



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO E
INOVAÇÃO TECNOLÓGICA EM MEDICAMENTOS

ANA LAURA DE CABRAL SOBREIRA

**Estudo fitoquímico das espécies *Sida acuta* e *Sida linifolia* (Malvaceae)
e avaliação antitumoral de nanoemulsão contendo tilirosídeo**

JOÃO PESSOA – PB
2023

ANA LAURA DE CABRAL SOBREIRA

**Estudo fitoquímico das espécies *Sida acuta* e *Sida linifolia* (Malvaceae)
e avaliação antitumoral de nanoemulsão contendo tilirosídeo**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos.

Área de concentração: Desenvolvimento de Produtos e Processos.

ORIENTADORA: Prof.^a Dr.^a. Maria de Fátima Vanderlei de Souza

COORIENTADOR: Prof. Dr. Arnóbio Antônio da Silva-Júnior

**JOÃO PESSOA – PB
2023**

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

F383e Ferreira, Maria Denise Leite.

Estudo fitoquímico aliado a uma análise quimiométrica e ensaios de atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti* 1. da espécie *Waltheria viscosissima* A. St.-Hil / Maria Denise Leite Ferreira. - João Pessoa, 2020.

235 f. : il.

Orientação: Maria de Fátima Vanderlei de Souza.

Coorientação: Marcus Tullius Scotti.

Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

1. Estudo fitoquímico. 2. *Aedes aegypti*. 3. *Waltheria viscosissima*. 4. Malva - planta. I. Souza, Maria de Fátima Vanderlei de. II. Scotti, Marcus Tullius. III. Título.

UFPB/BC

Ata da trigésima primeira defesa de tese de doutorado no Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos **ANA LAURA DE CABRAL SOBREIRA**, candidata ao Título de "Doutor" em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos/UFPB.

1 Às oito horas (08:00) do dia vinte e sete de fevereiro do ano de dois mil e vinte três
2 (27/02/2023), na sala virtual, reuniram-se em caráter de Solenidade pública os membros
3 da Comissão designada para examinar a **ANA LAURA DE CABRAL SOBREIRA**,
4 candidata ao Título de "Doutor" em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em
5 Medicamentos. Foram componentes da Banca Examinadora os Professores Doutores:
6 Maria de Fátima Vanderlei de Souza (orientadora), Francisco Humberto Xavier Júnior
7 (examinador interno), Daniele Idalino Janebro Ximenes (examinadora interna), Emidio
8 Vasconcelos Leitão da Cunha (examinador externo-UEPB) e Maria Denise Ferreira Leite
9 (examinadora externa-Faculdade Nova Esperança). Dando início aos trabalhos a
10 presidente da banca, Prof.^a Dr.^a Maria de Fátima Vanderlei de Souza, após declarar os
11 objetivos da reunião, apresentou a candidata, **ANA LAURA DE CABRAL SOBREIRA**, a
12 quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema
13 apresentado e intitulado "**Estudo fitoquímico das espécies Sida acuta e Sida linifolia**
14 **(Malvaceae) e avaliação antitumoral de nanoemulsão contendo tilirosídeo**". Após
15 discorrer sobre o referido tema durante cerca de cinquenta minutos, a candidata foi
16 arguida pelos examinadores na forma Regimental. Em seguida passou a comissão, em
17 caráter secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-
18 lhe o conceito APROVADO. Em face da aprovação declarou a presidente achar-se a
19 examinada, **ANA LAURA DE CABRAL SOBREIRA**, legalmente habilitado a receber o
20 Título de "Doutor" em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos, área
21 Farmácia, cabendo a Universidade Federal da Paraíba, providências, como de direito, a
22 expedição do Diploma que a mesma faz jus. Os trabalhos foram encerrados determinando
23 a leitura para fins de aprovação e a lavratura da presente ata devidamente assinada por
24 todos os membros da Banca Examinadora.

João Pessoa, em 27 de fevereiro de 2023.



Prof.ª Dr.ª Maria de Fátima Vanderlei de Souza (presidente)

Documento assinado digitalmente
gov.br FRANCISCO HUMBERTO XAVIER JÚNIOR
Data: 27/02/2023 15:35:21-0300
Verifique em <https://verificador.jf.br>

Prof. Dr. Francisco Humberto Xavier Júnior (Examinador Interno)

Documento assinado digitalmente
gov.br DANIELE IDALINO JANEIRO XIMENES
Data: 27/02/2023 13:15:25-0300
Verifique em <https://verificador.jf.br>

Prof.ª Dr.ª Daniele Idalino Janeiro Ximenes (Examinadora Interna)



Prof. Dr. Emidio Vasconcelos Leitão da Cunha (Examinador Externo)



Prof.ª Dr.ª Maria Denise Ferreira Leite (Examinadora Externa)

Dedico a **Deus** que sempre me guiou e cuidou,
a meus **avós** Geralda e Francisco Dias
(*In memoriam*), a meus **pais** Joana Cabral e
Geraldo Sobreira e minha preciosa **irmã** Analídyá,
por todo apoio, compreensão e carinho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço antes de tudo à **Deus**, por ter me guiado, sustentado, protegido e abençoado toda a minha vida até aqui. Sem Ele ao meu lado tenho certeza de que nada teria sido possível.

Agradeço a minha avó **Geralda Dias de Lima** (*In memoriam*), por ter me ensinado a leveza e sabedoria de tentar conduzir a vida. Eu sei e sinto que a senhora está ao meu lado todos os dias.

Agradeço a minha, **Joana Dias Cabral Sobreira**, por ter me incentivado e oportunizado desde criança a estudar. A senhora é um exemplo para mim de fé, luta, persistência, honestidade, compaixão e amor ao próximo. Te amo e estaremos sempre juntas.

Agradeço a meu pai, **Geraldo Sobreira de Lima**, por todo apoio, incentivo, conselhos e sabedoria de vida. O senhor é um exemplo para mim de luta, garra, persistência e cuidado. Te amo e estaremos sempre juntos.

Agradeço a minha preciosa irmã, **Analídy de Cabral Sobreira**, por todo amor, dedicação, esforço, apoio, incentivo e compaixão. Ter você como irmã é um presente que Deus me deu. Te amo e estaremos sempre juntas.

Agradeço aos meus irmãos, **Geraldo Júnior e Karina**, que mesmo distante sempre torceram pela minha caminhada e vitória.

As minhas tias e tios, **Tia Dora, Tia Fátima, Tia Dorilda, Tia Ozani, Tia Nininha, Tia Imaculada, Tia Tica, Tia Fia, Tia Cida, Tia Fábria, Tio Chagas, Tio Alvinho, Tio Marcos, Tio Galego e Tio Zezinho**, por todo amor, momentos compartilhados, preocupação e mensagens de apoio e carinho.

À minha orientadora **Prof.^a Dr.^a Maria de Fátima Vanderlei de Souza**, pela confiança depositada em mim e por ter se mostrado sempre solícito quando precisei. Admiro muito sua dedicação e comprometimento com a pesquisa. Serei sempre grata pelos ensinamentos e possibilidade de ter junto a senhora realizado um sonho.

Ao **Prof. Dr. Arnóbio Antônio da Silva-Júnior**, pela coorientação deste trabalho e pela paciência junto com a orientanda **Thayse** para me passar um pouco dos seus conhecimentos.

Aos amigos e colegas que a vida nos uniu no decorrer da pesquisa, que sempre me ajudaram dentro e fora do laboratório: **Janderson Albuquerque, Maria Denise, Camila Macaúbas, Wallace Amorim, Diégina Fernandes, Sallett Rocha e Milen Maria** por

sempre estarem ao meu lado, tanto nos momentos de alegria como nos de maior dificuldade, sendo fundamentais principalmente nessa etapa final.

Às minhas professoras **Dr.^a Danielly Albuquerque da Costa** e **Dr.^a Júlia Beatriz Pereira de Souza**, por terem acreditado no meu potencial na graduação e terem me incentivado a seguir mais essa árdua jornada, o apoio de vocês foi imprescindível, terei sempre um carinho, respeito e admiração.

À **Prof.^a Dr.^a Mariana Vieira Sobral** e ao doutorando **Rafael Carlos Ferreira** pela contribuição na parte biológica deste trabalho e pelos conhecimentos passados.

Aos botânicos **Prof. Dr. Carlos Alberto Garcia Santos** e **Prof.^a Dr.^a Adilva de Souza Conceição** por suas contribuições na coleta, identificação e disponibilização das espécies estudadas.

Aos meus amigos que a vida acadêmica trouxe para minha vida, **Egberto Santos** e **Camila Montenegro**, por todo carinho, apoio e incentivo, que possamos continuar juntos e nos reencontrar mais vezes.

Aos grandes companheiros que a vida me apresentou, **Thamires, Francisco Júnior e Layane**, sem vocês comigo tudo teria sido mais difícil e complicado. Obrigada por tanto amor, carinho, apoio e incentivo. Estaremos sempre juntos.

Aos meus amigos de longa data: **Jordy, Pollyana e Alaine** por terem tornado essa caminhada mais leve, pelo incentivo e apoio nesses anos todos.

Aos amigos do mestrado e doutorado: **Luis André, Pedro, Laisa, Sonaly, Wanessa, Larissa e Rebeca** por toda ajuda, apoio e descontração nos momentos de dificuldade.

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

Aos demais professores desta pós-graduação pelos ensinamentos transmitidos ao longo desses anos.

A todos os funcionários, em especial: **Adriana, Raimundo, Marcelo, Evandro e Roseane Meireles**, que de forma direta ou indireta, contribuíram com a minha trajetória.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por ter financiado a pesquisa.

E por fim, agradeço aos que mesmo distante sempre acreditaram e estiveram ao meu lado torcendo pelo meu sucesso.

A todos vocês, gratidão.

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina”

Cora Coralina

RESUMO

SOBREIRA, Ana Laura de Cabral. **Estudo fitoquímico das espécies *Sida acuta* e *Sida linifolia* (Malvaceae) e avaliação antitumoral de nanoemulsão contendo tilirosídeo.** 167 p. Tese. (Doutorado em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2023.

O uso de plantas medicinais desde antiguidade é a base do sistema terapêutico de várias populações. Em busca dos benefícios, foi explorado os produtos naturais da flora brasileira através do estudo fitoquímico de duas espécies da família Malvaceae, *Sida acuta* e *Sida linifolia*, realizando desta última espécie um estudo pioneiro. Além do estudo fitoquímico, uma nanoemulsão produzida com tilirosídeo (canferol-3-*O*- β -D-(6''-*E*-*p*-coumaroil)-glicopiranosídeo) disperso teve sua eficácia antitumoral avaliada. Para o isolamento dos constituintes químicos foram utilizados métodos de extração (maceração) e cromatografia (cromatografia em coluna e cromatografia em camada delgada analítica). A identificação estrutural das moléculas foi realizada através de Ressonância Magnética Nuclear ^1H e ^{13}C (1D e 2D), Espectrometria de Massas (EM) e técnicas hífenadas como Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas (LC-EM). O uso destas técnicas levou ao isolamento e identificação de 4 metabólitos secundários de *Sida linifolia*, incluindo flavonoides glicosilados e aglicona. A partir do estudo da fase hidroalcoólica por CLAE-IES-EM/EM em ambas as espécies, foi possível identificar 19 constituintes químicos em *Sida acuta* e 11 compostos em *Sida linifolia*, os quais tiveram seus espectros de massas analisados pela m/z e seus fragmentos anotados. Dentre os compostos encontra-se o tilirosídeo, considerado pelo grupo de pesquisa um marcador da família Malvaceae. A nanoemulsão O/A produzida pelo método de emulsificação por inversão de fases e utilizando tilirosídeo como substância ativa, apresentou-se macroscopicamente levemente azulada, com diâmetro de gotícula de $96 \pm 9,06 \text{ nm}$ e índice de polidispersão $0,170 \pm 0,01$ após 60 dias de armazenamento a temperatura ambiente, além de um pH de $6,94 \pm 0,08$ e potencial zeta de $-10,1 \pm 1,7 \text{ mV}$. A nanoemulsão com tilirosídeo encapsulado não apresentou uma atividade anticancerígena promissora diante das linhagens HL-60 (Leucemia promielocítica aguda), MCF-7 (Adenocarcinoma de mama) e SK-MEL-28 (Melanoma) nas concentrações de 12,5; 25; 50 e 100 $\mu\text{g/mL}$. Apesar disso, é necessário aprofundar a exploração do potencial terapêutico e da formulação desenvolvida com o tilirosídeo.

Palavras-chave: Malvaceae; fitoquímica; *Sida acuta*; *Sida linifolia*; nanoemulsão; produto tecnológico; atividade antitumoral.

ABSTRACT

SOBREIRA, Ana Laura de Cabral. **Phytochemical study of the species *Sida acuta* *Sida linifolia* (Malvaceae) and antitumor evaluation of nanoemulsion containing tiliroside.** 167 p. Thesis. (Doctorate in Development and Technological Innovation in Medicines) – Health Sciences Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa, 2023.

The use of medicinal plants since ancient times is the basis of the therapeutic system of different populations. In order to find the benefits, the natural products of the brassileira flora were explored through the phytochemical study of two species of the Malvaceae family, *Sida acuta* and *Sida linifolia*, carrying out a pioneering study of this last species. In addition to the phytochemical study, a nanoemulsion produced with tiliroside (kaempferol-3-O- β -D-(6''-E-*p*-coumaroyl)-glucopyranoside) dispersed had its antitumor efficacy evaluated. Extraction (maceration) and chromatography (column chromatography and analytical thin layer chromatography) were used to isolate the chemical constituents. The structural identification of the molecules was performed using ^1H and ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance (1D and 2D), Mass Spectrometry (MS) and hyphenated techniques such as Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry (LC-MS). The use of these techniques led to the isolation and identification of 4 secondary metabolites of *Sida linifolia*, including glycosylated flavonoids and aglycone. From the study of the hydroalcoholic phase by HPLC-ESI-MS/MS in both species, it was possible to identify 19 chemical constituents in *Sida acuta* and 11 compounds in *Sida linifolia*, which had their mass spectra analyzed by m/z and their fragments recorded. Among the compounds is tiliroside, considered by the research group a marker of the Malvaceae family. The O/W nanoemulsion produced by the phase inversion emulsification method and using tiliroside as active substance, macroscopically appeared slightly bluish, with a droplet diameter of 96 ± 9.06 nm and polydispersion index 0.170 ± 0.01 after 60 days of storage at room temperature, in addition to a pH of 6.94 ± 0.08 and zeta potential of -10.1 ± 1.7 mV. The nanoemulsion with encapsulated tyliroside did not show promising anticancer activity against HL-60 (Acute Promyelocytic Leukemia), MCF-7 (Breast Adenocarcinoma) and SK-MEL-28 (Melanoma) cell lines at concentrations of 12.5; 25; 50 and 100 $\mu\text{g/ml}$. Despite this, it is necessary to deepen the exploration of the therapeutic potential and the formulation developed with tiliroside.

Keywords: Malvaceae; phytochemistry; *Sida acuta*; *Sida linifolia*; nanoemulsion; technological product; antitumor activity.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

1D: Unidimensional

[M-H]: Íon molecular desprotonado

2D: Bidimensional

APG: Angiosperm Phylogeny Group

APT: Attached Proton Test

CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CC: Cromatografia em Coluna

CCDA: Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CD₃OD: Clorofórmio Deuterado

CI₅₀: Concentração Inibitória Média

CID: Collision-Induced Dissociation

CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CLAE-EM/EM: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência-Espectrometria de Massas/
Espectrometria de Massas

CLAE-EM/RMN: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência- Espectrometria de Massas/
Ressonância Magnética Nuclear

CLAE-IES-EM/EM: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência- Ionização por Eletrón Spray-
Espectrometria de Massas/Espectrometria de Massas

CLAE-RMN: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência-Ressonância Magnética Nuclear

CL-EM: Cromatografia Líquida - Espectrometria de Massas

CLN: Carreadores Lipídicos Nanoestruturados

COX: Cyclooxygenase

d: Dupleto

dd: Duplo dupleto

DLS: Dynamic Light Scattering

DMSO: Dimetilsulfóxido

DP: Desvio Padrão

EEB: Extrato Etanólico Bruto

EGFR: Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico

EM: Espectrometria de Massas

EMⁿ: Múltiplos estágios de Espectrometria de Massas

EPM: Erro padrão da média

EtOH: Etanol

EtOH:H₂O: Etanol:Água

FAK: Quinase de Adesão Focal

FDA: Food Drug and Administration

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Spectroscopy

HMQC: Heteronuclear Multiple Quantum Coherence Spectroscopy

Hz: Hertz

IES-EM/EM: Ionização por Eletrón Spray-Espectrometria de Massas/Espectrometria de Massas

INCA: Instituto Nacional do Câncer

IPd: Índice de Polidispersão

IPeFarm: Instituto de Pesquisa em Fármaco de Medicamentos

J: Constante de acoplamento

LMCA: Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise

LOX: Lysyl Oxidase

m/z: razão massa/carga

m: meta

m: Multiplete

MDR: Multidroga Resistente

MeOD: Metanol Deuterado

MeOH: Metanol

MHz: Megahertz

MMP-2: Metaloproteinase-2

MTT: 3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina

N₂: Nitrogênio gasoso

NBL: Nanosistema Baseados em Lipídeos

NE: Nanoemulsão

NELF: Nanoemulsão Livre de Fármaco

NETL: Nanoemulsão com Tiliosídeo

NLS: Nanopartículas Lipídicas Sólidas

nm: Nanômetro

O/A: Óleo/Água

o: orto

OMS: Organização Mundial de Saúde

OPAS: Organização Pan-Americana de Saúde

p: para

PDGFR: Receptor do Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas

pH: Potencial hidrogeniônico

ppm: parte por milhão

PZ: Potencial Zeta

R²: Coeficiente de correlação linear

RMN ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

RMN ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RNAs: RNA mensageiro

s: singleto

Sa: *Sida acuta*

SDS: Dodecil Sulfato de Sódio

Sl: *Sida linifolia*

TCM: Triglicerídeo de Cadeia Média

TL: Tilirosídeo

Tr: Tempo de retenção

TSED: Tecnologia de Sistema de Entrega de Drogas

UFPB: Universidade Federal da Paraíba

UV/Vis: Ultravioleta/Visível

δ: Deslocamento químico

δC: Deslocamento de Carbono

δH: Deslocamento de Hidrogênio

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Classificação filogenética da família Malvaceae <i>sensu lato</i>	27
Esquema 2: Obtenção do Extrato Etanólico Bruto (EEB) de <i>Sida acuta</i>	51
Esquema 3: Obtenção do Extrato Etanólico Bruto (EEB) de <i>Sida linifolia</i>	51
Esquema 4: Fracionamento do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de <i>Sida acuta</i>	52
Esquema 5: Fracionamento do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de <i>Sida linifolia</i>	53
Esquema 6: Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila do EEB de <i>Sida linifolia</i>	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Distribuição geográfica da família Malvaceae sensu lato no mundo	28
Figura 2: Distribuição geográfica do gênero <i>Sida</i> no mundo	30
Figura 3: Distribuição geográfica da espécie <i>Sida acuta</i> no mundo	31
Figura 4: <i>Sida acuta</i> Burm	32
Figura 5: Distribuição geográfica da espécie <i>Sida linifolia</i> no mundo.	33
Figura 6: <i>Sida linifolia</i> Juss. ex Cav	34
Figura 7: Sistemas de liberação nanoestruturados	38
Figura 8: Cromatograma da fase hidroalcólica de <i>Sida acuta</i>	62
Figura 9: Expansão do cromatograma da fase hidroalcólica de <i>Sida acuta</i>	62
Figura 10: Substâncias identificadas na fase hidroalcólica de <i>Sida acuta</i>	66
Figura 11: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 341, referente à ionização do composto 1	69
Figura 12: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 377, referente à ionização do composto 2	69
Figura 13: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 297, referente à ionização do composto 3	70
Figura 14: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 315, referente à ionização do composto 4	70
Figura 15: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 331, referente à ionização do composto 5	71
Figura 16: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 315, referente à ionização do composto 6	71
Figura 17: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 353, referente à ionização do composto 7.	72
Figura 18: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 341, referente à ionização do composto 8	72
Figura 19: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 191, referente à ionização do composto 9	73
Figura 20: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 355, referente à ionização do composto 10	73
Figura 21: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 337, referente à ionização do composto 11	74
Figura 22: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 479, referente à ionização do composto 12	74
Figura 23: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 609, referente à ionização do composto 13	75
Figura 24: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 593, referente à ionização do composto 14	75
Figura 25: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 623, referente à ionização do composto 15	76
Figura 26: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 447, referente à ionização do composto 16	76
Figura 27: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 193, referente à ionização do composto 17	77
Figura 28: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 593, referente à ionização do composto 18	77

Figura 29: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 285, referente à ionização do composto 19	78
Figura 30: Vias de fragmentação dos compostos 1 e 8, em IES-EM/EM modo negativo	78
Figura 31: Vias de fragmentação dos compostos 4 e 6, em IES-EM/EM modo negativo	79
Figura 32: Via de fragmentação do composto 5, em IES-EM/EM modo negativo	79
Figura 33: Via de fragmentação do composto 7, em IES-EM/EM modo negativo	80
Figura 34: Via de fragmentação do composto 9, em IES-EM/EM modo negativo	80
Figura 35: Via de fragmentação do composto 10, em IES-EM/EM modo negativo	81
Figura 36: Via de fragmentação do composto 11, em IES-EM/EM modo negativo	81
Figura 37: Via de fragmentação do composto 12, em IES-EM/EM modo negativo	82
Figura 38: Via de fragmentação do composto 13, em IES-EM/EM modo negativo	82
Figura 39: Via de fragmentação do composto 14, em IES-EM/EM modo negativo	83
Figura 40: Via de fragmentação do composto 15, em IES-EM/EM modo negativo	83
Figura 41: Via de fragmentação do composto 16, em IES-EM/EM modo negativo	84
Figura 42: Via de fragmentação do composto 17, em IES-EM/EM modo negativo	84
Figura 43: Via de fragmentação do composto 18, em IES-EM/EM modo negativo	85
Figura 44: Via de fragmentação do composto 19, em IES-EM/EM modo negativo	85
Figura 45: Substâncias isoladas da Fase acetato de etila das partes aéreas de <i>Sida linifolia</i>	86
Figura 46: Espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de <i>Sl-1</i>	89
Figura 47: Primeira expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de <i>Sl-1</i>	89
Figura 48: Segunda expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de <i>Sl-1</i>	90
Figura 49: Espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CD_3OD , 125 MHz) de <i>Sl-1</i>	90
Figura 50: Espectro de RMN ^{13}C BB (δ , CD_3OD , 125 MHz) de <i>Sl-1</i>	91
Figura 51: Espectro HMQC (δ , CD_3OD , 400 e 125 MHz) de <i>Sl-1</i>	91
Figura 52: Espectro HMBC (δ , CD_3OD , 400 e 125 MHz) de <i>Sl-1</i>	92
Figura 53: Espectro de RMN ^1H (δ , MeOD, 400 MHz) de <i>Sl-2</i>	95
Figura 54: Espectro de RMN ^{13}C /BB (δ , MeOD, 100 MHz) de <i>Sl-2</i>	95
Figura 55: Espectro HMQC (δ , CD_3OD , 400 e 100 MHz) de <i>Sl-2</i>	96
Figura 56: Espectro HMBC (δ , CD_3OD , 400 e 100 MHz) de <i>Sl-2</i>	96
Figura 57: Espectro de RMN ^1H (δ , MeOD, 400 MHz) de <i>Sl-3</i>	98
Figura 58: Espectro de RMN ^{13}C /APT (δ , MeOD, 100 MHz) de <i>Sl-3</i>	99

Figura 59: Espectro HMQC (δ , CD ₃ OD, 400 e 100 MHz) de <i>Sl-3</i>	99
Figura 60: Espectro HMBC (δ , CD ₃ OD, 400 e 100 MHz) de <i>Sl-3</i> .	100
Figura 61: Espectro de RMN ¹ H (δ , CD ₃ OD, 500 MHz) de <i>Sl-4</i>	102
Figura 62: Expansão do espectro de RMN ¹ H (δ , CD ₃ OD, 500 MHz) de <i>Sl-4</i>	103
Figura 63: Expansão do espectro de RMN ¹ H (δ , CD ₃ OD, 500 MHz) de <i>Sl-4</i>	103
Figura 64: Espectro de RMN ¹³ C (δ , CD ₃ OD, 125 MHz) de <i>Sl-4</i>	104
Figura 65: Espectro HMBC (δ , CD ₃ OD, 400 e 125 MHz) de <i>Sl-4</i>	104
Figura 66: Cromatograma da fase hidroalcolica de <i>Sida linifolia</i>	105
Figura 67: Expansão do cromatograma da fase hidroalcolica de <i>Sida linifolia</i>	105
Figura 68: Substâncias identificadas na fase hidroalcolica de <i>Sida linifolia</i>	109
Figura 69: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon <i>m/z</i> 341, referente à ionização do composto 1	109
Figura 70: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon <i>m/z</i> 377, referente à ionização do composto 2	110
Figura 71: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon <i>m/z</i> 594, referente à ionização do composto 3	110
Figura 72: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon <i>m/z</i> 133, referente à ionização do composto 4	111
Figura 73: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon <i>m/z</i> 449, referente à ionização do composto 5	111
Figura 74: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon <i>m/z</i> 563, referente à ionização do composto 6	112
Figura 75: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon <i>m/z</i> 401, referente à ionização do composto 7	112
Figura 76: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon <i>m/z</i> 593, referente à ionização do composto 8	113
Figura 77: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon <i>m/z</i> 609, referente à ionização do composto 9	113
Figura 78: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon <i>m/z</i> 179, referente à ionização do composto 10	114
Figura 79: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon <i>m/z</i> 593, referente à ionização do composto 11	114
Figura 80: Via de fragmentação do composto 1, em IES-EM/EM modo negativo	115
Figura 81: Via de fragmentação do composto 2, em IES-EM/EM modo negativo	115
Figura 82: Via de fragmentação do composto 3, em IES-EM/EM modo negativo	116
Figura 83: Via de fragmentação do composto 4, em IES-EM/EM modo negativo	116
Figura 84: Via de fragmentação do composto 5, em IES-EM/EM modo negativo	116
Figura 85: Via de fragmentação do composto 6, em IES-EM/EM modo negativo	117
Figura 86: Via de fragmentação do composto 7, em IES-EM/EM modo negativo	117

Figura 87: Via de fragmentação do composto 8, em IES-EM/EM modo negativo	118
Figura 88: Via de fragmentação do composto 9, em IES-EM/EM modo negativo	118
Figura 89: Via de fragmentação do composto 10, em IES-EM/EM modo negativo	119
Figura 90: Via de fragmentação do composto 11, em IES-EM/EM modo negativo	119
Figura 91: Aspecto visual das formulações	123
Figura 92: Tamanho de partícula e IPd da NELF em diferentes tempos de armazenamento	125
Figura 93: Tamanho de partícula e IPd da NETL em diferentes tempos de armazenamento	125
Figura 94: Curva padrão do tilirosídeo	127
Figura 95: Solubilidade do TL em H ₂ O (A) e NETL (B)	128
Figura 96: Citotoxicidade do tilirosídeo, nanoemulsão livre de fármaco e tilirosídeo + nanoemulsão frente as linhagens tumorais humanas MCF-7 (A), SK-MEL-28 (B) e HL-60 (C)	129

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Nanomedicamentos aprovados pela FDA	37
Quadro 2: Flavonoides utilizados em nanoformulações	41
Quadro 3: Características que diferenciam tumores malignos e benignos	43
Quadro 4: Nanoemulsões desenvolvidas com aplicação para o câncer	47
Quadro 5: Linhagens de células tumorais utilizadas no estudo	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição das NELF, sem espessante para 3g de formulação	56
Tabela 2: Íons m/z [M-H] ⁻ , Fragmentos MS ⁿ dos compostos obtidos por CLAE-EM/EM da Fase hidroalcoólica de <i>Sida acuta</i>	67
Tabela 3: Dados comparativos de RMN ¹ H e ¹³ C (δ, CD ₃ OD, 400 e 100 MHz) de <i>Sl-1</i> comparados com o modelo da literatura (δ, CD ₃ OD, 200 e 50 MHz) (COSTA et al., 2007)	88
Tabela 4: Dados de RMN ¹ H e ¹³ C de <i>Sl-2</i> (δ, MeOD, 400 e 100 MHz) comparados com o modelo Mo-1 da literatura [(δ, MeOD, 400 e 100 MHz) (CHAVES et al., 2017)]	94
Tabela 5: Dados de RMN ¹ H e ¹³ C de <i>Sl-3</i> (δ, MeOD, 400 e 100 MHz) comparados com o modelo Mo-1 da literatura [(δ, MeOD, 400 e 100 MHz) (COSTA et al., 2007)]	98
Tabela 6: Dados comparativos de RMN ¹ H e ¹³ C (δ, CD ₃ OD, 500 e 125 MHz) de <i>Sl-4</i> comparados com o modelo da literatura (δ, CD ₃ OD, 400 e 100 MHz) (DANTAS, 2018)	101
Tabela 7: Íons m/z [M-H] ⁻ , Fragmentos MS ⁿ dos compostos obtidos por CLAE-EM/EM da Fase hidroalcoólica de <i>Sida linifolia</i>	108
Tabela 8: Composição final das NELF para 3g de formulação	120
Tabela 9: Diâmetro hidrodinâmico da gotícula (nm) e IPd de acordo com o tempo de armazenamento (média ± desvio padrão) da NELF e da NETL	123
Tabela 10: pH e PZ das formulações NELF e NETL	126

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	21
2. OBJETIVOS	24
2.1 Objetivo geral	25
2.2 Objetivo específicos	25
3. REFERENCIAL TEÓRICO	26
3.1 Considerações sobre a família Malvaceae sensu lato A. Jussieu	27
3.2 Considerações sobre o gênero <i>Sida</i>	29
3.3 Considerações sobre a espécie <i>Sida acuta</i> Burm.	30
3.4 Considerações sobre a espécie <i>Sida linifolia</i> Juss. ex. Cav.	33
3.5 Importância das técnicas hifenadas no estudo de produtos naturais	34
3.6 Nanotecnologia Farmacêutica	36
3.7 Atividade antitumoral e toxicidade do Tilirosídeo	42
4. METODOLOGIA	49
4.1. Levantamento bibliográfico	50
4.2 Coleta do material botânico	50
4.3 Processamento do material botânico	50
4.4 Fracionamento do EEB das partes aéreas de <i>Sida acuta</i>	51
4.5 Fracionamento do EEB das partes aéreas de <i>Sida linifolia</i>	52
4.6 Processamento cromatográfico da fase acetato de etila do EEB das partes aéreas de <i>Sida linifolia</i>	53
4.6.1 <i>Caracterização estrutural dos constituintes químicos</i>	55
4.7 Processo cromatográfico realizado por CLAE-IES-EM/EM das fases hidroalcólicas dos EEB de <i>Sida acuta</i> e <i>Sida linifolia</i>	55
4.8 Obtenção das Nanoemulsões (NE)	56
4.8.1 <i>Preparo dos Sistemas nanoemulsionado (NE livre de fármaco – NELF)</i>	56
4.8.2 <i>Incorporação do Tilirosídeo a NE</i>	56
4.8.3 <i>Adição de espessante na fase externa da NE</i>	57
4.9 Caracterização Físico-Química da NE	57
4.9.1 <i>Aspectos Macroscópicos</i>	57
4.9.2 <i>Determinação do tamanho de gotícula e Índice de Polidispersão (IPd)</i>	57
4.9.3 <i>Potencial Zeta (PZ)</i>	57
4.9.4 <i>Avaliação do potencial hidrogeniônico (pH) da NELF e NETL</i>	58
4.10 Estudo de estabilidade das nanoemulsões	58
4.11 Curva padrão do Tilirosídeo	58
4.12 Estudo de doseamento do Tilirosídeo	58
4.13 Amostras testes para avaliação da atividade antitumoral	59
4.14 Linhagens celulares e cultivo para atividade antitumoral	59
4.15 Avaliação da citotoxicidade do TL, NELF e NETL	60
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	61

5.1 Substâncias identificadas da fase hidroalcoólica por CLAE-MS/MS de <i>Sida acuta</i>	62
5.2 Substâncias isoladas e identificadas	86
5.2.1 <i>Caracterização estrutural de SI-1</i>	86
5.2.2 <i>Caracterização estrutural de SI-2</i>	92
5.2.3 <i>Caracterização estrutural de SI-3</i>	97
5.2.4 <i>Caracterização estrutural de SI-4</i>	100
5.3 Substâncias identificadas da fase hidroalcoólica de <i>Sida linifolia</i> por CLAE/MS	105
5.4 Caracterização da nanoemulsão com tilirosídeo	120
5.4.1 <i>Formulação e incorporação do Tilirosídeo na NE</i>	120
5.4.2 <i>Determinação das características físico-químicas</i>	122
5.4.2.1 <i>Aspectos Macroscópicos</i>	122
5.4.2.2 <i>Tamanho de gotícula, índice de polidispersão (IpD)</i>	123
5.4.2.3 <i>Determinação do pH e do Potencial Zeta (PZ)</i>	126
5.4.3 <i>Doseamento e solubilidade da NETL</i>	127
5.5 Atividade antitumoral	128
6. CONCLUSÃO	133
REFERÊNCIAS	135



1. Introdução

O câncer (ou tumor maligno) é um termo genérico usado para um conjunto de mais de 100 doenças complexas que compartilham algumas características, como o crescimento descontrolado, multiplicação de células transformadas, resistência à apoptose, propriedades de invasão e metástase, resultante de um acúmulo progressivo de alterações genéticas e epigenéticas (HANAHAN, 2014; TAN; LE, 2018). Essa doença causa morbidade significativa e representa a segunda maior taxa de mortalidade mundial, ficando atrás apenas para as doenças cardiovasculares, além de ser responsável por aproximadamente 9,6 milhões de mortes em 2018 (FORCADOS et al., 2017; OPAS, 2023).

Considerando dados epidemiológicos acerca do câncer, a Organização Mundial de Saúde considera que em 2020 houve quase 10 milhões de mortes em todo mundo, dos quais os tipos mais presentes foram o câncer de mama, de pulmão, de cólon e reto, próstata e pele (FERLAY et al., 2020). O Instituto Nacional de Câncer (INCA) previu que no Brasil para o triênio 2020-2022 ocorreria, anualmente, 625 mil novos casos da doença (INCA, 2019). Essas informações mostram a magnitude do problema envolvendo o câncer, o que faz com que ele seja considerado um problema de saúde pública mundial.

Atualmente, diversas alternativas podem ser utilizadas no tratamento do câncer, como cirurgia, imunoterapia, terapia alvo, quimioterapia e radioterapia, podendo ser utilizadas isoladamente ou em combinação (PAJUELO-LOZANO et al., 2018), sendo a quimioterapia uma das principais escolhas para tratamento (MARTINS et al., 2016). Embora haja uma vasta opção de terapias convencionais, estas opções em muitos momentos são ineficazes na cura da doença, ocasionando uma resistência a múltiplas drogas por parte das células tumorais, como também produzem efeitos indesejáveis graves (imunossupressão, fadiga, anemia, náusea, diarreia e alopecia) (DEMARIA et al., 2017; SMITH; PREWETT, 2017). Desta forma, torna-se imprescindível a busca por novas opções de tratamento antineoplásico direcionado às células tumorais.

Historicamente, os produtos naturais de origem vegetal tem sido uma fonte importante de agentes antineoplásicos utilizados clinicamente, como por exemplo o paclitaxel — isolado das espécies vegetais do gênero *Taxus*; as camptotecinas – provenientes de espécies como *Camptotheca acuminata* e *Nothapodytes nimmoniana*; vincristina e vimblastina provenientes de *Catharanthus roseus* e omacetaxina – oriundo da espécie *Cephalotaxus fortunei* (WINER & DEANGELO, 2018; BAILLY, 2019; FETT-NETO; DICOSMO, 2020; DAS et al., 2020).

O Brasil se destaca no cenário por ser um país de dimensões continentais, que possui um imenso patrimônio genético natural em riquezas e se destaca como líder mundial na biodiversidade (MARTINS et al., 2015; PIMENTEL et al., 2015). Tais informações dão aos pesquisadores uma oportunidade promissora de realizarem o estudo dessa biodiversidade e desenvolverem fitomedicamentos a partir de moléculas extraídas de fontes naturais, uma vez que existe uma grande quantidade de espécies endêmicas que apresentam potencial terapêutico. Entre as espécies que têm despertado interesse nas pesquisas científicas estão aquelas que compõem a família Malvaceae.

Dentre os metabólitos secundários presentes na natureza com atividade antitumoral destacam-se os flavonoides, que existem na forma de aglicona livre ou conjugado glicosídico (CARVALHO et al., 2015; TELLES et al., 2015^a; PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016; ABOTALEB et al., 2018; AL-ISHAQ et al., 2019). Quimicamente, são polifenólicos e possuem uma estrutura de fenil benzopirona (C6–C3–C6), subdivididos em flavonas, isoflavonas, flavonóis, flavanonas e flavanonóis, por exemplo (RAVISHANKA et al., 2013). O tilirosídeo utilizado para produzir a NE neste trabalho e realizar os ensaios antitumorais foi isolado das espécies *Sida linifolia*, *Pavonia malacophylla*, *Herissantia crispa* e *Helicteres eichkeri*, este é conhecido comumente como tilirosídeo e sugerido pelo grupo de pesquisa como um marcador químico da família Malvaceae.

Diante do exposto, a nanotecnologia aplicada à saúde se torna uma nova estratégia que garanta uma citotoxicidade direcionada às células tumorais e uma redução do desenvolvimento de resistência aos antineoplásicos, uma vez que é possível uma entrega de substância ativa de forma regulada no local alvo, aumentando assim a sua biodisponibilidade (SHARMA, 2014; WU; ZHOU, 2015). Diferentes sistemas de liberação nanoestruturados podem ser desenvolvidos, como por exemplo as nanoemulsões (NE). Estas formulações nanoemulsionadas, podem promover modificação na biodisponibilidade e na toxicidade de fármacos, uma vez que esses sistemas se apresentam como reservatórios capazes de liberar e direcionar os fármacos para tecidos e células específicas do organismo (STRECK et al., 2019).

Sabendo da necessidade de se encontrar alternativas terapêuticas para o tratamento do câncer com maior seletividade de ação e menor toxicidade, este trabalho se propôs a realizar um estudo fitoquímico das espécies *Sida acuta* e *Sida linifolia* na busca por novas moléculas com potencial ativo e então avaliar a atividade antitumoral *in vitro* da nanoemulsão produzida.



2. Objetivos

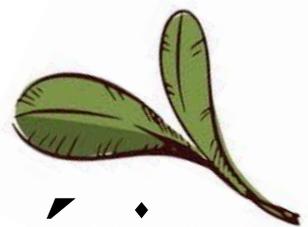
2.1 Objetivo Geral

Desenvolver um estudo fitoquímico e farmacológico com as espécies *Sida acuta* e *Sida linifolia*, como também produzir uma nanoemulsão contendo tilirosídeo (canferol-3-*O*- β -D-(6''-*E*-*p*-coumaroil) glicopiranosídeo) com potencial atividade anticancerígena.

2.2 Objetivos específicos

- Obter o extrato etanólico bruto (EEB) das partes aéreas de *Sida acuta* e *Sida linifolia*;
- Realizar cromatografia líquido/líquido do EEB das partes aéreas de *Sida acuta* e *Sida linifolia* para obtenção das suas respectivas fases;
- Isolar substâncias biologicamente ativas do extrato bruto e das fases obtidas das partes aéreas de *Sida linifolia* utilizando métodos de cromatografia;
- Caracterizar os constituintes isolados na fase acetato de etila de *Sida linifolia* por Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C e bidimensionais (HMQC e HMBC);
- Identificar metabólitos de *Sida acuta* e *Sida linifolia* por CLAE-EM/EM;
- Dispersar o tilirosídeo em um sistema nanoemulsionado;
- Determinar a atividade *in vitro* citotóxica do tilirosídeo livre e nanoemulsificado.

3. Referencial teórico

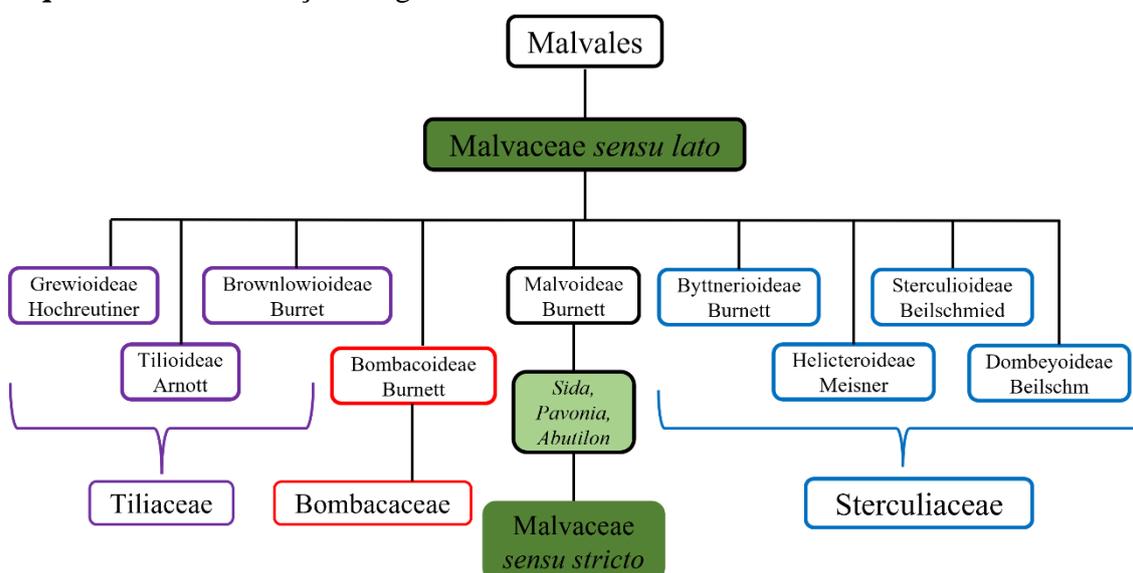


3.1 Considerações sobre a família *Malvaceae sensu lato* A. Jussieu

A ordem Malvales era formada anteriormente por cinco famílias: Malvaceae, Bombacaceae, Sterculiaceae, Tiliaceae e Elaeocarpaceae (CRONQUIST, 1981). Os estudos que vem sendo realizados sobre taxonomia e filogenética, associados as informações anatômicas, químicas, biogeográficas, morfológicas e palinológicas, mostraram a necessidade de uma nova organização. Baseado nestes trabalhos, as famílias Bombacaceae, Sterculiaceae, Tiliaceae foram classificadas como subfamílias e incluídas em *Malvaceae sensu lato*, juntamente com *Malvaceae sensu stricto* (PORDEUS, 2016), passando a ser considerada a maior família da ordem Malvales (TAKEUCHI & ESTEVES, 2017).

Um moderno sistema de taxonomia vegetal vem sendo atualizado no decorrer de décadas. De acordo com sistema Grupo de Filogenia de Angiospermas (I, II, III e IV) a família *Malvaceae* pode ser dividida em nove subfamílias: Grewioideae, Tilioideae, Brownlowioideae, Bombacoideae, Malvoideae, Byttnerioideae, Helicterioideae, Sterculioideae e Dombeyoideae, conforme mostrado no esquema 1 (APG, 2016) (Esquema 1, pág. 27).

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

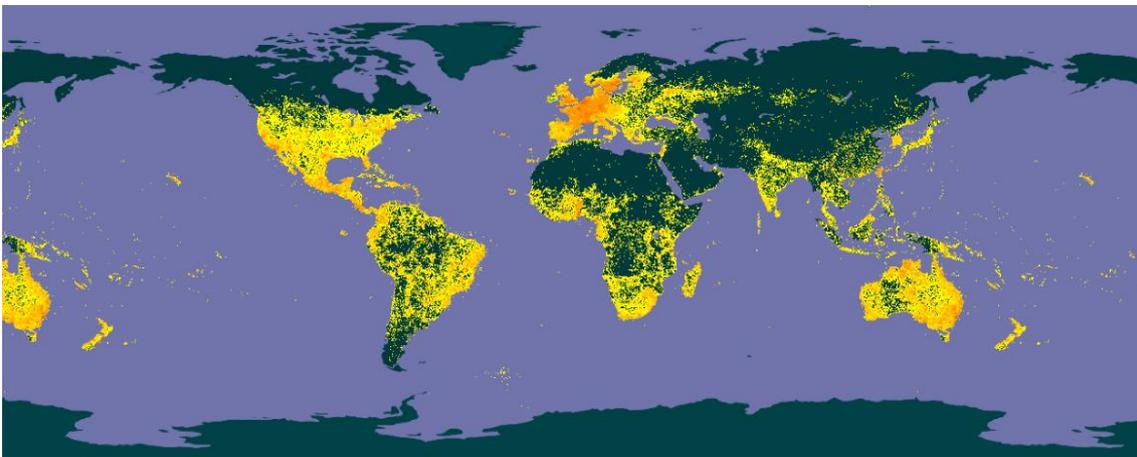


Fonte: Adaptado de APG IV, 2016.

A família *Malvaceae* é constituída por 250 gêneros e aproximadamente 4472 espécies (FIRMINO et al., 2018; GBIF, 2022). Membros desta família ocorrem por quase todas as partes do mundo, com exceção de regiões muito frias, possuindo distribuição

predominantemente pantropical (Figura 1, pág. 28). No Brasil, ela se apresenta como uma das mais diversas, sendo representada por aproximadamente 80 gêneros, 859 espécies e 7 subespécies, disseminadas por todas as regiões do país, principalmente nas regiões Nordeste e Sul, com 9 gêneros e 457 espécies endêmicas (BOVINI et al., 2015a; NASCIMENTO et al., 2020; SOUZA et al., 2020b; FLORA DO BRASIL, 2022;). Dentre os gêneros mais numerosos desta família estão *Hibiscus* (300 espécies), *Sida* (200 espécies), *Pavonia* (250 espécies), *Abutilon* (100 espécies), *Nototriche* (100 espécies), *Cristaria* (75 espécies) e *Gossypium* (50 espécies), *Gaya* (39 espécies) (GBIF, 2022).

Figura 1: Distribuição geográfica da família Malvaceae *sensu lato* no mundo.



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

Dentro da sua diversidade, é uma família com grande importância para a flora mundial e se destaca por sua importância econômica, alimentícia, medicinal, ornamental e forrageamento. Na indústria têxtil, merece destaque as espécies dos gêneros *Gossypium*, *Malvastrum* e *Sida* que são excelentes fornecedoras de fibras e algumas espécies de *Ceiba*, *Guazuma* e de *Sterculia* que fornecem madeira para carpintaria, forros, confecção de brinquedos e caixotaria (SABA, 2007; PORDEUS, 2016).

Na agricultura e na área alimentícia podemos destacar as espécies *Malva nicaeensis* e *Lavatera cretica* que ao terem suas folhas comparadas com o espinafre apresentaram vantagens nutricionais (BASHEER, 2021), já as sementes de *Hibiscus cannabinus* produzem um óleo comestível que também é usado para cosméticos, lubrificantes industriais e biocombustíveis (SABA et al., 2015).

As flores presentes em diferentes espécies desta família são muito utilizadas na ornamentação, incluindo as espécies *Hibiscus syriacus*, *Hibiscus rosa-sinensis* e *Alcea rosea* (VADIVEL, SRIRAM, BRINDHA, 2016). As atividades terapêuticas são

encontradas e comprovadas cientificamente nas mais diferentes espécies de Malvaceae *sensu lato*. Como por exemplo, pode-se destacar a atividade leishmanicida de *Sidastrum paniculatum* (TELES et al., 2015), antitumoral (TELES et al., 2015a), antimicrobiana (GOMES et al., 2011), vasorelaxante (CHAVES et al., 2013; 2017) e atividade larvicida de *Helicteres velutina* contra o mosquito *Aedes aegypti* (FERNANDES et al., 2019).

A família Malvaceae *Sensu lato* se destaca dentre as demais por possuir uma variedade de metabólitos secundários descritos na literatura, estes apresentam uma distribuição não uniforme que se adaptam as necessidades de cada espécie. Entre as várias classes desses metabólitos se destacam os ácidos graxos, terpenos, flavonoides nas suas formas agliconas, glicosilados e sulfatados, como também cumarinas, alcaloides, feofitinas e amidas (SILVA et al., 2005; 2006; COSTA et al., 2007; 2009; CAVALCANTE et al., 2010; GOMES et al., 2011; CHAVES et al., 2013; 2017; TELES et al., 2014; 2015a; 2015b; FERNANDES et al., 2018; 2019).

3.2 Considerações sobre o gênero *Sida*

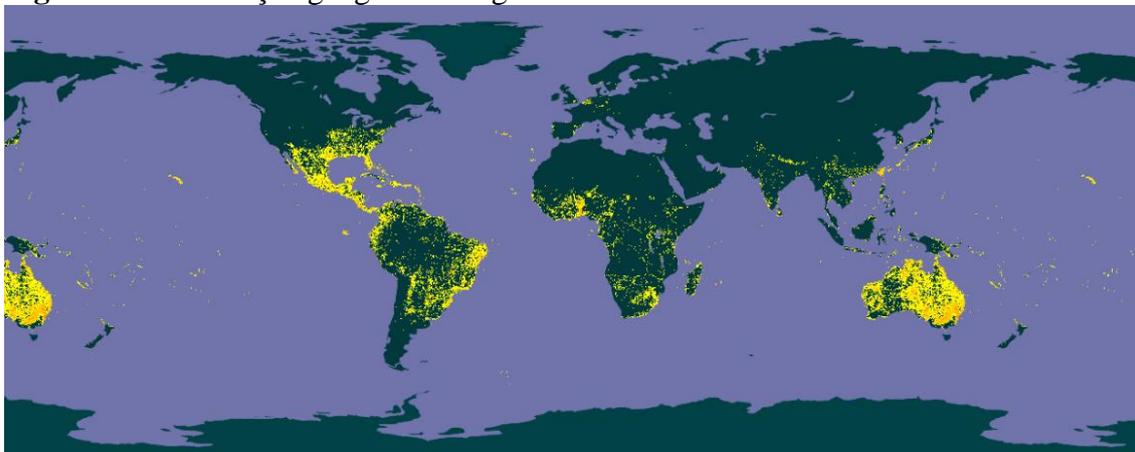
O gênero *Sida*, é considerado um dos mais heterogêneos da família Malvaceae. Suas espécies podem ser identificadas com facilidade e diferenciadas das outras por algumas particularidades morfológicas como: um cálice que regularmente possui 10 nervuras, além dos frutos que apresentam de 5 a 10 mericarpos (BRANDÃO et al., 2017).

Atualmente o gênero comporta aproximadamente 516 espécies cosmopolitas difundidas em 12 seções: *Cordifoliae* (24 spp.), *Distichifolia* (16 spp.), *Ellipticifoliae* (9 spp.), *Hookerianae* (2 spp.), *Malacroideae* (23 spp.), *Muticae* (11 spp.), *Nelavagae* (30 spp.), *Oligandrae* (4 spp.), *Pseudonapaea* (1 spp.), *Sidae* (49 spp.), *Spinosa* (18 spp.) e *Stenindae* (2 spp.), expressam uma elevada distribuição neotropical, fato que leva a se encontrar inúmeras espécies nas Américas, especialmente no Brasil, que se apresenta como habitat de aproximadamente 112 espécies (BRANDÃO et al., 2017; GBIF, 2022), encontradas principalmente nas regiões Nordeste e Sul (BOVINI, 2015). As espécies de *Sida* são conhecidas popularmente no Brasil por “guanxuma”, do Tupi “gwa’xima” (SOUZA & LORENZI, 2012) (Figura 2, pág. 30).

As espécies desse gênero são ervas anuais ou perenes, na forma de arbustos e medem de 0,5 - 2,0 m de altura, com pêlos estrelados simples e/ou granulares. Suas folhas são simples, com aspecto de ovado a lanceolado com lâmina foliar inteira e sem nectarinas foliares. As flores são solitárias ou emparelhadas, axilares ou subterminais com cálice

campanulado ou em forma de taça (FRYXELL, 1992; KRAPOVICKAS, 2006; TANG et al., 2007; FRYXELL, 2009).

Figura 2: Distribuição geográfica do gênero *Sida* no mundo.



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

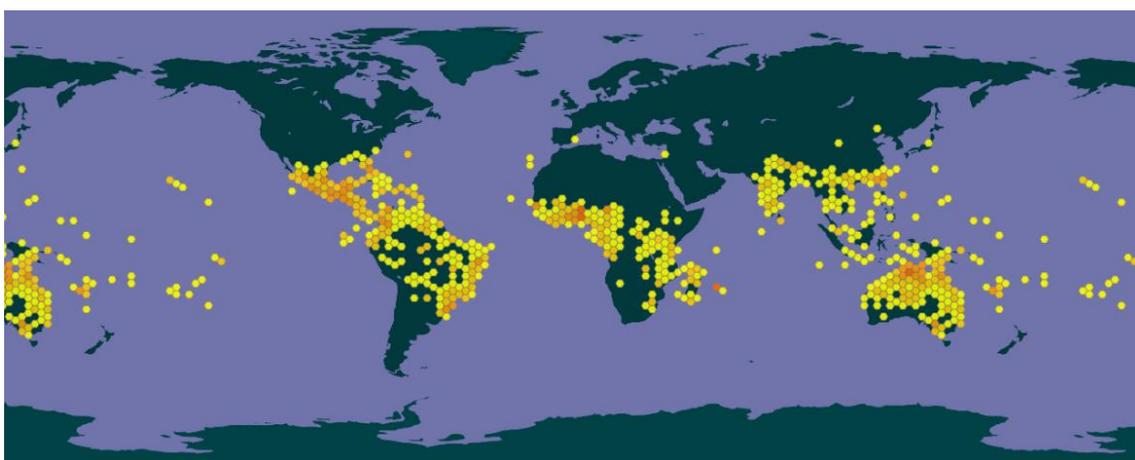
Diferentes espécies do gênero *Sida*, como *Sida cordifolia* L. e *Sida rhombifolia* L., são consideradas invasoras e/ou plantas daninhas que podem infestar lavouras e prejudicar a agricultura (FERREIRA et al., 1984). Outras espécies têm importância etnomedicinal e são utilizadas no tratamento de diversas condições de saúde como asma, (KAROU et al., 2007; CHAVES et al., 2013; 2017), esteroides, ácidos fenólicos, compostos porfirínicos (SILVA et al., 2006; CHAVES et al., 2013; 2017; SHAH et al., 2017), ecdiesteroides (WANG et al., 2008) e terpenoides (GANESH & MOHANKUMAR, 2017; MAH et al., 2017)

Cientificamente, algumas espécies de *Sida* têm comprovações bem significativas, por exemplo, *Sida rhombifolia* atuando como anti-hipertensiva e cercaricida (CHAVES et al., 2013; 2017; FEMOE et al., 2022), *Sida galheirensis* com atividade antioxidante (SILVA et al., 2006) e *Sida acuta* agindo como antimicrobiana, cercaricida, antioxidante e anticâncer (BORA et al., 2016; THONDAWADA et al., 2016; KANTHAL et al., 2017; OWOEYE & SALAMI, 2017; FEMOE et al., 2022).

3.3 Considerações sobre a espécie *Sida acuta* Burm.

A espécie *Sida acuta* Burm., conhecida popularmente no Brasil como “guaxuma” ou “relógio”, é nativa, não endêmica e se distribui pelas regiões Norte, Nordeste, Centro-oeste e Sudeste do país. Além disso, pode ser encontrada em outras regiões das Américas e na Austrália, além de países da Ásia e África (Figura 3, pág. 31) (KRAPOVICKAS, 2003; BOVINI, 2020).

Figura 3: Distribuição geográfica da espécie *Sida acuta* no mundo.



Fonte: <https://www.gbif.org/species/3933670>

Na medicina tradicional indiana, as raízes de *Sida acuta* são amplamente utilizadas como estomacico, diaforético e antipirético, enquanto o extrato de água quente da planta inteira seca é administrado por via oral como febrífugo, abortivo e diurético (KHOLKUTE, MUNSHI, NAIK & JATHAR, 1978; KHARE, SRIVASTAVA & SINGH, 2002). O suco de folhas frescas é usado como anti-helmíntico, anti-vômito e para distúrbios gástricos (AKILANDESWARI, SENTHAMARAI & VALARMATHI, 2010; NAIK, VENUGOPALAN & KUMARAVELAYUTHAM, 2012). Na Colômbia e países da América Central essa parte da planta é utilizada para tratar malária, diarreia, asma, dor de cabeça, resfriado, febre, doenças de pele, doenças urinárias, úlceras e vermes. Enquanto a planta inteira diminui o efeito hemorrágico do veneno de *Bothrops atrox* (CACERES, GIRON & MARTINEZ, 1987; OTERO et al., 2000; TRIVEDI & VEDIYA, 2013; GEORGE et al., 2017).

Na África, o uso etnomedicinal de *Sida acuta* aponta que decocção da planta inteira é usada para o tratamento de febre, reumatismo e para erradicar vermes intestinais, como também para tratar malária. O cataplasma das suas folhas é aplicado para aliviar dor de cabeça e a raiz é mastigada para aliviar dor de dente (TENE et al., 2016).

No que se refere as suas características botânicas, a espécie se apresenta como um subarbusto ereto, ramificada e perene, podendo atingir 1m de altura. Suas folhas são simples e alternadas, possuem estípulas com 5-7 mm de comprimento, lanceoladas e subfalcadas, com glabras e margem ciliada. A lâmina foliar é de elíptica a oval com base aguda, ápice agudo, margem denteada, faces abaxial e adaxial com tricomas simples. Suas flores são solitárias ou em racemos, axilares e terminais pediceladas, com corola branca

com base amarela e 5 pétalas, suas sementes possuem cerca de 2 mm de comprimento e o fruto é capsulado com 5 a 6 carpelos (EKPO & ETIM, 2009) (Figura 4, pág. 32).

Figura 4: *Sida acuta* Burm.



Fonte: <https://www.gbif.org/species/3933670>

A composição química de *Sida acuta* é marcada pela presença de diferentes classes de metabólitos secundários, os quais são responsáveis pelas mais diversas atividades terapêuticas. Foram identificados na espécie compostos das classes dos alcaloides (criptolepina, quindolinona, vasicina), flavonoides (Canferol-3-*O*- β -D-glicopiranosideo, Canferol-3-*O*- α -L-ramnopiranosil- β -D-glicopiranosideo), cumarinas (escopoletina, heraclinol), compostos fenólicos (ácido ferúlico, ácido vanílico, ácido sinápico, evofolin A e B), terpenos, esteroides e lignanas (GOYAL & RANI, 1988; CAO & QI, 1993; JANG et al., 2003; CHEN et al., 2007; DHALWAL & SHINDE, 2010; AHMED et al., 2011; NWANKPA et al., 2015; SHITTU & ALAGBE, 2020; FEMOE et al., 2022; SELVADURAI & SHANMUGAPANDIYAN, 2022).

O potencial farmacológico de *Sida acuta* vem ao longo dos anos sendo investigado. Apresentam, entre outros efeitos terapêuticos a atividade antioxidante (OWOEYE & SALAMI, 2017; MUNESWARI et al., 2019), antimicrobiano (GEORGE et al., 2017; CHUMPOL et al., 2018), anti-inflamatório (OBOH & ONWUKAEME, 2005; PIEME et al., 2010), citotóxico (KANTHAL, 2017; NWANKPA et al., 2018), anticâncer (THONDAWADA et al., 2016; KANTHAL et al., 2017), sedativo, hipnótico e ansiolítico (BENJUMEA et al., 2016), cercaricida (FEMOE et al., 2022), antimalárica (BANZOUZI et al., 2004; MARIMUTHU, 2010).

