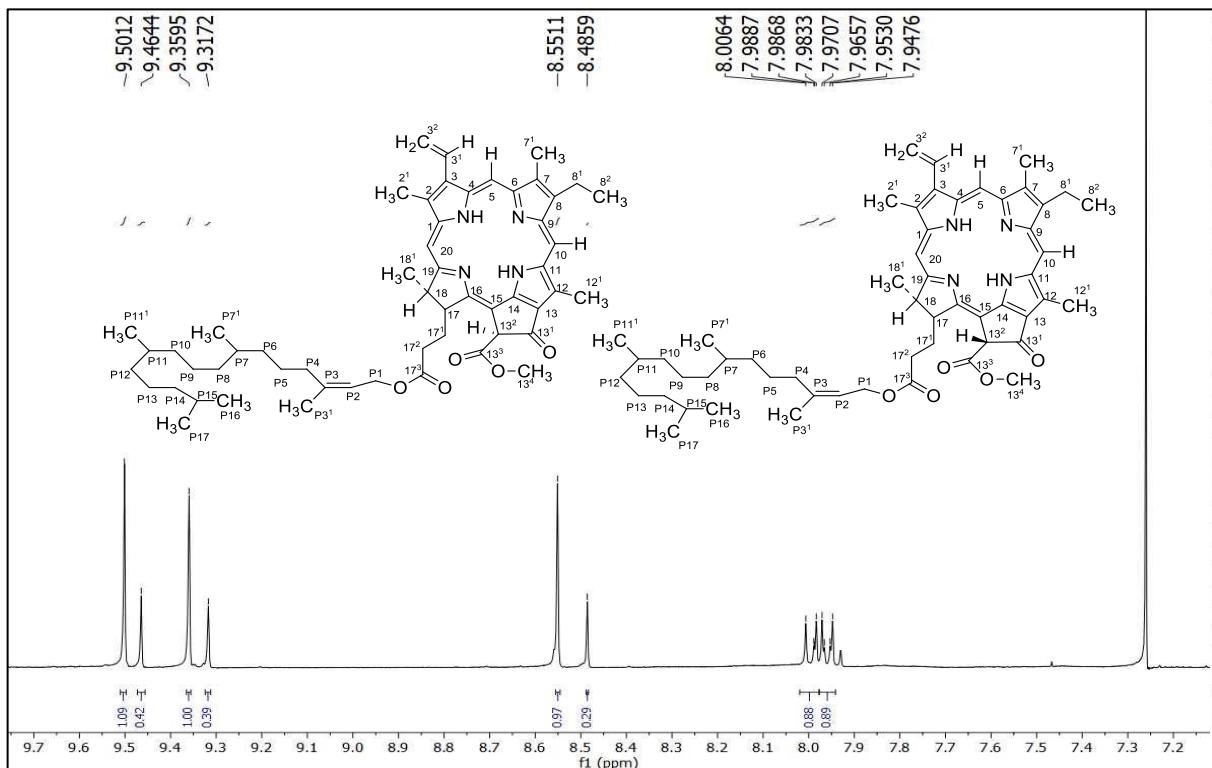


Figura 8. Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre δ_{H} 3,90 e 6,70 ppm(δ , CDCl_3 , 400MHz) de *Sc-1*

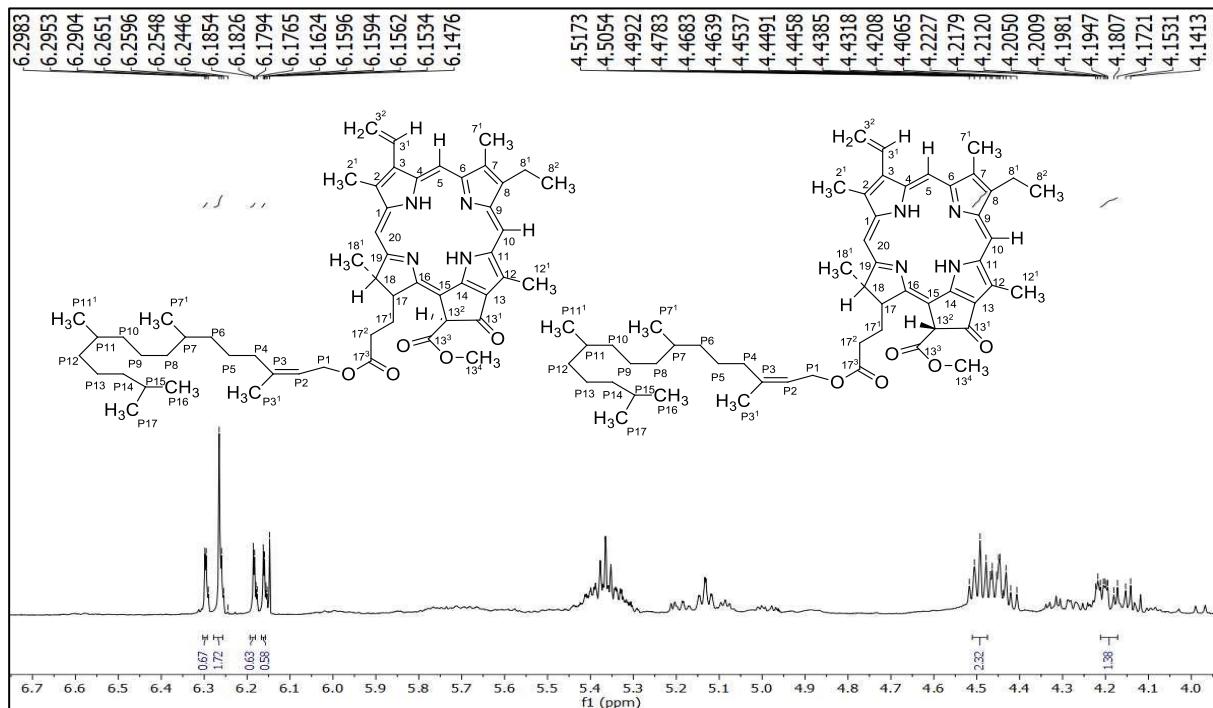


Figura 9. Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre δ_{H} 3,10 e 3,95 ppm(δ , CDCl_3 , 400 MHz) de *Sc-1*

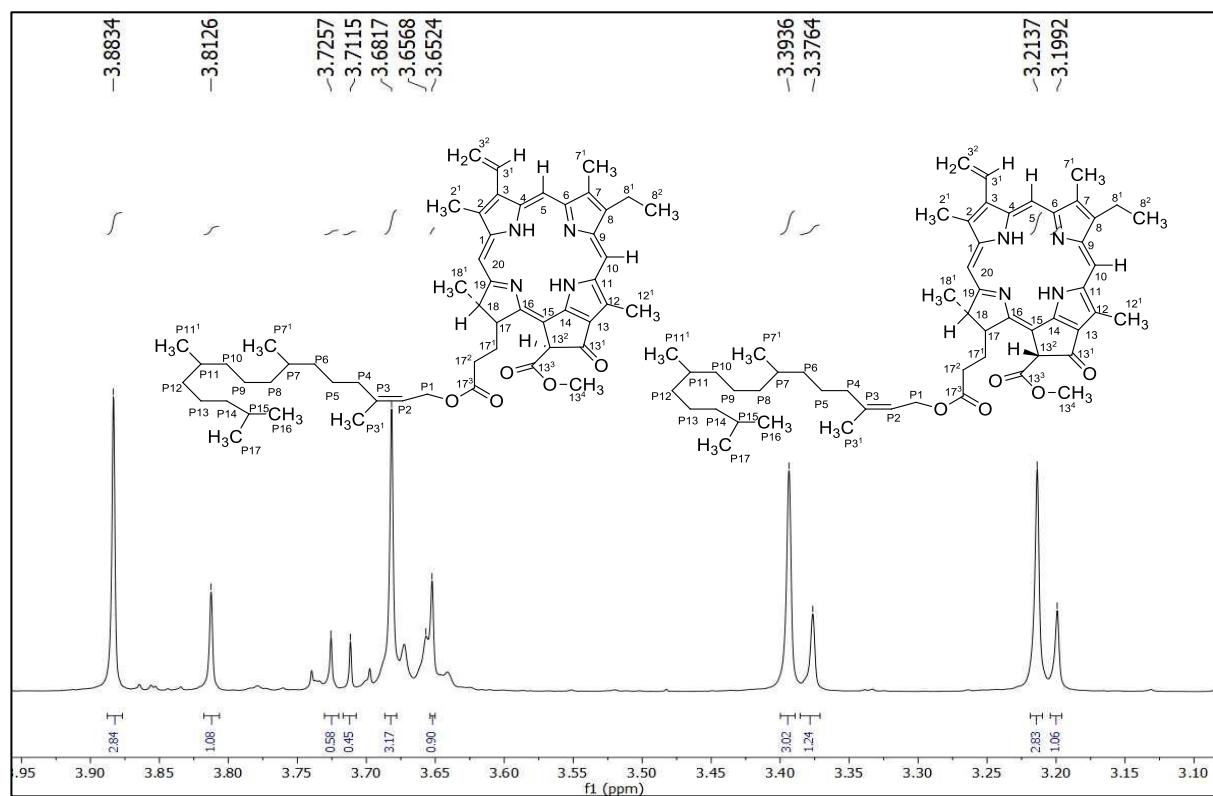


Figura 10. Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre δ_{H} 0,65 e 1,85 ppm(δ , CDCl_3 , 400 MHz) de *Sc-1*

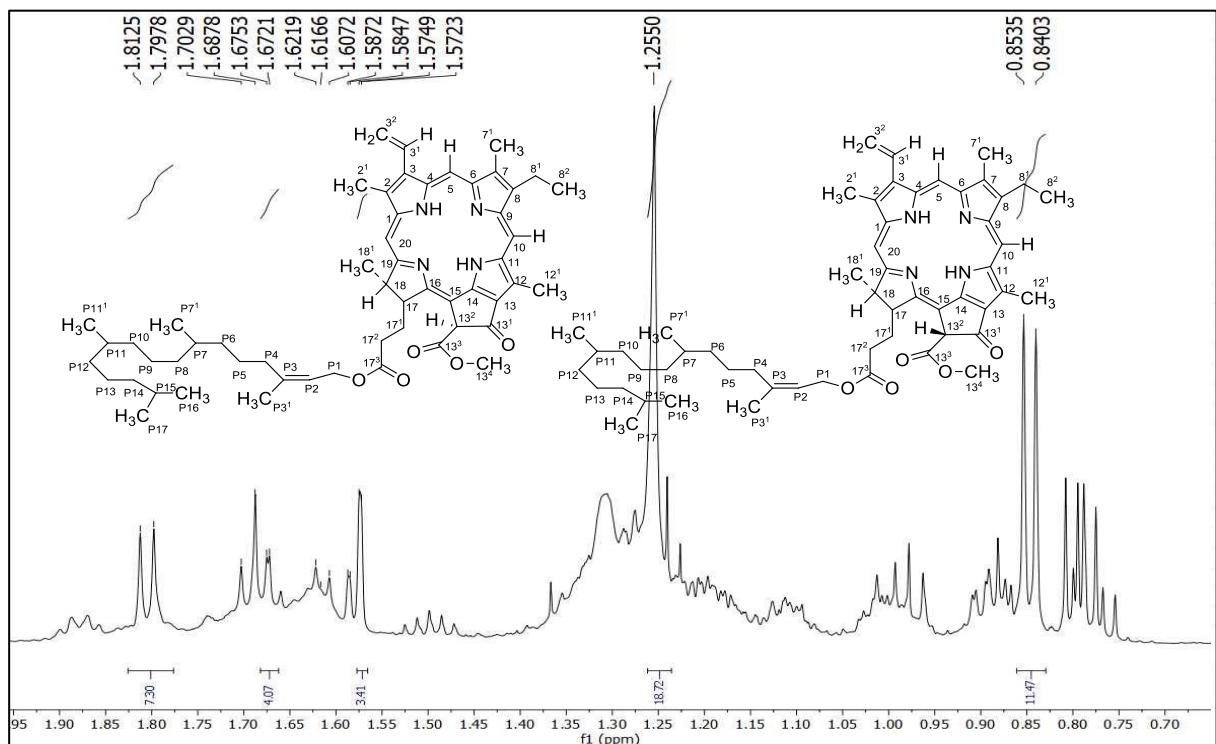


Figura 11. Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135 (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de *Sc-1*

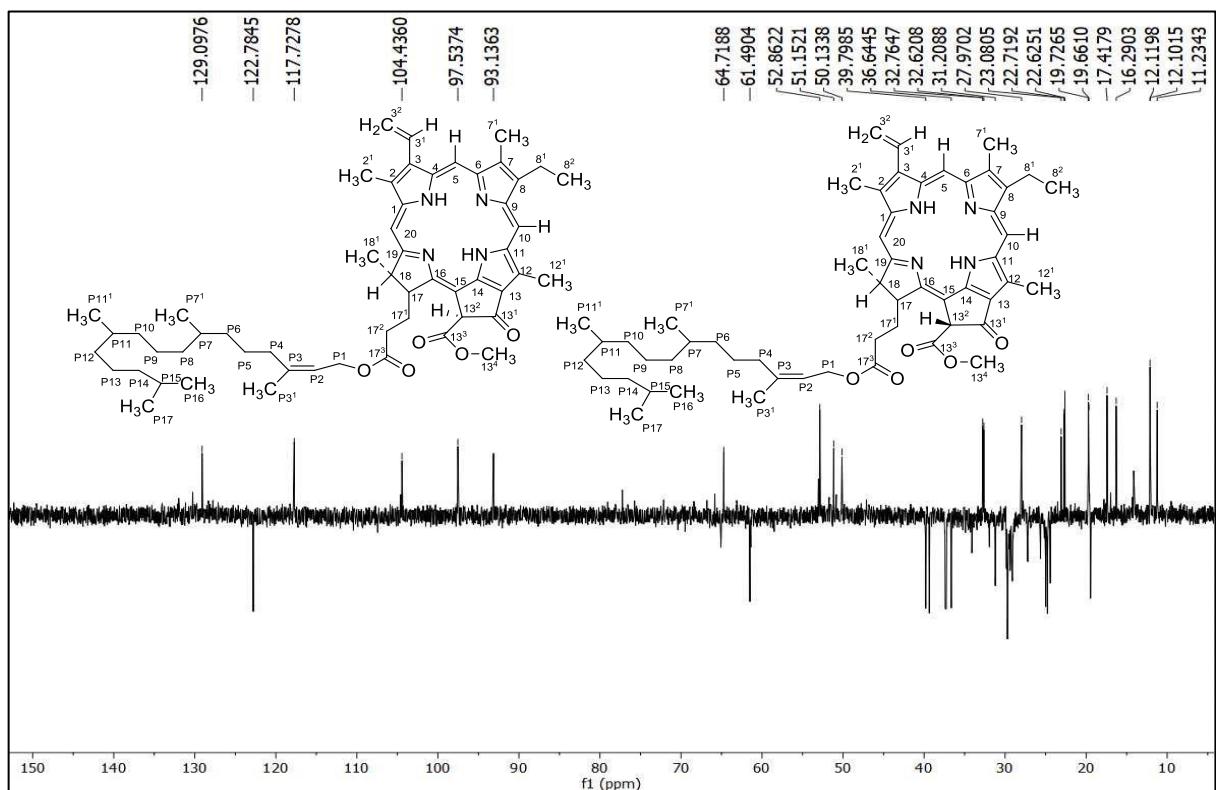


Figura 12. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° na região entre δ_{C} 88,0 e 135,0 ppm (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de *Sc-1*

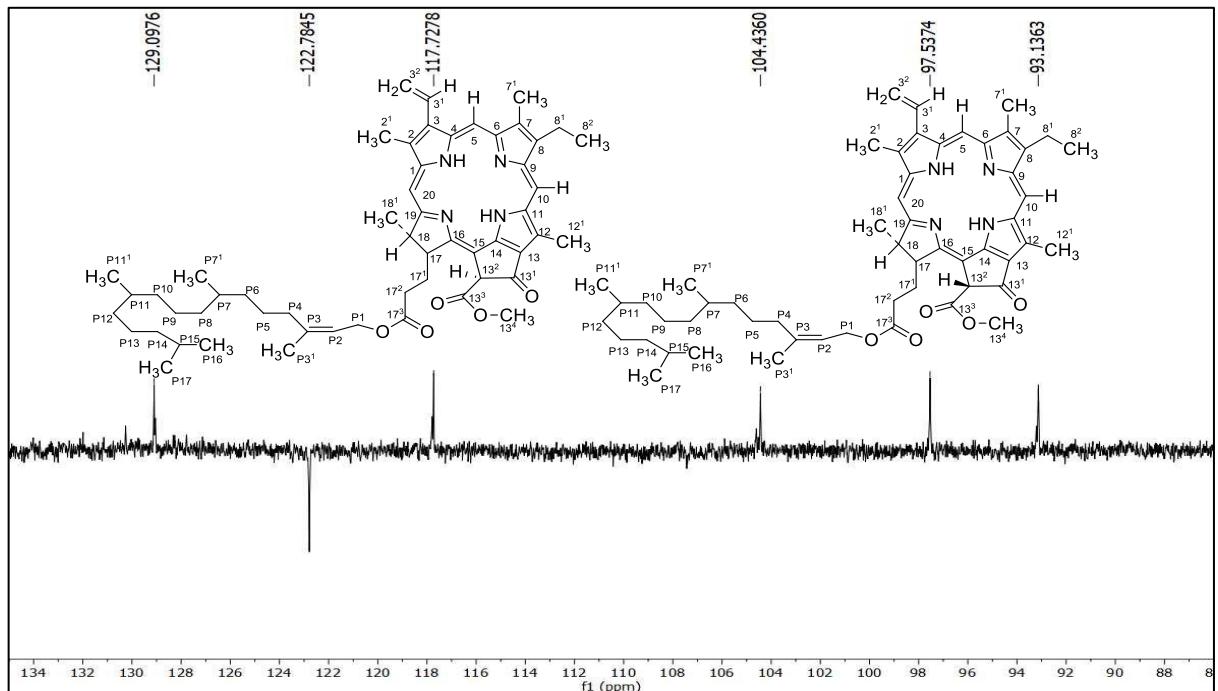


Figura 13. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° na região entre δ_{C} 49,0 e 67,0 ppm (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de *Sc-1*

