

Estudo *in silico* de diterpenos isolados de *Portulaca pilosa* L e sua correlação com estudos etnobotânicos

In silico study of diterpens isolated from *Portulaca pilosa* L and their correlation with ethnobotanical studies

En silico estudio de diterpens aislados de *Portulaca pilosa* L y su correlación con estudios etnobotânicos

Recebido: 26/11/2020 | Revisado: 05/12/2020 | Aceito: 08/12/2020 | Publicado: 10/12/2020

Dayse Lúcia do Nascimento Brandão

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0633-6069>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: daysena_25@yahoo.com.br

Hanna Patricia dos Santos Martins

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3486-4048>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: hannamartins77@gmail.com

Jéssica Melissa Oliveira Tomaz

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8213-2669>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: tomazoliveira.jessica@gmail.com

Gleison Gonçalves Ferreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3682-7945>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: gleisonhist@gmail.com

Hanna Oeiras Ramos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1643-4535>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: oeiras.hanna@gmail.com

Sandro Percário

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9528-0361>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: percario@ufpa.br

Maria Fâni Dolabela

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0804-5804>

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: fanidolabela20@gmail.com

Resumo

Este trabalho relata os resultados obtidos no estudo *in silico* para a predição de atividade biológicas de diterpenos presentes em *P. pilosa*, relacionando estes resultados as alegações de uso, aspectos farmacocinéticos e toxicológicos. Vários programas foram utilizados para a predição das atividades biológicas, toxicidade, farmacocinética e propriedades físico químicas. Os estudos de predição sugerem que atividade cicatrizante foi relacionada a friedelina, porém este composto parece ser tóxico, possui elevada lipossolubilidade e inibi a CYP. A atividade anti-inflamatória sistêmica foi relacionada a pilosanona A e pilosanol A, ao se analisar os aspectos tóxicos, farmacocinéticos e físico-químicos, pode-se sugerir que o pilosanol A seja mais promissor. A pilosonona B parece ter um efeito anti-durético, contrário a alegação de uso. Os estudos *in silico* sugerem o potencial antineoplásico de pilosononas A e B, pilosanol A e B, relaciona os efeitos adversos a imunotoxicidade, sendo que todos os compostos avaliados parecem ligar aos receptores de androgênio, pilosanona A e B e o portulide podem interferir na via das prostaglandinas e na clivagem oxidativa de alquilaminas em aldeídos e amônia. O presente estudo corroborou com as alegações de uso cicatrizante e anti-inflamatório de *P. pilosa* e sugeri que os compostos fiedelina, pilosanona A e pilosanol A estejam envolvidos nestas atividades.

Palavras-chave: *Portulaca pilosa*; Friedelina; Pilosanol; Pilosanona; Portulide.

Abstract

This study reports the results obtained in the *in silico* study for the prediction of biological activity of diterpenes present in *P. pilosa*, relating these results to use claims, pharmacokinetic and toxicological aspects. Several programs were used to predict biological activities, toxicity, pharmacokinetics and physical chemical properties. Prediction studies suggest that healing activity was related to friedelin, but this compound seems to be toxic, has high liposolubility and inhibits CYP. The systemic anti-inflammatory activity was related to pilosanone A and pilosanol A, when toxic, pharmacokinetic and physical-chemical aspects were analyzed, it can be suggested that pilosanol A is more promising. Pilosonone B seems to have an anti-diuretic effect, contrary to the claim of use. *In silico* studies suggest the

antineoplastic potential of pilosonones A and B, pilosanone A and B, relating adverse effects to immunotoxicity, and all compounds evaluated seem to bind to androgen receptors, pilosone A and B, and portulide may interfere with the prostaglandin pathway and the oxidative cleavage of alkylamines in aldehydes and ammonia. The present study corroborated the claims of healing and anti-inflammatory use of *P. pilosa* and suggested that the friedeline, pilosone A and pilosanone A compounds are involved in these activities.

Keywords: *Portulaca pilosa*; Friedeline; Pilosanone; Pilosone; Portulide.

