



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I - CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
MESTRADO EM QUÍMICA

VALDIR FILHO DOS SANTOS

IDENTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES DA ESPÉCIE *Wissadula
periplocifolia* (L.) C. Presl (MALVACEAE) COM POTENCIAL
LEISHMANICIDA

CAMPINA GRANDE
2022

VALDIR FILHO DOS SANTOS

IDENTIFICAÇÃO DE FLAVONIDES DA ESPÉCIE *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl (MALVACEAE) COM POTENCIAL LEISHMANICIDA

Trabalho de Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual da Paraíba, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Química

Área de concentração: Química Medicinal

Orientadora: Profa. Dra. Yanna Carolina F. Teles

**CAMPINA GRANDE
2002**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

S237i Santos, Valdir Filho dos.
Identificação de flavonoides da espécie *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl (Malvaceae) com potencial leishmanicida [manuscrito] / Valdir Filho dos Santos. - 2022.
55 p. : il. colorido.

Digitado.

Dissertação (Mestrado em Química - Mestrado) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2022.

"Orientação : Profa. Dra. Yanna Carolina Ferreira Teles, Departamento de Química - CCT."

1. *Wissadula periplocifolia*. 2. *Leishmania braziliensis*. 3. Acetina. I. Título

21. ed. CDD 616.936 4

VALDIR FILHO DOS SANTOS

IDENTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES DA ESPÉCIE *Wissadula
periplocifolia* (L.) C. Presl (MALVACEAE) COM POTENCIAL
LEISHMANICIDA

Trabalho de Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual da Paraíba, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Medicinal

Aprovada em: 26 / 09 / 2022

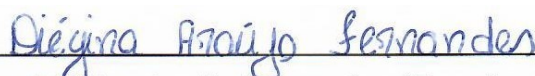
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Yanna Carolina Ferreira Teles (Orientadora)
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Profa. Dra. Maria da Conceição de Menezes Torres (Examinadora interna)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Profa. Dra. Diégina Araújo Fernandes (Examinadora externa)
Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, que sempre tem me amparado e me conduzido com as devidas lições de fraternidade, carinho e compaixão. Mostrando-me sempre o caminho a ser trilhado com sabedoria e autoestima.

Aos meus pais Antônio Balbino Filho (*in memorium*) e Maria Rafael Balbino, que estiveram do meu lado sempre que possível, pela boa educação, pelos ensinamentos de vida e pelo amor, e que apesar das dificuldades não mediram esforços para a minha formação.

Um agradecimento muito especial a minha digníssima esposa, Cícera Eliane Araújo, que compartilhou deste e de tantos outros momentos durante minha trajetória, sempre me apoiando e ajudando na minha carreira acadêmica e profissional.

Aos meus amigos que sempre estiveram torcendo por mim, me apoiando e me incentivando a seguir em frente sempre. Em especial aos amigos, Joseilson dos Santos Silva e Cleber da Silva Torres pelo apoio e companheirismo.

As amizades alcançadas no laboratório, Carla Monteiro e Leandro dos Santos, pelos momentos de descontração e apoio.

A professora Dra. Yanna Carolina F. Teles, pela confiança depositada em mim para fazer parte do grupo de pesquisa sob sua orientação, pelos estímulos, paciência, compreensão durante os encontros, por todo conhecimento transmitido ao longo do curso e acima de tudo pela contribuição direta para o sucesso da minha carreira de vida e profissional.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Química, em especial Juracy Regis de Lucena, Simone da Silva Simões e Rodrigo José de Oliveira pelos ensinamentos e contribuições ao longo do curso por meio das disciplinas e debates.

A banca examinadora, Professora Dra. Maria da Conceição de Menezes Torres e Dra. Diégina Araújo Fernandes, que se prontificaram em avaliar, trazendo suas contribuições para melhoria do trabalho tanto na qualificação quanto na defesa final.

A David, secretário do Programa de Pós-Graduação em Química por agir de forma inquestionável em todos os atendimentos solicitados, além das conversas de apoio.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a conclusão deste trabalho, o meu muito obrigado.

RESUMO

A planta *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl, conhecida popularmente como “malva amarela” ou “malvavisco”, é uma espécie da família Malvaceae utilizada popularmente para o tratamento de picadas de cobras e de abelhas. Pesquisas recentes demonstraram sua capacidade de gastroprotetora e anti-inflamatória. A espécie citada tem sido estudada por nosso grupo de pesquisa, já tendo sido relatada a identificação de triterpenos, esteroides, amidas, compostos fenólicos, flavonoides simples, glicosilados e sulfatados. Considerando a relevância etnofarmacológica da espécie e a diversidade do seu metabolismo secundário, esta pesquisa tem como objetivo dar continuidade ao estudo fitoquímico e investigar a atividade leishmanicida de substâncias isoladas de *W. periplocifolia*. O estudo fitoquímico das partes aéreas foi realizado através de métodos cromatográficos e espectroscópicos permitindo a identificação de dois compostos flavonoídicos: acacetina e 5,8-dihidroxi-7,4'-dimetoxiflavona, previamente identificados da espécie *W. periplocifolia*. As substâncias foram avaliadas quanto à sua atividade frente à *Leishmania braziliensis*, apresentando promissora atividade leishmanicida. Considerando a riqueza e diversidade de flavonoides produzidos pela espécie, realizou-se a quantificação de flavonoides totais no seu extrato utilizando espectrofotometria UV-Vis. A partir da quantificação de flavonoide totais determinou-se o valor de 12,9870 mg de equivalente de rutina de extrato etanólico da espécie *W. periplocifolia*. Os dados obtidos no presente trabalho ratificam que a espécie *W. periplocifolia* é grande produtora de flavonoides bioativos, com potencial para o desenvolvimento de fármacos com atividade leishmanicida.

Palavras-chave: *Wissadula periplocifolia*. *Leishmania braziliensis*. Acacetina. 5,8-dihidroxi-7,4'-dimetoxiflavona.

ABSTRACT

The plant *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl, popularly known as 'yellow malva' or 'malvavisco', is a species of the Malvaceae family used popularly to treat snake and bee stings. Recent researches have demonstrated its gastroprotective and anti-inflammatory capacity. The mentioned species has been studied by our research group, and the identification of triterpenes, steroids, amides, phenolic compounds, simple flavonoids, glycosylated and sulfated has been reported. Considering the ethnopharmacological relevance of the species and the diversity of its secondary metabolism, this research aims to continue the phytochemical study and investigate the anti-leishmanial activity of isolated substances from *W. periplocifolia*. The phytochemical study of the aerial parts was carried out through chromatographic and spectroscopic methods, allowing the identification of two flavonoid compounds: acacetin and 5,8-dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavone, previously identified from the species *W. periplocifolia*. The substances were evaluated for their activity against *Leishmania braziliensis*, showing promising leishmanicidal activity. Considering the richness and diversity of flavonoids produced by the species, quantification of total flavonoids in the extract was carried out using UV-Vis spectrophotometry. From the quantification of total flavonoids, the value of 12.9870 mg of RE/g of ethanol extract of *W. periplocifolia* was determined. The data obtained in the present work confirm that the species *W. periplocifolia* is a great producer of bioactive flavonoids, with potential for the development of drugs with leishmanicidal activity.

Keywords: *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl. *Leishmania braziliensis*. Acacetin. 5,8- dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavone.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - <i>Wissadulaperiplocifolia</i>	16
Figura 2 - Exemplo de estrutura de esteroide e triterpeno tipo oleanano.....	17
Figura 3 – Estruturas identificadas a partir da fase hexânica de <i>W. Periplocifolia</i> ...	18
Figura 4 - Estruturas identificadas a partir de <i>W.periplocifolia</i>	19
Figura 5 - Estruturas identificadas a partir de <i>W.periplocifolia</i>	19
Figura 6- Estrutura básica dos flavonoides.....	22
Figura 7 – Representação estrutural da cetequina.....	23
Figura 8 – Representação estrutural quercetina.....	23
Figura 9 – Representação estrutural da antocianina.....	24
Figura 10 - Ciclo de vida da <i>Leishmania</i>	31
Figura 11 – Coluna Sephadex.....	37
Figura 12 – Algumas das frações coletadas da Coluna	37
Figura 13 Placas de sílica e com frações eluídas e padrão na última amostra(Rutina). Utilizando câmara ultravioleta com comprimento de onda 254 e 365 nm.....	38
Figura 14. Acacetina (Wp-1a).....	41
Figura 15 – 5,8-dihidroxi-7,4'-dimetoxilflavina(Wp-1b).....	41
Figura 16 - Espectro de RMN ¹ H de Wp-1 (DMSO-d ₆ , 400 MHz).....	43
Figura 17 - Expansão do espectro de RMN ¹ H de Wp-1 (DMSO-d ₆ , 400MHz).....	43
Figura 18 - Espectro de RMN ¹³ C de Wp-1 (DMSO -d ₆ , 100MHz).....	44
Figura 19 - Espectro de RMN ¹ H x ¹³ C HSQC (δ, DMSO) de Wp1.....	44
Figura 20 - Expansão do espectro de RMN ¹ H x ¹³ C HSQC (δ, DMSO) de Wp-1.....	45
Figura 21- Espectro de RMN ¹ H x ¹³ C HMBC (δ, DMSO) de Wp-1.....	45
Figura 22 - Expansão do espectro de RMN ¹ H x ¹³ C HMBC (δ, DMSO) de Wp-1.....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados de RMN ^1H e ^{13}C de Wp-1a e Wp-1b (δ , DMSO, 400 e 100 MHz).	42
Tabela 2 - Absorbâncias para construção da curva de calibração do padrão rotina (absorbâncias em triplicata).....	46
Tabela 3 - Atividade leishmanicida de substâncias isoladas de <i>Wissadula Periplocifolia</i> contra promastigotas de <i>L. Braziliensis</i>	48

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

CCDA : Cromatografia em camada delgada analítica

CLAE: Cromatografia Líquida de alta eficiência

ER/g: Equivalente de rutina por grama

EtOH: Etanol

g: Grama

Hz: Hertz

IC₅₀: Concentração de inibição

LC: Leishmaniose cutânea

LCD: Leishmaniose cutânea difusa

LMC: Leishmaniose mucocutânea

LV: Leishmaniose visceral

MeOH: Metanol

µg: Micograma

mg: Miligrama

mL: Mililitro

MHz: Megahertz

PAL: Fenilalanina amônia liase

RMN: Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

RMN ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

UV: Ultravioleta.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS.....	12
2.1	Objetivo Geral	12
2.2	Objetivos específicos.....	12
3	REVISÃO DE LITERATURA	13
3.1	Aspectos gerais da família Malvaceae.....	13
3.2	A espécie <i>Wissadula periplocifolia</i>	15
3.3	Metabólitos primários e metabólitos secundários	19
3.3.1	<i>Flavonoides</i>	21
3.4	Leishmaniose	29
3.5	Cromatografia	31
3.6	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear.....	32
4	METODOLOGIA	34
4.1	Levantamento bibliográfico	34
4.2	Coleta do material botânico.....	34
4.2.1	<i>Processamento da planta</i>	34
4.2.2	<i>Obtenção do extrato etanólico bruto e suas fases</i>	34
4.2.3	<i>Procedimentos cromatográficos</i>	35
4.2.4	<i>Isolamento dos Constituintes Químicos e identificação Estrutural</i>	35
4.3	Determinação de flavonoides totais	37
4.4	Avaliação da atividade in vitro frente à <i>Leishmania braziliensis</i>	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1	Identificação das substâncias obtidas da amostra purificada	39
5.2	Quantificação de flavonoides totais	44
5.3	Avaliação da atividade in vitro frente à <i>Leishmania braziliensis</i>	46
6.	CONCLUSÃO	48
	REFERÊNCIAS.....	49

1 INTRODUÇÃO

Há milhões de anos os organismos terrestres e marinhos vem evoluindo e se adaptando e, assim, produzindo mecanismos de defesa para garantir a perpetuação das espécie na natureza a exemplo da produção de metabólitos secundários bioativos (DAVID; WOLFENDER; DIAS *et. al.* 2014).

As plantas fornecem um grande arsenal de substâncias químicas orgânicas e inorgânicas, possibilitando diferentes potenciais para exploração pelo homem. São muitas vezes utilizadas como terapia complementar, por influência de práticas milenares ou por indicação de familiares/pessoas próximas ao longo de gerações (PEDROSO *et. al.* 2021).

O uso de diferentes tipos de plantas tem sido empregado em diversas aplicações a favor de objetivos humanos, tais como: venenos e curativas, sendo, no último caso, por exemplo, denominada planta medicinal que por sua vez foi inspirado na observação empírica de práticas de outros animais, uma vez que várias espécies apresentavam hábitos de consumir plantas mediante situação de injúrias. Assim, os seres humanos começaram a sistematizar o uso de planta medicinal por meio de análise, conciliando aspectos filosóficos e culturais característicos, desenvolvendo a base de vertentes da dedicina, dessa forma considera-se que planta medicinal é aquela capaz de aliviar ou curar enfermidades e que tem tradição de uso como remédio pelas pessoas da comunidade. (PATRÍCIO *et. al.* 2022).

Algumas espécies vegetais são conhecidas devido as suas atividades farmacológicas e à sua utilização desde os tempos mais remotos, como é o caso da malva-rosa (*Papaver somniferum*), por seus efeitos sedativo e calmante, e a hortelã pimenta (*Menthapiperita*), que devido ao seu efeito digestivo era utilizada no Egito há mais de 4.000 anos. Ambas espécies são utilizadas ainda hoje pela população e pela indústria farmacêutica (ALVES, 2013). Podemos citar como compostos naturais e derivados amplamente utilizados o ácido acetil salicílico, morfina, artemisina e substâncias utilizadas no tratamento do câncer, como vincristina, vimblastina e paclitaxel (CRAGG; NEWMAN, 2013). Os produtos naturais são portanto uma fonte importante desubstâncias para a indústria de medicamentos.

Dentro da perspectiva de se estudar plantas medicinais, o Brasil se encontra em posição privilegiada, pois é o país com a maior diversidade vegetal do mundo. (GUERRA; NODARI, 2003).

Muitas espécies de Malvaceae são tradicionalmente usadas no Brasil para tratar doenças, por exemplo, o chá de malva-preta (*Sidastrum micranthum*) é usado para tratar asma e bronquite. Os frutos do quiabo (*Hibiscus esculentus*), são usados no tratamento de úlceras gástricas (FERNANDES *et al.*, 2018). Estudos fitoquímicos prévios sobre a família Malvaceae levaram ao isolamento de ácidos graxos, esteroides, terpenoides, feofitinas, flavonoides e alcaloides de várias espécies (TELES *et al.*, 2014, 2015a). A espécie *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl (Malvaceae), vulgo “malva amarela” é relatada na medicina popular para tratamento de picadas de cobras e de abelhas (TELES *et al.*, 2015a). Pesquisas recentes também reportam sua capacidade gastroprotetora, antimicrobiana e anti-inflamatória (BARROS *et al.*, 2021). A espécie citada tem sido estudada por nosso grupo de pesquisa, já tendo sido relatada a identificação de triterpenos, esteroides, amidas, compostos fenólicos, flavonoides simples, glicosilados e sulfatados (TELES *et al.*, 2015b). Considerando a diversidade do metabolismo secundário de *W. periplocifolia*, esta pesquisa tem como objetivo aprofundar o conhecimento fitoquímico e investigar a atividade anti-leishmania de substâncias isoladas de *W. periplocifolia*.

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma doença infecciosa, não contagiosa, mas transmitida ao homem através das picadas das fêmeas de flebotomíneos infectadas (BATES *et al.*, 2015). Seus agentes etiológicos são protozoários tripanosomatídeos que fazem parte do gênero *Leishmania* que por sua vez são parasitas intracelulares obrigatórios das células do sistema fagocítico mononuclear, que apresenta um único flagelo ou promastigota, encontrada no tubo digestivo do inseto vetor e outra aflagelada ou amastigota nos tecidos dos vertebrados (KOBETS; GREKOV; LIPOLDOVA, 2012). Há sete espécies de *Leishmania* envolvidas na ocorrência de casos de LTA, encontradas no Brasil, sendo as mais importantes: *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, *L. (Viannia) guyanensis* e *L. (V.) braziliensis* (BRASIL, 2010). A LTA é uma das infecções dermatológicas mais importantes não só pela frequência, mas também pelas dificuldades terapêuticas, deformidades e sequelas que pode acarretar (MCGWIRE; SATOSKAR, 2014).

