

CAPÍTULO 47

ESTUDO *in silico* DO PERFIL FARMACOLÓGICO E TOXICIDADE DE FLAVONOIDES ISOLADOS DE *Phyllanthus*

niruri L. *In silico*

STUDY OF THE PHARMACOLOGICAL PROFILE AND TOXICITY OF FLAVONOIDS ISOLATED FROM Phyllanthus

niruri L.



Rayana Franciele Lopes Paz¹
Wálíce Rans da Silva Padilha²
Bruna Machado Gomes³
Déborah Alexiely Corrêa Costa⁴
Gabriela Bouças Dias Machado de Pinho⁵
Dandara Carneiro Almeida⁶
Paulo Riquelmy da Silva Pereira⁷
Gleison Gonçalves Ferreira⁸
Maria Fâni Dolabela⁹

¹ Graduanda em farmácia. Universidade Federal do Pará– UFPA. Orcid ID: <https://orcid.org/0009-0009-6465-7371>. E-mail: rayanaapaz@gmail.com.

² Graduado em farmácia. Universidade Federal do Pará– UFPA. Orcid ID: <https://orcid.org/0009-0001-3887-0541>.

³ Graduanda em farmácia. Universidade Federal do Pará– UFPA. Orcid ID: <https://orcid.org/0009-0001-4414-8272>.

⁴ Graduanda em farmácia. Universidade Federal do Pará– UFPA. Orcid ID: <https://orcid.org/0009-0006-1718-5904>.

⁵ Graduanda em farmácia. Universidade Federal do Pará– UFPA. Orcid ID: <https://orcid.org/0009-0004-6882-9074>.

⁶ Graduanda em farmácia. Universidade Federal do Pará– UFPA. Orcid ID: <https://orcid.org/0009-0002-9221-4622>.

⁷ Graduando em farmácia. Universidade Federal do Pará– UFPA. Orcid ID: <https://orcid.org/0009-0003-6529-7976>.

⁸ Mestrando em Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Pará– UFPA. Orcid ID: <https://orcid.org/0000-0002-3682-7945>.

⁹ Professora do Instituto de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Pará– UFPA. Orcid ID: <https://orcid.org/0000-0003-0804-5804>.

RESUMO

As atividades medicinais de *Phyllanthus niruri* são atribuídas aos flavonoides. Neste trabalho avaliou aspectos farmacológicos e toxicidade de flavonoides isolados de *P. niruri*. Para as predições utilizou-se ADMETlab, PreADME, SwissADME e pkCSM, sendo selecionados as seguintes moléculas: Quercetina (A), Isoquercitrina (B), Rutina (C), Galocatequina (D) e Epicatequina (E). Os compostos B, C e D apresentaram violações à regra de Lipinski. Todas as moléculas apresentaram alta absorção cutânea, baixas absorção trato gastrointestinal, ligação à proteína plasmática, permeabilidade celular e barreira hematoencefálica foram baixas. Somente A apresentou alta absorção intestinal humana, porém, todas possuem tempo de meia-vida curto e são rapidamente excretadas. Exceto B, todas inibiram CYP e apenas E é metabolizada pela enzima. Todos os compostos apresentaram toxicidade em, pelo menos, 4 modelos, sendo que a B não apresentou potencial citotóxico, genotóxico, mutagênico e carcinogênico. Predição da toxicidade em modelo *in vivo* sugere que a molécula com menor potencial tóxico é a A. Todas as moléculas possuem potencial anticarcinogênico, sendo que as moléculas A, B, C e D apresentaram potenciais quimiopreventivos e antineoplásicos, sendo a apoptose o possível mecanismo envolvido nesta atividade. As moléculas D e E foram promissoras para o tratamento de doenças cardiovasculares. A molécula A é promissora como antitumoral, enquanto E apresentou potencial antioxidante e vasoprotetor. A molécula com maior diversidade de

atividades é a D, tendo potências antitumoral, antifúngica, leishmanicida, antioxidante e agente inotrópico positivo. Em síntese, a escolha da molécula deve se basear no objetivo terapêutico.

Palavras-chave: Simulação in silico; Bioflavonoides; Efeitos tóxicos; Plantas medicinais; Modelos computadorizados.

ABSTRACT

The medicinal activities of *Phyllanthus niruri* are attributed to flavonoids. In this work, pharmacological aspects and toxicity of flavonoids isolated from *P. niruri* were evaluated. For the predictions, ADMETlab, PreADME, SwissADME and pkCSM were used, and the following molecules were selected: Quercetin (A), Isoquercitrin (B), Rutin (C), Gallocatechin (D) and Epicatechin (E). Compounds B, C and D showed violations of Lipinski's rule. All molecules showed high skin absorption, low gastrointestinal tract absorption, plasma protein binding, cell permeability and blood-brain barrier were low. Only A showed high human intestinal absorption, however, all have a short half-life and are quickly excreted. Except B, all inhibited CYP and only E is metabolized by the enzyme. All compounds showed toxicity in at least 4 models, with B showing no cytotoxic, genotoxic, mutagenic or carcinogenic potential. Prediction of toxicity in an in vivo model suggests that the molecule with the lowest toxic potential is A. All molecules have anticarcinogenic potential, with molecules A, B, C and D showing chemopreventive and antineoplastic potential, with apoptosis being the possible mechanism involved in this activity. The molecules D and E were promising for the treatment of cardiovascular diseases. Molecule A is promising as an antitumor, while E showed antioxidant and vasoprotective potential. The molecule with the greatest diversity of activities is D, having antitumor, antifungal, leishmanicidal, antioxidant and positive inotropic agent potential. In summary, the choice of molecule must be based on the therapeutic objective.

Keywords: In silico simulation; Bioflavonoids; Toxic effects; Medicinal plants; Computerized models.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Phyllanthus* (família Euphorbiaceae), compreende mais de 600 espécies, nativas predominantemente em regiões tropicais, como Brasil e Bahamas. As espécies de *Phyllanthus* encontradas no Brasil são: *P. accuminatus*, *P. amarus*, *P. pulcher*, *P. niruroides*, *P. anisolobus*, *P. orbiculatus*, *P. emblica*, *P. oxyphyllus*, *P. flexuosus*, *P. raticulatus*, *P. fraternes*, *P. simplex*, *P. mullernus*, *P. urinaria*, *P. mytrifolis*, *P. virgatus* e *P. niruri* (Miguel, 1999). Sendo a espécie *P. niruri* distribuída em diversos estados como da região norte (Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins), nordeste (Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte), Centro-Oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso) e Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, São Paulo) (Calixto, *et al.*, 1998). Em termos botânicos, é uma espécie herbácea, crescendo, principalmente, nos períodos de chuva em qualquer tipo de solo, inclusive é frequente sua presença em terrenos baldios, calçadas e jardins podendo atingir pequenas alturas que variam de 10 a 50 cm, fornecendo conjuntos de folhas compostas de pequenas leguminosas (Brasil, 2010).