Resumen

Este estudio reporta los resultados obtenidos en el estudio *in silico* para la predicción de la actividad biológica de los diterpenos presentes en *P. pilosa*, relacionando estos resultados con declaraciones de uso, aspectos farmacocinéticos y toxicológicos. Se utilizaron varios programas para predecir actividades biológicas, toxicidad, farmacocinética y propiedades físico-químicas. Los estudios de predicción sugieren que la actividad curativa estaba relacionada con la friedelina, pero este compuesto parece ser tóxico, tiene una alta liposolubilidad e inhibe el CYP. La actividad antiinflamatoria sistémica se relacionó con pilosone A y pilosanone A, cuando se analizaron aspectos tóxicos, farmacocinéticos y físico-químicos, se puede sugerir que el pilosanone A es más prometedor. La pilosone B parece tener un efecto antidiurético, contrariamente a lo que se dice de su uso. Estudios *in silico* sugieren el potencial antineoplásico de las pilosonas A y B, pilosanone A y B, relacionando los efectos adversos con la inmunotoxicidad, y todos los compuestos evaluados parecen unirse a los receptores de andrógenos, pilosone A y B, y la portulida D puede interferir con la vía de las prostaglandinas la escisión oxidativa de alquilaminas en aldehídos y amoníaco. El presente estudio corroboró las afirmaciones del uso curativo y antiinflamatorio de *P. pilosa* y sugirió que los compuestos de friedeline, pilosone A y pilosanone A están involucrados en estas actividades.

Palabras clave: *Portulaca pilosa*; Friedeline; Pilosanone; Pilosone; Portulide.

1. Introdução

A *Portulaca pilosa* L. (Portulacaceae), conhecida popularmente como amor crescido, é amplamente utilizado na medicina tradicional com diferentes objetivos, tais como: febre (Neves, 1980), malária, estomáquica, diurética, cicatrizante, analgésica, úlceras (Silva, et al.,

1998), diarreia, disenteria, cólica, nas hemoptises, nefrites, vermífugo; feridas, eritemas, icterícia (Revilla, 2002), tratamento de inflamação (Vásquez, 2014), entre outras.

As seguintes alegações já foram submetidas a avaliações *in vitro* ou estudos pré-clínicas: atividade antimalárica *in vitro* (Brandão, 2012), analgésica, cicatrizante (Ferreira, 2012) e antileishmania (Brandão, et al., 2020) As demais alegações carecem de estudos, bem como é importante analisar se esta alegação de uso está relacionada a um constituinte presente na espécie, ou resulta do sinergismo entre os constituintes químicos.

Outro estudo avaliou o potencial de outra espécie pertencente ao gênero *Portulaca*, *Portulaca oleracea*, para o tratamento do Transtorno do Espectro Autista (TEA). Após ampla revisão de literatura, os autores concluíram que os componentes presentes nesta espécie apresentam capacidade antioxidante e pode contribuir para o bom funcionamento do organismo de pessoas com TEA e reduzir sua sintomatologia, sendo um promissor produto alimentício (Oliveira, et al., 2020). Outros estudos vem ressaltando a importância desta espécie como um alimento, pois possui compostos com atividade antioxidante e é rica em ômega 3, contribuindo para a proteção de patologias do sistema nervoso central, como a doença de Parkinson (Liu et al., 2000; Moraes & Colla, 2018; Benevides, et al., 2020).

No estudo pré-clínico das plantas medicinais e de seus metabolitos envolve várias etapas, tais como: identificação do problema médico que deve ser priorizado. No caso de plantas medicinais, em que se tenha conhecimento dos metabolitos presentes, podem ser realizados estudos *in silico* para avaliar as possíveis atividades biológicas, toxicidade e aspectos farmacocinéticos; isolamento dos metabolitos; baseado nestes resultados, avaliação das atividades biológicas e toxicológicas *in vitro*, selecionado as amostras para os estudos *in vivo* (Moda, 2007).

Em síntese, os estudos *in silico* podem auxiliar na tomada de decisão de qual deve ser o foco dos estudos de avaliações biológicas para uma determinada espécie medicinal que possua várias alegações uso popular. Este trabalho relata os resultados obtidos no estudo *in silico* para a predição de atividades biológicas de diterpenos presentes em *P. pilosa*, relacionando estes resultados as alegações de uso. Posteriormente analisa se seria possível um tratamento tópico ou por via sistêmica, assim como outras questões relacionadas a farmacocinéticas e seus potenciais tóxicos.

2. Metodologia

Este trabalho utilizou o modelo científico de comparação para diversificação nas previsões de atividade farmacocinética, toxicológica, físico-química e biológica, em que as moléculas desenhadas foram comparadas com outras nas bases de dados dos programas utilizados (Pereira, et al., 2018; Correa-Barbosa, et al., 2020). Trata-se de um estudo de predição de atividades biológicas e farmacocinéticas, sendo um estudo quantitativo (Pereira, et al., 2018).