Considerando a relevância etnofarmacológica da espécie e a diversidade do seu metabolismo, o presente trabalho teve como objetivo dar continuidade ao estudo fitoquímico e investigar o potencial anti-leishmania de metabólitos da espécie *W. periplocifolia*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

A presente pesquisa visa dar continuidade ao estudo fitoquímico e investigar a atividade anti-leishmania de substâncias isoladas de *W. periplocifolia*.

2.2 Objetivos específicos

- ▶ Isolar e identificar constituintes químicos presentes no extrato de *W. periplocifolia*;
- ▶ Quantificar o teor de flavonoides totais presentes no extrato de *W. periplocifolia*;
- ▶ Investigar a atividade anti-leishmania de substâncias isoladas da espécie em estudo;
- ▶ Contribuir para o conhecimento fitoquímico e biológico da espécie *W. periplocifolia*;

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Aspectos gerais da família Malvaceae

Estudos referentes as plantas possibilitam a descoberta de atividades biológicas de extratos, frações e moléculas que atuam como novos princípios ativos, o que oferece melhores possibilidades para encontrar substâncias de interesse terapêutico, a partir da experimentação, observação, descrição e investigação (SILVA et al., 2016b).

Uma vasta quantidade de plantas medicinais constituem fontes importantes no que diz respeito a obtenção de identificação de novas moléculas a ser utilizadas como produtos farmacêuticos. (SOUSA et al., 2017).

Nesse aspecto, a família Malvaceae enquadra nove subfamílias como: Bombacoideae Brownlowioideae, Byttnerioideae, Dombeyoideae, Grewioideae, Helicteroideae, Malvoideae, Sterculioideae e Tilioideae (TATE *et al.*, 2005; JUDD; MANCHESTER 1997; STEVENS, 2017).

As espécies da família Malvaceae no Brasil são amplamente utilizadas como remédio, alimento, ornamentação e forragem. Nesse contexto, essa família é composta por 250 gêneros e 4.230 espécies espalhadas pelo mundo (GRINGS; BOLDRINI, 2011). No Brasil encontram-se 68 gêneros e 735 espécies representadas em todo o território, além de apresentar uma quantidade de 431 espécies endêmicas que podem ser encontradas em todas as regiões do país (MALVACEAE, [2020]).

Em termos de gêneros, as espécies da família Malvaceae tem sido utilizada de maneira tradicional de acordo com a população em cada região. Podendo assim, ser usada por exemplos para: o tratamento de doenças renais, febres, distúrbios intestinais, corrimento urinário, gonorreia, malária, e entre outras.

Nessa perspectiva, a família Malvaceae *sensu lato* vêm despertando um grande interesse no cenário científico e dessa forma se destacando devido apresentar um potencial farmacológico bastante diversificado relatado na literatura, podendo destacar as atividades biológicas, como: antioxidante, antimicrobiano, anti-inflamatória, potencial hepatoprotetor, antibacteriana e entre outras atividades, baseadas em ensaios *in vitro* e alguns casos *in vivo* (SANTOS; OLIVEIRA; TORRES, 2022).

Algumas das espécies que pertencem à família Malvaceae apresentam valor

tanto econômico, como ornamentais a exemplos do hibisco (*Hibiscus rosa-sinensis*); lanterna-japonesa (*Abutilon spp.*); malvaisco (*Malvaviscus arboreus*) e como fonte de fibras naturais o algodão (*Gossypium hirsutum*) (BOVINI; CARVALHO-OKANO; VIEIRA, 2001). Entre as alimentícias, destaca-se o quiabo (*Hibiscus esculentus*) e tem sua utilização em várias receitas culinárias brasileiras. Outras espécies denominadas de vinagreira (*Hibiscus sabdariffa* L.) utilizadas para chás, sucos, geleias e patês, sendo denominadas de plantas alimentícias não convencionais (KINUPP; LORENZI, 2014).

As espécies da família Malvaceae são conhecidas por produzirem grandes quantidades de compostos fenólicos. Estudos fitoquímicos descreveram o isolamento de flavonoides, cumarinas, ácidos fenólicos (GOMES *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2006).

Estudos realizados com o extrato aquoso das flores de (*Hibiscus tiliaceus* L.) apresentaram excelente atividade antioxidante (KUMAR; KUMAR; PRAKASH, 2008) e atividade anti-bacteriana contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (ALAGA *et al.*, 2014). No México sua utilização popular serve para auxiliar no emagrecimento, ação confirmada por estudos farmacológicos, que mostraram uma diminuição do peso de camundongos obesos tratados com o extrato aquoso das suas flores (ALARCON-AGUILAR *et al.*, 2007).

A família Malvaceae tem relatos de diversos usos na medicina popular e com efeitos comprovados. Para o gênero *Hibiscus* foi relatado atividade hipocolesterolêmica, diurética, laxante, antibacteriana, anti-hipertensiva (MAGANHA, 2009). O gênero *Sida* tem uso atribuído a atividade hepatoprotetora, antioxidante, anti-hipertensiva, antimalárica (SINGH, 2002; ADEBAYO; KRETTLI, 2011), antifúngica, antimicrobiana (MEDEIROS, 2022), anti-inflamatória (LARDOS, 2006). Além disso a família Malvaceae também apresenta atividade com potencial antioxidante e assim desempenhando um fundamental papel na redução do estresse oxidativo (SANTOS, OLIVEIRA; TORRES, 2022).

Nesse sentido, foram encontrados diversos constituintes químicos em diversas espécies da família Malvaceae, dentre eles: ácidos graxos alcaloides (GUANATILAKA *et al.*, 1980), glicosídeos flavonoidicos (GOMES *et al.* 2011) cumarinas, ácidos fenólicos (SILVA *et al.*, 2006), terpenos (AMES; MACLEOD, 1990), esteroides e ácidos fenólicos (COSTA *et al.*, 2007), flavonoides (GOMES *et al.* 2011) e cumarinas (SILVA, *et al.*, 2006).

Um constituinte químico isolado de espécies da família Malvaceae se destaca,

o Canferol 3-O-β-D-(6''-E-p-cumaroil) glicosídeo (Tiliosídeo). Tal substância apresenta excelentes atividades farmacológicas e tem sido alvo de muitos estudos na atualidade. Dentre as espécies das quais o tiliosídeo foi isolado encontram-se: (*Sidastrum paniculatum*), (*Sidastrum micranthum*), (*Herissantia crispa*), (*Herissantia tiubae*), (*Sida galheirensis*), (*Sida rhombifolia*), (*Backeridesia pickelii*), (*Wissadula periplocifolia*), (*Pavonia xanthogloea*), (*Pavonia distinguenda*), (*Pavonia glazioviana*), (*Pavonia malacophylla*) e (*Pavonia cancellata*) (NABAVI *et al.*, 2015).

Algumas espécies do gênero *Wissadula* são citadas na literatura devido ao seu uso popular a exemplo da espécie (*Wissadula amplissima*) que tem sido utilizada popularmente em regiões da África para tratar picadas de abelhas e aranhas. Nesse sentido, estudos demonstraram algumas atividades antioxidantes e anti-inflamatórias de suas frações ricas em flavonoides, justificando o seu uso popular (MENSAH DONKOR; FLEISCHER, 2011).

3.2 A espécie *Wissadula periplocifolia*

A espécie (*Wissadula periplocifolia*) (Figura 1, pág. 16) é uma erva perene, de base lenhosa, caules eretos estreitos e pouco ramosos ou simples de bases arredondadas e sem pelos superiores; possui folhas módicas, pecíolo de muitas lâminas e ligeiramente arredondado. Sua lâmina apresenta-se oblonga-oval ou oval-lanceolada ou ainda triangular-oblonga, longamente pontiaguda ou subcaudata, pontiaguda-obtusa com base truncada ou obsoleta. Possui nervura herbácea descolorida e a parte superior sem pelo, de tecido mole. As primeiras flores provêm das axilas foliares, crescem abundantemente e em pouco tempo, logo multifloram, surgem longos e graciosos ramos acessórios. Os pedúnculos filiformes foliares protegem partes sem pelos. Possui cálice campanulado dificilmente em meio aos lobos ovalar-triangular agudos; As pétalas em cálice duplo, com androceu no cálice; tubo estamíneo breve apresenta com filamentos livres sem pelos e ovário subgloboso; o seu lobo é peludo com hastes no androceu e cápsula turbinada; suas sementes são cordiformes com longas vilosidades inferiores e pubérulos superiores (SHEPHERD, 1891).

Figura 1 - *Wissadula periplocifolia*

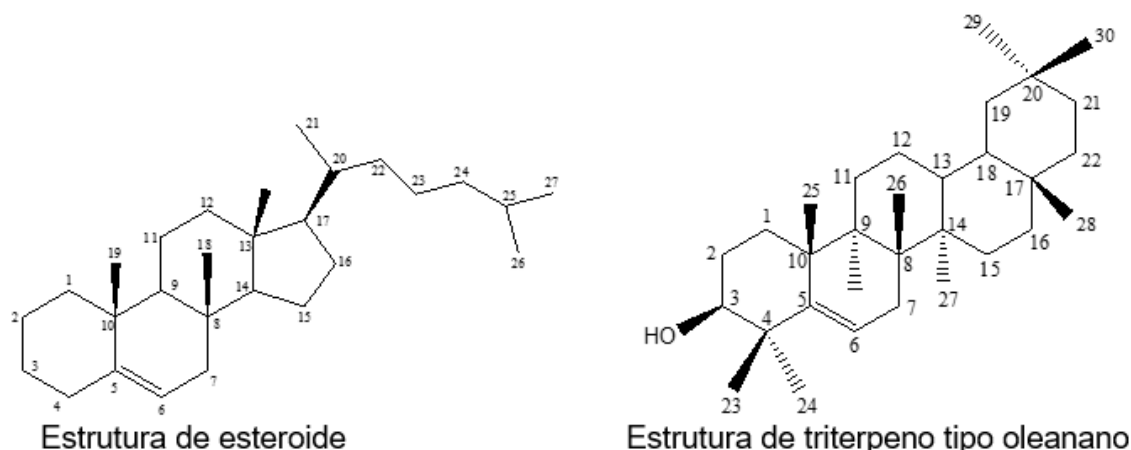


Fonte: Yanna Teles, 2009.

O gênero *Wissadula* compõe-se de 26 espécies que são distribuídas do Texas à Argentina e caracterizado pelos carpódios constrictos que apresentam frequentemente duas sementes na constrictão superior e uma na inferior (FRYXELL, 1997). A *W. periplocifolia* (L.) C. Presl (Malvaceae) popularmente conhecida no Brasil como “malva amarela” é utilizada popularmente no tratamento de picadas de abelhas e como antisséptico (TELES *et al.*, 2014). Essa espécie apresenta relato de possuir o melhor potencial antioxidante entre várias plantas de Malvaceae até então estudadas (PEDRIALI, 2005), auxiliando assim, na busca por seus constituintes fenólicos e na investigação anti-inflamatória.

Um estudo realizado por (TELES *et al.* 2014) reportou o isolamento de substâncias como, esteroides e triterpeno do tipo oleanano (Figura 2 pag. 17), representados a seguir pelas figuras 1 e 2 respectivamente. Nesse artigo também foi investigada a atividade antibacteriana dessas substâncias. Com isso, mostrou-se que essas substâncias de *W. periplocifolia* apresentaram atividade antibacteriana contra *Enterococcus faecalis*, que por sua vez é um microrganismo patogênico que apresenta uma das bactérias mais resistentes aos antibióticos (TELES *et al.*, 2014).

Figura 2 - Exemplo de estrutura de esteroide e triterpeno tipo oleanano



Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

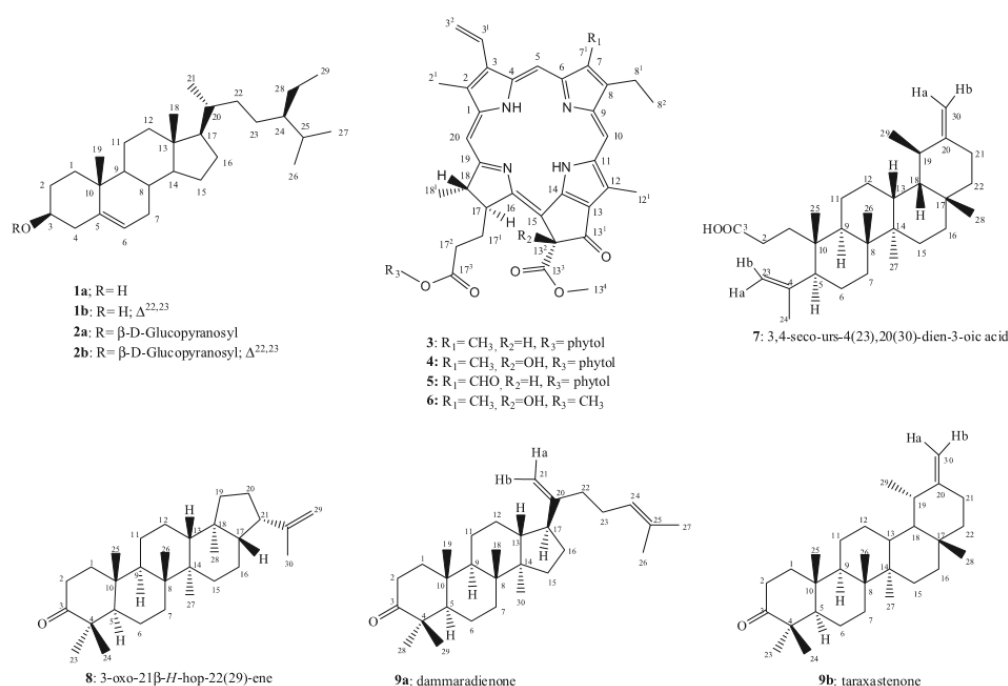
Há o relato de investigação fitoquímica de *W. periplocifolia* (TELES *et al.*, 2015b) assim como o isolamento de novos flavonoides sulfatados juntamente com flavonoides já conhecidos. Com estudo foi possível a identificação de doze substâncias e avaliação das propriedades citotóxicas dos compostos isolados (figura 3, pag 18). Com isso possibilita a busca por novas substâncias com potencial citotóxico, tendo em vista que as plantas com fins medicinais tem proporcionado uma grande via de estudos na descoberta de novos fármacos (TELES *et al.*, 2014).

Posteriormente um outro estudo realizado por (TELES *et al.*, 2015b) relatou o isolamento de cinco compostos fenólicos que foram isolados a partir das partes aéreas de *W. periplocifolia*, nesse sentido através de dados espectrais, foi possível identificados as substâncias: ácido 4-hidroxibenzóico (1); ácido 3-hidroxibenzóico (2); ácido transcinâmico (3); Tamgermanetin (4); 7,4'-di-O-metilisocutelareína (5) (figura 4, pag 19), nesse mesmo estudo foi testado a atividade antiinflamatória e com base em seus espectros de RMN ^1H , ^{13}C e 2D, demonstrou-se que o extrato de *W. periplocifolia* possui atividade antiinflamatória promissora que ta relacionado com ao uso popular como antinflamatporio no tratamento de picadas de cobras e de abelhas. (TELES *et al.*, 2015a).