Considerando o potencial fitoquímico e farmacológico de *Sida acuta* Burm., além do pouco conhecimento dos seus compostos polares, este trabalho vislumbrou enriquecer os conhecimentos fitoquímicos dessa espécie, através da identificação desses compostos.

3.4 Considerações sobre a espécie *Sida linifolia* Juss. ex. Cav.

Sida linifolia apresenta-se como uma erva daninha e pode ser encontrada na forma de arbusto ou subarbusto. É conhecida no Brasil popularmente como “vassoura” ou “língua de tucano” e é amplamente distribuída, além de relatos da sua distribuição na Ásia, África e nas Américas (Figura 5, pág. 33) (BROOME; SABIR; CARRINGTON 2007; PROTA, 2016; SAENSOUK; SAENSOUK; PASORN, 2016; USDA-ARS, 2016). Enfatizando que no Brasil essa espécie é considerada nativa e não endêmica, com distribuição por todas as regiões Caatinga, Cerrado, Floresta Amazônica, Mata Atlântica até os ambientes pantanosos (BOVINI, 2016).

Figura 5: Distribuição geográfica da espécie *Sida linifolia* no mundo.



Fonte: <https://www.gbif.org/species/5406748>

A espécie *Sida linifolia* (Figura 6, pág. 34) é encontrada com ramos hirsutos, tricomas simples e birradiados, estrelados esparsos. Suas folhas possuem estípulas lineares a estreitamente lanceoladas. Os pecíolos lineares são estreito-lanceoladas, concolores, cartáceas, inteiras, ápice agudo, com base cuneada a truncada e margem inteira-ciliada, ambas as faces são hirsutas, com tricomas simples e birradiados adpressos, estrelados esparsos. Possui cálice campanulado, sépalas triangulares, externamente pubescente com tricomas simples e raramente estrelados. Suas pétalas são brancas com mácula basal vinácea, obovadas, glabrescentes com tricomas glandulares e mericarpos submúlticos (BRANDÃO et al., 2017).

Figura 6: *Sida linifolia* Juss. ex Cav.



Fonte: <https://www.gbif.org/species/5406748>

Na medicina tradicional africana, a mistura de folhas de *Sida linifolia* é utilizada para controlar várias doenças, incluindo infecções cutâneas e subcutâneas, malária, como também estimulante genital, depressora e antiabortivo (AKUBUE et al., 1983; KOKWARO, 1993; BURKILL, 1997; NEUWINGER, 2000; SAENSOUKA et al., 2016).

Apesar de existirem diversos estudos com diferentes espécies de *Sida*, há poucas informações disponíveis na literatura sobre a fitoquímica e a bioatividade de *Sida linifolia*.

Nwankwo et al., 2022, realizou um estudo fitoquímico quantitativo da fração foliar da fase acetato de etila de *Sida linifolia* demonstrando a presença de flavonoides, fenóis e taninos em maior concentração, como também relatou as atividades antioxidante, anti-inflamatória e antinociceptiva.

Considerando o potencial químico e farmacológico de *Sida linifolia*, este estudo buscou conhecer um pouco mais a fitoquímica da espécie, podendo então colaborar com o enriquecimento quimiotaxônomico do gênero *Sida* e da família Malvaceae.

3.5 Importância das técnicas hífenadas no estudo de produtos naturais

Nas últimas décadas as técnicas analíticas vêm avançando na tecnologia utilizada e isto permitiu a sua hífenação. Essa possibilidade tem tornado os estudos de amostras com matrizes muito complexas, definir com eficácia o perfil metabólico de extratos vegetais. Nas análises de produtos naturais, o crescimento no uso destas técnicas hífenadas ou acopladas possibilitou uma maior agilidade no isolamento e na elucidação estrutural de composto químicos, devido às crescentes qualidade e quantidade de informações que se pode obter.

Hirschfeld iniciou o uso do termo “hifenadas” para se referir a combinação de técnicas de separação com uma ou mais técnicas de detecção espectroscópicas, em linha. Desta forma, o emprego de técnicas modernas combinadas para a separação, detecção e identificações de metabólitos na Química de Produtos Naturais, têm sido cada vez mais utilizadas. Podem ser citadas, entre outras técnicas de alta performance a: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas (CLAE-EM), Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM), Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Ressonância Magnética Nuclear (CLAE-RMN) (HIRSCHFELD, 1980; JOSHI et al., 2012; LOPEZ-FERNANDEZ et al., 2020).

As técnicas utilizadas no acoplamento devem gerar diferentes informações, ou seja, serem ortogonais. A CLAE hifenada com Espectrometria de Massas em linha, traz a cromatografia como uma técnica de separação e a espectrometria como uma técnica de identificação, a qual vai fornecer informações adicionais sobre a estrutura química dos componentes da amostra. O acoplamento entre estas duas técnicas dão origem a uma ferramenta analítica versátil e de grande potencial na análise qualitativa e quantitativa, de substâncias com perfil desde apolares até moléculas muito polares, analisando, portanto, matrizes complexas não voláteis, com alto peso molecular (CROTTI et al., 2006; LANÇAS, 2009; PARRA et al., 2016).

Atualmente, uma das maiores aplicações das técnicas hifenadas na área de produtos naturais é na chamada dereplicação de misturas complexas, ou seja, é uma rápida caracterização dos constituintes de uma mistura para estabelecer quais já foram previamente identificados e assim poder guiar para o isolamento e a identificação de compostos químicos desconhecidos que possuam atividades farmacológicas. Com base nessas informações se pode considerar essas técnicas como importante ferramenta que auxilia na racionalização dos estudos fitoquímicos (WOLFENDER et al., 2015; SOUZA et al., 2020a).

A CLAE/EM é uma técnica mais relacionada com o processo de dereplicação, apesar de muitos estudos utilizarem CLAE-RMN e, até mesmo, CLAE-EM-RMN. Na análise de amostras de produtos naturais, a CLAE-EM é um dos métodos mais sensíveis, além de despende um menor custo de operação e menor tempo de análise (PARRA, 2016).

A Espectrometria de Massas, técnica analítica que progrediu durante os últimos anos, ocupa uma posição de destaque entre os métodos, devido à sua sensibilidade, limites de detecção, velocidade e diversidade de aplicações. A amostra ao ser aplicada, é

convertida em íons em fase gasosa, que em seguida são separados no espectrômetro de massas de acordo com sua razão massa (m) sobre a carga (z), m/z (WILSON & WALKER, 2010; HARVEY et al., 2015). Para conversão desses íons é utilizado um sistema de ionização, uma vez que a EM não analisa moléculas e nem átomos neutros. A fonte de ionização escolhida é de grande importância e esta é responsável pelo tipo de analito que pode ser analisado em seguida.

Geralmente a CLAE-EM utiliza como fonte de ionização o *electrospray* (IES), devido a sua versatilidade, acontecendo a protonação ou a desprotonação das moléculas. Por ser abrangente, este ionizador permite a análise de compostos com grande diferença de polaridade e peso molecular, além de proporcionar uma ionização mais branda dos analitos, evitando um grau elevado de fragmentação dos íons, fato que possibilita identificar o íon molecular (CROTI et al., 2006; WOLFENDER et al., 2015). Como a energia residual retida pelo analito é pouca e há baixa fragmentação, esta transferência de energia reduzida é visto como uma desvantagem para a técnica. Pensando em contornar esta desvantagem, foi desenvolvido equipamentos de espectrometria de massas sequencial (EM/EM ou EMⁿ), a fim de se conseguir informações mais detalhadas de um composto pelos padrões de fragmentação apresentados (WOLFENDER et al., 2015; LÓPEZ-FERNÁNDEZ et al., 2020). Desta forma, certos aspectos dos analisadores de massas, como a capacidade de realizar experimentos de EMⁿ (múltiplos estágios de isolamento do íon precursor ou molecular) e a fragmentação por CID (*collision-induced dissociation*) e a capacidade de fornecer espectros em alta resolução e determinação de massas acuradas são características de fundamental importância para estudos com CLAE-EM e CLAE-EM/EM.

A utilização das técnicas hífenadas modernas gerou uma grande contribuição na bioprospecção de produtos naturais, colaborando de forma direta na descoberta de novos compostos biologicamente ativos.

3.6 Nanotecnologia Farmacêutica

A nanotecnologia é uma das tecnologias mais inovadoras deste século, o seu emprego na saúde tem crescido gradativamente. A nanotecnologia farmacêutica envolve a aplicação da nanociência em Farmácia, em especial com o uso de sistemas de liberação de fármacos nanoestruturados. Neste caso, a nanotecnologia surge no mercado com um importante papel no desenvolvimento de formulações, tendo se tornado uma grande aliada no desenvolvimento de nanomedicamentos (CASTER et

al., 2017; ANSELMO & MITRAGOTRI, 2019), podemos citar alguns exemplos de nanomedicamentos aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) (Quadro 1, pág. 37).

Quadro 1: Nanomedicamentos aprovados pela FDA.

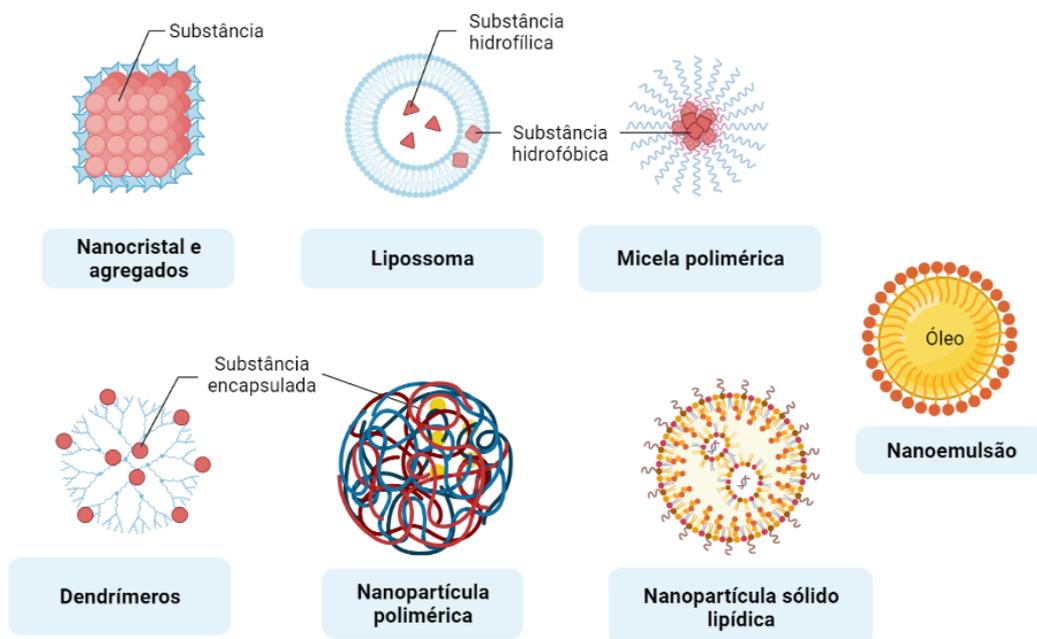
Medicamento	Empresa	Aplicação	Data da primeira aprovação
Doxil	Janssen	Sarcoma de Kaposi	1996
Pegintron	Merck	Infecção por hepatite C	2001
Eligard	Tolmar	Câncer de próstata	2002
Marqibo	Acrotech Biopharma	Leucemia linfoblástica aguda	2012
Onivyde	Ipsen	Câncer pancreático metastático	2015
Adynovate	Takeda	Hemofilia	2015
Vyxeos	Jazz Pharmaceuticals	Leucemia mieloide aguda	2017

Fonte: Adaptado de Bobo et al., 2016; Caster et al., 2017; Anselmo & Mitragotri, 2019.

Nos últimos anos, o crescimento de novos sistemas de liberação de fármacos para fitoterápicos tem atraído significativamente a atenção dos pesquisadores e da indústria farmacêutica. Quando acontece a junção desta nova tecnologia de sistema de entrega de drogas (TSED) e compostos bioativos de origem vegetal temos como resultado uma redução da degradação e toxicidade, como também uma entrega de forma regulada da substância ativa no local alvo, aumentando assim a biodisponibilidade deste composto (SHARMA, 2014).

Entre os carreadores nanoestruturados, temos os nanossistemas baseados em lipídios (NBL) que incluem nanoemulsões, microemulsões, lipossomas, nanopartículas lipídicas sólidas (NLS), carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) e também sistemas baseados em polímeros como nanoesferas, nanocapsulas, micelas e dendrímeros. O uso destes sistemas tem agregado melhoras significativas nas propriedades biofarmacêuticas das substâncias (MITCHELL et al., 2021). Na figura 7 temos alguns exemplos de sistemas de liberação nanoestruturados.

Figura 7: Sistemas de liberação nanoestruturados.



Fonte: Adaptado de Mitchell et al., 2021.

Os sistemas emulsionados de gotículas de óleo estabilizadas em água por tensoativos, são ótimos carreadores para moléculas e apresentam outras características que são consideradas vantajosas para sua aplicação. Entre as características estão:

1. A capacidade de proteger a substância ativa encapsulada da degradação ou inativação de fatores endógenos;
2. São biodegradáveis e produzem poucos compostos tóxicos decorrentes da degradação do veículo;
3. São capazes de diminuir a resposta imune indesejada à substância ativa;
4. A capacidade de incorporar substâncias com polaridades diferentes;
5. Liberam controladamente a substância no sítio de ação;
6. Permitem a redução da dose e dos efeitos adversos, caso o composto possua.

(KHAN et al., 2006; CARLUCCI & BREGNI, 2009; BONNET et al., 2010; STRECK et al., 2019).

Desde a introdução das nanoemulsões (NE) nos anos 40, esta tecnologia se tornou bastante atraente devido ao seu uso em muitos produtos, como por exemplo tintas, cosméticos, refrigerantes, loções pós-barba e como sistema carreador de fármacos. Este último chamou atenção da indústria farmacêutica, que passou a investir de forma intensa e constante em tecnologias cada vez mais modernas (TENJARLA, 1999).

As nanoemulsões (NE), muitas vezes também chamadas de miniemulsões, são dispersões de dois líquidos imiscíveis estabilizados por um tensoativo ou uma mistura de tensoativos, que permite a homogeneização de líquidos imiscíveis em uma única fase, diminuindo a tensão interfacial entre eles. Elas apresentam diâmetro médio de gota em tamanho nanométrico (20 a 500 nm) e transparência que depende do tamanho da partícula (QUINTÃO et al., 2013; ZORZI et al., 2015). São sistemas termodinamicamente instáveis exibindo, no entanto, alta estabilidade cinética, sendo então considerados metaestáveis, ou seja, a estabilidade pode permanecer por vários anos. Outrossim, sua baixa viscosidade e transparência óptica os tornam sistemas de entrega muito atraentes (FERNANDEZ et al., 2004).

Os sistemas nanoemulsionados apresentam capacidade de compartimentalizar fármacos nas gotículas da fase interna, que contêm propriedades físico-químicas muito diferentes daquelas do meio dispersante, induzindo modificações nas propriedades biológicas das substâncias incorporadas (STRECK et al., 2014; 2016; ARAÚJO et al., 2018). Neste caso, a NE promove uma modificação na biodisponibilidade e na toxicidade de fármacos, uma vez que esses sistemas se apresentam como reservatórios capazes de liberar e direcionar os fármacos para tecidos e células específicas do organismo (STRECK et al., 2019).

Diante da variedade de sistemas nanoestruturados que a tecnologia moderna dispõe, as nanoemulsões apresentam algumas vantagens em relação aos outros sistemas (MORALES et al., 2003; CAPEK, 2004; TADROS et al., 2004; SHAH et al., 2010), como as elencadas abaixo:

1. Permite a administração de substâncias lipofílicas em sistemas dispersos aquosos e seu tamanho reduzido proporciona uma alta superfície de contato com diferentes membranas biológicas, o que favorece a absorção;
2. O pequeno tamanho dos glóbulos, juntamente ao movimento browniano característico, diminui a atuação da força da gravidade evitando assim movimentos de instabilidade como sedimentação e cremagem;
3. A granulometria do sistema previne a formação do fenômeno coalescência;
4. São atóxicas, inócuas e podem ser facilmente aplicadas e espalhadas pela pele e mucosas;
5. Conseguem ser formulados em várias formas farmacêuticas, tais como espumas, cremes e sprays; e

6. São solúveis em água sem que ocorra alteração na distribuição e tamanho dos glóbulos.

O preparo das NE ocorre através da emulsificação de uma fase oleosa em uma fase aquosa, onde um sistema de surfactante estabilizará essa formulação. Porém, podem ser utilizados diferentes métodos para obtenção, são os chamados métodos de alta energia e de baixa energia, ambos métodos podem produzir NEs estáveis. Os métodos de alta energia envolvem a introdução de energia ao sistema, a qual é realizada pelo emprego de homogeneizadores de alta velocidade, de alta pressão ou ultrassônicos. Aqueles considerados métodos de baixa energia fazem uso de inversões de fase que tomam lugar durante o processo de emulsificação como resultado de uma alteração na curvatura espontânea do surfactante, que pode acontecer por uma alteração da temperatura, no caso do método da temperatura de inversão de fases (TIF), ou pela alteração da composição do sistema, no método composição de inversão de fases (CIF). Estes dois métodos usam energia química armazenada em vez de energia mecânica como acontece nos métodos de alta energia (PEY et al., 2006; SÓLE et al., 2006; KOTTA et al., 2012; ANANDHARAMAKRISHNAN, 2014).

O uso das nanoemulsões também atraiu a atenção dos pesquisadores de produtos naturais, os quais passaram a utilizar tal técnica para o melhoramento das propriedades dos metabólitos secundários e conseqüentemente, suas atividades farmacológicas.

Os flavonoides, objeto de estudo deste trabalho, possuem enormes benefícios à saúde, apesar disso a sua farmacocinética consegue ser melhorada para sua administração quando envoltos por um sistema nanotecnológico. Eles são substâncias susceptíveis a modificações causadas por fatores extrínsecos como alteração do pH, da temperatura e da luz. Apresentam uma baixa biodisponibilidade devido o limite de solubilidade em água, seu mecanismo de absorção gastrointestinal é complexo e são pouco absorvidos na sua forma natural pelo intestino, fato que pode levar a sua degradação por microorganismo ou enzimas presentes no intestino e esta degradação produz outros metabólitos (BILIA et al., 2014).

Essas dificuldades podem ser solucionadas através do uso de sistemas nanocarreadores, os quais são úteis para melhorar as propriedades dos flavonoides e, portanto, a sua eficácia. O desenvolvimento de sistemas nano utilizando flavonoides nas formulações tem se tornado promissor. O quadro 2 a seguir, exhibe alguns exemplos de flavonoides que foram utilizados como princípio ativo no preparo de nanoformulações:

Quadro 2: Flavonoides utilizados em nanoformulações.

Tipo de formulação	Constituintes da formulação	Flavonoides	Parâmetros físico-químicos	Referências
Nanopartícula	Ácido acético glacial; Tripolifosfato de sódio; Quitosana	Cianidina-3- <i>O</i> -glicosídeo	Tamanho médio: 288 nm; PZ: +30 mV; Eficiência de encapsulação: 44,9%	Liu et al., 2018
Nanopartícula	Poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)-poli(óxido de etileno)	Canferol	Tamanho médio: 160 nm; PZ: +1,4 mV	Luo et al., 2012
Nanoemulsão	Miglyol 812 N; Tween 80 [®] ; Labrasol; Lipoid E80; Água	Fisetina	Tamanho médio: 154 nm; IPd: 0,115; PZ: - 34,1 mV; pH: 6,53	Ragelle et al., 2012
Nanoemulsão	Triacetina; Tween 80 [®] ; Transcutol HP	Naringenina	Tamanho médio: 38 nm; IPd: 0,381; PZ: - 23,3 mV	Khan et al., 2015
Nanopartículas	Ácido poliacético; Éter de polietileno glicol;	Luteolina	Tamanho médio: 115 nm;	Majumdar et al., 2014

O Tilirósídeo, flavonoide glicosilado, tem solubilidade em água muito limitada ($\log P_{o/w} = 2,71$), baixa absorção gastrointestinal e baixa biodisponibilidade, o que representa um grande obstáculo para seu desenvolvimento como medicamento e limita seu uso terapêutico. O uso das tecnologias nano, como a formulação de uma nanoemulsão a partir deste flavonoide, pode aumentar sua solubilidade, prologar o tempo de residência gástrica e elevar sua absorção pela mucosa intestinal, uma vez que melhora a permeação no intestino, como também pode facilitar a passagem do tilirósídeo por outros tipos de membranas biológicas, indicando a viabilidade para outras vias de administração, como cutânea, intramuscular e intravenosa (KOTTA et al., 2012; YUGANDHAR et al., 2017; SOUSA et al., 2021).

As pesquisas demonstram os benefícios de associar compostos bioativos extraídos de plantas a sistemas nanoestruturados, tanto prevenindo ou promovendo a saúde do

consumidor, quanto trazendo benefícios para o composto, melhorando sua qualidade e segurança (RAGELLE et al., 2012; ISLAM et al., 2017; SHIN et al., 2018).

3.7 Atividade antitumoral e toxicidade do tilirosídeo

O crescimento celular é uma atividade biológica, dinâmica e contínua de multiplicação e aumento do tamanho celular, que tem como propósito preservar a homeostase tecidual e a substituição celular no decorrer da vida (AQUINO, 2011; RUIJTENBERG; VAN DEN HEUVEL, 2016). O crescimento e a proliferação celular são coordenados pelo ciclo celular, um processo altamente regulado que inclui múltiplos ciclos de realimentação, os quais permitem ou impedem a divisão celular (MOHAMED et al., 2018). A homeostasia da proliferação celular é fundamental para assegurar a regulação de respostas imunes e o reparo tecidual, respondendo às necessidades específicas do organismo (WANG et al., 2016; YANG et al., 2017).

Por outro lado, existem células que passam por processos de alterações genéticas e/ou epigenéticas, as quais vão apresentar uma desregulação na integridade genômica, e ativar constitutivamente vias de sinalização envolvidas na tumorigênese (SEVER; BRUGGE, 2015). Problemas no controle do ciclo celular ou na perda da diferenciação, vai resultar em um crescimento celular descontrolado, caracterizado pelas neoplasias ou tumores (RUIJTENBERG; VAN DEN HEUVEL, 2016; ARAÚJO et al., 2019).

A formação de uma célula maligna é uma causa multifatorial, compreendendo fatores externos e internos que podem trabalhar em conjunto para favorecer o crescimento tumoral (BLACKADAR, 2016). Os fatores intrínsecos estão associados a mutações devido a erros na replicação do DNA, responsáveis por cerca de 10 - 30% dos casos de câncer, incluindo as mudanças hormonais extremas, imunidade e os distúrbios genéticos herdados (WU et al., 2016; TAN et al., 2017). Já os fatores extrínsecos estão relacionados aos fatores ambientais - tais como, radiação ultravioleta e ionizante - como também o estilo de vida do indivíduo - o uso de tabaco, consumo de álcool e sedentarismo - que facilitam o acúmulo de alterações genéticas podendo desencadear a carcinogênese (WU et al., 2016; ROMIEU; AMADOU; CHAJES, 2017).

A desregulação da sinalização celular permite a proliferação e crescimento de células indiferenciadas que associadas a mutações leva ao processo de alterações morfológicas, permitindo que as células adquiram características específicas que as diferem das células saudáveis, e pode ser classificado como benigno ou maligno

(TODORIC; KARIN, 2019). No quadro 3, podemos observar algumas características que diferenciam estes dois tipos de tumores.

Quadro 3: Características que diferenciam tumores malignos e benignos.

Características	Tumores Benignos	Tumores Malignos
Morfologia	Estruturalmente semelhante ao tecido de origem	Arquitetura desorganizada e diferente do tecido de origem
Mitoses	Raras e típicas	Frequentes e atípicas
Encapsulação	Presença frequente	Geralmente ausente
Diferenciação	Bem diferenciados	Pouco diferenciados
Forma de crescimento	Expansão (encapsulamento)	Penetração e destruição do tecido adjacente
Metástase	Não forma metástase	Metastização comum
Taxa de crescimento	Lento	Rápido

Fonte: Adaptado de Talmadge; Fidler, 2010; Todorik; Karin, 2019.

Há milhares de gerações o câncer tem afetado a espécie humana, um osteossarcoma foi detectado em um fóssil de 1,7 milhões de anos na África do Sul (ODES et al., 2016). Outros relatos apontam a presença de mieloma múltiplo, câncer de próstata e de mama em humanos entre 230 e 3000 a.C. (KARPOZILOS; PAVLIDIS, 2004; BINDER et al., 2014). Assim, a existência do câncer no homem antes da modernização e da introdução de contaminantes sintéticos no ambiente e nas dietas tornam essa doença ainda mais desafiadora (PETERS; GONZALEZ, 2018).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) e Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) o câncer é considerado a segunda principal causa de morte no mundo, sendo responsável por 9,6 milhões de mortes em 2018 e aproximadamente 70% das mortes ocorrem em países de baixa e média renda, o que corresponde a aproximadamente 8,8 milhões de mortes por ano nestes países. Desta forma, é uma doença considerada um grave problema socioeconômico e de saúde pública, refletindo no aumento de incidência de casos, o que gerou uma estimativa para o ano de 2040 de mais de 26 milhões de novos casos ao redor do mundo (WILSON et al., 2019; OMS, 2022).

Cerca de um terço das mortes por câncer se devem aos cinco principais riscos comportamentais e alimentares: alto índice de massa corporal, baixo consumo de frutas e vegetais, falta de atividade física e uso de álcool e tabaco, considerado o principal fator de risco para o câncer, causando 22% das mortes pela doença. Estas estatísticas poderiam ser evitadas trabalhando os principais fatores de risco (OMS, 2022).

No Brasil, o Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), apresenta a hipótese em torno de 625 mil novos casos por ano de câncer no país para o triênio 2020-2022. Os tipos de câncer mais frequentes em homens, à exceção do câncer de pele não melanoma, serão próstata (29,2%) e cólon e reto (9,1), nas mulheres, exceto o câncer de pele não melanoma, os cânceres de mama (29,7%) e cólon e reto (9,2%). O câncer de pele não melanoma representará 27,1% de todos os casos de câncer em homens e 29,5% em mulheres (INCA, 2022). São valores que tendem a elevar-se com o passar do tempo, se caso não seja utilizadas medidas de prevenção, como também uma terapia eficaz no tratamento dessas patologias.

Dados da OMS mostram que o percentual de casos e mortes por câncer tem aumentado de forma contínua. Neste cenário, o uso do tratamento adequado a ser desenvolvido é essencial para reduzir o avanço da doença, buscando superar a toxicidade e a resistência apresentada pelas células tumorais.

Em relação ao tratamento do câncer, atualmente diversas abordagens podem ser empregadas, são elas: cirurgia, radioterapia, transplante de medula óssea, terapia alvo, terapia hormonal, imunoterapia, terapia fotodinâmica e a laser, criocirurgia ou crioterapia, e a quimioterapia – modalidade mais empregada (MILLER et al., 2019), a escolha para tratar as neoplasias vai depender essencialmente do seu estadiamento clínico, das características patológicas do tumor e de fatores preditivos e prognósticos (LOPES et al., 2016; BERNABEU et al., 2018). Em determinadas situações se faz necessário a combinação de mais de uma modalidade, porém a efetividade do tratamento é muitas vezes limitada pelo desenvolvimento de quimiorresistência e pelo aparecimento de efeitos secundários graves, como alopecia, mielossupressão, náuseas e vômitos intensos (FEITELSON et al., 2015; SMITH; PREWETT, 2017; MILLER et al., 2019).

A radioterapia, realizada sozinha ou em combinação, é usada em mais de 50% dos casos para tratar indivíduos com diversos tipos de câncer e consiste na utilização de fótons de alta energia que se depositam no tecido tumoral, destruindo-o (ALLEN, 2017). A eficácia apresentada por esse método é tem como consequência um melhor controle local do tumor, redução na disseminação da doença, e menos efeitos colaterais podendo ser considerada como a terapia citotóxica mais eficaz disponível para o tratamento de indivíduos com tumores sólidos (FALCKE et al., 2018; JAROSZ-BIEJ; SMOLARCZYK; CICHÓN; KUŁACH, 2019).

A terapia alvo refere-se ao uso de substâncias direcionadas a atacar especificamente as células cancerígenas (alvos moleculares) para bloquear o crescimento

e a disseminação de células (LEE; TAN; OON, 2018). Esses agentes conseguem discriminar pequenas diferenças entre células saudáveis e tumorais, proporcionando terapias mais eficazes do que em outros tratamentos convencionais e com menores efeitos adversos indesejáveis (BAHRAMI et al., 2017).

A imunoterapia em oncologia abrange vários meios de usar o sistema imunológico do indivíduo para combater a malignidade, superando a capacidade do tumor de escapar do sistema imune para que a intensidade das respostas aumente (DAWE; HARLOS; JUERGENS, 2020).

A quimioterapia sistêmica tradicional continua sendo o principal método para o tratamento do câncer (BUKOWSKI; KCIUKE; KONTEK, 2020). Envolve a ampla distribuição de moléculas de droga no organismo, causando efeitos colaterais tóxicos nos tecidos saudáveis, especialmente os de rápido crescimento (ESKANDARI et al., 2020). Isso ocorre devido a não distinção entre as células saudáveis das neoplásicas pelos quimioterápicos, acarretando efeitos colaterais indesejáveis como alopecia, náuseas e vômitos intensos, mielossupressão, anemia, linfomas e leucemias, refletindo o alto nível de toxicidade associado a tais tratamentos (ANSARIZADEH; SINGH; RICHARDS, 2017; FEITELSON et al., 2015; SHARMA et al., 2015).

Sousa et al., 2021 realizaram ensaios *in silico* avaliando a toxicidade do tilirosídeo, determinando que a molécula não é mutagênica, não é carcinogênica e indica uma probabilidade de potencial farmacológico. Na análise *in silico* de toxicidade oral aguda, o tilirosídeo foi classificado como categoria III, que são aquelas moléculas com valores de DL₅₀ maior que 50 mg/kg e menor 300 mg/kg (BRASIL, 2019). Além disso, o estudo de Sousa et al., 2021 utilizou um método *ex vivo* para detectar a genotoxicidade de células na mucosa oral, relatando que o tilirosídeo exerceu efeitos de baixa toxicidade nas concentrações mais altas (500 e 1000 µg/mL).

Dessa forma, o desenvolvimento de agentes quimioterápicos mais seguros e eficazes, que atuem com maior seletividade em alvos moleculares específicos, é uma das principais prioridades e desafios no tratamento do câncer. Nesse cenário, se insere a pesquisa de produtos naturais com atividade antitumoral, considerando a significativa contribuição dos produtos naturais para o desenvolvimento de diversos medicamentos usados na quimioterapia atual.

A aplicação da nanotecnologia na área de saúde, conhecida como nanomedicina, envolve o uso de nanomateriais no desenvolvimento de novas modalidades terapêuticas e de diagnóstico. Isso inclui a utilização de nanoemulsões em

sistemas de liberação de drogas, biomarcadores luminescentes, engenharia de órgãos e tecidos, assim como os nanomedicamentos que têm emergido como uma nova opção de tratamento (GAO et al., 2014).

Em virtude da heterogeneidade do câncer, novas estratégias que abordam os processos de morte neoplásica estão sendo avaliadas (FANG; KROLL, ZHANG, 2015), abrindo espaço para a utilização de nanomateriais que amenizam efeitos colaterais disseminados das quimioterapias, por causa da sua especificidade direcionada ao tecido tumoral e da sua maior absorção (ASAI, 2012; TANG et al., 2014; DIN et al., 2017). Essas estruturas são desenvolvidas para conseguirem se depositar em locais de inflamação ou tumorais, uma vez que são rodeadas por tecidos vascularizados e o tamanho da nanoemulsão funciona como uma vantagem para facilmente se acumularem e atravessarem barreiras (TIWARI; TAN; AMIJI, 2006; VIEIRA; GAMARRA, 2016).

A reformulação de terapias tradicionais para a escala nanométrica tem avançado seus estudos e representam uma nova e promissora estratégia na terapia do câncer. Os exemplos de nanoemulsões descritos abaixo são resultados terapêuticos bem-sucedido em vários tipos de câncer (Quadro 4, pág. 47).

A principal vantagem das nanoemulsões, em relação a outros carreadores de drogas, é que elas podem ser projetadas para atingir células tumorais e evitar MDR (Multi Drogra Resistentes). Este é um desenvolvimento significativo na terapia do câncer, visto que o maior problema permanece no fato de que a maioria das drogas anticancerígenas apresentam toxicidade acentuada em células/tecidos saudáveis ou mesmo porque as células cancerígenas acabam desenvolvendo mecanismos para resistir ao tratamento (SÁNCHEZ-LÓPEZ, et al., 2019).

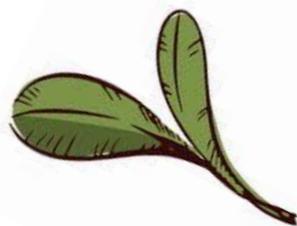
Diante desse contexto e tendo em vista o rápido desenvolvimento da nanociência, diferentes agentes antineoplásicos em nanoescala têm sido desenvolvidos para o tratamento do câncer e com base nestes dados se optou nessa pesquisa, desenvolver uma nanoemulsão utilizando o tilirosídeo, glicosídeo flavanoidico dotado de inúmeras atividades farmacológicas, todavia precisando que se melhore sua solubilidade e biodisponibilidade.

Quadro 4: Nanoemulsões desenvolvidas com aplicação para o câncer.

Constituintes da nanoemulsão	Composto ativo	Técnica de Produção	Parâmetros Físico-químicos	Tipo de Câncer	Eficácia Terapêutica	Referência
Triglicerídeo de cadeia média; Cremofor RH40; Glicerol	Curcumina	Auto-microemulsão	Tamanho médio: 34,5 nm; IPd: 0,129; PZ: - 8,54 mV	Câncer de próstata	Aumentam a citotoxicidade celular, captação celular, parada do ciclo celular e apoptose.	Guan et al., 2017
NE complexada com ácido hialurônico; Acetato DL- α -tocoferol; Óleo de soja; Tween 80 [®] ; Cloreto férrico	Paclitaxel	Homogeneização de alta pressão	Tamanho médio: 85,2 nm; PZ: - 35,7 mV	Cancêr de pulmão	Inibiram o crescimento do tumor, provavelmente por causa da afinidade específica de direcionamento tumoral do ácido hialurônico para células cancerígenas.	Liebmann et al., 1993
Miglyol 812; Lipoide S75; Tween 80 [®]	Chalcona	Ultrasonicação	Tamanho médio: 110 nm; IPd: 0,17; PZ: -19 mV	Leucemia	Mantiveram o efeito antileucêmico das chalconas; diminuíram os efeitos tóxicos da chalcona em células e em animais.	Jones et al., 2008
Carotenoide; Capryl TM 90; Transcutol [®] HP; Tween 80 [®]	Extrato de carotenóide de <i>Lycium barbarum</i> L.	Ultrasonicação	Tamanho médio: 15,0 nm	Câncer de cólon	Liberam carotenóides no ambiente ácido (característica de tumores) mas não em pH fisiológico; Regulam positivamente a expressão de p53 e p21 e regulação negativa da expressão de CDK2, CDK1, ciclina A e ciclina B e interromper o ciclo celular em G2/M em células de câncer de cólon HT-29.	Hsu et al., 2017

NE de perfluorocarbono; Perfluorodecalina; Poli (etilenonimina) fluorado	siRNA para silenciar a expressão do gene Bcl2	Ultrasonicação	Tamanho médio: 150 nm; PZ: + 50 mV	Melanoma	Nanoemulsões à base de poliplexos induzem apoptose e inibiu o crescimento do tumor em um modelo de camundongo com melanoma.	Chen et al., 2018
--	---	----------------	------------------------------------	----------	---	-------------------

4. Metodologia



4.1 Levantamento bibliográfico

O levantamento bibliográfico deste trabalho foi realizado durante toda a pesquisa utilizando-se para tanto, os recursos disponíveis como, por exemplo, SciFinder, PubMed, Scielo, PubChem, Chemical Abstracts, Biological Abstracts, Portal Periódicos da CAPES, além de pesquisas na Internet e em anais de eventos nacionais e internacionais.

4.2 Coleta do material botânico

As partes aéreas de *Sida acuta* foram coletadas no bairro Eucalipto, município de Cuité, Curimataú Ocidental Paraibano pelo Prof. Dr. Carlos Alberto Garcia Santos/UFCG, que também a identificou, e uma exsicata encontra-se depositada no Herbário do Centro de Educação e Saúde, na UFCG - Campus Cuité, sob o código 201.

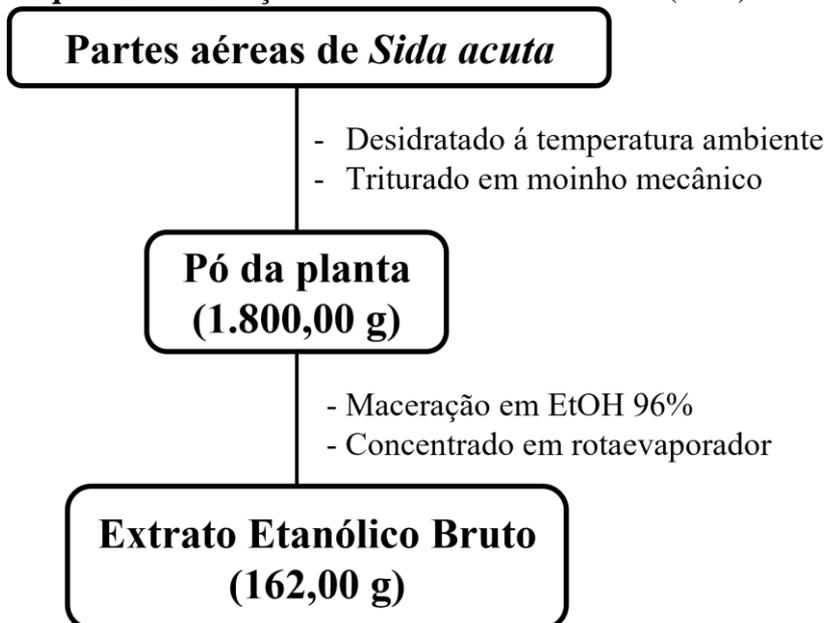
As partes aéreas da espécie *Sida linifolia* foram coletadas em Serra Branca/Raso da Catarina, localizada no município de Jeremoabo, nordeste da Bahia. O material botânico desta espécie foi coletado, identificado pela Prof.^a Dr.^a Adilva de Souza Conceição/UNEB e uma exsicata encontra-se depositado no Herbário da Universidade do Estado da Bahia com código de identificação 29030.

Ambas as espécies possuem registro no SisGen com o código A568B8A, registro referente ao grupo de estudos da família Malvaceae.

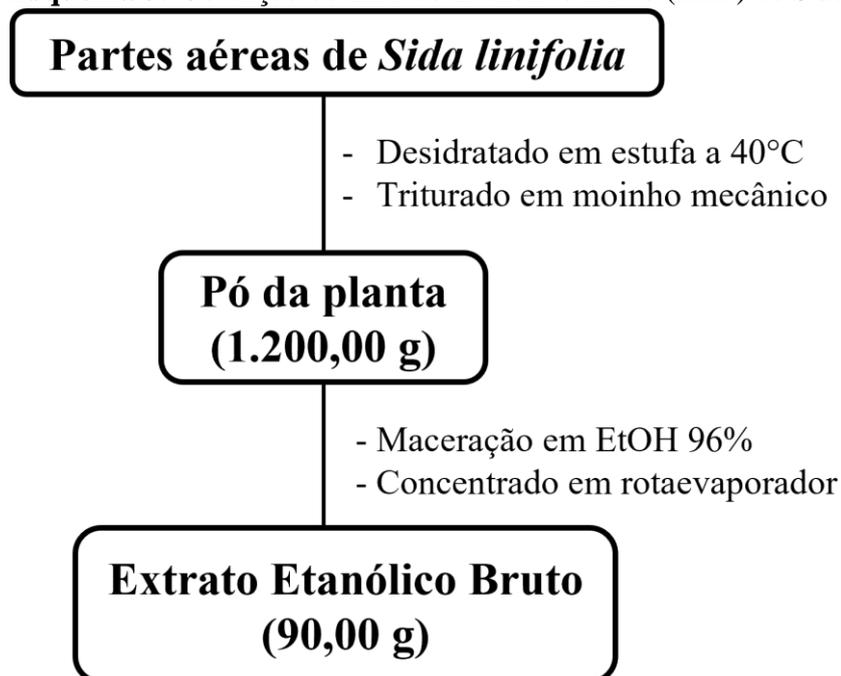
4.3 Processamento do material botânico

Os materiais botânicos das espécies foram submetidos, separadamente, a temperatura ambiente para *Sida acuta* e desidratação em estufa com circulação de ar, à temperatura de 40°C para *Sida linifolia*, durante 72 horas. Em seguida, o material seco foi triturado com auxílio de moinho mecânico, fornecendo 1.800 g (*Sida acuta*) e 1.200 g (*Sida linifolia*) de pó. Estes foram submetidos à maceração durante 72 horas, utilizando-se como líquido extrator etanol a 96%, sendo tal processo repetido até extração dos seus constituintes químicos. As soluções extrativas foram concentradas, separadamente, em rotaevaporador a 40 °C, obtendo-se 162 g do extrato etanólico bruto (EEB) de *Sida acuta* (Esquema 2, pág. 51), e 90 g do EEB de *Sida linifolia* (Esquema 3, pág. 51).

Esquema 2: Obtenção do Extrato Etanólico Bruto (EEB) de *Sida acuta*.



Esquema 3: Obtenção do Extrato Etanólico Bruto (EEB) de *Sida linifolia*.

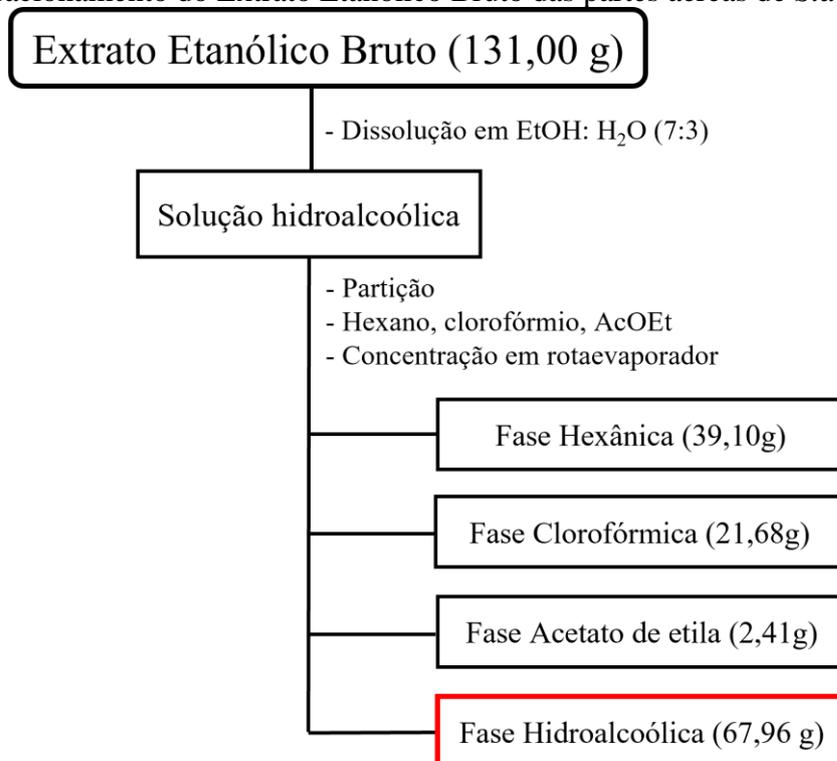


4.4 Fracionamento do EEB das partes aéreas de *Sida acuta*

Uma alíquota do EEB das partes aéreas de *S. acuta* (131,00 g) foi solubilizado em uma solução de EtOH: H₂O (7:3), obtendo-se uma solução hidroalcoólica que foi submetida a uma cromatografia líquido-líquido com hexano, clorofórmio e acetato de etila, realizada a temperatura ambiente. As respectivas soluções foram concentradas sob

pressão reduzida, fornecendo 39,10 g da fase hexânica; 21,68 g da fase clorofórmica; 2,41 g da fase acetato de etila e 67,96 g da fase hidroalcoólica (Esquema 4, pág. 52).

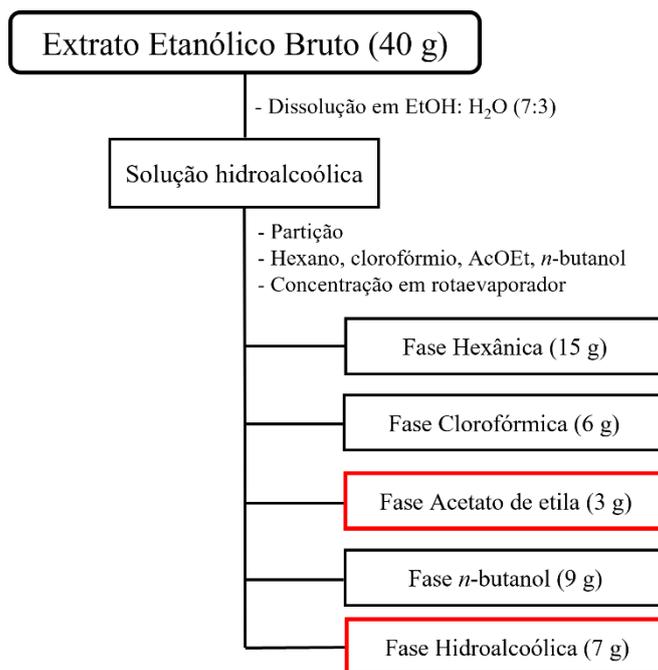
Esquema 4: Fracionamento do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de *Sida acuta*.



4.5 Fracionamento do EEB das partes aéreas de *Sida linifolia*

Uma alíquota do EEB das partes aéreas de *S. linifolia* (40,00 g) foi solubilizado em uma solução de EtOH:H₂O (7:3), obtendo-se uma solução hidroalcoólica que foi submetida a uma cromatografia líquido-líquido utilizando os seguintes solventes: hexano, clorofórmio, acetato de etila e *n*-butanol, realizada a temperatura ambiente. As respectivas soluções foram concentradas sob pressão reduzida, fornecendo 15,00 g da fase hexânica; 6,00 g da fase clorofórmica; 3,00 g da fase acetato de etila; 9,00 g da fase *n*-butanol e 7,00 g da fase hidroalcoólica (Esquema 5, pág. 53).

Esquema 5: Fracionamento do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de *Sida linifolia*.



4.6 Processamento cromatográfico da fase acetato de etila do EEB das partes aéreas de *Sida linifolia*

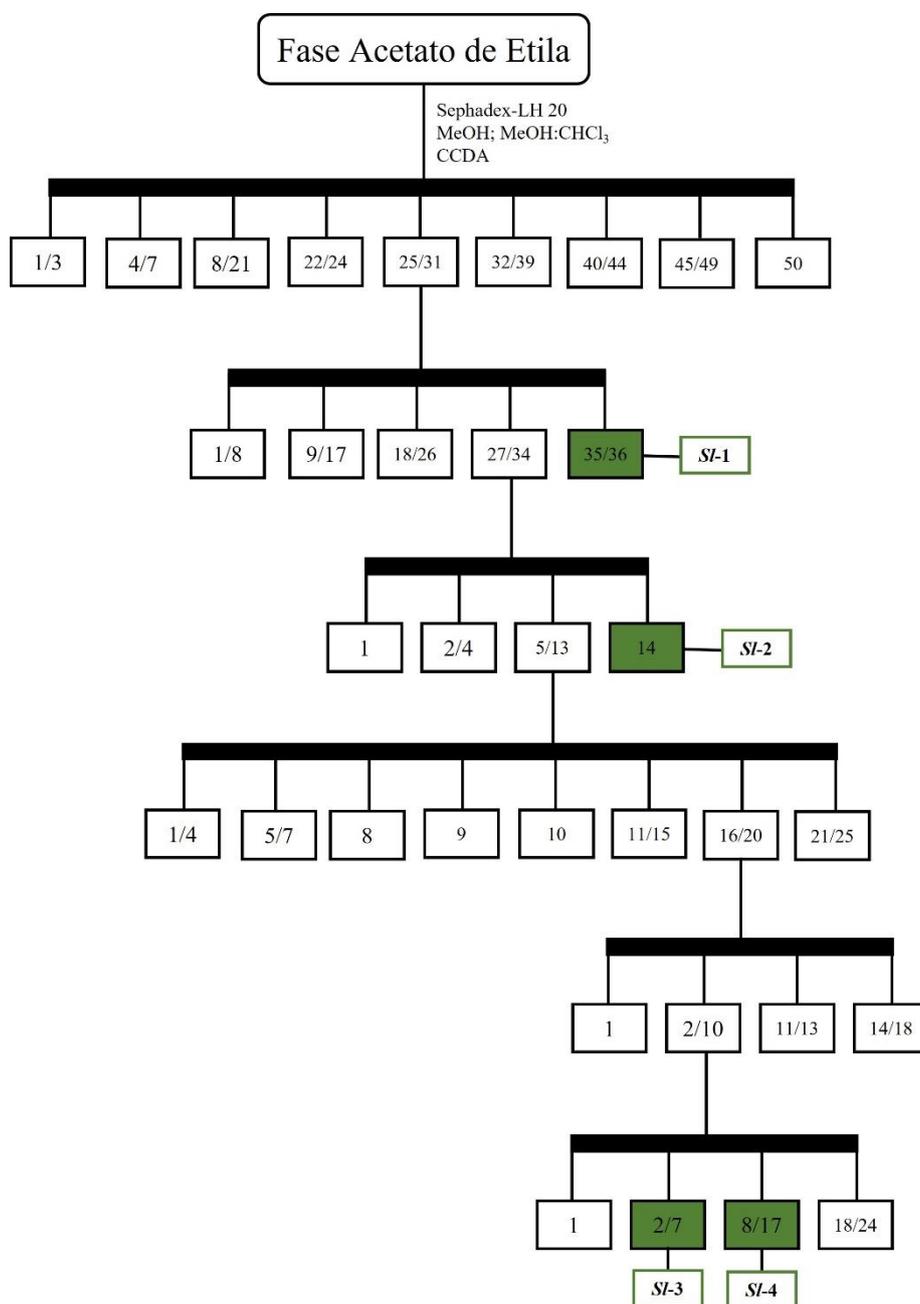
A fase acetato de etila (2,00 g) do extrato etanólico bruto (EEB) das partes aéreas de *Sida linifolia* foi submetida a uma cromatografia em coluna (CC) utilizando Sephadex LH-20 como fase estacionária e como fases móveis os solventes MeOH e CHCl₃, sozinhos ou em misturas binárias seguindo um gradiente decrescente de polaridade. Desse procedimento foram coletadas 50 frações de 7 mL cada, que foram concentradas, analisadas por Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) e reunidas de acordo com o perfil cromatográfico de eluição.

A fração 25/31 (0,2 g) foi reunida e cromatografada seguindo a metodologia anterior. A sub-fração 35/36 se apresentou como um pó amarelo e após CCDA, em vários sistemas de solvente, constatou-se a sua pureza, sendo codificada como *SI-1* (0,017 g). A sub-fração 27/34 (0,1 g) foi cromatografada de acordo com a metodologia inicial e resultou em 14 frações, a fração 14 se apresentou como um pó amarelo e foi considerada pura após CCDA, adotando-se os mesmos critérios para a substância anterior e recebeu o código *SI-2* (0,04 g). Desta mesma coluna, a sub-fração 5/13 (0,07 g) foi cromatografada sucessivas vezes utilizando a metodologia já descrita e originou a sub-fração 2/7, um sólido amarelo claro que também foi considerado puro após análise semelhante às amostras anteriores e, então foi codificada como *SI-3* (0,007 g), vizinha a esta amostra a

sub-fração 8/17 apresentou-se de forma oleosa na cor amarelo escuro, e após realização de CCDA e comparação com padrões do laboratório verificou a pureza da amostra, sendo codificada como *SI-4* (0,01 g) (Esquema 6, pág. 54).

Após o isolamento, as substâncias foram encaminhadas para obtenção dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C que foram analisados para elucidação das suas estruturas químicas.

Esquema 6: Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila do EEB de *Sida linifolia*.



4.6.1 Caracterização estrutural dos constituintes químicos

As substâncias isoladas foram identificadas através de técnicas cromatográficas e espectroscópica como: Ressonância Magnética Nuclear de H^1 e C^{13} uni e bidimensionais (400 ou 500 e 100 ou 125 MHz). Os espectros foram obtidos no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA-UFPB). Os procedimentos fitoquímicos foram realizados no Laboratório de Fitoquímica Prof. Dr. Raimundo Braz Filho - IpeFarM/UFPB.

4.7 Processo cromatográfico realizado por CLAE-IES-EM/EM das fases hidroalcoólicas dos EEB de *Sida acuta* e *Sida linifolia*

As fases hidroalcoólicas de *Sida acuta* e *Sida linifolia* foram analisadas individualmente por CLAE-EM/EM. As análises foram realizadas utilizando um sistema de CLAE da Shimadzu (Prominence) equipado com módulo de bombeamento de solvente binário LC-20AT, autoinjeter SIL-20A, um sistema de degaseificação DGU-20A, detector SPD-M20A arranjo diodo e CBM-20A. Uma alíquota de 0,001 g da amostra foi solubilizada em 1 mL de metanol (grau CLAE), seguida de filtração através de um filtro de membrana PVDF com um tamanho de poro de 0,45 μm . A coluna utilizada foi Phenomenex Gemini® C18 (250 mm x 4,6 mm d.i. preenchido com partículas 5 μm), com pré-coluna SecurityGuard Gemini® C18 (4 mm x 3 mm d.i. preenchido com partículas 5 μm).

A CLAE foi acoplada a um espectrômetro de massas da Bruker de baixa resolução, modelo Ion Trap-AmaZon X usando a técnica de ionização por electrospray (IES-EM), operando com voltagem do capilar 4,5 kV, modo de ionização negativo, offset da placa final 500 V, nebulizador 24,5 psi, gás seco (N_2) com fluxo de 4,5 L/h e temperatura de 200 °C. A metodologia para a análise por CLAE foi desenvolvida para o modo gradiente, utilizando uma mistura binária de água (0,1% ácido fórmico, v/v) e metanol, onde o gradiente mudou de 5% metanol para 100% numa corrida de 60 minutos, com um caudal de 0,6 mL/min e um volume de injeção de 10 μL .

Os espectros (m/z 50-1000) foram registrados a cada 2 s. A fragmentação de CID foi conseguida no modo auto MS/MS utilizando o modo de resolução avançada para o modo MS e MS/MS.

Os procedimentos de CLAE/EM foram realizados no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise - IpeFarM/UFPB.

4.8 Obtenção das Nanoemulsões (NE)

4.8.1 Preparo dos sistemas nanoemulsionados (NE livre de fármaco - NELF)

As NE foram produzidas pelo método de emulsificação por inversão de fases, método de baixa energia, na qual a fase aquosa é gotejada sobre a fase oleosa sob agitação magnética constante. O sistema foi preparado utilizando 5% de triglicérido de cadeia média (TCM) (Miglyol® 812), 5% da mistura de tensoativos Tween 80® e Fosfatidilcolina de soja (FC), numa proporção 80:20 e 10% de glicerina como co-solvente (Tabela 1, pág. 56) (Adaptado de Medeiros et al., 2020; Adaptado de Streck et al., 2019; Adaptado de Islam et al., 2017).

As nanoemulsões foram desenvolvidas a partir da agitação magnética constante a 1500 rpm, após a fase aquosa contendo apenas água purificada (obtida por osmose reversa) ser gotejada na fase oleosa do sistema nanoemulsionado sob fluxo lento de injeção. Após o gotejamento da fase aquosa, o sistema permaneceu a temperatura ambiente e sob agitação por mais 30 minutos, mantendo-se as condições. Após esse processo, obteve-se 3g de sistemas líquidos e levemente azulado, característico de nanoemulsões. As formulações foram realizadas em triplicata.

Tabela 1: Composição da NELF, sem espessante para 3g de formulação.

Componentes	Concentração (%)	Massa (g)
Miglyol® 812	5	0,15
Tween® 80	4	0,12
Fosfatidilcolina	1	0,03
Glicerina	10	0,30
Água purificada	80	2,4 g

Os procedimentos de produção e caracterização das nanoemulsões foram realizados no Laboratório de Tecnologia e Biotecnologia Farmacêutica, Departamento de Farmácia – UFRN.

4.8.2 Incorporação do Tilirosídeo a NE

Após obtenção do sistema nanoemulsionado, o tilirosídeo foi incorporado na fase oleosa na concentração de 0,5 mg/g de NE, seguindo o método de emulsificação por inversão de fases conforme descrito anteriormente.

O tilirosídeo utilizado para produzir a NE neste trabalho e realizar os ensaios antitumorais foi isolado das espécies *Sida linifolia*, *Pavonia malacophylla*, *Herissantia crispa* e *Helicteres eichkeri*, seguindo a metodologia descrita anteriormente.

4.8.3 Adição de espessante na fase externa da NE

Buscando melhorar a estabilidade da NE contendo o tilirosídeo, um polímero, poloxamer 407 (PO407), foi adicionado a fase aquosa (fase externa) da NE como agente espessante. O sistema foi obtido a temperatura ambiente, mantendo-se as condições de agitação, tempo e fluxo lento de gotejamento. As concentrações de óleo e mistura de tensoativos foram mantidas. A glicerina foi adicionada a concentração de 10% e o polímero foi adicionado também na concentração de 10% em relação a massa total da NE.

4.9 Caracterização Físico-Química da NE

4.9.1 Aspectos Macroscópicos

Para a análise macroscópica das formulações NE livre de fármaco (NELF) e com a substância ativa (tilirosídeo) incorporado (NETL) foi observado coloração, homogeneidade dos sistemas e a ocorrência de separação de fases ou presença de precipitados. Os aspectos macroscópicos da NE foram avaliados após um período de 24 horas. As amostras foram armazenadas a temperatura ambiente, em frascos de vidros selados.

4.9.2 Determinação do tamanho de gotícula e Índice de Polidispersão (IPd)

A determinação do tamanho das gotículas e sua distribuição (*Índice de Polidispersão – Pdi*) foi realizada pela técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS) com o auxílio do modelo ZetaSizer NanoZS (Malver, 82 Brookhaven, UK), em uma temperatura de $25 \pm 2^\circ \text{C}$, comprimento de onda de 632 nm e ângulo de detecção de 173° . As amostras de NE foram diluídas em água milli-Q na proporção 1:100 v/v. Os valores de tamanho da NE foram calculados através do software Zetasizer.

4.9.3 Potencial Zeta (PZ) das Nanoemulsões

O PZ das nanoemulsões foi determinado através da análise da mobilidade eletroforética das suas gotículas, utilizando o equipamento ZetaSizer NanoZS (Malver, 82 Brookhaven, UK), a temperatura de $25 \pm 2^\circ \text{C}$. As amostras foram adequadamente diluídas em água purificada na proporção 1:100 (v/v) (ISLAM et al., 2017; STRECK et al., 2019). Os valores foram calculados através do software Zetasizer.

4.9.4 Avaliação do potencial hidrogeniônico (pH) da NELF e NETL

O valor de pH da formulação (NETL) foi determinado pelo método potenciométrico inserindo o eletrodo (Digimed, DM-22) diretamente nas amostras, à temperatura ambiente. A análise foi realizada em triplicata.