2.1 Estudo *in silico* das moléculas da *P. pilosa*

As propriedades físico-químicas das Pilosanona A, Pilosanona B, Pilosanól A , pPilosanól B, Portulide e Friedelina foram calculadas, com base em descritores moleculares utilizando a regra dos cinco de Lipinski, no software Molinspiration Online Property Calculation Toolkit (www.molinspiration.com) (Lipinski, Dominy & Feeney, 2001) possibilitando predizer os aspectos relacionados à absorção, permeabilidade de membranas celulares (coeficiente de partição, lipofilicidade: hidrofilicidade, entre outros). A predição da biodisponibilidade levou em consideração: (1) número de grupos aceptores de ligação hidrogênio (nALH) menor ou igual a 10; (2) número de grupos doadores de ligação hidrogênio (nDLH) menor ou igual a 5; (3) massa molecular (MM) menor ou igual a 500 g/mol (4) coeficiente de partição octanol-água (milog P) menor ou igual a 5; (6) área de superfície polar (PSA) menor ou igual a 140 Å. As moléculas que não cumprem estes critérios terão baixa biodisponibilidade (Silva, 2015).

Os parâmetros farmacocinéticos e toxicológicos teóricos (ADMET Prediction—Absorção, Distribuição, Metabolização, Excreção e Toxicidade) foram calculados (Lipinski, 2004), sendo adotados os seguintes critérios: elevada absorção MDCK (*Madin-Darby Canine Kidney*) - 70-100%, moderada absorção MDCK - 20 a 70%, < 20 baixa absorção MDCK (Yee, 1997); elevada absorção Caco 2 (Células de Adenocarcinoma de Cólon Humano) - 70-100%, moderada absorção no Caco 2- 4 a 70%, < 4 baixa absorção Caco 2 (Yazdanian, 1998).

Para avaliação da distribuição dos fármacos foram adotados os seguintes critérios: Ligação à proteína plasmática: elevada > 90%; moderada a baixa < 90% (Preadmet, 2016); Barreira hematoencefálica: atravessa de forma elevada – BB > 2,0 e logBB > 0,3; média - BB 0,1- 2,0 e logBB 0,3- 1,0; baixa BB <0,1 e logBB >1,0 (Ajay, 1999).

Outro parâmetro muito importante a ser avaliado foi o metabolismo de fase 1 (citocromo P450: CYP450 2D6, CYP450 3A4, CYP450 2C) e/ou fase 2 (conjugação), bem como a capacidade de indução e inibição dos CYPs. Utilizando o *software* SmartCyp avaliou-se reatividade como principal forma de análise do metabolismo do CYP 3A4, 2D6 e 2C9. O descritor de energia (denominado E) é necessária para um CYP reagir na posição que foi calculada para cada átomo, combinando padrões SMARTS para energias em kJ / mol. A acessibilidade, A, é a razão do descritor SPAN, é sempre um número entre 0,5 – 1.

Nos estudos de avaliação de toxicidade foram adotados os seguintes critérios: Algas- < 1 mg/L tóxico; > 1 mg/L não tóxico (Costa, et al., 2008); Teste Daphnia- < 0,22 µg/mL Tóxico; > 0,22 µg/mL- não tóxico (Guilhermino, et al., 2000); Teste em peixes Medaka e Minnow: < 1 mg/L- muito tóxico; 1-10 mg/L- tóxico; 10-100 mg/L- prejudicial e > 100 mg/L- tão tóxico (Zuncker,1985).

Para predição de mutagenicidade foi realizada a avaliação pelo teste ames, com as seguintes cepas de *Samonella typhimurium* :TA100-10RLI e TA 100-NA mutação na His G46 e plasmídeo pKM101 sem S9; TA1535-10RLI e TA1535-NA mutação na His G46 (Ames, et al., 1975).

No estudo de toxicidade oral foi utilizado o *software* PROTOX, sendo consideradas a classificação em classes de I a VI (fatal se ingerido a não tóxico) baseado na dose letal 50% (Drwal, et al., 2014) (Tabela 1). Também foram avaliadas a hepatotoxicidade, carcinogenicidade imunotoxicidade, mutagenicidade, citotoxicidade, assim como, ligação aos receptores nucleares e a resposta ao estresse nuclear, risco cardíaco pelo o bloqueio dos canais hERG K⁺, ligação dos diterpenos com o ligante da proteína quinase e/ou o ligante GPCR (proteína-acoplado G) e seus efeitos sobre os receptores.

Tabela 1. Predição de toxicidade via oral em roedores.