Nessa perspectiva, um outro estudo feito por (TELES *et al.*, 2015a), revelou a identificação de cinco novos flavonóides sulfatados apartir da *Wissadula periplocifolia* (figura 5, pag 19), esses foram denominados como: 8-O-sulfato isoscutellarein (1a); 4'-O-metil-7-O-sulfato isoscutelareína (1b); 7-O-sulfato acetina (2a); 4'-O-metil-8-O-sulfato isoscutelareína (2b) e 3'-O-metil-8-Osulfato hipoletina (3b) juntamente com os

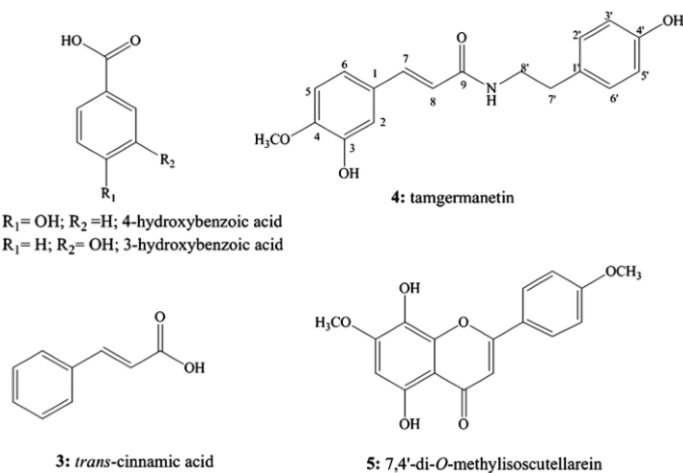
flavonóides conhecidos 7,4'-di-O-metil-8-O-sulfato isoscutelareína (4), acetina, apigenina, isoscutelareína, 4'-O-metil isoscutelareína, 7,4'-di-O-metil isoscutelareína, astragalina e tiliroside. Além disso, as propriedades citotóxicas dos compostos isolados foram avaliadas demonstrando a potencial citotoxicidade da acetina, 7,4'-di-O-metil isoscutelareína, apigenina e dos novos compostos 7-O-sulfato acetina (2a) e 4'-O-metil-8-O-sulfato isoscutelareína (2b).

Figura 3 - Estruturas identificadas a partir da fase hexânica de *W.periplocifolia*



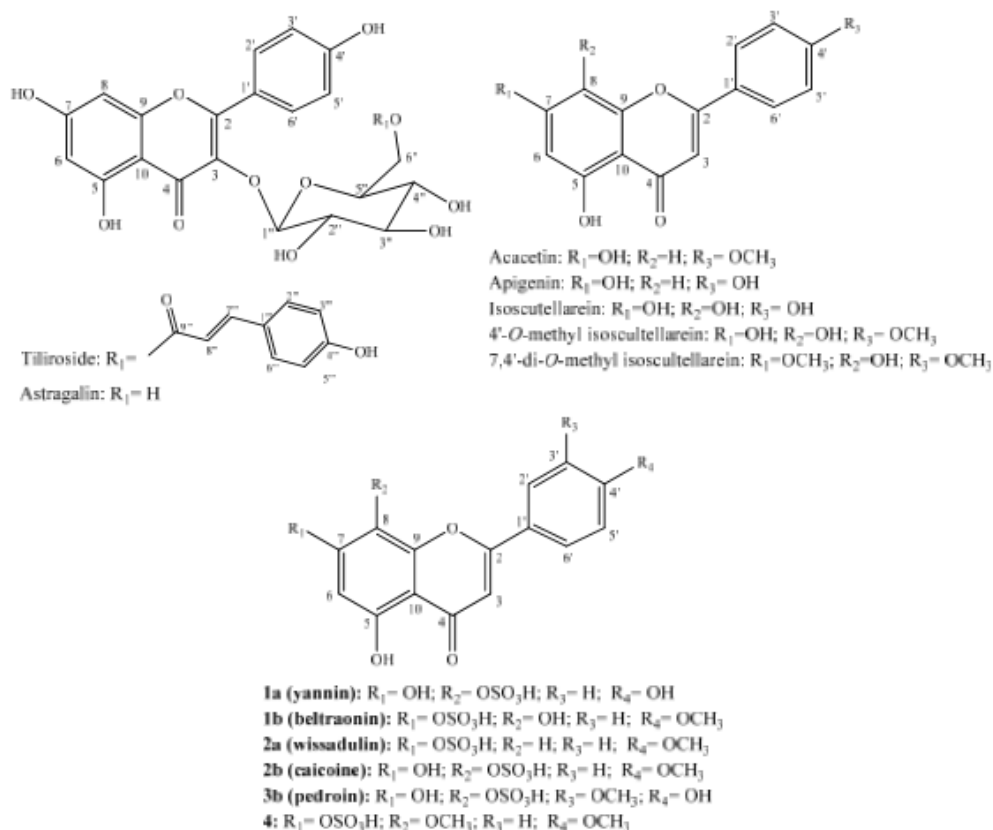
Fonte: Yanna Teles, 2014.

Figura 4 - Estruturas identificadas a partir de de *W.periplocifolia*



Fonte: Yanna Teles, 2015.

Figura 5 - Estruturas identificadas a partir de *W.periplocifolia*



Fonte: Yanna Teles 2015.

3.3 Metabólitos primários e metabólitos secundários

Pela incapacidade de locomoção que as plantas possuem, essas espécies foram pressionadas a desenvolverem mecanismos que possibilitam um desenvolvimento flexível sem comprometimento das células e processos fisiológicos primários, pelo fato de serem influenciadas ao longo do tempo pelos fatores bióticos e abióticos (ISAH, 2019).

Uma grande diversidade de produtos químicos são produzidos pelas plantas e podem ser classificados como metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são compostos produzidos por qualquer espécie de planta e que estão diretamente relacionados com o seu crescimento e desenvolvimento. Nesses metabólitos primários estão incluídos os açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, lipídeos e nucleotídeos, assim como moléculas maiores, que são sintetizadas a partir deles, como proteínas, polissacarídeos, DNA e RNA (GARCÍA; CARRIL, 2009).

Atualmente o estudo de substâncias provenientes de espécies vegetais tem tido uma grande atenção devido a presença dos metabólitos secundários que cada vez

mais se destacam na área da farmacologia por realizar efeitos biológicos na espécie humana (ROQUE; ROCHA; LOIOLA, 2010).

Dentre vários metabolitos secundários estão os esteroides, compostos que apresentam em sua estrutura um núcleo ciclopentano peridrofenantreno, dessa forma sua síntese é derivada do ácido mevalônico que se combina com o isopreno em sua forma ativa (ROBBERS; SPEEDIE; TYLER, 1997). Estudos realizados por (GOMES *et al.*, 2011) e (TELES *et al.*, 2014) identificaram uma mistura de esteroides (β -sitosterol e estigmasterol) em *Sida* sp. e *W. periplocifolia*.

Uma outra classe de diversos metabólitos secundários de origem vegetal, já relatada da espécie *W. periplocifolia* são os terpenos, presentes em grande variedades de animais e plantas. Eles servem de base para formar várias estruturas com diversas funções no metabolismo especializado e primário, variando de moléculas bastante pequenas e voláteis (por exemplo, mono e sesquiterpenos) até hormônios (como, brassinosteróides, ácido abscísico, giberelinas) e componentes celulares estruturais como os pigmentos carotenoides (KORTBEEK; VAN DER GRAGT; BLEEKER, 2019).

Os terpenos de forma geral, podem apresentar atividade antimicrobiana, os óleos essenciais também são constituídos majoritariamente pelos terpenos ou pelos seus derivados. Essas substâncias constituem-se como moléculas orgânicas e agem como fator protetor da planta contra agentes externos. Esses compostos também podem ser produzidos por micro-organismos e animais, como fungos e bactérias. Os terpenos podem ser definidos como “alcenos naturais”, quimicamente, isto é, apresentam uma dupla ligação entre carbono o que caracteriza como um hidrocarboneto insaturado (FELIPE; BICAS, 2017).

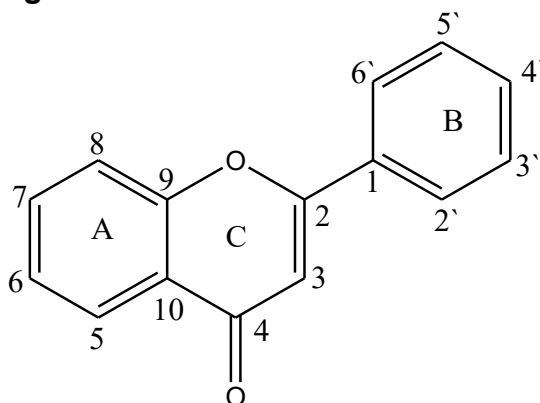
Os fenóis simples são compostos fenólicos encontrados abundantemente nos vegetais, eles são caracterizados por apresentar um anel aromático ligado a uma hidroxila (TAIZ; ZEIGER, 2009). Podem ser encontrados em diversas partes dos vegetais, abundantemente são encontrados em legumes, frutas, grãos, vegetais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

3.3.1 Flavonoides

Dentre os diversos metabólitos secundários, a classe dos flavonoides é uma das que apresentam maior interesse para o desenvolvimento de fármacos (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Flavonoides são compostos fenólicos que apresentam em sua estrutura química 15 átomos de carbono na forma C₆ – C₃ – C₆, baseada no núcleo de dois anéis benzênicos, A e B, ligados a um anel pirano C (Figura 6, pág. 22). Se encontram em vegetais na forma de aglicona e na forma de glicosídeos, com a molécula de açúcar ligada principalmente na posição 3 e na posição 7. A glicose, galactose e frutose são os açúcares mais encontrados (BERNARDES; PESSANHA; OLIVEIRA *et. al.*, 2010).

Figura 6 – Estrutura básica dos flavonoides



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

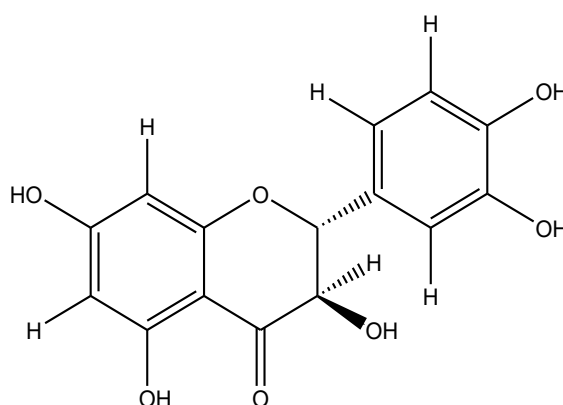
Os flavonoides constituem o grupo mais estudado de polifenóis (MIERZIAK; KOSTYN; KULMA *et al.*, 2014). São caracterizados pelo núcleo 2-fenil-benzil-γ-pirona, com grande diversidade estrutural (quadro 1, pág. 25-28). Os flavonoides podem sofrer reações enzimáticas como metilação, glicosilação, prenilação, sulfatação por sulfotransferases, etc (FERNANDES *et al.*, 2018). São os responsáveis pelo aspecto colorido das folhas e flores, podendo estar presentes em outras partes das plantas, como caules e frutos (MOON; WANG; MORRIS, 2006).

Estima-se que mais de 8.000 substâncias pertencentes a este grupo já tenham sido identificadas (KOIRALA *et al.*, 2016). Esta variedade de compostos ocorre devido a uma grande combinação de diferentes açúcares e hidroxil (OH) como substituintes na estrutura química básica (VINAYAGAM, 2015).

Os flavonoides são principalmente representados pela catequina (figura 7, pág. 23). Compreendem uma subclasse dos flavonoides e incluem a epicatequina,

epigallocatequina, epicatequina-3-galato, epigallocatequina-3-galato, entre outros (STANGL *et al.*, 2007). Esses compostos são encontrados principalmente nas folhas de alguns chás, como o chá preto e o verde, que são provenientes da mesma planta, a *Camellia sinensis*. Apesar de a *Camellia sinensis* ser a principal fonte de catequinas, esta subclasse de compostos também é encontrada no suco de uva, vinho tinto, cacau, maçã, cebola, feijões, damasco, cereja e pêssego (CORTI *et al.*, 2009).

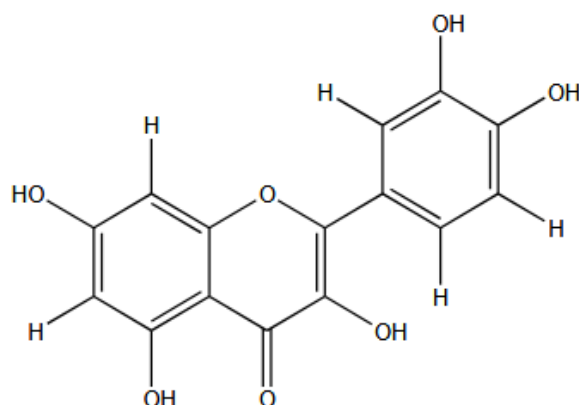
Figura 7 - Representação estrutural da catequina



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

A quercetina (figura 8) é uma subclasse dos flavonoides, são encontradas principalmente nas folhas de alguns chás, como o chá preto e o chá verde que são provenientes da mesma planta (*Camellia sinensis*), também podem ser encontradas no suco de uva, vinho tinto, cacau, maçã, cebola, feijões, damasco, cereja e pêssego. Em meios aos seus possíveis efeitos benéficos estão: a redução da pressão arterial, a melhora da função vascular, a inibição da captação de LDL-colesterol oxidado, a redução da reatividade plaquetária, a melhora da sensibilidade à insulina e efeitos anti-inflamatórios (STRACK; SOUZA, 2012). A quercetina é muito abundante em alimentos. A média de flavonoides na ingestão diária varia entre 26 mg a 1 g/dia provenientes do consumo de fontes alimentares como frutas, verduras, chás, vinhos, grãos e sementes (SCHWERTZ *et. al.*, 2012).

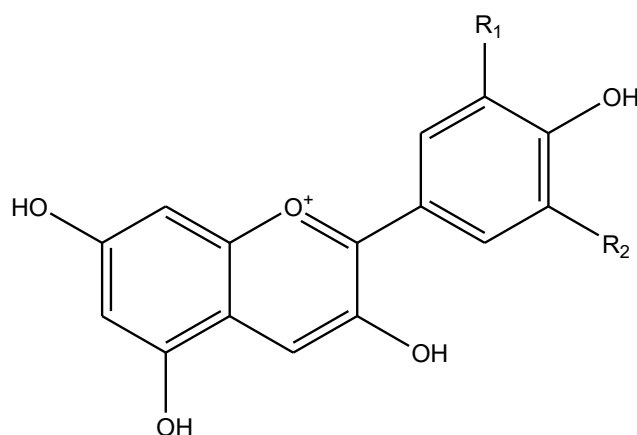
Figura 8 - Representação estrutural da quercetina.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

As antocianinas (figura 9 , pág. 24) também são um tipo específico de flavonoides que podem ser encontrados em várias frutas (morango, açaí, framboesa preta, mirtilo, groselha preta, mirtilo) (RAMOS; HERRERA; MOYA-LEÓN, 2014) e são conhecidos por seus benefícios para a saúde. Os principais subgrupos de antocianinas são as cianidinas (FANG, 2015). Estas antocianinas foram reconhecidas pelo fator de proteção que apresenta contra doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (MATTIOLI *et al*, 2020). População como a ocidental não tem costume de fazer a ingestão de frutas silvestres e dessa forma a ingestão de antocianinas é considerada baixa. Nesse sentido a ingestão dietética de antocianinas por meio de suplementação pode ser uma estratégia viável para que se possa diminuir o risco de desenvolver problemas como declínio cognitivo (ROSI *et al.*, 2019).

