



**UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

JULIANA APARECIDA MENDONÇA

**Estudo do potencial antiviral sobre SARS COV-2 dos
compostos identificados nas folhas do extrato bruto de
Eugenia pyriformis.**

UMUARAMA – PR

2021

JULIANA APARECIDA MENDONÇA

**Estudo do potencial antiviral sobre SARS CoV-2 dos
compostos identificados nas folhas do extrato bruto de
Eugenia pyriformis.**

**Trabalho de Conclusão do Curso apresentado
à Banca Examinadora do Curso de
Graduação em Ciências Biológicas –
Universidade Paranaense – Campus
Umuarama-Sede, como requisito parcial para
a obtenção do título de Bióloga, sob orientação
da Prof^a. Zilda Cristiani Gazim.**

UMUARAMA

2021

AGRADECIMENTOS

A Deus: Fonte de luz inspiradora da inteligência dos homens, que nos proporcionou a graça de participar de mais esta luta em prol do conhecimento e por estar ao nosso lado permitindo todas as alegrias de nossas vidas. Com ELE aprendemos a superar os muitos obstáculos, caminhando sempre.

Aos Pais: Agradeço profundamente aos meus pais, Antonio Aparecido Mendonça e Luzia Antonia da Silva Mendonça; a quem tanto amo e admiro, pelo imenso amor e apoio incondicional, por acreditarem em nós e incentivarem os nossos sonhos na árdua e fascinante busca pelo conhecimento, dentro das leis de Deus, buscando sempre a verdade, a fé inabalável e a justiça.

Ao meu marido Maicom Meotti, minha filha Sophia Mendonça Meotti e meu Irmão Junio Aparecido Mendonça pelo companheirismo, amor e incentivo no decorrer dessas e de outras jornadas.

Aos meus amigos de graduação Gabriella Santana de Oliveira, Leticia da Silva Modesto e Ruana Carla Botari por todo auxílio nas dificuldades, pela parceria, paciência, empenho e por serem especiais em minha vida.

Aos meus eternos amigos: Agradeço por terem estado ao meu lado, escrevendo a história da minha vida. Peço a Deus que se possível não coloque grandes distâncias entre nós, e que sejamos profissionais realizados.

A minha orientadora Prof^a Zilda Cristiani Gazim: Agradeço imensamente pelo apoio, paciência, incentivo, companheirismo, profissionalismo e mais do que tudo, pela amizade, com a qual aprendemos que a glória da amizade, não é o sorriso carinhoso,

nem mesmo a companhia, mas sim, a inspiração que vem quando você descobre que alguém acredita e confia em você.

*“A natureza é o único livro
que oferece conteúdo valioso
em todas as suas folhas”*

Johann Goethe

RESUMO

A espécie *Eugenia pyriformis* Cambess (Myrtaceae) é uma espécie nativa, pertencente à família Myrtaceae. Seus frutos são utilizados no preparo de sucos e geleias, entretanto as folhas até o momento não apresentam aplicabilidade. Desta forma, o objetivo desta pesquisa visa investigar a atividade antiviral do extrato e frações das folhas de *Eugenia pyriformis* Cambess (Myrtaceae) nas proteínas do SARS-CoV-2. O extrato bruto (EB) foi obtido a partir das folhas secas de *Eugenia pyriformis* Cambess (Myrtaceae), pela técnica de maceração dinâmica com esgotamento do solvente (etanol 90° GL) e concentrado em evaporador rotativo. Seis gramas do EB foram fracionados em cromatografia em coluna, e eluído com hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, as frações foram concentradas em um evaporador rotativo (Tecnal TE-210). O EB e as frações foram identificadas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplado à espectrometria de massas de alta resolução (CLAE-ESI/qTOF). Os compostos identificados no extrato bruto e frações das folhas de *Eugenia pyriformis* foram avaliados através da análise bibliográfica da atividade antiviral dos compostos investigados. O potencial inibitório *in silico* encontra-se em elaboração devido ao fechamento dos laboratórios em virtude da pandemia.