Classificação	Dose Letal 50%	Interpretação
Classe I	$DL_{50} \leq 5$	Fatal se ingerido
Classe II	$5 < DL_{50} \leq 50$	Fatal se ingerido
Classe III	$50 < DL_{50} \leq 300$	Tóxico se ingerido
Classe IV	$300 < DL_{50} \leq 2000$	Nocivo se ingerido
Classe V	$2000 < DL_{50} \leq 5000$	Pode ser prejudicial se ingerido
Classe VI	$DL_{50} > 5000$	Não tóxico

Legenda: DL- dose letal. Fonte: Autores.

Ao final foi avaliada a molécula mais promissora, sendo adotados os seguintes critérios: farmacocinético- ser rapidamente absorvido por via oral; rapidamente distribuído, inclusive para o Sistema Nervoso Central, não inibir e nem induzir o metabolismo de outros;

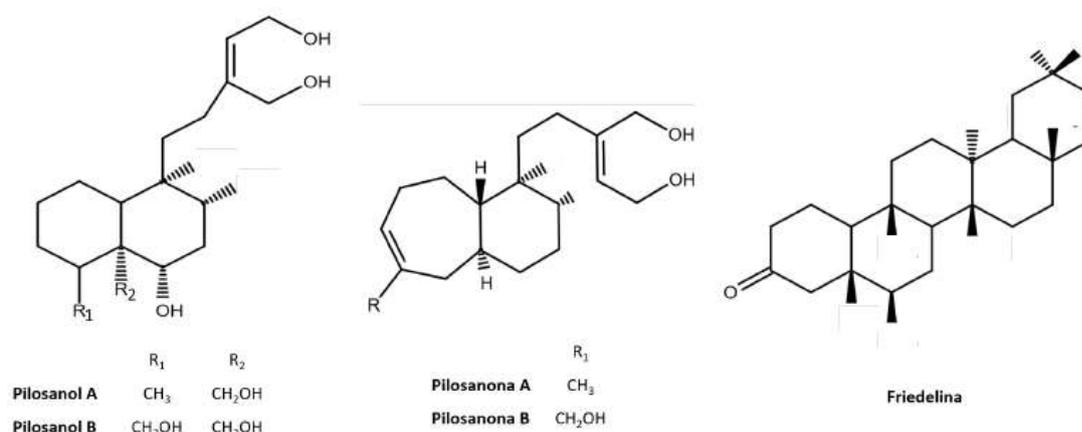
toxicológico: não ser citotóxico, nem genotóxico e mutagênico; se a predição de atividade teve relação as alegações de uso popular para a *P. pilosa*.

A atividade biológica foi realizada por similaridade com substâncias ativas através do software *Pass Online*, onde foi adotado o critério de exclusão de Pa (Probabilidade de atividade) acima de 0,7 (Stepanchikova, et al., 2003).

3. Resultados e Discussão

De *P. pilosa* já foram isolados Pilosanona A, Pilosanona B, Pilosanol A, Pilosanol B, Portulide e Friedelina (Figura1).

Figura 1. Diterpenos isolados de *Portulaca pilosa*.



Fonte: Autores.

Os estudos de predição sugerem que a Friedelina possui atividade cicatrizante, este efeito pode ser similar a enoxolona. A atividade anti-inflamatória de *P. pilosa* pode estar relacionada a três metabólitos: pilosanona A e pilosanol A, cujo seu efeito pode ser similar a dexametasona; portulide D que o programa comparou seu efeito anti-inflamatório a flucinolona (Tabela 2).

Quando se relacionou os estudos *in silico* ao uso etnobotânico houve uma divergência de resultados, visto que a planta possui alegação de uso popular como diurético (Silva, et al., 1998; Pinheiro, 2018.), porém os resultados do *in silico* sugerem um efeito antidiurético de seu metabólito. Não foram encontrados estudos que relatassem o uso da planta para o tratamento do câncer, no entanto, quatro metabólitos se mostraram promissores (Tabela 2)

Além disso, a Pilosanona A e B, Pilonasol A e B, Portulide e Friedelina podem ser potentes inibidores de proteases, inibirem proteases e alguns receptores nucleares, ainda podem modular canais iônicos. Deste modo, podem interferir em diferentes vias de sinalização celular e no metabolismo.

Na predição da atividade biológica somente o Pilonasol B, sugere ser uma. As Pilosanonas A-B e Pilosanos A-B possuem atividade inibitória sobre a enzima retinol desidrogenase. As retinóides desidrogenases (RDHs) / reductases (oxidoreductases), catalisam as principais reações de oxidação-redução no ciclo visual, convertendo a vitamina A em 11-cis retinal, que é o cromóforo dos fotorreceptores de haste e cone. Substância promissora como antiparasitário (Maeda, et al., 2005; Thompson, et al., 2005). Os pilosanos A e B também inibiram a atividade da enzima alquil-glicerol-fosfolina hidrolase. Descobertas mostraram que 1-alkil-2-acetil- glicero-3-fosfolina (Alquilacetil-GPC) é um mediador químico importante nos processos de hipotensão e agregação de plaquetas (Demopoulos, et al., 1979).