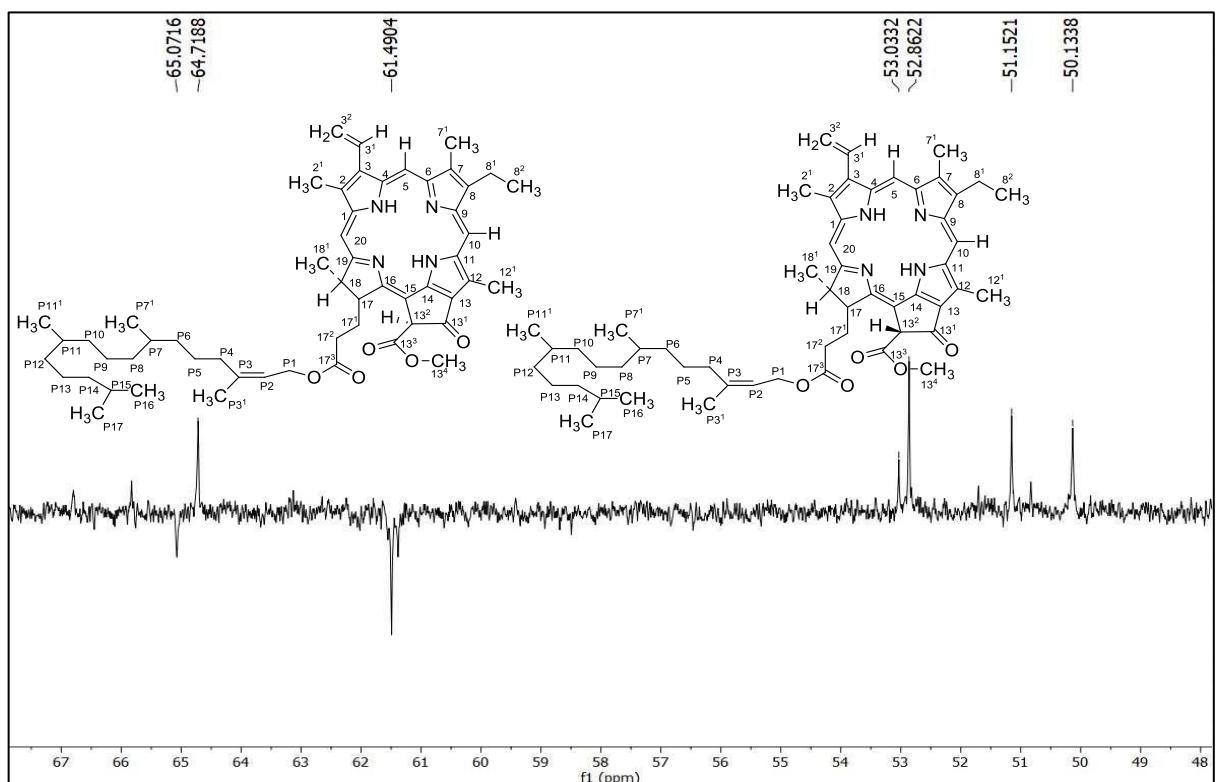


Figura 14. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° na região entre δ_{C} 9,0 e 43,0 ppm (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de *Sc-1*

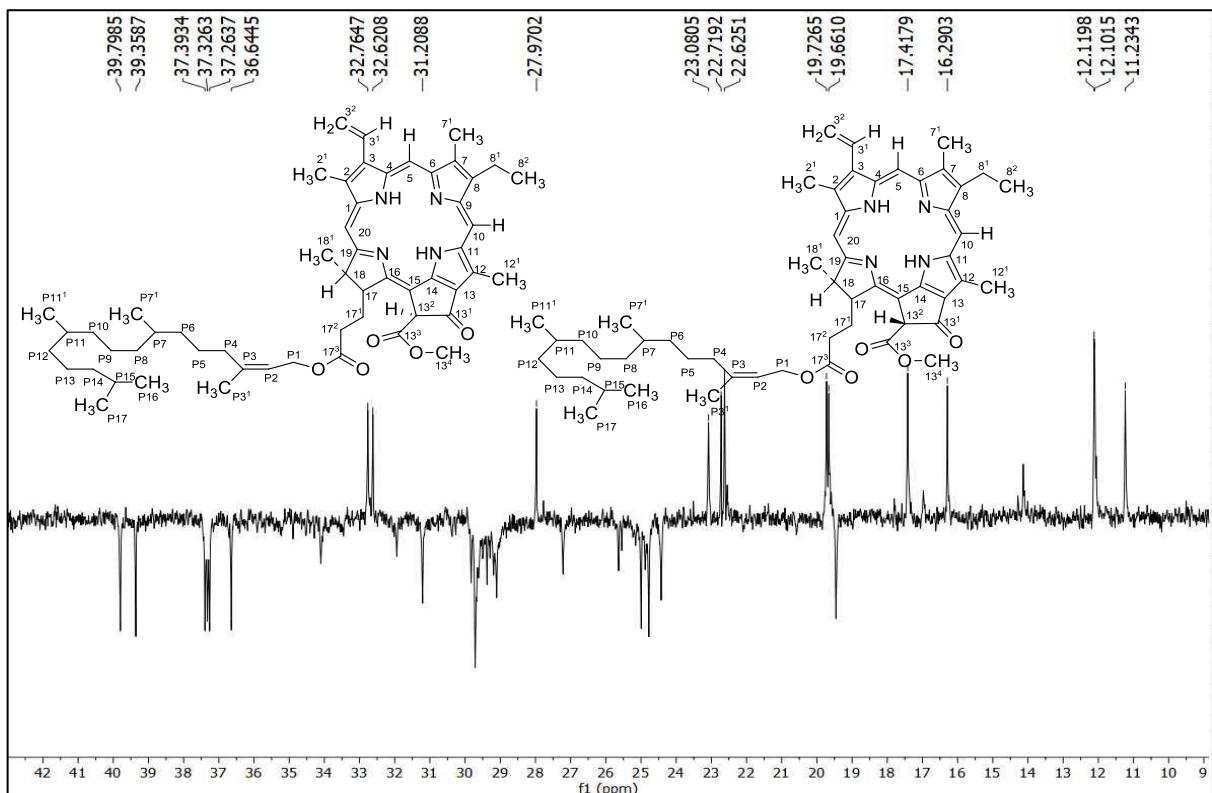
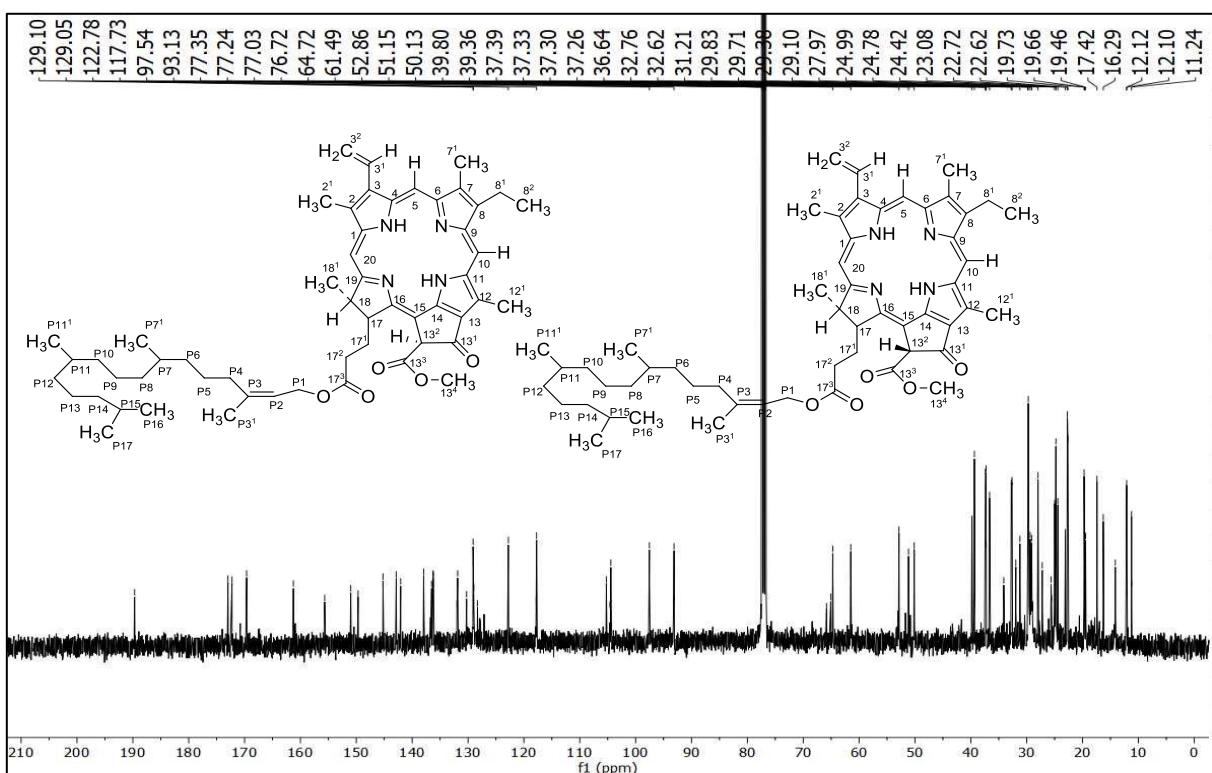


Figura 15. Espectro de RMN ^{13}C -BB (δ , CDCl_3 , 100 MHz) de *Sc-1*



5.2.2 Caracterização estrutural de *Sc*-2

A substância *Sc*-2 apresentou-se na forma de um pó amarelo. A análise do seu espectro de RMN ^1H (δ , 400 MHz, CD_3OD) e suas expansões (Figuras 16 à 19, págs. 70 e 71) apresentaram absorções para hidrogênios na região de aromáticos entre δ_{H} 6,05 e 7,43 (GOMES et al. 2011). Merece destaque um simpleto evidenciado em δ_{H} 6,44, que caracteriza o hidrogênio da posição 3 de flavonas, dado este que permite propor que a posição C-3 de *Sc*-2 não possui substituinte e portanto a molécula tratava-se de uma flavona (Tabela 4, pág. 68) (FERNANDES et al, 2018; CHAVES et al. 2013).

O espectro de RMN ^1H da molécula em análise ainda permitiu propor que esta possui um sistema ABX para o anel B de flavonoides ao exibir um duplo duplo em δ_{H} 7,43 ($J=8,6$ e 1,6 Hz), atribuído ao H-6', que acoplou orto e meta com H-5' e H-2', respectivamente; um duplo em δ_{H} 7,03 ($J=8,6$ Hz), conferido ao H-5', acoplando orto com H-6' e outro duplo em δ_{H} 7,34 ($J=2,2$ Hz), atribuído ao H-2', que acoplou meta com H-6' (TELES et al, 2015). Um duplo em δ_{H} 6,05 e outro em δ_{H} 6,25, ambos com uma constante de acoplamento (J) igual a 2,1 Hz, mostrando acoplamento *meta*, são típicos dos hidrogênios 6 e 8 do esqueleto flavonoídico substituído nas posições 5 e 7 do anel A. Um simpleto em δ_{H} 3,92 referente à metoxila ligada a carbono aromático permitiu sugerir que *Sc*-2 possui este grupo na sua estrutura (Tabela 4, pág. 68) (TELES et al, 2015b).

O espectro de RMN ^{13}C de *Sc*-2 e suas expansões (Figuras 20 a 22, págs. 72 e 73) mostraram 16 absorções, sendo 15 condizentes com absorções de núcleo flavanoidico, além de um simpleto em δ_{C} 56,44 que fortalece a proposta levantada pelo espectro de RMN ^1H de que essa molécula possui núcleo flavona com um grupo metoxila (Tabela 4, pág. 68).

As expansões dos espectros de RMN ^{13}C de *Sc*-2 (Figuras 21 e 22, Pág. 72 e 73) também mostraram sinais para nove carbonos não hidrogenados e seis carbonos monohidrogenados, confirmando que o núcleo do composto corresponde a uma flavona, uma vez que temos em δ_{C} 182,96, sinal condizente com carbonila do C-4 de flavonas. (Tabela 4, pág. 68) (FERNANDES et al, 2018)

Os dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C da substância codificada como *Sc*-2, além de comparações com modelos da literatura permitiram propor que esta substância tratava-se da 5,7,3'-trihidroxi-4'-metoxiflavona

As correlações diretas entre ^{13}C e ^1H podem ser observadas no espectro de HSQC e suas expansões (Figuras 23 a 25, págs. 73 e 74) permitiram fazer as correlações diretas entre os hidrogênios e seus carbonos, confirmando a existência na molécula de seis carbonos

monohidrogenados, entre eles destacou-se a correlação direta entre H-3/C-3 (δ_H 6,44/ δ_C 103,80) (Figura 24, pág. 74; Tabela 5, pág. 69) confirmando que *Sc*-2 possui o núcleo flavona. Além dessas correlações se pode confirmar a presença do grupo metoxila na molécula pela correlação direta entre os hidrogênios metoxila e seu carbono (δ_H 3,95/ δ_C 56,3) (Fig. 25, pág. 74; Tabela 5, pág. 69).

A análise dos espectros de RMN utilizando a técnica HMBC (Figuras 26 à 28, págs. 75 e 76) permitiram fazer as correlações e definir a localização dos grupos hidroxilas nas posições C-5 pela correlação a J^2 do H-6/C-5 (δ_{H-6} 6,05/ δ_{C-5} 162,76), posição C-7 pela correlação a J^2 entre o H-8 e C-7 (δ_{H-8} 6,25/ δ_{C-7} 164,79) e posição C-3' pela correlação a J^2 entre o H-2' e C-3' ($\delta_{H-2'}$ 7,34/ $\delta_{C-3'}$ 148,26) (Fig. 27 e 28, Pág. 75 e 76; Tabela 5, pág. 69). A localização do grupo metoxila na posição C-4' foi definida pela correlação a J^3 entre os hidrogênios do grupo metoxila e o C-4' (δ_H 3,95/ $\delta_{C-4'}$ 152,36) (Fig. 28, Pág. 76; Tabela 5, pág. 69).

A análise dos dados espectrais de RMN 1H e ^{13}C uni e bidimensionais e comparações com os dados da literatura (Tabelas 4 e 5, págs. 68 e 69) permitiram identificar *Sc*-2 como sendo a estrutura 5,7,3'-trihidroxi-4'-metoxiflavona, também conhecida como Diosmetina, já isolada de *Anoda cristata* (L) Schleidl. (Malvaceae) (JUÁREZ-REYES et al. 2015), sendo relatada pela primeira vez no gênero *Sida*.

Essa substância possuí comprovada atividade anticâncer (ANDROUTSOPoulos et al, 2008), anti-inflamatória e antioxidante (YANG et al, 2017), como também atividade fotoprotetora (ANUNCIATO, DA ROCHA FILHO, 2012; SAEWAN; JIMTAISONG, 2013; MOROCHO-JÁCOME et al., 2020).

Sc-2: 5,7,3'-trihidroxi-4'-metoxiflavona (Diosmetina)

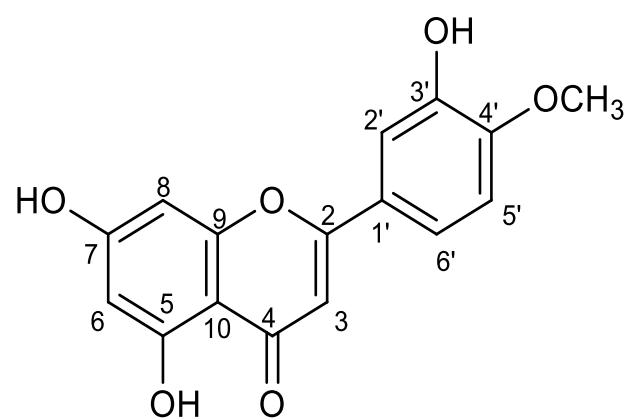


Tabela 4. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de *Sc-2* (δ , CD_3OD , 400 e 100 MHz) com os modelos Mo-1 (δ , CD_3OD , 200 e 50 MHz) (SILVA, 2004) e Mo-2 (δ , Acetona- d_6 , 500 e 125 MHz) (SAEIDNIA et al, 2011).

Mo-1 (Luteolina)			Mo-2 (Diosmetina)			Sc-2		
C	δC	δH	δC	δH	δH	δC	δH	δH
2	166,09	-	164,8	-	-	164,92	-	-
4	183,86	-	182,9	-	-	182,96	-	-
5	163,18	-	163,3	-	-	162,76	-	-
7	166,35	-	164,9	-	-	164,79	-	-
9	159,41	-	158,7	-	-	159,94	-	-
10	105,27	-	105,3	-	-	103,14	-	-
1'	123,65	-	124,8	-	-	125,43	-	-
3'	147,03	-	147,8	-	-	148,26	-	-
4'	150,99	-	151,6	-	-	152,36	-	-
CH3O-4'	-		56,3	3,95 (s)		56,44	3,92 (s)	
3	103,83	6,51 (s)	104,6	6,64 (s)		103,80	6,44 (s)	
6	100,14	6,18 (d, $J=2,2$ Hz)	99,6	6,20 (d, $J=2,1$ Hz)		102,64	6,05 (d, $J=2,1$ Hz)	
8	95,02	6,41 (d, $J=2,2$ Hz)	94,7	6,56 (d, $J=2,1$ Hz)		96,92	6,25 (d, $J=2,1$ Hz)	
2'	114,13	7,35 (d, $J=1,8$ Hz)	113,6	7,50 (d, $J=2,3$ Hz)		112,62	7,34 (d, $J=2,2$ Hz)	
5'	116,78	6,88 (d, $J=8,8$ Hz)	112,4	7,13 (d, $J=8,5$ Hz)		113,79	7,03 (d, $J=8,6$ Hz)	
6'	120,30	7,36 (dd, $J=8,8$ e 1,8 Hz)	119,6	7,57 (dd, $J=8,5$ e 2,4 Hz)		119,64	7,43 (dd, $J=8,6$ e 1,6 Hz)	

Tabela 5. Compilação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C , HSQC e HMBC de Sc-2 (δ , CD_3OD , 400 e 100 MHz)

Sc-2				
HSQC			HMBC	
C	δC	δH	2J	3J
2	164,92	-		
4	182,96	-		
5	162,76	-		
7	164,79	-		
9	159,94	-		
10	103,14	-		
1'	125,43	-		
3'	148,26	-		
4'	152,36	-		
CH ₃ O-4'	56,44	3,92 (s)		C-4'
3	103,80	6,44 (s)	C-2, C-4	C-1'
6	102,64	6,05 (d, $J=2,1$ Hz)	C-5	C-8
8	96,92	6,25 (d, $J=2,1$ Hz)	C-7	C-6
2'	112,62	7,34 (d, $J=2,2$ Hz)	C-3'	C-6', C-4', C-2
5'	113,79	7,03 (d, $J=8,6$ Hz)	C-4'	C-1', C-3'
6'	119,64	7,43 (dd, $J=8,6$ e $1,6$ Hz)		C-2', C-4'

Figura 16. Espectro de RMN ^1H (δ , CD_3COD , 400 MHz) de *Sc-2*

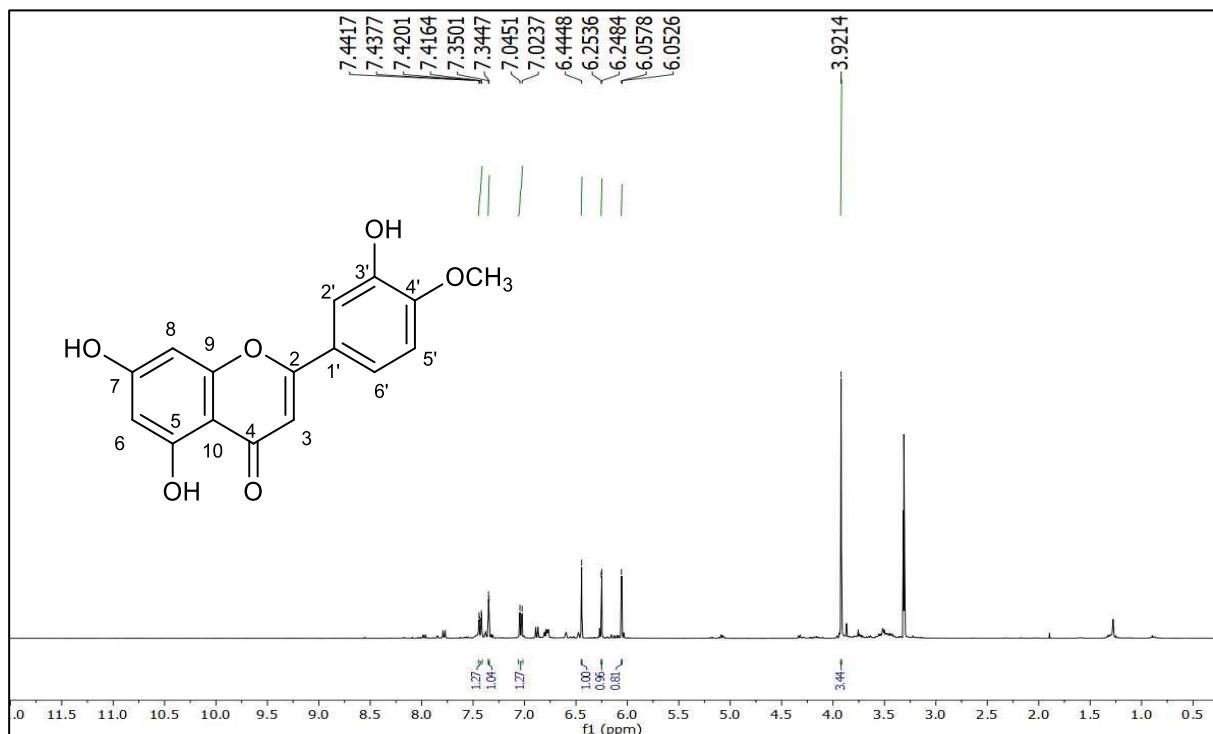


Figura 17. Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre δ_{H} 6,90 e 7,70 ppm (δ , CD_3COD , 400 MHz) de *Sc-2*