4.10 Estudo de estabilidade das nanoemulsões

As amostras obtidas das nanoemulsões foram armazenadas hermeticamente seladas em tubos de vidro a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Posteriormente foram diluídas em água purificada na proporção de 1:100 (v/v) e as leituras realizadas em intervalos de 7, 15, 30 e 60 dias após o desenvolvimento dos sistemas, sendo registrados o tamanho de gotícula e índice de polidispersão. Para obter tais informações utilizou o equipamento ZetaSizer NanoZS (Malver, 82 Brookhaven, UK), a temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

4.11 Curva padrão do Tilirosídeo

Inicialmente, uma solução estoque de tilirosídeo foi preparada numa concentração de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ em metanol e os pontos da curva diluído em água, atingindo assim as concentrações seguintes (1, 2, 4, 8, 12, 16 e 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$). A curva padrão foi realizada utilizando sete pontos de concentração em espectroscopia UV, utilizando Espectrofotômetro de UV/Vis (Varian Cary®), com comprimento de onda de 314 nm. A equação da reta gerada foi utilizada para quantificação do metabólito em estudos posteriores.

4.12 Estudo de doseamento do Tilirosídeo

A fim de confirmar a concentração do tilirosídeo na NE, um estudo de doseamento foi realizado para a formulação. A formulação foi diluída em água milli-Q na proporção 1:100 (v/v). Posteriormente, as amostras foram filtradas em membrana de acetato de celulose com porosidade 0,45 μm . O filtrado foi quantificado por Espectroscopia UV, utilizando o Espectrofotômetro de UV/Vis (Varian Cary®), com comprimento de onda de 314 nm. O cálculo da concentração do tilirosídeo na formulação foi realizado utilizando a equação da reta da curva padrão previamente estabelecida. O sistema livre de fármaco também passou pelo mesmo procedimento a fim de eliminar qualquer interferência dos demais componentes.

Uma solução aquosa do tilirosídeo também foi preparada na mesma concentração (0,5 mg/g água), para fins de comparação da solubilidade do metabólito livre em água e quando incorporado à NE.

4.13 Amostras testes para avaliação da citotoxicidade

As amostras utilizadas neste estudo foram o tilirosídeo, tilirosídeo + nanoemulsão e nanoemulsão livre de fármaco.

Para realização dos ensaios *in vitro*, as amostras foram solubilizadas em dimetilsulfóxido (DMSO) (C₂H₆SO) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA) puro e estéril, posteriormente diluídos no meio de cultura específico em cada caso, não ultrapassando a concentração final de 0,5% de DMSO.

4.14 Linhagens celulares e cultivo para atividade antitumoral

Para os ensaios de atividade antitumoral *in vitro* foram utilizadas três linhagens celulares tumorais (HL-60, MCF-7, SK-MEL-28) (Quadro 5, pág. 59).

Quadro 5: Linhagens de células tumorais utilizadas no estudo.

Linhagens	Tipo histológico	Origem	Meio de cultura
HL-60	Leucemia promielocítica aguda	<i>Homo sapiens</i>	RPMI
MCF-7	Adenocarcinoma de mama	<i>Homo sapiens</i>	RPMI
SK-MEL-28	Melanoma	<i>Homo sapiens</i>	DMEM

As linhagens de células tumorais humanas MCF-7 (adenocarcinoma de mama), HL-60 (leucemia promielocítica aguda) e SK-MEL-28 (melanoma) foram cultivadas nos meios *Roswell Park Memorial Institute 1640* (RPMI-1640) ou *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (DMEM) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA), suplementados com 10% de soro fetal bovino (SBF), e solução de antibióticos (penicilina 100 U/mL e estreptomicina 100 µg/mL) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA).

As células foram manipuladas em fluxo laminar, para garantir que não houvesse contaminações e mantidas em estufa a 37°C com atmosfera umidificada a 5% de CO₂.

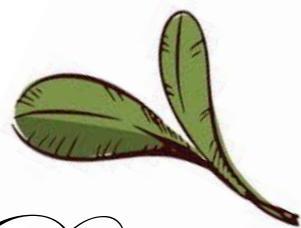
4.15 Avaliação da citotoxicidade do TL, NELF e NETL

A avaliação da atividade antitumoral *in vitro* foi realizada por meio do ensaio de redução do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio), analisando a citotoxicidade do tilirosídeo, tilirosídeo + nanoemulsão e nanoemulsão livre de fármaco.

As células foram semeadas em placas de 96 poços nas concentrações de 3×10^5 células/mL (MCF-7 e SK-MEL-28) e 5×10^5 células/mL (HL-60). Após 24 horas (células aderentes - MCF-7 e SK-MEL-28), estas foram incubadas com o tilirosídeo, a nanoemulsão ou tilirosídeo + nanoemulsão (12,5; 25; 50 e 100 $\mu\text{g/mL}$) dissolvidos em DMSO (0,5%). Para a linhagem não aderente HL-60, este tratamento foi realizado após o plaqueamento das células. Utilizou-se um controle positivo no qual as células foram tratadas com DMSO a 20%. Após 72 horas de incubação, as placas foram centrifugadas, o sobrenadante foi descartado e a solução de MTT (10 μL) (5 mg/mL) foi adicionada na placa. Em seguida, as placas foram incubadas por mais quatro horas. O formazan depositado, produto da ação das células sobre o MTT, foi dissolvido com dodecil sulfato de sódio (SDS) (100 μL) (MOSMANN, 1983). As densidades ópticas foram determinadas usando um leitor de microplacas (Synergy HT, BioTek[®]), comprimento de onda de 570 nm.

Foram realizados três experimentos independentes em triplicata.

Os dados foram analisados com o software GraphPad Prism 8.0 e apresentados como a média \pm EPM.



5. Resultados e Discussão

5.1 Substâncias identificadas da fase hidroalcoólica por *CLAE-MS/MS* de *Sida acuta*

A fase hidroalcoólica de *Sida acuta* foi analisada por CLAE-EM/EM e o seu cromatograma (Figuras 8 e 9, pág. 62) possibilitou identificar dezenove compostos (**1-19**) a partir da interpretação dos padrões de fragmentação presentes nos espectros de massas e comparações com os dados da literatura. Os tempos de retenção e os dados do espectro de massas, juntamente com as atribuições dos picos para cada composto foram identificados utilizando ionização negativa, e estão descritos na Tabela 2 e Figura 10, págs. 66 e 67. As fragmentações dos compostos identificados estão expostas nas figuras 11 a 44.

Figura 8: Cromatograma da fase hidroalcoólica de *Sida acuta*.

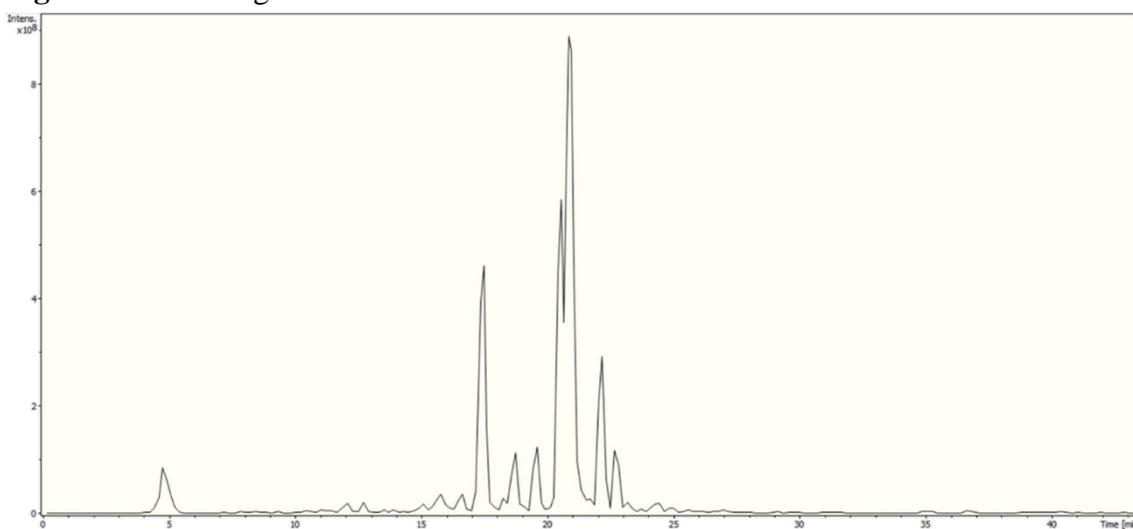
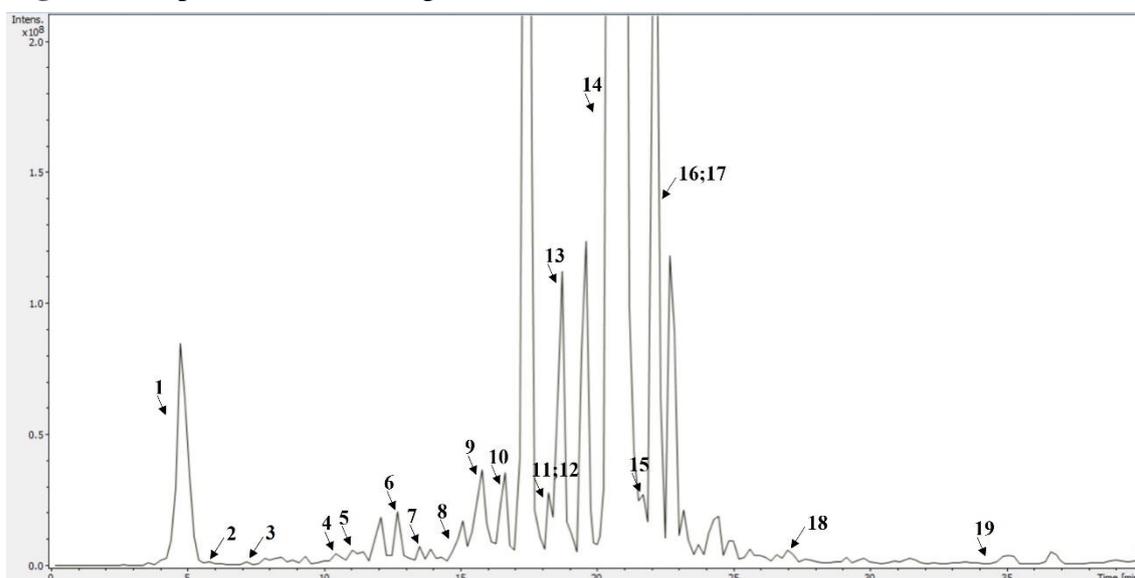


Figura 9: Expansão do cromatograma da fase hidroalcoólica de *Sida acuta*.



A detecção de ácidos fenólicos e flavonoides foi facilitada pelo modo em que as análises foram realizadas (modo negativo) (ABREU et al., 2019), resultando em íons de fragmentação característicos. A proposta da existência na amostra de flavonoides glicosilados foi fundamentada pela perda de unidades osídicas (hexose, 162 Da; hexose + 6-desoxihexose-rutinosídeo, 308 Da).

Além desses fragmentos, também foi possível observar sinais típicos de aglicona de flavonoides em m/z 301 $[M-H]^-$ (Nº **13**); m/z 315 $[M-H]^-$ (Nº **15**); m/z 285 $[M-H]^-$ (Nº **14**, **16**, **18**), correspondendo respectivamente a quercetina, isorhamnetina e canferol (BRITO et al., 2014), e esses fragmentos de íons derivam da clivagem homolítica e heterolítica que ocorre entre as ligações que unem a unidade osídica a sua aglicona (CUYCKENS & CLAEYS, 2004) (Tabela 2, pág. 67).

Foi possível identificar a presença de derivados do ácido hidroxicinâmico. O íon precursor m/z 341 $[M-H]^-$ (Nº **1**), apresentou o fragmento principal m/z 179, resultado de uma perda de hexose (162 Da), condizente com a massa de ácido caféico. Os íons filhos em m/z 161 e 143 vieram de sucessivas perdas de H_2O do íon m/z 179. O composto **1** (Tr 4,6 min) possui uma unidade osídica e corresponde ao hexosídeo I do ácido caféico. Um isômero desse composto pode ser detectado aos 14,6 min, sendo codificado como (composto **8**) e identificado como Ácido caféico hexosídeo II. Os compostos **2** e **3** também foram identificados como derivados do ácido caféico, com $[M-H]^-$ em m/z 377 e 297 respectivamente (Tabela 2, pág. 62) e resultam nos fragmentos os íons m/z 341, 215, 179, e 179 161 135, respectivamente (KOOLEN et al., 2013; MIZIGIER et al., 2016; SAID et al., 2017) (Tabela 2, pág. 67).

O composto **4** (Tr 10,3 min) com íon molecular m/z 315 ($[M-H]^-$) apresentou uma perda neutra de 162 Da, resultando no fragmento m/z 153, que condiz com a fórmula molecular $C_7H_6O_4$ do ácido protocatecuico e permite propor tratar-se do ácido protocatecuico hexosídeo I. Assim, baseado na literatura, foi sugerido que o composto **4** corresponde ao ácido protocatecuico hexosídeo I (ABU-REIDH et al., 2015). No Tr de 12,8 min foi identificado um isômero do composto **4** que recebeu o código de composto **6** (Tabela 2, pág. 67).

O composto **5** (Tr 11 min) mostrou um íon pai m/z 331 $[M-H]^-$, que por comparações com dados da literatura, permitiu sugerir que trata-se do galolil hexosídeo. A presença do íon m/z 169 ($C_7H_5O_5$) como pico base confirma a saída de 162 u.m.a

correspondente a unidade hexose e a permanência do fragmento referente ao íon do ácido gálico (Tabela 2, pág. 67) (ABU-REIDH et al 2015; ABREU et al., 2019).

Os compostos (**7**, **9**, **11**) possuem uma semelhança estrutural, apresentando em comum o ácido quínico, identificado como composto **9** (Tr 15,9 min) em sua estrutura (m/z 191 [M-H]⁻). O composto **7** (Tr 13,6 min) apresentou o íon quasemolecular m/z 353 [M-H]⁻ e houve perda neutra da fração de ácido caféico (162 Da), assim, o composto **7** foi provisoriamente identificado como ácido 3-cafeoilquínico (Mateos et al., 2018). O Composto **11** (Tr 18,1 min) com massa m/z 337 [M-H]⁻ mostra um pico de base m/z 191 devido à perda de ácido cumárico (146 Da) e em seguida ocorre uma descarboxilação do ácido quínico resultando no íon secundário m/z 163, assim sugerindo que se trata do ácido 3-*p*-cumaroilquínico (PLAZONIC et al., 2009) (Tabela 2, pág. 67).

O composto **10** com Tr 16,9 min e m/z 355 [M-H]⁻ apresenta em sua fragmentação uma diferença de 162 Da em relação ao composto (**17**) (m/z 193 [M-H]⁻), indicando a presença de uma unidade osídica em sua estrutura. Enquanto no composto 10 ocorre uma desidratação (-18 Da H₂O) e origina o íon filho m/z 175, no composto 17 foi evidenciada uma perda neutra de 15 Da, que resulta no íon m/z 178, bem como duas descarboxilações (-44 Da, CO₂), resultando nos fragmentos m/z 149 e 134. Assim, após comparações com dados da literatura os compostos **10** e **17** foram identificados como hexosídeo de ácido ferúlico e ácido ferúlico, respectivamente (MIZGIER et al., 2016) (Tabela 2, pág. 67).

O composto **12** (Tr 18,2 min) apresenta como pico base m/z 479 [M-H]⁻, há uma perda de 162 Da da hexose resultando em m/z 317, que sofre perda adicional de H₂O e resulta em um íon produto m/z 299, também é possível observar os íons característicos m/z 389 e 179. Assim, propusemos o composto **12** como miricetina-3-*O*-glicosídeo (SRISEADKA, WONGPORNCHAI & RAYANAKORN, 2012) (Tabela 2, pág. 67).

O composto **13** (Tr 19,6 min) foi proposto como rutina com base no íon molecular m/z 609 [M-H]⁻ e como pico base MS² o fragmento m/z 301, que surge da perda da porção do açúcar rutinosídeo e é compatível com a quercetina (MATEOS et al., 2018; SOUZA et al., 2020) (Tabela 2, pág. 67).

O composto **15** (m/z 623 [M-H]⁻) apresenta perda semelhante ao composto 17, com a saída de 308 Da que está associada ao açúcar rutinosídeo e origina o fragmento m/z 315, também é possível observar o íon filho m/z 447, resultante da perda de ramnose (146 Da) juntamente com 30 Da do formaldeído do seu pico base m/z 623. Assim, sugere que o composto **15** (Tr 21,6 min) é isoharmnetina-3-*O*-rutinosídeo, um flavonoide metoxilado

(SRISEADKA, WONGPORNCHAI & RAYANAKORN, 2012; SOUZA et al., 2020) (Tabela 2, pág. 67).

Os compostos **14**, **16**, **18** e **19** demonstraram a presença do esqueleto de canferol como aglicona em comum (m/z 285 [M-H]⁻). O composto **14** (Tr 20,8 min) revelou uma perda neutra de 308 Da causando o fragmento m/z 285, compatível com a saída de uma porção de rutinosídeo. A partir do íon m/z 285 acontece uma descarboxilação e origina o íon filho m/z 257, o que permitiu sua identificação como canferol-3-*O*-rutinosídeo (MEDINA et al., 2009) (Tabela 2, pág. 59 e 67).

O que difere os compostos **16** e **18** é a ausência do grupo cumaroil. O composto **16** m/z 447 [M-H]⁻ e Tr 22,4 min, apresenta pico base m/z 285 proveniente da perda de unidade osídica (162 Da) do íon molecular m/z 447 e um íon filho em m/z 255 resultante da diferença de 30 Da do m/z 285 e está relacionada ao HCOH (formaldeído), atribuído como perda do carbonil em C-3, assim foi sugerido que o composto **16** se trata do canferol-3-*O*-glicosídeo, conhecido como astragalina (YE et al., 2005; XIAO et al., 2017). O composto **18** (Tr 27 min) exibiu íon pai (m/z 593 [M-H]⁻) com fragmentos em m/z 447 (-146 Da), 307 e 285. A perda neutra de 146 Da é característica do ácido cumárico, confirmando o que foi observado com o íon filho (cumaroil hexose) em m/z 307 e o pico em m/z 285 é detectado pela perda do grupo cumaroil (146 Da) juntamente com a perda da hexose (162 Da), e assim o composto **18** foi caracterizado como canferol-3-*O*-cumaroilglicosídeo (FELIPE et al., 2014; MATEOS et al., 2018), conhecido como tilirosídeo (Tabela 2, pág. 67).

O canferol, composto **19** apresenta Tr 34,2 min e m/z 285 [M-H]⁻, sua forma aglicona é confirmado devido aos fragmentos em m/z 257 e 229, onde há saída de 28 Da sequencialmente e são atribuídas as duas descarboxilações, de acordo com o padrão de de fragmentação do canferol (YE et al., 2005; FELIPE et al., 2014; XIAO et al., 2017) (Tabela 2, pág. 67).

Figura 10: Substâncias identificadas na fase hidroalcoólica de *Sida acuta*.

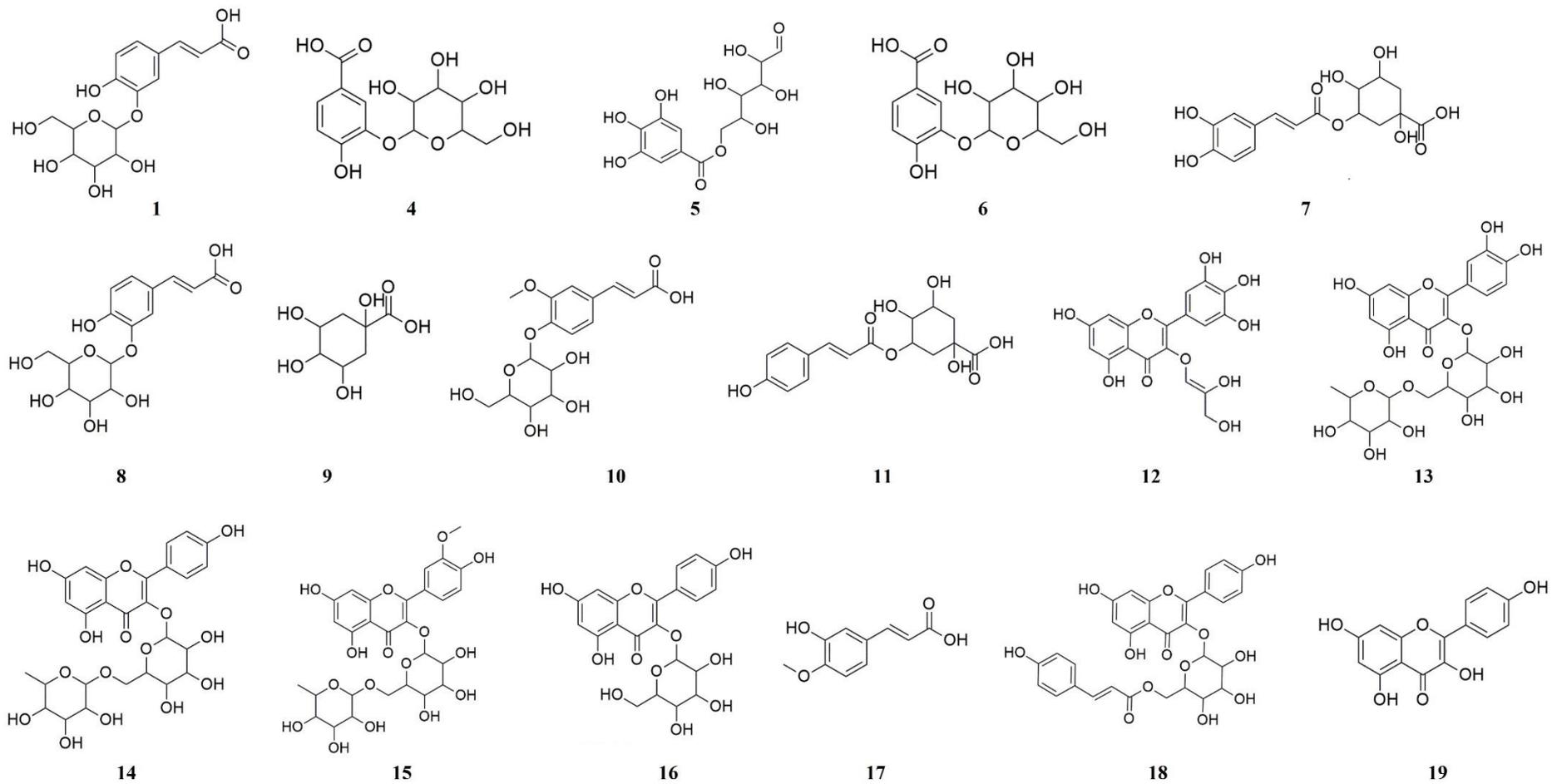


Tabela 2: Íons m/z [M-H]⁻, Fragmentos MSⁿ dos compostos obtidos por CLAE-EM/EM da Fase hidroalcoólico de *Sida acuta*. (Continua)

Compostos	T _r (min)	[M - H] ⁻	Íons fragmentos m/z	Tentativa de Identificação	Referências
1	4,6	341	179 161 143 135	Ácido caféico hexosídeo I	Koolen et al., 2013; Mizgier et al 2016; Said et al., 2017
2	6,3	377	341 215 179	Derivado do ácido caféico	Bystrom et al., 2008
3	7,3	297	179 161 135	Derivado do ácido caféico	Barros 2013
4	10,3	315	153	Ácido protocatecuico hexosídeo I	Abu-Reidh et al., 2015
5	11	331	211 169 125	Galoil hexose	Abu-Reidh et al., 2015; Abreu et al., 2019
6	12,8	315	153	Ácido protocatecuico hexosídeo II	Abu-Reidh 2015
7	13,6	353	191 179	Ácido 3-cafeolquínico	Mateos et al., 2018
8	14,6	341	179 135	Ácido caféico hexosídeo II	Koolen et al., 2013; Mizgier et al 2016; Said et al., 2017
9	15,9	191	173 127 109	Ácido quínico	Abu-Reidh et al., 2015
10	16,9	355	193 175	Ácido ferúlico hexosídeo	Mizgier et al., 2016
11	18,1	337	191 163	Ácido 3- <i>p</i> -coumaroilquínico	Plazonic et al., 2009
12	18,2	479	433 389 317 299 179	Miricetina-3- <i>O</i> -glicosídeo	Kachlicki et al., 2008; Chua et al., 2011; Sriseadika, Wongpornchai & Rayanakorn, 2012; Barros et al., 2013
13	19,6	609	301	Rutina	Barros et al., 2013; Mateos et al., 2018
14	20,8	593	285 257	Canferol-3- <i>O</i> -rutinosídeo	Medina et al., 2009
15	21,6	623	447 315	Narcissina (Isorhamnetina-3- <i>O</i> -rutinosídeo)	Barros et al., 2013

Tabela 2 (cont.): Íons m/z [M-H]⁻, Fragmentos MSⁿ dos compostos obtidos por CLAE-EM/EM da Fase hidroalcoólico de *Sida acuta*.

16	22,4	447	285 255	Astragalina (Canferol-3- <i>O</i> -glicosídeo)	Ye et al., 2005; Xiao et al., 2017
17	22,5	193	178 149 134	Ácido ferúlico	Mizgier et al., 2016
18	27	593	447 307 285	Tiliosídeo (Canferol-3- <i>O</i> -coumaroilglicosídeo)	Felipe et al., 2014; Mateos et al., 2018
19	34,2	285	267 257 243 239 213 201 151	Canferol	Felipe et al., 2014; Xiao et al 2017

Figura 11: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 341, referente à ionização do composto **1**.

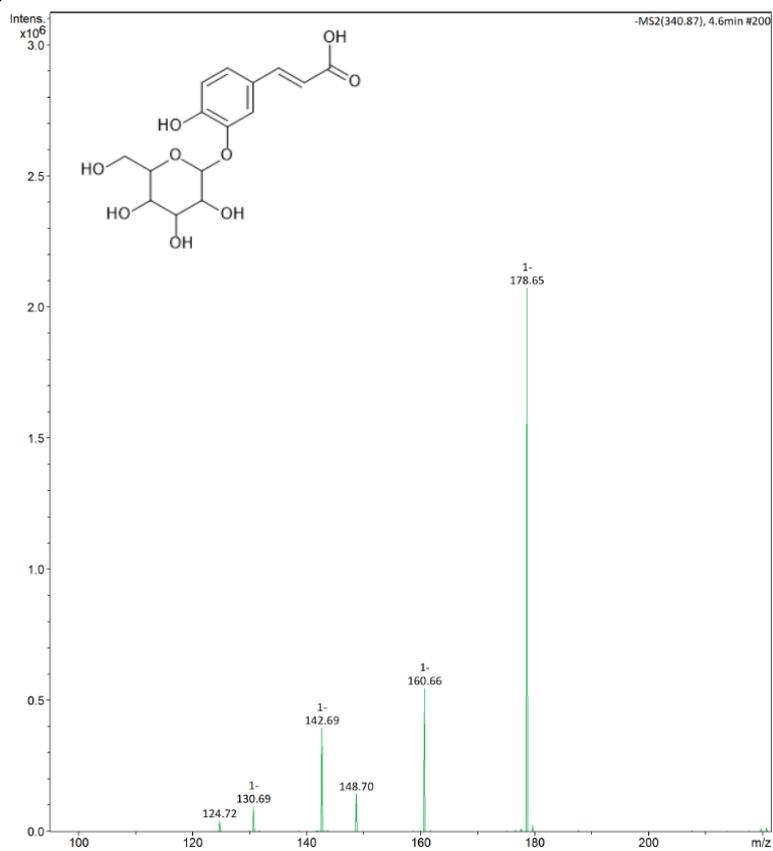


Figura 12: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 377, referente à ionização do composto **2**.

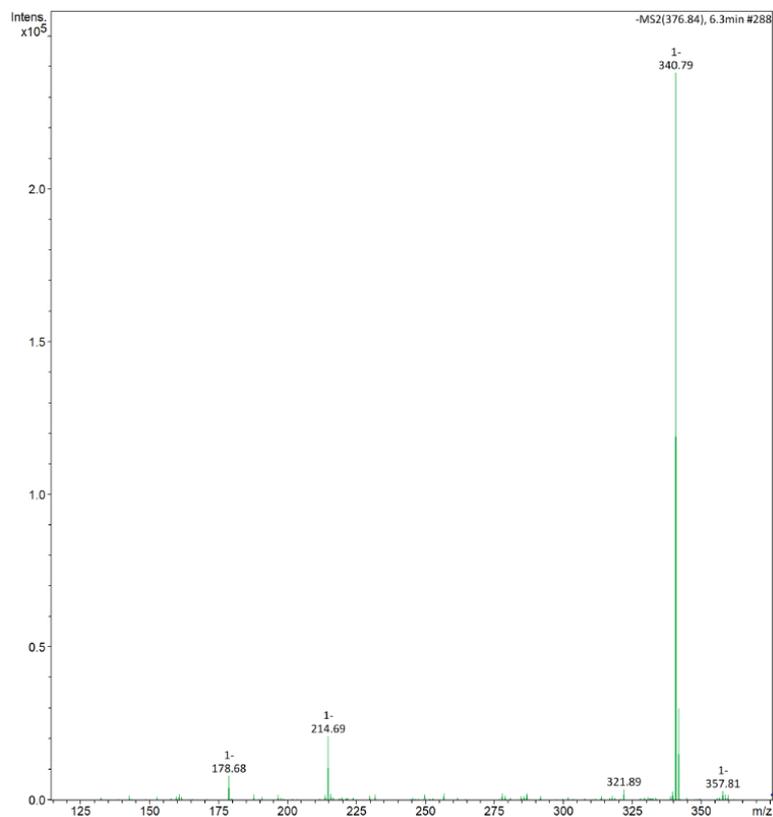


Figura 13: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 297, referente à ionização do composto **3**.

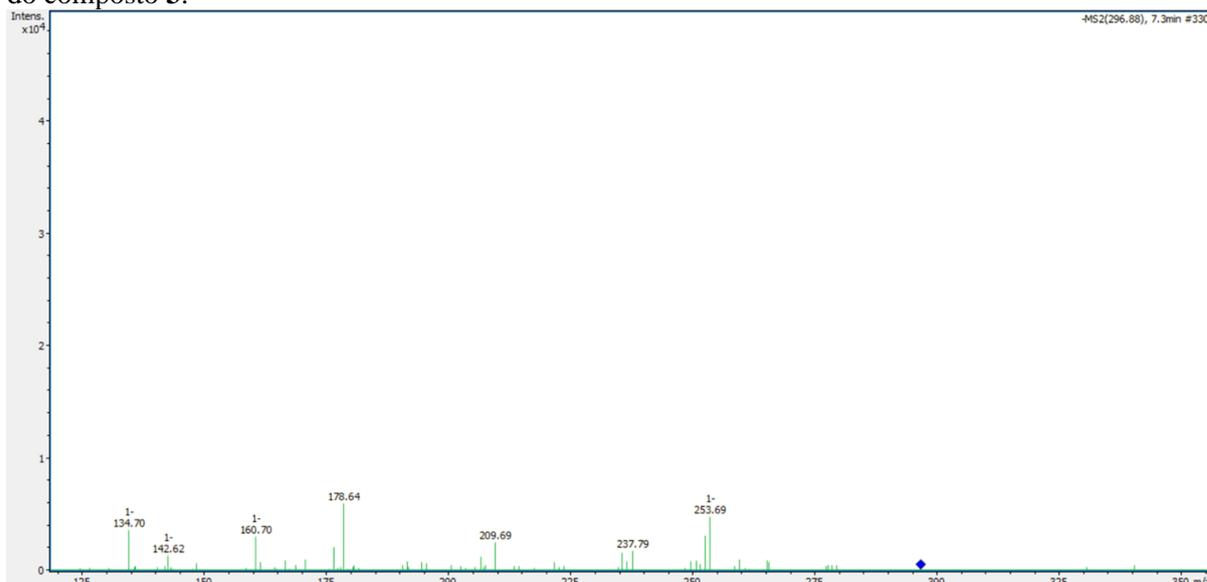


Figura 14: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 315, referente à ionização do composto **4**.

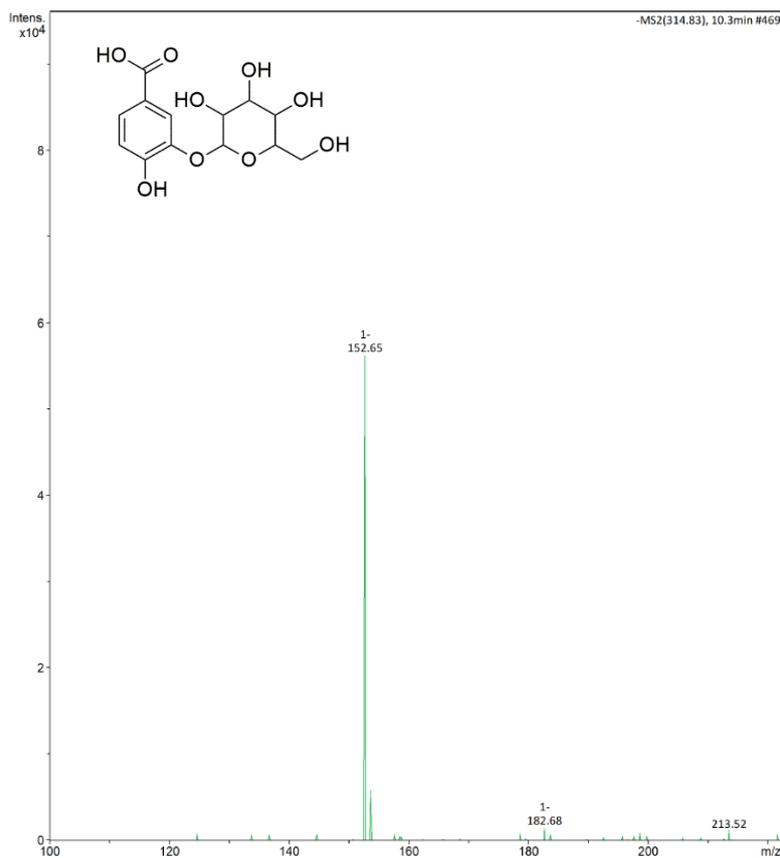


Figura 15: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 331, referente à ionização do composto 5.

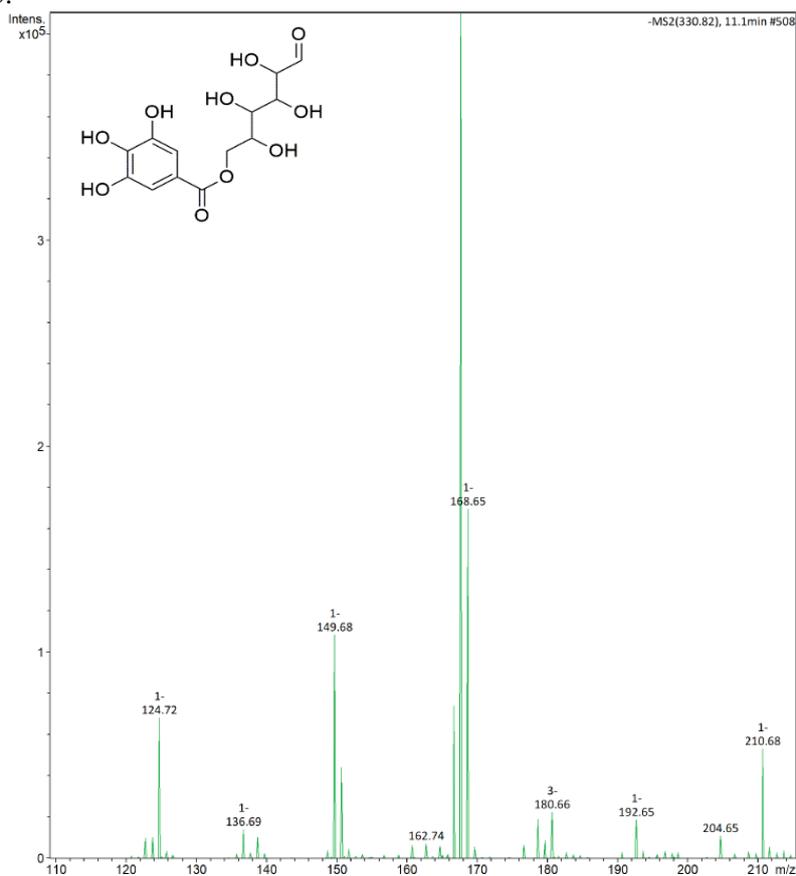


Figura 16: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 315, referente à ionização do composto 6.



Figura 17: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 353, referente à ionização do composto **7**.

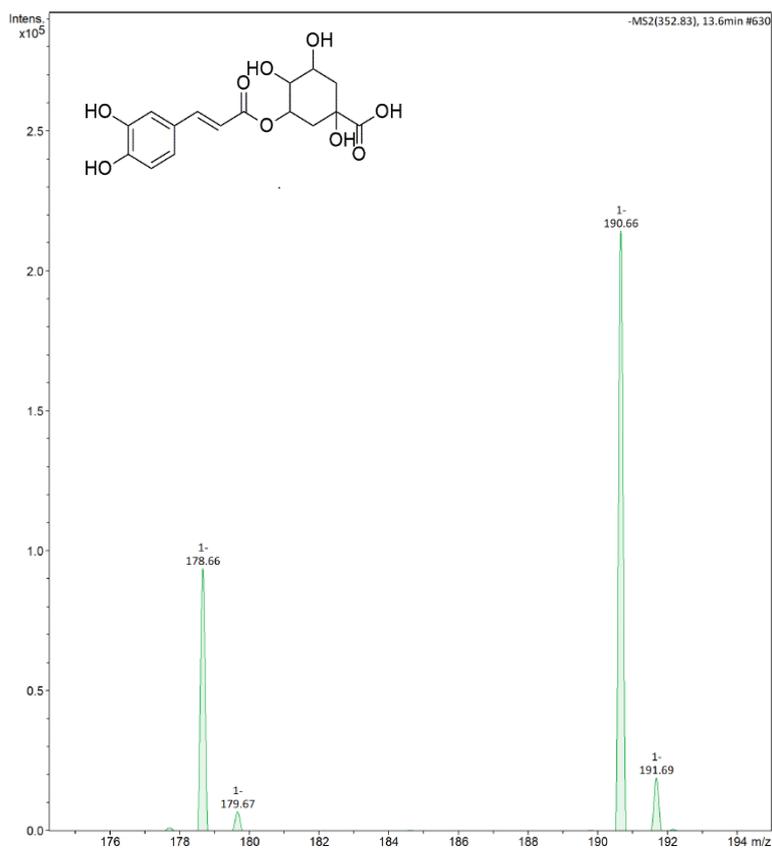


Figura 18: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 341, referente à ionização do composto **8**.

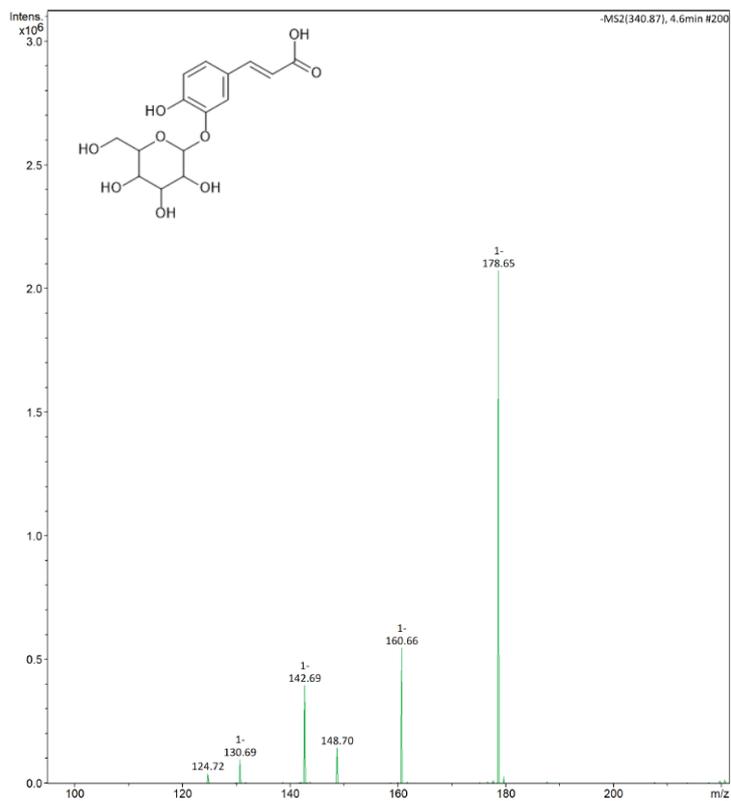


Figura 19: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 191, referente à ionização do composto **9**.

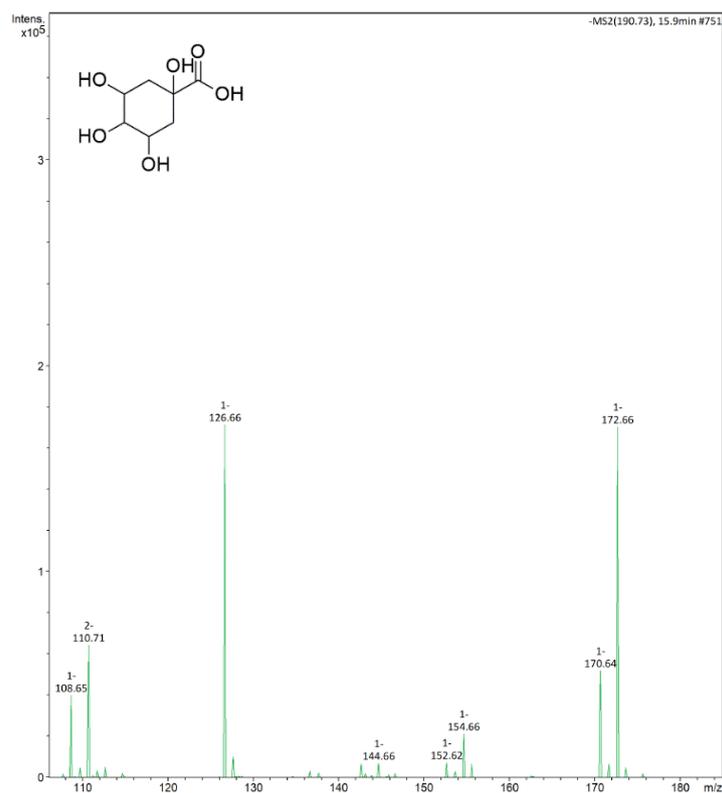


Figura 20: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 355, referente à ionização do composto **10**.

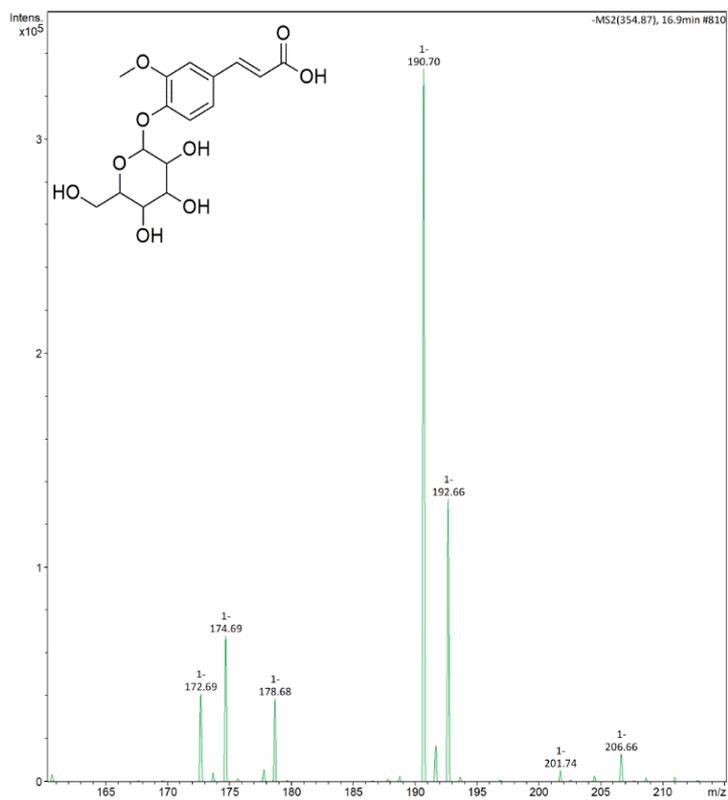


Figura 21: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 337, referente à ionização do composto **11**.

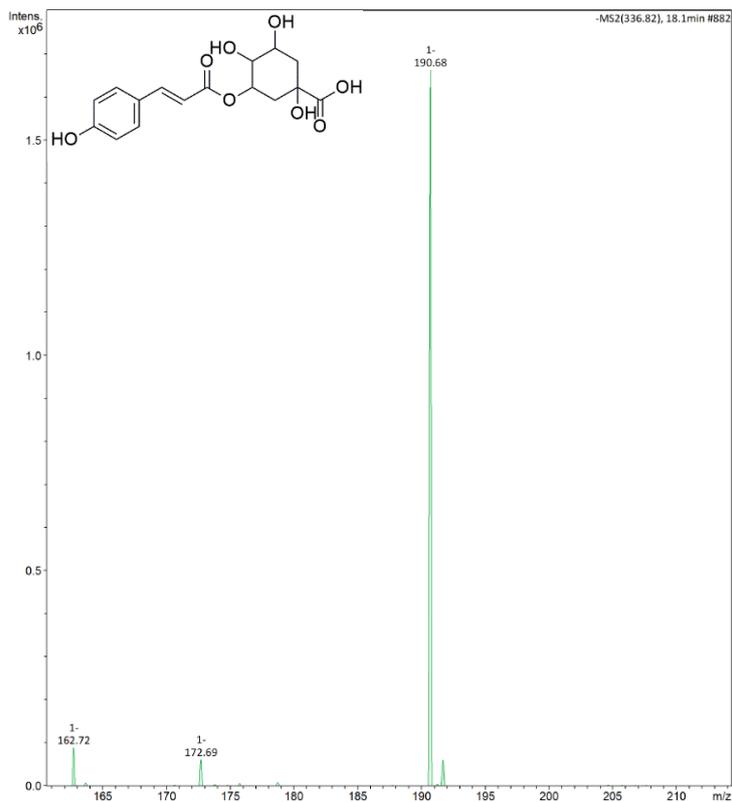


Figura 22: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 479, referente à ionização do composto **12**.

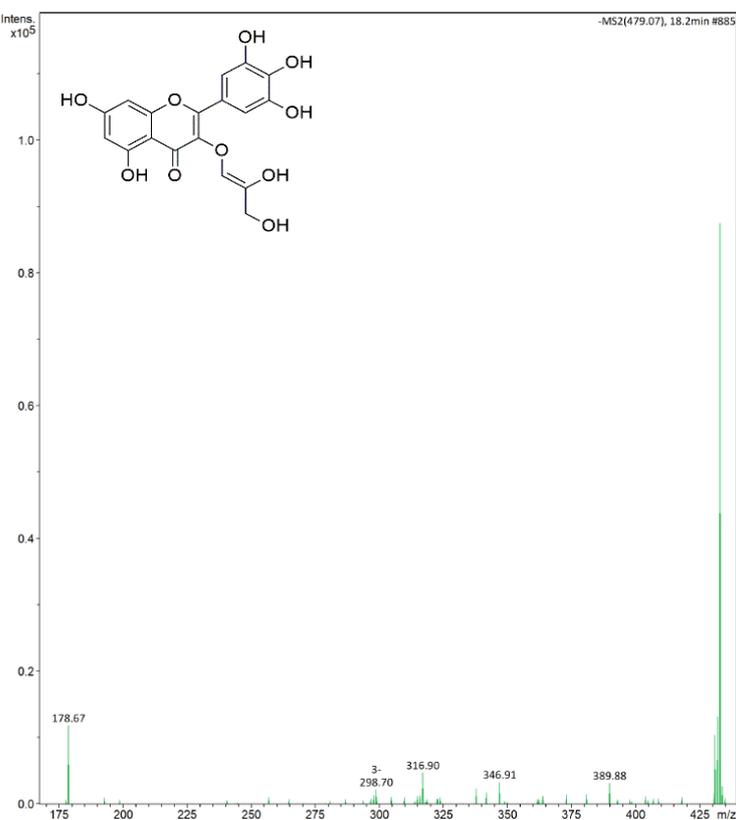


Figura 23: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 609, referente à ionização do composto **13**.

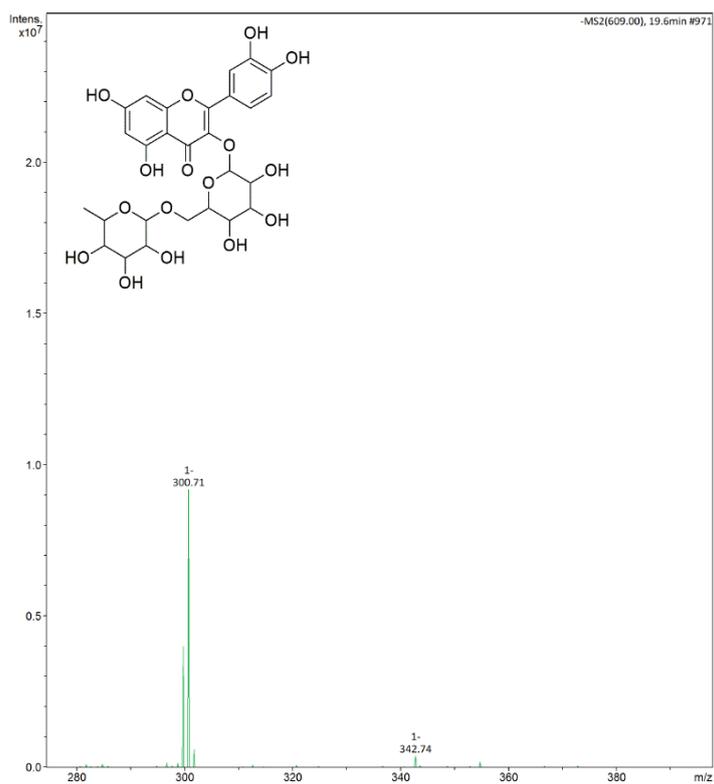


Figura 24: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 593, referente à ionização do composto **14**.

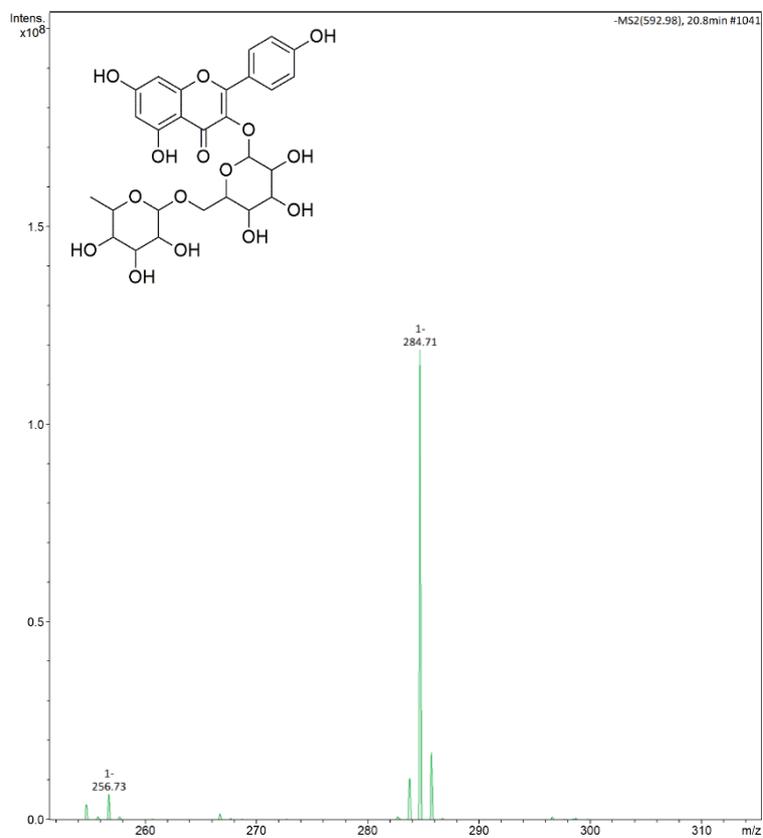


Figura 25: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 623, referente à ionização do composto **15**.

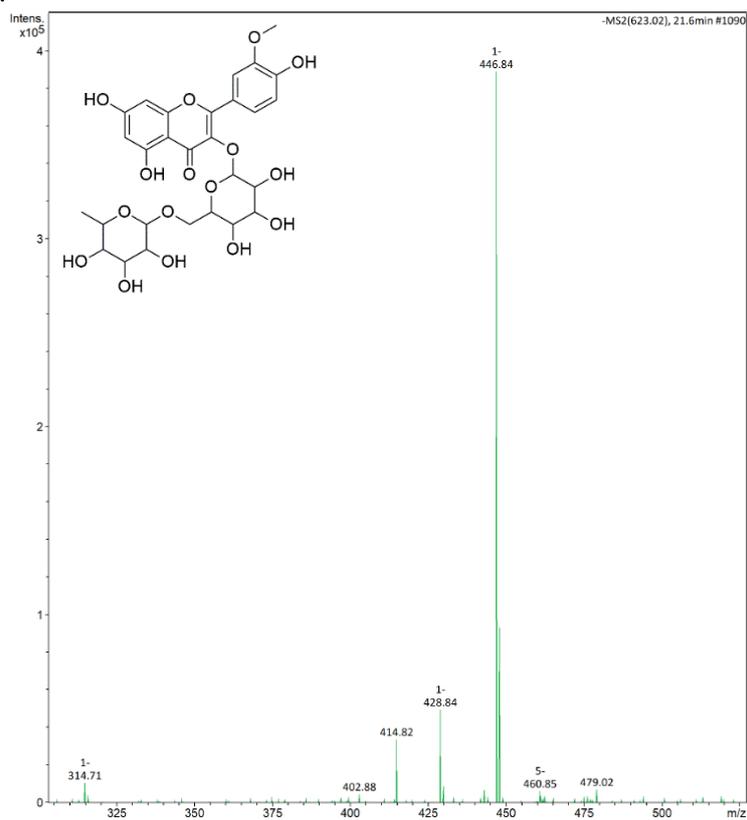


Figura 26: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 447, referente à ionização do composto **16**.

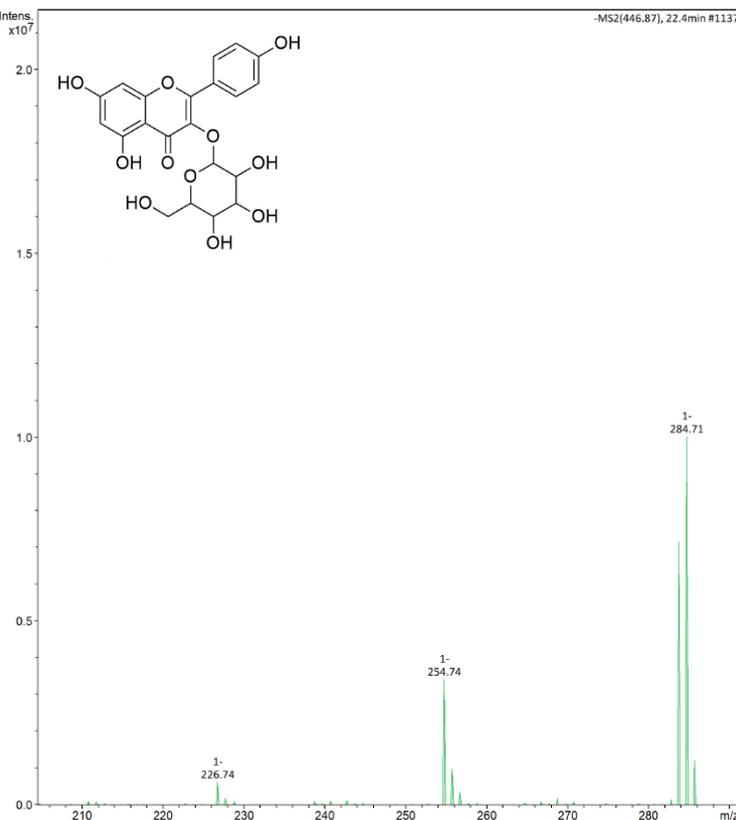


Figura 27: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 193, referente à ionização do composto **17**.

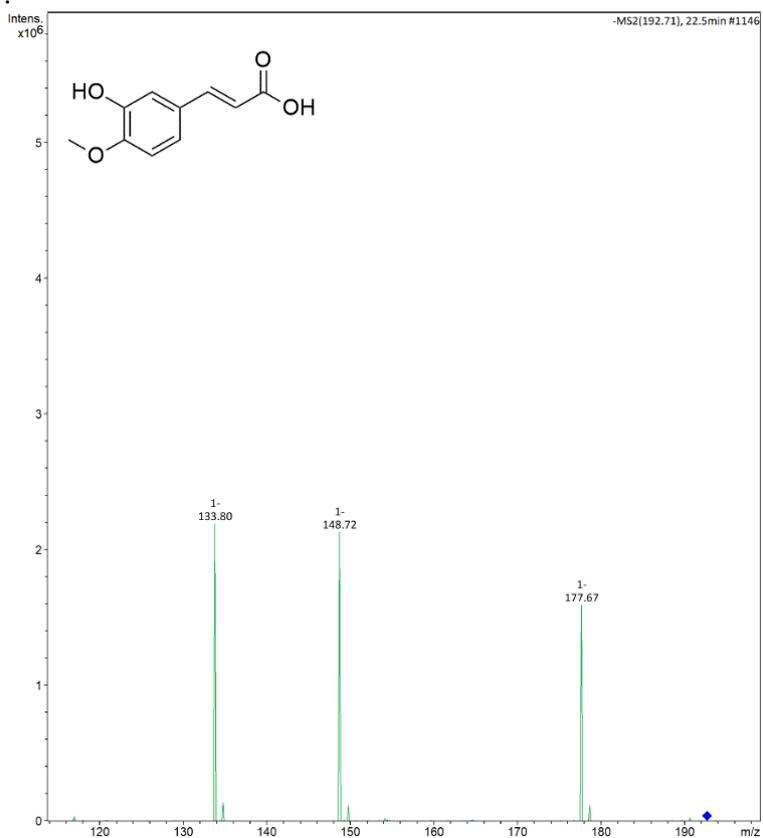


Figura 28: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 593, referente à ionização do composto **18**.

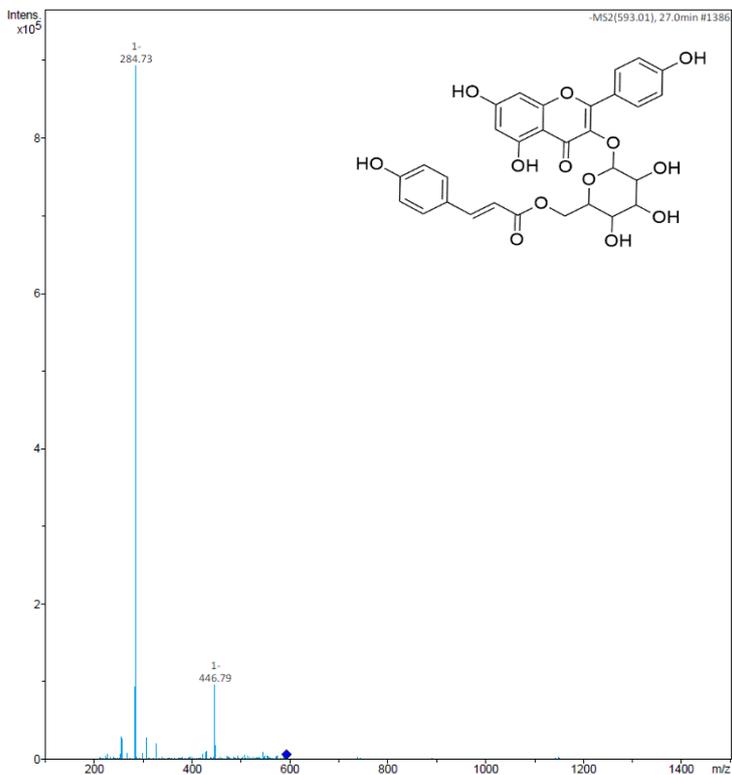


Figura 29: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 285, referente à ionização do composto **19**.