A alegação de uso de *P. pilosa* para o tratamento de processos inflamatórios (Anti, et al., 2008) pode estar relacionada aos metabolitos pilosanona A e pilosanol A, sendo proposto que esta atividade deve ser similar a dexametasona. Outro estudo avaliou a atividade anti-inflamatória, no teste de edema de pata induzido por carragenina e edema de orelha induzido pelo óleo cróton, o extrato hidroetanólico de *P. pilosa* (400 e 600 mg/kg, V.O.) não inibiu a formação de edema de maneira considerável em ambos os testes (Ferreira, 2012). A atividade anti-inflamatória tópica do Portulide foi comparada a flucinolona, nos estudos *in silico*.

A *P. pilosa* é atribuída a atividade diurética, entretanto, seu metabolito Pilosanona B pode ter um efeito antidiurético. Outro estudo demonstrou que ratos tratados com *P. pilosa* houve aumento na excreção de K⁺ (potássio), porém não alterou a excreção de água e Na⁺ (sódio) (Rocha, et al., 1994). Sugerindo, mais uma vez que a espécie não seja promissora como diurética.

Apesar de não ter sido encontrado a alegação de uso para câncer, foi atribuído o potencial antineoplásico para a Pilosanona A, Pilosanona B, Pilonasol A e Pilonasol B. Outro diterpeno de origem natural taxol, também conhecido como paclitaxel, é utilizado para o tratamento de diferentes tipos de câncer número de doenças proliferativas de tecidos humanos (Vennila, Kamalraj & Muthumary, 2012). Logo, é importante investigar o potencial antitumoral *in vitro* e *in vivo* dos diterpenos deste estudo.

Tabela 2. Alegações de uso popular e suas possíveis relações com o metabolito isolado de *P. pilosa*.

Alegação	Metabolito	Comentários
Cicatrizante ¹	Friedelina	Ao se comparar seu efeito a enoxolona observou uma acurácia de 80,5%, sendo que este composto inibi a produção de TNF- α e liberação de histamina (Jião, Zhang & Lou, 2007)
	Pilosanol B	Foi atribuída o efeito antileishmania, que pode estar relacionado a ferida de difícil cicatrização e o uso de <i>P. pilosa</i> pode estar relacionada ao fato de auxiliar na cicatrização
Anti-inflamatória ²	Pilosanona A e Pilosanol A	A atividade foi comparada a dexametasona com uma acurácia de 25,1%. Liga-se ao receptor Glicocorticoide interagindo com fatores de transcrição, tais como: a proteína ativadora 1 (AP-1) e o fator nuclear kB (NF-kB), promovendo efeito inibitório de suas funções. Desta forma, a síntese de citocinas pró-inflamatórias, como interleucina 6 (IL-6) e IL-2, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e prostaglandinas é reduzida (Anti, et al., 2008)
	Portulide	A atividade foi comparada a flucinolona com uma acurácia de 25,1%. Este composto é de uso tópico que possui atividade anti-inflamatória, anti-exudativa e anti-pruriginosa, através da inibição da migração celular (leucócitos, macrófagos, células inflamatórias) e ainda interfere na deposição de colágeno e formação de quelóide (Antonow, Monteiro & Araujo, 2007).
	Pilosanona A, Pilosanona B, Pilosanol A e Pilosanol B	Inibem a enzima retinal desidrogenase (RDH) que oxidam o retinal em ácido retinóico. Este liga-se a receptores intranucleares (RAR α , β , γ e RXR α , β , γ) ativando fatores de transcrição (Diniz, et al., 2002). Esta ativação pode resultar em diferenciação de vários tipos celulares durante o desenvolvimento fetal e também ao longo da vida (Sporn & Roberts, 1985), bloquear a ação de outros fatores de transcrição como o AP1, sendo que a expressão se mostra exacerbada em condições hiperproliferativas e inflamatórias (Nagpal, et al., 1995; Chandraratna, 1996). Logo, a inibição desta enzima pode contribuir, de forma indireta, negativamente para o tratamento da inflamação e câncer.
Ação diurética ³	Pilosanona B	A atividade foi comparada a desoxicortisona com uma acurácia de 25,1%. É um hormônio mineralcorticóide, usado no tratamento da hiperplasia suprarrenal congênita e insuficiência corticosuprarrenal primária crônica, evitando a perda excessiva de Na ⁺ (Antonow, Monteiro & Araujo, 2007), reduzindo a diurese, logo possuindo efeito é contrário ao alegado.
Antineoplásica ⁴	Pilosanona A, Pilosanona B, Pilosanol A e Pilosanol B	Para as 4 moléculas foi sugerido a atividade antineoplásica, entretanto, nenhuma via de sinalização relacionada a esta atividade foi alterada.