PALAVRAS CHAVES: Investigação; uvaia; CLAE-ESI/qTOF; Covid-19

ABSTRACT

The species *Eugenia pyriformis* Cambess (Myrtaceae) is a native species belonging to the Myrtaceae family. Its fruits are used in the preparation of juices and jellies, however the leaves so far do not have applicability. Thus, the aim of this project is to obtain the crude extract and fractions of the leaves of the *Eugenia pyriformis* species. The crude extract (EB) was obtained from the dried leaves of *Eugenia pyriformis* Cambess (Myrtaceae), popularly known as uvaia by the technique of dynamic maceration with solvent depletion (ethanol 90° GL) and concentrated in a rotary evaporator. Six grams of EB were fractionated by column chromatography, and eluted with hexane, dichloromethane, ethyl acetate and methanol, the fractions were concentrated in a rotary evaporator (Tecnal TE-210). EB and fractions were identified by high-performance liquid chromatography and high-resolution mass spectrometry (HPLC-ESI/qTOF). The compounds identified in the crude extract and fractions of *Eugenia pyriformis* leaves were evaluated through the bibliographic review of the antiviral activity of the investigated compounds. The inhibitory potential *in silico* is under development due to the closing of laboratories due to the pandemic.

KEYWORDS: Investigation; uvaia; HPLC-ESI/qTOF; Covid-19.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. MATERIAL E MÉTODOS	10
2.1- Obtenção do material vegetal	10
2.2- Obtenção do extrato bruto e frações das folhas de <i>Eugenia pyriformis</i>	11
2.3- Fracionamento do extrato bruto das folhas de <i>Eugenia pyriformis</i>	11
2.4 -Análise por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas de alta resolução	11
3. RESULTADOS	12
4. DISCUSSÃO	15
5. CONCLUSÃO	17
6. REFERÊNCIAS	17
7. ANEXOS	18
7.1 Normas de publicação	18

DECLARAÇÃO DE AUTORIA

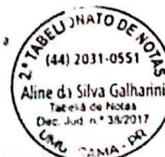
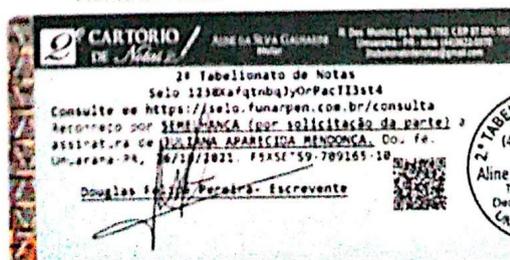
Declaro para os devidos fins que eu, Juliana Aparecida Mendonça RG: 97539596 – SSP-PR, aluna do Curso Ciências Biológicas campus da Unipar sou autoar do trabalho intitulado: "Estudo do potencial antiviral sobre SARS COV-2 dos compostos identificados nas folhas do extrato bruto de *Eugenia pyriformis*", que agora submeto à banca examinadora do Trabalho de Conclusão de Curso – Ciências Biológicas.

Também declaro que é um trabalho inédito, nunca submetido à publicação anteriormente em qualquer meio de difusão científica.

26 OUT. 2021

Juliana Aparecida Mendonça

Nome do Aluno



1-INTRODUÇÃO

O novo coronavírus COVID-19 foi descoberto no final de 2019 na cidade de Wuhan, província de Hubei, P.R. China. O COVID-19 apareceu de repente, levando não apenas as autoridades de saúde, mas também a comunidade científica a agir rapidamente em relação a ele (Khalifa *et al.*, 2020). Decorridos 2 anos do seu aparecimento (15/11/2021), segundo dados da Organização mundial da saúde (OMS), em 08 de Novembro de 2021 existem 251.266.207 casos confirmados e 7.160.396.495 mortos em todo mundo. e no Brasil 609.756 mortos. Desta forma, torna-se imperiosa a intensificação de pesquisas visando a disponibilização de novas biomoléculas com ação anti-viral.

Nos últimos anos houve avanços na química orgânica sintética principalmente depois do aparecimento da AIDS e da falta de métodos eficientes para evitar as doenças causadas por vírus. Assim, apesar dos avanços conseguidos com produtos sintéticos, as florestas tropicais brasileiras ainda permanecem como parte integrante da terapêutica moderna, devido ser a principal fonte para o desenvolvimento de substâncias bioativas (Simoni, 2003). Existe um vasto potencial neste campo de pesquisa no Brasil visando o aproveitamento de plantas com valor curativo e que há muito tempo são utilizados pela farmacopeia popular como medicamentos antibacterianos, antifúngicos, anti-inflamatórios, antitumorais e que agora podem ser utilizados como antivirais (Pinto *et al.*, 2002).

Substâncias bioativas com propriedades antivirais têm sido identificadas e seus mecanismos de ação elucidados. Alcaloides, proteínas, saponinas, flavonóides encontrados em extratos de plantas mostraram potencial antiviral. Os taninos hidrolisáveis, atraíram atenção significativa de Khalifa *et al.*, (2020), que investigaram 10 taninos hidrolisáveis estruturalmente diferentes como anti-COVID-19 natural através da ligação com a principal protease de 2019-nCoV usando modelagem de encaixe molecular via software Molecular Operating Environment (MOE v2009).