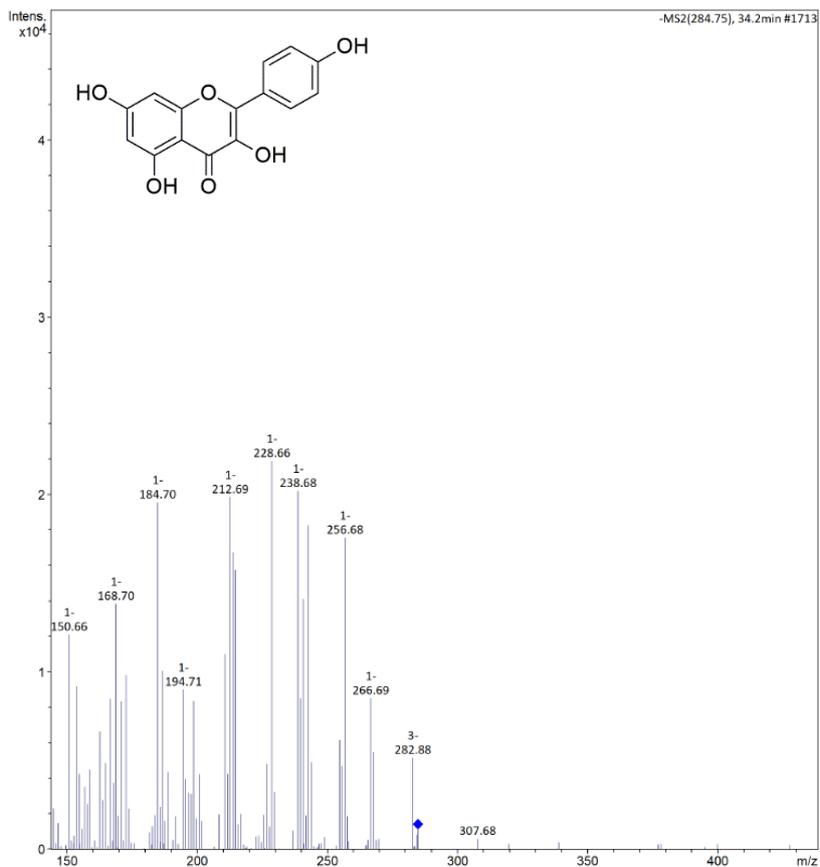
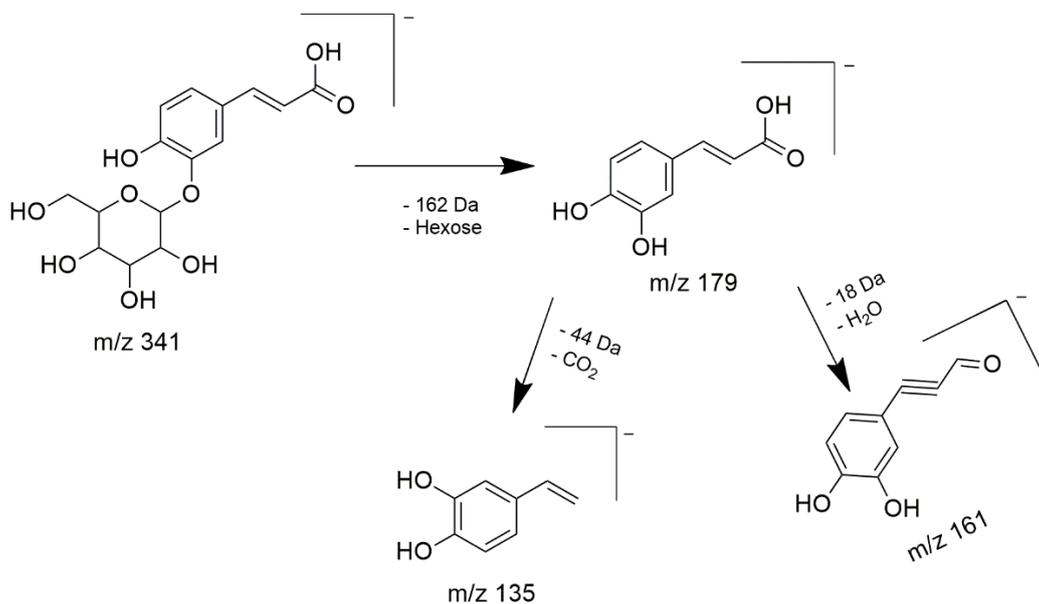
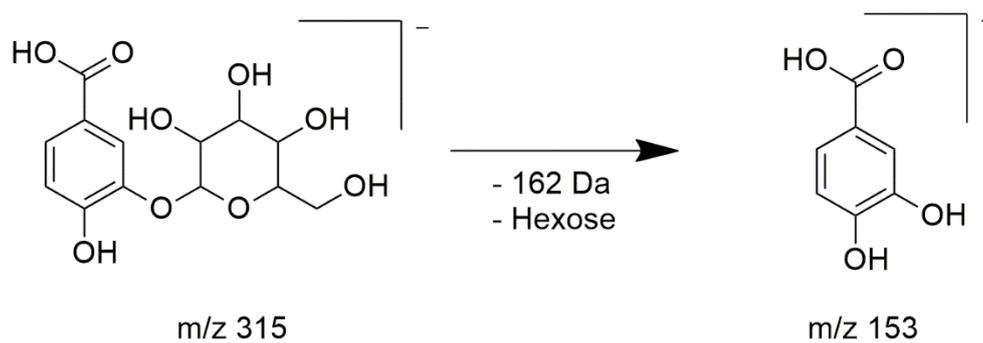


Figura 30: Vias de fragmentação dos compostos **1** e **8**, em IES-EM/EM modo negativo.



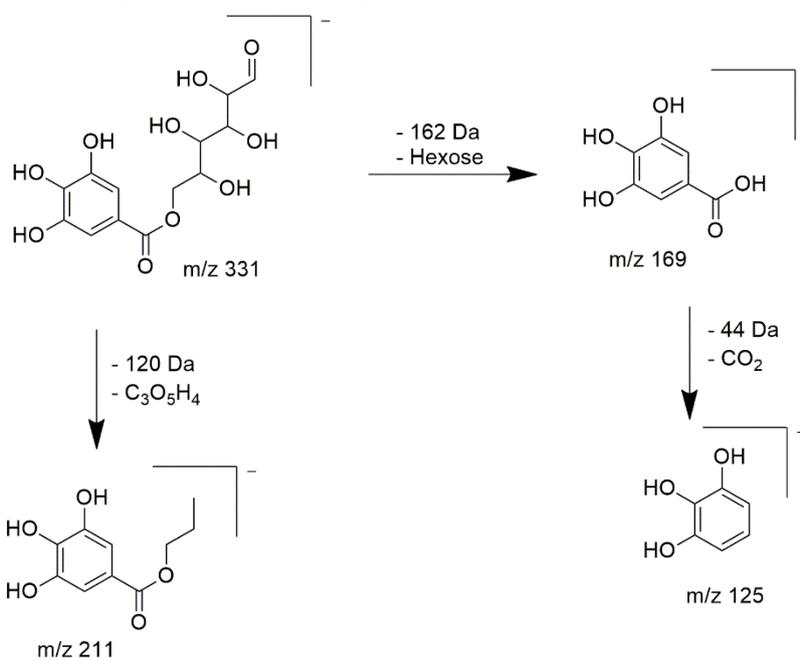
Fonte: Adaptado de Koolen et al., 2013; Said et al., 2017.

Figura 31: Vias de fragmentação dos compostos **4** e **6**, em IES-EM/EM modo negativo.



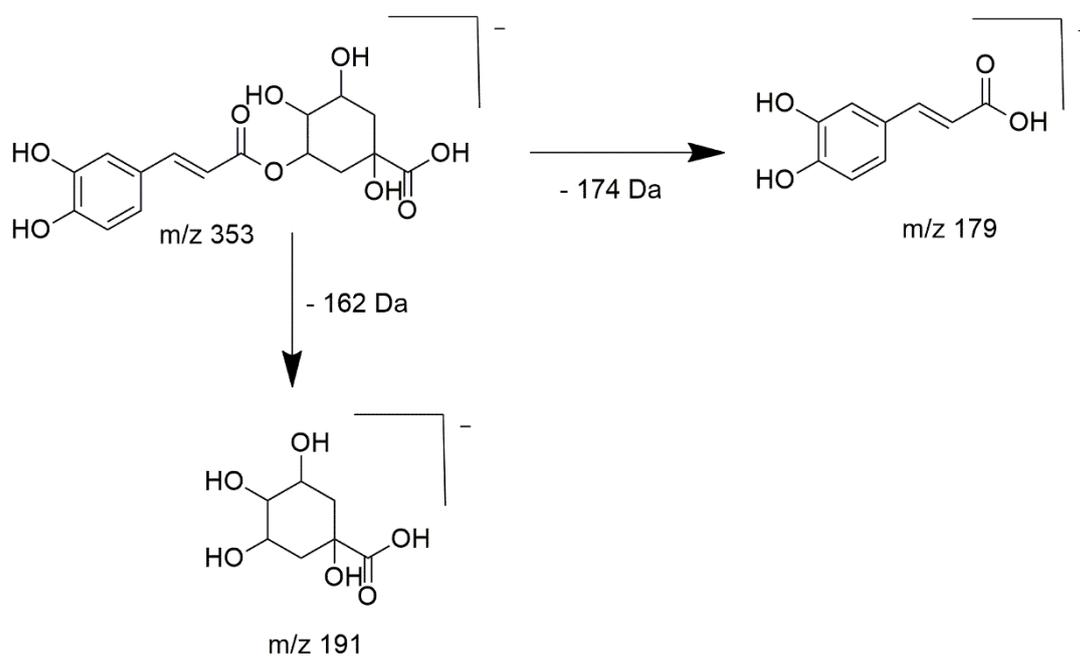
Fonte: Adaptado de Abu-Reidh et al., 2015.

Figura 32: Via de fragmentação do composto **5**, em IES-EM/EM modo negativo.



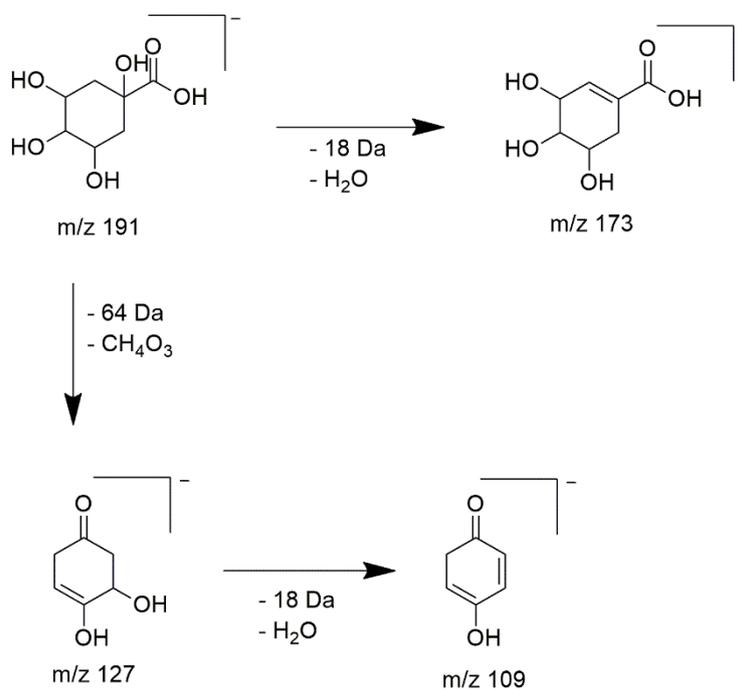
Fonte: Adaptado de Abreu et al., 2019.

Figura 33: Via de fragmentação do composto **7**, em IES-EM/EM modo negativo.



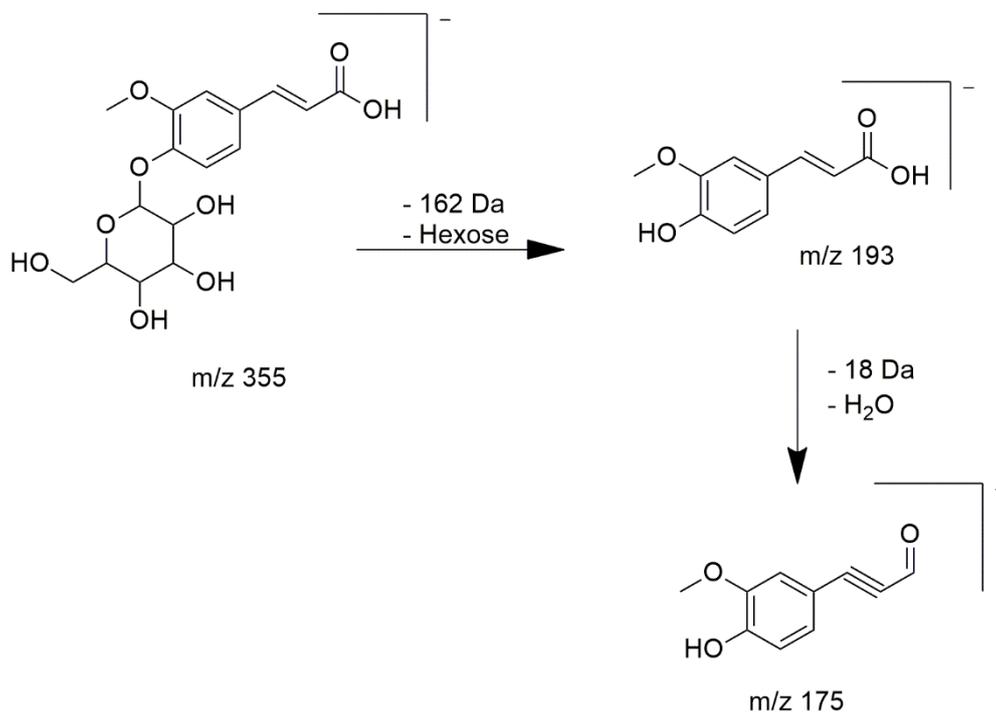
Fonte: Adaptado de Mateos et al., 2018.

Figura 34: Via de fragmentação do composto **9**, em IES-EM/EM modo negativo.



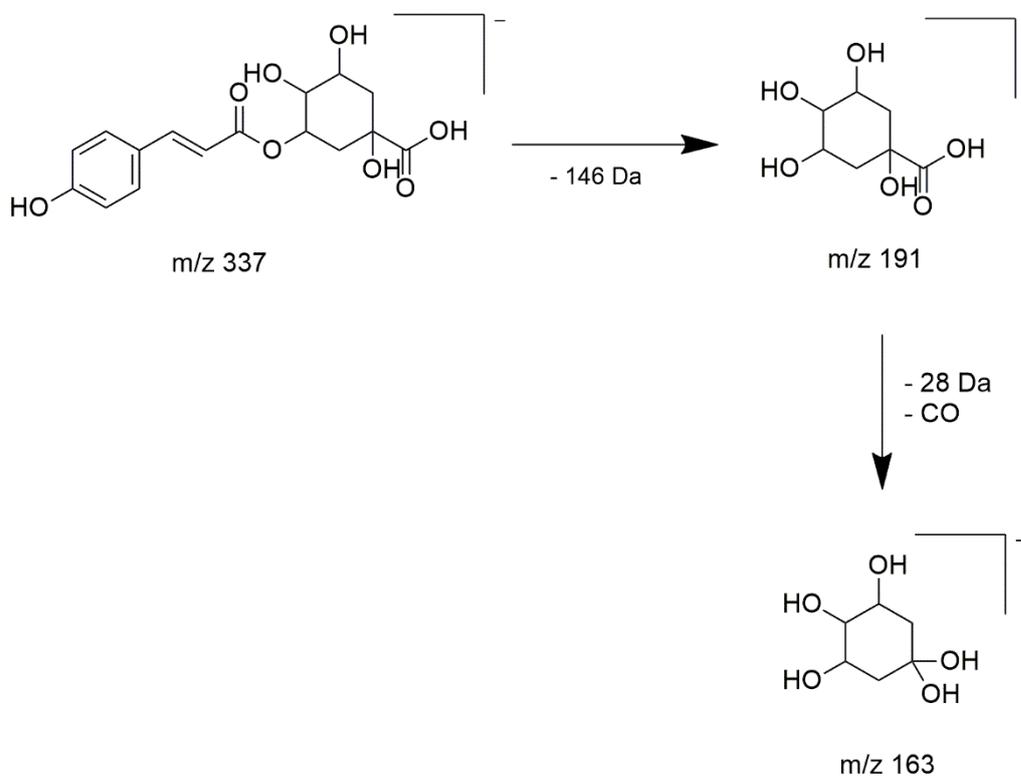
Fonte: Adaptado de Abu-Reidh et al., 2015.

Figura 35: Via de fragmentação do composto **10**, em IES-EM/EM modo negativo.



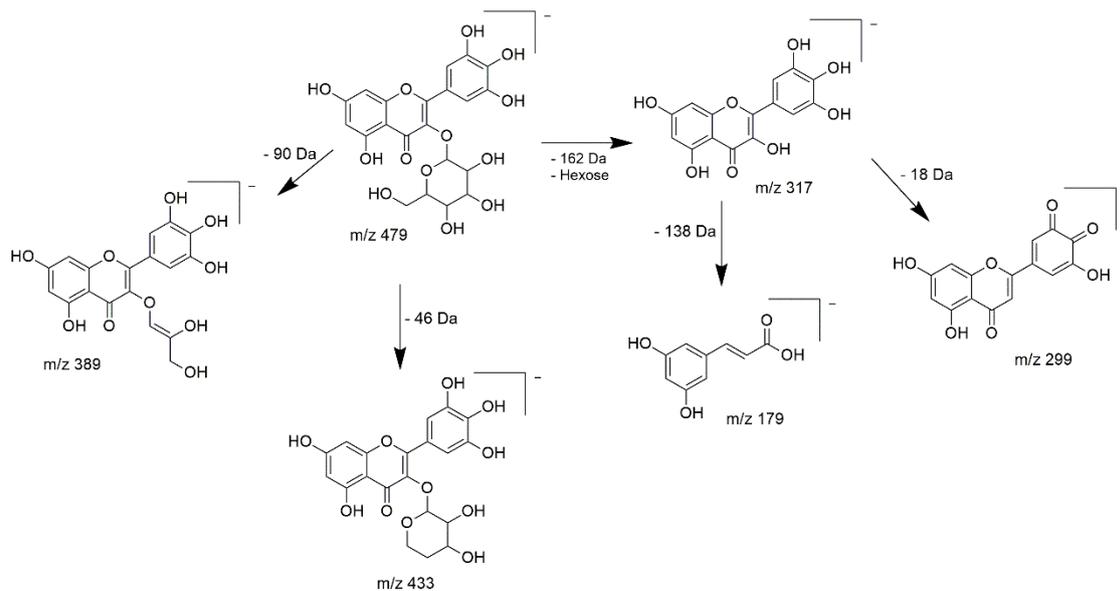
Fonte: Adaptado de Mizgier et al., 2016.

Figura 36: Via de fragmentação do composto **11**, em IES-EM/EM modo negativo.



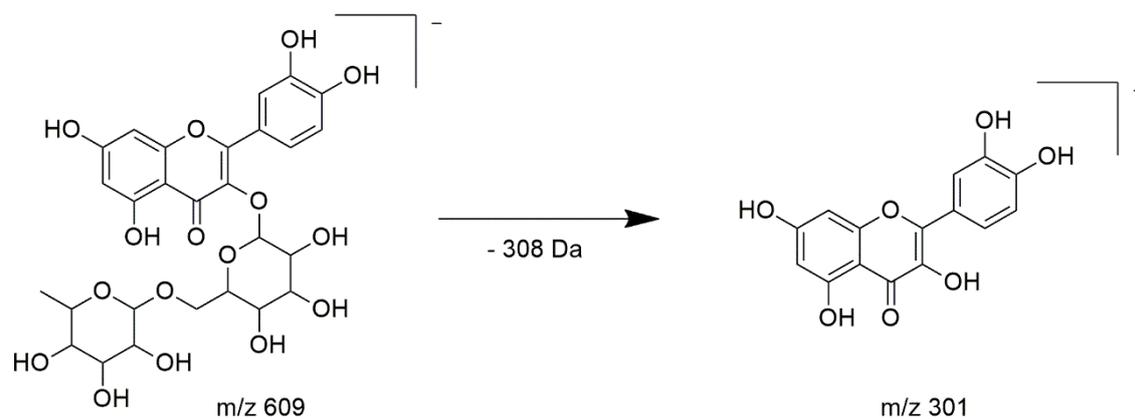
Fonte: Adaptado de Plazonic et al., 2009.

Figura 37: Via de fragmentação do composto **12**, em IES-EM/EM modo negativo.



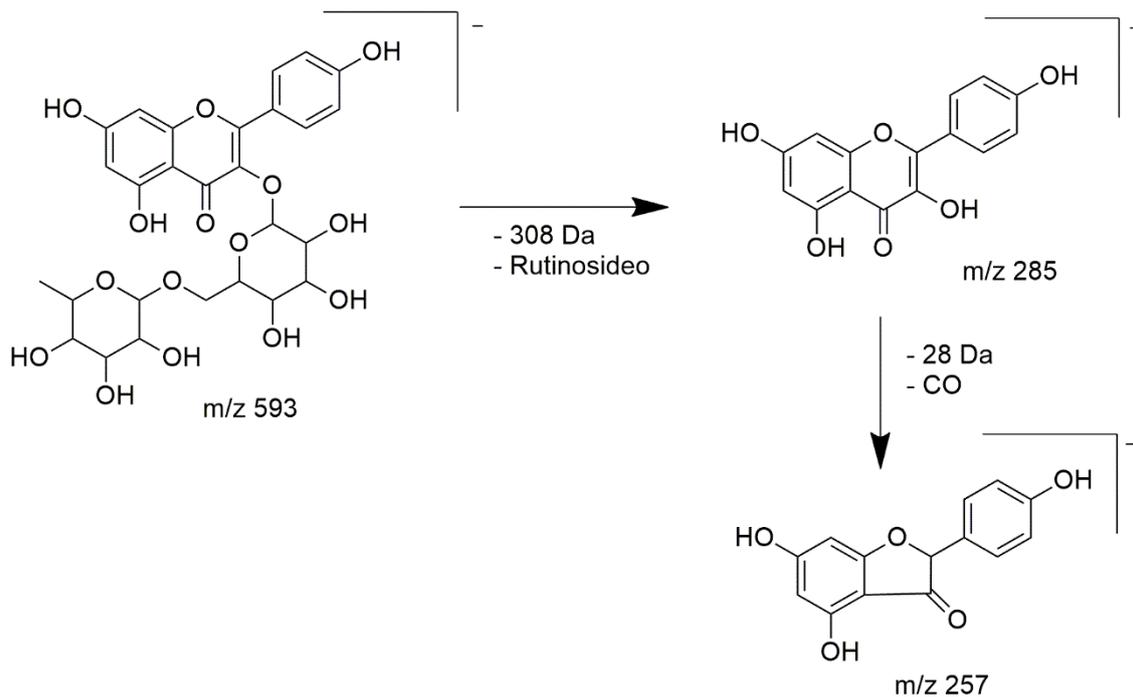
Fonte: Adaptado de Chua et al., 2011; Barros et al., 2013.

Figura 38: Via de fragmentação do composto **13**, em IES-EM/EM modo negativo.



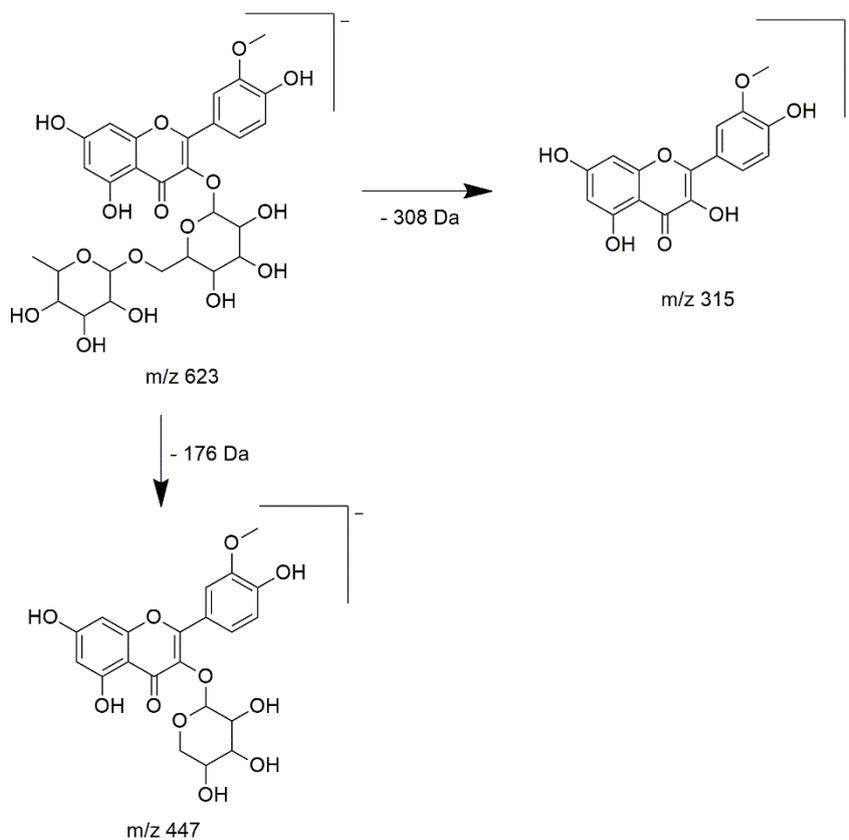
Fonte: Adaptado de Mateos et al., 2018.

Figura 39: Via de fragmentação do composto **14**, em IES-EM/EM modo negativo.



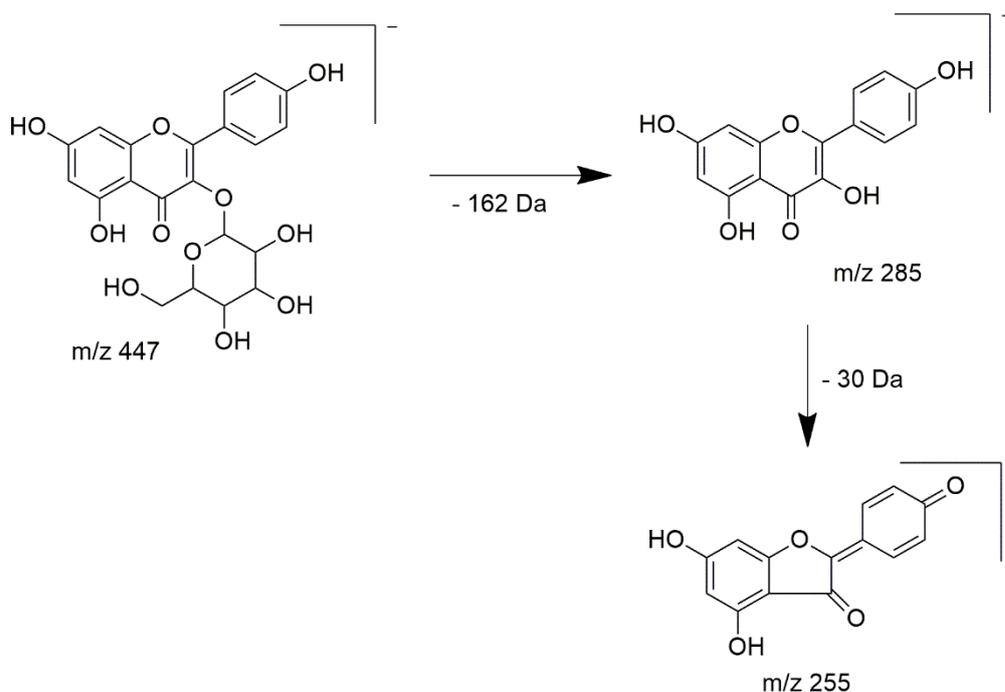
Fonte: Adaptado de Medina et al., 2009.

Figura 40: Via de fragmentação do composto **15**, em IES-EM/EM modo negativo.



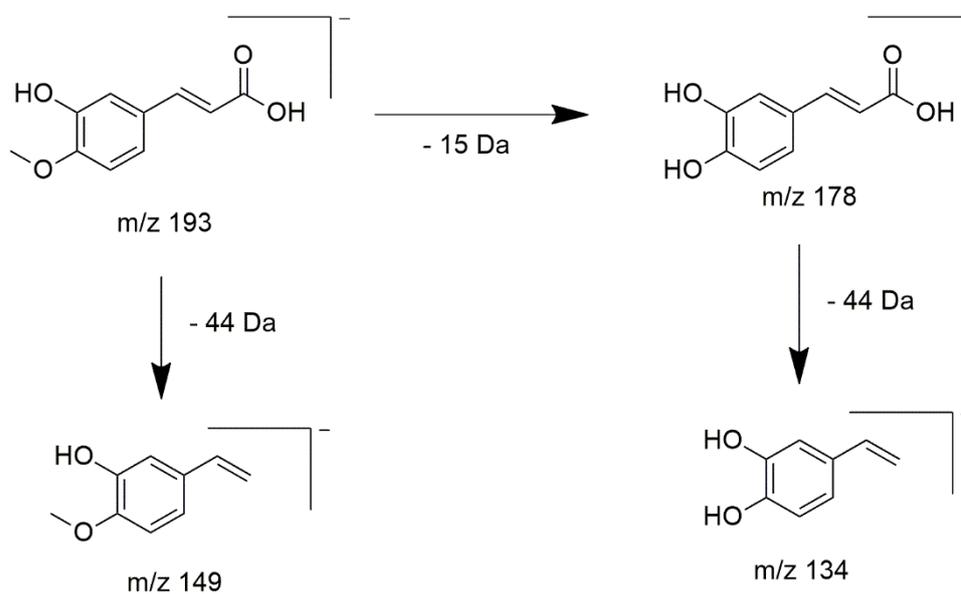
Fonte: Adaptado de Barros et al., 2013.

Figura 41: Via de fragmentação do composto **16**, em IES-EM/EM modo negativo.



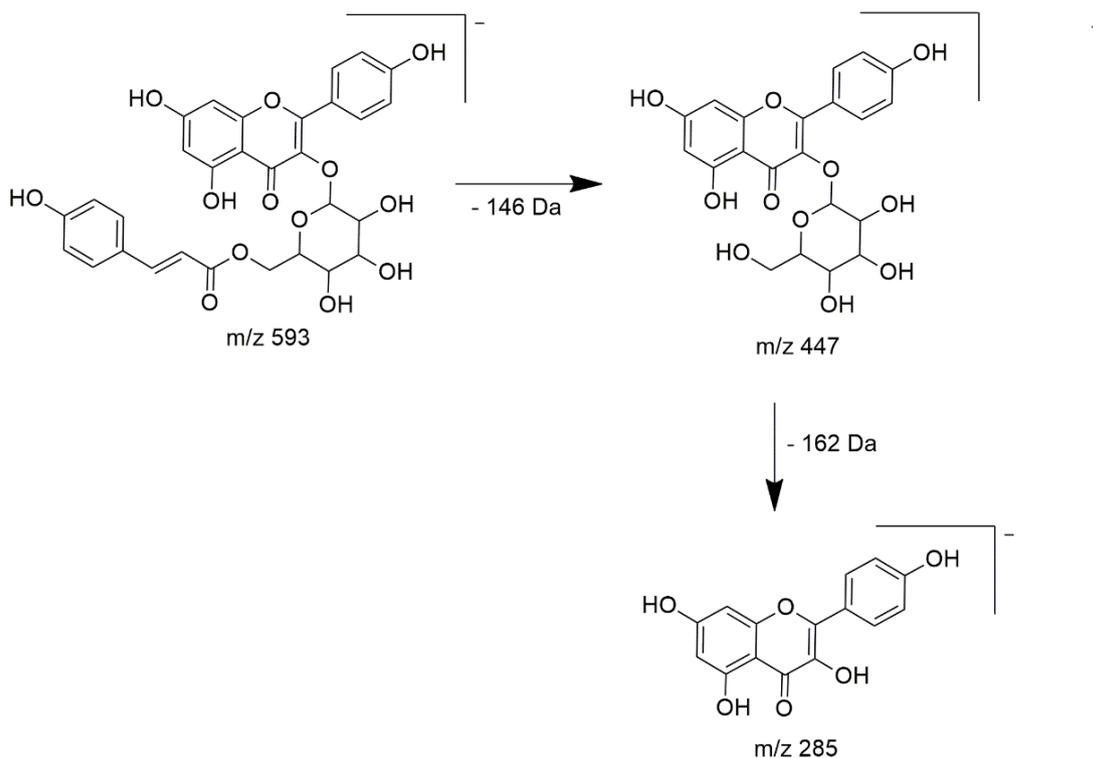
Fonte: Adaptado de Xiao et al., 2017.

Figura 42: Via de fragmentação do composto **17**, em IES-EM/EM modo negativo.



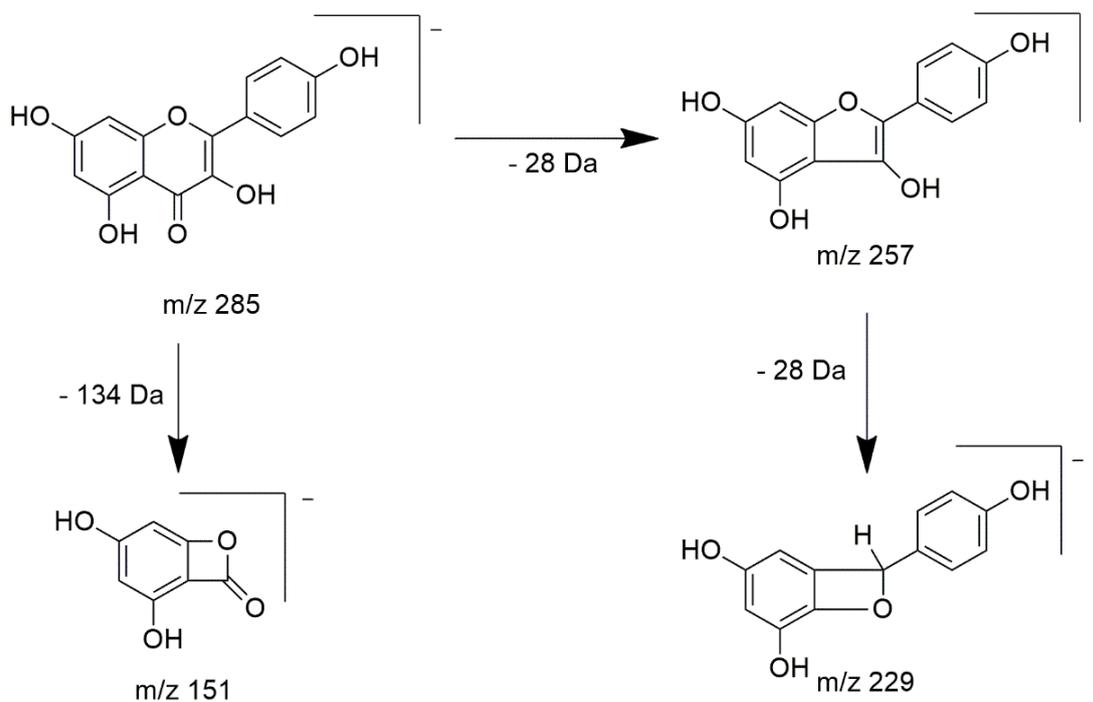
Fonte: Adaptado de Mizgier et al., 2016.

Figura 43: Via de fragmentação do composto **18**, em IES-EM/EM modo negativo.



Fonte: Adaptado de Mateos et al., 2018.

Figura 44: Via de fragmentação do composto **19**, em IES-EM/EM modo negativo.



Fonte: Adaptado de Xiao et al., 2017.

5.2 Substâncias isoladas e identificadas das partes aéreas de *S. linifolia*

O estudo fitoquímico das partes aéreas de *Sida linifolia* levou ao isolamento e identificação de 4 metabólitos secundários (Figura 45).

Figura 45: Substâncias isoladas da Fase acetato de etila das partes aéreas de *Sida linifolia*.



SI-3 = Ácido trans *p*-cumárico

SI-1: R = O-glicosil-6''-*p*-coumaroil (tilirosideo)

SI-2: R= OH (canferol)

SI-4: R= glicose (astragalina)

5.2.1 Caracterização estrutural de SI-1

A substância codificada como SI-1 apresentou-se na forma de pó amarelo e solúvel em metanol. No espectro de RMN ^1H (Figura 46) é possível destacar quatro picos intensos para hidrogênios aromáticos, sendo dois pertencentes ao sistema AA'BB' do esqueleto do canferol em δ_{H} 7,99 (H-2',6') e δ_{H} 6,81 (H-3',5') e dois em δ_{H} 7,33 (H-2''',6''') e δ_{H} 6,78 (H-3''',5'''), sugeridos para o sistema AA'BB' do grupo cumaroil. A presença deste grupo foi reforçada pelos sinais em δ_{H} 6,09 e δ_{H} 7,42, referentes aos hidrogênios α e β , respectivamente, cuja constante de acoplamento ($J = 15,9$ Hz) confere a configuração *trans* (*E*) (Figura 46, pág. 87).

Os espectros de RMN ^1H e suas expansões (Figuras 46-48) sugeriram ainda que a posição 3 do anel C flavonoídico encontrava-se substituída, uma vez que não foi possível notar a presença de um simpleto entre as regiões δ 6,39 e δ 6,94 atribuído ao H-3. A presença de uma unidade osídica fazendo parte da molécula pôde ser sugerida pelo duplete em δ 5,18 com $J=7,2$ Hz, típico de hidrogênio anomérico de glicose com configuração β . Esta sugestão foi fortalecida pelos sinais em δ_{H} 4,17 e δ_{H} 4,30, referentes a dois duplos dupletos, atribuídos aos hidrogênios metilênicos do carbono 6'' na molécula de glicose. Desta forma, sugere-se que esta unidade de açúcar esteja ligada na posição C-3 do anel C do flavonoide (COSTA et al., 2007; TELES et al., 2015a).

A análise dos dados de hidrogênio (Tabela 3, pág. 88) propõe para *Sl-1* a estrutura de um flavonoide com um padrão de substituição típica do canferol (3,5,7,4'-tetrahidroxiflavonol), incluindo uma unidade de açúcar e outra de ácido *p*-cumárico.

Através da análise do espectro de RMN ^{13}C (Figuras 49 e 50; Tabela 3, pág. 88), se observa 26 sinais que são equivalentes a 30 átomos de carbonos. É possível notar a presença de substituintes oxigenados ao observar os valores para os carbonos C-3, C-5, C-7, C-4' e C-4'' (Tabela 3, pág. 88).

A unidade osídica foi confirmada pelo conjunto de sinais característicos de carbonos carbonílicos em $\delta_{\text{C}} 64,32$, $\delta_{\text{C}} 71,67$, $\delta_{\text{C}} 75,71$, $\delta_{\text{C}} 78,0$ e de um carbono anomérico em $\delta_{\text{C}} 104,37$ (Tabela 3, pág. 88) que se encontra ligada ao oxigênio C-3.

Um pico em $\delta 168,80$ típico de carbonila α , β -insaturada, em conjunto com sinais para carbonos olefínicos em $\delta_{\text{C}} 114,69$ e $\delta_{\text{C}} 146,62$ e mais dois sinais intensos em $\delta_{\text{C}} 116,85$ e $\delta_{\text{C}} 131,2$, característicos de carbonos metínicos do sistema AA'BB', fortaleceram a sugestão anterior da existência de uma unidade de ácido *p*-cumárico em *Sl-1*.

Desta forma, após comparação com dados da literatura e reunir as informações dos espectros uni e bidimensionais é possível identificar a estrutura de *Sl-1* como sendo o canferol-3-*O*- β -D-(6''-*E*-*p*-coumaroil) glicopiranosídeo (tilirosídeo) (Tabela 3, pág. 88), substância isolada anteriormente de diferentes espécies da família Malvaceae, entre elas: *Herissantia tiubae* (SILVA et al., 2005), *Herissantia crispera* (COSTA et al., 2007), *Sida galheirensis* (SILVA et al., 2006), *Sidastrum paniculatum* (CAVALCANTE et al., 2010), *Backeridesia pickelii* (COSTA et al., 2007), *Sidastrum micranthum* (GOMES et al., 2011), *Helicteres velutina* (FERNANDES et al., 2018) e relatado pela primeira vez relatado na espécie *Sida linifolia*.

O tilirosídeo utilizado para produzir a NE neste trabalho e realizar os ensaios antitumorais foi isolado das espécies *Sida linifolia*, *Pavonia malacophylla*, *Herissantia crispera* e *Helicteres eichkeri*, seguindo a metodologia descrita anteriormente.

Sl-1: canferol-3-*O*- β -D-(6''-*E*-*p*-coumaroil)-glicopiranosídeo (Tiliosídeo)

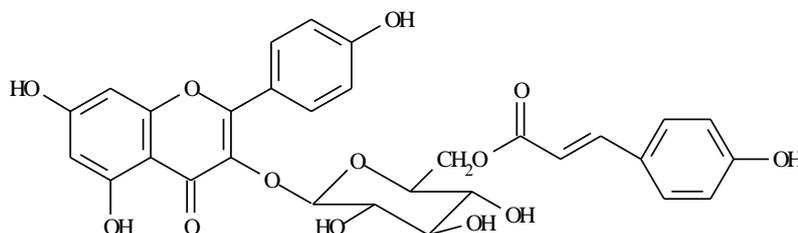


Tabela 3: Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C (δ , CD_3OD , 400 e 100 MHz) de *SI-1* comparados com o modelo da literatura (δ , CD_3OD , 200 e 50 MHz) (COSTA et al., 2007).

C	Mo-1 - Tilirosídeo		SI-1	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	-	159,32	-	158,91
3	-	135,17	-	135,10
4	-	179,41	-	179,01
5	-	162,95	-	162,84
6	6,11 (<i>d</i> , $J=2,0$ Hz)	99,99	6,12 (<i>d</i> , $J=2,0$ Hz)	101,13
7	-	165,97	-	-
8	6,29 (<i>d</i> , $J=2,0$ Hz)	94,83	6,29 (<i>d</i> , $J=2,0$ Hz)	95,62
9	-	158,39	-	158,71
10	-	105,56	-	104,61
1'	-	122,70	-	122,80
2', 6'	7,98 (<i>dd</i> , $J=8,9$ e $2,0$ Hz)	132,21	7,99 (<i>d</i> , $J=8,8$ Hz)	132,12
3', 5'	6,80 (<i>dd</i> , $J=8,9$ e $2,0$ Hz)	116,03	6,79 (<i>d</i> , $J=8,7$ Hz)	116,03
4'	-	161,52	-	161,51
1''	5,24 (<i>d</i> , $J=7,6$ Hz)	103,95	5,18 (<i>d</i> , $J=7,2$ Hz)	104,37
2''	3,28-3,51 <i>m</i>	75,73	3,42-3,49 <i>m</i>	75,71
3''	3,28-3,51 <i>m</i>	77,98	3,42-3,49 <i>m</i>	78,05
4''	3,28-3,51 <i>m</i>	71,70	3,42-3,49 <i>m</i>	71,67
5''	3,28-3,51 <i>m</i>	75,73	3,42-3,49 <i>m</i>	75,80
6''	4,30 (<i>dd</i> , $J=11,5$ e $2,1$ Hz) 4,17 (<i>dd</i> , $J=11,5$ e $6,2$ Hz)	64,29	4,30 (<i>dd</i> , $J=11,9$ e 2 Hz) 4,17 (<i>dd</i> , $J=11,9$ e $6,5$ Hz)	64,32
CO	-	168,80	-	168,84
α	6,06 (<i>d</i> , $J=16,1$ Hz)	114,71	6,09 (<i>d</i> , $J=15,9$ Hz)	114,69
β	7,39 (<i>d</i> , $J=16,1$ Hz)	146,56	7,42 (<i>d</i> , $J=15,9$ Hz)	146,62
1'''	-	127,07	-	127,04
2''', 6'''	7,29 (<i>d</i> , $J=8,7$ Hz)	131,19	7,33 (<i>d</i> , $J=8,6$ Hz)	131,2
3''', 5'''	6,78 (<i>d</i> , $J=8,7$ Hz)	116,77	6,76 (<i>d</i> , $J=9,0$ Hz)	116,85
4'''	-	161,18	-	161,32

Figura 46: Espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de *SI-1*.

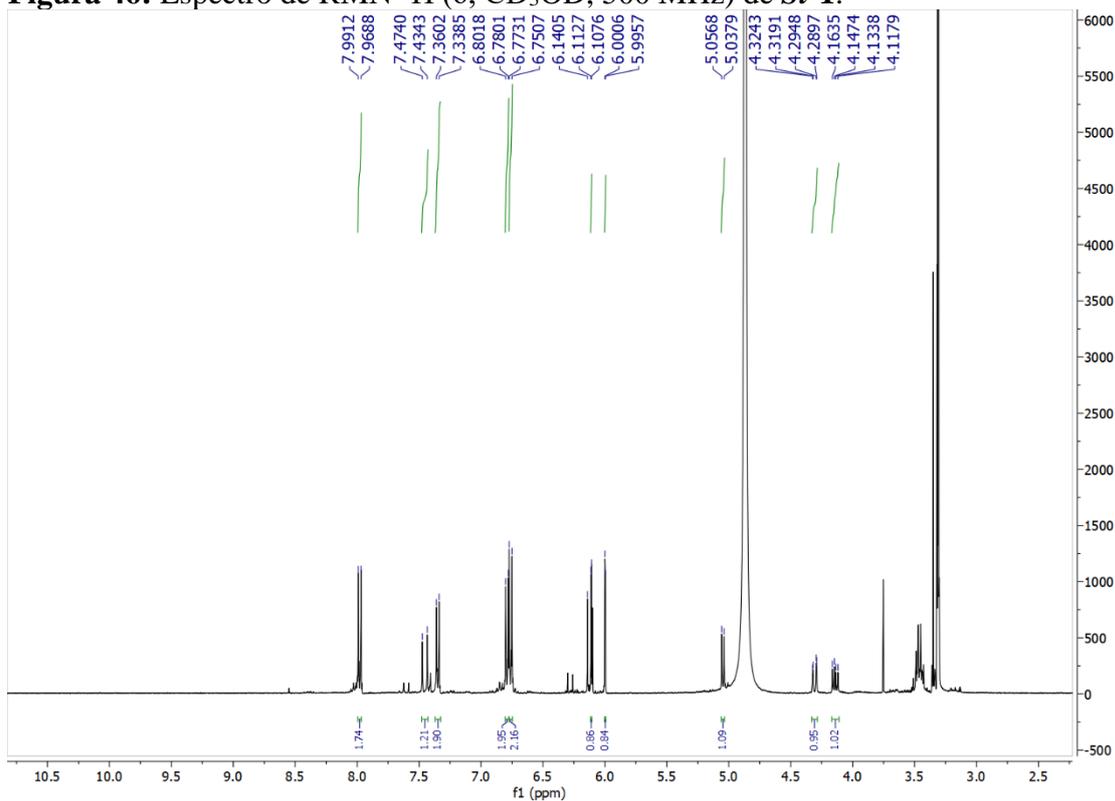


Figura 47: Primeira expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de *SI-1*.

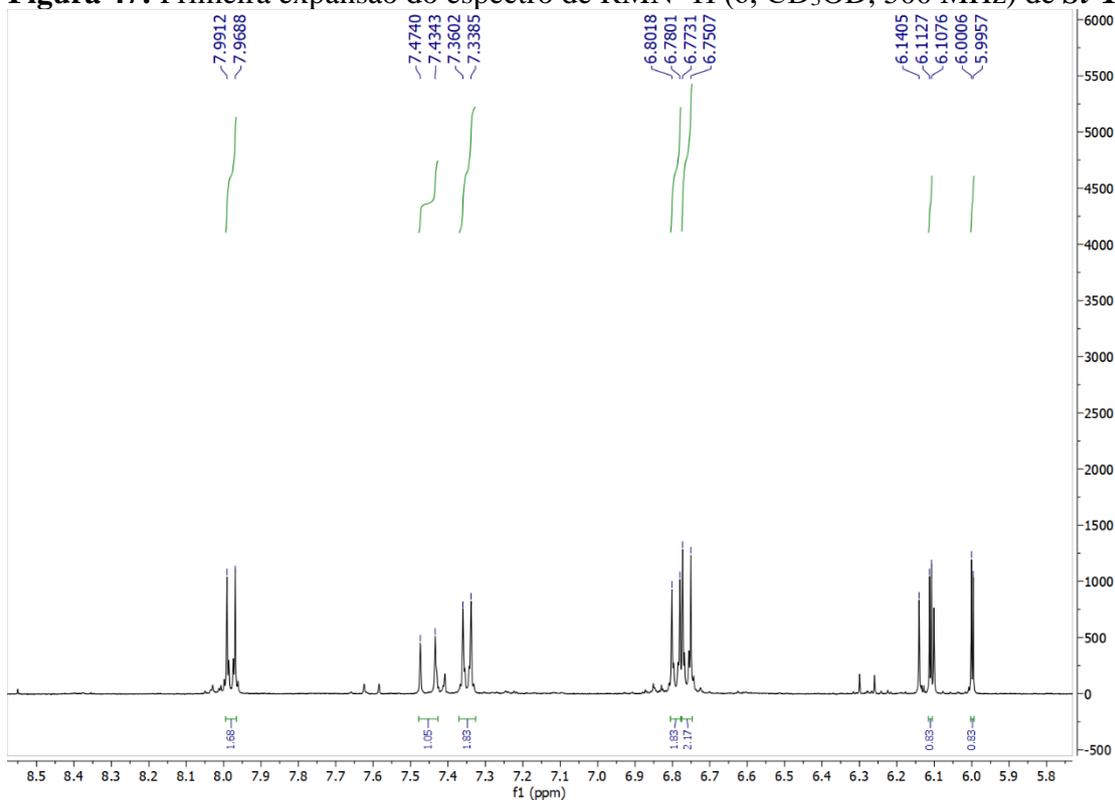


Figura 48: Segunda expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de *SI-1*.

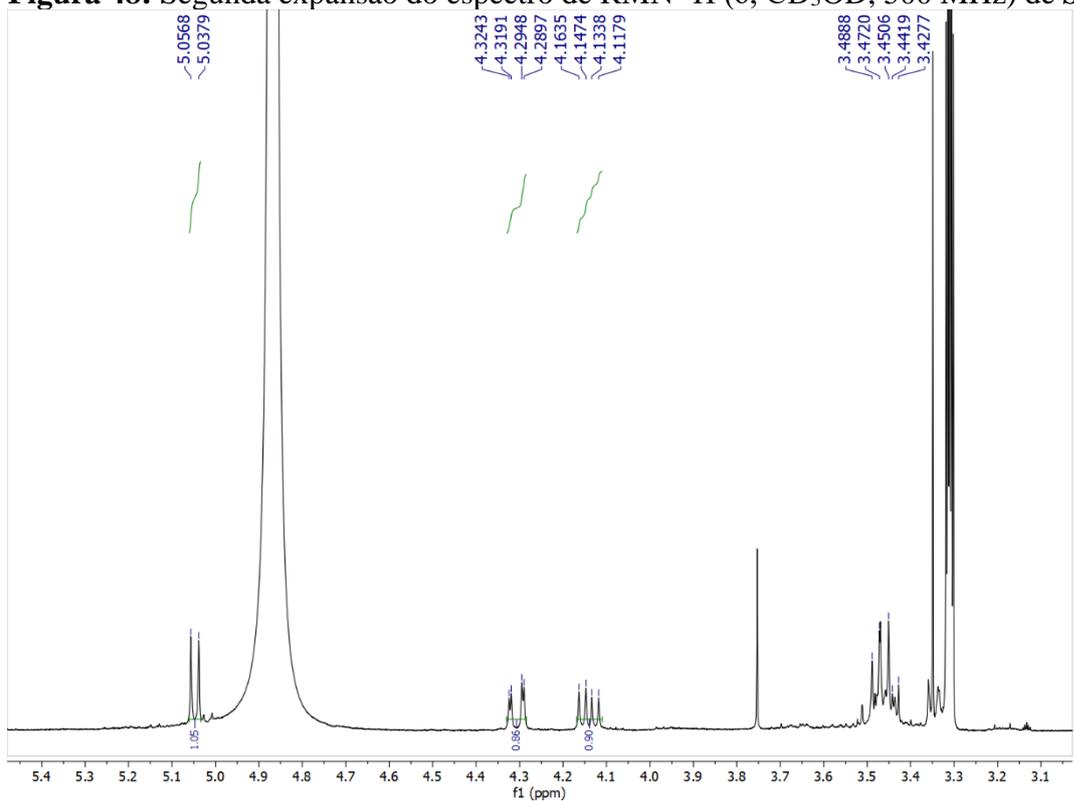


Figura 49: Espectro de RMN ^{13}C APT (δ , CD_3OD , 125 MHz) de *SI-1*.

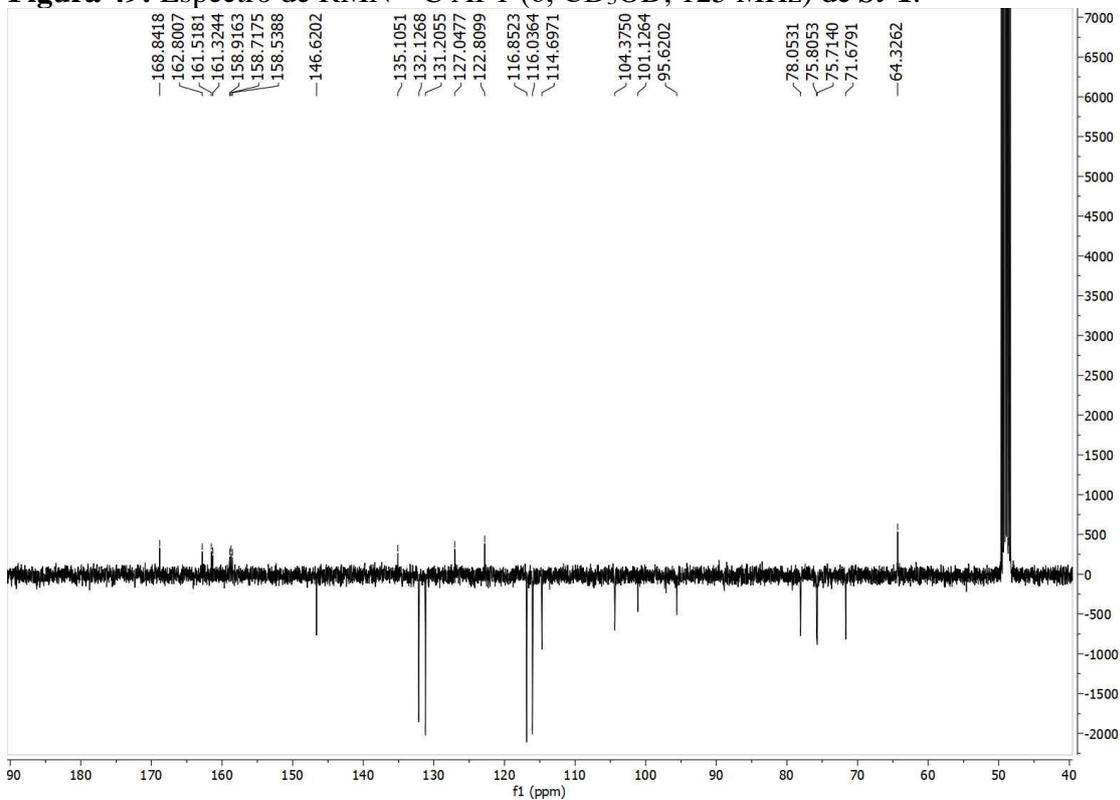


Figura 50: Espectro de RMN ^{13}C BB (δ , CD_3OD , 125 MHz) de *SI-1*.

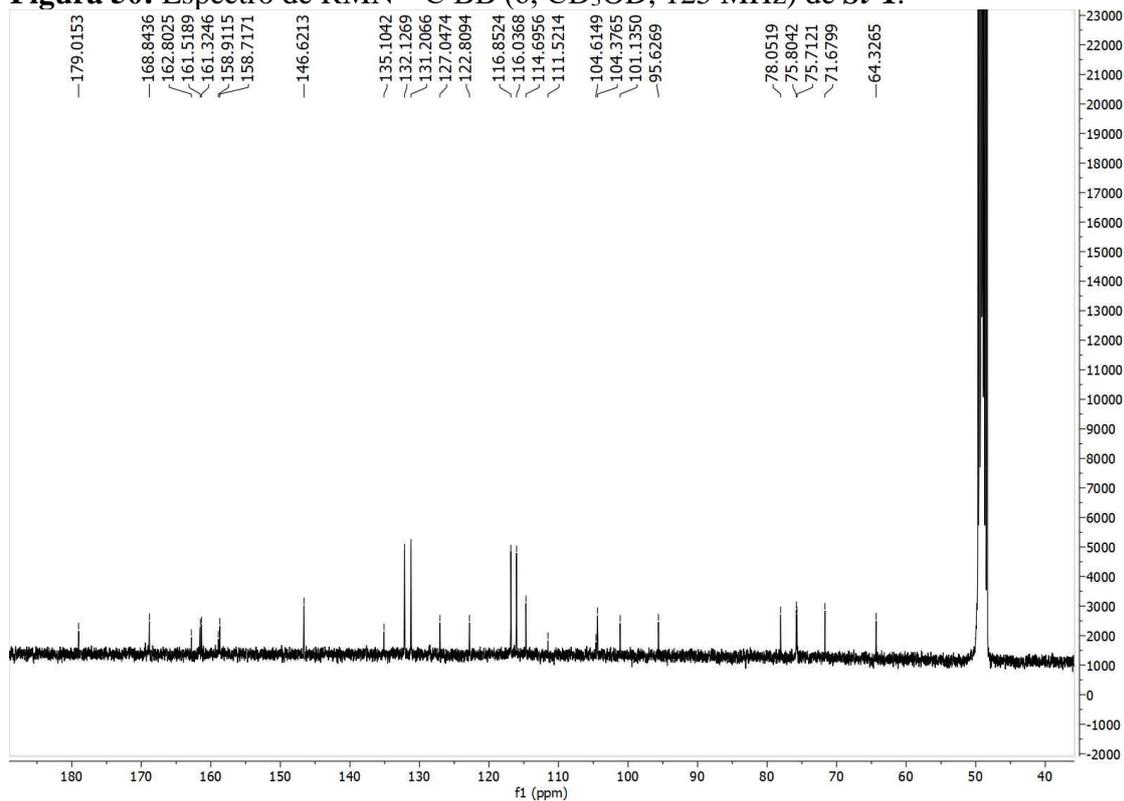


Figura 51: Espectro HMQC (δ , CD_3OD , 400 e 125 MHz) de *SI-1*.