Fonte: 1- Silva, et al. (1998); Pinheiro, (2018); 2- Coelho-Ferreira & Jardim, (2005); Souza, (2010); Vásquez, et al., (2014) 3-Silva, et al., (1998); Pinheiro, (2018) 4-sem alegações de uso popular.

Em relação aos estudos de predição de toxicidade dos metabólitos isolados de *P. pilosa*, todos foram tóxicos para alga, porém apenas a Pilosanona A e a Friedelina foram tóxicas para *Daphnia magna*. Em relação a toxicidade para peixes, todos foram muito tóxicos, exceto a Friedelina que pode ser prejudicial. Nenhum composto parecer ser mutagênico, apenas o Portulide e Friedelina parecem apresentar potencial carcinogênico (Tabela 3).

Os estudos de predição de toxicidades agudas oral sugerem que as Pilosanonas A e B são tóxicas, que o Potulide e Fridelina podem ser nocivas e os Pilosanois A e B prejudiciais. Parece que os efeitos adversos podem resultar dos efeitos imunotóxicos e envolve a ligação ao receptor androgênico. Para as Pilosanonas A e B e Portulide outras proteínas podem estar envolvidas, tais como: prostaglandinas G (PGG) e H (PGH) síntese (Tabela 4).

A ativação de receptores androgênicos efeitos adversos físicos e psicológicos, podendo alterar atividade hepático, endócrino, musculoesquelético, cardiovascular, imunológico, reprodutivo. Entretanto, os efeitos tóxicos podem estar relacionados as alterações cardiovasculares (Rocha, Roque & Oliveira, 2007).

A maioria dos estudos que avaliaram os efeitos adversos e tóxicos resultantes da ativação de receptores androgênicos estão relacionados ao uso do hormônio, onde se observou o surgimento de calvície, erupções acnéicas; fechamento epifisário prematuro, aumento da libido; ruptura de tendão (Yesalis, et al. 1993); elevação dos níveis de lipoproteína de baixa densidade e redução dos níveis de lipoproteína de alta densidade (Kuipers, et al., 1991), mudanças do tempo de coagulação, aumento do hematócrito, o que pode favorecer a formação de trombos e aumentar os riscos de ocorrência de acidente vascular cerebral isquêmico, alteração da imunidade humoral, através da diminuição dos níveis das imunoglobulinas IgG, IgM e IgA (Dawson, 2001; Cunha, et al., 2004). Entretanto, parece que as alterações imunológicas ocasionadas pela ativação destes receptores pelos terpenos de *P. pilosa* são os principais efeitos adversos observados.

Tabela 3. Predição de toxicidade dos metabolitos isolados de *P. pilosa*.

Substâncias	Alga	Daphnia	Peixe		Mutagenicidade	Carcinogenicidade
			Medaka	Minnow	Ames	Rato/camundongo
Pilosanona A	Tóxico	Tóxico	Muito tóxico	Muito tóxico	Negativo	Negativos
Pilosanona B	Tóxico	Não tóxico	Muito tóxico	Muito tóxico	Negativo	Negativos
Pilosanol A	Tóxico	Não tóxico	Muito tóxico	Muito tóxico	Negativo	Negativos
Pilosanol B	Tóxico	Não tóxico	Muito tóxico	Muito tóxico	Negativo	Negativos
Portulide	Tóxico	Não tóxico	Muito tóxico	Muito tóxico	Negativo	+ / +
Friedelina	Tóxico	Tóxico	Prejudicial	Prejudicial	Negativo	+ / -

Parâmetros: Algas- < 1 mg/L tóxico; > 1 mg/L não tóxico (Costa, et al., 2008); Teste Daphnia- < 0,22 µg/mL Tóxico; > 0,22 µg/mL- não tóxico (Guilhermino, et al., 2000); Teste em peixes Medaka e Minnow: < 1 mg/L- muito tóxico; 1-10 mg/L- tóxico; 10-100 mg/L- prejudicial e > 100 mg/L- tão tóxico (Zuncker, 1985). Fonte: Autores.

Tabela 4. Predição de parâmetros toxicológica via oral de diterpenos de *P. pilosa*.