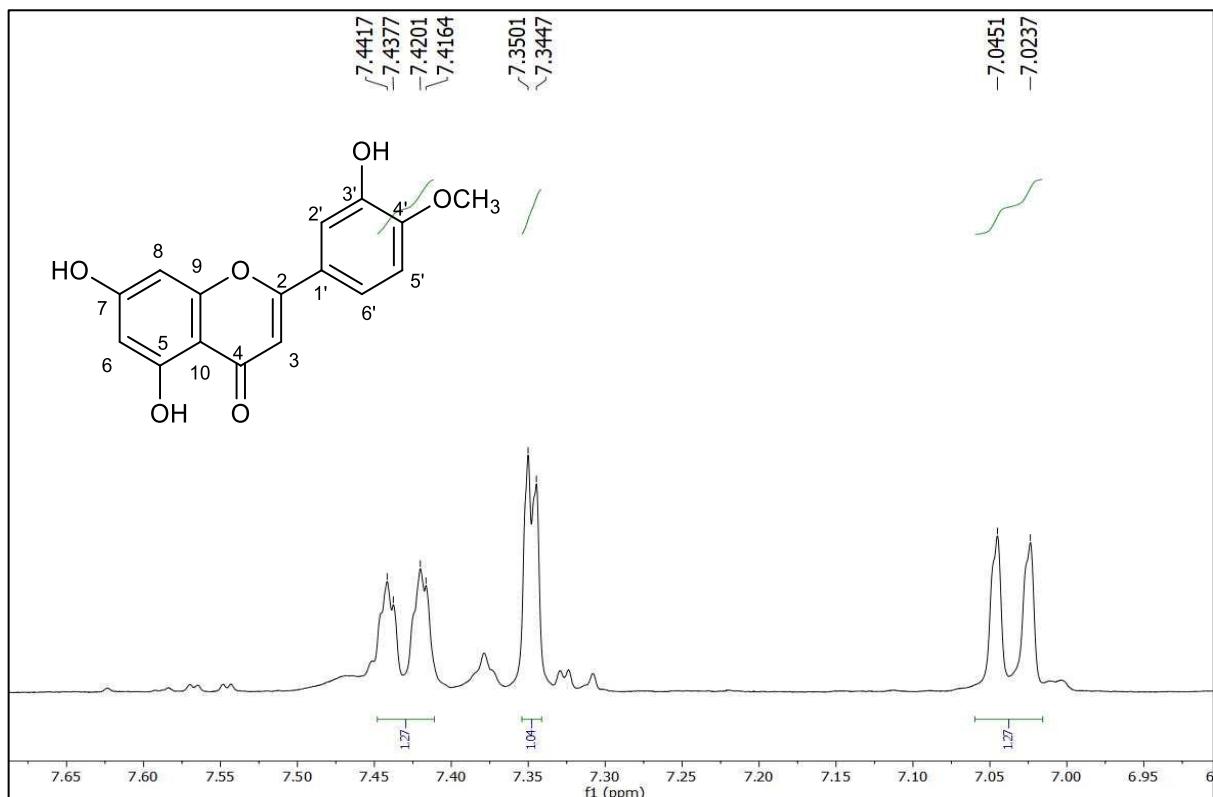


Figura 18. Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre δ_{H} 5,90 e 6,60 ppm (δ , CD_3COD , 400 MHz) de *Sc-2*

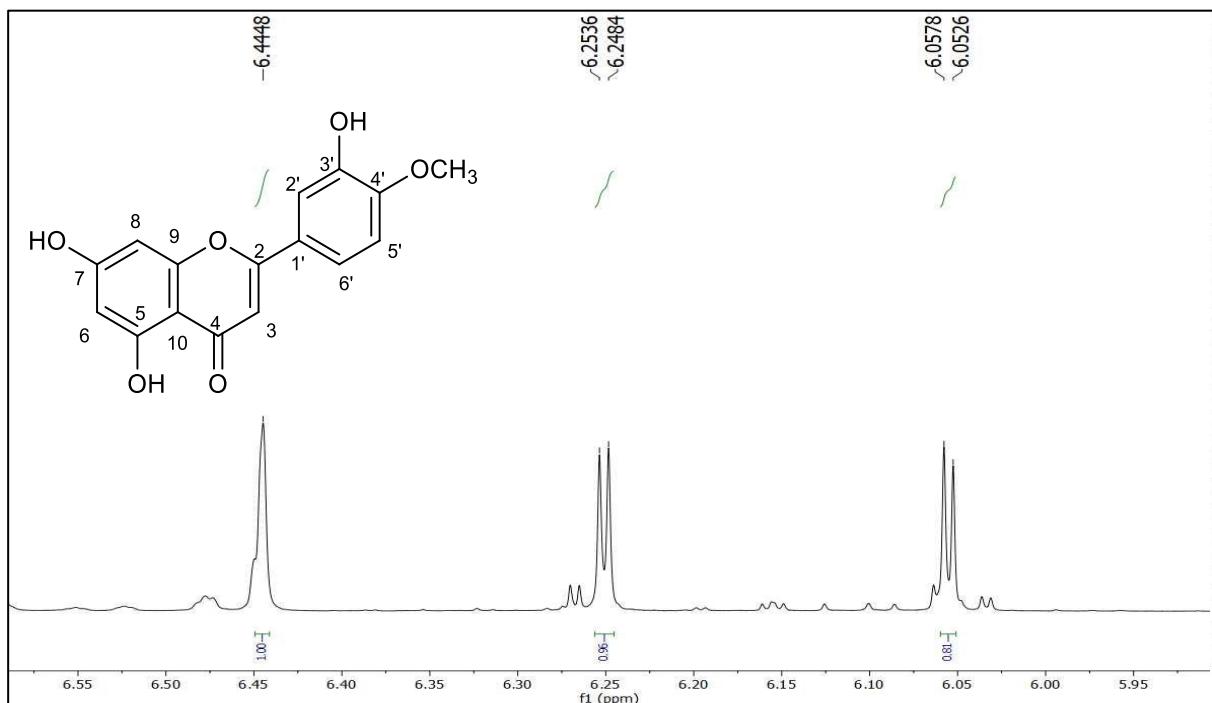


Figura 19. Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre δ_{H} 3,60 e 4,30 ppm (δ , CD_3COD , 400 MHz) de *Sc-2*

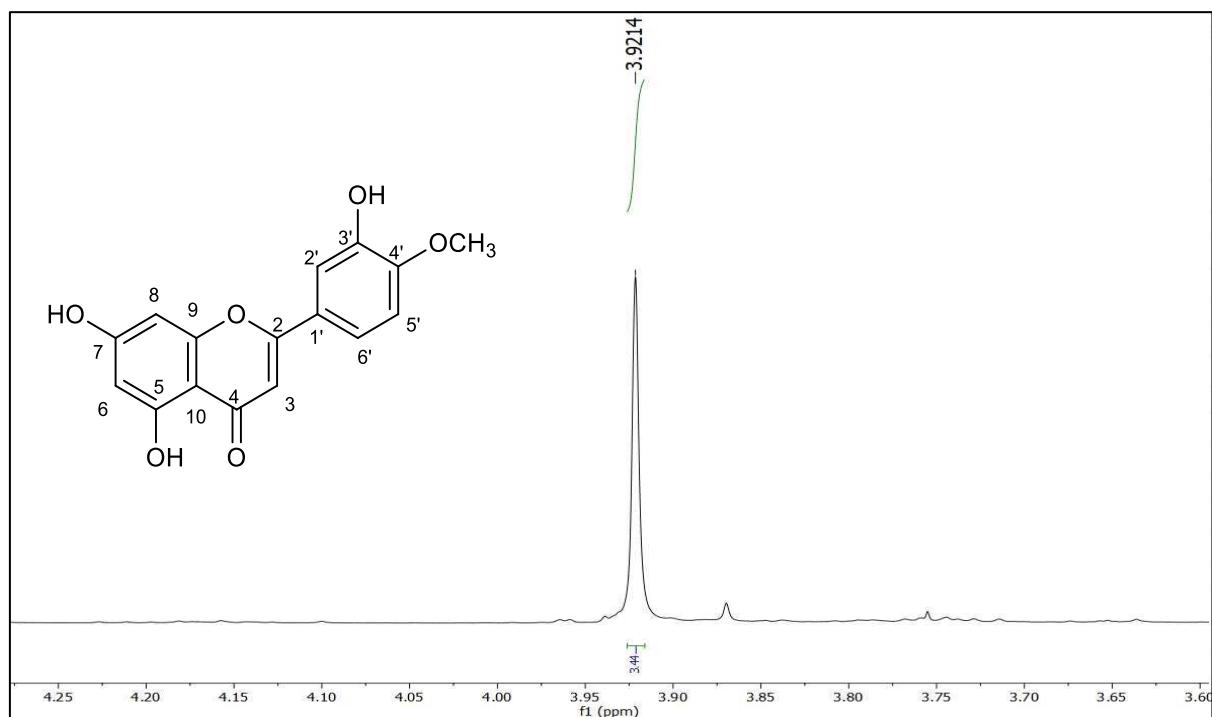


Figura 20. Espectro de RMN ^{13}C -APT (δ , CD_3COD , 100 MHz) de *Sc-2*

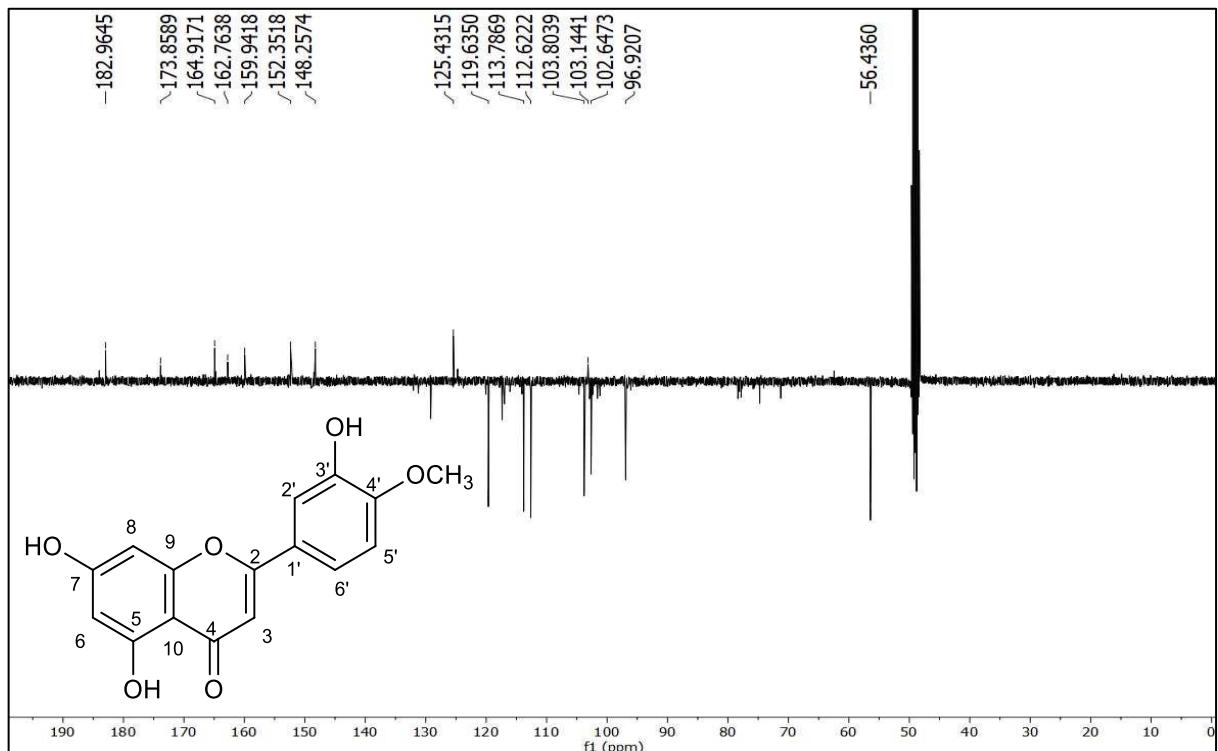


Figura 21. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT na região entre δ_{C} 138 e 190 ppm (δ , CD_3COD , 100 MHz) de *Sc-2*

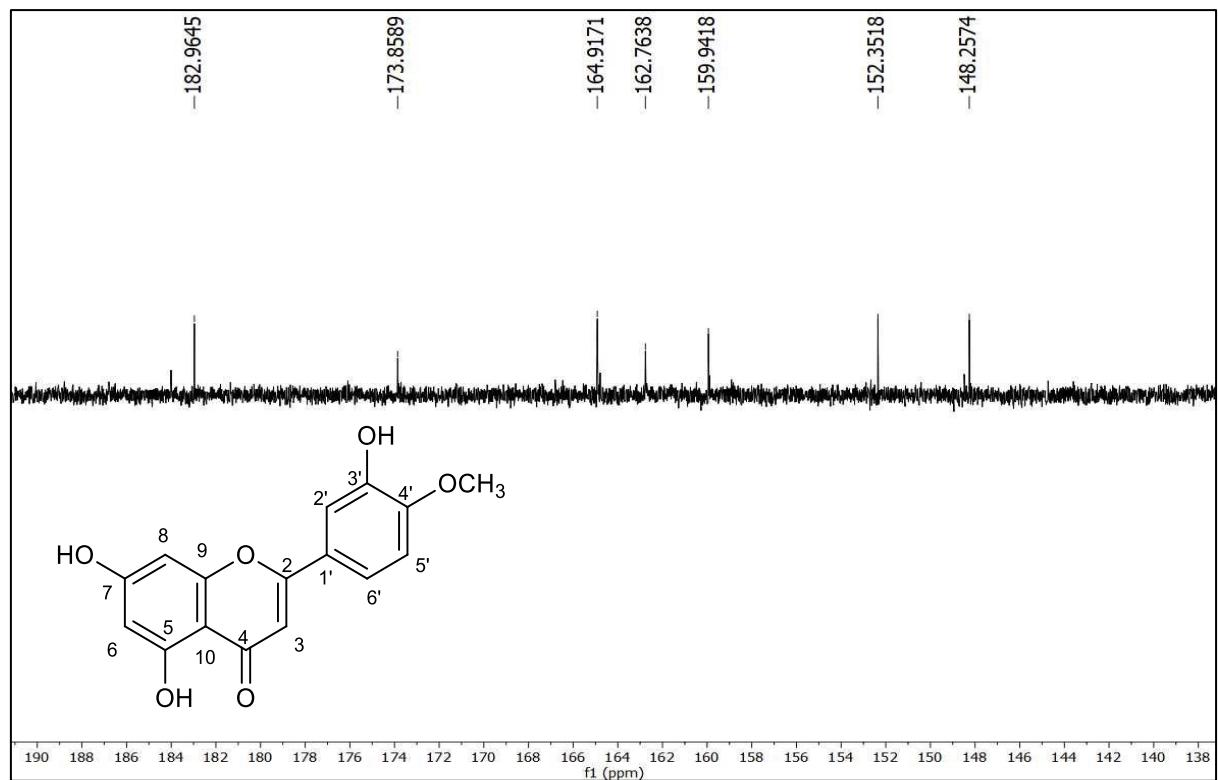


Figura 22. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT na região entre δ_{C} 45 e 135 ppm (δ , CD_3COD , 100 MHz) de *Sc-2*