As folhas, caules e raízes de *P. niruri* são utilizadas na medicina tradicional e popular para o tratamento de hepatite e diabetes, em infecções urinárias e da bexiga e para tratar distúrbios renais, especialmente para eliminação de pedras nos rins (Wang *et al.*, 1995). Esta espécie é conhecida popularmente como “quebra-pedra”, “erva-pombinha” ou “arrebenta-pedra” (Brasil, 2010). Estudos químicos da espécie revelam a presença de lignanas, taninos hidrolisáveis, cumarinas, terpenos (monoterpenos e triterpenos), flavonoides (compostos fenólicos) e alcaloides do tipo da securinina, que foram encontrados nas folhas, caules e raízes desta planta (Calixto *et al.*, 1998). Foram isolados compostos fenólicos das raízes como ácido gálico, (-)-epicatequina, (+)-galocatequina, (-)-epigalocatequina, (-)-epigalocatequina-3-O-galate. Das folhas e caule taninos hidrolisáveis como geranina, corilagina e galoilglicose, além da presença de princípios amargos, ácido ricinoléico e os extratos aquosos mostraram efeito hipoglicemiante apresenta ação antibacteriana (*Staphylococcus spp.*), antiespasmódica e anticancerígena (Sousa *et al.*, 1991).

Dentre as moléculas selecionadas para o presente estudo, destaca-se a rutina, um glicosídeo flavonol, importante porque fortalece capilares e, portanto, é capaz de ajudar pessoas que sofrem de arteriosclerose ou pressão alta (Becker *et al.*, 1985). Já a Quercetina é importante devido ser um composto bioativo possui ação antiagregante, anticâncer, antifúngico (especialmente antidermatofítico), anti-glaucômica, anti-inflamatória, antioxidante, anti-atividade séptica e antiespasmódica (Saija *et al.*, 2003). A Galocatequina foi isolada de culturas de tecidos de *P. niruri*, onde estudos relataram que essa molécula suprimiu o crescimento do cólon humano e células cancerígenas epiteliais hepáticas e apoptose causada (Uesato *et al.*, 2001).

Catequina, epicatequina e epigalocatequina são os flavonoides mais comuns e geralmente são chamados genericamente de catequinas (García, 2007). No entanto, atualmente têm despertado grande interesse devido às suas propriedades antioxidantes e os seus benefícios para a saúde humana, como o tratamento e prevenção do câncer e doenças cardiovasculares (García, 2007). Além disso, apresentam efeito na fluidez da membrana, efeito anti-inflamatório e anti-histamínico, efeito cardioprotetor, efeito antiviral, antioactérico e antitúngico, efeito no trato gastrointestinal e efeito antimutagênico (García, 2007). Sabe-se ainda que os flavonoides apresentam propriedades anti-inflamatórias, antibacterianas, antivirais, antialérgicas e antitumorais, além de possuírem propriedades antioxidantes sobre radicais livres de forma a inativá-los e a prevenir os danos oxidativos em nível celular (Becker *et al.*, 1985).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. PROGRAMAS UTILIZADOS PARA AS PREDIÇÕES

O programa *MarvinSketch* (versão 2017.5.) foi adotado para obter os modelos estruturais 2D, salvos em arquivos *Smile*, PDB e Molfile. A avaliação das propriedades físico-químicas foi realizada por meio do servidor online *pkCSM* (<http://structure.bioc.cam.ac.uk/pkcsml>). Servidores online como ADMETlab, *pkCSM*, PreADME e SwissADME foram utilizados para avaliar os parâmetros farmacocinéticos. O software *PASS online* (*Prediction of Activity Spectra for Substances*; Way2Drug.com © 2011 – 2023 Ver. 2.0) foi utilizado para prever as possíveis atividades biológicas, toxicidade e reações adversas das estruturas.

2.2. SELEÇÃO DAS MOLÉCULAS

Para a seleção das moléculas foram considerados os potenciais farmacológicos destas. Sendo selecionadas as seguintes moléculas: (A) Quercetina, (B) Isoquercetina, (C) Rutina, (D) Galocatequina e (E) Epicatequina.

2.3. PREDIÇÕES

A regra de Lipinski ou Regra dos 5 (RO5) foi adotada para garantir absorção ou permeabilidade adequada é preciso que a massa molecular (MM) seja igual ou inferior ($\leq$) a 500 kDa, o coeficiente de partição (Log P) seja ≤ 5 , o número de Aceitadores de Ligação de Hidrogênio (nALH) seja ≤ 10 , e o número de Doadores de Ligação de Hidrogênio (nDLH) seja ≤ 5 , sendo o comprimento desses parâmetros essencial para que a molécula seja bem absorvida pelas barreiras fisiológicas (Lipinski, 1997). Outro parâmetro avaliado foi a solubilidade das substâncias em meio aquoso, quando menor que 10 $\mu\text{g/mL}$, são classificados como baixas, entre 10 e 60 $\mu\text{g/mL}$, solubilidade moderada; e quando maior que 60 $\mu\text{g/mL}$, alta solubilidade (Lipinski, 2000). Na predição da farmacocinética, foram utilizados os seguintes critérios: permeabilidade em Caco2 (Human Colon Adenocarcinoma Cells) e MDCK (Madin Darby Canine Kidney) (Alta >70 nm/sec, média 4-70 nm/sec e baixa 0,1); Absorção intestinal humana (baixa - 0-20%; média 20-70%, e elevada $>70\%$) (Yee, 1997); se atravessa a barreira hematoencefálica (livremente $>2,0$, moderada 2,0-0,1 e reduzida ou não atravessa $<0,1$)

e se há ligação à proteínas plasmáticas (ligado fortemente >90% e moderada a fraca <90%) (Ajay, Bermis & Murkco, 1999). Para a predição de metabolismo, foram utilizados os seguintes critérios: se os compostos sofrem ou não metabolismo de fase 1.

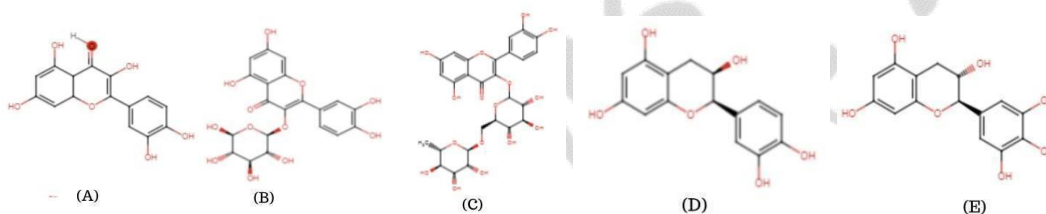
Na predição da toxicidade marinha em modelos de algas, crustáceos *Daphnia sp.* e peixes *Medaka*. Para algas, valor <1mg/L aponta toxicidade, quando >1mg/L, considera-se atóxico (Costa *et al.*, 2008). Quando ocorre a morte de peixes *Medaka* em concentrações de ≤100mg/L o metabolito é tóxico; e não tóxico quando >100mg/L (Zucker; Johnson, 1985). Em *Daphnia magna*, tóxico quando < 0,22 µg/mL e não tóxico quando > 0,22 µg/mL (Guilhermino, 2000). Também foi avaliada a carcinogenicidade em ratos e camundongos; mutagenicidade pelo teste AMES com cepas de *Salmonella typhimurium* (TA100 e TA1535).