Toxicidade oral	Pilosanona A	Pilosanona B	Pilosanol A	Pilosanol B	Portulide	Friedelina
DL ₅₀ (mg/kg)	186 (tóxico)	186 (tóxico)	2100 (prejudicial)	2340 (prejudicial)	334,41 (nocivo)	426,72 (nocivo)
Efeito adverso	Imunotóxico					
Alvos envolvidos na toxicidade	RA, AO e PGH e PGG sintases	RA, AO e PGH e PGG sintases	RA	RA	RA, AO e PGH e PGG sintases	RA
Similaridade com RA	73,19%	73,63%	80,83 %	78,86%	71,65 %	88,73 %

Legenda: DL50- dose letal 50%; RA- receptor de androgênios; AO- amino oxidase; PGG- prostaglandina G. Fonte: Autores.

A ciclo-oxigenase (COX), é por vezes, chamada de prostaglandina H sintetase (PGHS) permite a formação da Prostaglandina G₂ (PGG₂), a partir do ácido araquidônico, e subsequente conversão da Prostaglandina H₂ (PGH₂), sendo esta precursora: Prostaglandina D₂ (PGD₂), Prostaglandina E₂ (PGE₂), Prostaglandina F₂ (PGF₂) e Prostaglandina I₂ (PGI₂ ou prostaciclina). As prostaglandinas possuem diferentes ações, tais como: vasodilatadora sistêmica (PGE₂ e PGI₂), vasodilatadora renal (PGE₂ e PGD₂), inibição da agregação plaquetária (PGI₂), recrutamento de leucócitos na resposta inflamatória (PGE₂ e PGF₂), controle do tônus muscular brônquico - broncodilatação ou broncoconstrição - (PGI₂, PGE₂ e PGF₂), controle do tônus muscular do trato gastrointestinal (PGE₂), controle da secreção de HCl pela mucosa gástrica (PGE₂) (Devlin, 2005)

Além disso, ao interferir na atividade das enzimas amino oxidase, várias atividades biológicas podem ser alteradas, tais como: indução de apoptose, indução de edema, hemorragia e inibição ou indução da agregação plaquetária.

Os estudos de predição da farmacocinética sugerem elevada difusão em MDCK da Pilosanona A e Pilosanol A, entretanto, a Friedelina a difusão foi baixa. Em relação a células Caco 2, todos os compostos apresentaram moderada difusão. Apenas o Pilosanol B ligou de forma baixa as proteínas plasmáticas, somente o Portulide não se distribuiu de forma moderada a elevada. Todos os compostos, provavelmente, devem ser metabolizados pela CYP3A4 e todos inibem esta CYP e outras (Tabela 5).

Tabela 5. Predição dos aspectos farmacocinéticos de compostos isolados de *Portulaca pilosa*.

	Pilosanona A	Pilosanona B	Pilosanol A	Pilosanol B	Portulide	Friedelina
Absorção						
MDCK	Elevada	Moderada	Elevada	Moderada	Moderada	Baixa
Caco 2	Moderada	Moderada	Moderada	Moderada	Moderada	Moderada
Distribuição						
Ligação PP	Elevada	Elevada	Elevada	Baixa	Elevada	Elevada
BHE	Elevada	Média	Média	Média	Baixa	Elevada
Metabolismo						
CYP	CYP3A4	CYP3A4	CYP3A4	CYP3A4	CYP3A4	CYP3A4
Inibição	CYP2C19	CYP2C19	CYP2C9	CYP2C9	CYP2C9	CYP2C9
	CYP2C9	CYP2C9			CYP3A4	CYP3A4

Legenda: MDCK- *Madin-Darby Canine Kidney*; Caco₂- Células de Adenocarcinoma de Cólon Humano; PP- proteína plasmática; BHE- barreira hematoencefálica; CYP- citocromo P450. Fonte: Autores.

Em relação as análises dos aspectos físico-químicos e sua consonância com a regra de Lipinski, todos os compostos seguiram esta regra, exceto a Friedelina em que se observou um coeficiente de partição óleo/água superior a 5 (Tabela 6). Este valor elevado do Log P (acima de 5) sugere que esta substância possua um caráter lipofílico, sendo que um fármaco muito

lipofílico pode ser insolúvel em meios aquosos, como nos fluidos gastrintestinal e sua absorção pode ser comprometida. E isto pode explicar a baixa difusão da Friedelina em células MDCK (Tabela 5).