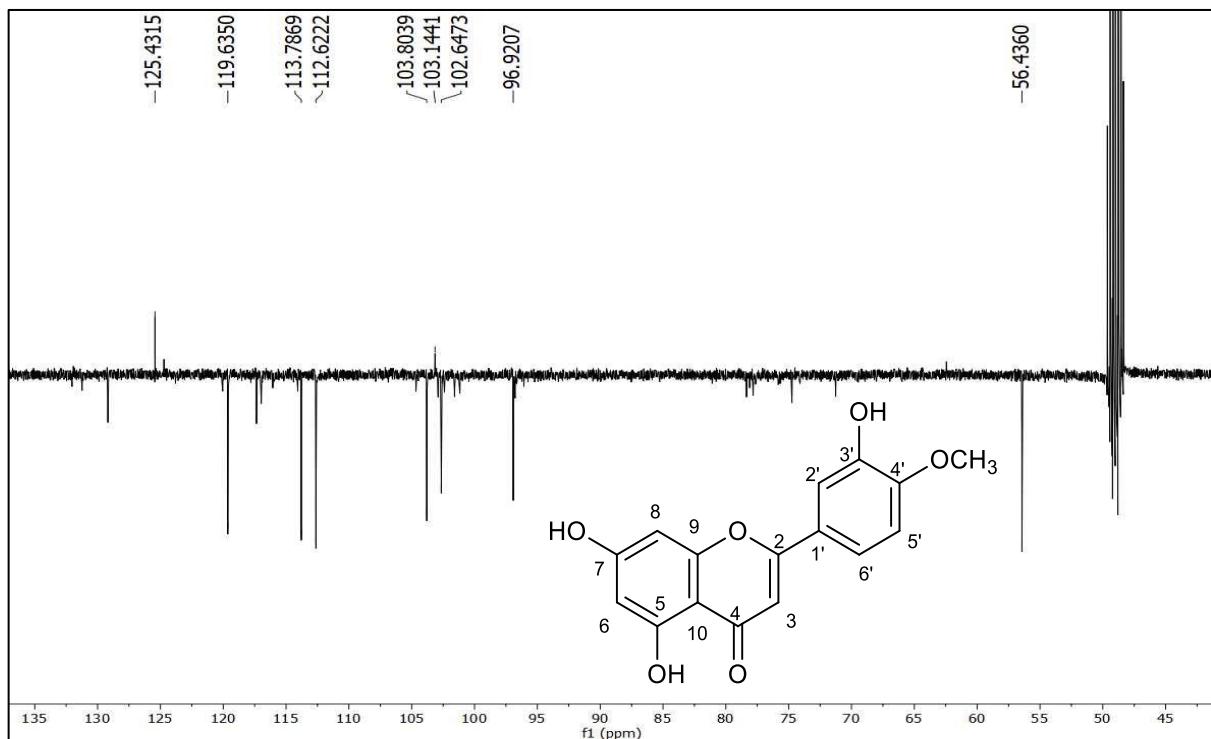


Figura 23. Espectro HSQC (δ , CD_3COD , 400 e 100 MHz) de *Sc-2*

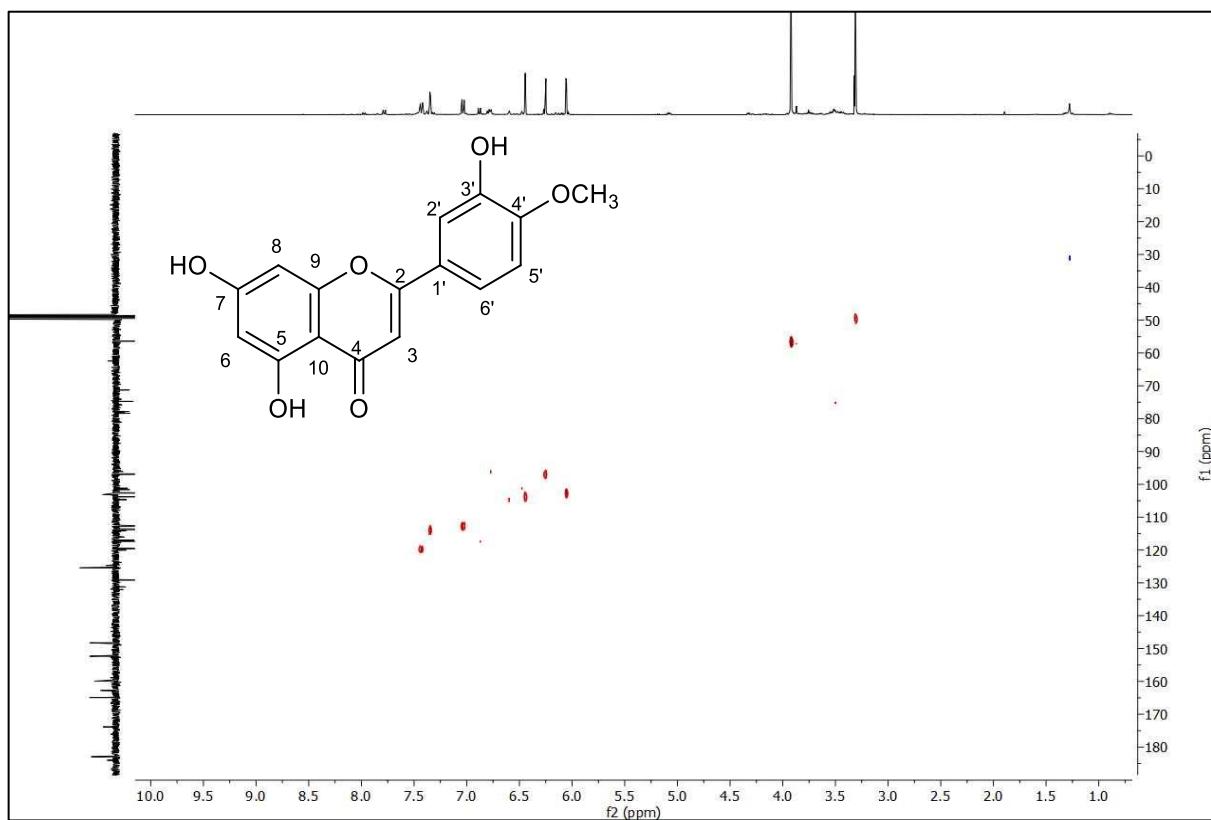


Figura 24. Expansão do espectro HSQC na região entre δ_H 5,90 e 7,60 ppm e entre δ_C 70,0 e 150,0 ppm (δ , CD₃COD, 400 e 100 MHz) de *Sc*-2

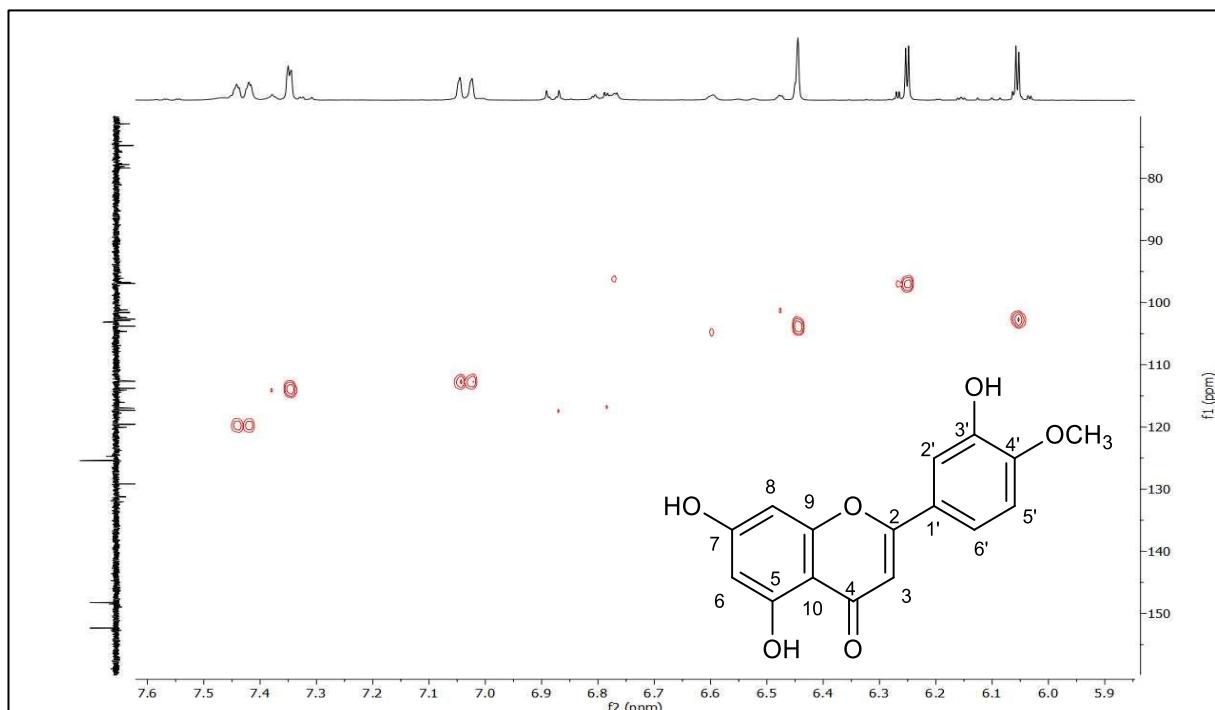


Figura 25. Expansão do espectro HSQC na região entre δ_H 2,50 e 4,80 ppm e entre δ_C 25,0 e 90,0 ppm (δ , CD₃COD, 400 e 100 MHz) de *Sc*-2

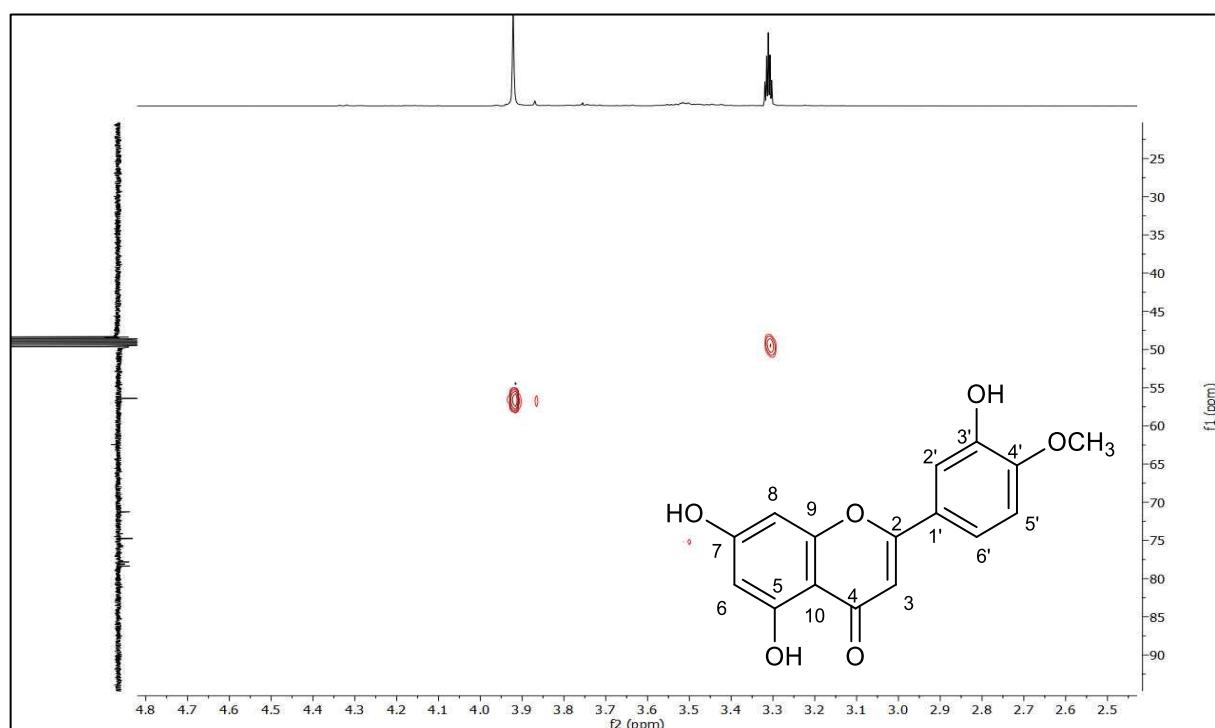


Figura 26. Espectro HMBC (δ , CD_3COD , 400 e 100 MHz) de *Sc-2*

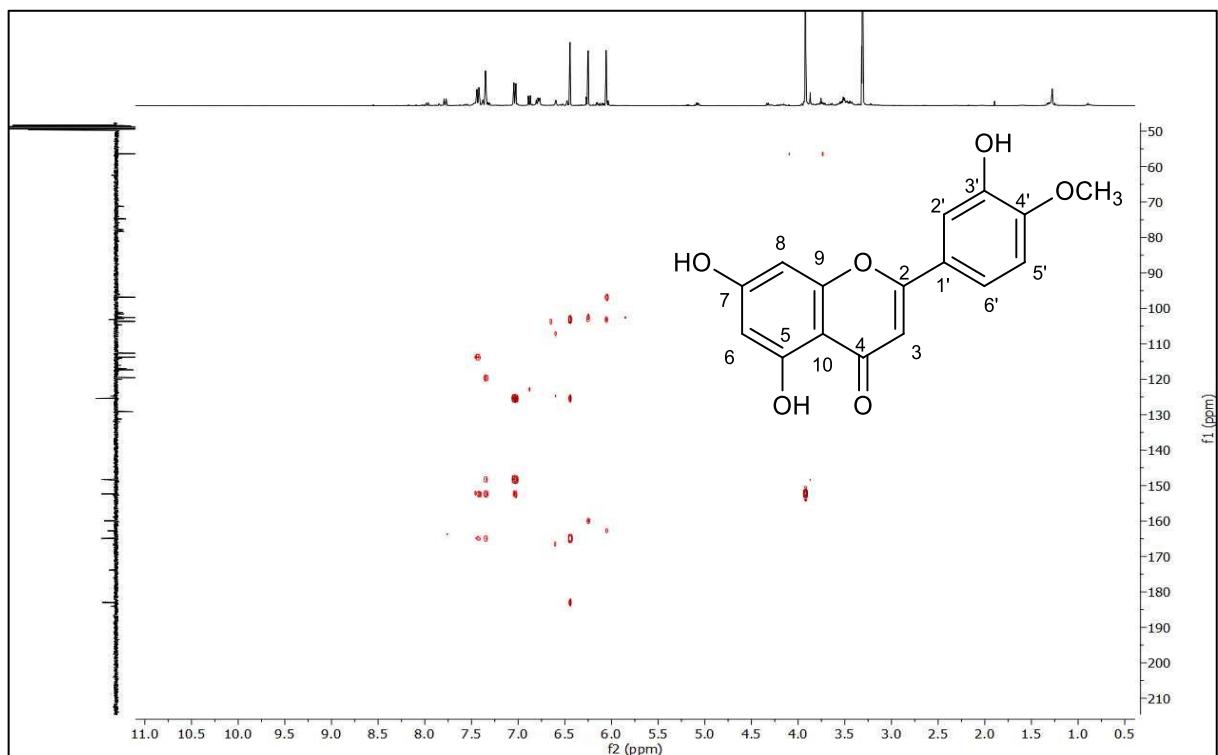


Figura 27. Expansão do espectro HMBC na região entre δ_{H} 5,80 e 7,70 ppm e entre δ_{C} 70,0 e 200,0 ppm (δ , CD_3COD , 400 e 100 MHz) de *Sc-2*

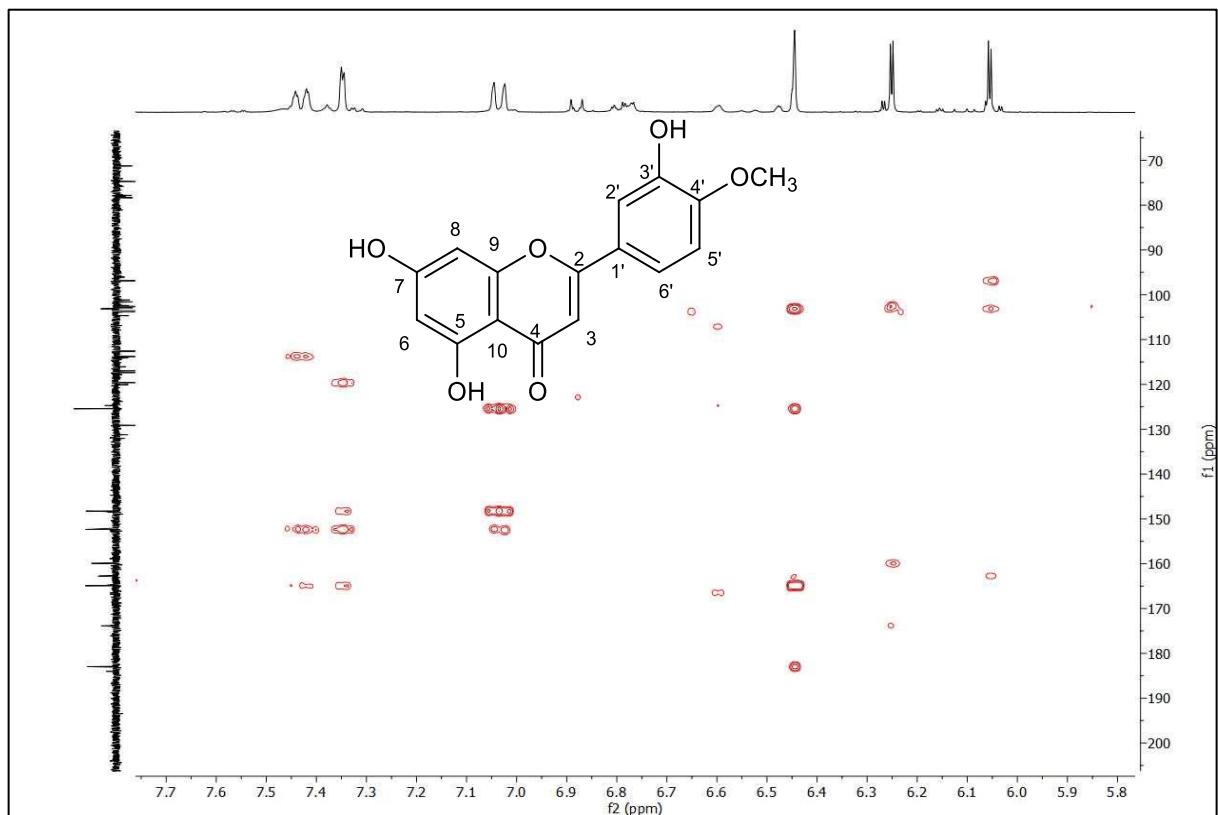
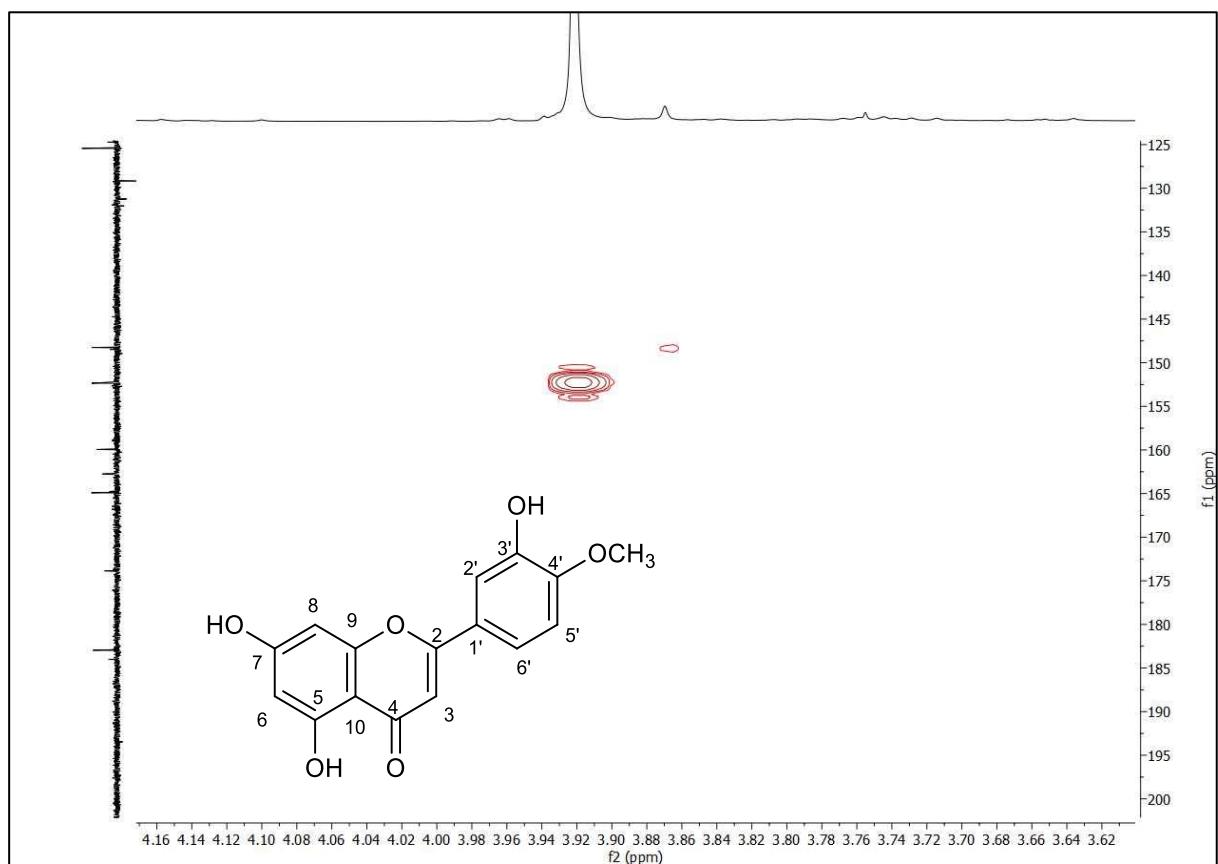


Figura 28. Expansão do espectro HMBC na região entre δ_H 3,60 e 4,16 ppm e entre δ_C 125,0 e 200,0 ppm (δ , CD₃COD, 400 e 100 MHz) de *Sc-2*



5.2.3 Caracterização estrutural de *Sc*-3

A substância codificada como *Sc*-3 foi obtida na forma de pó amarelado. A análise do espectro de RMN de ^1H (δ , 400 MHz, CD₃OD) e suas expansões (Figura 29 e 30, pág. 81), apresentaram, na maioria de suas absorções semelhanças com o espectro de RMN de ^1H de *Sc*-2 (diosmetina), principalmente no que concerne aos anéis A e C do esqueleto flavonoídico, como um simpleto em δ_{H} 6,54, caracterizando também o hidrogênio da posição C-3 de flavonas (CHAVES et al, 2013).