Figura 9 - Representação estrutural da antocianina



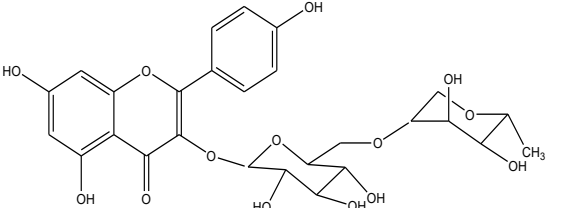
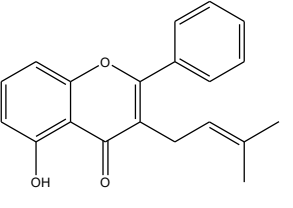
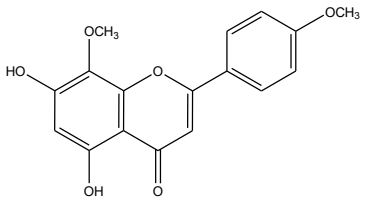
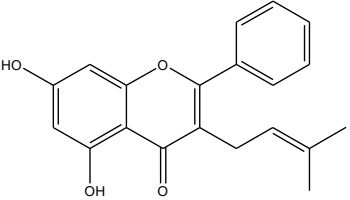
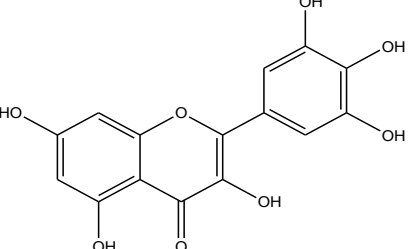
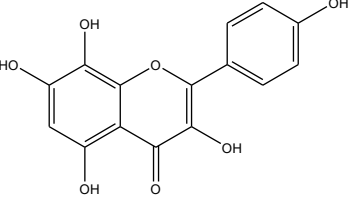
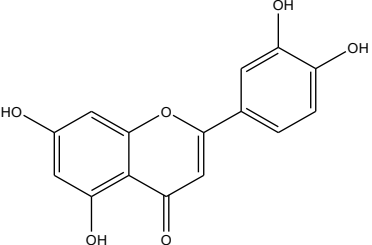
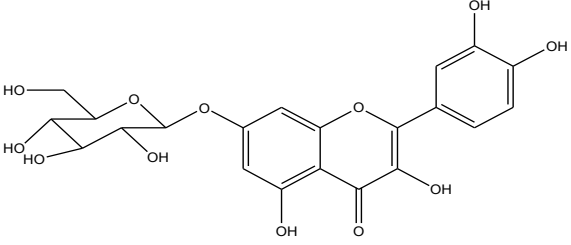
Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

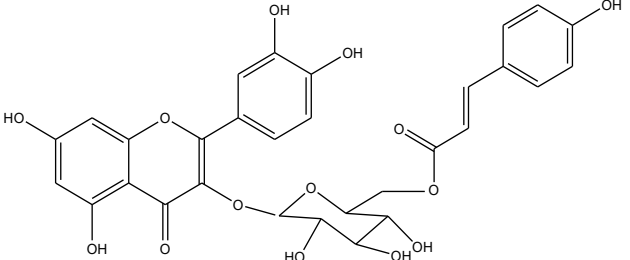
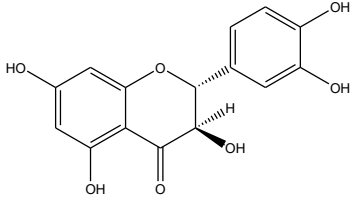
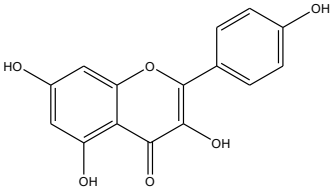
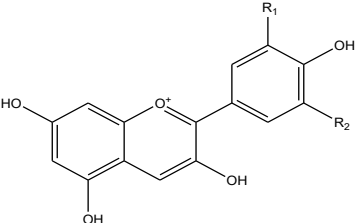
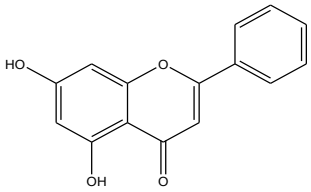
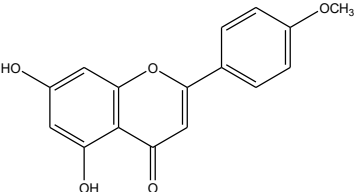
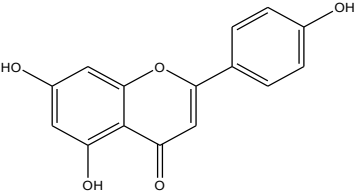
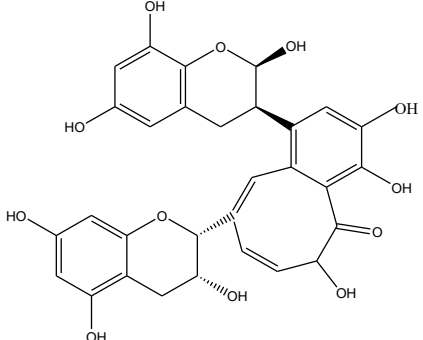
A biossíntese de flavonoides é uma das vias de metabólitos secundários mais estudadas. Os precursores da síntese da maioria dos flavonoides são malonil-CoA (derivado do acetil-CoA) e *p*-cumaril-CoA, os quais são produzidos, respectivamente, a partir do metabolismo de carboidratos e da via de fenilpropanoides. O início da biossíntese dos flavonoides (Esquema 1, pág 30) ocorre pela etapa enzimática catalisada pela enzima chalcona sintase resultando na formação da chalcona (PETRUSSA *et al.*, 2013).

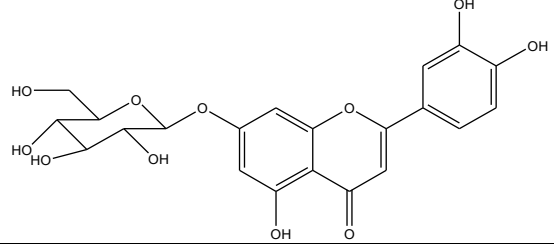
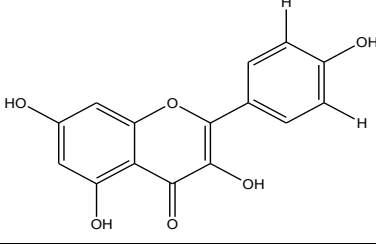
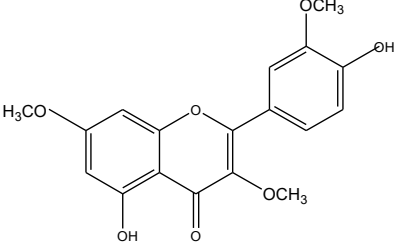
Na maioria dos vegetais, a chalcona não é o produto final, assim, a via continua com muitas etapas enzimáticas adicionais para produção das várias classes de flavonoides (MELLO *et al.*, 2012).

A via de biossíntese de flavonoides pode ser influenciada pelos níveis da enzima fenilalanina amônia liase (PAL). Ela regula a produção de metabólitos secundários fenólicos, pois é a primeira enzima da via biossintética dos fenilpropanóides. A PAL é altamente regulada em resposta a fatores abióticos e pelo ataque de patógenos, sendo esses, fatores que induzem sua produção e produção de compostos fenólicos como o fenilpropanoide 4-cumaril usado na biossíntese dos flavonoides (FERREYRA *et al.*, 2010).

Quadro 1 – Exemplos de estruturas de flavonoides

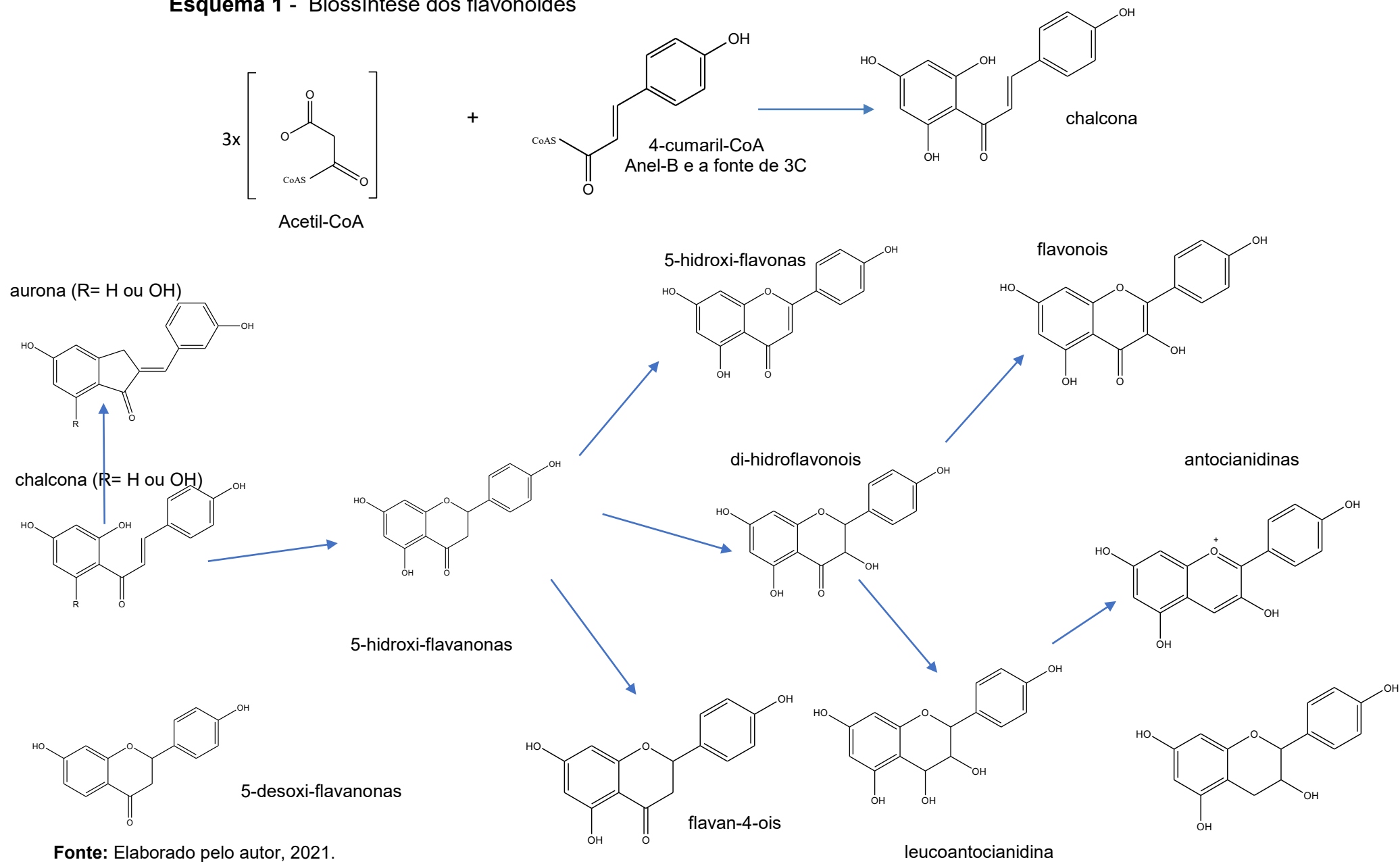
Nome	Estrutura	Nome	Estrutura
Rutina		5 - hidroxil - 3 - isoprenil - flavona	
5,7-dihidroxi - 8,4' - dimetilflavona		5,7-dihidroxi - 3 - isoprenil - flavona	
Miricetina		Herbacetina	
Luteolina		Quercimeritina	

Tirilosídeo		Catequina	
Canferol		Antocianina	
Crisina		Acacetina	
Apigenina		Teaflavina	

Cinarosído		Kaempferol	
Pachypodol			

Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

Esquema 1 - Biossíntese dos flavonoides



3.4 Leishmaniose

A leishmaniose doença crônica conhecida por atingir, principalmente, cães domésticos, foi inicialmente estudada no início do século XX pelo médico paraense Gaspar Viana (MARTINS e LIMA, 2013).

As leishmanioses representam um grupo de doenças infecciosas negligenciadas, causadas por protozoários intracelulares do gênero *Leishmania* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae), que se apresentam sob duas formas principais: a amastigota e a promastigota (VASCONCELOS *et al.*, 2018).

O que diferencia a apresentação clínica da doença é a espécie do parasito envolvido na infecção, sendo as principais formas clínicas a tegumentar (LT) e a visceral (LV), que por sua vez é considerada a mais grave, podendo levar o paciente ao óbito devido ao seu quadro clínico. A LT pode ser subdividida em: cutânea (LC), a mucosa (LM), cutânea difusa (LCD) e sua forma disseminada (LD) (KEVRIC; CAPPEL; KEELING 2015; VASCONCELOS *et al.*, 2018). O início da infecção acontece quando a forma infectante (promastigota) entra em contato com o tecido do hospedeiro durante o repasto sanguíneo do mosquito flebotomíneo fêmea infectado (UENO; WILSON, 2012).

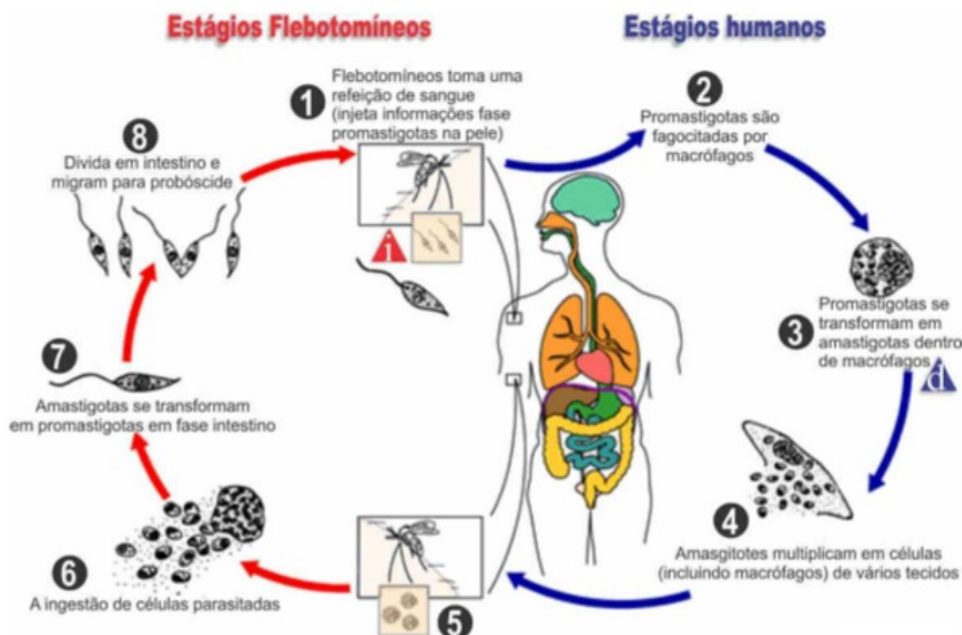
A leishmaniose é transmitida pela fêmea infectada do gênero *Lutzomyia* (chamados de "mosquito palha" ou birigui) e *Phlebotomus*. Seus nomes variam de acordo com o lugar em que são encontrados, sendo mais conhecidos como: mosquito palha, tatuquira, birigüi, cangalhinha, asa branca, asa dura e palhinha. As áreas de maior propagação dessas pragas - principalmente do mosquito palha- são lugares escuros e de grande umidade, tais quais áreas com muitas plantas e matas. Só na América Latina, a doença já foi encontrada em pelo menos 12 países, sendo que 90% dos casos ocorrem no Brasil (SILVA *et al.*, 2021).

A transmissão também ocorre em ambientes silvestres e em área de vegetação primária e assim considerada uma zoonose de animais silvestres, podendo acometer o ser humano quando o mesmo entra em contato com este ambiente. Nesse sentido, o ambiente de lazer também é propício à transmissão, uma vez que tais locais estão associados à exploração desordenada da floresta (MARTINS e LIMA, 2013).

A doença também pode se manifestar como lesões inflamatórias nas mucosas do nariz ou da boca (SILVA *et al.*, 2021). Através da picada do mosquito palha fêmea,

são inoculados parasitas na forma Promastigota que invadem os macrófagos. O parasita assume a forma amastigota (sem flagelo) no ambiente intracelular e inicia uma replicação binária (assexuada). Quando as células se rompem, são liberados promastigotas que por sua vez podem infectar novos macrófagos ou inocular um mosquito palha, fechando o ciclo como indicado na (figura 10). No interior do mosquito palha, o *Leishmania* também acontece a realização de reprodução assexuada, alternando entre amastigota e promastigota.

Figura – 10 - Ciclo de vida da *Leishmania*



Fonte: Laboratory Identification of Parasites (Adaptado)

Uma das formas mais graves da leishmaniose tegumentar no Brasil, é a LCD, que, apresenta um difícil controle da infecção pelo sistema imunológico do hospedeiro, isso, devido a imunossupressão celular específica induzida pelo parasito o que resulta no carácter evolutivo crônico e tratamento dificultado (SILVEIRA *et al.*, 2009).

A forma cutânea difusa em pacientes com resposta imune celular deficiente a antígenos de *Leishmania* tende a uma manifestação clínica mais rara, caracterizada por lesões nodulares não ulceradas, precedidas por úlcera única que evolui com disseminação linfática do parasito. Se tratando de uma doença crônica, pode evoluir ao longo dos anos podendo ter o surgimento de lesões cutâneas, localizadas geralmente em áreas mais expostas do corpo, como os membros, por exemplo (SILVA *et al.*, 2021).