A espécie *Eugenia pyriformis* Cambess é uma espécie nativa, pertencente à família Myrtaceae, comum nos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, conhecida pelo nome popular de uvaia, uvalha ou uvalha-do-campo (ARMSTRONG *et al.*, 2012). As folhas deste gênero exibem atividades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias, analgésicas, antipiréticas, espasmolíticas, sendo usadas na medicina popular

como chás, decocção e infusão dos frutos, cascas e folhas, no tratamento de infecções ocasionadas por vírus, fungos ou bactérias, doenças cardíacas, redução dos níveis de colesterol e triglicerídeos e distúrbios gastrointestinais (RAMIREZ et al., 2012; QUEIROZ et al., 2015)

Destaca-se no grupo de frutas nativas benéficas para saúde, pois possuem compostos com capacidade de combater e prevenir doenças crônicas, propriedades atribuídas aos antioxidantes presentes (SALVADOR *et al.*, 2011). Há na literatura pesquisas de atividade antioxidantes dos seus frutos (STIEVEN *et al.*, 2009 ; SALVADOR, et al.,2011).As folhas deste gênero exibem atividades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias, analgésicas, antipiréticas, espasmolíticas, sendo usadas na medicina popular como chás, decocção e infusão dos frutos, cascas e folhas, no tratamento de infecções ocasionadas por vírus, fungos ou bactérias, doenças cardíacas, redução dos níveis de colesterol e triglicerídeos e distúrbios gastrointestinais (RAMIREZ et al., 2012; QUEIROZ et al., 2015)

Nosso grupo de pesquisa identificou nas folhas de *Eugenia pyriformis* os ácidos fenólicos: ácido gálico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico; e os flavonoides: miricetina, quercetina e kaempferol. Acreditamos que existem grandes possibilidades destes compostos atuarem como antivirais, pela presença de hidroxilas nestas moléculas que fazem pontes de hidrogênio com a proteína do vírus.

2-MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Obtenção do Material Vegetal

As folhas de *E. pyriformis* foram coletadas na cidade de Mangueirinha - PR, região sudoeste do estado do Paraná, Brasil, nas coordenadas Latitude: 25° 56' 28" S e Longitude: 52° 10' 32" W, altitude de 921 m, no período de 05/2017 a 07/2017. A amostra vegetal foi identificada e depositada no Herbário da Universidade Estadual de Maringá (UEM) sob o número 30.713. e registrada no Sistema Nacional de Gerenciamento do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o número de registro A3DD0FF.

2.2- Obtenção do extrato bruto das folhas de *Eugenia pyriformis*

As folhas frescas de *E.pyriformis* foram secas em esteira à temperatura ambiente. Após, foram pulverizadas em moinho de facas (modelo facas e martelos) até obter granulometria de 0,5 mm. O pó obtido foi submetido ao processo de maceração dinâmica com renovação do solvente utilizando álcool etílico 96% (v /v) até o esgotamento do material vegetal (SOUZA et al., 2013). Em seguida, o filtrado foi concentrado sob pressão reduzida em evaporador rotativo(modelo Tecnal TE-211) à 40 °C, até a obtenção do extrato bruto das folhas de *E. pyriformis* (EBEp).

2.3- Fracionamento do extrato bruto das folhas de *Eugenia pyriformis*

A técnica utilizada foi a cromatografia em coluna (CC).Seis gramas do EBEp do extrato bruto das folhas foram submetidos ao fracionamento em coluna cromatográfica, utilizando a sílica gel como fase estacionária e hexano, hexano–diclorometano (9:1; 8:2; 7:3 e 1:1), diclorometano–hexano (7:3; 8:2 e 9:1); diclorometano, diclorometano–acetato de etila (9:1; 8:2; 7:3 and 1:1); acetato de etila - diclorometano (7:3; 8:2 e 9:1); acetato de etila, acetato de etila -metanol (9:1; 8:2; 7:3 e 1:1); metanol: acetato de etila (7:3; 8:2 e 9:1) metanol.