Para a predição das atividades biológicas considerou-se a Probabilidade para atividade (Pa). A análise foi realizada levando em consideração Pa>7 (Laguinin *et al.*, 2011). O Super-PRED foi adotado após análise dos resultados de físico-química, farmacocinética, toxicidade e atividade biológica para prever a classificação de medicamentos (ATC) que a substância promissora pode estar inserida, além dos possíveis alvos moleculares envolvidos, a fim de nortear para futuros estudos de docking molecular ou estudos in vivo/ vitro.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da busca na literatura, foram selecionadas cinco estruturas para o presente estudo, especificamente, flavonoides isolados, dentre os quais estão: (A) quercetina, (B) isoquercitrina, (C) rutina, (D) galocatequina e (E) epicatequina (Figura 1).

Figura 1- Desenho estrutural de flavonoides isolados de *Phyllanthus niruri* L.



Legenda: A- quercetina; B- isoquercitrina; C- rutina; D- galocatequina; E- epicatequina.

Em relação ao estudo físico-químico (Tabela 1), foi observado que todas as moléculas parecem apresentar um bom perfil de solubilidade em água, todavia as moléculas B, C e D apresentam violações na regra de *Lipinski*, especificamente, em relação à massa molecular (MM), aos números de aceptores de hidrogênio (nALH) e aos número de doadores de hidrogênio (nDLH), uma vez que o peso molecular elevado pode ser prejudicial em fármacos proteicos injetados por via parenteral, pois o movimento através de membranas capilares é tão lento que a maior parte da absorção acontece pelo sistema linfático. Nesses casos, a liberação do fármaco para a circulação sistêmica é lenta e, com frequência, incompleta, em razão do metabolismo de primeira passagem pelas enzimas proteolíticas no sistema linfático (Whalen, 2016). Em relação ao caráter elevado, de aceptores/ doador de hidrogênio presente nas estruturas química das moléculas, consiste em um fator crucial na atividade de fármacos e xenobióticos, haja vista que muitas interações fármaco - alvo molecular envolvem ligação de hidrogênio e a solubilidade e a partição aquosas são controladas em grande parte por ela (Ghafourian e Dearden, 2004). Assim, o número de aceptores /doadores de ligação de ligação de estão relacionados diretamente à polaridade e à permeabilidade celular de moléculas, logo é relativamente desfavorável para uma substância fazer muitas ligações de hidrogênio, pois isso afetaria inversamente o grau de permeabilidade e também a absorção (Waterbeemd e Gifford, 2003).

Além disso, pode-se observar na Tabela 1 que todas as moléculas (A-E) parecem não violar o coeficiente de partição octanol/água ou lipofilicidade (LogP), mantendo-o entre 0 e 2, significando um bom balanço hidrofílico-lipofílico, visto que as propriedades moleculares, tais como, hidrofobicidade e hidroflicidade estão envolvidas na absorção e biodisponibilidade dos fármacos assim como, nas interações hidrofóbicas fármaco-receptor, sendo, portanto, um descritor muito importante no processo de metabolização dos fármacos lipofílicos, os quais CYP3A4 tem predileção (Wang *et al.*, 2001). No entanto, provavelmente, o número de Aceptores e Doadores de Hidrogênio poderá influenciar no processo de absorção no trato gastrointestinal moderada, devido às interações entre as CYPs. (Rodrigues *et al.*, 2021).

Tabela 1- Predições físico-químicas de flavonoides isolados de *Phyllanthus niruni* L.

MM (g/mol)	LogP	nALH	nDLH	Solubilidade (µg/mL)	TPSA	RO 5
------------	------	------	------	-------------------------	------	---------

A	320,23	1,98	7	5	Alta	122,10	0
B	464,37	-0,53	12	8	Alta	183,90	2
C	612,49	-2,75	17	11	Alta	239,33	4
D	306,27	1,25	7	6	Alta	124,45	1
E	290,27	1,54	6	5	Alta	110,38	0

Legenda: A- quercetina; B- isoquercitrina; C- rutina; D- galocatequina; E- epicatequina. Massa Molecular (MM) <500kDa; Log P ≤5; número de Aceitadores de Ligação de Hidrogênio (nALH)<10; número de Doadores de Ligação de Hidrogênio (nDLH)<5; Solubilidade em meio aquoso; TPSA: área de superfície polarizada topológica ≤140 Å.R05 – número de violações as “Regra dos Cincos”.

Tendo em vista isso, a absorção por via cutânea de todas as moléculas analisadas (A-E) parece ser alta, mas apresentaram média absorção intestinal em modelos de células humanas (A, B e D) e baixa permeabilidade em células Caco-2 (D-E) e MDCK (B-C) (Tabela 2). Ao realizar a predição das moléculas frente às células epiteliais de carcinoma do cólon humano (Caco2), possibilitou uma avaliação acerca da permeabilidade de compostos principalmente no que diz respeito a substâncias transportadas passivamente significando que para as células Caco2 as moléculas em questão possuem um baixo nível de permeabilidade, ou seja, estão menos propensas a transpassar membranas. Isso pode estar relacionado ao fato de as moléculas possuírem um caráter predominantemente hidrofílico o que as torna altamente polarizadas dificultando que elas se difundam pela monocamada celular. (Mochiutti, Carvalho, Nascimento, Brasil & Martelli, 2019).

Tabela 2 - Predição dos aspectos farmacocinéticos de flavonoides isolados de *Phyllanthus niruri* L.