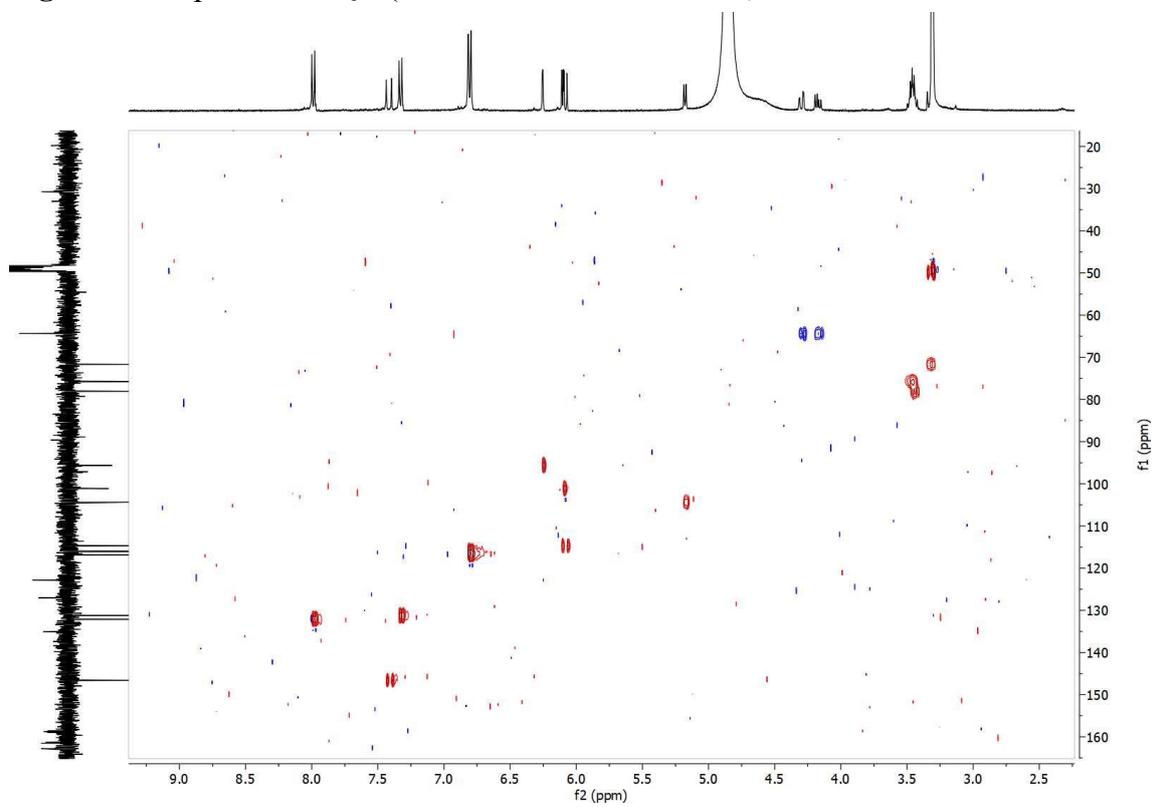
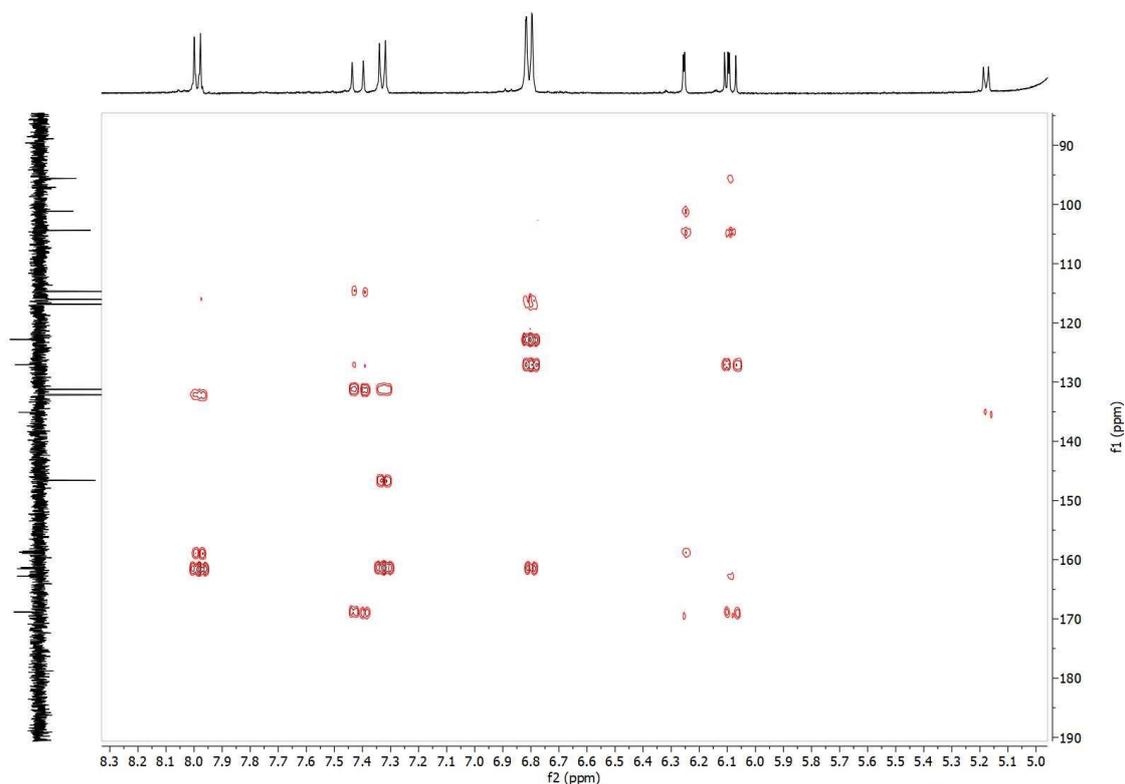


Figura 52: Espectro HMBC (δ , CD₃OD, 400 e 125 MHz) de *SI-1*.



5.2.2 Caracterização estrutural de *SI-2*

A substância codificada como *SI-2* apresentou-se sob a forma de um pó amarelo, solúvel em metanol. O espectro de RMN ¹H (Figura 53) da substância *SI-2* quando comparado com o espectro de RMN ¹H da substância *SI-1*, descrita anteriormente, exibiu sinais semelhantes entre si, mostrando apresentar a mesma substância.

O seu espectro de RMN ¹H (δ , 400 MHz, CD₃OD) apresentou absorções entre δ_H 6,16 e δ_H 8,07 que são associadas a hidrogênios na região de aromáticos (GOMES et al., 2011), nos levando a sugerir que este composto possui um núcleo flavonoídico, já que os flavonoides são comumente encontrados em espécies da família Malvaceae. Esta sugestão foi fortalecida pela presença de dois dubletos em δ_H 6,90 e δ_H 8,07 acoplado *orto* com $J = 8,8$ Hz, integral para 2H cada, referente assim aos hidrogênios H-2'/H-6' e H-3'/H-5', respectivamente, do anel B de flavonoides com um sistema AA'BB' (CHAVES, et al., 2017) e permitindo assim sugerir para *SI-2* um esqueleto flavonoídico com anel B *p*-substituído. Além de outros dois dubletos com sinais em δ_H 6,16 (*d*, 1H, $J = 1,8$ Hz) e δ_H 6,37 (*d*, 1H, $J = 1,8$ Hz) (Figura 53), mostrando acoplamento *meta*, atribuídos aos hidrogênios 6 e 8, respectivamente, normalmente encontrado em flavonoides com substituintes nos carbonos 5 e 7 (Figura 53; Tabela 4, pág. 94).

A falta de sinal para um singlete entre as regiões δ_H 6,39 – 6,94 referentes ao hidrogênio 3 do anel A, nos leva a sugerir que tal posição encontra-se substituída, além da inexistência de picos para unidade(s) osídica(s) ou outros grupos como metoxila, também nos levou a sugerir que *Sl-2* possuía um padrão de substituição do tipo 3,5,7,4', onde todos os substituintes do anel A, B e C seriam hidroxilas.

O espectro de RMN ^{13}C unidimensional de *Sl-2* fortaleceu a proposta do núcleo flavanoídico ao evidenciar 13 sinais para 15 átomos de carbono (Tabela 4), em conjunto com a amplitude dos sinais δ_C 130,6 e δ_C 116,3, fortaleceram a proposta de um sistema AA'BB' referentes aos carbonos metínicos C-2'/C-6' e C-3'/C-5', respectivamente (FERNANDES et al., 2018). Podemos destacar o sinal em δ_C 177,3 que corresponde a uma carbonila de cetona conjugada na posição C-4 do anel C de flavonoide (Gomes et al., 2011), em conjunto com 12 sinais para carbonos em anel aromático, sendo 8C não hidrogenados e 4C monohidrogenados (Figura 54; Tabela 4, pág. 94).

O núcleo flavonol foi identificada nesta substância devido a ausência CH em δ_C 103,6 (C-3) e do C não hidrogenado δ_C 163,7 (C-2) característicos do núcleo flavona (GOMES et al., 2011) e além disso houve a presença de sinais em δ_C 147,9 (C-2) e δ_C 137,1 (C-3) os quais estão ligados diretamente as características de um núcleo flavonoídico do tipo flavonol.

Os espectros bidimensionais de HMQC (Figura 55) e HMBC (Figura 56) apresentaram mapas de contorno que forneceram elementos para confirmação estrutural da molécula proposta.

Após comparações dos dados de RMN 1H , ^{13}C , uni e bidimensionais com a literatura e com padrões químicos de laboratório, concluiu-se que a substância se trata do 3,5,7,4'-tetrahidroxiflavona (canferol), substância isolada pela primeira vez em *Sida linifolia* e anteriormente de outras espécies da família Malvaceae, como: *Herissantia crispera* (COSTA et al., 2009), *Sida rhombifolia* (CHAVES et al., 2017), *Helicteres velutina* (Fernandes et al., 2018) e *Waltheria viscosíssima* (FERREIRA et al., 2019).

SI-2: Canferol

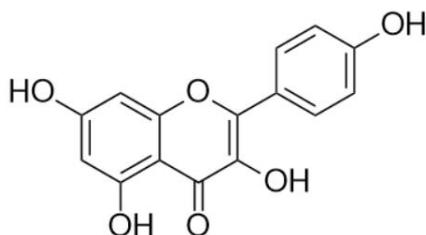


Tabela 4: Dados de RMN ^1H e ^{13}C de **SI-2** (δ , MeOD, 400 e 100 MHz) comparados com o modelo Mo-1 da literatura [$(\delta$, MeOD, 400 e 100 MHz) (CHAVES *et al.*, 2017)].

	Mo-1 Canferol		SI-2	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	-	148	-	147,95
3	-	137,1	-	137,1
4	-	177,3	-	177,3
5	-	162,5	-	162,4
6	6,18 (<i>d</i> , $J = 2,0$ Hz, 1H)	99,3	6,16 (<i>d</i> , $J = 1,8$ Hz, 1H)	99,5
7	-	165,6	-	166,2
8	6,39 (<i>d</i> , $J = 2,0$ Hz, 1H)	94,4	6,37 (<i>d</i> , $J = 1,8$ Hz, 1H)	94,5
9	-	158,2	-	158,3
10	-	103,7	-	104,3
1'	-	123,7	-	123,7
2'	8,08 (<i>d</i> , $J = 8,9$ Hz, 2H)	130,6	8,07 (<i>d</i> , $J = 8,8$ Hz, 2H)	130,6
3'	6,90 (<i>d</i> , $J = 8,9$ Hz, 2H)	116,3	6,90 (<i>d</i> , $J = 8,8$ Hz, 2H)	116,3
4'	-	160,5	-	160,6
5'	6,90 (<i>d</i> , $J = 8,9$ Hz, 2H)	116,3	6,90 (<i>d</i> , $J = 8,8$ Hz, 2H)	116,3
6'	8,08 (<i>d</i> , $J = 8,9$ Hz, 2H)	130,6	8,07 (<i>d</i> , $J = 8,8$ Hz, 2H)	130,6

Figura 53: Espectro de RMN ^1H (δ , MeOD, 400 MHz) de *SI-2*.

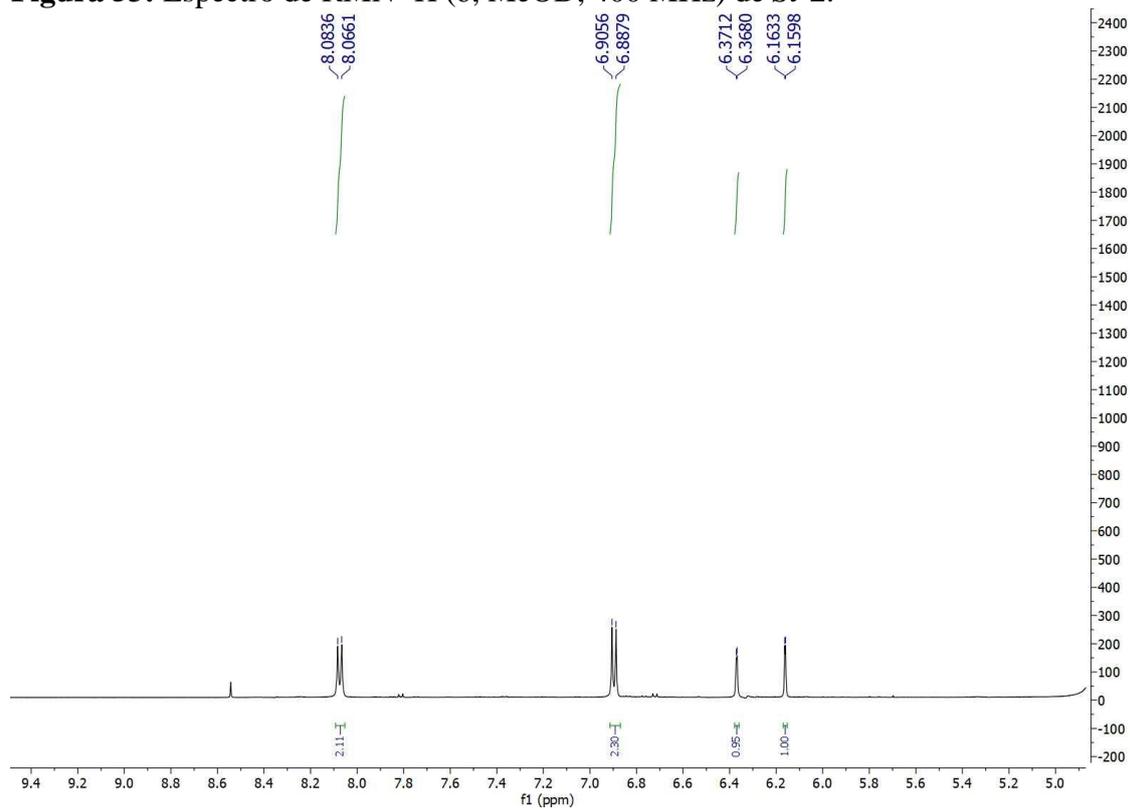


Figura 54: Espectro de RMN $^{13}\text{C}/\text{BB}$ (δ , MeOD, 100 MHz) de *SI-2*.

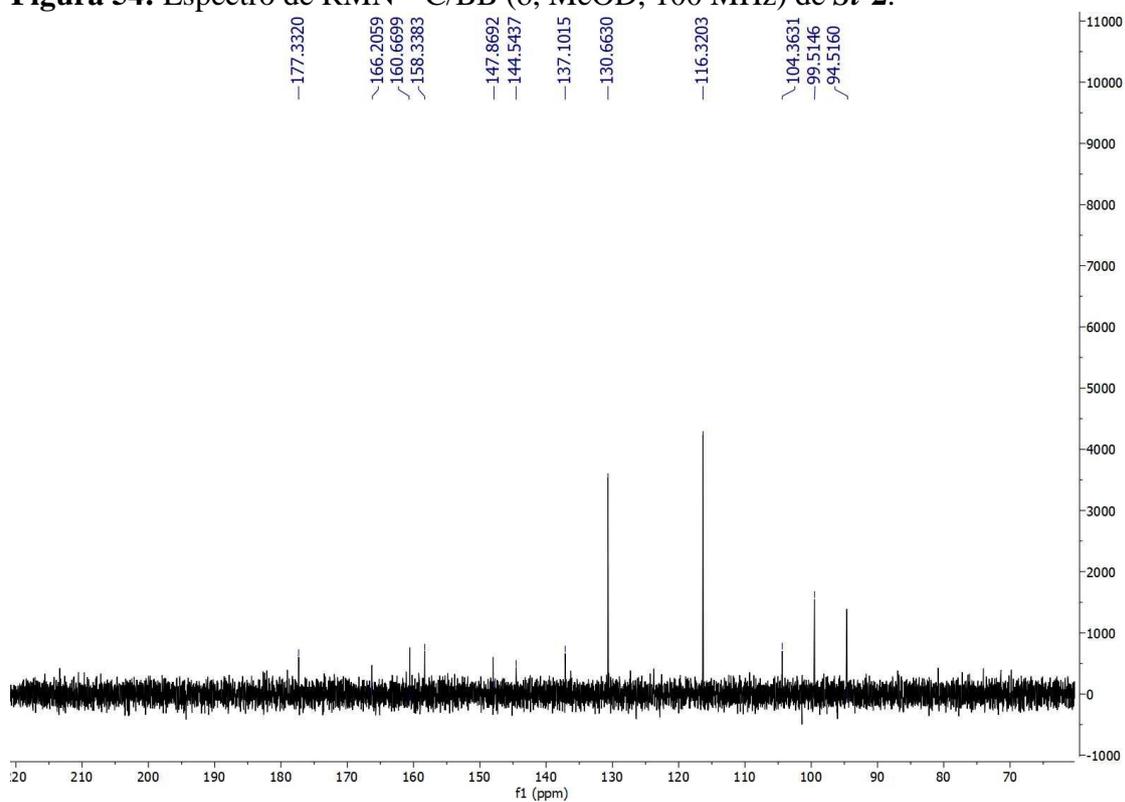


Figura 55: Espectro HMQC (δ , CD₃OD, 400 e 100 MHz) de *SI-2*.

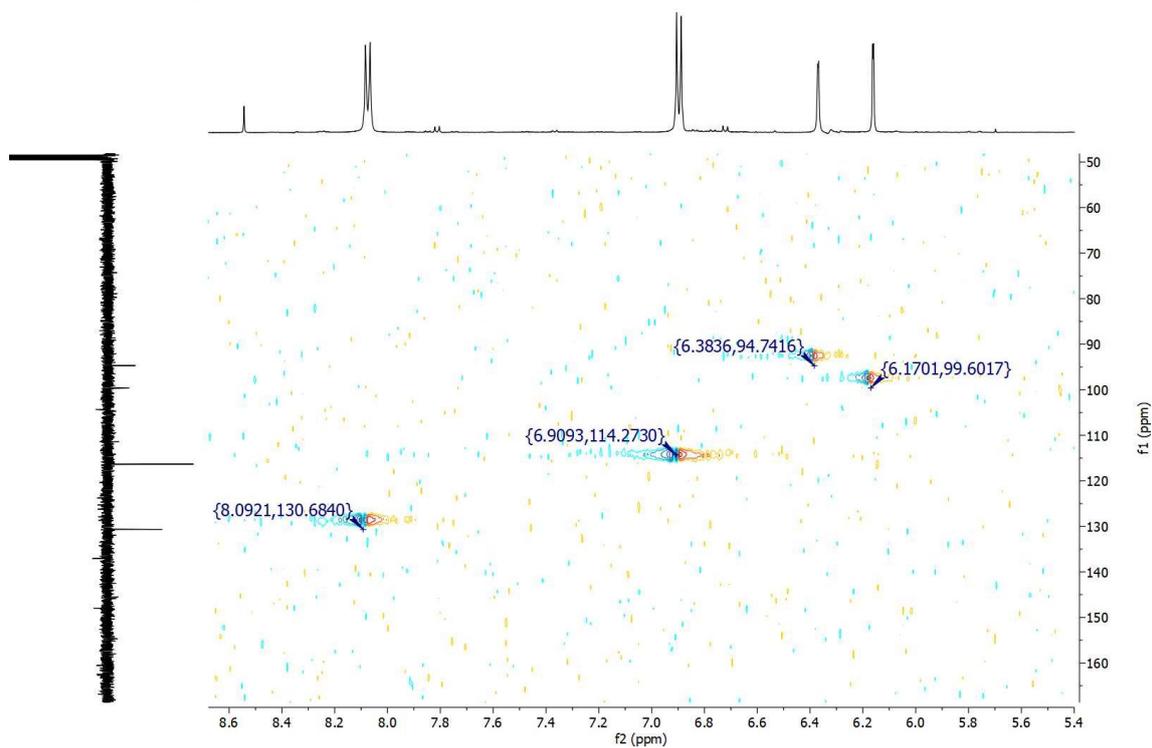
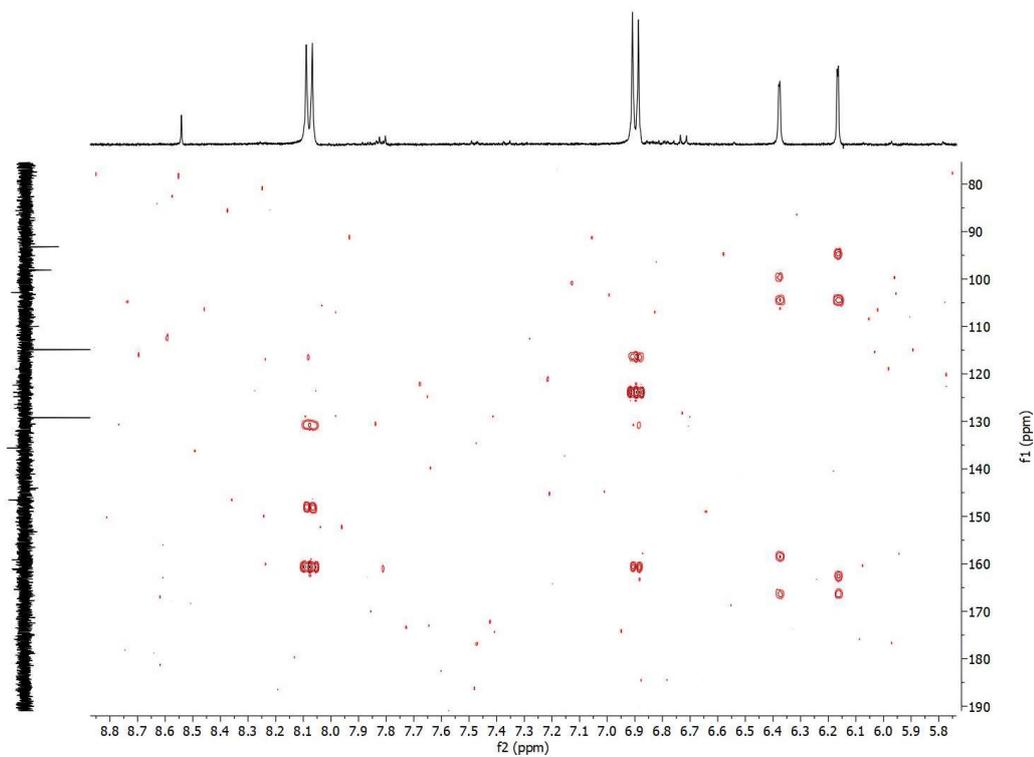


Figura 56: Espectro HMBC (δ , CD₃OD, 400 e 100 MHz) de *SI-2*.



5.2.3 Caracterização estrutural de *Sl-3*

A substância codificada como ***Sl-3*** apresentou-se sob a forma de um sólido amarelo claro, solúvel em metanol.

Os espectros de RMN ^1H de ***Sl-3*** (Figura 57, pág. 98) mostraram sinais referentes a hidrogênios de anel aromático na região entre δ_{H} 6,80 a 7,45. Dois dubletos, em δ_{H} 7,45 e δ_{H} 6,80, com integração para dois hidrogênios cada, ambos apresentando constantes de acoplamento *orto* ($J = 8,7$ Hz), sugeriu a presença de um sistema AA'BB', típico de anel aromático *p*-substituído em situação do mesmo ambiente químico (SILVERSTEIN & WEBSTER, 2007). Dois dubletos em δ_{H} 6,33 e δ_{H} 7,62, apresentando integração para um hidrogênio cada e acoplando entre si com $J = 15,9$ Hz, sugeriram a presença de um sistema *trans*- α - β -insaturado em ***Sl-3*** (PAVIA et al., 2001). A união destes dados e comparações com a literatura (COSTA et al., 2007; LOPES, 2014) revelaram que ***Sl-3*** possui em sua estrutura o grupo cumaroil (Tabela 5, pág. 98).

A análise do espectro de RMN ^{13}C -APT (Figura 58, pág. 99) corresponde com a proposta da presença do grupo cumaroil ao apresentar sinais para 9 carbonos. Um carbono não hidrogenado em δ_{C} 169,80 indica a presença de carbonila α - β -insaturada de ácido carboxílico (SILVERSTEIN & WEBSTER, 2007), fortalecendo a presença do grupo α - β -insaturado em ***Sl-3***, proposto pelo espectro de RMN ^1H . Os picos em δ_{C} 114,83 (C- α) e δ_{C} 146,60 (C- β), característicos de carbonos olefínicos, ratificaram a presença deste grupo. Os carbonos não-hidrogenados em δ_{C} 127,06 e δ_{C} 161,4 permitiram propor que os carbonos C-1 e C-4 possuem como substituintes os grupos ácido α - β -insaturado e uma hidroxila, respectivamente. Além disso, os espectros bidimensionais (HMQC e HMBC – Fig. 59 e 60) foram analisados. A junção desses dados e comparações com a literatura (Tabela 5, pág. 98), permitiram identificar ***Sl-3*** como o ácido *trans-p*-cumárico, um ácido fenólico. Este composto já foi isolado anteriormente das espécies *Bakeridesia pickelii* (Malvaceae) (COSTA et al, 2007) e *Pavonia multiflora* (Malvaceae) (LOPES, 2014) e pela primeira vez no gênero *Sida* e na espécie *Sida linifolia*.

Sl-3: Ácido *trans-p*-cumárico

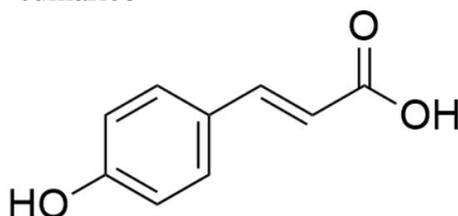


Tabela 5: Dados de RMN ^1H e ^{13}C de *SI-3* (δ , MeOD, 400 e 100 MHz) comparados com o modelo *Mo-1* da literatura [$(\delta$, MeOD, 400 e 100 MHz) (COSTA et al., 2007)].

	Mo-1 Ácido <i>trans-p</i> -cumárico		SI-3	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	127,22	-	127,06
2	7,44 (<i>dd</i> , 2H, $J = 8,8$ e 2,0 Hz)	131,08	7,45 (<i>d</i> , 2H, $J = 8,7$ Hz)	131,14
3	6,79 (<i>dd</i> , 2H, $J = 8,8$ e 2,0 Hz)	116,79	6,80 (<i>d</i> , 2H, $J = 8,7$ Hz)	116,87
4	-	161,17	-	161,40
5	6,79 (<i>dd</i> , 2H, $J = 8,8$ e 2,0 Hz)	116,79	6,80 (<i>d</i> , 2H, $J = 8,7$ Hz)	116,87
6	7,44 (<i>dd</i> , 2H, $J = 8,8$ e 2,0 Hz)	131,08	7,45 (<i>d</i> , 2H, $J = 8,7$ Hz)	131,14
7 (β)	7,59 (<i>d</i> , 1H, $J = 15,8$ Hz)	146,58	7,62 (<i>d</i> , 1H, $J = 15,9$ Hz)	146,60
8 (α)	6,27 (<i>d</i> , 1H, $J = 15,8$ Hz)	115,67	6,33 (<i>d</i> , 1H, $J = 15,9$ Hz)	114,83
9 (CO)	-	171,09	-	169,80

Figura 57: Espectro de RMN ^1H (δ , MeOD, 400 MHz) de *SI-3*.

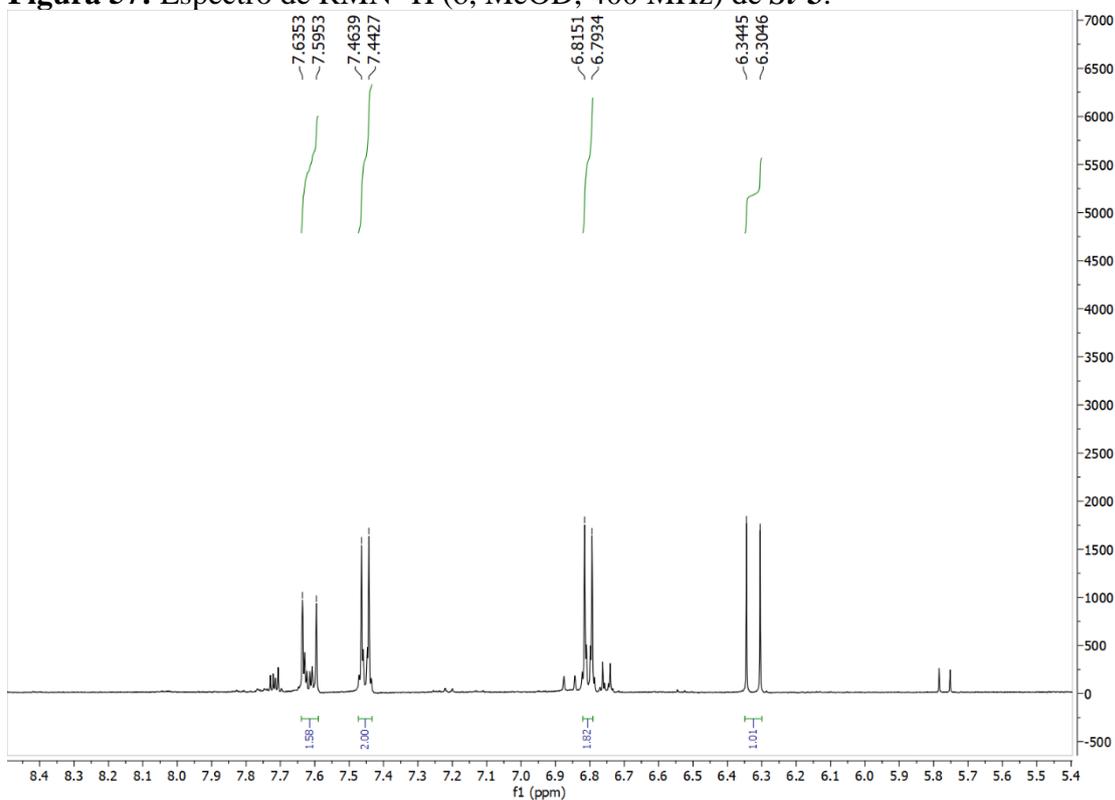


Figura 58: Espectro de RMN ^{13}C /APT (δ , MeOD, 100 MHz) de *SI-3*.

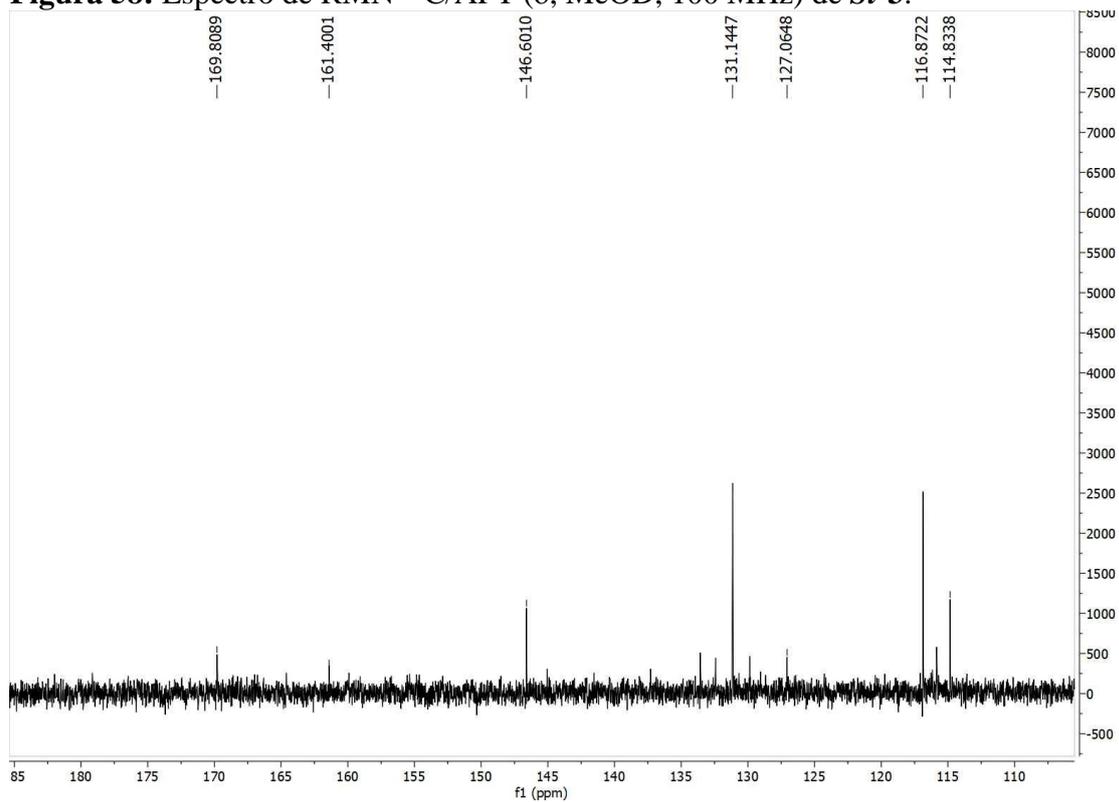


Figura 59: Espectro HMQC (δ , CD_3OD , 400 e 100 MHz) de *SI-3*.

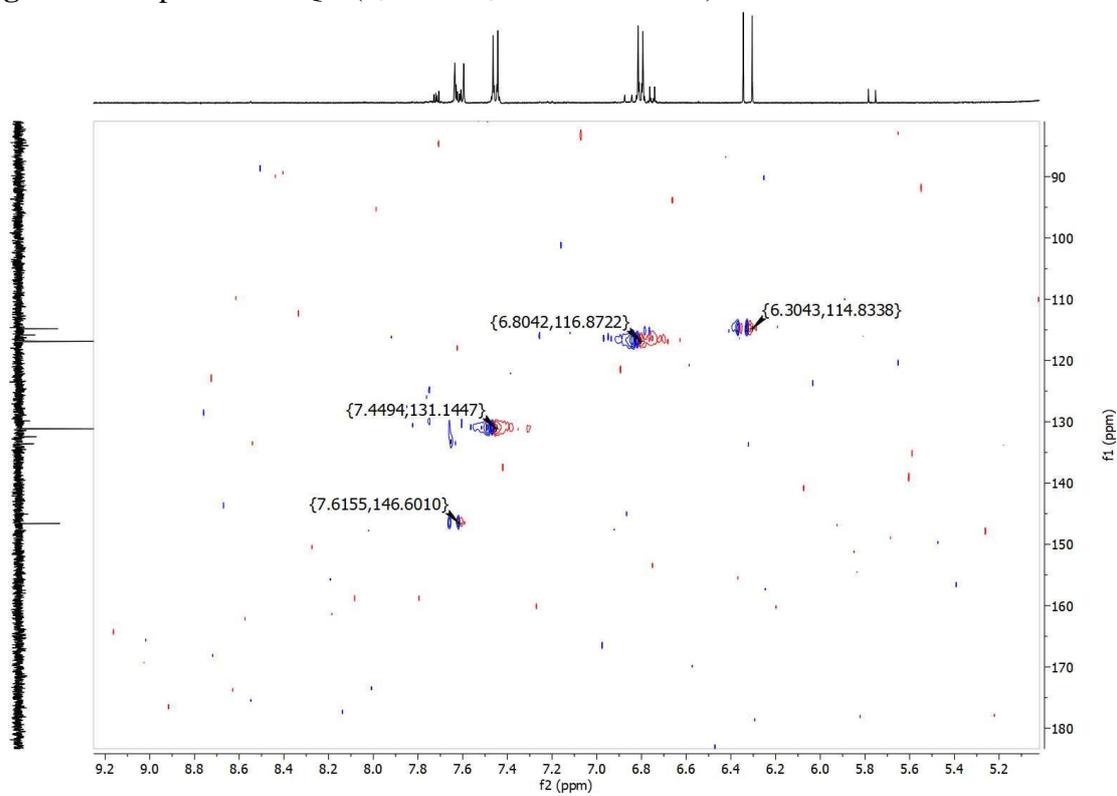
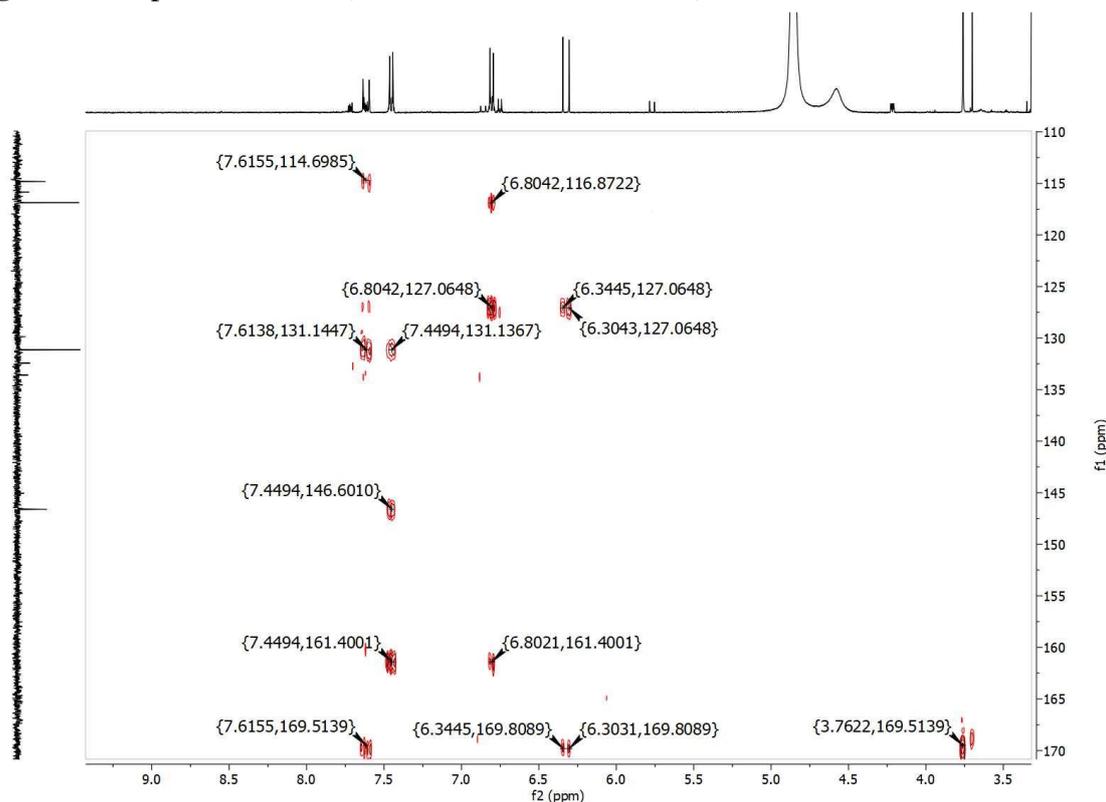


Figura 60: Espectro HMBC (δ , CD₃OD, 400 e 100 MHz) de *Sl-3*.



5.2.4 Caracterização estrutural de *Sl-4*

A substância *Sl-4* apresentou-se como um pó amorfo de cor amarelada e solúvel em metanol. O espectro de RMN ¹H e expansões (Figuras 61-63) obtidos a 500 MHz em CD₃OD, apresentou deslocamentos químicos sugestivos de um sistema aromático AA'BB', que corresponde ao anel B de flavonoide, com dois dupletos em δ_H 6,89 e δ_H 8,05 integrando para dois hidrogênios cada com constantes de acoplamento ($J= 8,9$ Hz) *orto*, estes sinais foram então associados aos conjuntos de hidrogênios H2'/H6' e H3'/H5'. Além desses sinais é possível demonstrar que *Sl-4* possui o anel A dissustituído, já que apresenta dubletos acoplados em meta, com sinais em δ_H 6,36 e δ_H 6,17 ($J=2,0$ Hz), os quais são condizentes com os hidrogênios H-8 e H-6, respectivamente. Reforçando que o composto *Sl-4* é um derivado do canferol (TELES et al., 2015; DANTAS, 2018).

A ausência de um simpleto em aproximadamente δ_H 6,8 que é característico do hidrogênio da posição 3 de flavonas juntamente com a presença de sinais característicos de açúcar na região de δ_H 3,39-3,70 ppm, indicam que esta posição poderia estar substituída. O espectro de RMN ¹H exibiu ainda um duplete em δ_H 5,19 com constante de acoplamento igual a 7,5 Hz referente ao hidrogênio anomérico, sugerindo que *Sl-4*

trata-se de um β glicosídeo, assim teríamos a inserção desta unidade osídica no carbono 3 (Tabela 6, pág. 101).

O espectro de RMN ^{13}C (Figura 64, pág. 104) corrobora com a proposta de que *Sl-4* se trata de um glicosídeo flavonoídico, destacando-se o carbono metínico em δ_{C} 104,3 correspondente ao carbono anomérico. Após análise dos espectros de correlação heteronuclear HMBC (Figura 65, 104), é possível notar a correlação entre o sinal em δ_{H} 5,19, correspondente ao hidrogênio do carbono anomérico da unidade osídica, com δ_{C} 133,3 (C-3) confirmou a eterificação no carbono C-3 da alicona, permitindo identificar após comparação com dados da literatura a substância *Sl-4* como sendo canferol-3-O- β -D-glicopiranosídeo (DANTAS, 2018), conhecida como astragalina. Este flavonoide é comum na família Malvaceae e pela primeira vez isolado na espécie *Sida linifolia*.

Sl-4: canferol 3-O- β -D-glicopiranosídeo (Astragalina)

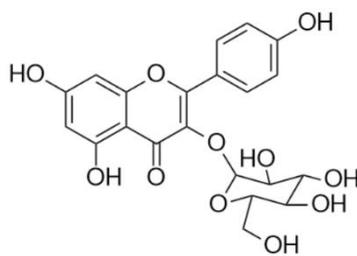


Tabela 6: Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) de *Sl-4* comparados com o modelo da literatura (δ , CD_3OD , 400 e 100 MHz) (DANTAS, 2018).

C	Mo-1 - Astragalina		<i>Sl-4</i>	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	-	158,5	-	158,6
3	-	135,4	-	133,3
4	-	179,5	-	179,2
5	-	163,0	-	162,8
6	6,20 (d, 1H, $J=2\text{Hz}$)	99,9	6,17 (d, 1H, $J=2\text{Hz}$)	100,6
7	-	167,3	-	168,1
8	6,40 (d, 1H, $J=2\text{Hz}$)	94,7	6,36 (d, 1H, $J=2\text{Hz}$)	95,3
9	-	159,1	-	158,8
10	-	105,7	-	105,0
1'	-	122,7	-	122,8
2' 6'	8,04 (d, 2H, $J=8,8\text{ Hz}$)	132,2	8,05 (d, 2H, $J=8,9\text{ Hz}$)	132,2
3' 5'	6,88 (d, 2H, $J=8,9\text{ Hz}$)	116,0	6,89 (d, 2H, $J=8,9\text{ Hz}$)	116,1
4'	-	161,1	-	161,5

Tabela 6 (cont.): Dados comparativos de RMN ^1H e ^{13}C (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) de *SI-4* comparados com o modelo da literatura (δ , CD_3OD , 400 e 100 MHz) (DANTAS, 2018).

1''	5,23 (d, 1H, $J=7,6$ Hz)	104,0	5,19 (d, 1H, $J=7,5$ Hz)	104,3
2''	3,17 – 3,21 (m)	75,7	3,17 – 3,21 (m)	75,7
3''	3,27 – 3,45 (m)	78,0	3,39 – 3,47 (m)	78,0
4''	3,27 – 3,45 (m)	71,3	3,39 – 3,47 (m)	71,3
5''	3,27 – 3,45 (m)	78,4	3,39 – 3,47 (m)	78,3
6''	3,51 (dd, $J = 5,6$ e 12 Hz) e 3,68 (dd, $J = 2,4$ e 12 Hz)	62,6	3,53 (dd, $J = 5,4$ e 11,9 Hz) e 3,68 (dd, $J = 2,3$ e 11,8 Hz),	62,6

Figura 61: Espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de *SI-4*.

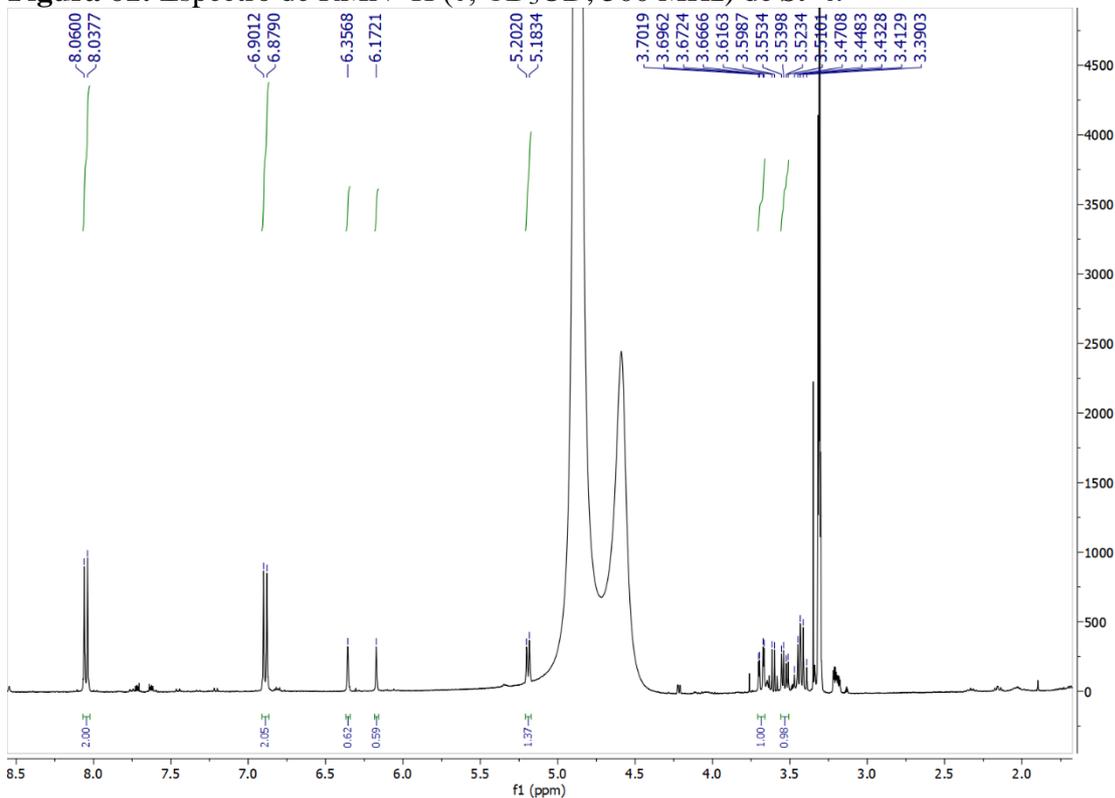


Figura 62: Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de *SI-4*.

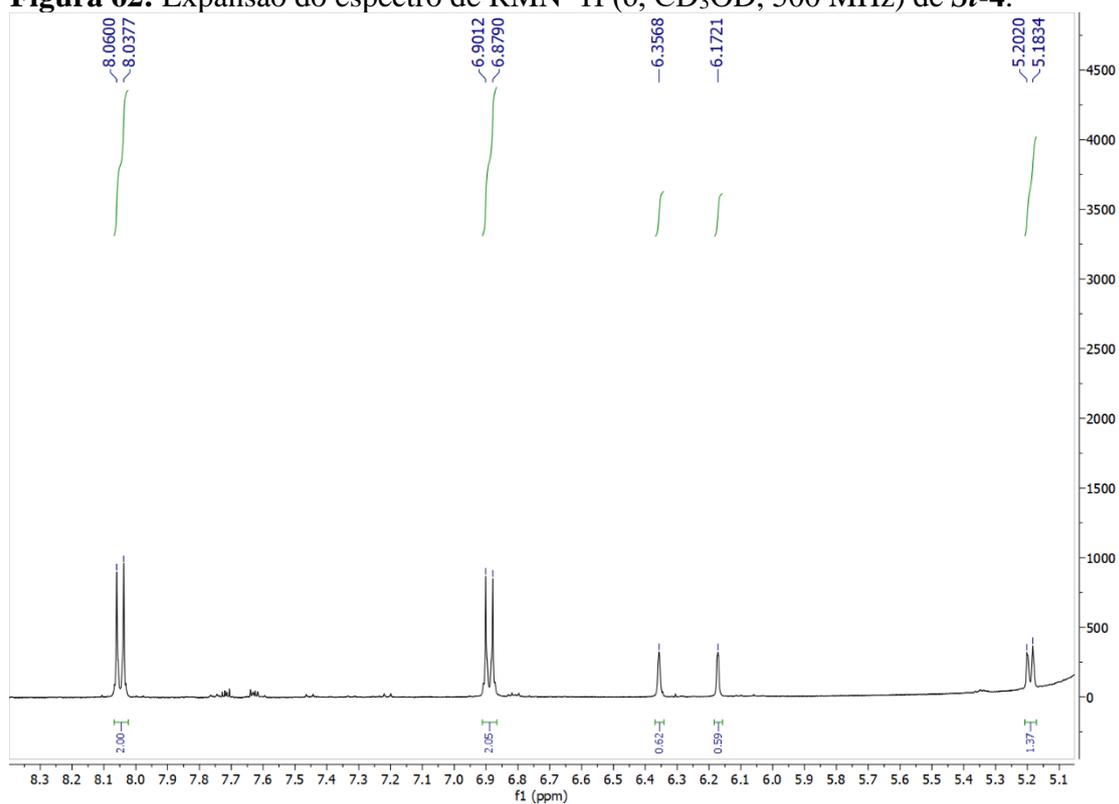


Figura 63: Expansão do espectro de RMN ^1H (δ , CD_3OD , 500 MHz) de *SI-4*.

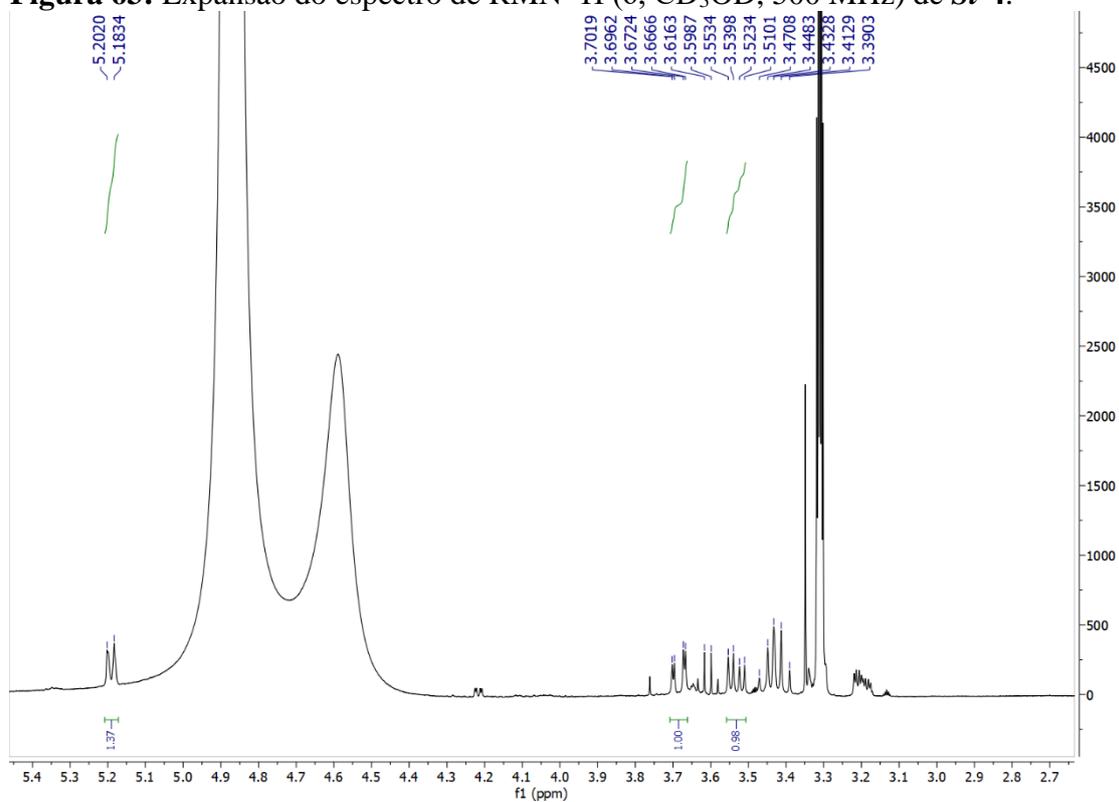


Figura 64: Espectro de RMN ^{13}C (δ , CD_3OD , 125 MHz) de *SI-4*.

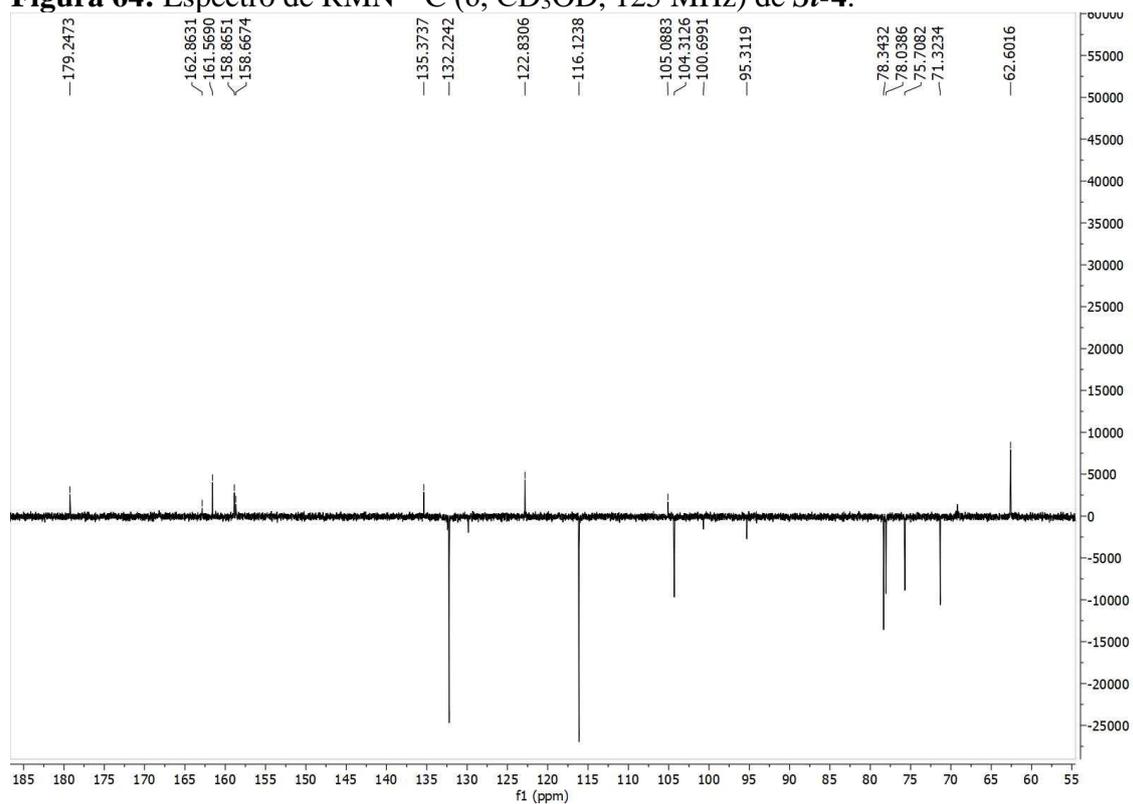
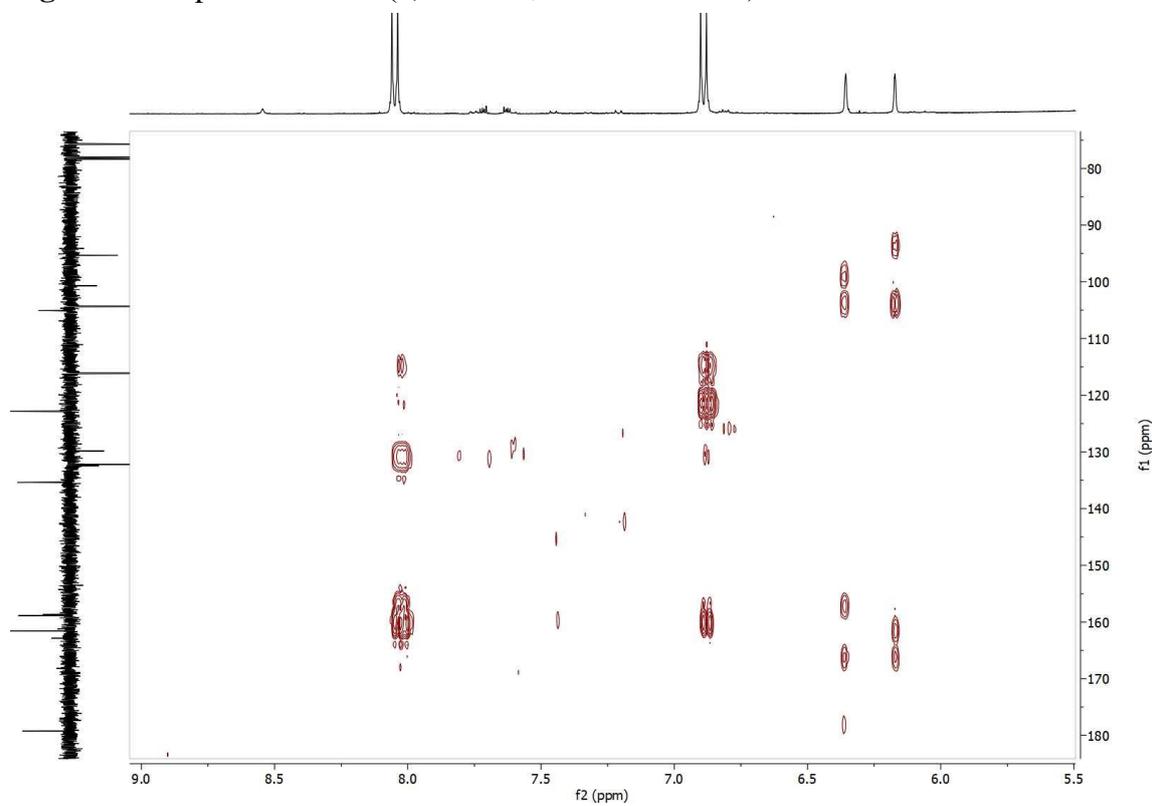


Figura 65: Espectro HMBC (δ , CD_3OD , 500 e 125 MHz) de *SI-4*.



5.3 Substâncias identificadas da fase hidroalcoólica de *Sida linifolia* por CLAE-MS/MS

A fase hidroalcoólica de *Sida linifolia* foi analisada por CLAE-EM/EM (Figuras 66 e 67) para identificar os compostos presentes, pois é uma amostra de natureza complexa e os seus estudos na literatura são escassos. Foram identificados onze compostos (**1-11**) a partir da interpretação dos padrões de fragmentação presentes nos espectros de massas e comparações com os dados da literatura. Os tempos de retenção e os dados do espectro de massas, juntamente com as atribuições dos picos para cada composto foram identificados utilizando ionização negativa, e estão descritos na tabela 7 (pág. 108) e figura 68 (pág. 109). A partir dos espectros de massas e das fragmentações nas figuras 69 a 90 houve a identificações destes metabólitos.

Figura 66: Cromatograma da fase hidroalcoólica de *Sida linifolia*.