Como também apresentando o sistema ABX no anel B de flavonoides, também exibindo um duplo dupleto em δ_{H} 7,39 (J = 8,9 e 2,2 Hz) (H-6'), acoplando orto e meta com H-5' e H-2', respectivamente; também um dupleto em δ_{H} 6,91 (J = 8,9 Hz) (H-5'), acoplando orto com H-6' e outro dupleto em δ_{H} 7,37 (J = 2,2 Hz) (H-2'), que acoplou meta com H-6'. Apresentou um dupleto em δ_{H} 6,21 (J = 1,6 Hz) e em δ_{H} 6,44 (J = 1,6 Hz) mostrando acoplamento *meta* dos hidrogênios das posições 5 e 7 do anel A (TELES, 2015). Porém, o espectro de RMN de ^1H desta substância revelou diferenças com relação a *Sc*-2 no que se refere ao substituinte do anel B pela ausência de um simpleto em δ_{H} 3,92 referente à metoxila de *Sc*-2.

Os dados de RMN de ^{13}C de *Sc*-3 e suas expansões (Figura 31 à 33, págs. 82 e 83) também foram condizentes com os referidos anéis de *Sc*-2, porém apresentando apenas 15 sinais, o que levou a sugerir que *Sc*-3 também classifica-se como uma flavona, no entanto, a ausência do sinal em δ_{C} 56,44 pertencentes às metoxilas de *Sc*-2, sugeriu que a substância *Sc*-3 seria uma flavona 5,7,3',4'- tetrahidroxilada, levantando a hipótese que em *Sc*-3, diferentemente de *Sc*-2, possui o substituinte hidroxila em vez de metoxila (Tabela 6, pág 79).

As correlações diretas entre ^1H e ^{13}C de *Sc*-3 no espectro de HSQC e suas expansões (Figuras 24 a 26, págs. 72 e 73) mostraram semelhança com a substância *Sc*-2, como também nos espectros de HMBC (Figuras 36 e 37, págs. 84 e 85), porém para a substância *Sc*-3 foi possível observar e sugerir que na posição C-4' pela correlação a J^2 do H-5'/C-4' ($\delta_{\text{H-5'}}=6,91/\delta_{\text{C-4'}}=151,02$), e pela ausência de sinais de metoxila, a presença de uma hidroxila nessa posição.

Após análise dos espectros de RMN ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (Figura 29 à 37, págs. 81 à 85), além da comparação com modelos da literatura (Tabela 6 e 7, págs. 79 e 80), *Sc*-3 foi identificada como sendo 5,7,3',4'-tetrahidroxiflavona, também chamada de Luteolina.

Substância esta relatada anteriormente no gênero, isolada de *Sida galheirensis* (SILVA et al, 2006), sendo isolada pela primeira vez na espécie *Sida ciliaris*.

Na literatura é descrito que tal substância possui potencial atividade anticâncer (GANAI et al, 2021), anti-inflamatória (CONTI et al, 2021), fotoprotetora e antioxidante (WOLFLE et al, 2011).

Sc-3: 5,7,3',4'-tetrahidroxiflavona (Luteolina)

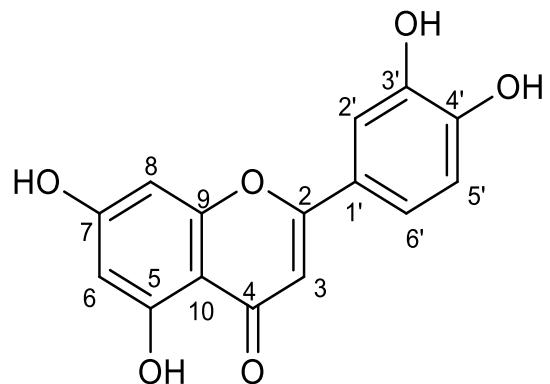


Tabela 6. Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C de *Sc-3* (δ , CD₃COD, 400 MHz) com modelo da literatura Mo-1 (δ , CD₃OD, 200 e 50 MHz) (SILVA, 2004).

Mo-1 (Luteolina)			Sc-03	
C	δC	δH	δC	δH
2	166,09	-	166,30	-
4	183,86	-	183,81	-
5	163,18	-	163,09	-
7	166,35	-	166,37	-
9	159,41	-	159,39	-
10	105,27	-	105,16	-
1'	123,65	-	123,62	-
3'	147,03	-	147,01	-
4'	150,99	-	151,02	-
3	103,83	6,51 (s)	103,77	6,54 (s)
6	100,14	6,18 (d, J=2,2 Hz)	100,26	6,21 (d, J=1,6 Hz)
8	95,02	6,41 (d, J=2,2 Hz)	95,12	6,44 (d, J=1,6 Hz)
2'	114,13	7,35 (d, J=1,8 Hz)	114,14	7,37 (d, J=2,2 Hz)
5'	116,78	6,88 (d, J=8,8 Hz)	116,79	6,91 (d, J=8,9 Hz)
6'	120,30	7,36 (dd, J=8,8 e 1,8 Hz)	120,30	7,39 (dd, J= 8,9 e 2,2 Hz)

Tabela 7. Compilação dos dados de RMN ^1H e ^{13}C , HSQC e HMBC de *Sc-3* (δ , CD_3OD , 400 e 100 MHz)

Sc-3					
HSQC			HMBC		
C	δC	δH	2J	3J	
2	166,30	-	-	-	
4	183,81	-	-	-	
5	163,09	-	-	-	
7	166,37	-	-	-	
9	159,39	-	-	-	
10	105,16	-	-	-	
1'	123,62	-	-	-	
3'	147,01	-	-	-	
4'	151,02	-	-	-	
3	103,77	6,54 (s)	C-2, C-4	C-10, C-1'	
6	100,26	6,21 (d, $J=1,6$ Hz)	C-5, C-7	C-10, C-8	
8	95,12	6,44 (d, $J=1,6$ Hz)	C-9, C-7	C-6, C-10	
2'	114,14	7,37 (d, $J=2,2$ Hz)	C-3'	C-6', C-4'	
5'	116,79	6,91 (d, $J=8,9$ Hz)	C-4'	C-1', C-3'	
6'	120,30	7,39 (dd, $J= 8,9$ e $2,2$ Hz)	-	C-2', C-4'	

Figura 29. Espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 400 MHz) de *Sc-3*

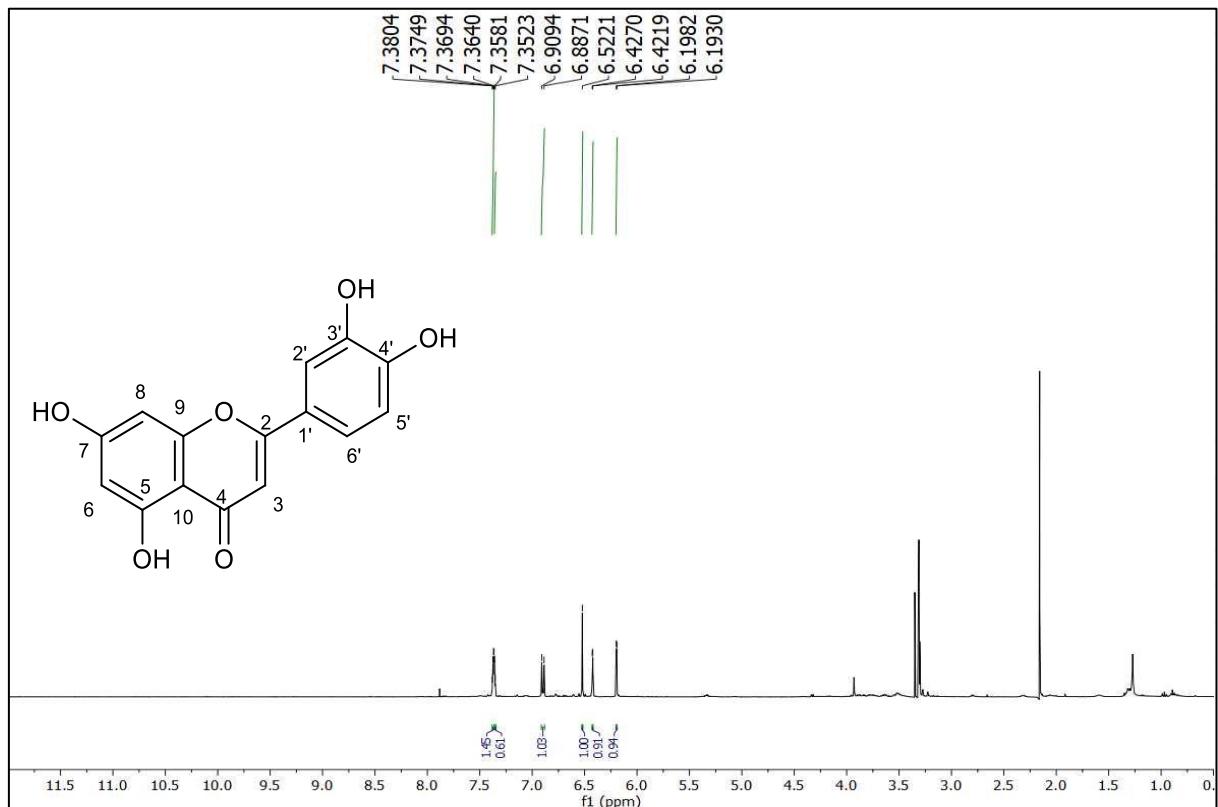


Figura 30. Expansão do espectro de RMN ^1H na região entre δ_{H} 5,9 e 7,7 ppm (δ , CD_3OD , 400 MHz) de *Sc-3*

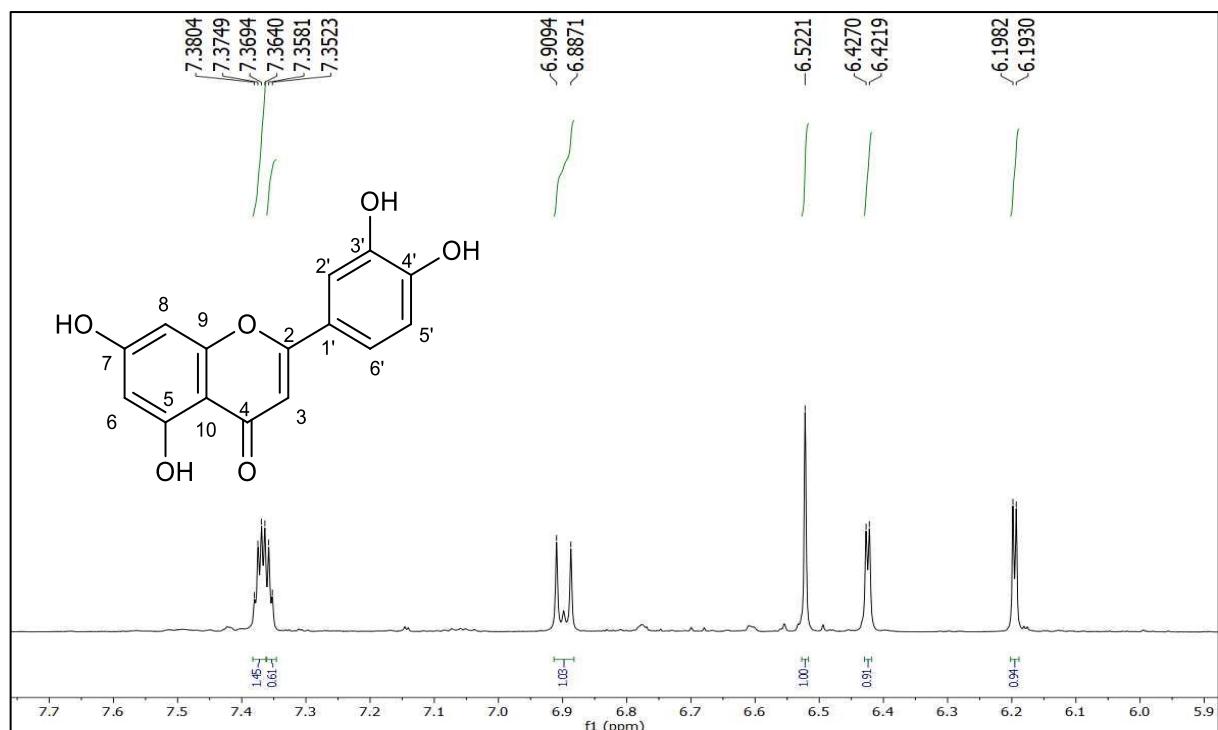


Figura 31. Espectro de RMN ^{13}C – APT (δ , CD_3OD , 100 MHz) de *Sc-3*

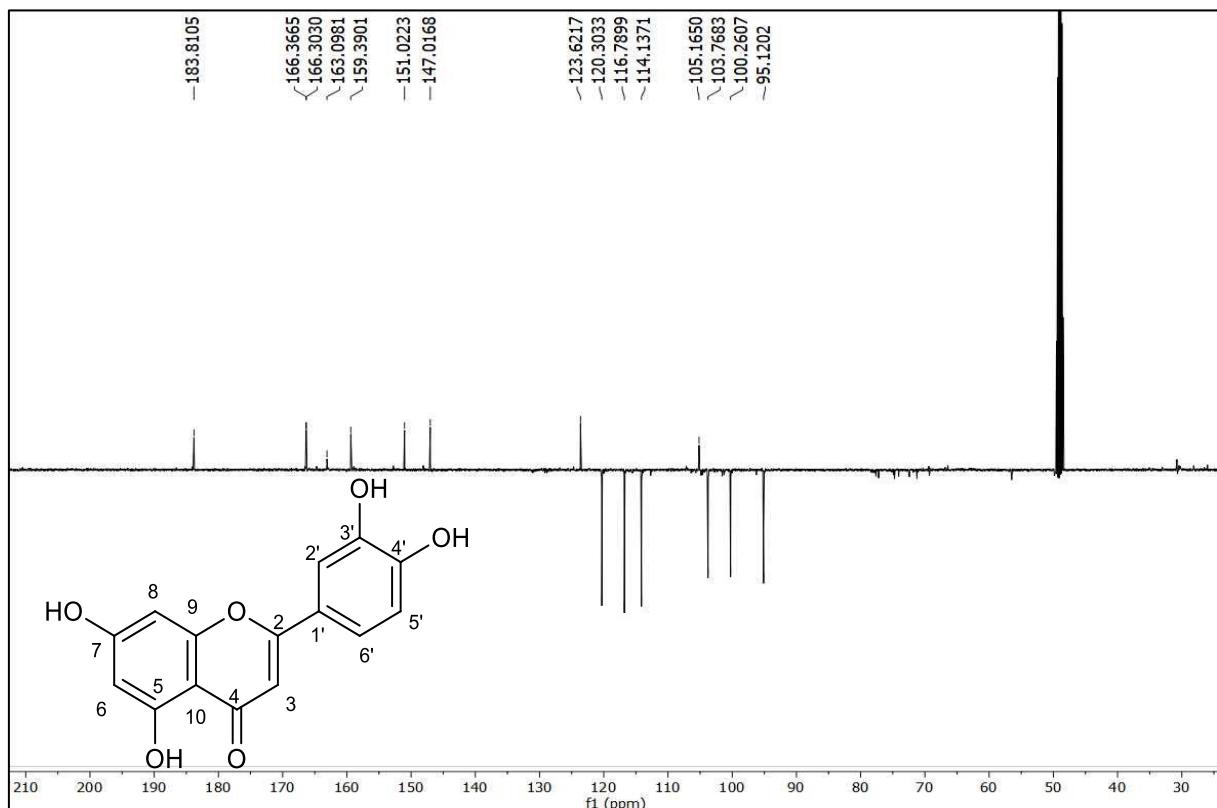


Figura 32. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT na região entre δ_{C} 130,0 e 196,0 ppm (δ , CD_3OD , 100 MHz) de *Sc-3*

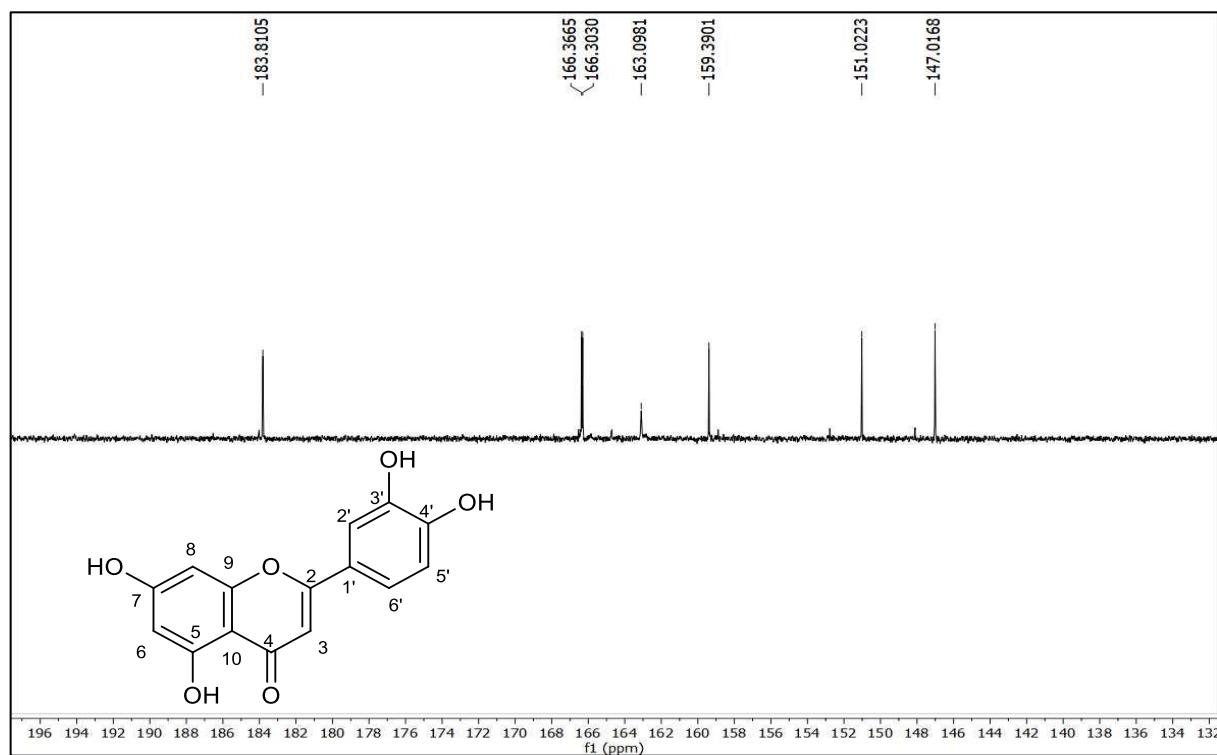


Figura 33. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT na região entre δ_{C} 85,0 e 135,0 ppm (δ , CD₃OD, 100 MHz) de *Sc-3*