Moléculas	Absorção				Distribuição		Excreção		Metabolismo*	
	Cutânea	MDC K	Caco-2	AIH	LPP	BHE	Tempo ½	Cl	Inibição	Substrato
A	Alta	Média	Média	Média	Baixa	Baixa	Curto	Baixa	1A2	Não
B	Alta	Baixa	Média	Média	Baixa	Baixa	Curto	Baixa	Não	Não
C	Alta	Baixa	Média	Baixa	Baixa	Baixa	Curto	Baixa	3A4	Não

D	Alta	Média	Baixa	Média	Baixa	Baixa	Curto	Baixa	3A4, 2C9, 2C19	Não
E	Alta	Média	Baixa	Alta	Baixa	Baixa	Curto	Baixa	3A4, 2C9, 2C19	CYP2D6

Legenda: A- quercetina; B- isoquercitrina; C- rutina; D- galocatequina; E- epicatequina. Permeabilidade cutânea (alta: >0.1, baixa: < 0.1); Caco-2 (HumanColon Adenocarcinoma Cells) e MDCK (MadinDarbyCanineKidney) (Alta >70 nm/sec, média 4-70 nm/sec e baixa 70); Ligação à proteínas plasmáticas (PP) ligado fortemente >90%, ligado moderadamente 70-89%, fracamente ligado <69%; Barreira Hematoencefálica (BHE) (Alta distribuição > 2,0, Média distribuição 2,0-1,0, Baixa distribuição >1,0). Taxa de liberação (CL). Citocromo P450*; Tempo $\frac{1}{2}$ (>8h: alta; 3h< CL < 8h: moderado; <3h: baixo); Taxa de liberação (CL) (>15 mL/min/kg: alta; 5mL/min/kg< CL < 15mL/min/kg: moderado; <5 mL/min/kg: baixo).

As moléculas A, D e E entre as selecionadas, parecem apresentar uma absorção moderada via células MDCK. Isso ocorre, pois, as células *Madin Darby Canine Kidney* (MDCK), são utilizadas como modelo de estudo para a avaliação da permeabilidade de membranas, assim no presente estudo, considera-se que moléculas com baixa à moderada absorção pelas células MDCK estão mais propensas a possuírem uma grande massa molecular, bem como são mais capazes de formar ligações externas de hidrogênio dificultando sua absorção epitelial (Chen *et al.*, 2018).

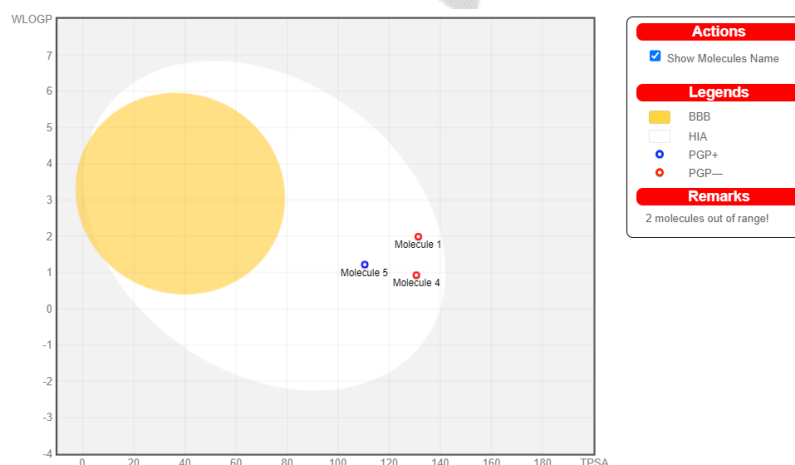
A ligação à proteína plasmática (PP) apresentou ser baixa para todas as moléculas selecionadas para o estudo, podendo ser prejudicial para as propriedades farmacocinéticas das moléculas, pois tais propriedades das drogas podem ser modificadas pelo grau de ligação às proteínas plasmáticas, em função da afinidade de ambos (fármaco e proteínas), da concentração sanguínea da droga e do tipo de proteínas presentes no fluido em questão (Stevenson, *et al.*, 1994). As alterações farmacocinéticas decorrem da distribuição seletiva da droga apenas na forma livre (não ligada às proteínas plasmáticas) por mecanismo de difusão ou transporte através das células de parede de membranas de vasos sanguíneos, que finalmente atingem os sítios ativos, p.e. receptores, enzimas e DNA (Barreiro e Fraga, 2001).

A ligação à proteína plasmática (PP) parece ser forte para A e E, e moderada para B, C e D, significando uma maior afinidade dos compostos pela proteína plasmática. A molécula E apresentou uma ligação forte (>90%) ideal para fármacos ao se ligar à albumina, permitindo com que a substância seja transportada efetivamente (Amorim, 2004).

Na Tabela 2, percebe-se que todas as moléculas apresentaram baixa capacidade de permeabilidade pela barreira hematoencefálica (BHE). Isso consiste na restrição

durante a passagem pelas células endoteliais do cérebro. O bloqueio na passagem das substâncias pode ocorrer pelas características físico-químicas das moléculas, garantindo que o candidato a fármaco não apresente efeitos no Sistema Nervoso Central (SNC) (Bertelli, 1994). Ao submeter às moléculas ao servidor online *Swiss ADME*, foi realizada a avaliação da permeabilidade pelas membranas através do gráfico *boiled-egg* sendo evidenciado na Figura 2, onde as moléculas A, D e E parecem serem de fato absorvidas pelo trato gastrointestinal. As moléculas B e C aparentemente não são absorvidas pelo TGI (Figura 2). Nenhuma das moléculas parece possuir capacidade de atravessar a BHE, atribuindo convergência entre os resultados dos programas. Isso consiste na restrição durante a passagem pelas células endoteliais do cérebro. O bloqueio na passagem das substâncias pode ocorrer pelas características físico-químicas das moléculas, garantindo que o candidato a fármaco não apresente efeitos no SNC (Bertelli, 1994).

Figura 2- Gráfico Boiled-egg para predição de absorção de isolados de *Phyllanthus niruri L.*



Legenda: A- quercetina; B- isoquercitrina; C- rutina; D- galocatequina; E- epicatequina. BBB: barreira hematoencefálica; AIH: absorção pelo trato gastrointestinal; PGP+: Transporte acontece via Glicoproteína P; PGP-: transporte não ocorre via Glicoproteína P. Servidor online *SwissADME*.

Quanto à metabolização, todas as moléculas parecem ser metabolizadas pela superfamília do citocromo P450, principalmente pelas isoformas CYP 3A4, CYP 2C19, CYP 2C9. A molécula A e C inibem apenas uma única isoforma, enquanto as

moléculas D e E inibem três das isoformas, entretanto a molécula B não inibe nenhuma das isoformas. Quanto maior o número de isoformas inibidas, maior será a interação dessas moléculas com outros fármacos, o que pode principiar a presença de reações adversas, principalmente do tipo farmacocinéticas que não são desejáveis (Habenschus, 2017). Nesse sentido, a utilização dessas moléculas como formas terapêuticas perpassam pela necessidade de um manejo clínico do medicamento, onde a interação com outros fármacos deve ser observada e conduzir a evitar que os mesmos façam competição entre si.