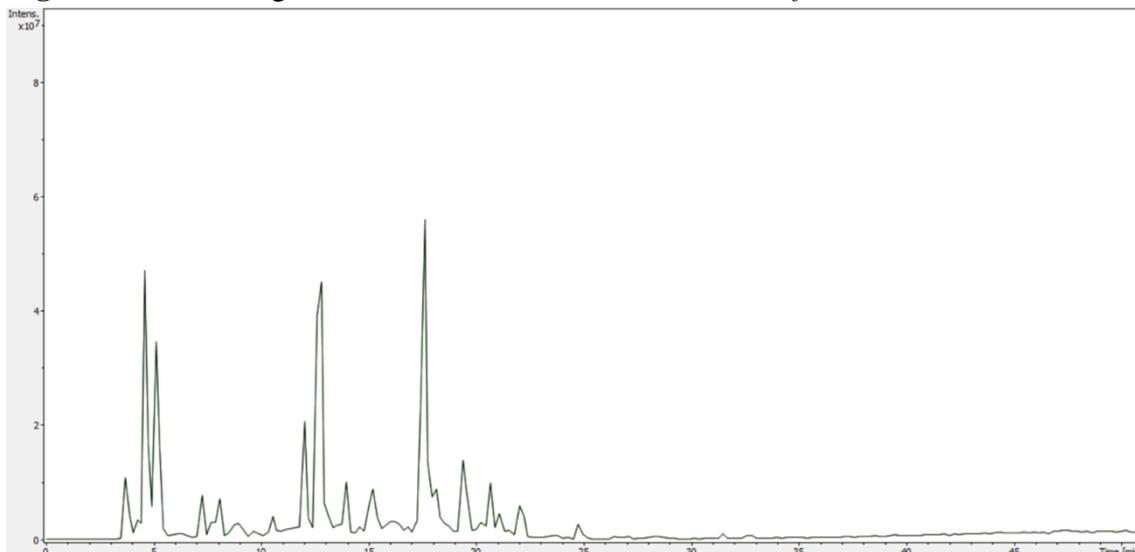
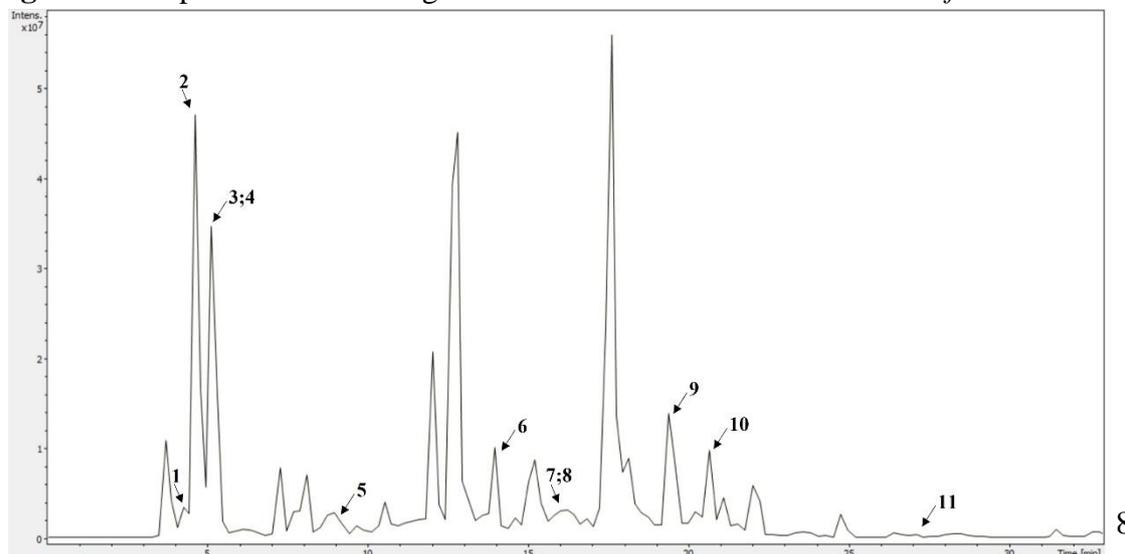


Figura 67: Expansão do cromatograma da fase hidroalcoólica de *Sida linifolia*.



O perfil analítico da fase hidroalcoólica de *Sida linifolia* é semelhante ao de *Sida acuta* apresentado anteriormente. Foi possível também identificar ácidos fenólicos e flavonoides, que foram isolados na fase acetato de etila deste trabalho, apresentando fragmentos característicos e assim, sendo possível a comparação com dados da literatura.

Durante o processamento dos espectros foi possível notar sinais típicos de aglicona em m/z 301 $[M-H]^-$ e m/z 285 $[M-H]^-$, correspondendo respectivamente a quercetina e canferol (BRITO et al., 2014), e esses fragmentos de íons de origem ocorrem devido à clivagem homolítica e heterolítica que ocorre nas ligações glicosídicas dos compostos químicos (CUYCKENS & CLAEYS, 2004), além de notar com frequência a presença do ácido caféico nos compostos identificados.

Os compostos **1** (Tr 4,5 min) e **2** (Tr 4,6 min) de *Sida linifolia* possuem o mesmo padrão de fragmentação dos compostos **1** e **2** de *Sida acuta* (Ácido caféico hexosídeo I (**1**) e derivado do ácido caféico (**2**), sendo comuns à estas espécies de Malvaceae. São metabólitos secundários derivados do ácido caféico, o qual age como intermediário na biossíntese da maioria dos compostos fenólicos, podendo ser ativados pela luz UV ou liberado no solo (BEZERRA et al., 2020) (Tabela 7, pág. 108).

Condizente com estes metabólitos, foi possível propor para o composto **10** (Tr 20,7 min e m/z 179 $[M-H]^-$) a fórmula molecular ($C_9H_8O_4$) e sugerir que este tratava-se do ácido caféico, uma vez que ao ser comparado com dados da literatura apresentou fragmentação características desta substância com íons filhos em m/z 135 e 109 (MIZGIER et al., 2016) (Tabela 7, pág. 108).

Os picos referentes aos composto **3** (m/z 594 $[M-H]^-$) e **5** (m/z 449 $[M-H]^-$) levou a sugerir que poderia trata-se de duas antocianinas. O composto **3** (Tr 5,3 min) apresentou uma perda neutra de 309 Da, característico da saída de uma unidade de açúcar conhecida como rutinosídeo (glicose + ramnose, $C_{12}H_{21}O_9$), resultando no fragmento m/z 290, condizente com o núcleo da aglicona, denominada cianidina ($C_{15}H_{11}O_6$). O composto **5** (Tr 9,3 min) gerou um íon filho em m/z 287, referente a saída de 162 Da que se refere a molécula de glicose. Esse fragmento mostrou que o composto **5**, assim como o **3** corresponde da cianidina na sua forma heterosídica, porém com uma molécula de glicose e não ramnose. Assim, foi possível sugerir que o composto **3** se referia a cianidina-3-*O*-rutinosídeo ($C_{27}H_{31}O_{15}$) e o composto **5** a cianidina-3-*O*-glicosídeo ($C_{21}H_{21}O_{11}$) (YANG et al., 2018; ABDELHAFEZ et al, 2019) (Tabela 7, pág. 108). Portanto, a diferença entre elas, encontra-se na unidade osídica.

O composto **4** (Tr 5,5 min) mostrou um íon pai m/z 133 $[M-H]^-$ sugerindo tratar-se do ácido málico ($C_4H_6O_5$). A presença do íon m/z 115 como pico base confirmou a proposta, visto que se pode observar a saída de uma unidade de água (HASIMID et al., 2017; MOUSAVI et al., 2020) (Tabela 7, pág. 108).

O composto **6** apresentou como íon molecular m/z 563 $[M-H]^-$. Houve uma perda de 252 Da resultando no pico base m/z 311. A partir do íon molecular ocorreu a saída de 46 Da ($-CH_2O_2$) e resultou em um íon produto m/z 517, também foi possível observar o íon m/z 447. Após obtenção desses fragmentos se pôde propor que o composto **6** 5,6,7,4'-tetrahidroxiflavona-6-*O*- β -D-arabinopiranosil-7-*O*- α -L-rhamnopiranosideo, um flavonoide que apresenta em sua estrutura duas pentoses (JIA et al., 2011; ABDELHAFEZ et al., 2019) (Tabela 7, pág. 108).

O íon pai m/z 401 $[M-H]^-$, referente ao composto **7** (Tr 16,3 min), apresentou como pico base o íon m/z 269, referente a perda de 132 Da que foi atribuída a saída de uma pentose, além do íon m/z 161 que foi detectado após uma perda de 108 Da do íon filho m/z 269. Após comparações com dados da literatura foi possível propor que a molécula em análise se tratava de um álcool benzílico hexose pentose (MOCO et al., 2006; BYSTROOM et al., 2008) (Tabela 7, pág. 108).

O íon molecular desprotonado $[M-H]^-$ em m/z 593 forneceu como pico base m/z 353, após uma perda de 240 Da. Além disso, a partir do íon pai m/z 593 aconteceu a perda de 210 Da fornecendo o íon filho m/z 383. A partir de comparações com dados da literatura, é sugerido que o composto **8** (Tr 16,3 min) apresente substituições C-6 e C-8, sendo identificado como 6,8-*C*-diglicosil-apigenina (UYSAL et al., 2021) Tabela 7, pág. 108).

O composto **9** (Tr 19,4 min) foi proposto como rutina com base no íon molecular m/z 609 $[M-H]^-$ e como pico base MS^2 o fragmento m/z 301, obtido a partir da perda da porção do açúcar rutinosídeo e é compatível com a quercetina (MATEOS et al., 2018; SOUZA et al., 2020) (Tabela 7, pág. 108). Substância identificada em *Sida acuta*, composto 13.

O íon molecular (m/z 593 $[M-H]^-$) apresenta o mesmo perfil de fragmentação que o composto 18 identificado em *Sida acuta*, apresentando a presença do grupo cumaroil e da hexose, desta forma o composto **11** (Tr 27,2 min) foi caracterizado como canferol-3-*O*-cumaroilglicosideo (FELIPE et al., 2014; MATEOS et al., 2018), conhecido como tilirosídeo (Tabela 7, pág. 108).

Tabela 7: Íons m/z [M-H]⁻, Fragmentos MSⁿ dos compostos obtidos por CLAE-EM/EM da Fase hidroalcoólica de *Sida linifolia*.

Compostos	Tr (min)	[M - H] ⁻	Íons fragmentos m/z	Tentativa de identificação	Referências
1	4,5	341	179 161 143	Ácido caféico hexosídeo I	Said et al., 2017
2	4,6	377	341 179 161	Derivado do ácido caféico	Bystroom et al, 2008
3	5,3	594	290	Cianidina-3- <i>O</i> -rutinosídeo	Abdelhafez et al, 2019
4	5,5	133	115	Ácido málico	Hasimid et al, 2017; Mousavi et al., 2020
5	9,3	449	287	Cianidina-3- <i>O</i> -glicosídeo	Yang et al., 2018
6	14,2	563	517 447 311	5,6,7,4'-tetrahidroxiflavona-6- <i>O</i> -β-D-arabinopiranosil-7- <i>O</i> -α-L-rhamnopiranosídeo	Abdelhafez et al., 2019
7	16,3	401	269 161	Álcool benzílico hexose pentose	Moco et al., 2006; Bystroom et al., 2008
8	16,3	593	383 353	6,8-diglicosil-apigenina	Uysal et al., 2021
9	19,4	609	301	Rutina	Hasimid et al., 2017
10	20,7	179	135 109	Ácido caféico	Mizgier et al., 2016
11	27,2	593	447 307 285 255	Tiliosídeo (Canferol-3- <i>O</i> -coumaroilglicosídeo)	Felipe et al., 2014; Mateos et al., 2018

Figura 68: Substâncias identificadas na fase hidroalcoólica de *Sida linifolia*.

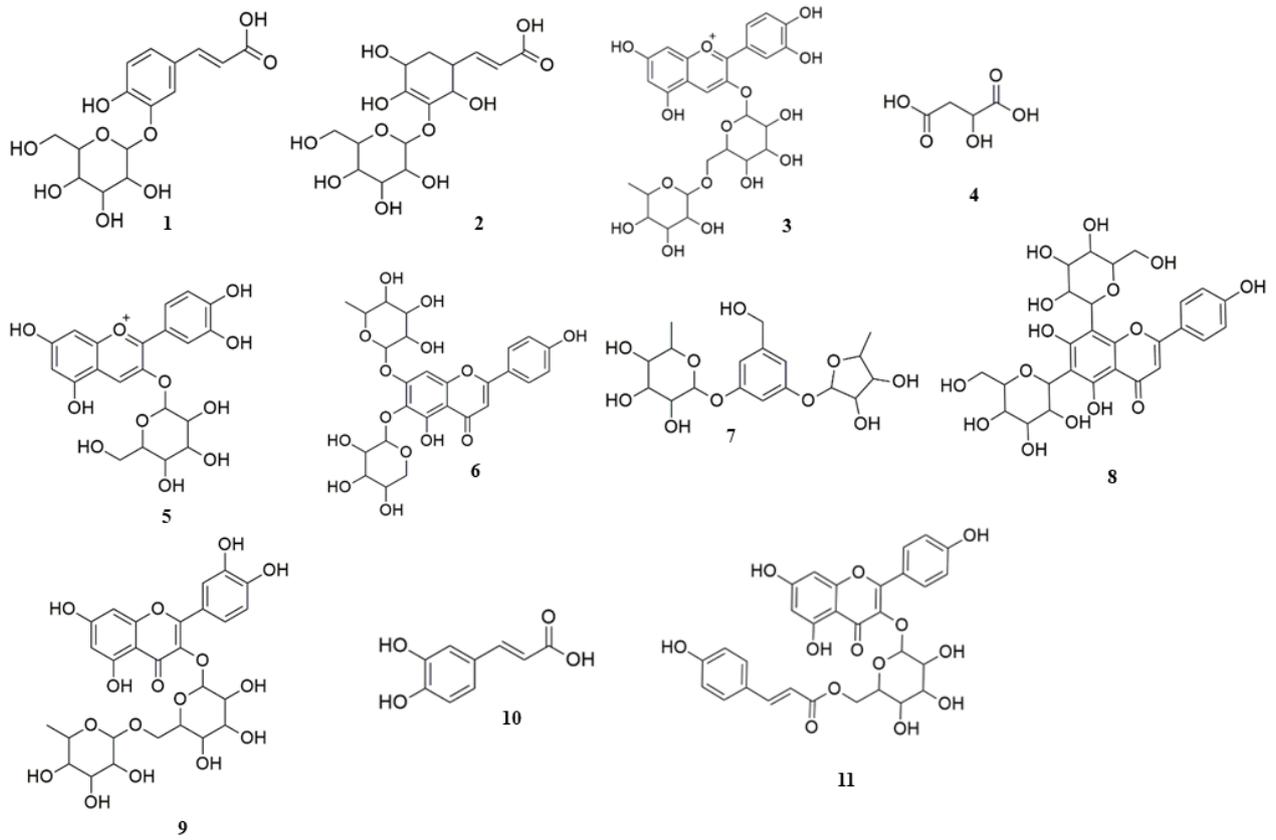


Figura 69: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 341, referente à ionização do composto 1.

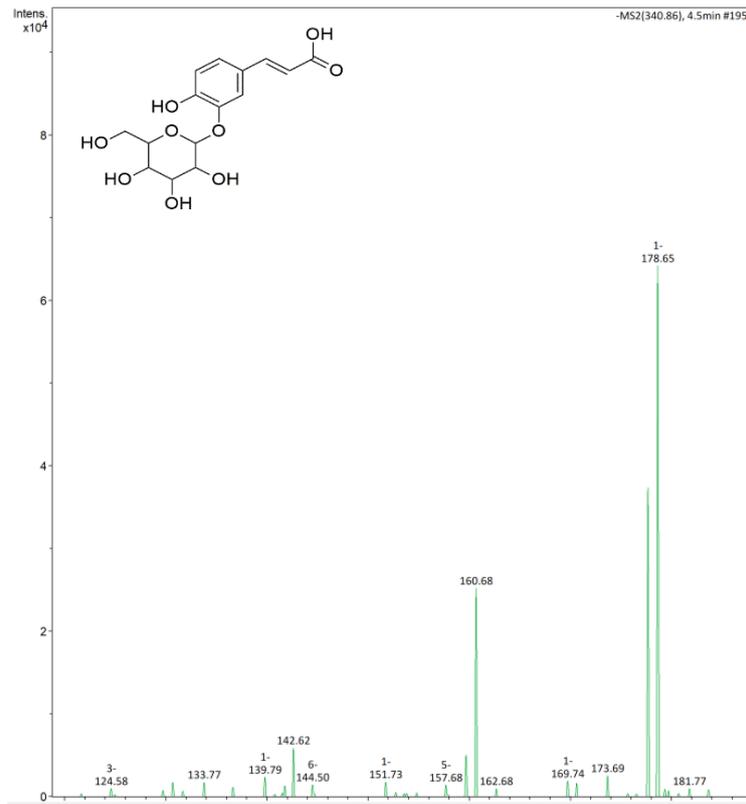


Figura 70: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 377, referente à ionização do composto **2**.

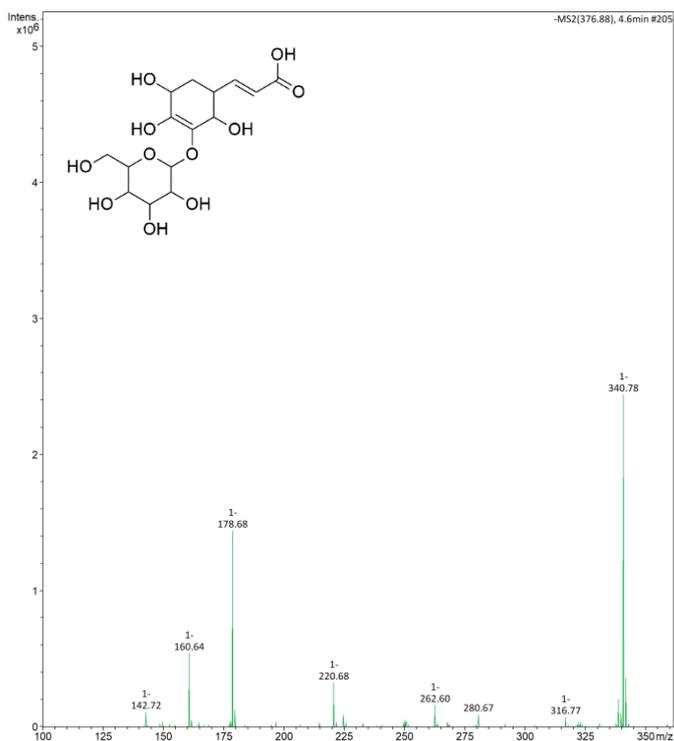


Figura 71: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 594, referente à ionização do composto **3**.

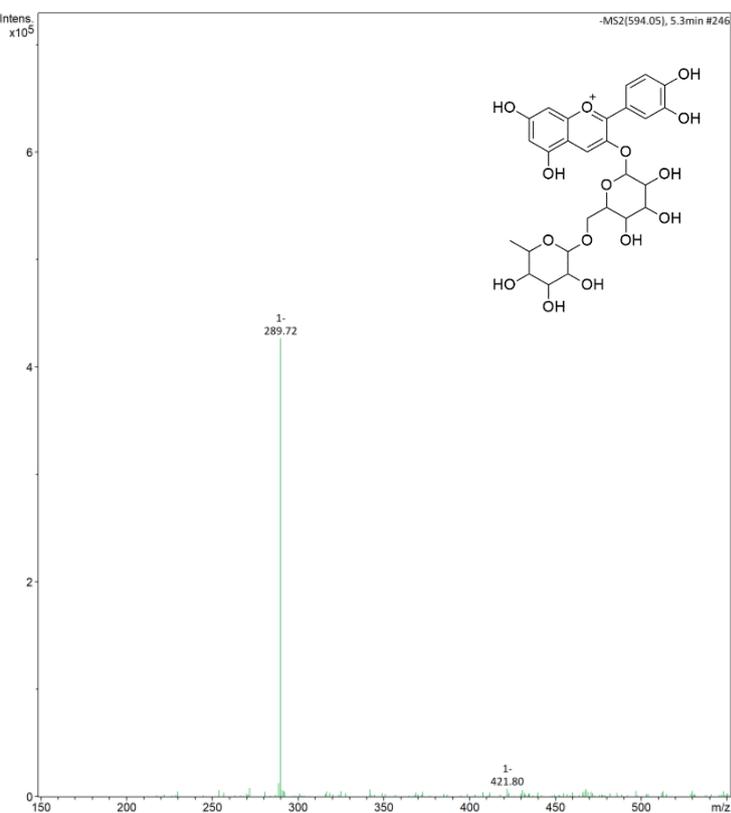


Figura 72: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 133, referente à ionização do composto **4**.

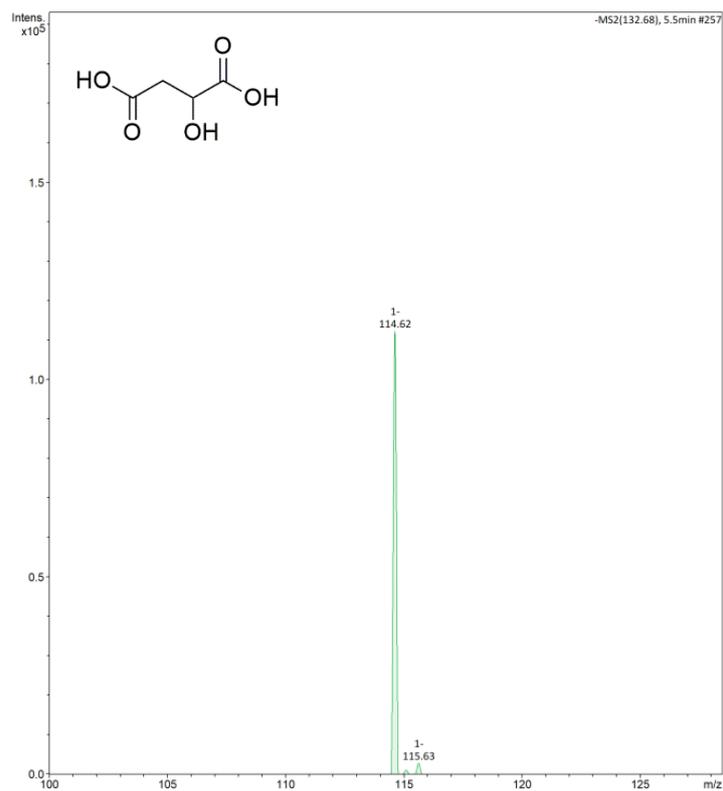


Figura 73: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 449, referente à ionização do composto **5**.

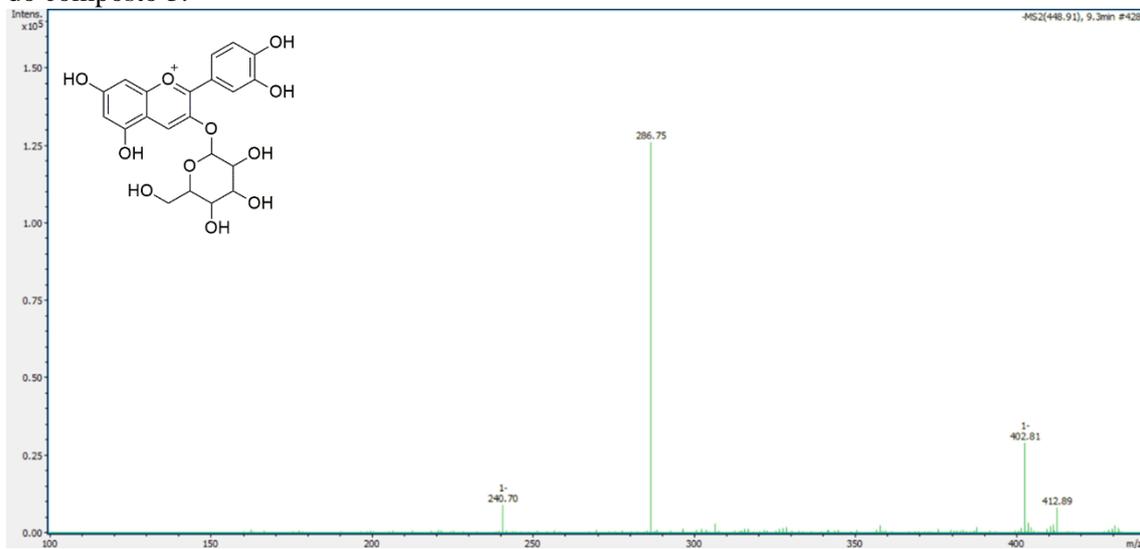


Figura 74: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 563, referente à ionização do composto **6**.

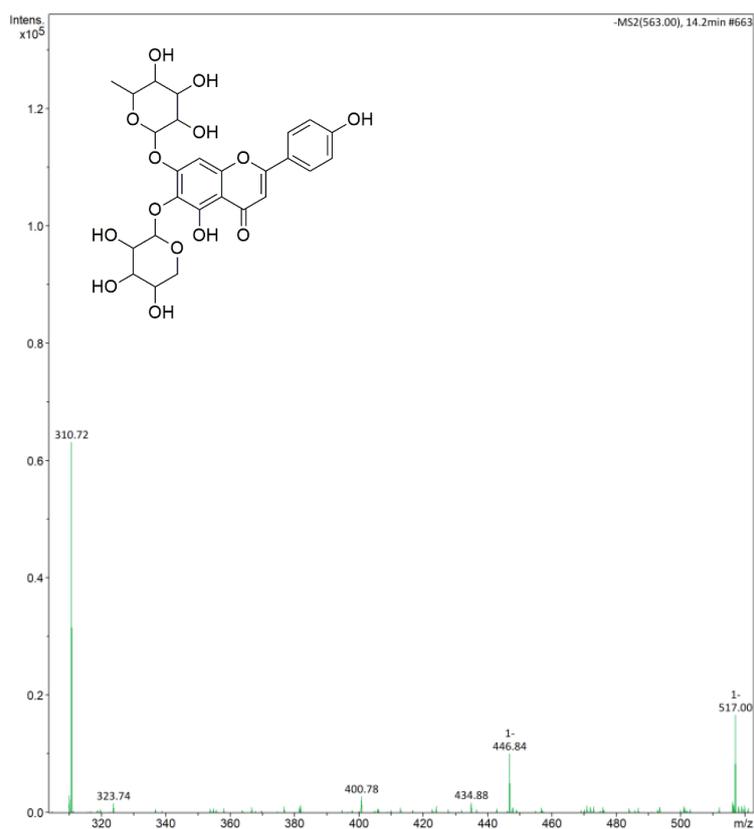


Figura 75: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 401, referente à ionização do composto **7**.

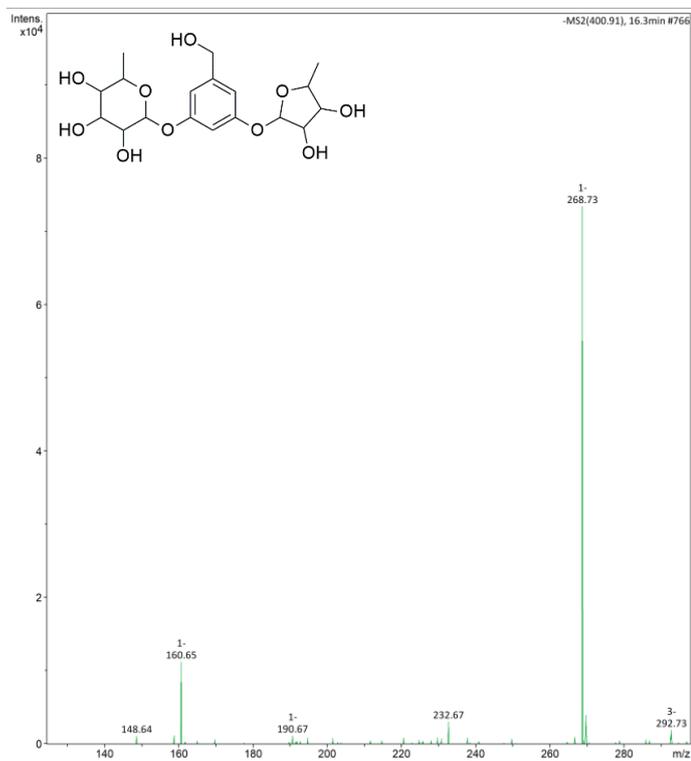


Figura 76: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 593, referente à ionização do composto **8**.

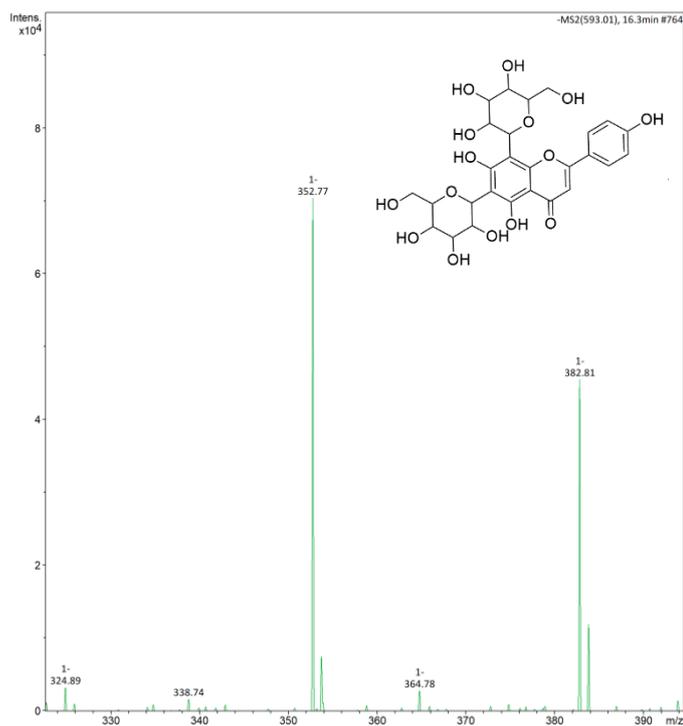


Figura 77: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 609, referente à ionização do composto **9**.

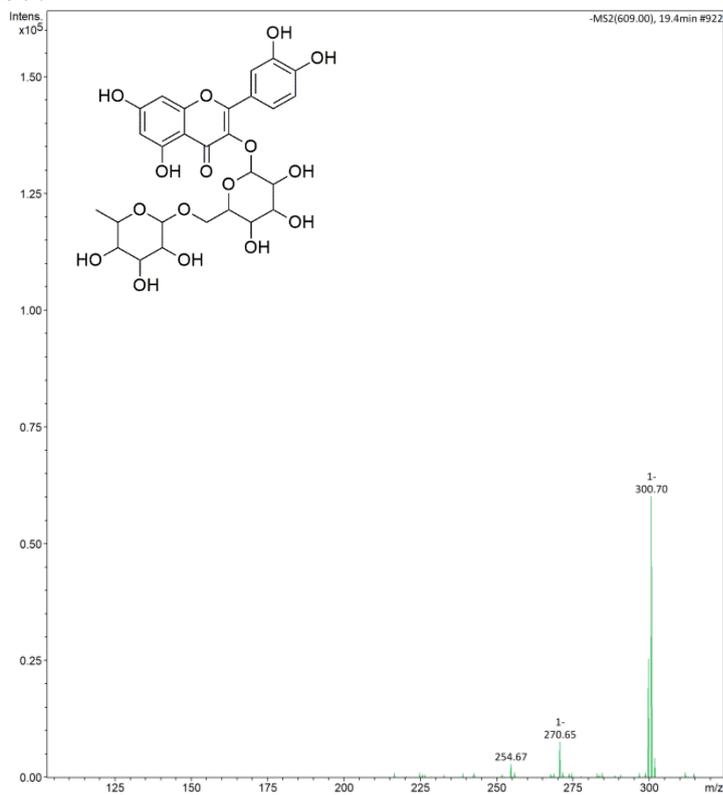


Figura 78: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 179, referente à ionização do composto **10**.

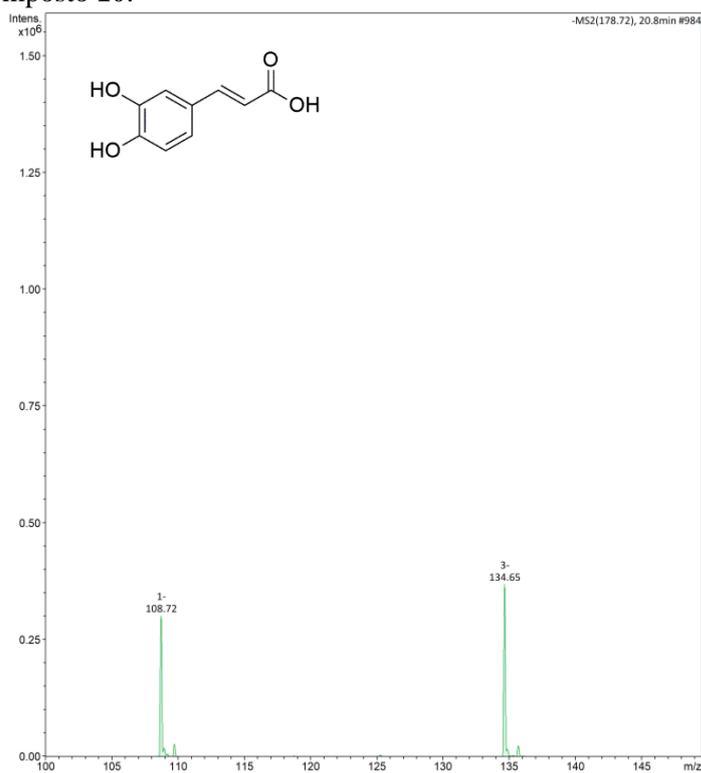


Figura 79: Espectro de IES-EM/EM com as fragmentações do íon m/z 593, referente à ionização do composto **11**.

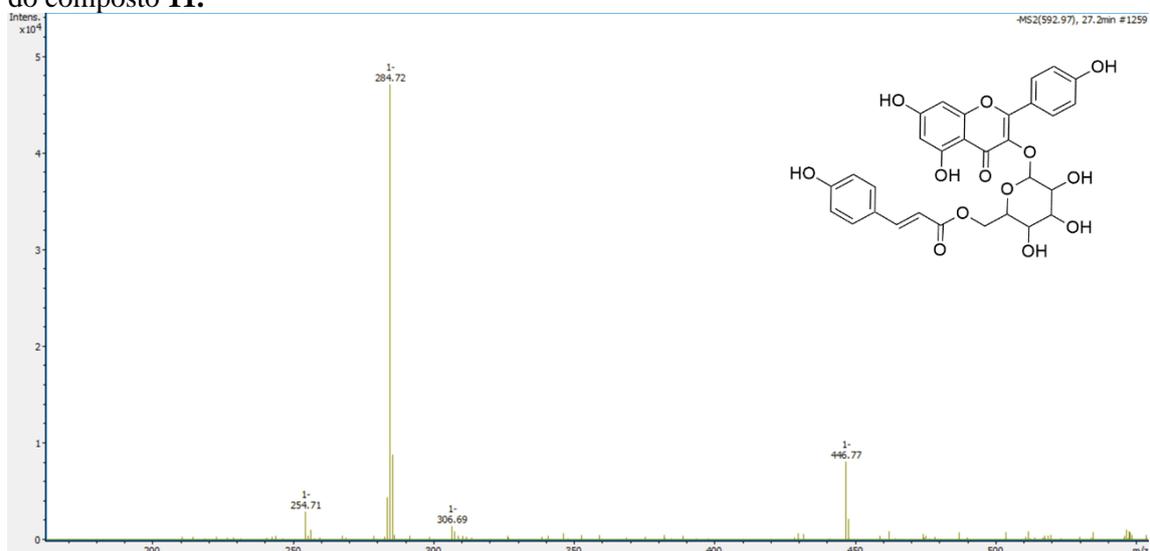
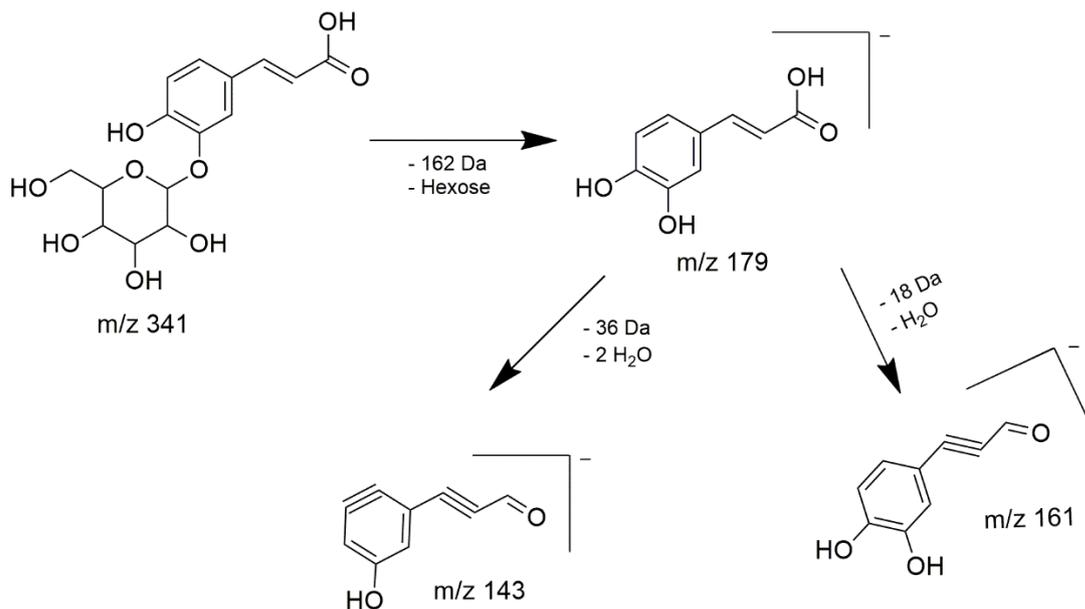
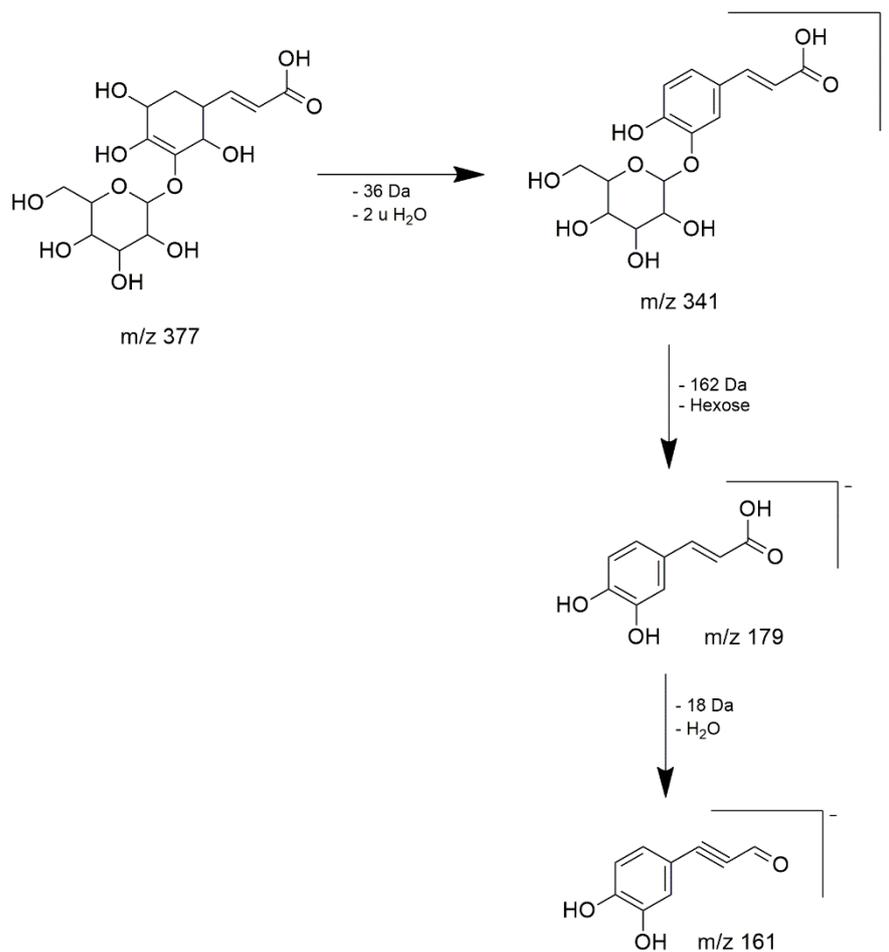


Figura 80: Via de fragmentação do composto 1, em IES-EM/EM modo negativo.



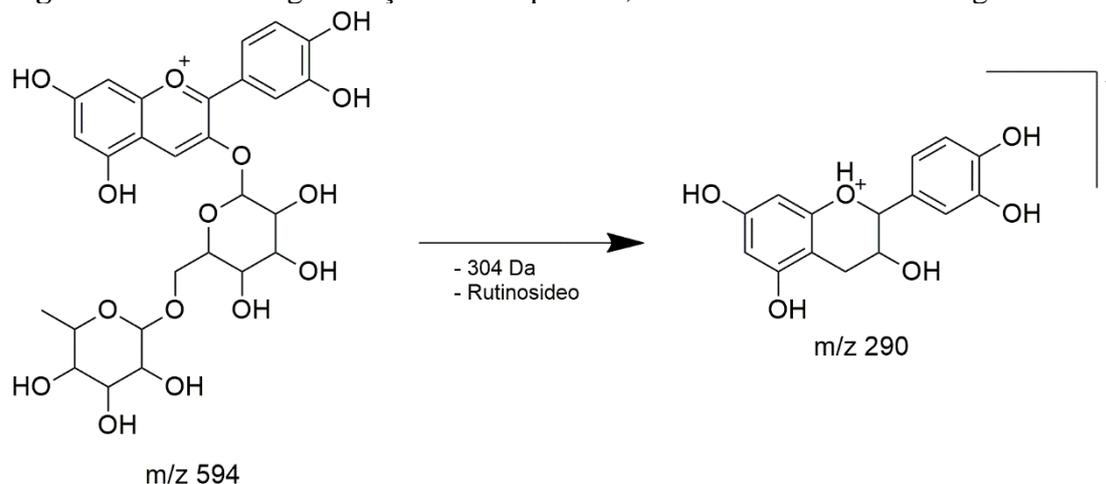
Fonte: Adaptado de Said et al., 2017.

Figura 81: Via de fragmentação do composto 2, em IES-EM/EM modo negativo.



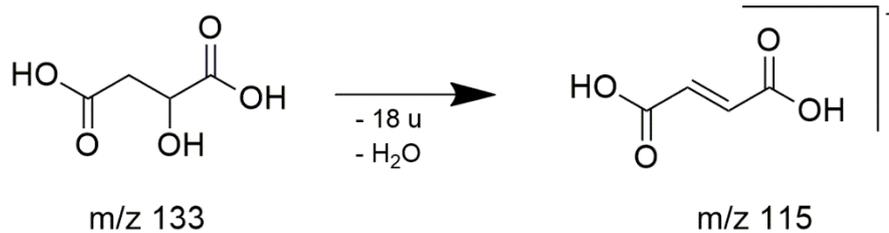
Fonte: Adaptado de Bystroom et al., 2008.

Figura 82: Via de fragmentação do composto **3**, em IES-EM/EM modo negativo.



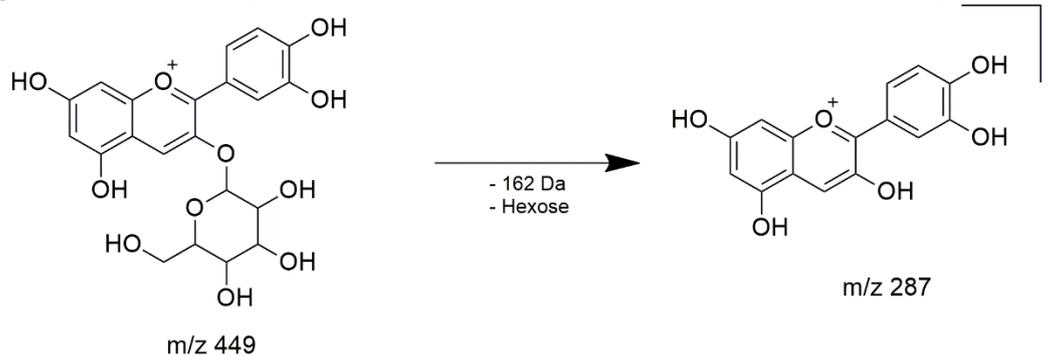
Fonte: Adaptado de Abdelhafez et al., 2019.

Figura 83: Via de fragmentação do composto **4**, em IES-EM/EM modo negativo.



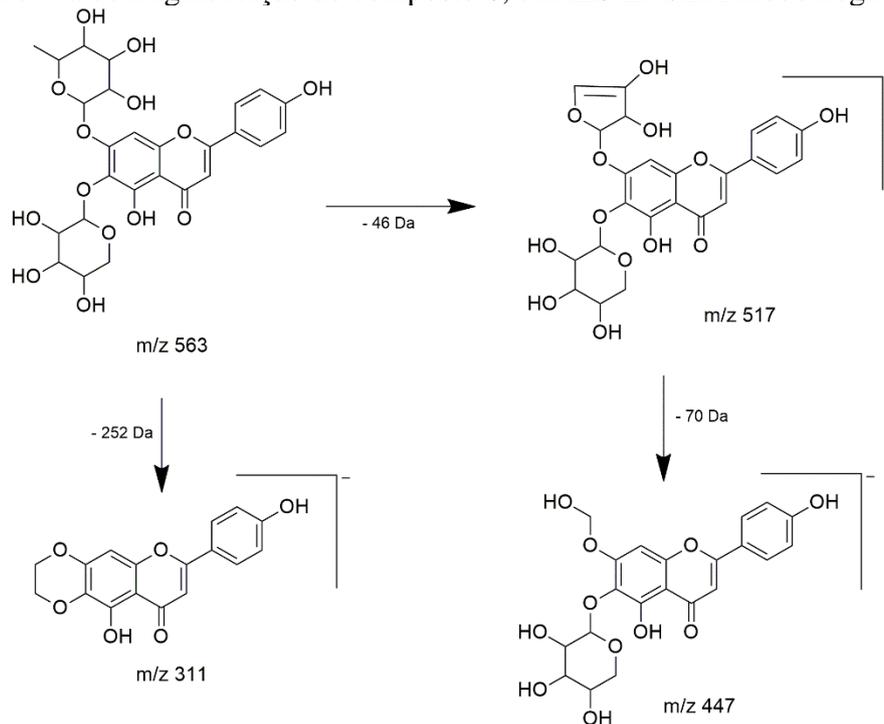
Fonte: Adaptado de Mousavi et al., 2020.

Figura 84: Via de fragmentação do composto **5**, em IES-EM/EM modo negativo.



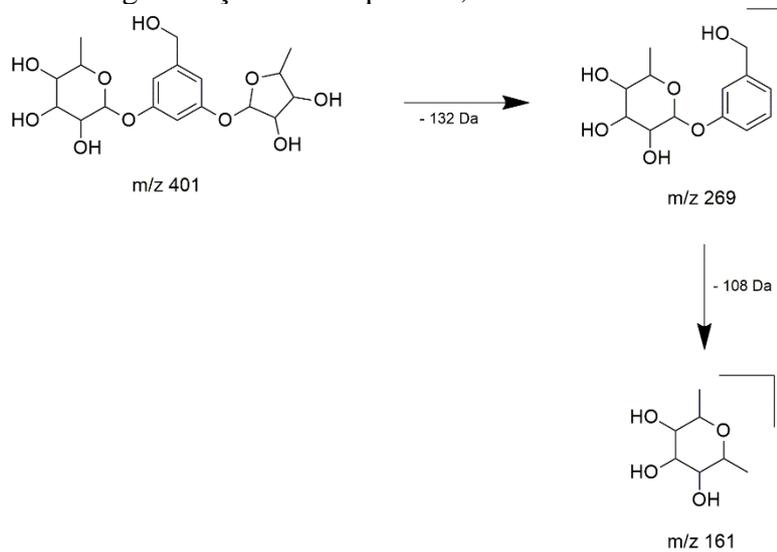
Fonte: Adaptado de Yang et al., 2018.

Figura 85: Via de fragmentação do composto **6**, em IES-EM/EM modo negativo.



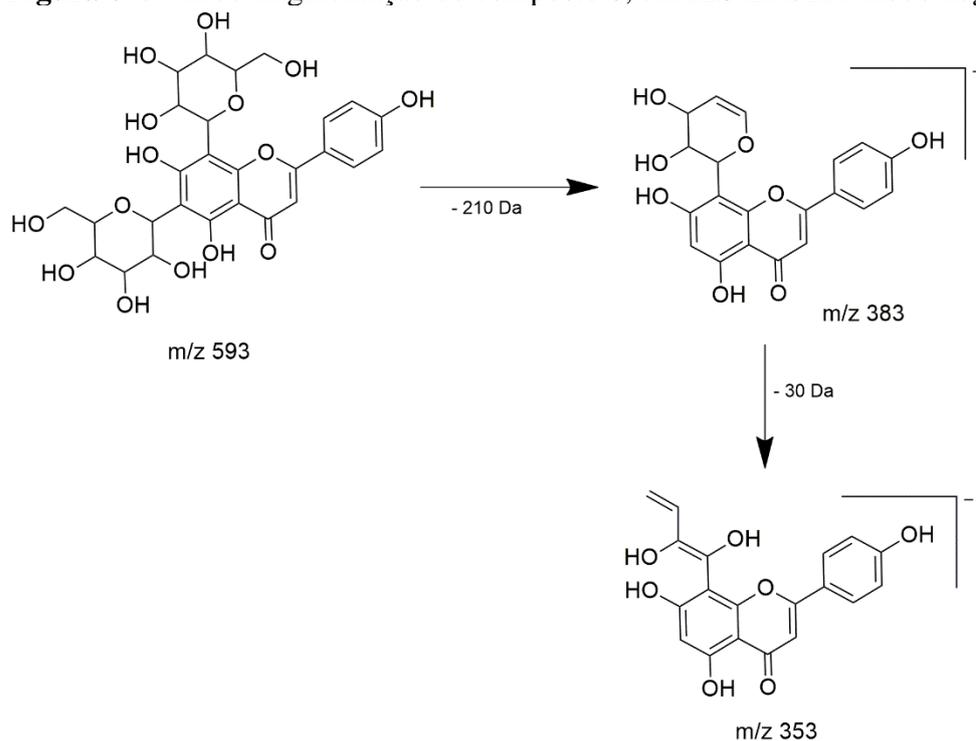
Fonte: Adaptado de Abdelhafez et al., 2019.

Figura 86: Via de fragmentação do composto **7**, em IES-EM/EM modo negativo.



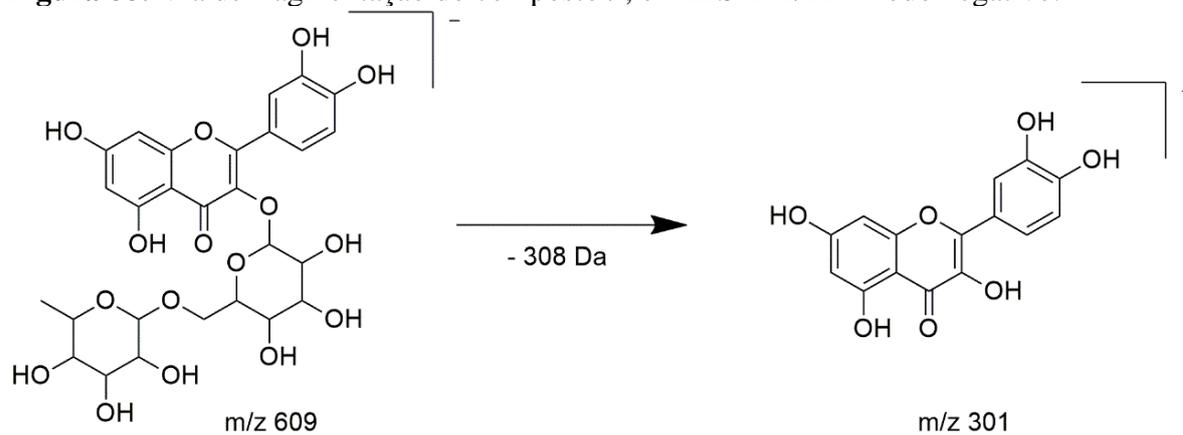
Fonte: Adaptado de Moco et al., 2006.

Figura 87: Via de fragmentação do composto **8**, em IES-EM/EM modo negativo.



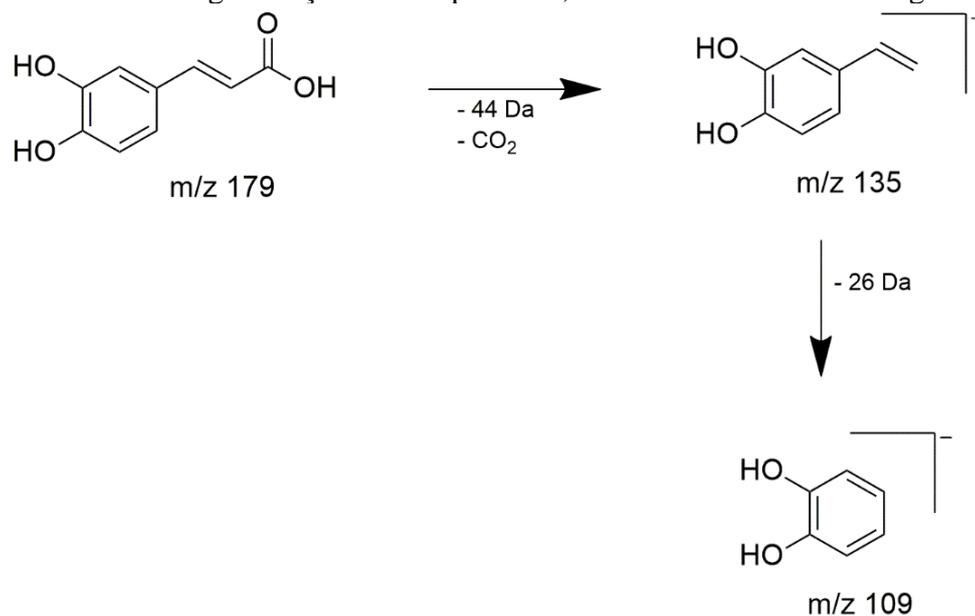
Fonte: Adaptado de Uysal et al., 2021.

Figura 88: Via de fragmentação do composto **9**, em IES-EM/EM modo negativo.



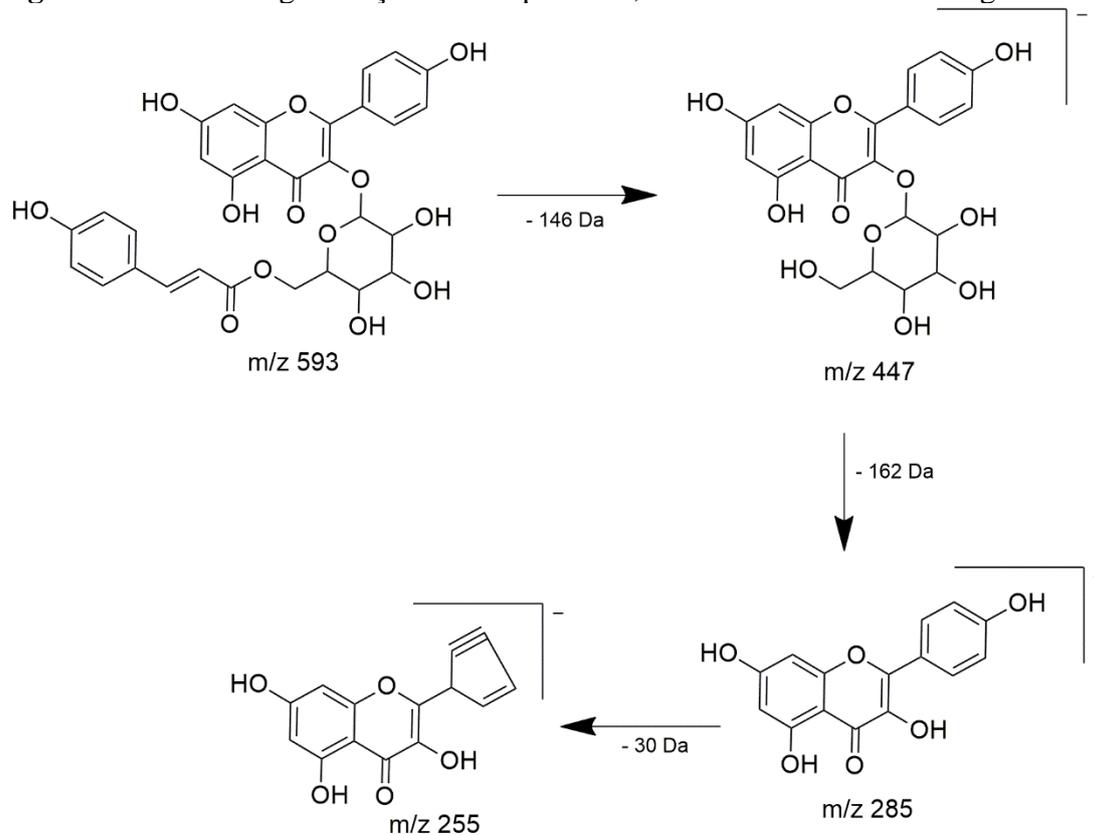
Fonte: Adaptado de Hasimid et al., 2017.

Figura 89: Via de fragmentação do composto **10**, em IES-EM/EM modo negativo.



Fonte: Adaptado de Mizgier et al., 2016.

Figura 90: Via de fragmentação do composto **11**, em IES-EM/EM modo negativo.



Fonte: Adaptado de Mateos et al., 2018.

5.4 Caracterização da nanoemulsão com tilirosídeo

5.4.1 Formulação e incorporação do Tilirosídeo na NE

A seleção dos constituintes foi realizada levando em consideração as características do composto a ser incorporado, a obtenção das propriedades desejadas do sistema de interesse, como também de algumas particularidades por exemplo, a via de administração e sua biocompatibilidade. A tabela 8, apresenta os componentes da formulação que foram utilizados.

Tabela 8: Composição final das NELF para 3g de formulação.

Componentes	Concentração (%)	Massa (g)
Miglyol® 812	5	0,15
Tween® 80	4	0,12
Fosfatidilcolina de soja	1	0,03
Glicerina	10	0,30
Poloxamer 407	10	0,30
Água purificada	70	2,10

Fonte: Dados da pesquisa.

A escolha dos componentes adequados, capazes de formar mono ou multicamadas em torno das gotículas oleosas, de forma a reduzir a tensão interfacial e/ou aumentar a repulsão entre as gotículas, é um dos principais motivos relacionados à estabilidade do sistema de liberação (BRUXEL et al., 2012). Usa-se o equilíbrio hidrofílico-lipofílico (EHL) na escolha de tensoativos adequados para preparação de sistemas emulsionados. Assim, utilizam-se tensoativos de EHL no intervalo 3-6 para se obter emulsões água/óleo e intervalo de 8-18 para emulsões óleo/água (MORAIS, 2006).

Os triglicerídeos são altamente lipofílicos e sua capacidade solvente para fármacos é geralmente em função da concentração eficaz dos grupos ésteres, assim, um TCM (triglicerídeo de cadeia média) geralmente tem maior capacidade solvente que um TCL (triglicerídeo de cadeia longa) (Pouton & Porter, 2008). Neste trabalho foi empregado o triglicerídeo de cadeia média - Miglyol® 812, predominantemente C8 e C10. São utilizados em uma grande variedade de formulações farmacêuticas, incluindo preparações oral, parenteral e tópica. Apresentam boas propriedades solventes, boa estabilidade contra a oxidação, geralmente considerados materiais essencialmente não tóxicos e não irritantes (ROWE, SHESKEY & QUINN, 2009; STRECK et al., 2019).

O tilirosídeo, composto a ser incorporado, possui $\text{Log } P_{o/w} = 2,71$, apresentando características lipofílicas (LUO et al., 2011). Portanto, para que se seja carregado de forma

efetiva, é recomendado a incorporações em sistemas O/A. Os tensoativos são essenciais para a formação de sistemas do tipo óleo em água (O/A). Ao longo do trabalho foram utilizados Tween 80 e Fosfatidilcolina de soja (FC) numa proporção de 80:20, como mistura de tensoativos.