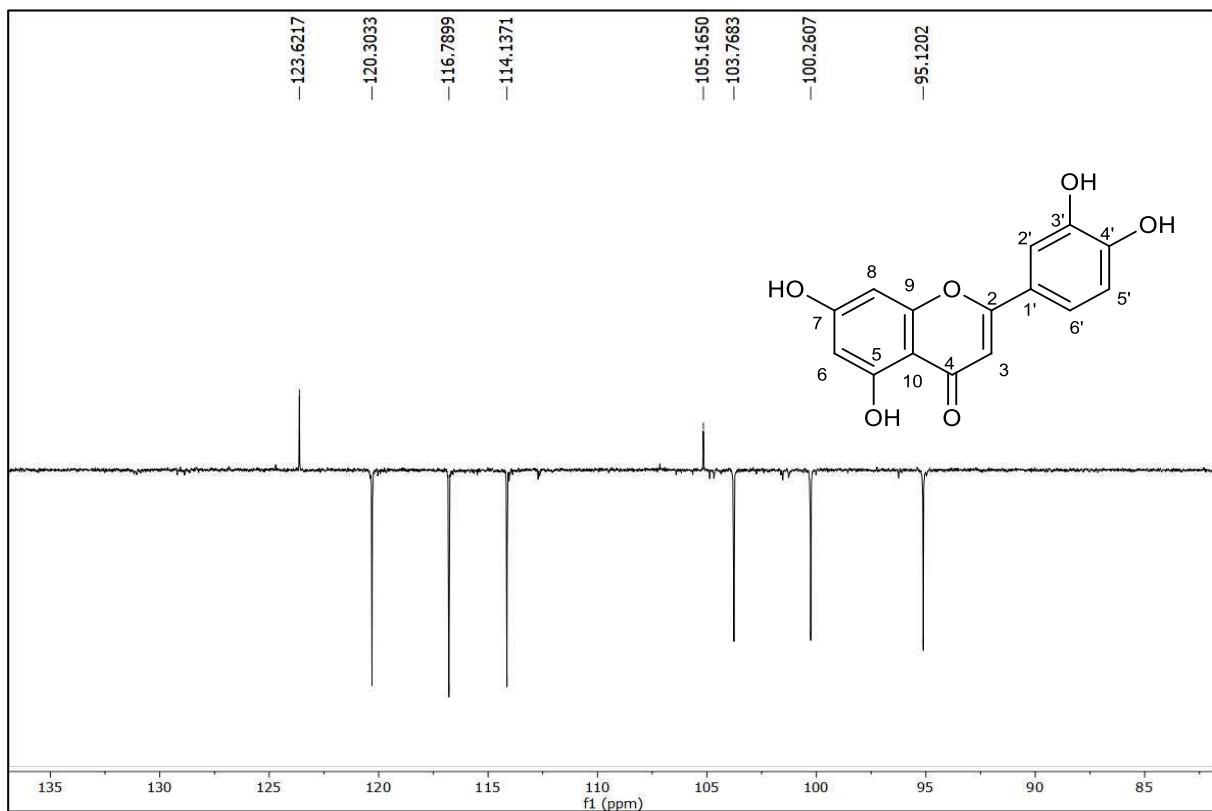


Figura 34. Espectro HSQC (δ , CD₃COD, 400 e 100 MHz) de *Sc-3*

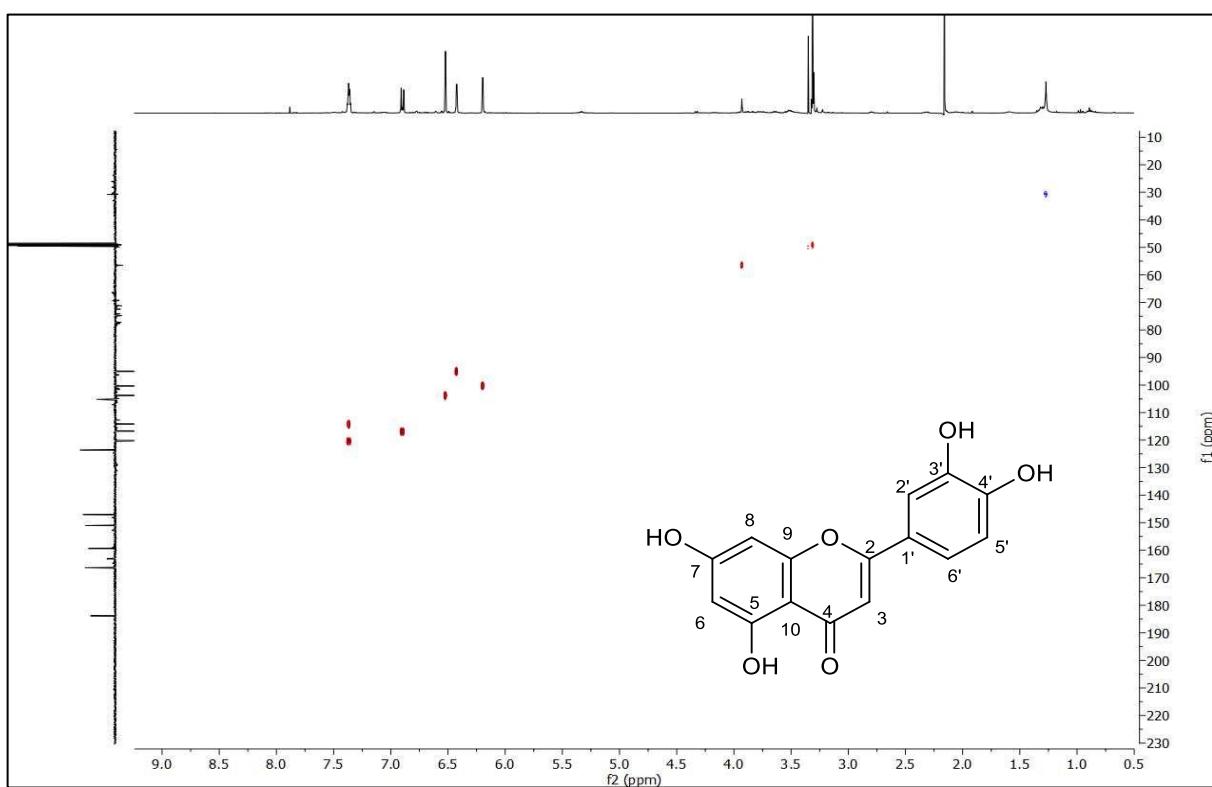


Figura 35. Expansão do espectro HSQC na região entre δ_H 6,1 e 7,5 ppm e entre δ_C 60,0 e 190,0 ppm (δ , CD₃COD, 400 e 100 MHz) de *Sc-3*

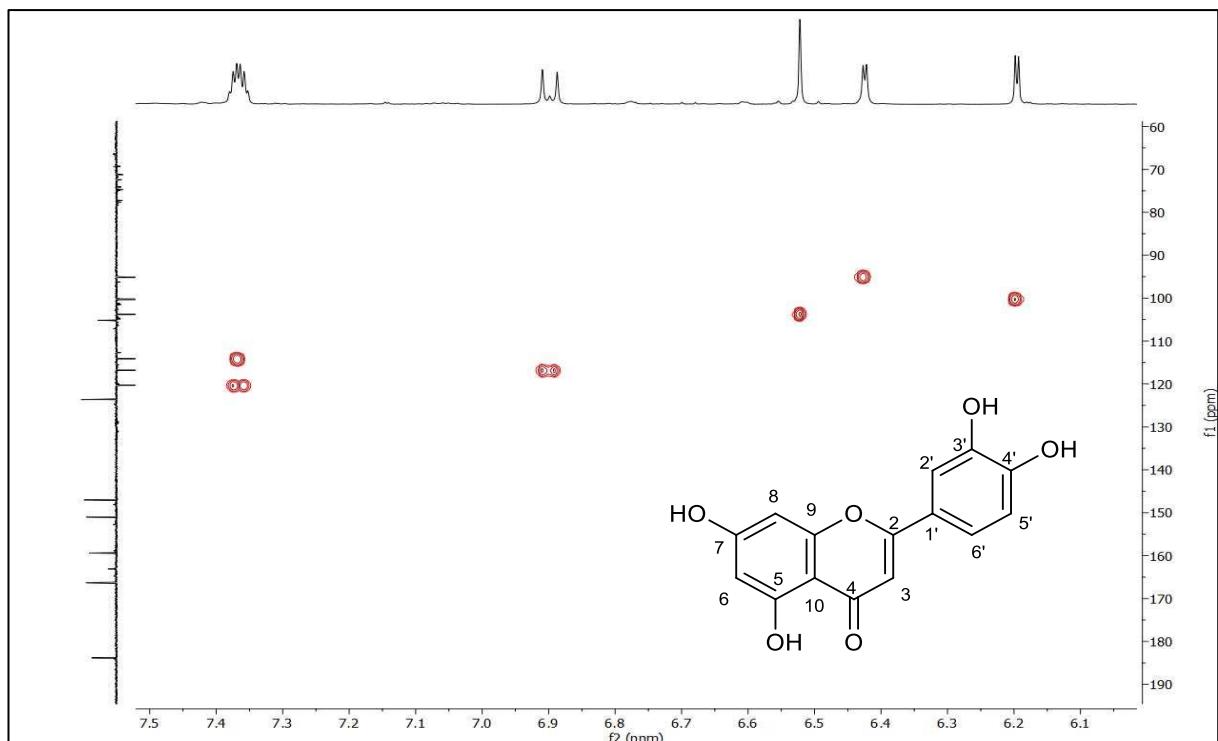


Figura 36. Espectro HMBC (δ , CD₃COD, 400 e 100 MHz) de *Sc-3*

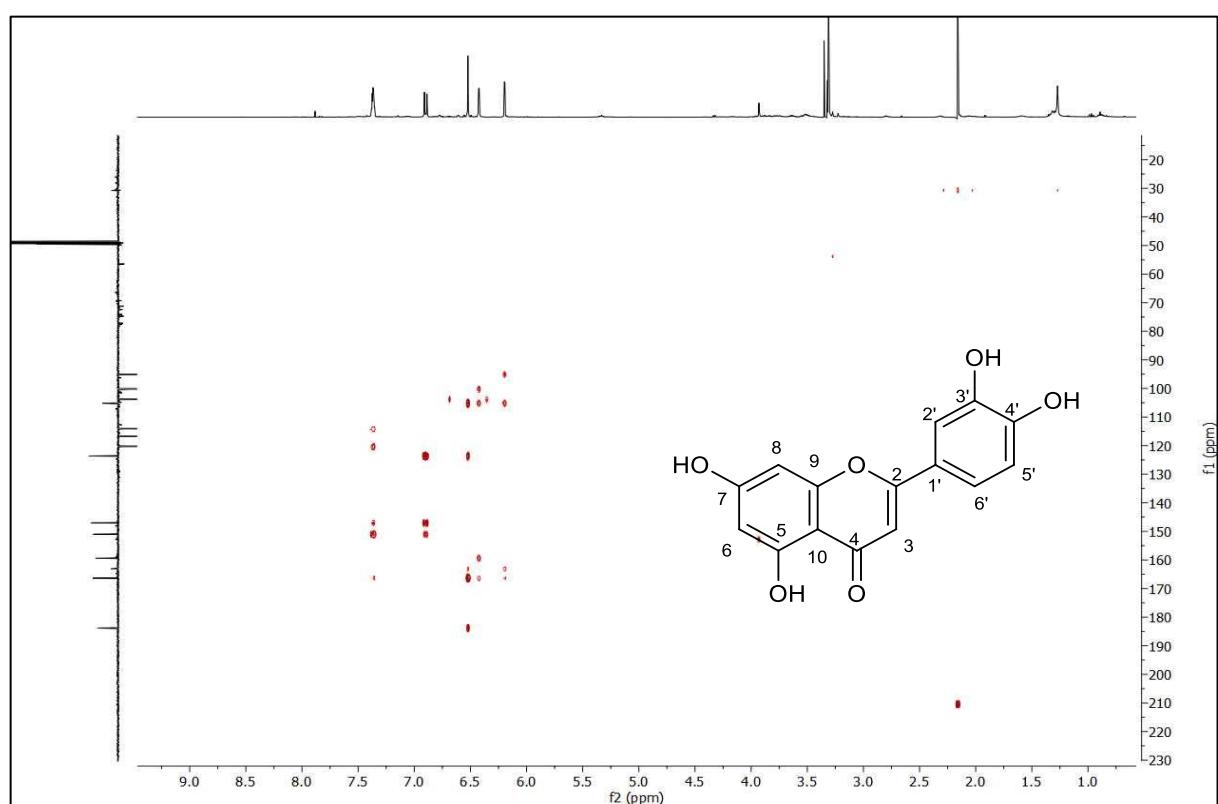
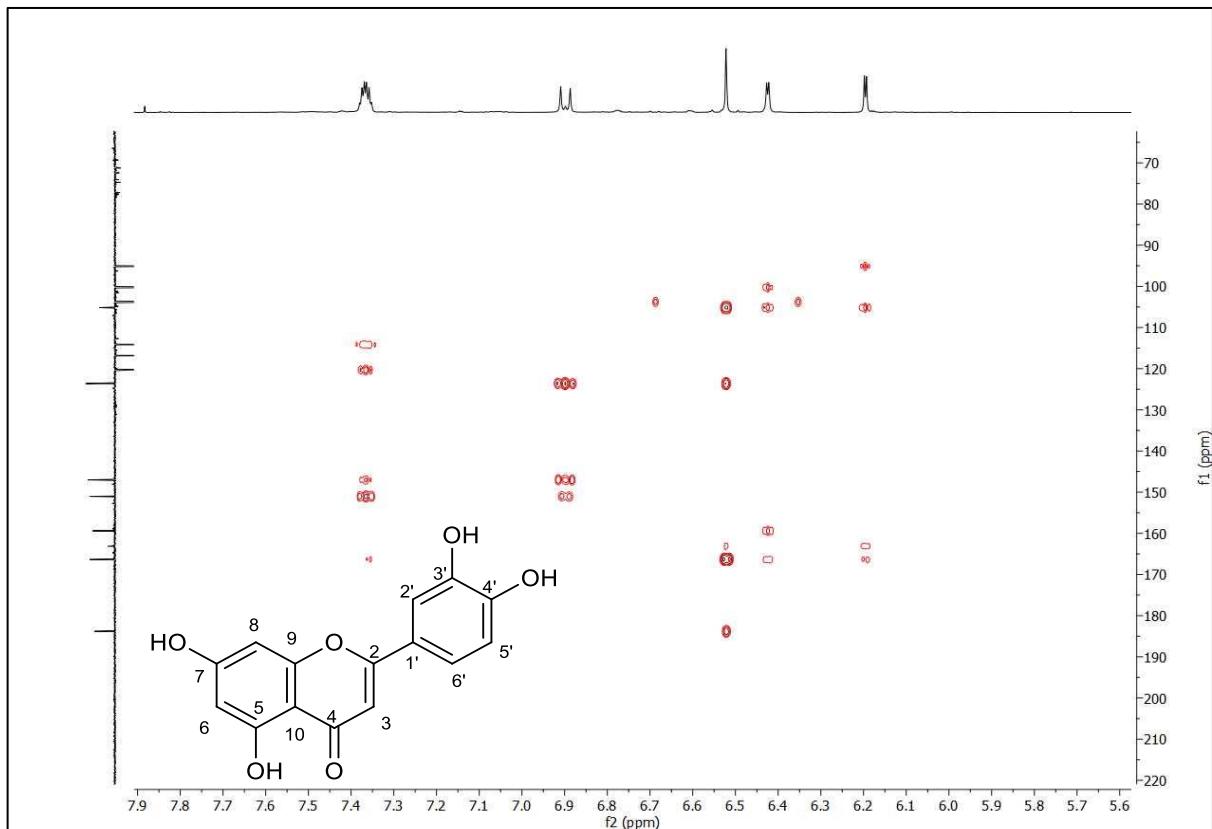


Figura 37. Expansão do espectro HMBC na região entre δ_H 5,60 e 7,90 ppm e entre δ_C 70,0 e 220,0 ppm (δ , CD₃COD, 400 e 100 MHz) de *Sc-3*



5.3 Avaliação fotoprotetora dos extratos e fração de *Sida ciliaris*

A busca por opções terapêuticas, como produtos naturais característicos de algumas famílias do reino vegetal, se descortina como uma solução viável, devido ao jeito rebuscado e simples de acesso da população. Assim, plantas com propriedades farmacológicas são regularmente utilizadas para suplantar ou auxiliar tratamentos de rotina no tratamento de diferentes doenças, bem como para evitar os danos causados pela radiação ultravioleta (OLIVEIRA FILHO, 2015).

De acordo com a RDC Nº 30, de 1º de junho de 2012, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2012) que aprova o regulamento técnico MERCOSUL sobre protetores solares em cosméticos e dá outras providências, atribuindo uma regulamentação técnica aplicada aos produtos e cosméticos destinados a proteção solar da pele, o fator mínimo de proteção solar tem o valor de 6 (seis) (FPS). Com base na análise dos dados apresentados na tabela 8 (pág. 86), observa-se resultados promissores, principalmente nas concentrações de 500 µg/mL e 1000 µg/mL, pois todas ultrapassam o valor considerado mínimo de 6 para fotoproteção.

Tabela 8. Resultados de FPS para os extratos e fração metanólica nas concentrações indicadas

Amostras	FPS			
	50 µg/mL	100 µg/mL	500 µg/mL	1000 µg/mL
EHB	1,97	2,62	6,66	10,70
EHAB	0,90	2,54	13,83	25,00
EEB	1,74	1,94	8,34	25,00
Fração metanólica	8,91	7,83	25,00	25,00

. De acordo com os resultados obtidos, pode-se perceber que a fração metanólica foi a que obteve um melhor resultado comparado aos demais extratos, apresentando valores consideráveis de FPS, *in vitro*, numa concentração menor, 500 µg/mL, sugerindo uma possível utilização dessa fase como fotoprotetor em fitocosméticos e motivando estudos *in vivo* com esta espécie.

Esses resultados podem estar associados as características dos compostos fenólicos presente na fração metanólica, como a luteolina e diosmetina isoladas a partir dessa fração,

compostos estes já relatados na literatura com atividade fotoprotetora (WOLFLE et al, 2011; ANUNCIATO; DA ROCHA FILHO, 2012; SAEWAN, JIMTAISONG, 2013; MOROCHO-JACOME et al., 2020)

Os dados desta pesquisa quando comparados com outros estudos, como por exemplo, o estudo realizado por NUNES et al (2018), no qual o extrato etanólico das folhas de *Sida galheirensis* não exibiram resultados significativos quanto a atividade fotoprotetiva, com FPS de 5,40 em todas as concentrações testadas, se mostraram promissores, apresentando características diferentes entre as espécies em relação a presença de compostos fenólicos.

Os flavonóides são compostos fenólicos que possuem um incrível potencial fotoprotetor e atividade antioxidante. As plantas que sintetizam esses compostos naturais oferecem diversidade extraordinária de flavonóides, mas ainda não há uma maneira única de extrair os compostos fenólicos em seu agregado, e é fundamental investigar sobre a maneira de extrair essas substâncias de acordo com as características do planta em que trabalham (CARVALHO et al., 2015)

5.4 Avaliação microbiológica das substâncias isoladas de *Sida ciliaris*

Primeiramente, a atividade antimicrobiana das substâncias isoladas da *S. ciliaris* L. foi investigada a partir do método de disco-difusão, onde a amostra foi colocada nas placas por meio de papel filtro no disco, e considerada como possuidora de atividade antibacteriana aquela que quando aplicada sobre o meio de cultura contendo a suspensão do micro-organismo apresentou um halo de inibição, caracterizado por uma zona de clareamento em torno do disco.

O teste de disco-difusão nos permite fazer uma avaliação qualitativa da atividade bacteriana, no entanto, com as avaliações, por exemplo, MIC e MBC que essa atividade pode ser quantificada.

Como mostrado na Figura 38 (pág. 88), é possível observar que não houve zona de clareamento impedindo o crescimento das bactérias testadas das substâncias isoladas (Luteolina e Diosmetina) com relação ao controle positivo.

Figura 38. Resultado dos halos de inibição para as substâncias isoladas de *S. ciliaris* L.



Fonte. Própria

A avaliação da sensibilidade aos micro-organismos pelo ensaio disco-difusão também é mostrada na Tabela 9 (pág. 89) a seguir.