2.4- Análise por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (CLAE-ESI/qTOF)

O extrato bruto e frações foram analisados por cromatografia líquida de ultra eficiência (CLAE)(Shimadzu, Nexera X2) acoplada com espectrômetro de massa de alta resolução (QTOF Impact II, Bruker Daltonics Corporation, USA) equipada com uma fonte de ionização

por eletropulverização. A tensão capilar foi operada no modo de ionização negativa, definida em 4500 V, e com um potencial de compensação da placa final de -500 V. Os parâmetros do gás seco foram ajustados para 8 L/min a 200 °C com uma pressão de gás de nebulização de 4 bar. A fragmentação, dissociação induzida por colisão (CID) foi realizada usando argônio (Ar) e energia de colisão de 15 a 30 eV. Os dados foram coletados de 50-1300 m/z com uma taxa de aquisição de 5 espectros por segundo, e os íons de interesse foram selecionados por fragmentação automática da varredura por tandem mass spectrometry (MS/MS). A separação cromatográfica foi realizada utilizando uma coluna C18 (75 × 2.0 mm i.d.; 1.6 µm Shim-pack XR-ODS III). A mistura gradiente de solventes A (H₂O) e B (acetonitrila) será a seguinte: 5% B 0-1 min, 30% B 1-4 min, 95% B 4-8 min, mantida a 95% de B 8-17 min, a 40 °C. A identificação desses compostos foi proposta em uma revisão do gênero *E.pyriformis* (PHILLIPSON; STEYN, 2008; FERNANDEZ *et al.*, 2017) além do valor do erro de massa e comparação com bancos de dados como MassBank (<http://www.massbank.jp/>) e Human Metabolome Database (<http://www.hmdb.ca/>).

3- RESULTADOS

Pela análise de CLAE-ESI/qTOF foram identificados seis compostos no EBE_p (Tabela 1), sendo três ácidos fenólicos, o íon m/z 169.0115 [M-H]⁻ o ácido gálico, íon m/z 163.0378 [M-H]⁻ o ácido *p*-cumárico e o íon m/z 193.0478 [M-H]⁻ o ácido ferúlico. Os flavonóides identificados no EBE_p foram o flavonol miricetina (Figura 1d) como o íon m/z 317.0291 [M-H]⁻, o flavonoide quercetina como o íon m/z 301.0342 [M-H]⁻ e o flavonol Kaempferol (Figura 1f) como o íon m/z 285.0393 [M-H]⁻.

Nas FR1, FR3 e FR4 foram identificados o ácido gálico e a quercetina, já na FR2 foram identificados os flavonoides miricetina, quercetina e Kaempferol e na FR5 foi identificado o ácido *p*-cumárico.

Tabela 1. Composição química do extrato bruto e frações das folhas de *Eugenia pyriformis*.

Composto	Fórmula molecular	Massa exata teórica m/z [M-H] ⁻	Massa exata experimental m/z [M-H] ⁻	Erro (ppm)	Tr	Amostra
Ácidos fenólicos						
Ácido gálico	C ₇ H ₆ O ₅	169.0131	169.0114	10.06	0.69	EB
			169.0115	9.47	1.09	FR1
			169.0116	8.88	0.76	FR3
			169.0116	8.88	0.72	FR4
			8.88			
Ácido p-cumárico	C ₉ H ₈ O ₃	163.0389	163.0376	7.97	1.40	FR5
			163.0378	6.75	1.47	FR1
Ácido ferúlico	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	193.0495	193.0478	8.81	1.54	FR1
Flavonoides						

Miricetina	$C_{15}H_{10}O_8$	317.0291	317.0253	11.99	1.53	FR2
Quercetina	$C_{15}H_{10}O_7$	301.0342	301.0305	12.29	1.71	EB
			301.0311	10.29	1.58	FR1
			301.0309	10.96		FR2
			301.0317	8.30	1.68	FR3
			301.0318	7.97	1.73	FR4
				1.72		
Kaempferol	$C_{15}H_{10}O_6$	285.0393	285.0365	9.82	1.65	FR1
			285.0366	9.47	1.68	FR2

Taninos

Hamamelitanino	$C_{20}H_{20}O_{14}$	483.0769	483.1786	210.52	1.48	FR4
			483.1800	213.40	1.47	FR3
1,2,6-Tri Galloyl Glucose	$C_{27}H_{24}O_{18}$	635.0878	635.0803	11.81	0.68	FR3
Pauciflora B	$C_{42}H_{32}O_9$	679.1962	679.1581	56.09	1.48	FR2
Pauciflora C	$C_{56}H_{42}O_{12}$	905.2592	905.1071	168.02	1.77	FR2
Castalagin	$C_{41}H_{26}O_{26}$	933.0628	933.2133	161.30	1.47	FR2
Prodelfinidina	$C_{30}H_{26}O_{14}$	609.1238	609.1162	12.48	1.57	FR1

Procianidina	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₃	593.1289	593.1210	13.32	1.71	FR1
Ácido elágico	C ₁₄ H ₆ O ₈	300.9978	300.9945	10.96	1.45	EB
Ácido digalacturônico	C ₁₂ H ₁₈ O ₁₃	369.0664	369.0773	29.53	1.98	EB