É um tipo de doença endêmica em 18 países das Américas com 46 mil registros em média (MAIA-ELKHOURY *et al.*, 2021). No Brasil a doença tem sido estudada e já evidenciaram que ao longo dos anos vem apresentando mudanças em seu ritmo de dispersão. Fatores como a expansão de atividades econômicas, de fronteiras agrícolas e também de atividades extrativistas vem colaborando para esse cenário (CARVALHO *et al.*, 2002). Sua incidência ao longo dos últimos anos tem apresentado crescimento em todas as regiões brasileiras com surtos relacionados ao processo de urbanização (BRASIL, 2016).

A forma de tratamento terapêutico contra a leishmaniose baseia-se na utilização de cinco fármacos: os antimoniais pentavalentes, a anfotericina B e a sua formulação lipossômica, a miltefosina, a paromomicina e a pentamidina. Esses medicamentos não foram desenvolvidos inicialmente com ação leishmanicida, com exceção dos compostos antimoniais. Além de que, estão associados a deficiências graves como toxicidade, administração prolongada e possível surgimento de resistência por parte do parasito (TIWARI *et al.*, 2018). No caso da pentamidina, terapêutico de segunda linha, é um derivado sintético da amidina usado contra a leishmaniose, uso este limitado devido à baixa eficácia e a sua administração por via intramuscular (IM) ou, preferencialmente, por administração intravenosa (IV) (KIP *et al.*, 2018; HENDRICKX; CALJON; MAES, 2019).

No sentido de garantir o acesso ao tratamento para ter o alívio dos sintomas e do desconforto causado pela doença, a administração com segurança dos medicamentos indicados, o controle e/ou a minimização da ocorrência de efeitos adversos é necessário o uso da terapia medicamentosa para todas as formas de leishmaniose a (BRASIL, 2018). No entanto os fármacos disponíveis para o tratamento dos sintomas da leishmaniose encontrados atualmente mostram-se insatisfatórios em termos de eficácia, custo, facilidade de administração e/ou segurança (MCGWIRE; SATOSKAR, 2014; MURRAY, 2010; HENDRICKX; CALJON; MAES, 2019).

3.5 Cromatografia

Para conhecermos e compreendermos a composição química dos extratos de plantas e assim podermos avaliarmos as possibilidades de aplicabilidade, tem-se a necessidade de fazermos o uso de algumas técnicas para promovermos a separação de suas substâncias. Nesse sentido, as técnicas cromatográficas são essenciais para

o isolamento e a identificação de compostos bioativos, essas técnicas vem se modernizando, pela introdução de novas tecnologias, no entanto, técnicas clássicas ainda são utilizadas com frequências. A escolha da técnica mais adequada a ser utilizada depende de vários fatores, como por exemplo: o tipo de amostra, a eficiência esperada, o custo, a disponibilidade do equipamento, entre outros (MOREIRA; HIRSCH; GEHRKE, 2018).

As técnicas cromatográficas tem em comum as fases móveis e as fases estacionárias, e podem ser classificadas em: cromatografia de partição, onde a separação é baseada na partição entre duas fases imiscíveis, um contido na fase móvel outro na fase estacionária; cromatografia de adsorção, na qual a fase estacionária é utilizada para adsorver componentes da amostra através da afinidade química; cromatografia de troca iônica que baseia-se na troca de íons entre a fase amostra e resinas da fase estacionária; cromatografia de exclusão, fundamentada no tamanho das moléculas do soluto, onde componentes da amostra junto com a fase móvel passam por um gel, geralmente conhecido como Sephadex que funciona como uma peneira invertida, fazendo que as substâncias de maior peso molecular passe por essa peneira e as substâncias de menor peso molecular sejam retidas pela fase estacionária (DANUELLO, 2022).

3.6 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

A identificação da estrutura de compostos orgânicos é um desafio bem antigo para a Química Orgânica. No princípio, o procedimento para elucidação estrutural era baseado em observações de experimentos simples que usavam técnicas de análises destrutivas que geravam derivados que muitas vezes induziam a erros na identificação da substância de partida (STEFANI; NASCIMENTO, 2007). Nessa perspectiva, enfatiza-se as técnicas espectroscópicas visando uma melhor elucidação dos compostos orgânicos e promovendo uma maior eficiência.

A técnica espectroscópica de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é uma das técnicas mais utilizadas para a determinação da estrutura de moléculas orgânicas, tanto aquelas de baixo peso molecular, quanto de macromoléculas como proteínas. Embora seja uma técnica instrumental de elucidação estrutural de compostos orgânicos, não tem efetivo uso, principalmente no Brasil onde estudos voltados para esse fim são escassos (FAN; ZHANG, 2018).

A RMN é uma poderosa técnica espectroscópica utilizada no estudo estrutural de compostos orgânicos em solução. Esses aparelhos tem uma significativa evolução desde a década de 90, pois vem utilizando magnetos supercondutores seguido de campos magnéticos mais homogêneos e hardwares que permitem programação de seqüências de pulsos com mais eficiência de modo a acomodar as variadas técnicas 1D, 2D e até 3D (KAISER, 2000).

Em 1963 as primeiras medidas quantitativas utilizando RMN foram realizadas em uma preparação comercial de analgésicos por Hollis em 1963. No entanto, na década de 1980 a Farmacopéia Alemã DAB9 caracterizou a composição de gentamicina por RMN-¹H. Atualmente é uma técnica bem estabelecida na análise quantitativa de várias classes de substâncias, tais como, drogas, excipientes, vacinas, produtos naturais, peptídeos, agrotóxicos, alimentos e bebidas, perfil metabólico/fingerprinting de extratos de plantas e tinturas, bem como fluidos corporais, como por exemplo, no uso da metabolômica para diagnóstico de doenças (HOLZGRABE, 2010).

4 METODOLOGIA

4.1 Levantamento bibliográfico

O levantamento bibliográfico foi realizado, em todo decorrer do estudo, no Chemical Abstracts, Biological Abstracts, SciFinder, bem como pesquisas na Internet e em anais de eventos nacionais e internacionais.

4.2 Coleta do material botânico

A espécie, *W. periplocifolia*, foi coletada no município de Araruna/PB (GPS-6°27'29"S 35°40'43"O), sob registro de coleta número 46923-2 no Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO. A identificação botânica foi realizada pela Prof^a Dr^a Maria de Fátima Agra. Uma exsicata do material encontra-se arquivada no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier (CCEN/UFPB) sob a numeração JPB 6498. A pesquisa foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético sob código A924F12.

4.2.1 Processamento da planta

O material coletado (partes aéreas) foi desidratado em estufa com ar circulante a 40 °C durante 72 horas. Em seguida, o material seco foi triturado em moinho mecânico fornecendo 8.900 g do pó da planta.

4.2.2 Obtenção do extrato etanólico bruto e suas fases

O pó da planta (8.900 g) foi submetido à maceração durante 72 horas a temperatura ambiente, utilizando-se como líquido extrator etanol a 95 % sendo tal processo repetido três vezes, resultando na solução extrativa, que foi filtrada e concentrada sob pressão reduzida, obtendo-se 705 g do extrato etanólico bruto (EEB). Uma alíquota do EEB (200 g) foi dissolvido em uma solução de EtOH:H₂O (9:1) obtendo-se uma solução hidroalcoólica do extrato, submetida sequencialmente à partição líquido-líquido com hexano, diclorometano, acetato de etila e n-butanol. As respectivas soluções foram concentradas em evaporador rotativo sob pressão

reduzida, resultando em 48 g da fase hexânica; 33 g da fase diclorometano; 28 g da fase acetato de etila e 9 g da fase n-butanólica (utilizada para este estudo fitoquímico).

4.2.3 Procedimentos cromatográficos

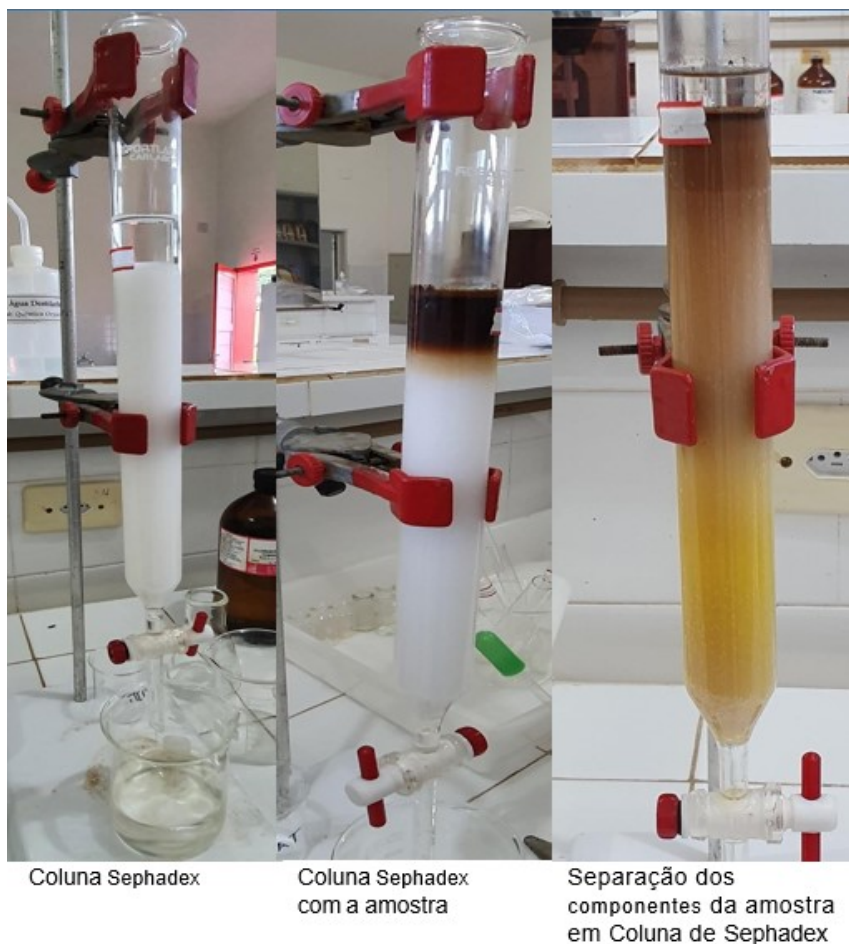
A cromatografia em coluna foi preparada usando um suporte, colunas de vidro cilíndricas com dimensões variando de acordo com a quantidade de amostra a ser cromatografada. Como fase móvel foi utilizado solvente metanol (MeOH) e como fase estacionária foi utilizado o Sephadex. A Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) foi empregada para a análise e reunião das frações, obtidas por cromatografia em coluna. Foram utilizadas placas cromatográficas e uma cuba de vidro com dimensões 9x10 cm, de forma a seguir a técnica descrita por (Matos 1997). As substâncias em análise foram evidenciadas pelo uso de lâmpada ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm. Após a visualização foi feita a reunião das frações coletadas durante a cromatografia em coluna baseando-se na similaridade das manchas vistas na CCDA.

4.2.4 Isolamento dos Constituintes Químicos e identificação Estrutural

A princípio preparou-se a coluna cromatográfica de Sephadex (figura 11 , pág 36). Pesou-se uma amostra da fração n-butanólica (2 g), solubilizou-se em metanol e transferiu-se para a coluna de Sephadex, utilizando como eluente o metanol. A partir de então as substâncias começaram a eluir e foram coletadas 40 frações na qual algumas delas apresentavam tonalidade amarelada, bastante característica da presença de flavonoides (figura 12 pág. 36). As frações obtidas foram analisadas por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) (figura 13 pág. 37) em placas de sílica (Merk) para serem reunidas por similaridade. As CCDAs foram visualizadas em câmara ultravioleta sob luz em comprimento de onda 254 e 365 nm, conseqüentemente as frações foram reunidas em grupos: 1-10, 11-18, 19-31 e 32-40. As frações 19-31 apresentou presença de pó amarelo, justamente uma provável característica de presença de flavonoides. Essas frações totalizaram uma massa de 0,632g.

Para a identificação estrutural, os compostos purificados foram submetidos à análise por Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C (Bruker Avance III – 400 MHz), utilizando o solvente dimetilsulfóxido (DMSO) deuterado.

Figura 11 - Colunas Sephadex



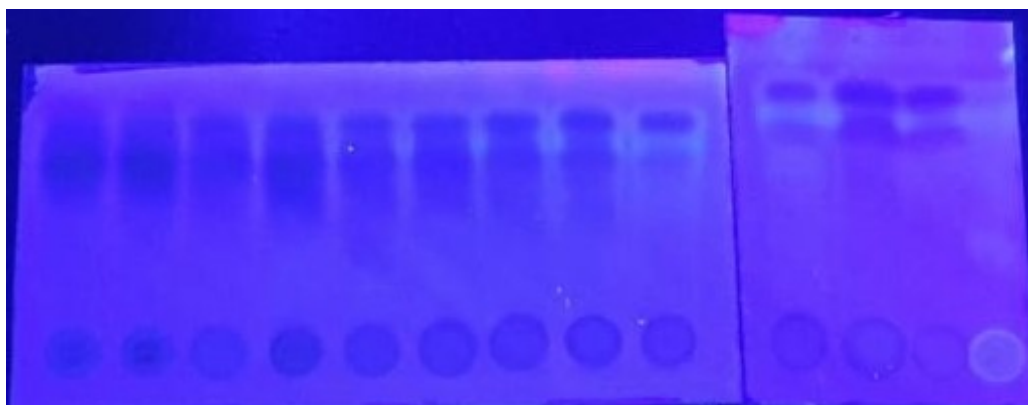
Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

Figura 12 - Algumas das frações coletadas da Coluna



Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

Figura 13 - Placas de sílica e com frações eluídas e padrão na última amostra (Rutina). Utilizando câmara ultravioleta com comprimento de onda 254 e 365 nm.



Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

4.3 Determinação de flavonoides totais

O teor de flavonoides totais foi determinado seguindo o método espectrofotométrico descrito por Maciel *et al* (2016). Para determinar o teor de flavonoides totais nas amostras vegetais foi construída uma curva de calibração utilizando como flavonoide padrão a rutina. As concentrações de rutina utilizadas foram de 880; 750; 630; 500; 380; 250 $\mu\text{g/mL}$. Cada amostra reacional foi preparada da seguinte forma: em balão de 10 mL, adiciona-se 50 μL de uma solução-teste (soluções de rutina ou do extrato vegetal) e 200 μL uma solução de cloreto de alumínio hexahidratada a 2%. O volume final foi ajustado com o mesmo solvente (metanol) para 10mL. As amostras foram submetidas ao repouso durante 30 minutos no escuro. Após esse período, foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro em comprimento de onda de 425 nm. Uma amostra *branco* foi preparada, a qual continha apenas metanol e o mesmo volume de solução de cloreto de alumínio, na ausência de extrato ou rutina.

A análise foi realizada em triplicata e o teor total de flavonoides determinado a partir da curva de calibração construída com soluções do padrão.

A solução isenta de rutina, refere-se a solução do branco, que é utilizada para calibração do equipamento. Após os balões serem aferidos, ambas as soluções foram armazenadas em local escuro por 30 minutos e em seguida levada para o espectrofotômetro em comprimento de onda de 425 nm para serem medidas suas absorbâncias.

A análise foi realizada em triplicata e o teor total de flavonoides determinado a partir da curva de calibração construída com soluções do padrão. O resultado é expresso em equivalentes de mg de rutina por grama de extrato (ER mg/g).

4.4 Avaliação da atividade *in vitro* frente à *Leishmania braziliensis*

Para avaliação da atividade leishmanicida, amostras de padrão dos flavonoides previamente isolados foram enviados ao Laboratório de Farmacologia e Imunidade, do Instituto de Ciências Biológicas e Saúde, Universidade Federal de Alagoas. As substâncias foram testadas em parceria com a professora Magna Suzana Alexandre-Moreira.