Tabela 9. Resultado para o ensaio disco-difusão (diâmetro em mm) das substâncias isoladas frentes aos micro-organismos testados

Substâncias isoladas	Microorganismos testados			
	Gram positivos	Gram negativos		
	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 14458)	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 29641)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 700603)	<i>Salmonella enterica typhimurium</i> (ATCC 14028)
5,7,3'-trihidroxi-4'-metoxiflavona (Diosmetina)	-	-	-	-
5,7,3',4'-tetrahidroxiflavona (Luteolina)	-	-	-	-
Ampicilina (C.P.)	-	14,2/15,0	-	-

(+) Houve inibição do crescimento em milímetros (mm) ;

(-) Não houve inibição do crescimento

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi avaliada em placa de 96 poços, onde em cada poço foi inoculado com 10 µL da suspensão do microrganismo patogênico teste. Os resultados da avaliação pode ser conferida a seguir na Tabela 10 (pág. 89).

Tabela 10. Resultado da avaliação da Concentração Inibitória Minima (CIM) das substâncias isoladas frentes aos micro-organismos testados

Substâncias isoladas	CIM (µL/mL)			
	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 14458)	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 29641)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 700603)	<i>Salmonella enterica typhimurium</i> (ATCC 14028)
5,7,3'-trihidroxi-4'-metoxiflavona (Diosmetina)	+	+	+	+
5,7,3',4'-tetrahidroxiflavona (Luteolina)	+	+	+	+
Ampicilina (C.P.)	8	1	>32	4
Meio de cultura + Bactéria (C.N.)	+	+	+	+
Meio de cultura (Branco)	-	-	-	-

C.P.: Controle positivo; C.N.: Controle negativo;
(+) Crescimento da bactéria;
(-) Não houve crescimento da bactéria

Avaliando as tabelas é possível verificar que as substâncias isoladas de *S. ciliaris*, a luteolina e diosmetina, não demonstraram atividade antimicrobiana frente as bactérias testadas, *Staphylococcus aureus* (ATCC 14458), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 29641), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) e *Salmonella enterica typhimurium* (ATCC 14028) nas concentrações testadas.

Tais resultados não corroboram com alguns estudos já relatados na literatura, onde mostram que a luteolina isolada de *Senna petersiana* apresentou atividade antibacteriana contra três bactérias Gram-positivas (TSHIKALANGE, MEYER, HUSSEIN, 2005), no entanto, tais autores utilizaram o dobro da concentração da substância do que a utilizada na metodologia deste trabalho. Amin et al. (2016) também relata que a luteolina possui um potente efeito sinérgico quando combinado com outros flavonoides ou com antibióticos, os estudos revelam que quando comparada com ela isolada não apresentaram efeitos tão satisfatórios.

Além disso, os grupos metóxi são relatados por diminuir drasticamente a atividade antibacteriana dos flavonóides (LE et al., 2000). A importância da hidroxilação na posição 2' para a atividade antibacteriana de chalconas é apoiada por trabalhos anteriores, que descobriram que 2,4,2'-triidroxi-5'-metilchalcona e 2,4,2'-triidroxichalcona inibiam o crescimento de 15 cepas de estreptococos cariogênicos (CUSHNIE; LAMB, 2005). Isso pode demonstrar que a metoxila na posição C-4' da diosmetina, pode prejudicar sua atividade antibacteriana.

No entanto, pode ser que os flavonoides isolados tenham vários alvos celulares antibacterianos, em vez de um local específico de ação. Alternativamente, essas características estruturais comuns podem ser necessárias simplesmente para que os flavonoides ganhem proximidade ou absorção na célula bacteriana (CUSHNIE; LAMB, 2005).

06 | CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico das partes aéreas da espécie *Sida ciliaris* L. (Malvaceae *sensu lato*) realizado com o EHAB e EEB levou ao isolamento e identificação de 4 substâncias: uma mistura de 13²-hidroxi-feofitina-(13²-R)- feofitina a e 13²-hidroxi-feofitina-(13²-S)-feofitina a (*Sc- 1a* e *Sc-1b*), e dois flavonoides, a 5,7,3'-trihidroxi-4'-metoxiflavona (Diosmetina), e a 5,7,3',4'-tetrahidroxiflavona (Luteolina), todas relatadas pela primeira vez na espécie. O isolamento e identificação destas substâncias contribuíram para o conhecimento químico do gênero *Sida* e da família Malvaceae *sensu lato*.

Uma avaliação biológica para detectar a atividade fotoprotetora desta espécie, foi realizada com EHB, EHAB, EEB, e fração metanólica das suas partes aéreas que permitiram detectar uma potencial atividade fotoprotetora *in vitro*, principalmente nas concentrações de 500 µg/mL e 1000 µg/mL, pois todas ultrapassam o valor considerado mínimo de 6 FPS para fotoproteção. Esses resultados podem estar associados às substâncias isoladas neste trabalho, como luteolina e diosmetina, compostos estes já relatados na literatura com atividade fotoprotetora.

Uma avaliação microbiológica das substâncias luteolina e diosmetina testadas frente às bactérias gram-positivas, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* e os gram-negativos, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella enterica typhimurium*, mostrou que elas não atuam nesses microorganismos.

Se pôde concluir que o estudo fitoquímico e biológico com a espécie *S.ciliaris* tem contribuído cientificamente para o conhecimento químico da espécie *Sida ciliaris*, como o conhecimento quimiotaxonômico da família Malvaceae *sensu lato*, apresentando como uma alternativa promissora para ser usada como fotoprotetor em fitocosméticos.

REFERÊNCIAS

ABAT, J.K.; KUMAR, S.; MOHANTY, A. Ethnomedicinal, Phytochemical and Ethnopharmacological Aspects of Four Medicinal Plants of Malvaceae Used in Indian Traditional Medicines: A Review. **Medicines**. V.4 , p.75, 2017.

AHMED, H.; JURAIMI, A.S.; SWAMY, M.K.; AHMAD-HAMDANI, M.S.; OMAR, D.; RAFII, M.Y.; SINNIAH, U.R.; AKHTAR, M.S. Botany, chemistry, and pharmaceutical significance of *Sida cordifolia*: a traditional medicinal plant. In: Akhtar, M., Swamy, M. (Eds.), **Anticancer plants: Properties and Application**. Springer, Singapore, pp. 517–537, 2018.

ALVES H.H.S.; LUZ M.N.C; FRAGA E.G.S. Avaliação In vitro da Atividade Antimicrobiana de Própolis Vermelha Frente ao *Propionibacterium acnes*. **Encontro de Extensão, Docência e Iniciação Científica (EEDIC)**, [S.I.], v. 4, n. 1, p. 1-5, fev. 2017. Disponível em:

<http://publicacoesacademicas.unicatolicaquixada.edu.br/index.php/eedic/article/download/2653/2203>. Acesso em: 18 jan. 2022.

ALVES, I.M.; DANTAS, I.C.; MELO, J.I.M.; FELISMINO, D.C. A família Malvaceae sensu lato em uma área do Agreste Paraibano, Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Biologia e Farmácia**, v. 6, n. 1, 2011.

ANDROUTSOPoulos, V.; WILSHER, N.; ARROO, R.; POTTER, G. Bioactivation of the phytoestrogen diosmetin by CYP1 cytochromes P450. **Cancer letters**. v. 274, p. 54-60, 2008.

ANUNCIATO T.P.; DA ROCHA FILHO P.A. Carotenoids and polyphenols in nutricosmetics, nutraceuticals, and cosmeceuticals. **Journal Cosmetic Dermatology**.;v.11: p. 51-54, 2012.

APG IV -Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnaean Society**. v. 181, p. 1-20, 2016.

BALOGH T.S.; VELASCO M.V.R.; PEDRALI C.A.; KANEKO T.M.; BABY A.R. Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. **Anais Brasileiros Dermatologia**.v.86(4): p.732-42, 2011.

BIFTU, A.; ADANE, L.; TARIKU, Y. Evaluation of antibacterial activities of compounds isolated from fruits of *Sida rhombifolia* Linn. **Middle East Journal Scientific Research**. v. 22, p. 681–689, 2014.

BORGES, A.; SAAVEDRA, M. J.; SIMÕES, M. Insights on antimicrobial resistance, biofilms and the use of phytochemicals as new antimicrobial agents. **Current Medicinal Chemistry**, v 22, n. 21, p. 2590–2614, 2015.

BOVINI, M.G. **Malvaceae A. Juss. No parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil.** Dissertação (Mestrado em botânica), Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – MG, 2010.

BOVINI, M.G. *Sida in Flora do Brasil 2020*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2020. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB9203>>. Acesso em: 18 jan. 2022

BOVINI, M.G.; ESTEVES, G.; DUARTE, M.C.; TAKEUCHI, C.; KUNTZ, J. **Malvaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em:<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/Floradobrasil/FB156>> . Acesso em 18 jan. 2022.

BRANDÃO, D.C. **Avaliação biológica *in vitro* e *in vivo* de compostos fluorescentes derivados do benzotiadiazol produzidos para o imageamento celular.** Dissertação (Mestrado em Patologia Molecular), Brasília, DF, 2017.

BRASIL. **Ministério da Saúde**, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC N° 30, de 1º de junho de 2012. Aprova Regulamento Técnico do MERCOSUL sobre protetores solares em cosméticos. Diário Oficial da União. Brasília. 4 jun 2012;(Seção 1):83-84.

BRITO-FILHO, S.G.; MACIEL, J.K.S.; TELES, Y.C.F.; FERNANDES, M.M.M.S.; CHAVES, O.S.; FERREIRA, M.D.L.; FERNANDES, P.D.; FELIX, L.P.; CIRINO, I.C.S.; SIQUEIRA-JUNIOR, J.P.; BRAZ-PINTO, R.; SOUZA, M.F.V. Phytochemical study of *Pilosocereus pachycladus* and antibiotic-resistance modifying activity of syringaldehyde. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, p. 453-458, 2017.

CARVALHO J.C.S.; GARCIA P.S.P.; VIGNO S.R.; PEDRIALI C.A. Estudo do impacto da utilização de ativos vegetais em fotoprotetores. **InterfacEHS**. Dez; v.10(2). p. 62-82, 2015

CHAVES, O.S.; GOMES, R.A.; TOMAZ, A.C.A., FERNANDES, M.G.; MENDES JUNIOR, L.G.; AGRA, M.F.; BRAGA, V.A.; SOUZA, M.F.V. Secondary Metabolites from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) and the Vasorelaxant Activity of Cryptolepinone. **Molecules**, v.18, n. 3, p. 2769-2777, 2013.

CHAVES, O.S.; TELES, Y.C.F.; MONTEIRO, M.M.O; MENDES JUNIOR, L. G; AGRA. M.F; BRAGA. V.A.; SARMENTO SILVA, T.M and SOUZA., M.F.V. Alkaloids and Phenolic Compounds from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) and Vasorelaxant Activity of Two Indoquinoline Alkaloids. **Molecules**, v. 22, n. 94, p. 1-9,2017.

CHINONSO, B.A., EMEKA, E.O. Investigating the extract constituents and corrosion inhibiting ability of *Sida acuta* leaves. **World News Natural Sciences**. v. 13, p.63–81, 2017.

CHUMPOL, W.; TAVICHAKORNTRAKOOL, R.; LULITANOND, A.; DADUANG, J.; SAISUD, P.; Sribenjalux, P.; PRASONGWATANA, V.; BOONSIRI, P. The antibacterial activity of the aqueous extract of *Sida acuta* Burm. F. Southeast. **Asian Journal Tropical Medicine Public Health**. v. 49, p. 285–291, 2018.

CONTI P.; CARAFFA, A.; GALLENGA, C.E., ROSS, R.; KRITAS, S.K.; FRYDAS, I., YOUNES, A.; DI EMIDIO, P.; RONCONI, G.; PANDOLFI, F. Powerful anti-onflmmatory action of luteolin: potencial increase with IL-38. **Biofactors**, v.47, p. 165-169, 2021.

CORRÊA M.P.; PIRES L.C.M. Doses of erythemaal ultravioleta radiation observed in Brazil. **International Journal of Dermatology**. v. 52(8), p. 966-73, 2013.

CUTRIM, E.; TELES, A.; NASCIMENTO, A.; FILHO, V.; EVERTON, G. Evaluation of Antimicrobial and Antioxidant Activity of Essential Oils and Hydroalcoholic Extracts of *Zingiber officinale* (Ginger) and *Rosmarinus officinalis* (Rosemary). **Revista Virtual de Química**. v.11, p.60-81, 2019.

CUSHNIE T.P.T.; LAMB A.J. Antimicrobial activity of flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 26 (5), p. 343-356, 2005.

DELEO V. Sunscreen In: **Bologna Journal Dermatology** . Londres: Elsevier. pp. 2197–20, 2012.

DINDA B.; DAS N.; DINDA S.; DINDA M.; SILSARMA I. The genus *Sida* L. – A traditional medicine: Its ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological data for commercial exploitation in herbal drugs industry. **Journal of Ethnopharmacology**. v.176, p.135-176, 2015.

DONG, S.; YANG, X.; ZHAO, L.; ZHANG, F.; HOU, Z.; XUE, PENG. Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria. **Industrial Crops and Products**. V. 149, 0926-6690, 2020.

DORNELES, W.M. **Espécies da família malvaceae citadas como medicinais no Rio Grande do Sul, Brasil.** Trabalho de conclusão de curso (Ciências Biológicas), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

DUARTE, J. L.; MOTA, L. J. T.; ALMEIDA, S. S. M. S. Análise fitoquímica das folhas de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson (Ipê Amarelo). **Estação Científica (UNIFAP)**. V. 04, p. 33-43, 2015.

DURIGAN, G.; NATASHI A.L. PILON G. B. ASSIS F. M. SOUZA J. B. BAITELLO. **Plantas pequenas do cerrado:** biodiversidade negligenciada. 1 ed. São Paulo, 2018.

FERNANDES, D.A.; SOUZA, M. ; TELES, Y. C. ; OLIVEIRA, L. ; LIMA, J. ; CONCEIÇÃO, A. ; NUNES, F. ; SILVA, T . New Sulphated Flavonoids and Larvicidal Activity of *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae). **Molecules**, v. 23, p. 2784, 2018.

FERNANDES, D.A.; ASSIS, E.B.; SOUZA, M.S.R.; SOUZA, P.I.V.; SOUZA, M.F.V. *Helicteres* L. species (Malvaceae *sensu lato*) as source of new drugs: a review. **Química Nova**, v. 43, n. 6, p. 787-803, 2020.

FERNANDES, D.A. **Estudos fitoquímico e biológico de *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae) nos estágios de desenvolvimento do *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae).** Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2021.

FERREIRA, L.M.B. **Prospecção fitoquímica e avaliação do potencial antifúngico de *Sida ciliaris* linné (Malvaceae).** Trabalho de conclusão de curso (Farmácia), Centro de Educação e Saúde, Universidade Federal da Paraíba, Cuité, 2016.

FIRMINO, A. D. **Malvaceae Juss.** Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Tropical) Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus-ES, 2018.

FIRMINO, W.C.A.; MENEZES, V.J.M.; PASSOS, C.E.C.; DIAS, C.N.; ALVES, L.P.L.; NETO-SANTOS, M.; OLEA, R.S.G. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Caderno de Pesquisa**. São Luís, v. 18, 2011.

FLOR, J.; DAVALOS, M. R.; CORREA, M. A. Protetores solares. **Química Nova**, v.30, n. 1, p. 153-158, 2007.

FREITAS, M.P.; LAMOUNIÊR, L.L.L.; ANDRADE, K.L.; BINZ, C.S. Aplicação da nanotecnologia nos fotoprotetores solares: uma revisão bibliográfica. **Revista eletrônica interdisciplinar**, Barra do Garças, v.12, n. 2, p. 69-81, 2020. DOI: <https://orcid.org/0000-0002-7517-3745>. Disponível em: <http://revista.sear.com.br/rei/article/view/91>. Acesso em: 18 jan. 2022.

FRYXELL, P.A. Malvaceae. In: Greuter, W. & Rankin, R. (eds.). **Flora de la República de Cuba**. 13:1-230, 2007.

GANAI S.A; SHEIKH, F.A.; BABA, Z.A.; MIR, M.A.; MANTOO, M.A.; YATOO, M.A. Anticancer activity of plant flavonoid luteolin against preclinical models of various types of cancer and insights into different modulated signaling mechanisms. **Phytotherapy Research**. 2021.

GANESH, M.; MOHANKUMAR, M. Extraction and identification of bioactive components in *Sida cordata* (Burm.f.) using gas chromatography-mass spectrometry. **Journal Food Science and Technology**. v.54, p.3082–3091, 2017.

GEORGE, M.; JOSEPH, L.; ARAVIND, A. Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. **World Journal Pharmaceutical Research**. v. 6, p.1457–1462, 2017.

GOMES, R.A., RAMIREZ, R.R.A., MACIEL, J.K.S., AGRA, M.F., SOUZA, M.F.V., FALCÃO-SILVA, V.S., SIQUEIRA-JUNIOR, J.P. Phenolic compounds from *Sidastrum micranthum* (A St.-Hil.) Fryxell and evaluation of acacetin and 7,4'-di-*O*-methylisoscutellarein as modulator of bacterial drug resistance. **Química Nova**, v. 34, p.1385–1388, 2011.

GOMES, R.A.; TELES, Y.C.F.; PEREIRA, F.O.; RODRIGUES, L.A.S.; LIMA, E.O.; AGRA, M.F.; SOUZA, M.F.V. Phytoconstituents from *Sidastrum micranthum* (A. St.- Hil.) Fryxell (Malvaceae) and antimicrobial activity of pheophytin a. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, p. 861-867, 2015.

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

HALILU, M.E.; MUHAMMAD, I.; DANGOGGO, S.M.; FAROUQ, A.A.; AHMED, A.; SHAMSUDDEEN, A.A.; SULEIMAN, M.; YAHAYA, M. Phytochemical and antibacterial screening of petroleum ether and ethanol extracts of *Sida cordifolia* leaves. **Journal Chemical Society of Nigeria**. 41, 137–142, 2016.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). **Monitoramento das ações de controle do câncer de pele**. Informativo: Detecção Precoce. Boletim ano 7, n. 3, set/dez 2016. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//informativo-deteccao-precoce-3- 2016.pdf>

- JINDAL, A.; KUMAR, P.; JAIN, C. Antifungal activity of flavonoids of *Sida acuta* Burm.f. against *Candida albicans*. **International Journal Drug Development and Research**. v.4, p.92–96, 2012.
- JUÁREZ-REYES, K.; BRINDIS, F.; MEDINA-CAMPOS, O. N.; PEDRAZA-CHAVERRI, J.; BYE, R.; LINARES, E.; MATA, R. Hypoglycemic, antihyperglycemic, and antioxidant effects of the edible plant *Anoda cristata*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.161, pág. 36–45. 2015.
- KAROU, S.D.; NADEMBEGA, W. M.; ILBOUDO, D. P.; OUERMI, D.; GBEASSOR, M.; SOUZA, C.; SIMPORE, J. Review: *Sida acuta* Burm. f.: a medicinal plant with numerous potencies. **African Journal of Biotechnology**. v. 6, n. 25, p. 2953-2959, 2007.
- KIM SK. Marine cosmeceuticals. **Journal Cosmetic Dermatology**. v.13, p.56-67, 2014.
- KIM, Y.; KEOGH, J. B.; CLIFTON, P. M. Polyphenols and Glycemic Control. **Nutrients**. v. 8, p. 17, 2016.
- KINUPP, V.F.; LORENZI, H. Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil. **Plantarum**, Nova Odessa. 768p., 2014.
- KOHLI I.; ZUBAIR R.; LYONS A.B.; NAHHAS A.F.; BRAUNBERGER T.L.; MOKHTARI M.; RUVOLO E.; LIM H.W.; HAMZAVI I.H. Impact of Long-Wavelength Ultraviolet A1 and Visible Light on Light-Skinned Individuals. **Photochem Photobiol**. Nov;95(6):1285-1287, 2019.
- KONATE, K.; HILOU, A.; MAVOUNGOU, J. F.; LEPENGUÉ, A. N.; SOUZA, A.; BARRO, N.; NACOULMA, O. G. Antimicrobial activity of polyphenol-rich fractions from *Sida alba* L. (Malvaceae) against co-trimoxazol-resistant bacteria strains. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 11, p. 5, 2012.
- KONNO, T.U.P.; FERNANDE- JÚNIOR, A.J. Malvaceae do Parque Estadual do Ibitipoca, Estado de Mina Gerais, Brasil. **Hoehnea**, v.77, p. 505-523, 2017.
- KUMAR, S.; LAKSHMI, P.K.; SAHI, C.; PAWAR, R.S. *Sida cordifolia* accelerates wound healing process delayed by dexamethasone in rats: effect on ROS and probable mechanism of action. **Journal Ethnopharmacology**. v.235, p.279–292, 2019.
- KUMAWAT, R.; SHARMA, S.; VASUDEVA, N.; KUMAR, S. In vivo anti-inflammatory potential of various extracts of *Sida tiagii* Bhandari. **Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine**. v.2, p.947–952, 2012a.
- KUMAWAT, R.K.; KUMAR, S.; SHARMA, S. Evaluation of analgesic activity of various extracts of *Sida tiagii* Bhandari. **Acta Poloniae Pharmaceutica**. v.69, p.1103–1109, 2012b.
- LE A.; SE B.; ON P.; TOMAS F.; FERRETTI F.H. Antibacterial activity of flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. **Journal of Theoretical Biology**, v. 205 , p. 231-240, 2000.
- LI, G.; WANG, X.; XU, Y.; ZHANG, B.; XIA, X. Antimicrobial effect and 78 mode of action of chlorogenic acid on *Staphylococcus aureus*. **European Food Research and Technology**, v. 238, p. 589–596, 2014.