Além disso, quanto a excreção, todas as moléculas selecionadas parecem apresentar curtos tempo de meia-vida e baixa taxa de liberação, visto que a meia vida de fármacos, principalmente, benzodiazepínicos é um fator relevante também para caracterizar os efeitos colaterais, como os sintomas de abstinência. Fármacos com tempo de meia-vida curta ou intermediária, como lorazepam, oxazepam e alprazolam provocam mais sinais de abstinência por sua rápida eliminação, fazendo com que o organismo sinta essa eliminação mais abrupta (Brunton, 2012).

Na Tabela 3 podemos observar a predição da toxicidade para algas, peixes Medaka e *Minnow sp.*, onde foi avaliado o potencial tóxico sendo observada toxicidade aguda das substâncias frente a estes organismos marinhos. Todas as moléculas, provavelmente, são tóxicas para os modelos que utilizam peixes, podendo sinalizar os efeitos da intoxicação aguda e/ou crônica frente às substâncias testes. As moléculas A, D e E parecem ser tóxicas para o crustáceo *Daphnia sp.*, que avalia a toxicidade aguda e os eventos tóxicos relacionados à administração de múltiplas doses (toxicidade sincrônica) (Costa *et al.*, 2008). É importante ressaltar que as diferenças de toxicidades entre diferentes organismos são esperadas, pois os organismos são fisiologicamente diferentes, além de pertencer a diferentes níveis tróficos (Costa *et al.*, 2008).

Tabela 3 - Predição dos aspectos toxicológicos de flavonoides isolados de *Phyllanthus niruri* L.

	Organismos Marinhos				Mutagenicidade	Carcinogenicidade	
	Alga	Daphnia	Medaka	Minnow	Teste Ames	Camundongos	Ratos
A	+	+	+	+	+	-	+
B	+	-	+	+	-	-	-
C	+	-	+	+	-	+	-

D	-	+	+	+	-	-	+
E	+	+	+	+	+	-	-

Legenda: A- quercetina; B- isoquercitrina; C- rutina; D- galocatequina; E- epicatequina.
Resultados: positivo (+), negativo (-).

As moléculas A e E (Tabela 3) foram consideradas mutagênicas pelo programa, uma vez que apresentaram capacidade mutagênica através do teste AMES. Quanto à carcinogenicidade, as moléculas A e D foram consideradas carcinogênicas para ratos e somente a molécula C foi carcinogênica a camundongos. Os flavonoides são conhecidos por sua ação antioxidante, ou seja, compostos capazes de sequestrar os radicais livres e assim impedir danos às células (Behling *et al.*, 2004), nesse caso, as moléculas B e E parecem não causar danos às estruturas celulares.

Em relação à toxicidade sistêmica, evidenciada na Tabela 4, a DL₅₀%, os valores previstos se mantiveram entre 300 mg/kg e 2000 mg/kg, atribuindo a classificação IV de toxicidade, sendo considerados nocivos (A-E). As moléculas B, D e E foram consideradas nefrotóxicos e todas as estruturas analisadas parecem gerar hepatotoxicidade. Por seu caráter cinético as moléculas passam muitas vezes pelo fígado, sofrendo alterações estruturais, após isso elas alcançam o trato urinário onde devem ser eliminadas, o que pode gerar uma bioacumulação nos néfrons causando sua toxicidade (Vieira, 2015).

Tabela 4- Predição *in silico* da toxicidade sistêmica de flavonoides isolados de *Phyllanthus niruri* L.

	Classifi cação DL50*	Hepatotóxi co	Nefro tóxico	Her g* *	Teratogê nico	Neuro Tóxic o	Embrio tóxico	Hemato tóxico	Canceríge no	Genotóxi ca
A	IV	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B	IV	-	-	-	-	+	-	+	-	+
C	IV	-	+	-	-	+	+	+	-	+
D	IV	-	-	-	-	+	-	-	-	+
E	IV	-	+	-	-	+	-	-	-	+

Legenda: A- quercetina; B- isoquercitrina; C- rutina; D- galocatequina; E- epicatequina. *mg/kg; **inibição de Herg I e II; D150- I - <5 (Fatal) II- <50 (Fatal) III- <300 (Tóxico) IV- <2000 (Nocivo) V- <5000 (Prejudicial) VI- >5000 (Atóxico); Resultados: positivo (+), negativo (-).

Na predição da nefrotoxicidade das moléculas, dentre as cinco selecionadas, somente B, D e E (tabela 4) apresentaram resultados positivos, todavia os flavonoides, são antioxidantes, uma vez que devido essa capacidade gera a redução da expressão de moléculas inflamatórias, diminuindo a nefrotoxicidade e a hepatotoxicidade induzidas por estresse oxidativo (Medeiros, 2018). Além disso, na predição da teratogenicidade, apenas as moléculas B e C, parecem ser positivas, sendo os teratógenos agentes que alteram de forma irreversível o desenvolvimento estrutural ou funcional do embrião ou feto, podendo provocar má formações, indicando seletividade para determinado órgãos-alvos e exercer seus efeitos em determinados estágios do desenvolvimento embrionário (Andrade, 2017).

Entre as cinco moléculas selecionadas, somente a molécula A não apresentou neurotoxicidade, dado que essa neurotoxicidade pode ser causada por agentes biológicos, químicos ou físicos e os efeitos neurotóxicos podem ser permanentes ou reversíveis, podendo ser decorrentes das propriedades neurofarmacológicas e neurodegenerativas dos agentes neurotóxicos, ou do resultado da ação direta ou indireta no SNC (Slikker jr; Bowyer, 2005). Nas predições hepatotóxica e embriotóxica, as moléculas B e C, apresentaram resultados positivos, podendo significar que são moléculas tóxicas para a medula óssea, e para uma ou mais de suas linhagens celulares, haja vista que devido à grande capacidade proliferativa do tecido hematopoiético, as células da medula óssea podem ser alvos da ação tóxica de várias substâncias, incluindo os fitoterápicos (Fugh-Berman, 2000).

Outro ponto importante deste estudo foi a predição de atividades biológicas, sendo que, somente a molécula E, entre todas as selecionadas parece não apresentar atividade antitumoral (Tabela 5). Todavia, um recente estudo mostrou que a catequina apresenta ação antitumoral majoritária, considerada a mais ativa, biologicamente, e considerado o agente antitumoral mais potente na quimioprevenção, uma vez que pode eliminar as espécies reativas de oxigênio (EROs), reduzir a proliferação celular e

induzir a apoptose. (Das *et al.*, 2008). Somente a molécula B parece apresentar capacidade de estimular a caspase 3 (Tabela 5). A atividade anticancerígena da quercetina, especialmente, da isoquercitrina foi comprovado em animais diabético devido uma densidade aumentada de células apoptóticas no epitélio do jejuno, tanto nas vilosidades quanto nas criptas, por outro lado um número reduzido de células caspase-3-IR (Cavararo, 2022).

Tabela 5- Predição in silico da atividade anticâncer de flavonoides isolados de *Phyllanthus niruri* L.