Promastigotas de *Leishmania braziliensis* (MHOM/BR/87/BA125) foram obtidos da Dra. Valéria de Matos Borges no Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz. Os parasitas foram mantidos *in vitro* em meio de Schneider, suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (SFB) e 2% de urina humana. Soluções estoque dos compostos testados e pentamidina (droga leishmanicida de referência) foram preparadas em DMSO antes do uso. Promastigotas de *L. braziliensis* em fase estacionária foram semeadas em placas de 96 poços (Nunc) a 1×10^5 células por poço, em meio de Schneider, suplementado com 10% de SFB e 2% de urina humana. Cada solução composta foi adicionada em concentrações crescentes (0,001–100 μM). As células também foram cultivadas em um meio livre de compostos (controle de crescimento basal) ou com 0,1% de DMSO (controle de veículo). Após 48 horas, a carga extracelular de promastigotas de *L. braziliensis* foi estimada pela contagem dos promastigotas em meio de Schneider em um contador automático de células CELM (modelo CC530) (RANGEL *et al.*, 1996).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Identificação das substâncias obtidas da amostra purificada

A amostra Wp-1 apresentou-se como pó amarelo, aspecto sugestivo de flavonoides. A amostra foi submetida à análise por RMN unidimensional de ^1H e ^{13}C , e bidimensionais HMQC e HMBC. Os espectros obtidos podem ser observados nas (Figuras 16 a 22, pags. 42 - 45).

No espectro de RMN de ^1H observou-se a presença de dois singletos desprotegidos em δ_{H} 12,92 e δ_{H} 12,44, que são característicos de hidrogênios em ligação de hidrogênio intramolecular, como ocorre na posição 5 da estrutura de flavonoides. Os valores de integrais para cada sinal observado foram de 1,0 e 0,14, respectivamente, indicando a possibilidade de uma mistura de flavonoides na amostra. Outros sinais no espectro de RMN ^1H foram encontrados duplicados, o que também sugere que Wp-1 pode se tratar de uma mistura de dois flavonoides.

O espectro de RMN de ^1H mostrou sinais para flavonoides com o anel B *para* substituído, exibindo dois pares de dubletos em δ_{H} 7,11 e δ_{H} 8,04 ($J = 8,0$ Hz) para a substância majoritária (Wp-1a), e em δ_{H} 7,13 e δ_{H} 8,10 ($J = 8,0$ Hz) para a substância minoritária (Wp-1b). Singletos característicos de metoxilas foram mostrados em δ_{H} 3,86 e 3,90. O valor de integral do singlete em δ_{H} 3,86 (1,05) indica que esse sinal corresponde a uma metoxila do composto minoritário. O valor de integral do singlete em δ_{H} 3,90 (4,64) indica que pode ser encontrado ali sinais para duas metoxilas, uma para o composto majoritário e uma para o composto minoritário.

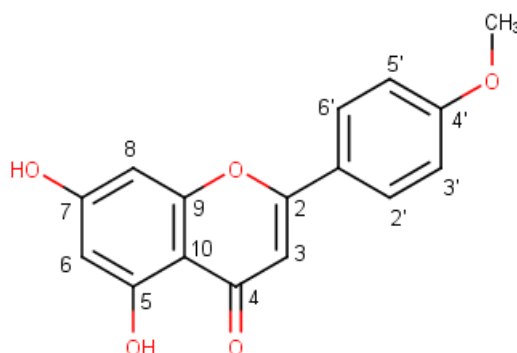
Dois pares de dupletos acoplando *meta* (5,61 e 6,20, $J = 4$ Hz) foram exibidos com valores de deslocamentos químicos característicos dos hidrogênios 6 e 8 anel A de flavonoides para o composto majoritário Wp-1a. Para o composto Wp-1b a presença de um singlete em δ_{H} 5,66 indicou a presença de um anel A 5, 7, 8 trissubstituído.

O espectro de RMN ^{13}C exibiu 20 sinais, também indicando a existência de uma mistura de flavonoides, com alguns carbonos equivalentes. Merecem destaque os carbonos com alta intensidade em δ_{C} 128,9; 129,1 e 115,2 valores característicos para os carbonos 2', 6' e 3', 5' do anel B *para*-substituído de flavonoides.

Uma detalhada análise dos espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , HSQC e HMBC permitiu diferenciar através da intensidade os carbonos e hidrogênios, e suas

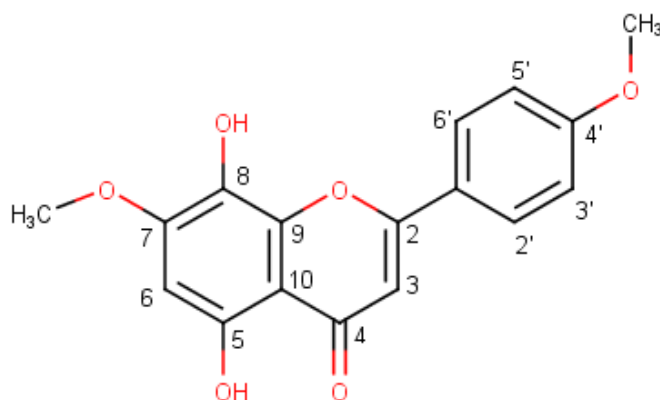
correlações os hidrogênios e carbonos pertencentes à substância Wp-1a e Wp-1b. Comparações dos dados espectrais com dados da literatura permitiram identificar a substância majoritária Wp-1a como sendo o flavonoide acacetina (Figura 14) e a substância minoritária Wp-1b como o flavonoide 5,7-dihidroxi-7,4'-dimetoxiflavona (Figura 15), anteriormente isolados de *W. periplocifolia* (TELES *et al.*, 2015b).

Figura 14 - Acacetina (Wp-1a)



Fonte: Elaborado pelo autore, 2021.

Figura 15 - 5,8-dihidroxi-7,4'-dimetoxiflavona (Wp-1b)



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

Tabela 1 - Dados de RMN ^1H e ^{13}C de Wp-1a e Wp-1b (δ , DMSO, 400 e 100 MHz)
(Continua)

C	Wp-1a		Wp-1b	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	-	163,8	-	164,1
3	6,88 (s)	104,1	6,88 (s)	103,53
4	-	182,4	-	182,4

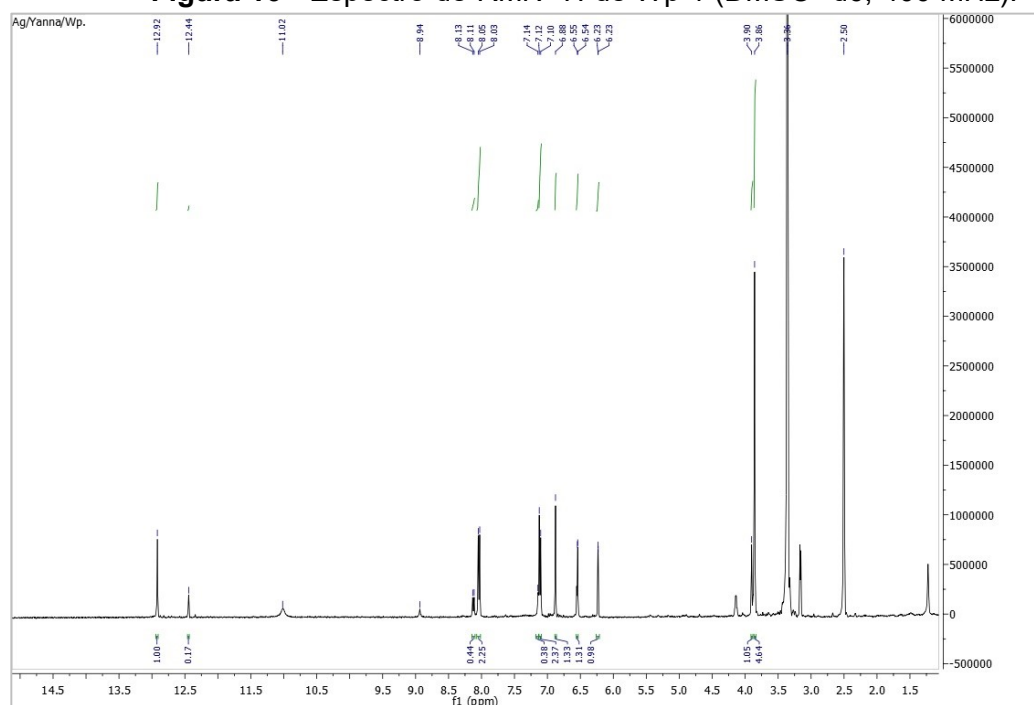
Tabela 1 - Dados de RMN ^1H e ^{13}C de Wp-1a e Wp-1b (δ , DMSO, 400 e 100 MHz)

(Continuação)

	Wp-1a		Wp-1b	
5	-	162,0	-	154,3
6	6,20 (d, J = 4Hz)	99,6	6,54 (s)	94,5
7	-	165,0	-	155,6
8	6,51 (d, J = 4Hz)	94,5	-	126,0
9	-	157,9	-	-
10	-	104,3	-	104,1
1'	-	123,4	-	123,2
2' e 6'	8,12 (d, J=8,12 Hz, 2H)	128,9	8,09 (dd, J = 7 e 2 Hz)	129,1
3' e 5'	7,13 (d, J=8,6 Hz, 2H)	115,2	7,12 (dd, J = 7 e 2 Hz)	115,2
4'	-	162,8	-	162,8
OCH ₃ -4'	3,86 (s)	56,1	3,85 (s)	56,1
OCH ₃ -7	-	-	39,0 (s)	57,2
OH - 5	12,44 (s)	-	12,41 (s)	-

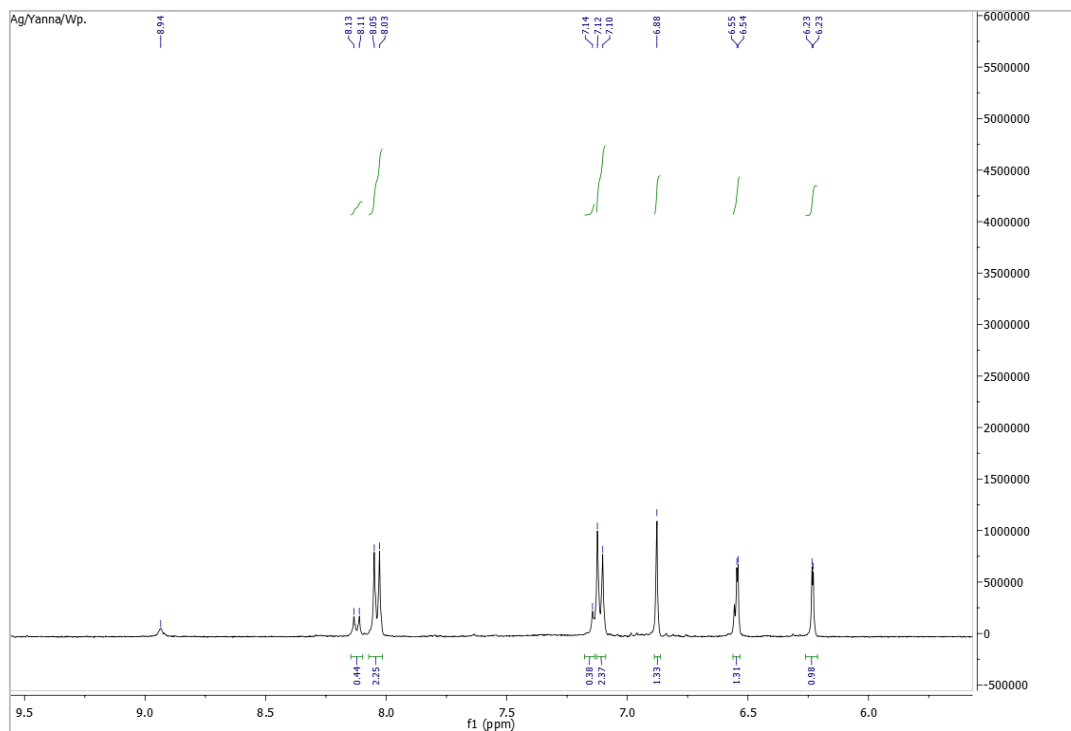
Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

Figura 16 - Espectro de RMN ^1H de Wp-1 (DMSO -d₆, 400 MHz).



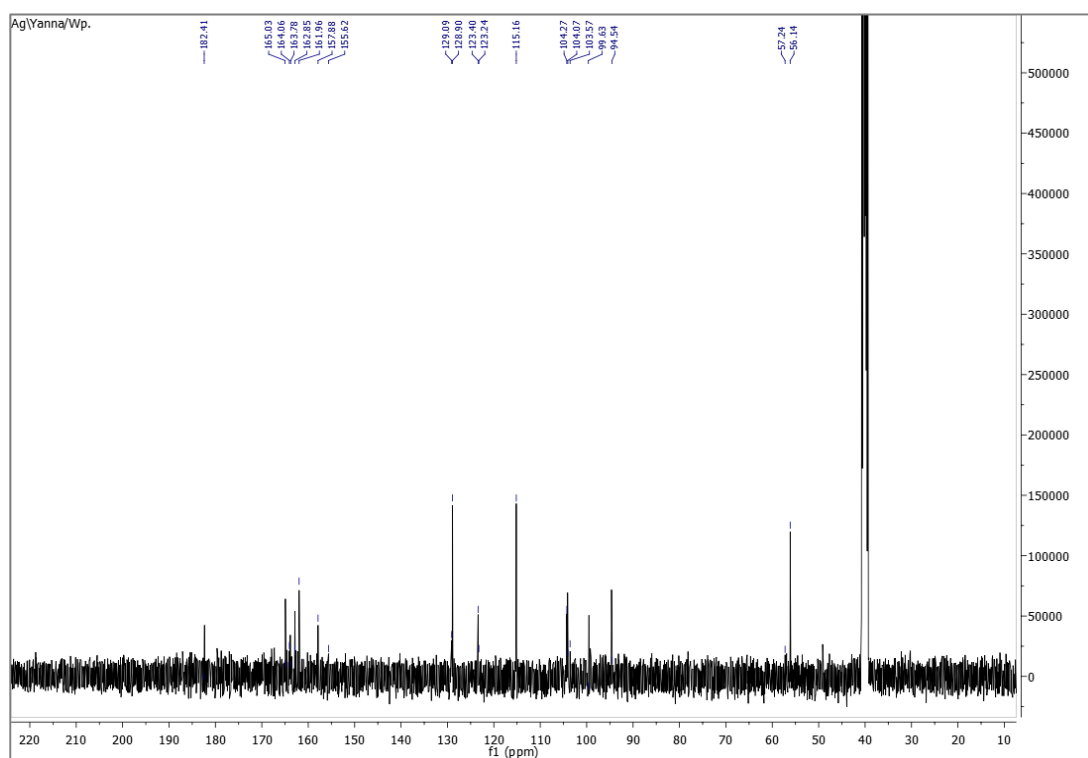
Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

Figura 17 - Expansão do espectro de RMN ^1H de Wp-1 (DMSO -d₆, 400 MHz)



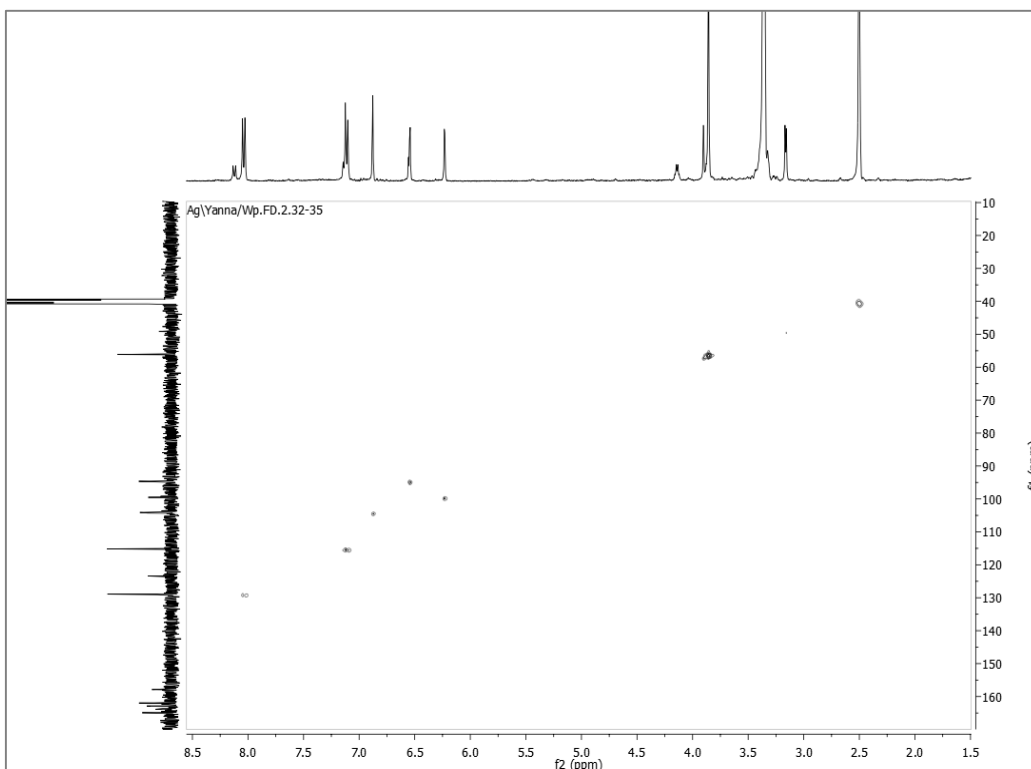
Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

Figura 18 - Espectro de RMN ^{13}C de Wp-1 (DMSO -d₆, 100 MHz).