4-DISCUSSÃO

Foram identificados 15 compostos nas folhas de *Eugenia pyriformis*, dentre eles a quercetina e o Kaempferol, os quais, segundo a literatura, são compostos que possuem atividade antiviral. A quercetina e o Kaempferol são compostos encontrados nas folhas de uvaia. Estudos químicos com espécies de *Eugenia* revelaram a presença de flavonoides, taninos e ácidos fenólicos, estudos farmacológicos realizados com extratos brutos e compostos, comprovaram as atividades antiinflamatória, analgésica, antifúngica, antiviral antipirética, hipotensiva, antidiabética e antioxidante (OLIVEIRA *et al.*, 2006) Nas plantas, a quercetina é produzida a partir da via dos fenilpropanóides e, em última análise, é derivada da fenilalanina. É convertido em 4-coumaroil-CoA, via lisado de amônia fenilalanina, em cinamato-4-hidroxilase e 4-coumaroil-CoA-ligase. Este é combinado com malonil-CoA em uma proporção de 1: 3 por 7,2'-dihidroxi-4'metoxiisoflavona sintase para formar tetrahidroicalcona. Este, por sua vez, é convertido em naringenina e eriodictiol por meio do flavonóide 3'-hidroxilase. Finalmente, o eriodictiol é hidroxilado e convertido em quercetina usando flavonol sintase(WINKEL-SHIRLEY 2001).A quercetina também tem atividade

antiviral relacionada a capacidade desse composto ligar se a glicoproteína do envelope ou capsídeo viral interferindo na ligação e penetração do vírus na célula, além da síntese de DNA, também é identificada a interferência dos flavonoides na inibição de proteases celulares dificultando a formação de vírus maduro (FORMICA & REGELSON 1995).

Li et al (2004) investigaram a ação antiviral de ácidos fenólicos e flavonóides. Estes autores sugeriram que a presença de hidroxilas nestas moléculas fazem ligações ponte de hidrogênio com a proteína viral. Estes autores verificaram que estes compostos fenólicos foram capazes de bloquear a entrada do SARS-CoV-2 em células Vero E6 em uma concentração semi-efetiva (EC50) de 83,4 μM , e com baixa citotoxicidade (EC50 3,32 mM), indicando ser promessa no tratamento clínico do SARS. Estudo realizado por Gu et al. (2021). Demonstra que a quercetina é um flavonóide naturalmente abundante que se distribui amplamente em vários medicamentos fitoterápicos, tendo sido previsto como uma das drogas antivirais potenciais que podem interromper a infecção por coronavírus por meio de múltiplas vias de sinalização.

Kaempferol é um flavonol amarelo amplamente encontrado em várias frutas e vegetais da dieta humana na forma glicosilada ou aglicona que demonstrou atividade antioxidante, antiinflamatório e atividades antivirais (CALDERON-MONTANO *et al.*, 2011). Usando xenopus oócito, 3^a proteína de SARS-CoV foi expressa para avaliar o efeito inibitório do kaempferol e seus derivados. Apesar da inibição significativa de kaempferol em 3^a proteína, kaempferol glicosídeos com melhor solubilidade exibiu inibição mais forte. A eficácia de todos os compostos foi medida por Ba²⁺- corrente sensível. Juglanin, um glicosídeo de kaempferol com moiety arabinose, potencialmente inibido 3^a proteína atividade com valor de 2,3 μM de IC50 (SCHWARZ *et al.*, 2014).

5-CONCLUSÃO

Quinze compostos foram identificados por CLAE-ESI/qTOF no extrato bruto e frações das folhas de *Eugenia pyriformis* e destes dois possivelmente podem apresentar atividade antiviral sobre o SARS-CoV: Quercetina e o kaempferol. Os resultados deste estudo indicam que provavelmente estes compostos possam vir a ser favoráveis para a prevenção e tratamento do coronavírus, indicando que as folhas de *Eugenia pyriformis* podem ser incluídas como plantas com potencial antiviral.

6-REFERÊNCIAS

ARMSTRONG, L.; DUARTE, M R.MIGUEL, Obdulio Gomes. Morpho-anatomy of the leaf and stem of *Eugenia pyriformis*. **Rev. Bras. Farmacogn** v. 22, n. 3, p. 475-481, 2012.

CALDERON-MONTANO M J., BURGOS-MORÓN E, PÉREZ-GUERRERO C, LÓPEZ-LÁZARO M. 2011. A review on the dietary flavonoid kaempferol. **Mini Rev Med Chem** 11: 298 - 344. <https://doi.org/10.2174/138955711795305335>.