LIMA, J.B.; CONCEIÇÃO, A.S. Malvoideae Burnett (Malvaceae) na APA Serra Branca/Raso da Catarina, Jeremoabo, Bahia, Brasil. In: **V Workshop Rio São Francisco: cultura, identidade e desenvolvimento.** Anais eletrônicos. Paulo Afonso, BA, 2013. Disponível em: <<http://www.ppdru.unifacs.br/docs/workshopping-sao-francisco/ARTIGO-2.pdf>> Acessado em 18 de jan. de 2021.

LIRA, N.S. **Estudo químico dos organismos marinhos *Aplysina fistularis* Pallas e *Sargassum polyceratum* Montagne.** Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, 2012.

LOU, Z.; WANG, H.; RAO, S.; SUN, J.; MA, C.; LI, J. p-Coumaric acid kills bacteria through dual damage mechanisms. **Food Control**, v. 25, p. 550– 554, 2012.

SILVA, D. A.; FALCÃO, S. V. S.; SERRANO, G. A. Y. COSTA, D. A.; SOARES L., V., AGRA, M. F. D.; SOUZA, M. F.V. Triterpenes and phenolic compounds isolated fro the aerial parts of *Herissantia tiubae* and evaluation of 5,4,-dihydroxy-3,6,7,8,3 pentamethoyavone as a modulator of bacterial drug resistance. **Pharmaceutical Biology**, v.47, p. 279-284, 2009.

MANSUR, J.S.; BREDER, M.N.R.; MANSUR M.C.A.; AZULAY, R.D. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.61(3), p.121-124, 1986

MAH, S.H., TEH, S.S., EE, G.C.L. Anti-inflammatory, anti-cholinergic and cytotoxic effects of *Sida rhombifolia*. **Pharmaceutical Biology**. v.55, p.920–928, 2017.

MARTINS, J.L.R.; RODRIGUES, O.R.L.; SOUSA, F. B.; FAJEMIROYE, J.O.; GALDINO, P.M.; FLORENTINO, I.F.; COSTA, E.A. Medicinal species withgastroprotective activity found in the Brazilian cerrado. **Fundamental & clinical pharmacology**, p. 1-14, 2015.

MATSUO, A.; ONO, K.; HAMASAKI, K.; NOZAKI, H. Phaeophytins from a cell suspension culture of the liverwort *Plagiochila ovalifolia*. **Phytochemistry**, v. 42, n. 2, p. 427-430, 1996.

MEDEIROS M. A. C.; SANTOS B.; MARQUES F. M. C.; LEITE M. F. M. S.; SIMÕES M. M.; ANJOS R. M.; BRITO JÚNIOR L.; MAIA G. L. A.; ALVES M. A. S. G; SOUSA A. P.; OLIVEIRA FILHO A. A. Avaliação da atividade fotoprotetora do extrato aquoso de *Rhaphiodon echinus* (Nees & Mart.) Schauer. **Scientia plena**. v.17, 044601, 2021.

MENEZES-FILHO, A. C. P.; CASTRO, C. F. S. Classes fitoquímicas de metabólitos secundários em extratos etanólicos foliares de espécies do cerrado brasileiro. **REVISTA SAÚDE & CIÊNCIA ONLINE**. v. 8, p. 45-61, 2019.

MIKOŁAJCZAK, N.; TAŃSKA, M.; OGRODOWSKA, D. Phenolic compounds in plant oils: A review of composition, analytical methods, and effect on oxidative stability. **Trends in Food Science & Technology**, v.113, p. 110- 138, 2021.

MORAIS, S. R.; SANTANA, M. T. P.; GOMES, L. L.; DOS SANTOS, T. A.; TELES, Y. C. F.; OLIVEIRA FILHO, A. A. Avaliação in vitro da atividade fotoprotetora do extrato metanólico de *Psidium* araçá (*Psidium guineense* sw.). **Revista Brasileira de Educação e Saúde**. v. 11, n.2, p. 202-205, 2021.

MOROCHE-JÁCOME A. L.; FREIRE T. B.; DE OLIVEIRA, A.C.; DE ALMEIDA T.S.; ROSADO C.; VELASCO M.V.R.; BABY, A. R. In vivo SPF from multifunctional sunscreen systems developed with natural compounds—A review. **Journal of Cosmetic Dermatology**. 20(3), 729-737, 2021.

NASCIMENTO, J.M.; GOMES, G.S.; SILVA, G.S.; SILVA, D.L.S.; ARAÚJO, M.F.V.; CONCEIÇÃO, G.M. Expandindo a ocorrência de Malvaceae para o Maranhão, Brasil. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, [S. l.], v. 9, n. 4, pág.182942612, 2020.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M. Natural products as sources of new drugs, over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, p. 770-803, 2020.

NISHIKAWA, D. O.; PERES D.D.; OLIVEIRA C.A.; LEITE V.R.S.; KANEKO T.M.; VELASCO M.V.R.; BABY, A.R. Stability and effectiveness of sunscreens containing inorganic filters and quercetin. **Biomedical and Biopharmaceutical Research**. v.10, p.91- 100, 2013.

NOGUEIRA, T.B.S.S.; NOGUEIRA, R.B.S.S.; SILVA, D.A.; TAVARES, J.F.; LIMA, E.O.; PEREIRA, F.O.; FERNANDES, M.M.M.S.; MEDEIROS, F.A.; SARQUIS, R.S.F.R.; BRAZ-FILHO, R.; MACIEL, J.K.S.; SOUZA, M.F.V. First Chemical Constituents from *Cordia exaltata* Lam and Antimicrobial Activity of Two Neolignans. **Molecules**, v. 18, n. 9, p. 11086-11099, 2013.

NUNES, A.R.; RODRIGUES, A.L.M.; QUEIROZ, D.B.; VIEIRA, I.G.P.; NETO, J F.C.; JUNIOR, J.T.C.; TINTINO, S.R.; MORAIS, S.M.; COUTINHO, H.D.M. Photoprotective potential of medicinal plants from Cerrado biome (Brazil) in relation to phenolic content and antioxidant activity. **Journal Photochemistry and Photobiology B**. v.189, p.119–123, 2018.

NÚÑEZ-MONTERO, K.; LAMILLA, C.; ABANTO, M.; MARUYAMA F.; JORQUERA M.A.; SANTOS A.; MARTINEZ-URTAZA J.; BARRIENTOS L. Antarctic Streptomyces fildesensis So13.3 strain as a promising source for antimicrobials discovery. **Scientific Reports**. v.9, p.7488, 2019.

OLIVEIRA FILHO, A. A. D. **Avaliação dos efeitos farmacológicos e toxicológicos do estrato etanólico, fase clorofórmica e flavonoide de Praxelisclematidea (Griseb.) RM King & H. Robinson (Asteraceae)**. Tese (Doutorado em Produtos Naturais Sintéticos e Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. 2015.

OROZCO-MARTÍNEZ J.; LIRA S.R.; JIMÉNEZ E.M.; ÁVILA A.J.G.; SERRANO P.R.; HERNÁNDEZ D.T. Medicinal plants of Oaxaca, Mexico: Ethnobotany and antibacterial activity. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Mededicinales y Aromáticas**. v.19 (2), p.221 – 235, 2020.

PEREIRA M.; PEREIRA N.; ROSADO C.; OLIVEIRA C. Photostabilization of sunscreens by incorporation of tea as the external phase. **Biopharm Sci Biofarm Biomed Biopharm Res**. v.1(12), p.107-116, 2015.

PORDEUS, S.M. **Estudo taxonômico e síndrome de dispersão de Malvoideae Burnett (Malvaceae) no agreste Paraibano, Nordeste do Brasil**. Dissertação (Mestrado em Ecologia e conservação) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande – PB, 2016.

REMPE, C. S.; BURRIS, K. P.; LENAGHAN, S. C.; STEWART C. N. The Potential of Systems Biology to Discover Antibacterial Mechanisms of Plant Phenolics. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1-12, 2017.

RIBEIRO, C. J. **Cosmetologia Aplicada a Dermocosmética**. 2^a ed. São Paulo: Pharmabooks, 2010.

RODRIGUES F.C., MORAIS DE OLIVEIRA A.F. The genus *Sida* L. (Malvaceae) An update of its ethnomedicinal use, pharmacology and phytochemistry. **South African Journal of Botany**. v.132, p.432–462, 2020.

ROSA M.; OLIVEIRA T.G.; CARVALHO C.A.; SILVA F.D.; CARVALHO L.M.; NASCIMENTO P.C.; PERES R.L. Estudo espectrofotométrico da atividade foto-protetora de extratos aquosos de *Achillea millefolium*, *Brassica oleracea* Var. *Capitata*, *Cyperus rotundus*, *Plectranthus barbatus*, *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cass e *Sonchus oleraceus*. **Revista Eletrônica de Farmácia.**;5(1):101-110, 2008.

ROSA, H.S.; CAMARGO, V.B.; CAMARGO, G.; GARCIA, C.V.; FUENTEFRIA, A.M.; MENDEZ, A.S. Ecdysteroids in *Sida tuberculata* RE Fries (Malvaceae): chemical composition by LC-ESI-MS and selective anti-*Candida krusei* activity. **Food Chem.** v.182, p.193–199, 2015.

ROSA, H.S.; COELHO, I.S.; SILVA, M.D.; FERNANDES, M.S.; BERTELLI, P.R.; MINETTO, L.; MOURA, S.; PAULA, F.; SANTOS, A.R.; MENDEZ, A.S.L.; FOLMER, V. *Sida tuberculata* extract 30 F.C. Rodrigues and A.F.M. de Oliveira / South African Journal of Botany 132 (2020) 1-31 reduces the nociceptive response by chemical noxious stimuli in mice: implications for mechanism of action, relation to chemical composition and molecular docking. **Phytotherapy Research.** v.33, p.224–233, 2018a.

SABA, M.D. **Morfologia polínica de malvaceae: implicações taxonômicas e filogenéticas**. Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana-BA, 2007.

SAEIDNIA S., NOURBAKHS M.S., GOHARI A.R., DAVOOD A. Isolation and identification of the main compounds of *Satureja sahendica* brown. **Australian Journal of Basic Applied Sciences**. v.5 (6), p.1450-1453, 2011.

SAEWAN N.; JIMTAISONG A. Photoprotection of natural flavonoids. **Journal Applied Pharmaceutical Sciences**. v.3(9), p.129-141, 2013.

SAYRE, R.M.; AGIN, P.P.; LEVEE, G.J.; MARLOWE, E. A Comparison of in vivo and in vitro testing of sunscreening formulas. **Photochemistry and Photobiology**, v.29(3), p.559-566, 1979.

SCHOUTEN A. Endophytic fungi: definitions, diversity, distribution and their significance in plant life. Endophyte biotechnology: potential for agriculture and pharmacology. **CABI**; p. 6–31, 2019a.

SHAH, N.A., KHAN, M.R. Antidiabetic effect of *Sida cordata* in alloxan induced diabetic rats. **BioMed Research International**, 1–10, 2014.

SHAH, N.A.; KHAN, M.R.; NIGUSSIE, D. Phytochemical investigation and nephroprotective potential of *Sida cordata* in rat. **BMC Complementary and Alternative Medicine.** v. 2014, p.2314-6133, 2017.

SILVA C.S. **Fotoproteção: um cuidado para todos os tipos de pele.**

Monografia. (Aperfeiçoamento/Especialização em Farmácia). Criciúma/SC: Universidade do Extremo Sul Catarinense, 2009.

SILVA, C.J; BARBOSA, L.C.A; DEMUNER, A.J; MONTANARI, R.M; PINHEIRO, A.L; DIAS, I; ANDRADE, N.J. Chemical composition and antibacterial activities from the essential oils of Myrtaceae species planted in Brazil. **Química Nova.** v.33, p.104-108, 2010.

SILVA, D. A.; SILVA, T. M.S.; LINS, A. C. S.; COSTA, D. A.; CAVALCANTE, J. M. S.; MATIAS, W. N.; SOUZA, M. F.V. Constituintes Químicos e Atividade Antioxidante de *Sida galheirensis* Ulbr. (Malvaceae). **Química Nova,** v. 29, n.6, p. 1250-1256, 2006.

SILVA, D.A. **Estudo Fitoquímico de duas Espécies da Família Malvaceae: *Herissantia tiubae* (K. Schum) Brizicky e *Sida galheirensis* Ulbr.** Tese (Doutorado Produtos Naturais Sintéticos e Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. 2004.

SOBREIRA, A.L.C. **Definição do perfil fitoquímico por LC/MS e primeiros metabolitos isolados de *Sidaplanicalis* Cav. (Malvaceae) e atividade antimicrobiana .** Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais Sintéticos e Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. 2019.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. Botânica Sistemática. **Plantarum: Nova Odessa,** 3. Ed., 768p. 2012.

SOUZA A. P.; NUNES M. K.S.; OLIVEIRA M.S.; FERNANDES D.A.; FERREIRA M. D. L.; CORDEIRO L. V.; SOUZA H.D.S.; SOUZA M. F.V.; PESSOA H.L. F.; OLIVEIRA FILHO A. A.; SILVEIRA E SÁ R.C. Avaliação *in silico* ein vitrodos flavonoides vitexina, tilirosideo e 5,7-dihidroxi-3,8,4'-trimetoxi: Avaliação do FPS e predição da atividade anti câncer. **Scientia Plena,** vol. 16, n. 12, p.124-601, 2020.

SUBBULAKSHMI G. K.; THALAVAIPANDIAN A.; BAGYALAKSHMI R. V.; RAJENDRAN A. Bioactive endophytic fungal isolates of *Biota orientalis* (L) Endl., *Pinus excelsa* Wall. and *Thuja occidentalis* L. **International Journal of Advancement in Life Sciences.** v.4, p.9–15, 2012.

SUOZZI K.; TURBAN J.; GIRARDI M. Cutaneous Photoprotection: A Review of the Current Status and Evolving Strategies. **Yale Journal of Biology and Medicine.** v.93(1), p.55-67, 2020.

SUTRADHAR, R. K.; RAHMAN, A. M.; AHMAD, M. U.; BACHAR, S. C. Bioactive flavones of *Sida cordifolia*. **Phytochemistry Letters,** v. 1, n.4, p.179-182, 2008.

TAKEUCHI, C.; ESTEVES, G, L. Taxonomic revision of Gaya Kunth (Malvoideae, Malvaceae) in Brazil. **Hoehnea.** v. 44, n. 1, p. 44-69, 2017.

TELES, Y. C. F.; RIBEIRO-FILHO J.; BOZZA P.T.; AGRA M.F.; SIHERI W.; IGOLI J.O.; GRAY I.A.; SOUZA M.F.V. Phenolic constituents from *Wissadula periplocifolia* (L.)

C. Presl. and anti-inflammatory activity of 7, 4'-di-O-methylisoscutellarein. **Natural product research**, v. 30, n. 16, p. 1880-1884, 2016.

TELES, Y.C.F. **Estudo fitoquímico de *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl (Malvaceae) e desenvolvimento de metodologia analítica para quantificação do seu marcador químico.** Tese (Doutorado em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, 2015.

TELES, Y.C.F.; CHAVES, O. S.; AGRA, M. F.; BATISTA, L.M.; QUEIROZ, A. C.; ARAÚJO, M.V.; ALEXANDRE-MOREIRA, M.S.; BRAZ-FILHO R.; SOUZA, M.F.V. Chemical constituents from *Sidastrum paniculatum* and evaluation of their leishmanicidal activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.25, p.363-368, 2015.

TELES, Y.C.F.; GOMES, R.A.; OLIVEIRA, M.S.; LUCENA, K.L.; NASCIMENTO, J.S.; AGRA, M. F.; IGOLI, J.O.; GRAY, A.I.; SOUZA, M.F.V. Phytochemical investigation of *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl and evaluation of its antibacterial activity. **Química Nova**. v.37, p. 9, 2014.

TSOU, L. K.; LARA-TEJERO, M.; ROSEFIGURA, J.; ZHANG, Z. J.; WANG, Y. C.; YOUNT, J. S. Antibacterial flavonoids from medicinal plants covalently inactivate type III protein secretion substrates. **Journal of the American Chemical Society**. v.138, p. 2209-2218, 2016.

VALLI, M.; SANTOS, R. N. S.; FIGUEIRA, L. D.; NAKAJIMA, C. H.; GAMBOA, I. C.; ANDRICOPULO, A. D.; BOLZANI, V. S. Development of a natural products database from the biodiversity of Brazil. **Journal of natural products**, v. 1, n. 76, p. 439-444, 2013.

VANZIN, S. B; CAMARGO, C. P. **Entendendo Cosmecêuticos: diagnósticos e tratamentos**. Editora Santos: São Paulo, 2008.

VUOLO, M. M.; LIMA, V. S.; MARÓSTICA, M. R. Chapter 2 - Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power, Editor(s): Maira Rubi Segura Campos. **Bioactive Compounds**, 33-50, Woodhead Publishing, 2019.

WAYNE, P.A. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard, 9th edn, M7-A9. 2012b.

WAYNE, P.A. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**; 22nd Informational Supplement M100-S22. 2012a.

WOLFLE U., ESSER P.R., SIMON-HAARHAUS B., MARTIN S.F., LADEMANN J., SCHEMPP C.M. UVB-induced DNA damage, generation of reactive oxygen species, and inflammation are effectively attenuated by the flavonoid luteolin *in vitro* and *in vivo*. **Free Radical Biology and Medicine**. v.50, p.1081-1093, 2011.

YANG, K.; LI, W.F.; YU, J.F.; YI C.; HUANG W.F. Diosmetin protects against ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury in mice. **Journal Surgical Research**. v.214, p.69–78, 2017.