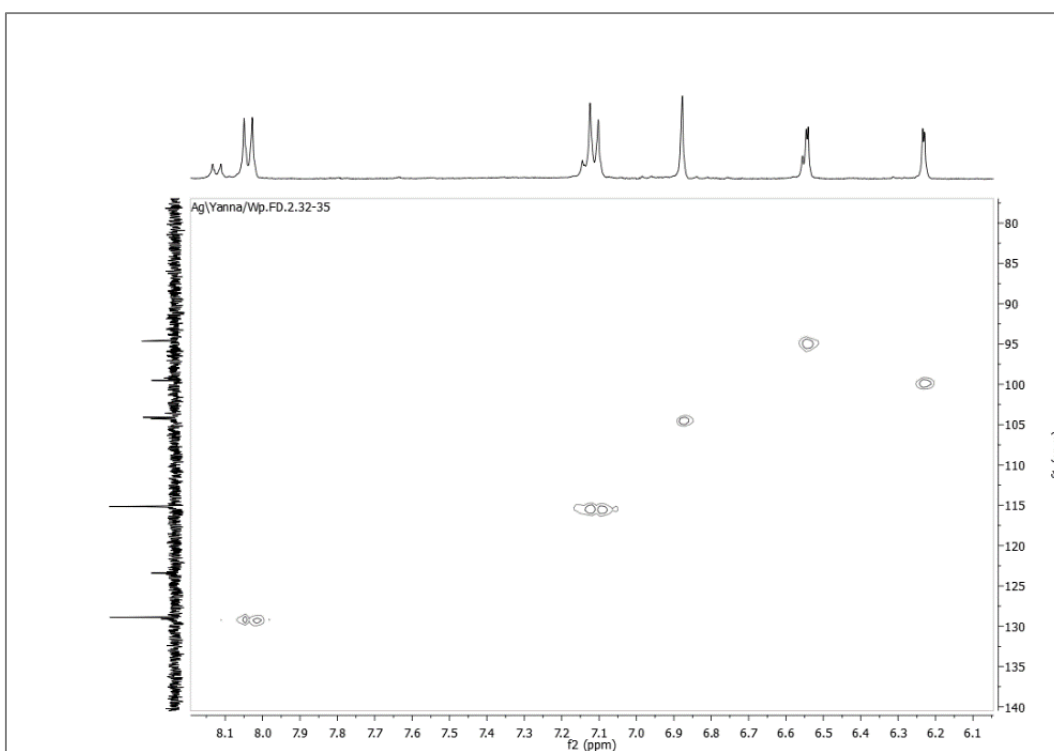
Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

Figura 19 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC (δ , DMSO) de Wp-1



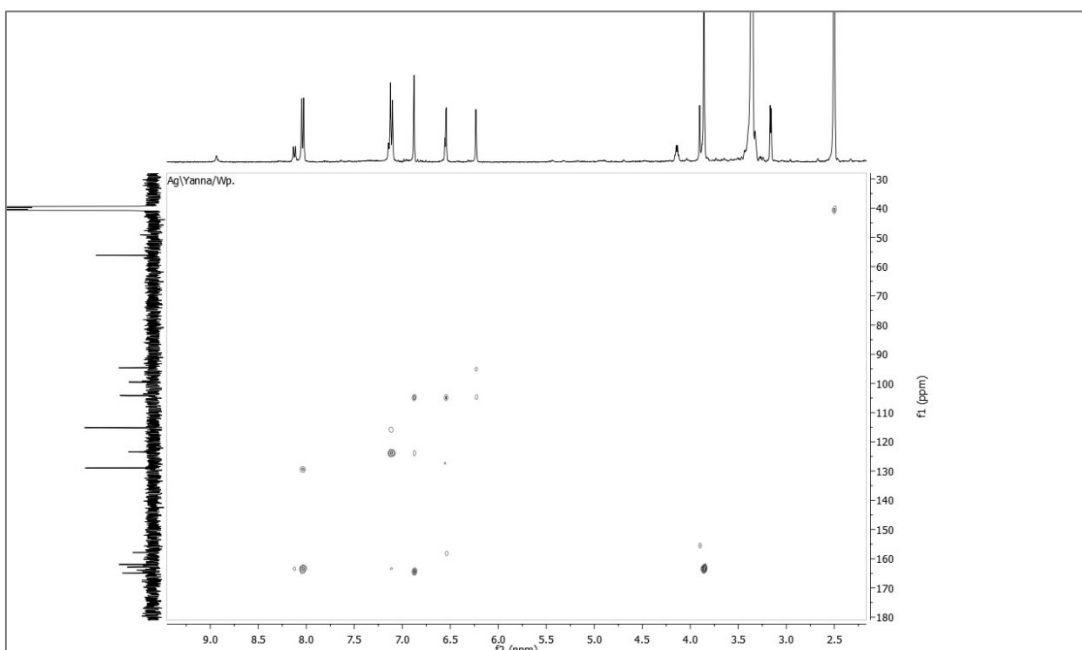
Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

Figura 20 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HSQC (δ , DMSO) de Wp-1



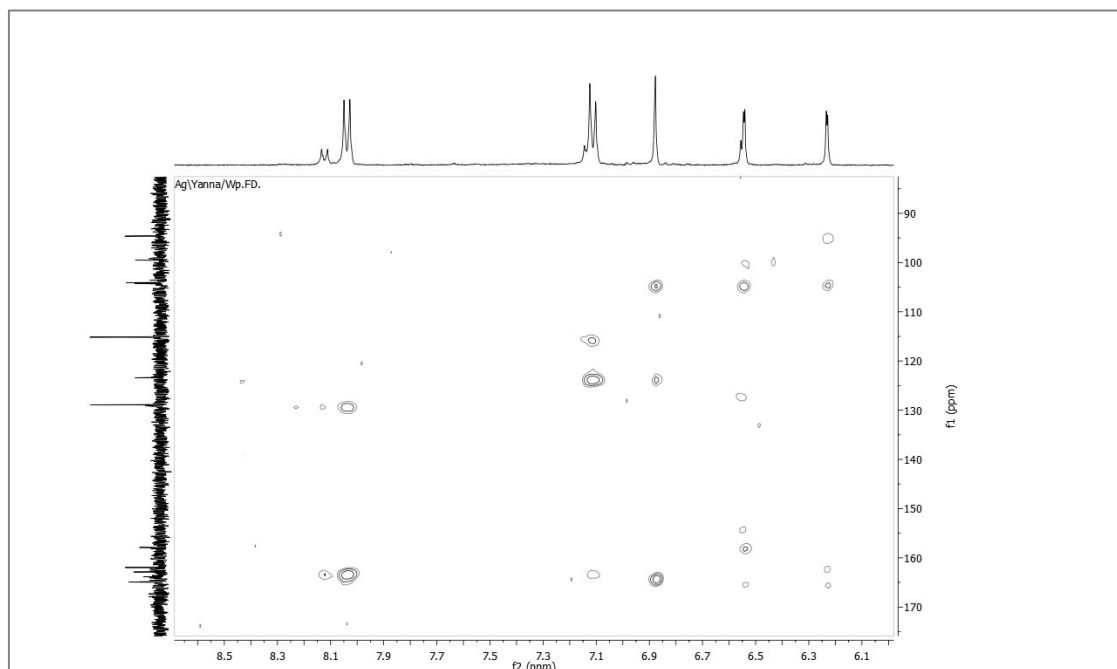
Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

Figura 21 - Espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , DMSO) de Wp-1.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

Figura 22 - Expansão do espectro de RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (δ , DMSO) de Wp.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

5.2 Quantificação de flavonoides totais

A tabela 2 abaixo apresenta as absorbâncias para construção da curva de

calibração, após a leitura das soluções de rotina.

Tabela 2 - Absorbâncias para construção da curva de calibração do padrão rotina (absorbâncias em triplicata).

Concentração (ppm)	Abs1	Abs2	Abs3	Média	D. P.
4	0,151	0,156	0,175	0,161	0,01266
6,08	0,236	0,239	0,246	0,240	0,00513
8	0,312	0,317	0,328	0,319	0,00819
10,08	0,397	0,414	0,421	0,411	0,01234
12	0,483	0,497	0,506	0,495	0,01159
14,08	0,575	0,595	0,595	0,588	0,01155

Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

Os dados foram utilizados para gerar a equação da reta, a partir da qual se obteve o resultado da quantificação de flavonoide totais, determinando-se o valor de 12,9870 mg de Equivalente por grama (EQ/g) de extrato etanólico da espécie *W. periplocifolia*.

Diante da quantidade de flavonoides encontrada em 1g do extrato de *W. periplocifolia*, foi feita uma comparação com outro estudo que apresenta valores de flavonoides totais e compostos fenólicos totais presentes em outra planta da família Malvaceae encontrada e cultivada na África, Austrália e Ásia, incluindo a Tailândia, a *Bombax ceiba* (Bombacaceae). Através de estudos farmacológicos a partir das partes aéreas dessa planta foi possível obter informações de que ela apresenta várias atividades biológicas como por exemplos, atividades: adstringente, refrescante, estimulante, diurética, afrodisíaca, emoliente e tônica. Esse estudo foi realizado por (KRIINTONG; KATISART, 2020) e traz uma compilação do teor de flavonoides totais presentes em folhas e flores da *Bombax ceiba*. O estudo apresentou os teores de compostos fenólicos e de flavonoides de frutos e folhas da *Bombax ceiba*, esse estudo mostra que a concentração de flavonoides presentes no extrato aquoso de folhas é bem aproximado do encontrado no extrato das partes aéreas de *W. Periplocifolia*.

Se comparada as concentrações nas mesmas unidades de medidas mg/g observamos que para o rendimento da extração da espécie *W. periplocifolia*, temos que 1 grama de extrato obtido corresponde a 12,6 g de vegetal seco. Portanto, o teor encontrado de 12,9870 mg/g de extrato etanólico da espécie *W. periplocifolia*

corresponde a 1,03 mg/g de vegetal. Dessa forma vemos que o teor de flavonoides encontrado nas folhas da espécie *W. periplocifolia* é aproximado daquele encontrado no extrato das folhas da *Bombax ceiba*, que por sua vez apresenta uma quantidade 1,34 mg/g. Isso torna a espécie *W. periplocifolia* uma planta bastante rica em flavonoides quando comparada com resultados referentes extratos das folhas da espécie *Bombax ceiba*.

5.3 Avaliação da atividade in vitro frente à *Leishmania braziliensis*

As substâncias acacetina e 7, 4'-di-O-metilisosculetarina foram avaliadas contra promastigotas extracelulares de *Leishmania braziliensis*, agente causador da leishmaniose cutânea. Como um parâmetro para a atividade antileishmania, foi determinado o valor de IC₅₀ (ou seja, a concentração da substância que causa 50% de redução na sobrevivência/viabilidade dos parasitas).

Os compostos testados exibiram atividade antileishmania contra promastigotas de *L. braziliensis*, demonstrando valores de IC₅₀ de 49,5 ± 4,0 e 78,1 ± 9,5, respectivamente (Tabela 3). Apesar de os compostos testados apresentarem potência inferior do que o fármaco antileishmania usado terapêuticamente, pentamidina, podem se configurar como potenciais moléculas protótipo para o desenvolvimento de fármacos para tratamento da LTA.

Tabela 3 - Atividade leishmanicida de substâncias isoladas de *Wissadula periplocifolia* contra promastigotas de *L. braziliensis*.

Substância testada	IC ₅₀ ^a (µM ± S.E.M.)
Pentamidina	1,3 ± 0,4
Acacetina	49,5 ± 4,0
5,7-dihidroxi-8,4'-dimetoxiflavona	78,1 ± 9,5

Fonte: Elaborado pelo autor, 2021.

^aOs dados são apresentados como médias ± S.E.M; IC₅₀ é a concentração

necessária para alcançar 50% de inibição, calculada por análise de regressão linear.

6 CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico das partes aéreas de *Wissadua periplocifolia* foi realizado através de métodos cromatográficos e espectroscópicos permitindo a identificação de dois compostos flavonoídicos: acacetina e 5,8-dihidroxi-7,4'- dimetoxiflavona. As substâncias foram avaliadas quanto à sua atividade frente à *Leishmania braziliensis*, apresentando promissora atividade. A partir da quantificação de flavonoide totais determinou-se o valor de 12,9870 mg de ER/g de extrato etanólico da espécie *W. periplocifolia*, demonstrando que a espécie é rica produtora de flavonoides.

Os dados obtidos no presente trabalho ratificam que a espécie *W. periplocifolia* é grande produtora de flavonoides bioativos, com potencial para o desenvolvimento de fármacos com atividade leishmanicida.

REFERÊNCIAS

ADEBAYO, J. O.; KRETTLI, A.U. Potential antimalarials from Nigerian plants: A review. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 133, p. 289-302, 2011.

ALAGA, T. O. *et al.* Phytochemical and in vitro anti-bacterial properties of *Hibiscus sabdariffa* L (Roselle) juice. **Journal of Medicinal Plant Research**, [S. l.], v. 8, p. 339-344, 2014.

ALARCON-AGUILAR, F. J. *et al.* Effect of *Hibiscus sabdariffa* on obesity in MSG mice. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 114, p. 66-71, 2007.

ALVES, L. F. Produção de Fitoterápicos no Brasil: História, Problemas e Perspectivas, **Revista Virtual de Química**, Niterói, RJ, v.5, n. 3, p.450-513, 2013.

AMES, J. M.; MACLEOD, G. Volatile Components of Okra. **Phytochemistry**, [S. l.], v. 29, n. 4, p. 1201- 1207, 1990.

BARROS, M. E. F. X. *et al.* Estudo da toxicidade aguda e da atividade gastroprotetora da *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl.. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, p. 41481-41507, 2021

BATES, P. A. *et al.* Recent advances in phlebotomine sand fly research related to leishmaniasis control. **Parasites & vectors**, [S. l.], v. 8, p. 131, 2015.

BERNARDES, N. R; PESSANHA, F. F; OLIVEIRA, D. B. Alimentos funcionais: Uma breve revisão. **Ciência e Cultura – Rev. Cient. Multid. Cent. Univ**, Barretos, SP, v. 6, n. 2, p. 11-19, 2010

BOVINI, M. G.; CARVALHO-OKANO, R. M.; VIEIRA, M. F. Malvaceae A.Juss. no Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. **Journal Article Rodriguésia**, [S. l.], v. 52, n. 81, p. 17-47, 2001

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 510, de 07 de abril de 2016. **Dispõe sobre diretrizes e normas regulamentadoras em pesquisas humanas e sociais**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 07 abr. 2016.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Leishmaniose Tegumentar (LT)**. [S. l.], 2018

BRASIL. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. 2. ed. atual. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010.

CRAGG, G. M., NEWMAN, D.J. Produtos naturais: uma fonte contínua de novos leads de drogas. **Biochin Biophys Acta**, [S. l.], v. 1830, n. 6, p. 3670-95, 2013.

CARVALHO, M. L. *et al.* Leishmaniose tegumentar no estado do Mato Grosso (Brasil): estudo clínico, laboratorial e terapêutico. **Na. Bras. de Dermatol**, Rio de Janeiro, v. 77. n. 1, p. 45-56, 2002.