CHAVASCO, J. K.; DIAS, A.L.T.Evaluation from suthern Minas Gerais Cerrado. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**[online], v. 56, n.1, p. 13-20, 2014

FORMICA, JV; REGELSON, W. Revisão da biologia da quercetina e bioflavonóides relacionados. **Food and Chemical toxicology**, v. 33, n. 12, p. 1061-1080, 1995.

KHALIFA, I; et al. Efeitos anti-COVID-19 de dez taninos hidrolisáveis estruturalmente diferentes através da ligação com os sítios catalíticos-fechados da principal protease COVID-19: uma abordagem in-silico. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Coronavírus disease (COVID-19) pandemic: WHO; 2020 [acesso em 08 de novembro de 2021]. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>

OLIVEIRA, A. M; et al. Estudo fitoquímico e avaliação das atividades moluscicida e larvicida dos extratos da casca do caule e folha de *Eugenia malaccensis* L.(Myrtaceae). **Rev. Bras. Farmacogn.** v. 16, p. 618-624, 2006.

PINTO, Angelo C. et al. Situação atual, desafios e tendências em produtos naturais no Brasil. **Quím. Nova** , v. 25, p. 45-61, 2002.

SALVADOR, M. J. et al. Antioxidant capacity and phenolic content of four Myrtaceae plants of the south of Brazil. **Nat. Prod. Commun.**, v. 6, n. 7, 2011.

SIMONI, I.C. **Tratamentos Antivirais. Biológico.** v. 65, n.1/2, p.41-44, 2003.

SOUZA, A.M.Avaliação do potencial antimicrobiano de *Eugenia pyriformis* Cambess., Myrtaceae e estudo da associação sinérgica com agentes antibacterianos e antifúngicos de uso clínico. 2013

STIEVEN, A. C; MOREIRA, J. J. S.; SILVA, C. F. Óleos essenciais de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess): avaliação das atividades microbiana e antioxidante. **Eclética Química**, v. 34, n. 3, p. 7-16, 2009.

SCHWARZ, S; et al. Derivados de Kaempferol como drogas antivirais contra a proteína do canal 3a do coronavírus. **Planta medica** , v. 80, n. 02/03, pág. 177-182, 2014.

WINKELS, B. Flavonoid Biosynthesis. Um modelo colorido para genética, bioquímica, biologia celular e biotecnologia. **Plant Physiol** . (2001) 126: 485. doi: 10.1104 / pp.126.2.485

7. ANEXOS

7.1. Normas de publicação

ARQUIVOS DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIPAR

ÓRGÃO DE DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE PARANAENSE

INSTRUÇÕES PARA AUTORES

Submissão

A revista Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR publica trabalhos inéditos nas áreas das Ciências Biomédicas e da Saúde.

Os artigos podem ser redigidos em português, em inglês ou em espanhol e não devem ter sido submetidos a outros periódicos. Os trabalhos devem ser enviados por meio do Sistema Eletrônico de Editoração de Revistas - SEER (<http://revistas.unipar.br/saude>), por e-mail (arqsaude@unipar.br) ou remetidas pelo correio, sendo três cópias impressas e uma em disquete ou CD para Arquivos de Ciências da Saúde da Unipar, Universidade Paranaense.

Praça Mascarenhas de Moraes, 4282. 87502-210, Umuarama - PR. Deve ser encaminhada, junto ao trabalho, uma carta de submissão assinada por todos os autores, segundo a ordem de apresentação.

Os originais serão submetidos ao Conselho Editorial e ao Conselho de Consultores que se reserva o direito de avaliar, sugerir modificações para aprimorar o conteúdo do artigo, adotar alterações para aperfeiçoar a estrutura, clareza e redação do texto e recusar artigos. Todas as informações apresentadas pelos autores são de sua exclusiva responsabilidade.

Apresentação dos originais

Os artigos devem ser digitados, utilizando-se o programa MS-Winword 7.0, com fonte TNR 12, espaço 1,5, em folha tamanho A4, com margens de 2 cm, indicando número de página no rodapé direito. Os originais não devem exceder 25 páginas, incluindo texto, ilustrações e referências.

A primeira página deve conter o título do trabalho, nome completo do(s) autor(es), identificação profissional, endereço para correspondência, telefone e e-mail.

Na segunda página deve constar o título completo do trabalho, o resumo e as palavras-chave, em português e em inglês, omitindo-se o(s) nome(s) do(s) autor(es).