	Antineoplásico	Apoptose*	Anti carcinogênico	Tp53*	Caspases 3*	Quinase**	Citostático	Químio preventivo	MMP9**
A	+	+	+	+	-	-	-	+	+
B	+	+	+	-	+	-	+	+	-
C	+	+	+	+	-	+	-	+	-
D	+	+	+	-	-	-	-	+	-
E	-	-	+	+	-	-	-	-	+

Legenda: A- quercetina; B- isoquercitrina; C- rutina; D- galocatequina; E- epicatequina. *indução; **inibição. Resultados: positivo (+), negativo (-).

As predições de atividade anticarcinogênica sugerem que todas as moléculas são positivas. Estas atividades podem estar relacionadas ao potencial antioxidante e no sequestro de radicais livres (Tabela 5). Sabe-se que, a atividade antioxidante dos flavonoides está relacionada com a propriedade redutora e a sua estrutura química, que neutraliza e sequestra radicais livres, quelando os metais de transição e agindo tanto no início, como na transmissão do processo de oxidação (Paula *et al.*, 2014). Logo, uma substância anticarcinogênica pode reverter ou impedir o processo de carcinogênese de uma célula normal. Nesse contexto, as moléculas, provavelmente agem impedindo tanto o processo de carcinogênese quanto de mutagênese ao sequestrar e impedir a ação dos radicais livres nas células normais (Silva *et al.*, 2001).

Quanto à proteína TP53, as moléculas A, C e E são possivelmente promissoras, visto que essa proteína se torna estável e passa a controlar diversos genes que são seus alvos, impedindo a progressão do ciclo, o que permite reparar os danos nas células ou

disparar o processo de morte destas por apoptose (Moura-Galho *et al.*, 2004). Na análise da indução a apoptose, as moléculas de A a D foram positivas, exceto a molécula E, entretanto, um estudo evidenciou que os polifenólicos (do extrato puro de caqui, o galato de epicatequina, a epigallocatequina e o epigallocatequinagalato) induzem efetivamente a apoptose de células de leucemia linfocítica humana (Ferrari, 2002).

Quanto às predições quimiopreventiva, a maior parte das moléculas selecionadas parecem apresentar esse potencial, pois dentre os agentes quimiopreventivos que mais se destacam, podem-se destacar os flavonoides, pela sua capacidade de induzir a apoptose das células tumorais, inibir a proliferação destas células, e impedir a invasão de angiogênese e tumor de células (Vauzour *et al.*, 2010). Ao predizer a capacidade de inibição da expressão de MMP9, somente as moléculas A e E, se destacam, uma vez as MMPs atuam degradando proteínas da lâmina basal em torno dos capilares, facilitando a angiogênese e a neurogênese, e contribuindo para instigar a morte celular, todavia flavonoides dos tipo quercetina e catequina apresentam potente ação neuroprotetora para neurônios dopaminérgicos em cultura, sendo essas ações conhecidas por modulações de cascatas de sinalização intracelular envolvidos no controle da sobrevivência, morte e diferenciação; efeitos na expressão de genes e efeitos mitocondriais (Santos, 2011).

Outro ponto a destacar foi a predição da atividade antioxidante das moléculas (Tabela 7), onde todas as moléculas de A até E se mostraram promissoras na previsão. Os flavonoides são antioxidantes efetivos devido às suas propriedades sequestrantes de radicais livres e, por quelar íons metálicos, protegem os tecidos dos radicais livres e da peroxidação lipídica, visto que a propriedade antioxidante é direcionada sobre o radical hidroxil (OH) e o ânion superóxido (O₂⁻), que são espécies altamente reativas envolvidas na iniciação da peroxidação lipídica. (Galho, 2014).

Tabela 7 – Predição de efeitos farmacológicos sistêmicos de flavonoides isolados de *Phyllanthus niruri* L.

	Vasoprotetor	Anti-inflamatorio	Antioxidante	Protetor hepático	Estimulante de histamina
A	-	-	-	-	-
B	-	-	-	-	-
C	+	+	+	+	+
D	-	-	+	+	+

E	-	-	+	-	+
---	---	---	---	---	---

Legenda: A- quercetina; B- isoquercitrina; C- rutina; D- galocatequina; E- epicatequina. Resultados: positivo (+), negativo (-).

Na predição da atividade antiinflamatória, as moléculas B e C, parecem ser promissoras, tendo em vista que em relação à atividade antiinflamatória, os in flavonoides atuam modulando células envolvidas com a inflamação (por exemplo, inibindo a proliferação de células importantes linfócitos T), inibindo a produção de citocinas pró-inflamatórias (por exemplo, TNF- α e IL-1), modulando atividade das enzimas da via do ácido araquidônico, tais como fosfolipase A₂, ciclo-oxigenase e lipo-oxigenase, além de modularem a enzima formadora de óxido nítrico, a óxido nítrico sintase induzida mesmo inibir a formação (iNOS) (Coutinho, 2009).

Na estimativa das moléculas que são estimulantes de histaminas, as moléculas A, B e C, presumivelmente são promissoras, visto que tais participaram da distribuição de mastócitos, onde tecidos e fluidos ricos nessas células, como pele, camada mucosa do trato gastrointestinal, pulmões vias aéreas superiores e fluidos peritoneais de ratos e camundongos, possuem elevadas concentrações de histamina. Sendo também, cruciais na liberação e atuação da histamina em seus receptores específicos (Barros, *et al.*, 2015).

O sistema de classificação *Anatomical Therapeutic Chemical* (ATC) (Tabela 8) é usado para a classificação de drogas. É uma publicação da Organização Mundial da Saúde (OMS) e nela podemos encontrar a classificação e identificar o órgão ou sistema no qual os medicamentos atuam e suas propriedades químicas, farmacológicas e terapêuticas. Cada código ATC é dividido em 4 níveis: nível 1: grupo principal anatómico, nível 2: grupo principal terapêutico; nível 3: subgrupo terapêutico/farmacológico; nível 4: subgrupo químico/terapêutico/farmacológico. Para a previsão de ATC, bem como a previsão de alvo, é utilizado o servidor web SuperPred, baseando-se em um modelo de aprendizado de máquina, usando regressão logística e impressões digitais Morgan de comprimento. (Todescato, 2017).

Tabela 8-Previsão de classificação ATC de flavonoides isolados de *Phyllanthus niruri* L.

Molécula D	Molécula E
------------	------------

Grupo principal anatômico	Sistema cardiovascular	Sistema cardiovascular
Grupo principal terapêutico	Vasoprotetor	Medicamento para terapia cardíaca
Subgrupo terapêutico farmacológico	Estabilizador capilar	Estimulante excl. glicosídeos cardíacos
Subgrupo químico/terapêutico/farmacológico	Bioflavonoide estabilizador de capilares	Estimulantes adrenérgicos e dopaminérgicos
Porcentagem (%)	Receptor alfa do hormônio tireoidiano (probabilidade: 82,94%; precisão do modelo: 99,15%)	Receptor mineralocorticoide (probabilidade: 75,14%; precisão do modelo: 100%)

Legenda: D- galocatequina; E- epicatequina.