O polisorbato 80, conhecido como Tween 80 (EHL= 15), é um tensoativo não-aniônico, solúvel em água e apresenta-se como um líquido oleoso amarelado. São utilizados em diferentes formulações farmacêuticas para vias oral, parenteral e tópica, sendo considerados atóxicos e não irritante (ROWE, SHESKEY & QUINN, 2009).

A fosfatidilcolina de soja (EHL=4) é muito utilizada como tensoativo, pois apresenta grande biocompatibilidade, independente da via de administração e não apresentam problemas de toxicidade, sendo bastante utilizada em medicamentos de via oral e parenteral. É um tensoativo natural, lipofílico, capaz de formar grandes micelas em meios aquosos e devido a esta característica é rapidamente difundida na interface óleo-água (ROWE, SHESKEY & QUINN, 2009; TRAN et al., 2016). Ambos utilizados na formulação estão presentes na lista Geralmente Reconhecidos como Seguro (GRAS).

Dentre os tensoativos, os não-iônicos mostram vantagens particulares para aplicação farmacêutica devido a suas baixas toxicidade às membranas celulares, baixa irritabilidade, elevada estabilidade química, sendo alguns, utilizados em preparações orais e parenterais. Possuem também maior grau de compatibilidade com diversas substâncias, quando comparados aos tensoativos catiônicos e aniônicos e são menos sensíveis às alterações de pH ou à adição de eletrólitos (GRAMPUROHIT, RAVIKUMAR & MALLYA, 2001; BILLANY, 2005).

A glicerina ou glicerol, foi o cossolvente utilizado. É usada em uma ampla variedade de formulações farmacêuticas incluindo preparações orais, oftálmicas, tópicas e parenterais. A glicerina é um líquido límpido, incolor, inodoro, viscoso, higroscópico, solúvel em água e que apresenta estabilidade química ao ser misturada com água (ROWE, SHESKEY & QUINN, 2009).

As substâncias com propriedades cossolventes além de ajudar na formação de sistemas líquidos e transparentes também são muito importantes para aumentar a solubilidade em água de fármacos pouco solúveis (SOLEYMANI et al., 2013; BHAT; HAQ; SHAKEEL, 2014). Rao e McClements estudaram o efeito do cossolvente na emulsificação quando é adicionado glicerol. Nesse estudo, eles observaram pelo tamanho da gotícula que esse sistema produzido com cossolvente apresentou características de

nanoemulsão, isto porque o co-solvente aumentou o índice de refração entre a fase contínua e a gota (RAO; MCCLEMENTS, 2013).

O Poloxamer 407 (POL407), é um polímero sólido, não aniônico, estável e solúvel em água. Os poloxâmeros são usados em uma variedade de formulações farmacêuticas orais, parenterais e tópicas e são geralmente considerados como materiais não tóxicos e não irritantes (ROWE, SHESKEY & QUINN, 2009). Pesquisadores relataram que o POL407 reduziu com sucesso o risco de precipitação de drogas no trato GI após a diluição e melhorou biodisponibilidade (TUNG et al., 2019; HAN et al., 2020).

Para a formação de sistemas com gotículas pequenas pelo método de emulsificação por inversão de fases, a composição e a razão dos constituintes são muito importantes devido a influência dos tensoativos no ângulo de contato com a água. Os surfactantes utilizados permitem a total absorção e orientação instantânea da molécula após partição entre as duas fases, facilitando a redução da tensão interfacial (LI et al., 2013), além de ajudar na formação de gotículas pequenas. Com isso, sistemas nanométricos foram encontrados utilizando TCM como óleo, Tw 80 e FC como tensoativos, 10% de glicerina como cossolvente e 10% de poloxamer como espessante e 70 % de água purificada como fase aquosa.

Após a escolha da formulação, o tilirosídeo foi incorporada à nanoemulsão. Damasceno e colaboradores (2011) afirmam que a encapsulação máxima de um fármaco pode ser alcançada através da incorporação deste durante o processo de formação do sistema. Neste contexto, a incorporação de fármacos lipofílicos, como o tilirosídeo, em sistemas nanoemulsionado do tipo O/A, como o obtido neste trabalho, pode ocorrer por meio da solubilização das moléculas do ativo no filme interfacial de tensoativos ou no núcleo oleoso das gotículas, os quais apresentam propriedades distintas das do meio aquoso externo. Assim, o tilirosídeo foi adicionada à mistura da fase oleosa e tensoativo. Em seguida, a fase aquosa foi adicionada e o sistema nanoemulsionado foi obtido através do método de emulsificação por inversão de fases (ISLAM et al., 2017).

5.4.2 Determinação das características físico-químicas

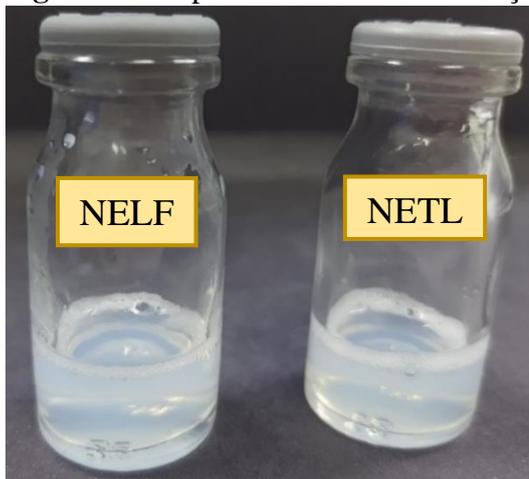
5.4.2.1 Aspectos Macroscópicos

A análise macroscópica em sistemas líquidos dispersos deve ser realizada avaliando-se algumas condições, como: limpidez, precipitação do fármaco disperso, cremagem, homogeneidade e transparência. É uma avaliação que deve ocorrer com e sem

a adição do composto químico, uma vez que é indispensável avaliar se este composto influenciará no meio que está disperso.

Os sistemas obtidos, tanto NELF quanto NETL, se apresentaram como sistemas límpidos, homogêneos, sem a ocorrência de separação de fases ou de precipitado de fármaco (Figura 91 pág. 123).

Figura 91: Aspecto visual das formulações.



5.4.2.2 Tamanho de gotícula e índice de polidispersão (IPd)

A seguir a tabela 9 informa os parâmetros avaliados.

Tabela 9: Diâmetro hidrodinâmico da gotícula (*nm*) e IPd de acordo com o tempo de armazenamento (média \pm desvio padrão) da NELF e da NETL.

Tempo de armazenamento (Dias)	Formulação da NELF		Formulação da NETL	
	Diâmetro (<i>nm</i>) \pm DP	IPd	Diâmetro (<i>nm</i>) \pm DP	IPd
1	68,48 \pm 0,61	0,262 \pm 0,01	93,79 \pm 2,87	0,273 \pm 0,01
7	90,8 \pm 7,74	0,224 \pm 0,01	93,81 \pm 11,88	0,243 \pm 0,05
15	96,85 \pm 11,98	0,218 \pm 0,01	94,02 \pm 9,67	0,204 \pm 0,01
30	90,99 \pm 6,041	0,173 \pm 0,01	89,23 \pm 9,49	0,172 \pm 0,01
60	95 \pm 4,81	0,164 \pm 0,01	96 \pm 9,06	0,170 \pm 0,01

As nanoemulsões apresentaram um diâmetro 95 \pm 4,81 (NELF) e 96 \pm 9,06 (NETL) após 60 dias de preparo, o que proporciona um resultado satisfatório, estando de acordo com a literatura, uma vez que as nanoemulsões consistem em formulações

contendo estruturas de diâmetro inferior a 500 nm (ZORZI et al., 2015). Os tamanhos similares no diâmetro das gotículas da NETL quando comparada com a formulação livre de fármaco, no decorrer dos sessentas dias de análise, indica que não houve alterações significativas nas gotículas após a incorporação do fármaco na NE, sugerindo estabilidade físico-química do sistema desenvolvido.

O estudo da distribuição do tamanho de gotículas é visto como um dos critérios mais importantes na avaliação da estabilidade de sistemas dispersos, além disso é um fator primordial que indica prováveis aspectos da taxa e extensão da liberação e absorção de acordo com a ausência ou a presença de um tamanho nanométrico dessa gotícula (WEI et al., 2012). A técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS) é considerada uma ferramenta precisa e conveniente para os estudos das propriedades internas das NE, sendo empregada para a determinação do tamanho de gotículas do sistema através da flutuação da intensidade da luz espalhada pelas gotículas em suspensão, agindo em movimento Browniano, alcançando desta forma uma distribuição hidrodinâmica do seu tamanho (LI et al., 2010).

Segundo Roger e colaboradores, o tamanho ideal de nanocarreadores para aumentar a captação através do trato gastrointestinal é de 50 a 300 nm (ROGER et al., 2010). Portanto, o tamanho obtido nas formulações apresenta-se ideal para a via de administração oral.

Foi determinado também o índice de polidispersão (IPd) das formulações. Este indicador leva em consideração o tamanho médio das gotículas, o índice de refração do solvente, o ângulo de medida e a variação da distribuição. São fatores que avaliam a homogeneidade na população de gotículas, podendo serem classificados em monomodal (0,1 – 0,3) ou polimodal ($\geq 0,3$) (REIS, 2017).

Conforme exposto na tabela 9, o IPd encontrado de $0,164 \pm 0,01$ após 60 dias para NELF e de $0,170 \pm 0,01$ para NETL indica uma distribuição de gotículas do tipo monomodal e homogêneo, além disso mostra que técnica utilizada foi eficiente para produção de partículas uniformes, o que reflete na qualidade em relação à sua estabilidade (REIS, 2017). Deste modo, a incorporação do tilirosídeo não interferiu na morfologia e tamanho das gotículas, sugerindo mínima predisposição para agregação e confirmando a estabilidade física para as formulações NETL (Figuras 92 e 93, pág. 125).

Figura 92: Tamanho de partícula e IPd da NELF em diferentes tempos de armazenamento.

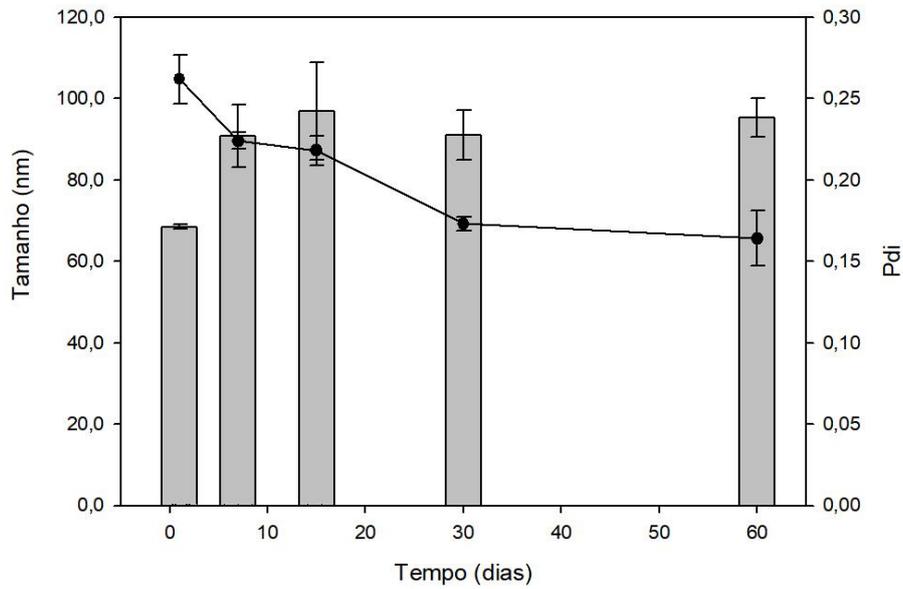
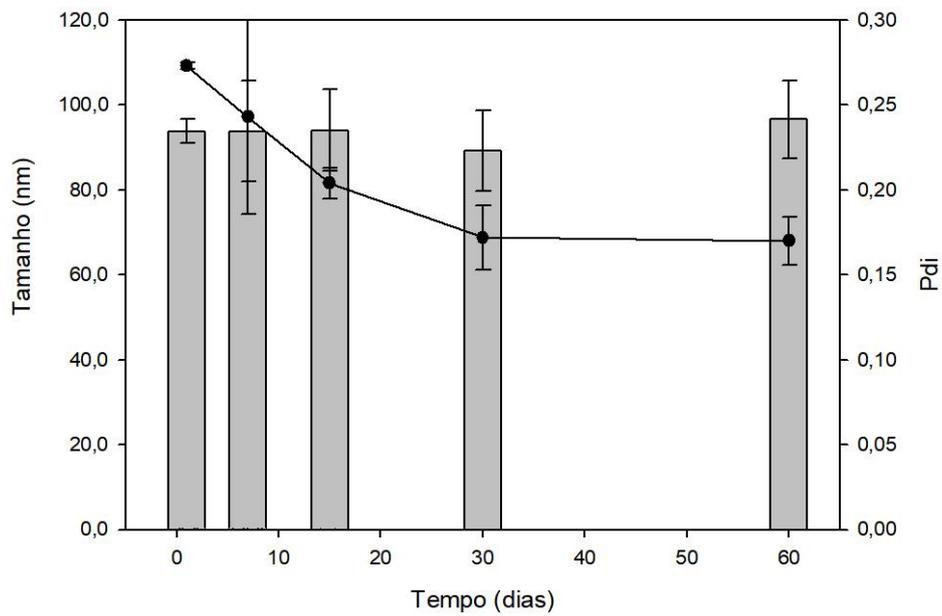


Figura 93: Tamanho de partícula e IPd da NETL em diferentes tempos de armazenamento.



5.4.2.3 Determinação do pH e do Potencial Zeta (PZ)

O estudo de pH das formulações é visto como um indicativo da viabilidade da formulação e de sua estabilidade, uma vez que este pH pode indicar alterações estruturais, crescimento microbiano, presença de reações químicas como processos de degradação e oxidação de componentes, sendo considerado um parâmetro sensível no controle de qualidade dessas formulações (BRUXEL, 2012). Os valores de pH das formulações estão descritos na tabela abaixo.

Tabela 10: pH e PZ das formulações NELF e NETL.

Formulações	pH ± DP	PZ ± DP (mV)
NELF	5,74 ± 0,15	-12,9 ± 4,1
NETL	6,94 ± 0,08	-10,1 ± 1,7

A realização deste estudo busca verificar se a NETL possui compatibilidade para administração oral. O pH encontrado para NELF foi de $5,74 \pm 0,15$ e para a NETL foi de $6,94 \pm 0,08$, esta diferença no pH observado após adição do tilirosídeo pode estar relacionado com a quantidade de hidroxilas fenólicas ácidas presentes na estrutura química deste flavonoide, diminuindo a acidez da NE. Para Strickley e Oliyai (2007), a variação tolerada biologicamente pela via oral é de pH entre 2 e 10. Nesse caso, tanto a NELF quanto a NETL obtiveram valor de pH compatível com o uso via oral, sendo viável a sua utilização.

O potencial Zeta (Tabela 9), representa o potencial elétrico em torno da gotícula no plano de cisalhamento, ou seja, caracteriza aproximadamente a carga superficial das partículas do sistema. As cargas superficiais elevadas ocasionam o predomínio das forças de repulsão entre as gotículas. Assim, a existência de uma força de repulsão elevada, é importante para prevenir o contato e a aglomeração das gotículas. O PZ possui um papel importante na determinação da estabilidade de sistemas dispersos e nas interações entre essas gotículas presentes (BHANDARI; KAUR, 2013; BOSE et al., 2013; KHAN et al., 2013).

A pesquisa apresentou PZ negativo de $-12,9 \pm 4,1$ (mV) e $-10,1 \pm 1,7$ (mV), para formulação sem e com TL, respectivamente. Sistemas que apresentam uma maior estabilidade possuem valores de potencial zeta iguais ou superiores a 20 mV (BOSE et al., 2013). Os valores relativamente baixos encontrados de PZ para ambas as formulações poderiam indicar que estas apresentem baixa estabilidade a longo prazo. Porém, a

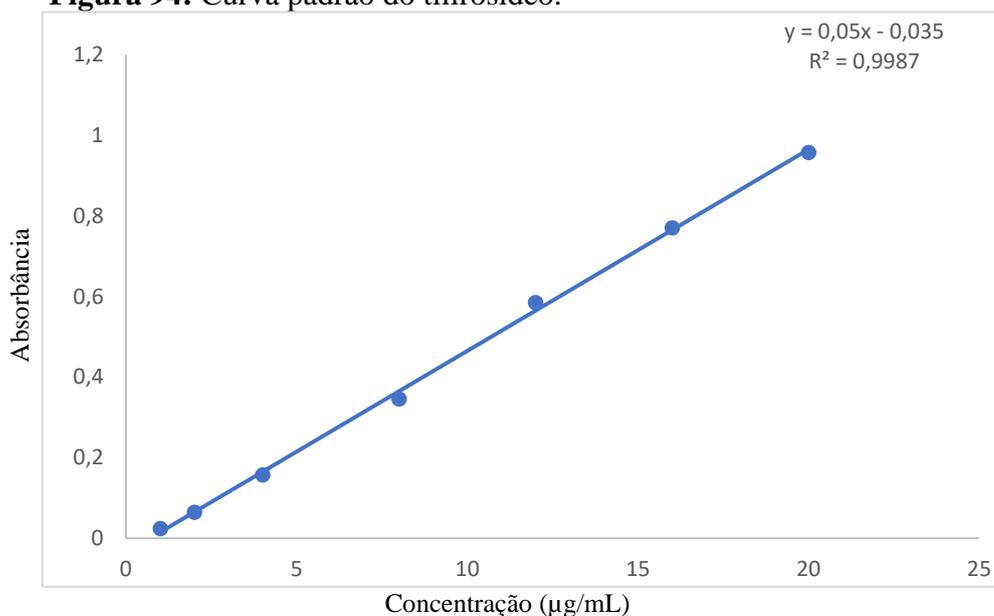
estabilidade de formulações que contém na sua composição tensoativos não-iônicos, como a formulação do presente estudo, não depende apenas do potencial zeta, uma vez que este tipo de tensoativo tende a diminuir o valor absoluto deste parâmetro (AGGARWAL et al., 2013). Portanto, é necessário a realização de estudos posteriores que avaliem a estabilidade a longo prazo.

p (SARI et al., 2015).

5.4.3 Doseamento e solubilidade da NETL

O cálculo de concentração foi realizado utilizando a equação da reta da curva padrão previamente estabelecida (Figura 94, pág. 127). O sistema branco também passou pelo mesmo procedimento a fim de eliminar qualquer interferência dos demais componentes.

Figura 94: Curva padrão do tilirosídeo.



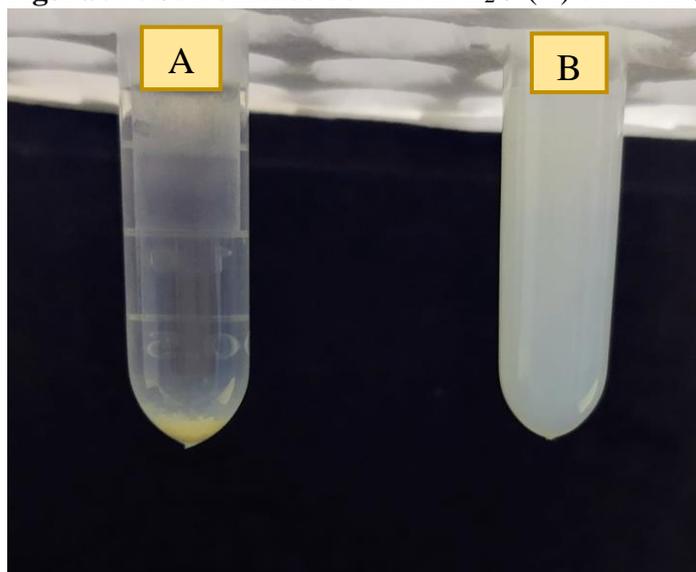
Após doseamento, seguindo método descrito, foi possível identificar que aproximadamente 495 µg/g de tilirosídeo está presente na nanoemulsão. Desta forma, podemos dizer que a metodologia utilizada no preparo da NE foi eficiente para incorporar o flavonoide na nanoemulsão.

Com a realização do estudo de solubilidade aquosa foi possível observar a formação de precipitado do fármaco na solução (Figura 95, pág. 128), demonstrando que na concentração de 500 µg/g o fármaco não foi completamente solúvel em água. Em

contrapartida, na nanoemulsão não houve presença de precipitado, o que demonstra que o fármaco está completamente disperso no sistema.

A encapsulação de compostos fenólicos, como o tilirosídeo supera as desvantagens de sua instabilidade, melhoraram a solubilidade e a sua bioatividade, pois o sistema nanoemulsionado com sua liberação controlada melhora também a biodisponibilidade e conseqüentemente pode tornar este flavonoide mais eficaz e efetivo.

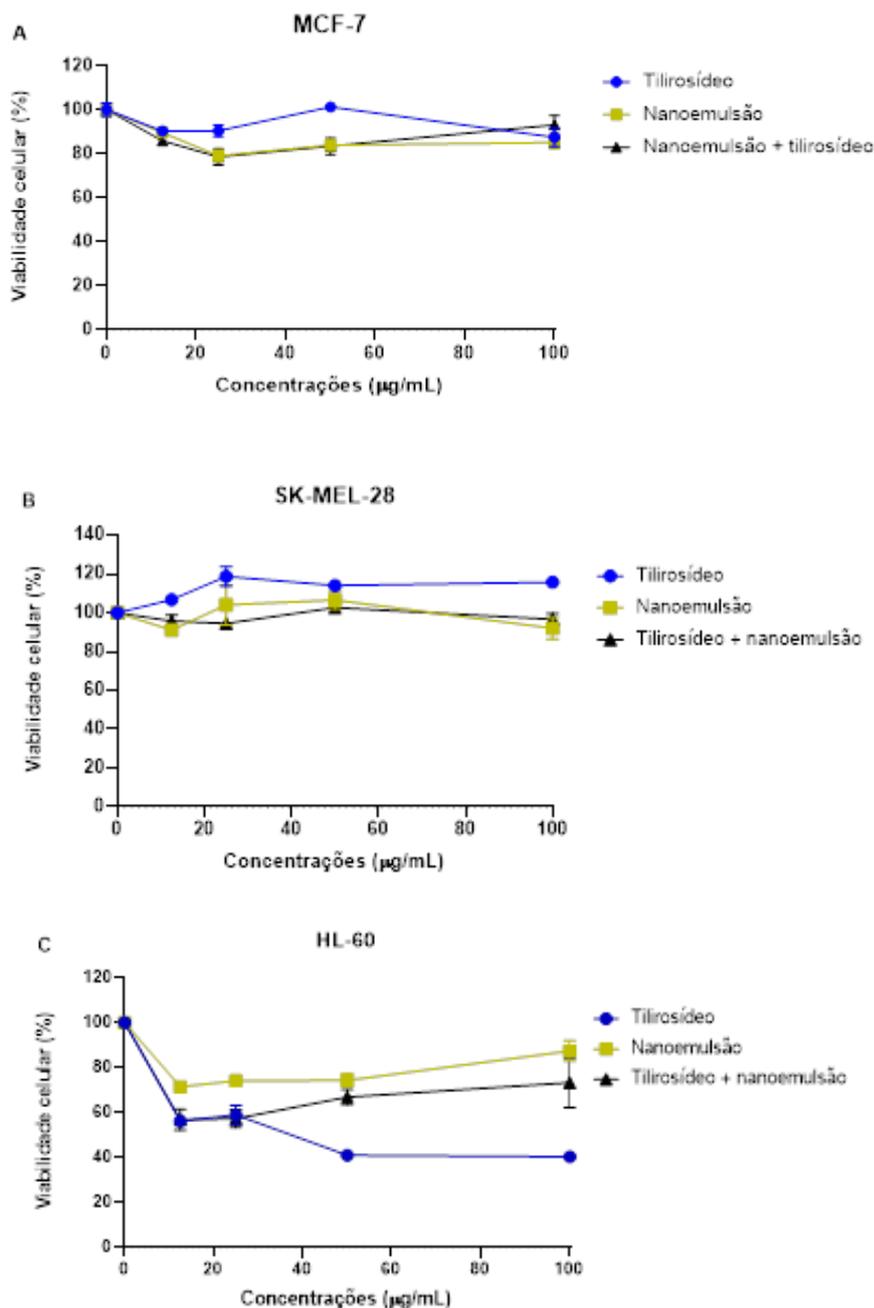
Figura 95: Solubilidade do TL em H₂O (A) e NETL (B).



5.5 Atividade antitumoral

A atividade citotóxica do tilirosídeo, nanoemulsão livre de fármaco, tilirosídeo + nanoemulsão foram testadas *in vitro* em um painel de três linhagens de células tumorais humanas mamárias (MCF-7), melanoma (SK-MEL-28) e leucêmicas (HL-60). As atividades citotóxicas, expressas em µg/mL são mostrados na figura 96, pág. 129.

Figura 96: Citotoxicidade do tilirosídeo, nanoemulsão livre de fármaco e tilirosídeo + nanoemulsão frente as linhagens tumorais humanas MCF-7 (A), SK-MEL-28 (B) e HL-60 (C).



Após 72 horas de tratamento, não foi observado efeito citotóxico significativo do tilirosídeo frente à linhagem de carcinoma mamário MCF-7, em nenhuma das concentrações testadas. Quanto à nanoemulsão e à formulação tilirosídeo + nanoemulsão, observou-se efeito citotóxico máximo na concentração de 25 µg/mL, com percentual de inibição da proliferação celular de $21,03 \pm 2,63\%$ e $21,50 \pm 3,67\%$, respectivamente ($p <$

0,05, quando comparado ao grupo controle). Todavia, não houve diferença significativa entre as amostras testadas, indicando que a formulação não alterou o efeito do tilirosídeo nessa linhagem.

Na linhagem HL-60, foi observado efeito citotóxico do tilirosídeo com percentual de inibição do crescimento celular variando de $43,76 \pm 1,74\%$ em $12,5 \mu\text{g/mL}$ até $59,69 \pm 1,35\%$ na concentração de $100 \mu\text{g/mL}$ ($p < 0,05$, quando comparado ao grupo controle). A nanoemulsão induziu efeito citotóxico máximo na concentração $12,5 \mu\text{g/mL}$, com percentual de inibição da proliferação celular de $28,55 \pm 1,41\%$ ($p < 0,05$, quando comparado ao grupo controle). Quanto à formulação tilirosídeo + nanoemulsão, foi observado efeito citotóxico máximo também na concentração de $12,5 \mu\text{g/mL}$, com percentual de inibição da proliferação celular de $43,23 \pm 4,60\%$ ($p < 0,05$, quando comparado ao grupo controle).

Estudo realizado por Tao; Geethanggili; Fang; Tzeng 2007, também avaliou a atividade do tilirosídeo para leucemia. Foi constatado uma atividade frente a linhagem Jurkat, com uma IC_{50} de $11,6 \pm 2,6 \mu\text{M}$. Resultado também semelhante é apresentado por Dimas et al., 2000, onde o tilirosídeo diante das linhagens CCRF-CEM, NAMALWA apresentou uma IC_{50} de $17,1$ e $16,1 \mu\text{g/mL}^{-1}$, respectivamente (DIMAS et al., 2000).

Entretanto, para a linhagem HL-60, os resultados aqui apresentados sugerem que a formulação não potencializou o efeito do tilirosídeo, ao contrário, nas maiores concentrações, observa-se que a formulação induziu uma redução desse efeito. Nas concentrações de 50 e $100 \mu\text{g/mL}$, os percentuais de inibição do crescimento celular após tratamento com tilirosídeo foram de $58,95 \pm 1,28\%$ e $59,69 \pm 1,35\%$, enquanto para a combinação tilirosídeo + nanoemulsão esses percentuais foram de $33,09 \pm 3,38\%$ e $26,68 \pm 11,03\%$.

Na linhagem tumoral de melanoma, SK-MEL-28, não foi observado efeito citotóxico significativo das amostras em nenhuma das concentrações testadas.

Entre os vários produtos naturais, os flavonoides têm atraído atenção devido ao seu notável espectro de atividades farmacológicas, como antioxidante, antimutagênica, antibacteriana, antiangiogênica, antiinflamatória, antialérgica, moduladora de atividades enzimáticas e atividade anticancerígena (PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016; ABOTALEB et al., 2018; AL-ISHAQ et al., 2019).

Os flavonoides são metabólitos secundários que existem na natureza como agliconas livres ou conjugados glicosídicos. Quimicamente, eles são polifenólicos e possuem uma estrutura de fenil benzopirona (C6-C3-C6) categorizada principalmente

em flavonas, flavonoides, isoflavonas, flavonóis, flavanonas, flavanonóis e chalconas com base no nível de saturação, padrão de substituição do anel C e abertura central do anel pirano (RAVISHANKA et al., 2013). Essa diversidade de padrões estruturais resultou no reconhecimento dos flavonoides como uma rica fonte de compostos com potenciais propriedades anticancerígenas.

Os flavonoides modulam as vias de sinalização não apenas durante a iniciação ou promoção do câncer, mas seus efeitos são significativos também nos processos de progressão do câncer, incluindo invasão de áreas circundantes e a formação de metástases distantes (CHANDRA, 2016; ABOTALEB et al., 2018; AL-ISHAQ et al., 2019).

Diversas proteínas quinases que estão envolvidas na patologia do câncer, por exemplo, receptores do fator de crescimento epidérmico (EGFRs), receptores do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGFRs) e quinases dependentes de ciclina (CDKs), foram moduladas por flavonoides (SINGH; AGARWAL, 2006). Esses metabólitos também desempenham um papel significativo na inibição de enzimas, como COX (ciclooxigenase) e LOX (lipoxigenase) que estão associadas ao câncer e patologias inflamatórias (HAN et al., 2020; LI et al., 2022).

Outro mecanismo protetor dos flavonoides também inclui os efeitos antioxidantes. Eles impedem a lesão tecidual dos radicais livres, eliminando-os diretamente (D'AMELIA, AVERSANO; CHIAIESE; CARPUTO, 2018) e inibem oxidases como ciclooxigenase, lipoxigenase, monooxigenase microsomal, que produzem os ânions superóxido (HAN et al., 2020; LI et al., 2022). Ferro livre e cobre são os principais responsáveis pela produção de espécies reativas de oxigênio. Os flavonoides quelam esses íons livres, resultando na inibição do desenvolvimento de radicais livres (RAVISHANKAR; RAJORA; GRECO; OSBORN, 2013). Essas características destacam o potencial dos flavonoides para serem desenvolvidos como agentes antiproliferativos.

O tilirosídeo, flavonoide utilizado para realizar os ensaios anticancerígenos nesta tese, tem como núcleo básico o canferol. Estudos relatam que o canferol suprimiu a invasão e migração de células cancerígenas renais 786-O por meio da redução do nível e da atividade da proteína MMP-2, e esse efeito foi associado à regulação negativa da fosforilação de AKT e da quinase de adesão focal (FAK). Além disso, o canferol também inibiu a metástase de células 786-O nos pulmões (HUNG et al., 2017). Para Chien et al., 2019, o canferol suprimiu a migração e a invasão de células epiteliais pigmentares da retina humana ARPE-19 através da redução da expressão de proteínas e da atividade de

MMP-2 mediada por níveis aumentados de quinases reguladas por sinal extracelular fosforiladas 1/2 ERK1/2 (CHIEN et al., 2019).

Os sistemas de entrega de fármacos, como por exemplo a nanoemulsão, são capazes de entregar as substâncias de forma regulada, aumentando assim a biodisponibilidade do fármaco. A fusão desse sistema de distribuição e substâncias bioativas de fontes vegetais resulta na redução da degradação e toxicidade dos compostos (MARTÍNEZ; IZQUIERDO; GARCÍA; DOMÍNGUEZ, 2018). Com isso, são capazes de ajudar a aumentar a estabilidade, solubilidade e melhorar atividade farmacológica do flavonoide.

A espécie *Sida acuta* (Malvaceae) exibe propriedades anticâncer significativas na literatura em modelo *in vivo* (THONDAWADA et al., 2016), e seu extrato clorofórmico mostrou atividade contra linhagens tumorais humanas A-431 (carcinoma epidermoide) e HeLa (carcinoma cervical) (KANTHAL et al., 2017). Já o extrato hexânico de *Sida rhombifolia* apresentou citotoxicidade contra as linhagens Hep G2 (câncer de fígado) e SNU-1 (câncer de estômago) na concentração de 100 µg/mL (MAH; TEH; EE 2017).

Estudo realizado com flavonoides de *W. periplocifolia* (Malvaceae) contra células tumorais UVW (carcinoma cerebral) e PC-3M (carcinoma de próstata), demonstrou que o tilirosídeo exerceu uma atividade antiproliferativa seletiva contra células de carcinoma de próstata PC-3M, apresentando uma IC₅₀ de 60.55 ± 1.12 (µg/mL) (TELES et al., 2015a). O tilirosídeo apresentou ainda fortes efeitos antitumoral *in vitro* contra as linhagens de carcinoma hepatocelular Hep3B e SNU-449 (HAN; YANG; LU; LIN, 2021). Para Radziejewska et al., 2022, o tilirosídeo inibe a expressão dos RNAs MUC1, ST6GalNAcT2 e FUT4, a proteína NF-κβ, podendo atuar como um agente preventivo contra o câncer gástrico (RADZIEJEWSKA et al., 2022).

Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir que a formulação tilirosídeo + nanoemulsão não apresentou efeito citotóxico significativamente superior às amostras isoladas nas linhagens utilizadas, o que pode ser justificado pelos componentes que foram utilizados na produção da formulação ou pela metodologia utilizada na realização da atividade antitumoral. Desta forma, se faz necessário a realização de estudos futuros após uma otimização da formulação, como também o uso de diferentes metodologias diante das células tumorais utilizadas nesta pesquisa, como também em diferentes células cancerígenas, para assim aprofundar a exploração do potencial terapêutico do tilirosídeo e sua formulação.



6. Conclusão

O presente trabalho descreveu o estudo fitoquímico de duas espécies de Malvaceae, *Sida acuta* e *Sida linifolia*, o preparo de uma formulação farmacêutica a partir de um flavonoide glicosilado, além de realizar os ensaios de citotoxicidade para o tilirosídeo e sua nanoemulsão. A partir da fase hidroalcolica de *Sida acuta*, um estudo por Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de massas (CL-EM) foi realizado, onde a desreplicação e análise estrutural propuseram a identificação de dezenove compostos químicos, sendo estes ácidos fenólicos e flavonoides, presentes na forma aglicona e/ou glicosilados. A identificação destas substâncias contribui para o conhecimento químico do gênero *Sida* e da família Malvaceae *sensu lato*.

Para a espécie *Sida linifolia*, foram utilizados métodos cromatográficos clássicos que resultaram no isolamento de quatro metabólitos secundários presentes na fase acetato de etila, estes foram analisados por RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais, tendo assim suas estruturas identificadas. Entre estes compostos, o tilirosídeo isolado foi utilizado para posterior preparo da nanoemulsão desenvolvida. Assim como ocorreu com *Sida acuta*, a fase hidroalcolica de *Sida linifolia* também foi analisada por CL-EM e a presença dos picos moleculares e suas fragmentações resultaram na identificação de onze substâncias, após comparação com dados da literatura.

Estudos com as fases hidroalcolica de *Sida acuta* e *Sida linifolia* são raros de encontrar na literatura, se tornando assim o primeiro trabalho fitoquímico realizado com esta fase de *Sida linifolia*.

Após a investigação fitoquímica, foi produzido uma nanoemulsão utilizando um flavonoide glicosilado, conhecido como tilirosídeo. Esta formulação apresenta componentes atóxicos e que permite o seu uso por diferentes vias de administração, como por exemplo a via oral e tópica. A partir da caracterização realizada, estabilidade e solubilidade analisada da formulação foi possível notar que esta nanoemulsão com tilirosídeo se mostra estável e promissora para futuros testes farmacológicos.

Com a preparação da nanoemulsão e sua estabilidade alcançada, os ensaios para a atividade antitumoral foram realizados. Pode-se concluir que a formulação tilirosídeo + nanoemulsão não apresentou efeito citotóxico significativamente superiores às amostras isoladas, frente as linhagens MCF-7, SK-MEL-28 e HL-60.



Referências

ABDELHAFEZ, Omnia H. *et al.* Metabolomics analysis and biological investigation of three Malvaceae plants. **Phytochemical analysis**, v. 31, n. 2, p. 204-214, 2020.

DOI: <https://doi.org/10.1002/pca.2883> Disponível em:

<https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pca.2883>

ABREU, Lucas. S. *et al.* Antinociceptive compounds and LC-DAD-ESI-MSⁿ profile from *Dictyoloma vandellianum* leaves. *PLoS One*, v. 14, n. 10, p. e0224575, 2019.

DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224575> Disponível em:

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0224575>

ABU-REIDAH, Ibrahim M. *et al.* HPLC–DAD–ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L. (Sumac) fruits. **Food chemistry**, v. 166, p. 179-191, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.011> Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614008978>

AGGARWAL, N.; GOINDI, S.; KHURANA, R. Formulation, characterization and evaluation of an optimized microemulsion formulation of griseofulvin for topical application. **Colloids and surfaces. B, Biointerfaces**, v.105, p. 158-66, 2013. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.01.004> Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776513000246?casa_token=CTB8FpeAavEAAAAA:bqkevzSWuK-NOPq7AxEgb1tEC-4nw2VSx2rQDdV1Hu-wWNMVO4lJewFyjpVFC6rEFtTi3YMEI-w

AHMED, Firoj. *et al.* Cryptolepine, isolated from *Sida acuta*, sensitizes human gastric adenocarcinoma cells to TRAIL-induced apoptosis. **Phytotherapy Research**, v. 25, p. 147–150, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.3219> Disponível em:

https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ptr.3219?casa_token=3MXnPNqGyIcA AAAA%3ABXMzEODHUsrEZ46GmwsExLqVFmKMzwkmInPn0L_Upg-93MVC0RSTWwSobQqp6MsFT96QUMXfsxYoFEif-Q

AHMED, Hassan *et al.* Botânica, química e importância farmacêutica de *Sida cordifolia*: uma planta medicinal tradicional. In: **Plantas anticancerígenas: propriedades e aplicação**. Springer, Cingapura, p. 517-537, 2018. DOI:

https://doi.org/10.1007/978-981-10-8548-2_22.

AKILANDESWARI, S; SENTHAMARAI, R; VALARMATHI, R. Screening of gastric antiulcer activity of *Sida acuta* burm. **Internacional Journal Pharmtech Research**, v. 2, p. 1644–1648, 2010. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Rathinam-Senthamarai/publication/267362870_Screening_of_Gastric_Antiulcer_Activity_of_Sida_acuta_Burm/links/54b9f6d60cf253b50e2a9d51/Screening-of-Gastric-Antiulcer-Activity-of-Sida-acuta-Burm.pdf

AKUBUE, P. I; MITTAL, G. C; AGUWA, C. N. Preliminary pharmacological study of some Nigerian medicinal plants. **Journal Ethnopharmacology**. v. 8, p. 53–63, 1983.

DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(83\)90089-2](https://doi.org/10.1016/0378-8741(83)90089-2) Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0378874183900892>

ALLEN, Christine; HER, Sohyoun; JAFFRAY, David A. Radiotherapy for Cancer: Present and Future. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 109, p. 1–2, 2017. DOI:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2017.01.004> Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169409X17300133?via%3DiHub>

ANANDHARAMAKRISHNAN, Chinnaswamy. **Techniques for nanoencapsulation of food ingredients**. New York: Springer, 2014.

ANSARIZADEH, Fatemeh; SINGH, Manmohan; RICHARDS, David. Modelling of tumor cells regression in response to chemotherapeutic treatment. **Applied mathematical modelling**, v. 48, p. 96-112, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apm.2017.03.045> Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0307904X17301944>

ANSELMO, A. C; MITRAGOTRI, S. Nanoparticles in the clinic: an update. **Bioengineering Translational Medicine**, v. 4, p. 1-16, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/btm2.10143> Disponível em: <https://aiche.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/btm2.10143>

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

AQUINO, Leda A. Acompanhamento do crescimento normal. **Revista de pediatria SOPERJ**, v. 12, n. 1, pp.15-20, 2011. Disponível em: http://revistadepediatriasoperj.org.br/detalhe_artigo.asp?id=553

ARAÚJO, Margareth M. *et al.* Surfactant-oil interactions overcoming physicochemical instability and insoluble praziquantel loading in soybean oil dispersions. **Journal of Molecular Liquids**, v. 255, p. 288-296, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.12.027> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167732217342551?casa_token=KsLjoDQSCCEAAAAA:qMVeBUOXnGY9qaLphOcBDdcA8EmLi0MT1yN2baULd0tfw8mhQv4Tj6VKxfA29ZCzKTjLjmrqdU4T

ARAÚJO, Gabriel L. S. *et al.* Apoptose como perspectiva de cura do câncer. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 28, n.2, pp.32- 35, 2019. Disponível em: https://www.mastereditora.com.br/periodico/20191115_0727372.pdf#page=32

ASAI, Tomohiro. Nanoparticle-mediated delivery of anticancer agents to tumor angiogenic vessels. **Biol Pharm Bull**, v. 35, n. 1, p.1855-61, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1248/bpb.b212013> Disponível em:

https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/35/11/35_b212013/_article

BAHRAMI, Behdokht *et al.* Nanoparticles and targeted drug delivery in cancer therapy. *Immunology Letters*, v. 190, p. 64-83, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2017.07.015> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165247817301761?casa_token=svwID-FqBW4AAAAA:SINKVdW6oeOcz20XWDCUPneY8ZZ7bFqDVKv0yAeX95obBMCwrfuZrA3smO2dzUdvEvZQzKfQ

BAILLY, Christian. Irinotecan: 25 years of cancer treatment. **Pharmacological research**, v. 148, p. 104398, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104398>

Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1043661819315257?casa_token=etGHTc73xWMAAAAAA:fzEl7X-QgnRHYWsGa-fdOSIDWD5gOea-dMqzpE3Z88QDDL87oGJbEMaBxRHaxqWiUYscHq_

BANZOUZI, J. T. *et al.* Studies on medicinal plants of Ivory Coast: investigation of *Sida acuta* for in vitro antiplasmodial activities and identification of an active constituent. **Phytomedicine**, v. 11, p. 338-341, 2004. Disponível em:

https://go.gale.com/ps/i.do?id=GALE%7CA119059592&sid=googleScholar&v=2.1&it=r&linkaccess=fulltext&issn=09447113&p=AONE&sw=w&casa_token=6MiR9KXFRdEAAAAA:3pzYh1nRJvEg46NOoTl-x9iTrNOX6yX-7moQ_OcED_Xw4WOZeNomQAq3Ej-gA2KJsYdvmG3i-YUFhZI

BARROS, Lilian. *et al.* Characterization of phenolic compounds in wild medicinal flowers from Portugal by HPLC–DAD–ESI/MS and evaluation of antifungal properties. **Industrial Crops and Products**, v. 44, p. 104-110, 2013. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.11.003> Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669012005882?casa_token=EoKhGQuuqgIAAAAA:qoCqSMhzTXz9gVvxuqQKY-xZ-MIE1Ip2oiZCSZWFilufAXZrhdWiSnIrCxQoFwa97ulGsTHSmV14

BASHEER, Loai *et al.* From Traditional Food to Functional Food? Evaluation of Malvaceae Species as Novel Food Crops. **Agronomy**, v. 11, n. 7, p. 1294, 2021. DOI:

<https://doi.org/10.3390/agronomy11071294> Disponível em:

<https://www.mdpi.com/2073-4395/11/7/1294/htm>

BENJUMEA, Dora M. *et al.* Neuropharmacological effects of the ethanolic extract of *Sida acuta*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, p. 209–215, 2016. DOI:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2015.09.011> Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/rbfar/a/MXwp54ZwSbkf5DWR5n8m5JS/abstract/?lang=en>

BERNABEU, Martínez M. A. *et al.* Guidelines for safe handling of hazardous drugs: A systematic review. **PLoS ONE**, v. 13, n. 5, p. e0197172, 2018. DOI:

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197172> Disponível em:

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0197172>

BHANDARI, Rohit; KAUR, Indu Pal. Pharmacokinetics, tissue distribution and relative bioavailability of isoniazid-solid lipid nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 441, n.1-2, p.202-12, 2013. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.11.042> Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517312010496?casa_token=3A6r9H-E0EMAAAAA:8M3d-MXFMaa7NabeKf51Yd0n3S7DuBAKmdyNJIHLFKZ248dp2636TU6yixL2-WTal7TiLQIOy4LT

BHAT, Mashooq A; HAQ, Nazrul; SHAKEEL, Faiyaz. Solubility of N-(4-chlorophenyl)-2-(pyridin-4-ylcarbonyl)hydrazinecarbothioamide in PEG 400 + water co-solvent mixtures at 298.15 K to 338.15 K. **Thermochimica Acta**, v. 589, n. 0, p.

235-240, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tca.2014.05.035> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040603114002561?casa_token=hkSixsWLIWAAAAAA:ExnPvj02K-hvHqKBb6Dr9i_DKt8JKA5qwlZpZU8aVm0Qg0erS--d1leW1gr7zA4SGAsutynA_xqf

BILIA, Anna Rita *et al.* Flavonoids loaded in nanocarriers: an opportunity to increase oral bioavailability and bioefficacy. **Food and Nutrition Sciences**, v. 5, n.13, p. 1212, 2014. DOI: [10.4236/fns.2014.513132](https://doi.org/10.4236/fns.2014.513132) Disponível em: https://www.scirp.org/html/8-2701140_47717.htm

BILLANY, G. **Suspensões e Emulsões**. In: Aulton, M. E. Delineamento de formas farmacêuticas. 2 ed. Porto Alegre: Artmed. Cop. 23, p. 353-356, 2005.

BINDER, Michaela; ROBERTS, Charlotte; NEAL, Spencer; ANTOINE, Daniel; CARTWRIGHT, Caroline. On the antiquity of cancer: Evidence for metastatic carcinoma in a young man from Ancient Nubia (c. 1200BC). *PloS one*, v. 9, n. 3, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090924.t001> Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0090924>

BLACKADAR, Clarke B. Historical review of the causes of cancer. **World Journal of Clinical Oncology**, v. 7, n. 1, p. 54–86, 2016. DOI: [10.5306/wjco.v7.i1.54](https://doi.org/10.5306/wjco.v7.i1.54) Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4734938/>

BOBO, Daniel *et al.* Nanoparticle-based medicines: a review of FDA-approved materials and clinical trials to date. **Pharmaceutical Research**, v. 33, p. 2373–2387, 2016. DOI: [10.1007/s11095-016-1958-5](https://doi.org/10.1007/s11095-016-1958-5) Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11095-016-1958-5>

BONNET, Marie *et al.* Influence of the oil globule fraction on the release rate profiles from multiple W/O/W emulsions. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 78, n. 1, p. 44-52, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.02.010> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776510000846?casa_token=UgrPQeSI4BsAAAAA:CrANaFV8k3F9UjmsWBuA8oATR93mF2KATWq9SOMLKNXpWvIefoVzyevBNYZa1a0HKC7oEWHlVlYv

BORA, Limpon. Anticandidal activity of medicinal plants and *Pseudomonas aeruginosa* strains of clinical specimens. **Journal of Microbiology Immunology and Infection**, v. 49, p. 276–280, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2014.10.002> Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1684118214002230>

BOVINI, M.G. *Sida* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB9227>>. Acesso em: Jul. 2022.

BOSE, Sonali *et al.* Formulation optimization and topical delivery of quercetin from solid lipid based nanosystems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 441, n.1-2, p.56-66, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.12.013> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037851731201068X?casa_token=Ki25vWhMM-wAAAAA:YWFpDt6PV2vFMIC7BZlaYEx5i0Y-uetrhgHmXAwQ-MSA-KWbIuIpdSfX3SMZnIucIwWZiBnIVqDj

BRANDAO, José Lourenço et al. Synopsis of *Sida* (Malvaceae, Malvoideae, Malveae) in the state of Pernambuco, Brazil. **Phytotaxa**, v. 307, p. 205–227, 2017. DOI: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.307.3.5> Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20173265645>

BRITO, Anghel et al. HPLC-UV-MS profiles of phenolic compounds and antioxidant activity of fruits from three *Citrus* species consumed in Northern Chile. **Molecules**, v. 19, p. 17400–17421, 2014. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules191117400>

BRUXEL, Fernanda *et al.* Nanoemulsões como sistemas de liberação parenteral de fármacos. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1827-1840, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000900023> Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/4QVTTyVKSvtZb8G56hQFxnX/?format=html>

BUKOWSKI, Karol; KCIUK, Mateusz; KONTEK, Renata. Mechanisms of multidrug resistance in cancer chemotherapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 9, p. 3233, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21093233>

BURKILL, H. M. **The useful plants of West Tropical Africa**. 2nd Edition. v. 4, Families M–R. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, United Kingdom. p. 969, 1997.

BYSTROM, Laura M. et al. Characterisation of phenolics by LC–UV/Vis, LC–MS/MS and sugars by GC in *Melicoccus bijugatus* Jacq. ‘Montgomery’ fruits. **Food chemistry**, v. 111, n. 4, p. 1017-1024, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.058> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608005104?casa_token=qD6Q4q84LTUAAAAA:Lh-oqpi2QlquJLPKj0t-51IEjEI7zjSeMVF6q_uy0nWA03tLFT9pZjm1RaBPhbE9v8ZlVkmXfoxO

CACERES, Armando; GIRON, Lidia M.; MARTINEZ, Ana M. Diuretic activity of plants used for the treatment of urinary ailments in Guatemala. **Journal Ethnopharmacology**, v. 19, p. 233-245, 1987. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Armando-Caceres/publication/19491621_Diuretic_activity_of_plants_used_for_treatment_of_urinary_ailments_in_Guatemala/links/5a1b1ed7aca272df080f168e/Diuretic-activity-of-plants-used-for-treatment-of-urinary-ailments-in-Guatemala.pdf

CAO, Jh; Qi, Yp. Studies on the chemical constituents of the herb huanghuaren (*Sida acuta* Burm. f.). **China Journal of Chinese Materia Medica**, v. 18, p. 681–682, 1993.

CAPEK, Ignác. Degradation of kinetically-stable o/w emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.107, p. 125–155, 2004. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(03\)00115-5](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(03)00115-5) Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001868603001155?casa_token=RpTGkS76sAwAAAAA:VTHAbhCpoLZmKdBxtXKswTCqQjT4XYsQT00-mhhiLg1HZVtSoHfrg0WkjiSPy3L4eiLGtH03gS75

CARVALHO, Paulo R. C et al. In vitro and in vivo antitumor effects of the flavonol glycosides isolated of *Herissantia crispera* (L.) Brizicky. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 30, 2011. Disponível em: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/8131>

CARLUCCI, Adriana M.; BREGNI, Carlos. Productos Nanotecnológicos de Aplicación en Farmacoterapia. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 28, n. 3, p. 470-477, 2009. Disponível em: http://www.latamjpharm.org/trabajos/28/3/LAJOP_28_3_3_1_NF31UDGVCE.pdf

CASTER, Joseph M. *et al.* Investigational nanomedicines in 2016: a review of nanotherapeutics currently undergoing clinical trials. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 9, p. e1416, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/wnan.1416> Disponível em: https://wires.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/wnan.1416?casa_token=H3iGvtT4UR0AAAAA:6ME6EDz-Y3BDhIyJBSb6sIHR0K-RcuDg8P86C6TnnIQLzCPSqqVBS_SInD1AWwZYfHvkov6p_JtwmeH5g

CAVALCANTE, José Marcílio S. *et al.* Steroidal and phenolic compounds from *Sidastrum paniculatum* (L.) Fryxell and evaluation of cytotoxic and anti-inflammatory activities. **Química Nova**, v. 33, n. 4, p. 846-849, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000400015> Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/xMqvzwg63VhXXH6vD6MRkQp/?format=html>

CHAVES, Otemberg Souza *et al.* Secondary Metabolites from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) and the vasorelaxant activity of Cryptolepinone. **Molecules**, v. 18, p. 2769-2777, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules18032769> Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/18/3/2769/htm>

CHAVES, Otemberg Souza *et al.* 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. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules22010094> Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/22/1/94>

CHEN, Chiy-Rong *et al.* Tocopherols and Triterpenoids from *Sida acuta*. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 54, p. 41-45, 2007. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jccs.200700008?casa_token=K6LP-Y-Pq3wAAAAA:BBovZaLEhhVMLPPwLHEsK6z3lLE5B6VTJNcBZKzsrEWYXNiac189t-lqboPPq5q79r1OHLtvtYhY1r9a1Q

CHEN, Gang *et al.* Development of fluorinated polyplex nanoemulsions for improved small interfering RNA delivery and cancer therapy. **Nano Research**, v. 11, p. 3746-3761, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12274-017-1946-z> Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12274-017-1946-z>

CHIEN, Hsiang W. *et al.* Kaempferol suppresses cell migration through the activation of the ERK signaling pathways in ARPE-19 cells. **Environmental Toxicology**, v. 34, p. 312-318, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/tox.22686> Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/tox.22686?casa_token=po-ZAjvtmuIAAAAA%3AZBQ0aJonWT_69no_VOR6Cg4zmW_eD6GZXpaR-2tVwBMHd427Tp9hL6lyK7laQKo9bOwnvrHFBvu3dA

CHUA, Lee Suan *et al.* Flavonoids and phenolic acids from *Labisia pumila* (Kacip Fatimah). *Food Chemistry*, v. 127, n. 3, p. 1186-1192, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.122> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814611002299?casa_token=UY_EZNRdpIkAAAAA:Ywsy7Xp-V6-9OMUHyFLFhHzlFbGIjnvKU8Op5OWIbOHViXZ0VI8KZ3t8BQXDAZiu4_ehZs2TtGHC

CHUMPOL, Wiyada *et al.* The antibacterial activity of the aqueous extract of *Sida acuta* Burm. F. ***Southeast Asian Journal Tropical Medicine and Public Health***, v. 49, p. 285–291, 2018. Disponível em: <https://www.tm.mahidol.ac.th/seameo/2018-49-2/11-7332-2-285.pdf>

COSTA, Danielly Albuquerque *et al.* Chemical constituents from *Bakeridesia pickelii* Monteiro (Malvaceae) and the relaxant activity of kaempferol-3-*O*-beta-D-(6"-E-p-coumaroyl) glucopyranoside on guinea-pig ileum. ***Química Nova***, v. 30, p. 901-903, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/MbnWS3KQYck4gr7kvDhN7gv/?format=pdf&lang=en>

COSTA, Danielly Albuquerque *et al.* First secondary metabolites from *Herissantia crispa* L (Brizicky) and the toxicity activity against *Artemia salina* Leach. ***Química Nova***, v. 32, p. 48-50, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/NrPGcPKzTmLv6y78G5FNMSb/?format=pdf&lang=en>

CRONQUIST, Arthur; TAKHTADZHĀN, Armen Leonovich. **An integrated system of classification of flowering plants**. Columbia University press, 1981.

CROTI, Antônio Eduardo M. *et al.* Espectrometria de massas com ionização por “electrospray”: processos químicos envolvidos na formação de íons de substâncias orgânicas de baixo peso molecular. ***Química Nova***, v. 29, n. 2, p. 287-292, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000200020> Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/tRq8rNH8KdbxLqFrPVXKFhz/?lang=pt>

CUYCKENS, Filip; CLAEYS, Magda. Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids. ***Journal of Mass Spectrometry***, v. 39, p. 1-15, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1002/jms.585> Disponível em: https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1002/jms.585?casa_token=C4kNOVqhjNUAAAAA:RAIEirfKt2dQxhH0KGenRhvNSodTxk-wzmBPvSNtnvoN4ehln7177veCcbVohnxnskoLbj5x9RMI6d1TQ

DAMASCENO, B. P. G. L. *et al.* Microemulsão: um promissor carreador para moléculas insolúveis. ***Revista Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada***, v. 32, n. 1, p.9-18, 2011. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/72501/2-s2.0-79959509620.pdf?sequence=1>

DANTAS, César A. G. *et al.* Estudo fitoquímico e investigação da atividade imunomoduladora de metabólitos secundários de *Erythroxylum simonis* Plowman

(Erythroxylaceae). 2018. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, 2018.

DAS, Anamika; SARKAR, Sutanu; BHATTACHARYYA, Somnath; GANTAIT, Saikat. Biotechnological advancements in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, n. 11, p. 4811-4835, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10592-1> Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-020-10592-1>

DAWE, D. E; HARLOS, C. H; JUERGENS, R. A. Immuno-oncology—the new paradigm of lung cancer treatment. **Current Oncology**, v. 27, p. S78, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3747/co.27.5183> Disponível em: <https://www.mdpi.com/1718-7729/27/12/5183>

DEMARIA, Marco et al. Cellular senescence promotes adverse effects of chemotherapy and cancer relapse. **Cancer Discovery**, v. 7, n. 2, p. 165-176, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-16-0241> Disponível em: <https://aacrjournals.org/cancerdiscovery/article/7/2/165/6158/Cellular-Senescence-Promotes-Adverse-Effects-of>

DHALWAL, Kamlesh; SHINDE, Vaibhav; MAHADIK, Kakasaheb. Optimization and validation of reverse phase HPLC and HPTLC method for simultaneous quantification of vasicine and vasicinone in *Sida* Species. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, p.1289–1296, 2010. DOI: <https://doi.org/10.5897/JMPR09.470> Disponível em: <https://academicjournals.org/journal/JMPR/article-full-text-pdf/67E4EBA16155>

DIMAS, Kostas et al. Cytotoxic activity of kaempferol glycosides against human leukaemic cell lines *in vitro*. **Pharmacological Research**, v. 41, n. 1, p. 83–86, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1006/phrs.1999.0562> Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1043661899905625?via%3Dihub>

DIN, Fakhar *et al.* Effective use of nanocarriers as drug delivery systems for the treatment of selected tumors. **Int J Nanomedicine**, v. 12, p. 7291- 7309, 2017. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S146315> Disponível em: <https://www.dovepress.com/effective-use-of-nanocarriers-as-drug-delivery-systems-for-the-treatme-peer-reviewed-fulltext-article-IJN#>

DINDA, Biswanath *et al.* 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. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.10.027>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874115301860?casa_token=i3U1DdLGXO4AAAAA:jna4t_cX06a01TV8srFY7-EVDkZ00tM8YYMF3FhcX3oZCnRBhs18VkhrViyHwtxtiai0t-wsL7X

D'AMELIA, V; AVERSANO, R; CHIAIESE, P; CARPUTO, D. The antioxidante properties of plant flavonoids: their exploitation by molecular plant breeding. **Phytochemistry Reviews**, v. 17, n. 3, p. 611-625, 2018. DOI:

<https://doi.org/10.1007/s11101-018-9568-y> Disponível em:
<https://link.springer.com/article/10.1007/s11101-018-9568-y>

EKPO, M. A.; ETIM, P. C. Antimicrobial activity of ethanolic and aqueous extracts of *Sida acuta* on microorganisms from skin infections. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 3, n. 9, p. 621-624, 2009. Disponível em:
<https://academicjournals.org/journal/JMPR/article-full-text-pdf/0AC993B14879.pdf>

ESKANDARI, Zahra; BAHADORI, Fatemeh; CELIK, Burak; ONYUKSEL, Hayat. Targeted nanomedicines for cancer therapy, from basics to clinical trials. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, v. 23, p. 132-157, 2020. Disponível em:
<https://openaccess.bezmialem.edu.tr/handle/20.500.12645/18075>

FALCKE, Sylvia E. *et al.* Clinically relevant radiation exposure differentially impacts forms of cell death in human cells of the innate and adaptive immune system. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 11, p. 3574, 2018. DOI:
<https://doi.org/10.3390/ijms19113574> Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/19/11/3574>

FANG, Ronnie H; KROLL, Ashley V; ZHANG, Liangfang. Nanoparticle-based manipulation of antigen-presenting cells for cancer immunotherapy. **Small**, v. 11, n 41, p. 5483-96, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1002/smll.201501284> Disponível em:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/smll.201501284>

FELIPE, Daniele F. *et al.* Phytochemical analysis of *Pfaffia glomerata* inflorescences by LC-ESI-MS/MS. **Molecules**, v. 19, p.15720-15734, 2014. DOI:
<https://doi.org/10.3390/molecules191015720> Disponível em:
<https://www.mdpi.com/1420-3049/19/10/15720/htm>

FEITELSON, Mark A. *et al.* Sustained proliferation in cancer: Mechanisms and novel therapeutic targets. **Seminars in Cancer Biology**, v. 35, p. S25-S54, 2015. DOI: [10.1016/j.semcancer.2015.02.006](https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2015.02.006)

FEMOE, Ulrich Membe *et al.* Avaliação in vitro da atividade cercaricida de *Sida acuta* Burm. F. e *Sida rhombifolia* Linn. (Malvaceae) Extratos Hidroetanólicos, Citotoxicidade e Estudos Fitoquímicos. **Medicina Complementar e Alternativa Baseada em Evidências**, v. 2022, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/7281144> Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2022/7281144/>

FERLAY, J.; ERVIK, M.; LAM, F.; COLOMBET, M.; MERY, L.; PIÑEROS, M. *et al.* **Global Cancer Observatory: Cancer Today**. Lyon: Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer; 2020.