As figuras, quadros e/ou tabelas devem ser numerados seqüencialmente, apresentados no corpo do trabalho e com título apropriado. Nas figuras o título deve aparecer abaixo das mesmas e, nos quadros ou tabelas, acima. Todas as figuras devem apresentar resolução mínima de 300 dpi, com

extensão .jpg. Figuras coloridas serão custeadas pelo autor.

Todas as informações contidas nos manuscritos são de inteira responsabilidade de seus autores. Todo trabalho que utilize de investigação humana e/ou pesquisa animal deve indicar a seção MATERIAL E MÉTODO, sua expressa concordância com os padrões éticos, acompanhado da cópia do certificado de aprovação de Comissão de Ética em Pesquisa registrada pela CONEP, de acordo com o recomendado pela Declaração de Helsink de 1975, revisada em 2000 e com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde do Brasil. Estudos envolvendo animais devem explicitar o acordo com os princípios éticos internacionais (International guiding principles for biomedical research involving animals), bem como o cumprimento das instruções oficiais brasileiras que regulamentam pesquisas com animais (Leis 6.638/79, 9.605/98, Decreto 24.665/34) e os princípios éticos do COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal).

Artigo original (originado de trabalho experimental ou pesquisa de campo) deve conter:

1. Título; 2. Título resumido com no máximo 50 caracteres; 3. Resumo com no máximo 250 palavras e Palavras-chave; 4. Introdução; 5. Material

e Método; 6. Resultados (este item pode conter, além de texto, tabelas, quadros e figuras); 7. Discussão; 8. Conclusão; 9. Referências.

Artigo de revisão (levantamento bibliográfico com análise crítica sobre um assunto específico) deve conter:

1. Título; 2. Título resumido com no máximo 50 caracteres; 3. Resumo com no máximo 250 palavras e Palavras-chave; 4. Introdução;

5. Desenvolvimento; 6. Considerações Finais; 7. Referências.

Relato de caso (apresentação dos fatos de uma observação com metodologia científica) deve conter:

1. Título; 2. Título resumido com no máximo 50 caracteres; 3. Resumo com no máximo 250 palavras e Palavras-chave; 4. Introdução; 5. Relato

de Caso; 6. Discussão; 7. Conclusão; 8. Referências.

Notas (atividade ou opinião apresentada sem definição de conclusão) deve conter:

1. Título; 2. Título resumido com no máximo 50 caracteres; 3. Resumo com no máximo 250 palavras e Palavras-chave; 4. Introdução; 5. Comentários; 6. Referências.

Citações:

Todas as citações presentes no texto devem fazer parte das referências e seguir o sistema autor-data (NBR 10520, ago. 2002). Nas citações onde o sobrenome do autor estiver fora de parênteses, escrever-se-á com a primeira letra maiúscula e o restante minúscula e, quando dentro de parênteses, todas maiúsculas, da forma que segue:

1. Citação direta com até três linhas - o texto deve estar entre aspas. Ex.: Segundo Uchimura et al. (2004, p. 65) "o risco de morrer por câncer de cérvix uterina está aumentado a partir dos 40 anos".

2. Citação direta com mais de 3 linhas - deve ser feito recuo de 4 cm, letra menor que o texto, sem aspas. Ex.:

O comércio de plantas medicinais e produtos fitoterápicos encontra-se em expansão em todo o mundo, em razão de diversos fatores, como o alto custo dos medicamentos industrializados e a crescente aceitação da população em relação a produtos naturais. [...] grande parte da população faz uso de plantas medicinais, independentemente do nível de escolaridade ou padrão econômico. (MARTINAZO; MARTINS, 2004, p. 5)

3. Citação indireta - o nome do autor é seguido pelo ano entre parênteses. Ex.: Para Lianza (2001), os DORT frequentemente são causas de incapacidade laborativa temporária ou permanente.

4. Citação de citação - utiliza-se a expressão apud, e a obra original a que o autor consultado está se referindo deve vir em nota de rodapé. Ex.: O envelhecimento é uma realidade que movimenta diversos setores sociais (GURALNIK et al. apud IDE et al., 2005)

5. Citação com até três autores deve aparecer com ponto e vírgula entre os autores, exemplo: (SILVA; CAMARGO)

6. A citação com mais de três autores deve aparecer o nome do primeiro autor seguido da expressão et al.

REFERÊNCIAS

As REFERÊNCIAS devem ser apresentadas em ordem alfabética de sobrenome e todos os autores incluídos no texto deverão ser listados. As referências devem ser efetuadas conforme os exemplos abaixo, baseados na NBR 6023, ago. 2002. Para trabalhos com até três autores, citar o nome de todos; acima de três, citar o primeiro seguido da expressão et al.