Com isso, dentre as moléculas selecionadas, A, B, C e D apresentaram uma porcentagem relativamente baixa na classificação (<30%). Em relação, principalmente a molécula E, a classificação ATC enunciou para o grupo principal anatômico, terapêutico e o subgrupo terapêutico/farmacológicos possíveis fármacos agindo sobre o sistema cardiovascular humano, todavia diferenciando-se apenas nos subgrupos terapêutico/farmacológico/químico, pois a epicatequina, apresenta atividade vasodilatadora, além de papel cardioprotetor e cardiovascular, foi comprovado que esse flavonoide atua sobre o endotélio vascular, através da síntese e liberação óxido nítrico (NO), que promove vasorelaxamento, reduz a agregação plaquetária e limita o fluxo de proteínas plasmáticas aterogênicas na parede arterial (Neiva, *et al.*, 2003).

Ao analisar os resultados de classificação ATC a molécula E destacou-se apresentando um percentual de 75,14%, sendo considerada a mais promissora entre os cinco isolados da espécie, uma vez que apresenta alvos moleculares promissores para futuros estudos de docagem molecular, tendo em vista que tal molecular também apresentou bom perfil de semelhança com fármacos, convergência com a atividade biológica prevista e menor toxicidade, por sua vez, podendo agir especificamente sobre o sistema cardiovascular humano como vaso-protetor estabilizador de capilares (Tabela 8). Além disso, avaliou-se os efeitos do bloqueio do receptor mineralocorticoide (RMC) da epicatequina na função endotelial, na pressão arterial (PA) e em parâmetros

inflamatórios e renais de indivíduos com síndrome metabólica (SM) (Lovisi, 2013). Por fim, recentes estudos debatem a ação da epicatequina na dieta humana e também auxiliando no tratamento de doenças neurodegenerativas como Alzheimer e neurológicas como ansiedade (Ribeiro, 2003)

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao avaliar o perfil de semelhança dos compostos deste estudo com fármacos, foi possível perceber que a epicatequina foi a estrutura que teve o melhor perfil farmacocinético (absorção, distribuição e metabolismo), menor toxicidade e grande potencial biológico. Pode-se sugerir que é importante investigar a atividade anticâncer e os efeitos sistêmicos, especialmente, relacionados ao sistema circulatório humano destes compostos, principalmente utilizando modelos *in vitro* ao levar em consideração seus efeitos antioxidantes e vasoprotetores.

REFERÊNCIAS

Ajay, A., Bermis, G.W. & Murkco, M.A. (1999). Designing libraries with CNS activity. **J Med Chem**, 42, 4942-4951.

AMORIM, R. M. M. Biodisponibilidade como parâmetro de qualidade e sua importância no registro de medicamentos. 2004.

ANDRADE, Andréia Moreira *et al.* Farmacocinética e mecanismos de teratogenicidade dos medicamentos na gestação: uma revisão da literatura. **Infarma-Ciências Farmacêuticas**, v. 29, n. 2, p. 100-107, 2017.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos. **Porto Alegre: Editora Artmed**, 2001.

BARROS, Mariana Azevedo *et al.* Estudo da atividade antialérgica de espécies vegetais *Passiflora mucronata* e *Vitex polygama*, provenientes da Restinga de Jurubatiba (Macaé). **Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia)**-Colegiado de Ensino de Graduação-Macaé, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Macaé, 2015.

BECKER, CG, HAJJAR, DP, HEFTON, J.M. (1985) Constituição do tabaco entes são mitogênicos para arte células musculares lisas. **Sou. J. Pathol.**120 : 1–5.

BEHLING, E. B. *et al.* Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.

BERTELLI, M. S. B. *et al.*, Barreira hematoencefálica.1994. p. 34-6. **Rev. cient. AMECS**.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Farmacopeia Brasileira**. 5ª ed. Volumes 1 e 2. Brasília: Anvisa, 2010b.

BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman e Gilman**. 12. Ed. Porto Alegre: AMGH, 2012, 2112 p.

CALIXTO, J. B.; SANTOS, A. R. S.; CECINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. A review of the plants of the genus *Phyllanthus*: their chemistry, pharmacology, and therapeutic potential. **Medicinal Research Reviews**, v.18, n. 4, p. 225-258, 1998.

CAVARARO, Carollyne dos Santos. Suplementação de compostos bioativos na disfunção endotelial em indivíduos hipertensos: uma revisão sistemática. 2022.

CHEN, E. C., BROCCATELLI, F., PLISE, E., CHEN, B., LIU, L., CHEONG, J., ZHANG, S., JORSKI, J., GAFFNEY, K., UMEMOTO, K. K. & SALPHATI. (2018). Evaluating the Utility of Canine Mdr1 Knockout Madin-Darby Canine Kidney I Cells in Permeability Screening and Efflux Substrate Determination. **Mol Pharm**, 5 (11), 5103-5113.

COSTA, C. R. al. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. 2008. v. 31, p. 1820-1830. **Química nova**.

COUTINHO, Marcela AS; MUZITANO, Michele F.; COSTA, Sônia S. Flavonoides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 3, p. 241-256, 2009

DAS, S.; THAKURIA, N.; KANODIA, L. Biological actions and medicinal applications of tea (*Camellia sinensis*). **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 2, p. 1215-1225, 2008.

EMBRAPA - Quebra-Pedra. **Série Plantas Medicinais, Condimentares e Aromáticas**, 2006.

FERRARI, Carlos Kusano Bucalen; DA SILVA TORRES, Elizabeth Aparecida Ferraz. Novos compostos dietéticos com propriedades anticarcinogênicas. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 48, n. 3, p. 375-382, 2002.

FREITAS, A.M.; SCHOR, N.; BOIM, M.A. The effect of *Phyllanthus niruri* on urinary inhibitors of calcium oxalate crystallization and other factors associated with renal stone formation. **BJU International**, v.89, n.9, p.829-834, 2002.

FUGH-BERMAN, A. Herb-drug interactions. **Lancet**, v. 355, n .9198, 2000.

GALHO, A. R. Papel protetor da quercetina livre e nanoencapsulada contra danos induzidos pela hemorragia intracerebral em ratos. 2014. **Dissertação de Mestrado**.
GARCÍA, Paolo Velarde. La Epicatequina. **Revista especializada de Nutrição (ReNut)**, v. 1, pág. 7 a 10, 2007.