FERNANDES, Diégina A. *et al.* New sulphated flavonoids and larvicidal activity of *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae). **Molecules**, v. 23, n. 11, p. 2784, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules23112784> Disponível em:
<https://www.mdpi.com/1420-3049/23/11/2784>

FERNANDES, Diégina Araújo *et al.* Larvicidal compounds extracted from *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae) evaluated against *Aedes aegypti* L. **Molecules**, v. 24, p. 2315, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24122315> Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/12/2315>

FERNANDEZ, Patrick *et al.* Nanoemulsions formation by emulsion phase inversion. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 251, p. 53-58, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2004.09.029> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927775704006326?casa_token=PIaht9ZayZQAAAAA:N9V_RZRj9s5kgijQESwvsOI5cKgnal79nE5IiI12KImF-G_bJOPctrge9yM96utGcMOKD-OcjTLg

FERREIRA, M. Brandão; MACEDO, G.A.R.; BUENDIA, J. P. L. Plantas daninhas com possibilidades de forrageiras para bovinos em condições de cerrado. **Planta Daninha**, v. 7, p. 41–48, 1984. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83581984000100005> Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pd/a/tDh5VrcPXyBnvm43VV5K4n/?format=pdf&lang=pt>

FERREIRA, Maria Denise Leite *et al.* Phytochemical study of *Waltheria viscosissima* and evaluation of its larvicidal activity against *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, p. 582-590, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.05.008> Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/pJpKZ4zwXbwJ5wVtVgDynCv/?format=html&lang=en>

FETT-NETO, Arthur G.; DICOSMO, Frank. Production of paclitaxel and related taxoids in cell cultures of *Taxus cuspidata*: perspectives for industrial applications. In: **Plant Cell Culture Secondary Metabolism**. CRC Press, p. 139-166, 2020.

FIRMINO, Wellyson Cunha. A. *et al.* Uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Caderno de Pesquisa**. São Luís, v. 18, 2011. Disponível em: <https://periodicoseletronicos.ufma.br/index.php/cadernosdepesquisa/article/view/746>

FIRMINO, Aline D. **Malvaceae Juss. na área de proteção ambiental mestre Álvaro, Serra, ES, Brasil**. 2018. 70f. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical da Universidade Federal do Espírito Santo. 2018. Disponível em: <http://repositorio.ufes.br/handle/10/8306>

Flora do Brasil. Malvaceae. 2020. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB156> Acesso em: 13/07/2022.

FORCADOS, G. E.; JAMES, D. B.; SALLAU, A. B.; MUHAMMAD, A.; MABETA, P. Oxidative stress and carcinogenesis: Potential of phytochemicals in breast cancer therapy. **Nutrition and Cancer**, v. 69, n. 3, p. 365-374, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/01635581.2017.1267777> Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01635581.2017.1267777>

FRYXELL, Paul A. In: **Flora of Ecuador: Malvaceae**. Publishing House of the Swedish Research Councils, Sweden, v. 44, p. 1-142, 1992.

FRYXELL, Paul A. A new South American subsection of *Sida sect. Nelavaga* (Malvaceae) with two new species. **Lundellia**, v. 12, p. 15-27, 2009. DOI: <https://doi.org/10.25224/1097-993X-12.1.15> Disponível em: <https://bioone.org/journals/lundellia/volume-2009/issue-12/1097-993X-12.1.15/A-New-South-American-Subsection-of-Sida-Sect-Nelavaga-Malvaceae/10.25224/1097-993X-12.1.15.full>

GANESH, Mani; MOHANKUMAR, Murugan. Extraction and identification of bioactive components in *Sida cordata* (Burm.f.) using gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, p. 3082–3091, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2744-z> Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-017-2744-z>

GAO, Ying; CHEN, Kan; MA, Jin-lu; GAO, Fei. Cerium oxide nanoparticles in cancer. **OncoTargets and Therapy**, v. 7, p. 835-840, 2014. DOI: [10.2147/OTT.S62057](https://doi.org/10.2147/OTT.S62057) Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4043807/>

GBIF – Global Biodiversity Information Facility. Disponível em: <https://www.gbif.org/species/6685> Acesso em: 13/07/2022.

GEORGE, Mathew; JOSEPH, Lincy; ARAVIND, Anjitha. Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. **World Journal of Pharmaceutical Research**, v. 6, 1457–1462, 2017. DOI: <https://doi.org/10.20959/wjpr20177-8793> Disponível em: https://wjpr.s3.ap-south-1.amazonaws.com/article_issue/1499162779.pdf

GOBBO-NETO, Leonardo. **Emprego das técnicas hifenadas na identificação de metabólitos secundários de *Lychnophora ericoides* Mart. (Asteraceae) e determinação das suas variações populacionais e temporais**. 2007. 254f. Tese. Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo – SP, 2007. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60138/tde-02102008-165058/publico/Doutorado_Gobbo.pdf

GOMES, Roosevelt A. *et al.* Phenolic compounds from *Sidastrum micranthum* (A. St.-Hil.) fryxell and evaluation of acacetin and 7, 4'-Di-O-methylisoscutearein as modulator of bacterial drug resistance. **Química Nova**, v. 34, p. 1385-1388, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/4PjWQ4Lgs3BjzCZ55fRxb4h/?format=pdf&lang=en>

GOYAL, M. M.; RANI, K.K. Hydrocarbons and phytosterols from the petroleum ether extract of *Sida acuta* Burm. **Indian Drugs**, v. 25, p. 184–185, 1988.

GRAMPUROHIT, Nirmala; RAVIKUMAR, Padmini. MALLYA, Rashmi. Microemulsions for topical use – A review. **Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research**, v. 45, n. 1, p. 100–107, 2011. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Padmini-Ravikumar/publication/264234667_Microemulsions_for_topical_use_AReview/links/53d3772e0cf2a7fbb2e9d52d/Microemulsions-for-topical-use-AReview.pdf

HAN, Han et al. A Soluplus/Poloxamer 407-based self-nanoemulsifying drug delivery system for the weakly basic drug carvedilol to improve its

bioavailability. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 27, p. 102199, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2020.102199> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1549963420300538?casa_token=f_4B56C4F44AAAAA:T0GvKNkMNQ0o1aVSmDhGhuBreS8zqosSk3Z1pKzMQawx-0Ktfw046RMp1zemz7-JV6G5_7-gMMVY

HAN, Rui; Yang, Hongxing; Lu, Lingeng; Lin, Lizhu. Tiliroside as a CAXII inhibitor suppresses liver cancer development and modulates E2Fs/Caspase-3 axis. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-11, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88133-7> Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-88133-7>

HANAHAHAN, D. Rethinking the war on cancer. **The Lancet**, v. 383, n. 9916, p. 558–563, 2014. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62226-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62226-6) Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0140673613622266>

HARVEY, A. L. *et al.* The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. **Nature Reviews Drug Discovery**. v.14, n.2, p. 111-129, 2015.

HASIMI, Nesrin *et al.* Chemical profile of *Malva neglecta* and *Malvella sherardiana* by LC-MS/MS, GC/MS and their anticholinesterase, antimicrobial and antioxidant properties with aflatoxin-contents. **Marmara Pharmaceutical Journal**, v. 21, n. 3, p. 471-484, 2017. DOI: <https://doi.org/10.12991/marupj.307461> Disponível em: <https://dergipark.org.tr/en/pub/marupj/article/307461>

HIRSCHFELD, T. Os métodos hifenizados. **Química analítica**, v. 52, n. 2, p. 297A-312^a, 1980.

HSU, H. J *et al.* Preparation of carotenoid extracts and nanoemulsions from *Lycium barbarum* L. and their effects on growth of HT-29 colon cancer cells. **Nanotechnology**, v. 28, p. 135103, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1088/1361-6528/aa5e86> Disponível em: https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1361-6528/aa5e86/meta?casa_token=FkW8xzJqVAAAAAAA:mJSGYY51RMLLE8XQzuzepoXQfrfoe6Ir8xM4JWCtG1QaUjvaut8ZFyRnglqWr2b4ZpH5Ot872wdM

HU, Che-Min J; Zhang, Liangfang. Nanoparticle-based combination therapy toward overcoming drug resistance in cancer. **Biochem. Pharmacol**, v. 83, p. 1104–1111, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.01.008> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006295212000330?casa_token=y6MYk9wW6AQAAAAA:lmIGDExyAYf6zvLUP8P08xGxs8k5uqjY81r49oULBuf-gUbsa2IRp6E0D7E_b8ay-7jG5wxI

HUNG, Tung W. *et al.* Kaempferol Inhibits the Invasion and Migration of Renal Cancer Cells through the Downregulation of AKT and FAK Pathways. **International Journal of Medical Sciences**, v. 14, n. 10, p. 984–993, 2017. DOI: [10.7150/ijms.20336](https://doi.org/10.7150/ijms.20336) Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5599922/>

INCA. Instituto Nacional de Câncer. **Estimativa 2020 – Incidência de Câncer no Brasil**. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/noticias/brasil-tera-625-mil-novos-casos-de-cancer-cadaano-do-trienio-2020-2022>. Acesso em: 15 setembro de 2022.

ISLAM, Muhammad Torequl *et al.* Evaluation of toxic, cytotoxic and genotoxic effects of phytol and its nanoemulsion. **Chemosphere**, v. 177, p. 93-101, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.145> Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S004565351730334X>

JANG, Sik D. *et al.* Compounds obtained from *Sida acuta* with the potential to induce quinone reductase and to inhibit 7, 12-dimethylbenz-[a]ntracene-induced preneoplastic lesions in a mouse mammary organ culture model. **Archives of Pharmacal Research**, v. 26, p. 585–590, 2003. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02976704>

JAROSZ-BIEJ, Magdalena; SMOLARCZYK, Ryszard, CICHÓN, Tomasz; KUŁACH, Natalia. Tumor Microenvironment as A “Game Changer” in Cancer Radiotherapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 13, p. 3212, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20133212> Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/13/3212>

JONES, Robert J. *et al.* A phase II open-label study of DHA-paclitaxel (Taxoprexin) by 2-h intravenous infusion in previously untreated patients with locally advanced or metastatic gastric or oesophageal adenocarcinoma. **Cancer Chemother. Pharmacol**, v. 61, p. 435–441, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00280-007-0486-8> Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00280-007-0486-8>

JOSHI, Rachana R.; GUPTA, Krishna R.; PATIL, Shitalkumar S. Hyphenated technique-A boon to analytical world. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, n. 11, p. 4184, 2012. Disponível em: <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.278.3894&rep=rep1&type=pdf>

KACHLICKI, P. *et al.* Evaluation of glycosylation and malonylation patterns in flavonoid glycosides during LC/MS/MS metabolite profiling. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 43, p. 572-586, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1002/jms.1344> Disponível em: https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jms.1344?casa_token=oi7tVHyB9x4AAAAA:J0X6h7WPl6TJNY9gRipNjDP7x84fNa0jzZ_11LO0ZhDOlBZu7LxOBrBzs2dfXd_h27BMw62T2ikasg7RMg

KANTHAL, Lakshmi K. Evaluation of in-vitro cytotoxic activity of chloroform extract of *Sida acuta* Burm. F. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 10, p. 143, 2017. DOI: <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i2.14810> Disponível em: <https://www.innovareacademics.in/journals/index.php/ajpcr/article/view/14810>

KAROU, Simplicie D. *et al.* Review: *Sida acuta* Burm. f.: a medicinal plant with numerous potencies. **African Journal of Biotechnology**. v. 6, n. 5, p. 2953-2959, 2007. DOI: [10.5897/AJB2007.000-2463](https://doi.org/10.5897/AJB2007.000-2463) Disponível em: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/58270>

KARPOZILOS, A; PAVLIDIS, N. The treatment of cancer in Greek antiquity. **European Journal of Cancer**, v. 40, n. 14, p. 2033-2040, 2004. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.ejca.2004.04.036> Disponível em:
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959804904004162?casa_token=wOtSYAXm_WAAAAAA:82MK5W-dpBZ8-w_sfuaL-ASdyYpScyXqUUEYr7OOQHLYgsXv7OPXrxN-3Y5zBr-5vp0sLc

KHAN, Yaqoob Y. *et al.* Multiple emulsions: an overview. **Current drug delivery**, v. 3, n. 4, p. 429-443, 2006. DOI: <https://doi.org/10.2174/156720106778559056>
Disponível em:
<https://www.ingentaconnect.com/content/ben/cdd/2006/00000003/00000004/art00011>

KHAN, Junaid *et al.* Recent advances and future prospects of phyto-phospholipid complexation technique for improving pharmacokinetic profile of plant actives. **Journal of Controlled Release**, v. 168, n.1, p.50-60, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.02.025> Disponível em:
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365913001223?casa_token=zbq3WWG740AAAAA:9tJ1mdUkf5dJ8QBCn6msa_c4ZWCwcf7JolFUUcmu5ZBhXboWIV56p-58jKHaLpteo9FINWkJM1Ro

KHAN, Abdul W. *et al.* Self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) of the poorly water-soluble grapefruit flavonoid naringenin: design, characterization, *in vitro* and *in vivo* evaluation. **Drug Delivery**, v. 22, n. 4, p. 552–561, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3109/10717544.2013.878003> Disponível em:
<https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.3109/10717544.2013.878003>

KHARE, M.; SRIVASTAVA, S. K.; SINGH, A. K. Chemistry and pharmacology of genus *Sida* (Malvaceae) - A review. **Journal Medicinal and Aromatic Plant Science**, 24:430-440, 2002. Disponível em:
<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20023147526>

KHOLKUTE, S. D *et al.* Antifertility activities of indigenous plants, *Sida carpinifolia* and *Podocarpus brevifolius* in female rats. **Indian Journal of Experimental Biology**, v.16, n. 6, p. 696-698, 1978. Disponível em:
<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/sea-56537>

KOKWARO, J. O. **Medicinal plants of East Africa**. 2nd Edition. Kenya Literature Bureau, Nairobi, Kenya. pp. 401, 1993.

KOOLEN, Hector H. *et al.* Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC–ESI-MS/MS. **Food Research International**, v. 51, n. 2, p. 467-473, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.039> Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996913000665>

KOTTA, Sabna *et al.* Exploring oral nanoemulsions for bioavailability enhancement of poorly water-soluble drugs. **Expert Opinion Drug Delivery**, v. 9, p. 585–598, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1517/17425247.2012.668523> Disponível em:
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1517/17425247.2012.668523>

KRAPOVICKAS, Antonio. Las especies argentinas y de países vecinos de *Sida* sec. C Nelavaga (Malvaceae: Malveae). *Bonplandia*, Corrientes, v. 15, p. 5-45, 2006. Disponível em: <https://revistas.unne.edu.ar/index.php/bon/article/view/89>

LANÇAS, Fernando M. *et al.* A cromatografia líquida moderna e a espectrometria de massas: finalmente —compatíveis!. **Scientia Chromatographica**, v. 1, n. 2, p. 35-61, 2009. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/1696543/mod_resource/content/1/Lan%C3%A7as%20SC%20C%202009%20-%20v1n2a4%20-%20MS.pdf

LEE, Yeuan T; TAN, Yi J; OON, Chern E. Molecular targeted therapy: Treating cancer with specificity. *European Journal of Pharmacology*, v. 834, p. 188–196, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.07.034> Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014299918304011?via%3Dihub>

LI, Xiangcun *et al.* Study on conductivity property and microstructure of TritonX-100/alkanol/n-heptane/water microemulsion. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 360, p. 150-158, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2010.02.026> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927775710001512?casa_token=mer4uxTw-oAAAAA:36lmisMsduFT9Pvp57vipnjJmiyzV5e3TnhfYIfCVGcgHwDxF6HNQUsNScCWYKRARNQjwTsROB

LI, Zhen-Quan *et al.* Effect of zwitterionic surfactants on wetting of quartz surfaces. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 430, n. 0, p. 110-116, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.04.024> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927775713003087?casa_token=4Ip8tjIJ4q8AAAAA:8H12MALZGHjPB2AqT0Tdh0LyoZqPQaOLJT3ySgphj21U8AogD7MXGIRO5bv-VHqFIQRj3_n_cEJy

LI, Ya-Nan *et al.* Chemical constituents from the flowers of *Hypericum monogynum* L. with COX-2 inhibitory activity. **Phytochemistry**, v. 193, p. 112970, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2021.112970> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942221003198?casa_token=Qd16Je9fmEAAAAA:AEz3TD-Hqp1vTTKi5lsq2jrN1d_KuZeEx-fpE6C1TtZSzfDwPrneffgY9LMG130kLTxjBc22

LIEBMANN, J.; Cook, J.; Mitchell, J. Cremophor EL, solvent for paclitaxel, and toxicity. **Lancet**, v. 342, p. 1428, 1993.

LIU, Zhaohan *et al.* Nanoencapsulation of cyanidin-3-*O*-glucoside enhances protection against UVB-induced epidermal damage through regulation of p53-mediated apoptosis in mice. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 21, p. 5359–5367, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01002> Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.jafc.8b01002?casa_token=O2-rPGI2fosAAAAA:9TCdg6rk5EMxPIH-cHs0zKYahuF9Oxbi-CDfT_CCEt-dIVS-76aYMZFN2x7qedndQkG6JKG6SP32vkbPyA

LOPES, Leandra Gobira. **Estudo Químico de *Pavonia multiflora* A. St-Hil (Malvaceae), planta endêmica do Espírito Santo**. 2014. Dissertação. Programa de Pós Graduação em Química – Universidade Federal do Espírito Santo, 2014. Disponível em: [http://repositorio.ufes.br/bitstream/10/1613/1/Estudo%20quimico%20de%20Pavonia%20multiflora%20A.%20St-Hil.%20\(Malvaceae\),%20planta%20endemica%20do%20Espirito%20Santo.pdf](http://repositorio.ufes.br/bitstream/10/1613/1/Estudo%20quimico%20de%20Pavonia%20multiflora%20A.%20St-Hil.%20(Malvaceae),%20planta%20endemica%20do%20Espirito%20Santo.pdf)

LOPES, Livia D et al. Prevention and treatment of mucositis at an oncology outpatient clinic: a collective construction. **Texto Contexto Enferm**, v. 25, n. 1, p. 2060014, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/0104-070720160002060014> Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0104-070720160002060014>

LÓPEZ-FERNÁNDEZ, Olalla et al. Determination of polyphenols using liquid chromatography–tandem mass spectrometry technique (LC–MS/MS): A review. **Antioxidants**, v. 9, n. 6, p. 479, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox9060479> Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/9/6/479>

LUO, Zijun et al. Particle-stabilizing effects of flavonoids at the oil– water interface. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 6, p. 2636-2645, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf1041855> Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf1041855>

LUO, Haitao et al. Kaempferol nanoparticles achieve strong and selective inhibition of ovarian cancer cell viability. **International Journal Nanomedicine**, v. 7, p. 3951, 2012. DOI: [10.2147/IJN.S33670](https://doi.org/10.2147/IJN.S33670) Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3410694/>

MAH, Siau H.; TEH, Soek S.; EE, Gwendoline C. L. Anti-inflammatory, anti-cholinergic and cytotoxic effects of *Sida rhombifolia*. **Pharmaceutical Biology**, v. 55, p. 920–928, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1285322> Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/13880209.2017.1285322>

MAJUMDAR, Debatosh *et al.* Luteolin nanoparticle in chemoprevention: *in vitro* and *in vivo* anticancer activity. **Cancer Prevention Research**, v. 7, n. 1, p. 65–73, 2014. DOI: [10.1158/1940-6207.CAPR-13-0230](https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-13-0230) Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3888883/>

MARIMUTHU, Govindarajan. Larvicidal and repellent activities of *Sida acuta* Bunn. f. (Family: Malvaceae) against three important vector mosquitoes. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, 691-695, 2010. DOI: [10.1016/S1995-7645\(10\)60167-8](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(10)60167-8) Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20103343722>

MARTINS, José L. R. et al. Medicinal species with gastroprotective activity found in the Brazilian cerrado. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 29, n. 3, p.1-14, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/fcp.12113> Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/fcp.12113?casa_token=24GZSFPqwC8AAAAA%3A-uWtCxUmMiSptcARAun5Z2-iGZSp4sHttHoYaoGOQt_BRaDafS0NuFXpPnW_bXz-cqCeJp2WIVG6nTn4qw

MARTINS, D.; SANTOS, J. F.; LOBÃO, M.; SOARES, C.; UZAM, P. P. Manipulação de quimioterápicos pelos profissionais da saúde. **Revista da Universidade Ibirapuera**, v. 10, 2016. Disponível em:

<https://www.ibirapuera.br/seer/index.php/rev/article/view/79>

MARTÍNEZ, Ballesta M; GIL, Izquierdo Á; GARCÍA, Viguera C; DOMÍNGUEZ, Perles R. Nanoparticles and controlled delivery for bioactive compounds: Outlining challenges for new “smart-foods” for health. **Foods**, v. 7, n. 5, p. 72, 2018. DOI:

<https://doi.org/10.3390/foods7050072> Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5977092/>

MATEOS, Raquel et al. Improved LC-MSⁿ characterization of hydroxycinnamic acid derivatives and flavonols in different commercial mate (*Ilex paraguariensis*) brands. Quantification of polyphenols, methylxanthines, and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 241, p. 232-241, 2018. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.085> Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814617314206?casa_token=zSWnduW9n08AAAAA:rCUVggzwDztrUZhCGgaw_so9G96Hb7bfeDrRy2Mws_5WFB EQ5GXEYVGDcemn2-d2919Byju9zCov

MEDEIROS, Arthur S. A. et al. Self-assembled cationic-covered nanoemulsion as a novel biocompatible immunoadjuvant for antiserum production against *Tityus serrulatus* scorpion venom. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 10, p. 927, 2020. DOI:

<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12100927> Disponível em:

<https://www.mdpi.com/1999-4923/12/10/927>

MEDINA, Inmaculada C. R. et al. Direct characterization of aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* using HPLC with diode array detection coupled to ESI and ion trap MS. **Journal of Separation Science**, v. 32, p. 3441-3448, 2009. DOI:

<https://doi.org/10.1002/jssc.200900298> Disponível em:

https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jssc.200900298?casa_token=tiwEIVTEToQAAAAA:N4XhAW8bNHFRc7RuNwlqqCzDUvI3czg1c84gcJ7tbw_Xbue_hZRIhi2nrEhA9DrS4JRCnRnBaxqRcCmsjA

MILLER, Kimberly D. et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2019. **CA: Cancer Journal for Clinicians**, v. 69, n. 5, p. 363-385, 2019. DOI:

<https://doi.org/10.3322/caac.21565> Disponível em:

<https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3322/caac.21565>

MIZGIER, Paulina et al. Characterization of phenolic compounds and antioxidant and anti-inflammatory properties of red cabbage and purple carrot extracts. **Journal of Functional Foods**, v. 21, p. 133-146, 2016. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.12.004> Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464615005952?casa_token=0E_kwHgHixcAAAAA:Cb0W65zYq9_fj0wbqHJNWNn03i2P6KnQEQUY5hR9c3KVXpq_oAbKZJ2L5WssxeI15rxTM7XCZSDW

MITCHELL, Michael J. et al. Engineering precision nanoparticles for drug delivery. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 20, n. 2, p. 101-124, 2021. DOI:

<https://doi.org/10.1038/s41573-020-0090-8> Disponível em:
<https://www.nature.com/articles/s41573-020-0090-8>

MOCO, Sofia et al. A liquid chromatography-mass spectrometry-based metabolome database for tomato. **Plant physiology**, v. 141, n. 4, p. 1205-1218, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.106.078428> Disponível em: https://academic.oup.com/plphys/article/141/4/1205/6103523?casa_token=NE3OYKod_sN8AAAAA:F4Niw1fRAMLzLbpSSHAHj_kYcvJVTIBazmWI1rHliOpEQB426LUEJ_e4WqcZhgX8H8Qsn2PHntDeQGM_6

MOHAMED, Tamer M. et al. Regulation of cell cycle to stimulate adult cardiomyocyte proliferation and cardiac regeneration. **Cell**, v.173, n. 1, pp.104-116, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.02.014> Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867418301582>

MORALES, D. et al. A study of the relation between bicontinuous microemulsions and oil/water nanoemulsion formation. **Langmuir**, v. 19, p.7196-7200, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1021/la0300737> Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/la0300737?casa_token=1s4mAFvm2yIAAAAA%3ACFRgsdkTWqD8qoibXnw50iWVHvVk_Qbe45qxLUElBd0oVJNQunQ-SjsqiiUME6YAzdxu1BSXgv_G_IqtKQ

MORAIS, Gilsane G. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de emulsões O/A com cristais líquidos acrescidos de xantina para tratamento de hidrolipodistrofia ginóide (celulite)**. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Ribeirão Preto, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, 2006. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60137/tde-17012007-150546/publico/GilsaneGarciaMorais.pdf>

MOSMANN, Tim. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55–63, 1983. DOI: [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4) Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0022175983903034>

MOUSAVI, Mahta et al. The positive impact of a new parting process on antioxidant activity, malic acid and phenolic content of *Prunus avium* L., *Prunus persica* L. and *Prunus domestica* subsp. *Insititia* L. powders. **Microchemical Journal**, v. 149, p. 103962, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.103962> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0026265X19309476?casa_token=2bTWtlcXzhAAAAA:pcXmUF3HiGU81tp87QeEXuJc0PIMOBouPZb3qvzBqPjub_70qaaYwKec6dj8ViQfXpr1HEOtbp2N

MUNEESWARI, Perumalsamy; BHASKARAN, Sreenath; POORNIMA, Kannappan. Identification of active pharmaceuticals of *Sida acuta* Burm.f. leaves using GC-MS and HPTLC fingerprinting. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Research**, v. 10, n. 3, p. 1194–1207, 2019. DOI: [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10\(3\).1194-07](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10(3).1194-07). Disponível em: <https://ijpsr.com/bft-article/identification-of-active-pharmaceuticals-of-sida-acuta-burm-f-leaves-using-gc-ms-and-hptlc-fingerprinting/>

NAIK, R.; VENUGOPALAN, V.; KUMARAVELAYUTHAM, P. Ethnoveterinary uses of medicinal plants among the Lambani community in Chitradurga district, Karnataka, India. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 2, p. S470–S476, 2012. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60256-1](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60256-1) Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2221169112602561?casa_token=18jf4-mJuO4AAAAA:mqoA5NVCKneJ1pALAE-uL6evGaK8J2HSINtfYcs424uETAp3fCwOUq-g9TDyiRWYUY1UkIWNzsgo

NASCIMENTO, Janilde M. et al. Ampliando a Ocorrência de Malvaceae para o Maranhão, Brasil. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 4, p. e182942612-e182942612, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i4.2612> Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/2612>

NEUWINGER, H. D. **African traditional medicine: a dictionary of plant use and applications**. Medpharm Scientific, Stuttgart, Germany. pp. 599, 2000.

NWANKPA, P et al. Phyto-nutrient composition and oxidative potential of ethanolic leaf extracts of *Sida acuta* in wistar albino rats. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 49, p. 3264-3269, 2015. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJB2015.14897> Disponível em: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/128494>

NWANKPA, P. et al. Effect of ethanol root and leaf extracts of *Sida acuta* on some kidney function indices and electrolytes in albino wistar rats. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences** v. 7, n. 2, p. 2759–2766, 2018. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.702.336>

NWANKWO, Nicodemus E. et al. Triagem fitoquímica, potencial anti-inflamatório, anti-nociceptivo e antioxidante da fração foliar de acetato de etila de *Sida Linifolia* L. (Malvaceae). Disponível em: https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=4126763#

OBOH, IE; ONWUKAEME, D. N. Analgesic, anti-inflammatory and anti-ulcer activities of *Sida acuta* in mice and rat. Nigerian. **Journal of Natural products and Medicine**, v. 9, p. 19- 21, 2005. DOI: <10.4314/njnpm.v9i1.11827> Disponível em: <https://www.ajol.info/index.php/njnpm/article/view/11827>

ODES, Edward J. et al. Earliest hominin cancer: 1.7-million-year-old osteosarcoma from Swartkrans Cave, South Africa. *South African Journal of Science*, v. 112, n. 7-8, p. 1-5, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.17159/sajs.2016/20150471> Disponível em: http://www.scielo.org.za/scielo.php?pid=S0038-23532016000400014&script=sci_arttext&tlng=es

OMS. Organização Mundial da Saúde. Câncer. Acessado em: 20 de outubro de 2022. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/cancer>

OPAS. Organização Pan-Americana de Saúde. Câncer. Acessado em: 10 de janeiro de 2023. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/cancer>

OTERO, R. et al. Snake bites and ethnobotany in the northwest region of Colombia Part II: Neutralisation of lethal and enzymatic effects of *Bothrops atrox* venom. **Journal**

- Ethnopharmacology**, v. 71, p. 505-511, 2000. DOI: [10.1016/S0378-8741\(00\)00243-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00243-9) Disponível em: <https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-525fa88b-4ff3-3511-a78b-e244c3474206>
- OWOEYE, O; SALAMI, O. A. Monosodium glutamate toxicity: *Sida acuta* leaf extract ameliorated brain histological alterations, biochemical and haematological changes in wistar rats. **African Journal of Biomedical Research**, v. 20, p. 173–182, 2017. Disponível em: <https://www.ajol.info/index.php/ajbr/article/view/167139>
- PAJUELO-LOZANO, N. et al. XPA, XPC, and XPD Modulate Sensitivity in Gastric Cisplatin Resistance Cancer Cells. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, n. OCT, p. 1– 11, 17 out. 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01197> Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2018.01197/full>
- PARRA, L. L. L. **Uso de Desreplicação por HPLC-UV-MS para a descoberta de metabólitos bioativos de invertebrados marinhos**. 2016. p. 107. / Tese (Doutorado em Química Orgânica e Biologia) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.
- PAVIA, Donald L. et al. Introdução à espectroscopia: Tradução da 4ª edição norte-americana. **São Paulo: Cengage Learning**, 2010.
- PETERS, Jeffrey M; GONZALEZ, Frank J. The Evolution of Carcinogenesis. **Toxicological Sciences**, v. 165, n. 2, p. 272-276, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfy184> Disponível em: <https://academic.oup.com/toxsci/article/165/2/272/5104931?login=false>
- PEY, C. M. et al. Optimization of nano-emulsions prepared by lowenergy emulsification methods at constant temperature using a factorial design study. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 288, p. 144 -150, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2006.02.026> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927775706001348?casa_token=3Km0IWIWKLAAoAAAAA:QtNDjFNSnA8tk72f5XkBeQx8IfNqw7TppLQI31GCZzw7RSWusX1rldJRW5O3NLY2Mq75SSNQ604_K
- PIEME, C. A. et al. In vitro cytotoxicity and antioxidant activities of five medicinal plants of Malvaceae family from Caineroon. **Environmental Toxicology and Phannacology**, v. 29, p. 223-228, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2010.01.003> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1382668910000116?casa_token=AbYSqoN41U0AAAAA:NM5CZ0oKCYWwNiO5qob4It3yA5UYZPtY81XxBHhtbyD65aQE24mELSNi-L0RKuw1voFE6fYQRf3M
- PIMENTEL, Vitor P. et al. **Biodiversidade brasileira como fonte da inovação farmacêutica: uma nova esperança?**. 2015.
- PLAZONIC, Ana et al. Identification and quantification of flavonoids and phenolic acids in burr parsley (*Caucalis platycarpus* L.), using high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization mass

spectrometry. **Molecules**, v. 14, p. 2466-2490, 2009. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules14072466> Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/14/7/2466>

PORDEUS, Sara M. **Estudo taxonômico e síndrome de dispersão de Malvoideae Burnett (Malvaceae) no agreste Paraibano, Nordeste do Brasil**. 2016. 101f. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e conservação – Universidade Estadual da Paraíba – PB, 2016. Disponível em: <http://tede.bc.uepb.edu.br/jspui/bitstream/tede/2423/2/PDF%20-%20Sara%20Morais%20Pordeus.pdf>

POUTON, Colin W.; PORTER, Christopher J. H. Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration: Materials, methods and strategies. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, n. 6, p. 625-637, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.10.010> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X07003109?casa_token=mW2FbUBxNQAAAAA:oSVCYjpbUBqGLOJzvYJPx4gphRRO5Lmrm6Z4UwX3SHENvRvSgklSSWrXEh_yr01LeIyyIFk4sa1I

PRAKASH, A.; VARMA, R. K.; GHOSAL, S. Chemical Constituents of the Malvaceae. Part III. Alkaloidal Constituents of *Sida acuta*, *Sida humilis*, *Sida rhombifolia* and *Sida spinosa*. **Plant Medicinal**, v. 43, p. 384-388, 1981.

QUINTÃO, Frederico J. O. et al. Hydroalcoholic extracts of *Vellozia squamata*: study of its nanoemulsions for pharmaceutical or cosmetic applications. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 1, p. 101-107, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013005000001> Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0102695X13700139>

RADZIEJEWSKA, Iwona et al. p-Coumaric acid, Kaempferol, astragalín and tiliroside influence the expression of glycoforms in AGS Gastric Cancer Cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 15, p. 8602, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23158602> Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/15/8602/htm>

RAGELLE, Héloïse et al. Nanoemulsion formulation of fisetin improves bioavailability and antitumour activity in mice. **International Journal of Pharmaceutical**, v. 427, n. 2, p. 452-459, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.02.025> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517312001755?casa_token=GTwXqOypGrAAAAA:VO4e4kjdcX3MpkjyUuQQj04jsSAAGlCMCxGQJdaJSh_xriFMqNuwdobdev0aC3StCjKgP2QmFDXH

RAO, Jiajia; McCLEMENTS, David J. Optimization of lipid nanoparticle formation for beverage applications: Influence of oil type, cosolvents, and cosurfactants on nanoemulsion properties. **Journal of Food Engineering**, v. 118, n. 2, p. 198-204, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.04.010> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026087741300174X?casa_token=RyjN6kHn5BwAAAAA:kCcL9HyjGnd00Fcj2iSUq7qT-DnvCLhSZzE_u7nMzJ_nLg57wHFSAvMTprmqY5XAwily8vc0oses

RAO, Yerra K; GEETHANGILI, Madamanchi; FANG, Shih H; TZENG, Yew-Min. Antioxidant and cytotoxic activities of naturally occurring phenolic and related compounds: a comparative study. **Food and Chemical Toxicology**, 45(9), 1770-1776, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.03.012> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0278691507001147?casa_token=6PoRK-IcXyIAAAAA:00pdFWNnbcum_k7p5OS3vF0vtQPp9XgDuQIPK9vYJqoxTqQ5oGW0rimi5MEnFb1-p4_cDsAL

RAVISHANKAR, Divyashree; RAJORA, Amit K., GRECO, Francesca; OSBORN, Helen M. Flavonoids as prospective compounds for anti-cancer therapy. **The International Journal of Biochemistry & Cell biology**, v. 45, n. 12, p. 2821-2831, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.10.004> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S135727251300321X?casa_token=e9Oojb-AqYkAAAAA:wtSBI1MKyNaK3KIqNj59oeDYAr2M2Y5A-VFavJGyffLdkull_HKIk7M-IpX6MNNuCNdJTbiP

REIS, Malu Maria Lucas et al. **Sistemas nano/microemulsionados como carreadores para derivado flavonoídico (FLAVONA)**. 2017. 71f. Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – UEPB. Disponível em: <http://tede.bc.uepb.edu.br/jspui/handle/tede/3061>

RODRIGUES, Felicidade C.; OLIVEIRA, Antônio F. M. O gênero *Sida* L. (Malvaceae): Uma atualização de seu uso etnomedicinal, farmacologia e fitoquímica. **South African Journal of Botany**, v. 132, p. 432-462, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.04.030> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629920309005?casa_token=VnYgPP8kfCoAAAAA:3IYRo_E28csxz2uI_GXEdw-AfYdDv9MWWhsSSfJUWIRgg0jllLWJril_WQ35aMohJPmmxyuLnhSYz

ROGER, Emilie et al. Biopharmaceutical parameters to consider in order to alter the fate of nanocarriers after oral delivery. **Nanomedicine**, v. 5, n. 2, p. 287-306, 2010. DOI: <https://doi.org/10.2217/nnm.09.110> Disponível em: <https://www.futuremedicine.com/doi/full/10.2217/nnm.09.110>

ROMIEU, Isabele, AMADOU, A., CHAJES, V. The role of diet, physical activity, body fatness, and breastfeeding in breast cancer in young women: epidemiological evidence. **Revista de Investigacion Clinica**, v. 69, n. 4, p. 193-203, 2017. DOI: 10.24875/RIC.17002263 Disponível em: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenI.cgi?IDARTICULO=75383>

ROWE, Raymond C.; SHESKEY, Paul; QUINN, Marian. **Handbook of pharmaceutical excipients**. Libros Digitales-Pharmaceutical Press, 2009.

RUIJTENBERG, Susan; VAN DEN HEUVEL, Sander. Coordinating cell proliferation and differentiation: Antagonism between cell cycle regulators and cell type-specific gene expression. **Cell cycle**, v. 15, n. 2, pp.196-212, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1080/15384101.2015.1120925> Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15384101.2015.1120925>

SABA, Marileide D. **Morfologia polínica de malvaceae: implicações taxonômicas e filogenéticas**. 2007. 203f. Tese. Programa de Pós Graduação em Botânica - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana-BA, 2007.

SABA, N. et al. Potential of bioenergy production from industrial kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) based on Malaysian perspective. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 42, p. 446-459, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.10.029>

Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364032114008466?casa_token=4168985vJKUAAAAA:o8MzRzQzime95ahKYrV8HW_c2d4FYaOt69ITn5XLr1Gw5bjHkmlU0wCUZ43uHEotzx6wUnBkSIqi

SAENSOUKA, Piyapom; SAENSOUKB, Surapon; PASORNB, Pattana. *Sida linifolia* (Malvaceae), a new record for Thailand. **Journal Japanese Botany**, v. 91, n. 5, p. 295–297, 2016. Disponível em: http://www.jjbotany.com/pdf/JJB_091_295_297.pdf

SAID, Ridha B. et al. Tentative characterization of polyphenolic compounds in the male flowers of *Phoenix dactylifera* by liquid chromatography coupled with mass spectrometry and DFT. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n.3, p. 512, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms18030512>

Disponível em:

<https://www.mdpi.com/1422-0067/18/3/512>

SÁNCHEZ-LÓPEZ, Elena et al. Current applications of nanoemulsions in cancer therapeutics. **Nanomaterials**, v. 9, n. 6, p. 821, 2019. DOI:

<https://doi.org/10.3390/nano9060821> Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-4991/9/6/821>

SARI, T. P. et al. Preparation and characterization of nanoemulsion encapsulating curcumin. **Food Hydrocolloids**, v. 43, n. 0, p. 540-546, 2015. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.07.011> Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X14002549?casa_token=LNTKx2K3A-AAAAAA:zfpVGCIWiJadgbWTWyerr_HwvDOEvvOWZta_YJuPa5racAVga30h6N7Uo9d-68xLzUkw0i9QINnI

SELVADURAI, S.; SHANMUGAPANDIYAN, P. Preliminary Phytochemical Analysis on the leaves extracts of *Sida acuta* Burm.f. and *Sida rhombifolia* Linn. family Malvaceae. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v. 15, n. 4, p. 1512-1516, 2022. DOI: [10.52711/0974-360X.2022.00251](https://doi.org/10.52711/0974-360X.2022.00251)

SHAH, P; BHALODIA, D; SHELAT, P. Nanoemulsion: A Pharmaceutical review. **Systematic Reviews in Pharmacy**, v. 1, n.1, p. 24-32, 2010.

SHIN, Kyounghee et al. Nanoemulsion vehicles as carriers for follicular delivery of luteolin. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, v. 4, n. 5, p. 1723-1729, 2018.

DOI:

<https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.8b00220> Disponível em:

<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acsbiomaterials.8b00220>

SEVER, Richard; BRUGGE, Joan S. Signal Transduction in Cancer. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 5, n. 4, p. a006098–a006098, 1 abr. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006098> Disponível em: <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/content/5/4/a006098.short>

SHAH, Naseer A; KHAN, Muhammad R; NIGUSSIE, Dereje. Phytochemical investigation and nephroprotective potential of *Sida cordata* in rat. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 17, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/671294> Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12906-017-1896-8>

SHARMA, Mayank Applications of nanotechnology based dosage forms for delivery of herbal drugs. **Research & Reviews: Journal of Pharmaceutics and Nanotechnology**, v. 2, n. 1, 2014. Disponível em: <https://www.rroj.com/open-access/applications-of-nanotechnology-based-dosage-forms-for-delivery-of-herbal-drugs-.php?aid=34340>

SHARMA, Bhawna; DHAMIJA, Isha; KUMAR, Sandeep; CHAUDHARY, Hema. *In vitro* and *in vivo* evaluation of antitumor activity of methanolic extract of *Argyrea nervosa* leaves on Ehrlich ascites carcinoma. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 10, n. 2, p. 399-408, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3329/bjp.v10i2.22334> Disponível em: <https://www.banglajol.info/index.php/BJP/article/view/22334>

SHITTU, M. D.; ALAGBE, J. O. Phyto-nutritional profiles of broom weed (*Sida acuta*) leaf extract. **International Journal on Integrated Education**, v. 3, n. 11, p. 119-124, 2020. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Alagbe-John/publication/347603083_PHYTO-NUTRITIONAL_PROFILES_OF_BROOM_WEED_SIDA_ACUTA_LEAF_EXTRACT/links/60a7fedaa6fdcc6d62662bc4/PHYTO-NUTRITIONAL-PROFILES-OF-BROOM-WEED-SIDA-ACUTA-LEAF-EXTRACT.pdf

SILVA, D. A. et al. Flavonóides glicosilados de *Herissantia tiubae* (K. Schum) Brizicky (Malvaceae) e testes farmacológicos preliminares do canferol 3, 7-di-O-a-L-ramnopiranosídeo. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 23-29, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2005000100006> Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/Tk686BTZmvRbQm43LbGYLYK/?format=html&lang=pt>

SILVA, Davi Antas et al. Constituintes químicos e atividade antioxidante de *Sida galheirensis* Ulbr. (Malvaceae). **Química Nova**, v. 29, p. 1250-1254, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000600020> Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/jJMfSVpSwKSFrvCFzqJDpzc/?lang=pt>

SILVERSTEIN, Robert M.; WEBSTER, Francis X.; KIEMLE, David J. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. In: **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 2007. p. 490-490.

SINGH, Rana P; Agarwal R. Natural flavonoids targeting deregulated cell cycle progression in cancer cells. **Curr Drug Targets**, v. 7, p. 345–54, 2006. DOI:

<https://doi.org/10.2174/138945006776055004> Disponível em:
<https://www.ingentaconnect.com/content/ben/cdt/2006/00000007/00000003/art00008>

SMITH, Sarah; PREWETT, Sarah. Principles of chemotherapy and radiotherapy. **Obstetrics, Gynaecology and Reproductive Medicine**, v. 27, n. 7, p. 206-212, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ogrm.2017.04.006> Disponível em:
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751721417300908?casa_token=qjDqWRryusAAAAA:KRkPUYZi0wUJ9P5PAbHs47sNowbtqt9aV-279II-z3wnc7FxQWIS02jwn6fJv_qtmZnzcKAX

SOLÉ, I. et al. Nano-emulsions preparation by low energy methods in an ionic surfactant system. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 288, p. 138 -143, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2006.02.013> Disponível em:
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092777570600135X?casa_token=aa2FEM9HvigAAAAA:kJQUL7yLA5M9NI-PIY5LZHoq5tXSWg_ProBYlxWwDWWkQXa0ZBtNgd6cWxtxN9MiMngjOC_5

SOLEYMANI, Jafar et al. Solubility of ranitidine hydrochloride in solvent mixtures of PEG 200, PEG 400, ethanol and propylene glycol at 25 °C. **Journal of Molecular Liquids**, v. 182, n. 0, p. 91-94, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2013.03.016> Disponível em:
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167732213000962?casa_token=TRm_yIx6ENcAAAAA:hgbx39x8OMoLNFg2F02iUCDgp3sKxujy_Xtr0PIhh4jjIL3GsvRwi7yOWwLDOAbXhDUfX7D1bXyg

SOUSA, Aleson P. et al. Analysis of the toxicological and pharmacokinetic profile of Kaempferol-3-O- β -D-(6''-Ep-coumaryl) glucopyranoside- Tiliroside: *in silico*, *in vitro* and *ex vivo* assay. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.244127> Disponível em:
<https://www.scielo.br/j/bjb/a/F3XrZDgcXKx3Gs63Kvx8kJd/>

SOUZA, Vinicius C; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: Guia Ilustrado para identificação das famílias de fanerogamas nativas e exóticas no Brasil**, Baseado Em APG III, 3^{ed} Instituto Plantarum, Nova Odessa, São Paulo. 2012.

SOUZA, Ranna B. L. et al. Dereplication-guided isolation of a new flavonoid triglycoside from *Macroptilium martii* and its cytotoxicity evaluation. **Phytochemistry Letters**, v. 39, p. 144-150, 2020a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2020.08.001> Disponível em:
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1874390020303931?casa_token=l47l7mMqvJkAAAAA:XnpwCYzxP3MRb7mzQIdHycKwYsKqfYTMXk3j7f-Ky6gC0hFm-ftJ2vE1tQqim8lm0YGjI0YsY9nx

SOUZA, Stefanny M.; MONTEIRO, Fernanda Kalina S.; MELO, José Iranildo M. *Grewioideae Dippel* (Malvaceae) no Estado da Paraíba, Brasil. **Hoehnea**, v. 47, 2020b. DOI: <https://doi.org/10.1590/2236-8906-12/2019> Disponível em:
<https://www.scielo.br/j/hoehnea/a/STCwtctpfK4G38gw4LqSB7R/?format=html>

SRISEADKA, Tinakorn; WONGPORNCHAI, Sugunya; RAYANAKORN, Mongkon. 2012. Quantification of flavonoids in black rice by liquid chromatography-negative electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food chemistry**, v. 60, n. 47, p. 11723-11732, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf303204s> Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/jf303204s?casa_token=VIOEr-XXazEAAAAA%3Apen7UMExm7IaDnFe3Y-mM35Y2b3Ih_YNhEC04wrpu-2hxIIlvTAIWdI5-17HIycvH6fqkrk_4nnroEA

STRECK, Leticia et al. Surfactant-cosurfactant interactions and process parameters involved in the formulation of stable and small droplet-sized benzimidazole-loaded soybean O/W emulsions. **Journal of Molecular Liquids** (Print), v. 196, p. 178-186, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2014.03.033>

STRECK, Leticia et al. Phase Transitions of Isotropic to Anisotropic Biocompatible Lipid-Based Drug Delivery Systems Overcoming Insoluble Benzimidazole Loading. **International Journal of Molecular Sciences** (Online), v. 17, n. 7, p. 981, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms17070981> Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/17/7/981>

STRECK, Leticia et al. Tailoring microstructural, drug release properties, and antichagasic efficacy of biocompatible oil-in-water benzimidazol-loaded nanoemulsions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 555, p. 36-48, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.11.041> Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517318308615>

STRICKLEY, Robert G.; OLIYAI, Reza. Solubilizing vehicles for oral formulation development. In: AUGUSTIJS, N. S.; BREWESTER, M. E. **Solvent Systems and their Selection in Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. New York, NY: Springer New York, 2007. p. 257-308. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-0-387-69154-1_9

TADROS, Tharwat et al. Formation and stability of nano-emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 108-109, p. 303-318, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2003.10.023> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000186860300157X?casa_token=9hj4lgDSIW_sAAAAA:Snu-rM1l6K-z9u2pivhqnsj9RGi6yA7pp3fVSCum9i5p-0DXnkHeKAip1YNIcAIDe40wLpOda40X

TAKEUCHI, Cátia; ESTEVES, Gerleni L. Taxonomic revision of *Gaya Kunth* (Malvoideae, Malvaceae) in Brazil. *Hoehnea*, v. 44, n. 1, p. 44-69, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/2236-8906-39/2016> Disponível em: <https://www.scielo.br/j/hoehnea/a/LvjYz9RxdxMgZTZ3hybMb3z/abstract/?lang=en>

TANG, Y.; MICHAEL, G. G.; LAURENCE, J. D. **Malvaceae**. In: *Flora of China*. Missouri Botanical Garden Press, US, v. 12, p. 170-275, 2007.

TALMADGE, James E.; FIDLER, Isaiah J. AACR centennial series: the biology of cancer metastasis: historical perspective. **Cancer research**, v. 70, n. 14, p. 5649-5669, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-1040> Disponível em:

<https://aacrjournals.org/cancerres/article/70/14/5649/559515/AACR-Centennial-Series-The-Biology-of-Cancer>

TAN, Ee P; DUNCAN, Francesca E; SLAWSON, Chad. The sweet side of the cell cycle. **Biochemical Society Transactions**, v. 45, n. 2, p. 313–322, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1042/BST20160145> Disponível em: <https://portlandpress.com/biochemsoctrans/article-abstract/45/2/313/67133/The-sweet-side-of-the-cell-cycle>

TAN, J.; LE, A. **The Heterogeneity of Cancer Metabolism**. Cham: Springer International Publishing, v. 1063, 2018.

TANG, Li; YANG, Xujuan; YIN, Qian; CHENG, Jianjun. Investigating the optimal size of anticancer nanomedicine. **PNAS**, v. 111, n.43, p. 15344-9, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1411499111> Disponível em: <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.1411499111>

TELES, Yanna C. F. et al. Phytochemical investigation of *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl and evaluation of its antibacterial activity. **Química nova**, v. 37, p. 1491-1495, 2014. DOI: <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140238> Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/Z6s8PSTNLYQ8BLcyWfXGYcS/abstract/?lang=en>

TELES, Yanna C. F. et al. New sulphated flavonoids from *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl (Malvaceae). **Molecules**, v. 20, n. 11, p. 20161-20172, 2015a. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules201119685> Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/20/11/19685>

TELES, Yanna C. F. et al. Phenolic constituents from *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl. and anti-inflammatory activity of 7,4'-di-Omethylisoscutearein. **Natural Product Research**, v.7, p.1-5, 2015b. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1081196> Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786419.2015.1081196>

TENE, Tcheghebe O. et al. Ethnobotanic Survey of Medicinal Plants used for Malaria Therapy in Western Cameroon. **Journal of Medicinal Plants Studies**, v. 4, n. 3, p. 248-258, 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Francis-Tatong-2/publication/304059083_Ethnobotanic_survey_of_medicinal_plants_used_for_malaria_therapy_in_western_Cameroon/links/5edbc3f945851529453f99cb/Ethnobotanic-survey-of-medicinal-plants-used-for-malaria-therapy-in-western-Cameroon.pdf

TENJARLA, Srimi. Microemulsions: an overview and pharmaceutical applications. **Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 16, n. 5, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1615/CritRevTherDrugCarrierSyst.v16.i5.20>

THONDAWADA, Mahesh et al. *In vitro* and *In vivo* evaluation of *Sida acuta* burm.f. (Malvaceae) for its anti-oxidant and anti-cancer activity. **Der PharmaChemica**. v. 8, n.9, p. 396–402, 2016. Disponível em: <https://www.derpharmachemica.com/archive.html>

TODORIC, Jelena; KARIN, Michael. The Fire within: Cell-Autonomous Mechanisms in Inflammation-Driven Cancer. **Cancer Cell**, v. 35, n. 5, p. 714–720, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2019.04.001> Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1535610819301618>

TRAN, Thuy et al. Formulation and characterization of selfnanoemulsifying drug delivery systems containing monoacyl phosphatidylcholine. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 502, n. 1–2, p. 151-160, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.02.026> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517316301193?casa_token=pgsBPUSCCZUAAAAA:TOHjn6OSsZAJwF_5SKrtP6z97FSsziWHvIEnHrjq_DFeaKDFRFL9nWHV6fVHjKjajceq5V2i_wY

TRIVEDI, H. B; VEDIYA, S. D. Removal of fluoride from drinking water with the help of *Sida acuta* Burm f. **International Journal of Pharmacy & Life Sciences**. v. 4, n. 8, p. 2908-2909, 2013. Disponível em: <https://web.s.ebscohost.com/abstract?direct=true&profile=ehost&scope=site&authtype=crawler&jrnl=09767126&AN=90006700&h=fTfIBZ41zNiJ7hhqQ7Cw0%2fLKN4uV%2fOO%2f15VF4MVVtZBd1TIGn8aqalvgE%2f0pdaNOn%2b9RgPhPvR%2fybLb8UktdQ%3d%3d&crl=c&resultNs=AdminWebAuth&resultLocal=ErrCrlNotAuth&crlhashurl=login.aspx%3fdirect%3dtrue%26profile%3dehost%26scope%3dsite%26authtype%3dcrawler%26jrnl%3d09767126%26AN%3d90006700>

TUNG, Nguyen T. et al. Formulation and biopharmaceutical evaluation of supersaturatable selfnanoemulsifying drug delivery systems containing silymarin. **International Journal of Pharmaceutical**, 555:63-76, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.11.036> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517318308548?casa_token=1nbFFxY8ACAAAAA:HdJQAek2QVFsfHFuXbUa3oH3BNr1fJf2IT2VqQ6Ke89Amp_Iwyct6Wx-_sbiJXFWy1ULJ1cI8I0BE

UYSAL, Sengul et al. New perspectives into the chemical characterization of *Sida acuta* Burm. f. extracts with respect to its anti-cancer, antioxidant and enzyme inhibitory effects. **Process Biochemistry**, v. 105, p. 91-101, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.03.028> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S135951132100115X?casa_token=R835UfoxpUAAAAA:36v8o3ba_CALa8VoU2h_LcBiGVK83tWgdnyK0oj39rpqz-mraVxYxLYWQV3FWzputpie0WcLPs

VADIVEL, Vellingiri.; SRIRAM, Sridharan; BRINDHA, Pemaiah. Distribution of flavonoids among Malvaceae family members – A review. **International Journal of Green Pharmacy**, v.10, n.1, p. S33-S45, 2016. DOI: <https://doi.org/10.22377/ijgp.v10i1.611>

VIEIRA, Débora B.; GAMARRA, Lionel F. Avanços na utilização de nanocarreadores no tratamento e no diagnóstico de câncer. **Einstein**, v. 14, v. 1, p. 99-103, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1679-45082016RB3475> Disponível em: <https://www.scielo.br/j/eins/a/JRMKQqLVQjqzVN4yWbzrFQk/abstract/?lang=pt>

WANG, Yan-Hong et al. Structural characterization and identification of ecdysteroids from *Sida rhombifolia* L. in positive electrospray ionization by tandem mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 22, p. 2413-2422, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1002/rcm.3625> Disponível em: https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/rcm.3625?casa_token=iDJplfcLye0AAAAA%3AKHWsMnThiQY1b32TsmafPpvnSynm_NAVVuq4e8UeyW9FUGmguGAK_yJC04tzE-abZgHGcCNy3DseeZhGVQ

WEI, Yinghui et al. Enhanced oral bioavailability of silybin by a supersaturatable self-emulsifying drug delivery system (S-SEDDS). **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 396, p. 22-28, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.12.025> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927775711007710?casa_token=MN_7iCiB9hwAAAAA:ev7tDomhbU8sysIKEqJ-1c8-GGyb-gQRa0n_QJqu-rXno6kF6qraEQQrnnZp8-9dpbDHZTAlxhye

WILSON, Keith; WALKER, John. **Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology**. 7^{ed}. São Paulo: Cambridge University Press, 2010.
WILSON, Brooke E. et al. Estimates of global chemotherapy demands and corresponding physician workforce requirements for 2018 and 2040: a population-based study. *The Lancet Oncology*, v. 20, n. 6, p. 769–780, 2019. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(19\)30163-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(19)30163-9) Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1470204519301639?casa_token=t4EYD4eeasUAAAAA:yLx2Lh6a9SCX2RAseEaOOQ5FEftYQPcaspkDvkHWWB23XIAKNDjkrI4Ip1xZfVb3k8jkiI6K

WINER, Eric S.; DEANGELO, Daniel J. A review of omacetaxine: a chronic myeloid leukemia treatment resurrected. **Oncology and Therapy**, v. 6, n. 1, p. 9-20, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40487-018-0058-6> Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40487-018-0058-6>

WOLFENDER, Jean-Luc et al. Current approaches and challenges for the metabolite profiling of complex natural extracts. **Journal Chromatography A**, v. 1382, p.136-164, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.10.091> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967314017038?casa_token=qC-U_pSni9wAAAAA:C1bCM78JcQcvD2Zlm1W2SP8W8E3fcvU2rESc2wjk5QzQzrTmkUfGerB2OS06u9srfCjATbBk-jc4

WU, T.T.; ZHOU, S.H. Nanoparticle-based targeted therapeutics in head-and-neck cancer. **International Journal of Medical Sciences**, v. 12, n. 2, p. 187, 2015. DOI: [10.7150/ijms.10083](https://doi.org/10.7150/ijms.10083) Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4293184/>

WU, Song; POWERS, Scott; ZHU, Wei; HANNUN, Yusuf A. Substantial contribution of extrinsic risk factors to cancer development. **Nature**, v. 529, n. 7584, p. 43, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature16166> Disponível em: https://www.nature.com/articles/nature16166?mod=article_inline

XIAO, Xuan et al. DPPH Radical scavenging and postprandial hyperglycemia inhibition activities and flavonoid composition analysis of Hawk tea by UPLC-DAD and UPLC-Q/TOF MSE. **Molecules**. 22, 1622, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules22101622> Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/22/10/1622>

YANG, Nan et al. Comprehensive analysis of wintersweet flower reveals key structural genes involved in flavonoid biosynthetic pathway. **Gene**, v. 676, p. 279-289, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.08.050> Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378111918309120?casa_token=hq-WIPm-UQAAAAA:HQTSdxtPLYnhu5yWVGmhRbgmW8kCFwxQUIJomXNff01UDzRzUWko0JNteAYkfTpnQPh5Po_F1X

YE, Min; YAN, Yuning; GUO, Dean. Characterization of phenolic compounds in the Chinese herbal drug Tu-Si-Zi by liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry. **Rapid Commun Mass Spectrom**. 19, 1469-1484, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1002/rcm.1944> Disponível em: https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/rcm.1944?casa_token=IUTPrKQdB6oAAAAA%3AuMXKds12o0dTkT3yyaCDpUK1UtqRuKC8a9xjJ6Z0KfnmxH3MPyD8gDni-9k_pEjjS6zkFjkYxRSQI9Myrg

YUGANDHAR, Pulicherla et al. Isolation, characterization and in silico docking studies of synergistic estrogen receptor a anticancer polyphenols from *Syzygium alternifolium* (Wt.) Walp. **Journal of Intercultural Ethnopharmacology**, v. 6, n. 3, p. 296, 2017. DOI: [10.5455/jice.20170709031835](https://doi.org/10.5455/jice.20170709031835) Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5580956/>

ZORZI, Giovanni K. et al. On the use of nanotechnology-based strategies for association of complex matrices from plant extracts. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 426-436, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.07.015> Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/3zGWv5KGGK5KQgLFT4ZQVpgv/abstract/?lang=en>