Artigos de periódico

MORAIS, I. J.; ROSA, M. T. S.; RINALDI, W. O treinamento de força e sua eficiência como meio de prevenção da osteoporose. **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, v. 9, n. 2, p. 129-134, 2005.
OBICI, A. C. et al. Degree of conversion and Knoop hardness of Z250 composite using different photo-activation methods. **Polymer Testing**, v. 24, n. 7, p. 814-818, 2005.

Livros - Autor de todo o livro

BONFIGLIO, T. A.; EROZAN, Y. S. **Gynecologic cytopathology**. New York: Lippincott Raven, 1997. 550 p.
SILVA, P. **Farmacologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 1314 p.

Livro - Autor de capítulo dentro de seu próprio livro

SILVA, P. Modelos farmacocinéticos. In: _____. **Farmacologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p. 16-17.

Livro - Autor de capítulo dentro de um livro editado por outro autor principal

CIPOLLA NETO, J.; CAMPA, A. Ritmos biológicos. In: AIRES, M. M. **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p. 17-19.

Teses, dissertações e monografias

OBICI, A. C. **Avaliação de propriedades físicas e mecânicas de compósitos restauradores odontológicos fotoativados por diferentes métodos**. 2003. 106 f. Tese (Doutorado em Materiais Dentários) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade de Campinas, Piracicaba, 2003.
SANT'ANA, D. M. G. **Estudo morfológico e quantitativo do plexo mioentérico do colo ascendente de ratos adultos normoalimentados e submetidos à desnutrição protéica**. 1996. 30 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular) - Centro de Ciências Biológicas - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 1996.
DANTAS, I. S. **Levantamento da prevalência do tabagismo entre alunos do 2o grau noturno da Escola Estadual Manoel Romão Neto do Município de Porto Rico - PR**. 1997. 28 f. Monografia (Especialização em Biologia) - Universidade Paranaense, Umuarama, 1997.

Evento como um todo (em anais, periódico e meio eletrônico)

ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E FÓRUM DE PESQUISA, 4., 2005, Umuarama. **Anais...** Umuarama: UNIPAR, 2005, 430 p.
REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA ODONTOLÓGICA, 20., 2003, Águas de Lindóia. **Pesquisa Odontológica Brasileira**. v. 17, 2003, 286 p. Suplemento 2.
CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPE, 4., 1996, Recife. **Anais eletrônicos...** Recife: UFPE, 1996. Disponível em: <<http://www.propesq.ufpe.br/anais/anais.htm>>. Acesso em: 21 jan. 1997.

Resumo de trabalho apresentado em evento

VISCONSINI, N. J. C. et al. Grau de translucidez de resinas compostas micro-híbridas fotopolimerizáveis: estudo piloto. In: JORNADA ODONTOLÓGICA DA UNIPAR, 10., 2005, Umuarama. **Anais...** Umuarama: UNIPAR, p. 8-11, 2005. CD-ROM.
OBICI, A. C. et al. Avaliação do grau de conversão do compósito Z250 utilizando duas técnicas de leitura e vários métodos de fotoativação. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA ODONTOLÓGICA, 20., 2003, Águas de Lindóia. **Pesquisa Odontológica Brasileira**. v. 17, p. 235, 2003. Suplemento 2.

Periódico on-line

KNORST, M. M.; DIENSTMANN, R.; FAGUNDES, L. P. Retardo no diagnóstico e no tratamento cirúrgico do câncer de pulmão. **J. Pneumologia**, v. 29, n. 6, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/>>. Acesso em: 10 jun. 2004.

Entidade Coletiva

BRASIL. Ministério da Saúde, Instituto do Câncer, Coordenação de Controle de Câncer (Pro-Onco), Divisão da Educação. **Manual de orientação para o "Dia Mundial sem Tabaco"**. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Câncer. 1994. 19 p.

Documentos de acesso exclusivo em meio eletrônico

JORGE, S. G. **Hepatite B**. 2005. Disponível em: <http://www.hepcentro.com.br/hepatite_b.htm>. Acesso em: 15 fev. 2006.
BRASIL. Ministério da Saúde. Datasus: informações de saúde. Disponível em: <www.datasus.gov.br/tabnet/tabnet.htm>. Acesso em: 10 fev. 2006.

Documentos jurídicos

BRASIL. Lei nº 10216, de 6 de abril de 2001. Estabelece a reestruturação da assistência psiquiátrica brasileira. **Diário oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 abr. 2001.