GHAFOURIAN, T.; DEARDEN, J. C. The use of molecular electrostatic potentials as hydrogen-bonding-donor parameters for QSAR studies. **II Farmaco, Liverpool**, v. 59,

n. 6, p. 473-479, 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014827X04000515?via%3Dihub>. Acesso em: 16 maio 2020.

GUILHERMINO, L. *et al.* Teste de toxicidade aguda com *Daphnia magna*: uma alternativa aos mamíferos na pré-triagem de toxicidade química? 2000. v. 46, n. 3, pág. 357-362. **Ecotoxicologia e segurança ambiental.**

HABENSCHUS, M. D. *et al.*, Inibição in vitro de CYP450s humanos 1A2, 2C9, 3A4/5, 2D6 e 2E1 por grandisin. 2017. , v. 83, n. 08, pág. 727-736. **Planta Medica.**

LAGUNIN, Alexey *et al.* QSAR modelling of rat acute toxicity on the basis of PASS prediction. 2011. v. 30, n. 2-3, p. 241-250. **Molecular informatics.**

LIPINSKI, C. A. *et al.* Abordagens experimentais e computacionais para estimar a solubilidade e a permeabilidade em ambientes de descoberta e desenvolvimento de medicamentos. 1997.v. 23, n. 1-3, pág. 3-25. **Revisões sobre entrega avançada de medicamentos.**

LIPINSKI, Christopher A. Propriedades semelhantes a medicamentos e as causas da baixa solubilidade e baixa permeabilidade. 2000. v. 44, n. 1, pág. 235-249. **Revista de métodos farmacológicos e toxicológicos.**

LOVISI, Júlio César Moraes. Bloqueio do receptor mineralocorticoide em hipertensos com síndrome metabólica: estudo da vasodilatação fluxo-mediada. 2013

MEDEIROS, Stéphaney Christine Guimarães; CECHINEL-ZANCHETT, Camile Cecconi. Kombucha: efeitos in vitro e in vivo. **Infarma-Ciências Farmacêuticas**, v. 31, n. 2, p. 73-79, 2019.

Mochiutti, E., Carvalho, A. L. S., Nascimento, A. E. S., Brasil, D. S. B. & Martelli, C. (2019, julho). Estudo in silico do potencial farmacológico do óleo essencial dos componentes majoritários do cipó d'alho (*adenocalymma alliaceum*). **Anais do Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica.** Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, 1.

MOURA-GALLO, C. V. de *et al.*, Mutações no gene TP53 em tumores malignos de mama: associação com fatores de risco e características clínico-patológicas, inclusive risco de óbito, em pacientes residentes no Rio de Janeiro. 2004. v. 7, n. 2, p. 167-175. **Revista Brasileira de Epidemiologia.**

NEIVA, Teresinha JC *et al.* Efeito das catequinas (catequina e epicatequina) na agregação plaquetária. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 25, p. 207-212, 2003.

PAULA, C. S.; CANTELI, V. C. D.; HIROTA, B. C. K.; CAMPOS, R.; OLIVEIRA, V. B.; KALEGARI, M.; SILVA, C. B.; SILVA, G. M.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. Potencial antioxidante in vitro das folhas da *Bauhinia unguolata* L. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 35, n. 2, p. 217-222, 2014.

RIBEIRO, L. *et al.* Infusão intracerebral de Epicatequina em ratos lesionados com 6-OHDA: efeitos comportamentais.

RODRIGUES, G.D. S.*et al.*, O USO DE SOFTWARES LIVRES EM AULA PRÁTICA SOBRE FILTROS MOLECULARES DE BIODISPONIBILIDADE ORAL DE FÁRMACOS. 2021. v. 44, p. 1036-1044. **Química Nova**.

Saija, A., Tomaino, A., Trombetta, D., Pellegrino, M. L., Tita, B., Messina, C., Bonina, F. P., Rocco, C., Nicolosi, G., Castelli, F. (2003) *In vitro* antioxidant and photoprotective properties and interaction with model membranes of three new quercetin esters. **Eur. J. Pharm. Biopharm.** 56: 167–174

SANTOS, Balbino Lino dos, *et al.* Avaliação do potencial antitumoral de flavonóides polihidroxilados sobre células de glioblastoma humano. 2011.

SILVA, C. R.; NAVES, M. M. Suplementação de vitaminas na prevenção de câncer. 2001. v. 14, p. 135-143. **Revista de Nutrição**.

SLIKKER, J. R. W.; BOWYER, J. F. Biomarkers of adult and developmental neurotoxicity. **Toxicol. Appl. Pharmacol.** v. 206, p. 255-260, 2005.

Sousa MP, Matos MEO, Matos FJA, Machado MIL, Craveiro AA 1991. Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras **Fortaleza: E.U.F.C.**

STEVENSON, D. & WILSON, I. D. (eds) Sample preparation for Biomedical and Environmental Analysis. **New York: Editora Plenum**, 1994.

TODESCATO, J. *et al.*, Classificação terapêutica como facilitadora do uso racional de medicamentos. 2017. **Revista Científica Semana Acadêmica**.

Uesato, S., Kitagawa, Y., Kamishimoto, M., Kumagai, A., Hori, H., Nagasawa, H. (2001). Inhibition of green tea catechins against the growth of cancerous human colon and hepatic epithelial cells. **Cancer Lett.** 170: 41–44.

VAUZOUR, D. *et al.*, Polyphenols and human health: prevention of disease and mechanisms of action. **Nutrients, Basel**, v. 2, p. 1106-1131, 2010.

VIEIRA, J. V. Efeitos Agudos do Cloreto de Mercúrio sobre o Leito Vascular Renal de Ratos. 2015. Universidade Federal do Espírito Santo.

WANG, D.; GUO, Y.; A WRIGHTON, S.; COOKE, G.; SADEE, W. Intronic polymorphism in CYP3A4 affects hepatic expression and response to statin drugs. **The Pharmacogenomics Journal**, v.11, n.4, p. 274-286, 2010. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/tpj201028>. Acesso em: 25 abr. 2020.

WATERBEEMD, H. van de; GIFFORD, E.. ADMET in silico modelling: towards prediction paradise?. **Nature Reviews Drug Discovery**, Kent, v.2, n.3, p.192-204, 2003. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrd1032#citeas>. Acesso em: 29 set. 2020.

WHALEN, Karen; FINKEL, Richard; PANAVELIL, Thomas A. Farmacologia Ilustrada-6ª Edição. **Artmed Editora**, 2016.

Yee, S. (1997). In vitro permeability across Caco-2 cells (colonic) can predict in vivo (small intestinal) absorption in man – fact or myth. **Pharm Res**, 14 (6), 763-766.

ZUCKER, E.; JOHNSON, S. L. Hazard evaluation division standard evaluation procedure: acutetoxi city test for freshwaterfish. **US Environmental Protection Agency**, Office of Pesticide Programs, 1985.