CORTI, R. *et al.* Cocoa and cardiovascular health. **Circulation**. [S. l.], v. 119, n. 10,

p. 1433-41, 2009.

COSTA, D. A. *et al.* Chemical constituents from *Bakeridesia pickelii* (H. Monteiro) (Malvaceae) and their relaxant activity of kaempferol-3-O- β -D-(6''-E-p-coumaroyl) glucopyranoside on guinea-pig ileum. **Quím. Nova**, São Paulo, v.30, n.4, p. 901-903, 2007.

DANUELLO, A. **Técnicas cromatográficas: princípios, classificações e aplicações**. [S. l.]: Científica Digital, 2022. v 2.

DAVID, B.; WOLFENDER, J.-L.; DIAS, D. A. The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. **Phytochem Rev**, [S. l.], v. 14, n 31, p. 299-315, 2014.

FANG, J. Classification of fruits based on anthocyanin types and relevance to their health effects. **Nutrition**, [S. l.], v. 31, p. 1301–1306, 2015.

FAN, K; ZHANG, M. Recent developments in the food quality detected by non-invasive nuclear magnetic resonance technology. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, [S. l.], v. 59, n. 14, p. 2202-2213, 2018.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais, **Química Nova Escola**, São Paulo, v. 39, n. 2, 2017.

FERNANDES, D.A. *et al.* New Sulphated Flavonoids and Larvicidal Activity of *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae). **Molecules**, [S.l.], v. 23, n. 11, p. 2784, 2018.

FERREYRA, M.L.F. *et al.* Cloning and characterization of a UV-B-inducible maize flavonol synthase. **The Plant Journal**, [S. l.], v. 62, n. 1, p. 77-91, 2010.

FRYXELL, P. A. The American genera of Malvaceae-II. **Brittonia**, v. 49, p. 204- 269, 1997.

GARCÍA, A. Á.; CARRIL, E. P-U. Metabolismo secundario de plantas. **Reduca (biología)**, [S. l.], v. 2, n. 3, p. 119-145, 2009.

GOMES, R. 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. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 34 n. 8, p. 1385–1388, 2011.

GOULART, D. S. **Aplicações das técnicas de cromatografia no diagnóstico toxicológico**. 2012. Tese (Doutorado em Patologia Clínica e Cirurgia Animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

GRINGS, M.; BOLDRINI, I. I. *Sphaeralcea bonariensis* (Cav.) Griseb. (Malvaceae): nova ocorrência para o Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 9, n. 3, p. 382- 386, 2011.

GUANATILAKA, A. A. L. *et al.* Studies on medicinal plants of Sri Lanka. III.

Pharmacologically important alkaloids of some sida species. **Planta Med**, New York, v. 39, n. 1, p. 66-72, 1980.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. *In*: SIMIÕES, C. M. O. *et al* (org.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 15. ed. ver. ampl. Ed. da UFRGS/ Ed. da UFSC, Porto Alegre/Florianópolis, 2003. p. 13-28.

HENDRICKX, S.; CALJON, G.; MAES, L. Need for sustainable approaches in antileishmanial drug Discovery. **Parasitology Research**, [S. l.], v. 118, p. 2743-2752, 2019.

HOLZGRABE, U. Quantitative NMR spectroscopy in pharmaceutical applications. **Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy**, [S. l.] v. 57, p. 229–240 2010.

ISAH, T. Stress and Defense Responses in Plant Secondary Metabolites Production. **Biological Research**, Santiago, v. 52, n. 39, p. 1, 2019.

JUDD, W. S.; MANCHESTER, S. R. Circumscription of Malvaceae (Malvales) as determined by a preliminary cladistic analysis of morphological, anatomical, palynological, and chemical characters. **Brittonia**, v. 49, n. 3, p. 384-405, 1997.

KAISER, C. R. RDM 2D: detecção inversa e gradiente de campo na determinação estrutural de compostos orgânicos. **Quím. Nova**, São Paulo v. 23, n. 2, 2000.

KEVRIC, I.; CAPPEL, M. A.; KEELING, J. H. New World and Old World Leishmania Infections a Practical Review. **Dermatologic Clinics**. [S. l.], v. 33, n. 3, p. 579-83, 2015.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H., **Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil**. 2. ed. Plantarum: Nova Odessa, 2014.

KIP, A. E. *et al*. Clinical Pharmacokinetics of Systemically Administered Antileishmanial Drugs. **Clin Pharmacokinet**, [S. l.], v.57, p.151–176, 2018.

KOBETS, T.; GREKOV, I.; LIPOLDOVA, M. Leishmaniasis: Prevention, Parasite Detection and Treatment. **Current Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 19, n. 10, p. 1443–1474, 2012.

KOIRALA, N. *et al*. Methylation of flavonoids: Chemical structures, bioactivities, progress and perspectives for biotechnological production. **Enzyme Microb Tech**, [S. l.], v. 86, p. 103–116, 2016.

KORTBEEK, R. W. J.; VAN DER GRAGT, M.; BLEEKER, P. M. Endogenous plant metabolites against insects. **European Journal of Plant Pathology**, [S. l.], v. 154, p. 67-90, 2019.

KRIINTONG, N.; KATISART, T. In vitro Antioxidant and Antidiabetic Activities of Leaf and Flower Extracts from *Bombax ceiba*. **Pharmacognosy Research**, [S. l.], v. 12, n.

2, 2020.

KUMAR, S.; KUMAR, D.; PRAKASH, O. Evaluation of antioxidant potential, phenolic and flavonoid contents of hibiscus tiliaceus flowers. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 7 n. 4, p. 2863-2871, 2008.

LARDOS, A. The botanical materia medica of the Iatrosophikon - A collection of prescriptions from a monastery in Cyprus. **J. Ethnopharmacol.**, [S. l.], v. 104, n.6, p. 387-406, 2006.

MACIEL, J. K. S. *et al.* New alcamide and antioxidant activity of *Pilosocereus gounellei* A. Weber ex K. Schum. Bly. ex Rowl. (Cactaceae). **Molecules**, [S. l.], v. 21, p. 0011-0023, 2015.

MAGANHA, E. G. **Avaliação da atividade biológica *in vitro* e *in vivo* do extrato etanólico das flores de *Hibiscustiliaceus* L.** 2009. Tese (Doutorado em genética e toxicologia aplicada) - Universidade Luterana do Brasil, [S. l.], 2009.

MALVACEAE in Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, [2020].

MAIA-ELKHOURY, A. N. S. *et al.* Interacción entre los determinantes medioambientales y socioeconómicos para el riesgo para leishmaniasis cutánea en América Latina. **Revista Panamericana de Salud Pública**. Washington, v. 45, n. 1, p. 1-9, 2021.

MARTINS, G. A. S.; LIMA, M. D. Leishmaniose: do diagnóstico ao tratamento. **Enciclopédia biosfera**, v. 9, n. 16, 2013.

MATTIOLI, R. *et al.* Anthocyanins: A Comprehensive Review of Their Chemical Properties and Health Effects on Cardiovascular and Neurodegenerative Diseases. **Molecules**, [S. l.], v. 25, n. 17, 2020.

MCGWIRE, B. S.; SATOSKAR, A. R. Leishmaniasis: Clinical syndromes and treatment. **QJM**, [S. l.], v. 107, n. 1, p. 7-14, 2014.

MEDEIROS, B. J. S. **Estudo farmacobotânico de folhas de Malvaceae sesu lato ocorrentes em Cuité - PB.** 2022. 91fl. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Campina Grande, 2022.

MELLO, C.S. *et al.* Sodium nitroprusside modulates gene expression involved in glutathione synthesis in *Zea mays* leaves. **Biologia Plantarum**, [S. l.], v.56, p.383-388, 2012.

MENSAH, A.Y.; DONKOR, P.O.; FLEISCHER, T.C. Anti-inflammatory and antioxidant activities of the leaves of *Wissadula amplissima* var *Rostrata*. **African Journal of Traditional and Complementary and Alternative Medicines**, [S. l.], v. 8, n. 2, p.185-195, 2011.

MILTEFORON o único produto aprovado para tratamento da Leishmaniose Visceral Canina no Brasil. São Paulo: Vetsmart, [202?]. Disponível em: <https://www.vetsmart.com.br/cg/estudo/13418/milteforan-o-unico-produto-aprovado-para-tratamento-da-leishmaniose-visceral-canina-no-brasil>. Acesso em: 27 out. 2022.

MIERZIAK, J.; KOSTYN, K.; KULMA, A. Flavonoids as Important Molecules of Plant Interactions with the Environment. **Molecules**, [S. l.], v.19, n. 10, p.16240-16265, 2014.

MOON Y.J.; WANG, X.; MORRIS, M. E. Dietary flavonoids: effects on xenobiotic and carcinogen metabolism. **Toxicol in Vitro**, [S. l.], v. 20, n. 2, p. 187-210, mar. 2006.

MOREIRA, B. P.; HIRSCH, G. H.; GEHRKE, I. T. S. Técnicas cromatográficas para obtenção de substâncias bioativas de plantas. *In*: BOLSISTAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E INICIAÇÃO TECNOLÓGICA DA UNIHUÍ, 2018, Rio Grande do Sul. **Anais [...]**. Rio Grande do Sul: Universidade Regional do Noroeste do Rio Grande do Sul, 2018.

MURRAY, H. W. Treatment of visceral leishmaniasis in 2010: direction from Bihar state, India. **Future Microbiol**, [S. l.], v. 5, n. 9, p. 1301–1303, 2010.

NABAVI, S. F. *et al.* Role of quercetin as an alternative for obesity treatment: You are what you eat! **Food Chem**. [S. l.], v. 179, n. 15, p. 305–310. 2015.

PATRÍCIO, K. P. *et al.* O uso de plantas medicinais na atenção primária à saúde: revisão integrativa. **Ciência & Saúde Coletiva**, São Paulo, SP, v. 27, n. 2, fev. 2022.

PEDROSO, R. S. *et al.* Plantas medicinais: uma abordagem sobre o uso seguro e racional Physis: **Revista de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 2, p.2, 2021.

PEDRIALI, C. A. **Síntese química de derivados hidrossolúveis da rutina: determinação de suas propriedades físico-químicas e avaliação de suas atividades antioxidantes**. 2005. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Departamento de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos ssecundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, [S. L.], v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

PETRUSSA, E. *et al.* Plant flavonoids – Biosynthesis, transport and involvement in stress responses. **International Journal of Molecular Science**, [S. L.], v. 14, p.14950-14973, 2013.

RANGEL, H. *et al.* Naturally azole-resistant *Leishmania braziliensis* promastigotes are rendered susceptible in the presence of terbinafine: comparative study with azole-susceptible *Leishmania mexicana* promastigotes. **Antimicrob Agents Chemother**. [S. l.], v. 40, n. 12, p. 2785–2791, 1996.

RAMOS, P.; HERRERA, R.; MOYA-LEÓN, A. M. Handbook of Anthocyanins.

Anthocyanins: Food Sources and Benefits to Consumer's Health **Nova Science Publishers Inc**, New York, p. 373–394, 2014.

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

ROQUE, A. A.; ROCHA, R. M.; LOIOLA, M. I. B. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural da Lgoinhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (Nordeste do Brasil). **Revista Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.12, n. 1, p. 31-42, 2010.

ROSI, A. *et al.* Dietary habits of adolescents living in North America, Europe or Oceania: A review on fruit, vegetable and legume consumption, sodium intake, and adherence to the Mediterranean Diet. **Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.** [S. l.], v. 29, n. 6, p. 544-560, 2019.

SANTOS, M. E. N.; OLIVEIRA, F. B.; TORRES, M. C. M. Estudo fitoquímico e atividade biológica da família Malvaceae – uma revisão. *In*: SETIMO CONGRESSO NACIONAL DE ENSINO E PESQUISA EM CIÊNCIA, 2022, Campina Grande. **Anais [...]** Campina Grande, Realize Editora, 2022.

SCHWERTZ, M. C. *et al.* Efeito hipolipidêmico do suco de camu-camu em ratos. **Rev. de Nutr.** Campinas, v.25, n. 1, p. 35-34, 2012.

SHEPHERD, G. J. (coord.). **Flora Brasiliensis**. Campinas, SP: Universidade Estadual de Campinas, v. 12, parte 3, fasc. 109, jul. 1891. Prancha 7. Disponível em: <http://florabrasiliensis.cria.org.br/project>. Acesso em: 25 out. 2022.

STRACK, M. H.; SOUZA, C. C. G. Antocianinas, catequinas e quercetina: evidências na prevenção e no tratamento das doenças cardiovasculares. **Rev Bras Nutr Clin**, Rio Grande do Sul, v. 27, n. 1, p. 43-50, 2012.

SILVA, A. P. *et al.* Estudo epidemiológico de Leishmaniose Tegumentar Americana em Alagoas, no período de 2010 à 2018. **Diversitas Journal**, v. 6, n. 2, p. 2351–2364 2021.

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

SILVA, J.N. *et al.* Estudo prospectivo sobre propriedades antineoplásicas de plantas da família Fabaceae: ênfase em *Mimosa caesalpiniiifolia*. **Revista GEINTEC**, São Cristóvão, SE, v. 6, n. 3, p. 3304-3318, 2016b.

SILVEIRA, F. T. *et al.* Immunopathogenic competences of *Leishmania* (V.) *braziliensis* and *L. (L.) amazonensis* in american cutaneous leishmaniasis. **Parasite Immunology**, [S. L.], v. 31, n. 8, p. 423–431, 2009.

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

- SINGH, A. K.; RAGHUBANSHI, A. S.; SINGH, J. S. Triagem fitoquímica Medical ethnobotany of the tribals of Sonaghati of Sonbhadra district, Uttar Pradesh, India. **J. Ethnopharmacol.** [S. l.], v. 81, p. 31-41, 2002.
- SOUSA, I. J. O. *et al.* A diversidade da flora brasileira no desenvolvimento de recursos de saúde. **Revista UNINGÁ review**, v. 31, n.1, p. 35-39, 2017.
- STANGL, V. *et al.* Molecular targets of tea polyphenols in the cardiovascular system. **Cardiovasc Res.** [S. l.], v. 73, n. 2, p. 348-58, 2007.
- STEFANI, R; NASCIMENTO, P. G. B. D. Elucidação estrutural de substâncias orgânicas com auxílio de computador: Evoluções Recentes. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 1347-1356, 2007.
- STEVENS, P. F. Angiosperm Phylogeny Website, Sulphated Flavonoids and Larvicidal Activity of *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae). **Molecules**, [S. l.], v. 23, p. 2784, 2017.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.
- TATE, J. A. *et al.* Phylogenetic relationships within the tribe Malveae (Malvaceae, subfamily Malvoideae) as inferred from ITS sequence data. **Am. J. Bot.** [S. l.], v. 92, n.4, p. 584-602, 2005.
- TELES, Y. C. F. *et al.* Phytochemical investigation of *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl AND evaluation of its antibacterial activity. **Química Nova**, São Paulo, v. 37, n. 9, p. 1491-1495, 2014.
- TELES, Y.C.F. *et al.* Phenolic constituents from *Wissadulaperiplocifolia* (L.) C. Presl. and anti-inflammatory activity of 7,4--di- O - methylisoscutellarein. **Natural Products Research**, [S. l.], v. 30, n. 16, p. 1-5, 2015a.
- TELES, Y. C. F. *et al.* New Sulphated Flavonoids from *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl (Malvaceae). **Molecules** [S. l.], v. 20, p. 20161- 20172, 2015b.
- TIWARI, N. *et al.* Limitations of Current Therapeutic Options, Possible Drug Targets and Scope of Natural Products in Control of Leishmaniasis. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, Emirados Árabes, v. 18, n. 1, p. 26-41, 2018.
- UENO, N.; WILSON, M.E. Receptor-mediated phagocytosis of *Leishmania*: Implications for intracellular survival. **Trends Parasitol.** [S. l.], v. 28, n. 8, p. 35–44, ag. 2012.
- VASCONCELOS, J. M. *et al.* Leishmaniose tegumentar americana: perfil epidemiológico, diagnóstico e tratamento. **RBAC**. [S. l.], v. 50, p. 221-7, 2018.
- VINAYAGAM, R, X. B. Antidiabetic properties of dietary flavonoids: a cellular mechanism review. **Nutr Metab.** [S. l.], v. 12, n. 60, p. 1-20, 2015.