Outra questão importante é, que fármacos mais lipofílicos podem se ligar mais fortemente as proteínas plasmáticas, reduzindo a fração livre deste. Em contraponto, fármacos muito hidrossolúveis podem apresentar dificuldade em se difundir através nas membranas gastrointestinais e atravessar a barreira hematoencefálica. Em relação ao número de aceptores de Hidrogênio, o menor número de aceptores propicia menos sítios que podem ligar com resíduos de aminoácidos, através de ligações de hidrogênios (Dolabela, et al., 2018).

Tabela 6. Propriedades físico-químicas de diterpenos isolados de *P. pilosa*.

Diterpenos	LogP	TPSA	n ALH	nDLH	MM
Pilosanona A	3,43	57,53	3	4	320
Pilosanona B	2,19	77,75	4	3	336
Pilosanol A	2,41	80,91	4	4	338
Pilosanol B	1,17	101,14	5	5	354
Portulide	1,32	83,83	1	0	426
Fridelina	7,85	17,07	5	2	348
Referência	≤ 5	≤ 140 Å	≤ 10	≤ 5	≤ 500 Da

Legenda: Regra de Lipinski: LogP- coeficiente de partição óleo-água ≤ 5; TPSA: área de superfície polarizada topológica ≤ 140 Å; nALH: aceptores de ligação de Hidrogênio ≤ 10; nDLH- número de grupos doadores de ligação hidrogênio ≤ 5; MM- massa molecular ≤ 500 g/mol. Fonte: Autores.

Outros aspetos importantes são a massa molecular e área de superfície polarizada topológica, que quando as moléculas violam a regra de Lipinski pode haver um impacto na distribuição para o sistema nervoso central. Todos os compostos avaliados neste estudo, provavelmente, são metabolizados pela CYP3A4 (Tabela 5), que oxidam moléculas lipofílicas, neutras, ácidos ou bases.

Todas as moléculas podem inibir CYP (Tabela 5), quando administrados concomitantemente com fármacos metabolizados pela enzima, podem interagir entre si e afetar o clearance sistêmico. A extensão e relevância clínica desta interação depende se o fármaco exerce atividade de substrato, indutor e/ou inibidor de enzimas CYP450 (Cheng, Frishman & Aronow, 2009; Braz, et al., 2018).

4. Conclusão

Quando se analisa os aspectos toxicológicos, farmacocinéticos e físico-químicos, as moléculas Pilosanol A e Pilosanol B parecem ser as mais promissoras, visto que estudo de

toxicidade oral aguda sugerem uma DL₅₀ superior a 2000mg/kg (prejudicial). Os resultados sugerem que os compostos possuem potenciais antitumoral e anti-inflamatório. No entanto, parece que o mecanismo de ação anti-inflamatório seja parecido com os corticosteroides, visto ligar a receptores de glicocorticoides e Pilosanol B liga-se a receptores RDH. O presente estudo corroborou com as alegações de uso cicatrizante e anti-inflamatório de *P. pilosa* e sugeri que os compostos Friedelina, Pilosanona A e Pilosanol A estejam envolvidos nestas atividades.

Visando comprovar as atividades antineoplásica e anti-inflamatória destas substâncias é importante a realização de estudos *in vitro* e *in vivo*. Também estudos de docagem pode contribuir para a melhor compreensão do mecanismo de ação.

Referências

Ajay, A., Bermis, G. W., & Murkco, M. A. (1999). Designing libraries with CNS activity. *J Med Chem.*, 42(24), 4942- 4951. doi: 10.1021/jm990017w.

Ames, B. N., McCann, J. & Yamasaki, E. (1975). Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutation Research/environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 31(6), 347-363. doi: [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(75\)90046-1](https://doi.org/10.1016/0165-1161(75)90046-1).

Anti, S. M. A., Giorgi, R. D. N., & Chahade, W. H. (2008). Antiinflamatórios hormonais: Glicocorticóides. *Einstein*, 6(1), 159-165.

Antonow, D. R., Monteiro, G. A. M., & Araujo, M. C. S. (2007). Glicocorticóides: uma meta-análise. *Disc. Scientia*, 8(1), 51-68.

Benevides, C. M. de J., Costa, C. C. M., Cardoso, Y. P., Lopes, M. V., Montes, S. de S. & Souza, A. C. dos S. (2020). Heat treatment effect study on bioactive compounds of unconventional food plants. *Research, Society and Development*, 9(11), e46691110045. doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i11.10045>.

Brandão, D. L. do N., Veiga, A. S. S., Quaresma, C. C., Busman, D. V., Lins, A. L. F. de A., Silveira, F. T., Campos, M. B., Percário, S., & Dolabela, M. F. (2020). Botanical survey and

leishmanicidal activity of grown-love. *Research, Society and Development*, 9(11), e3929119983. doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i11.9983>.

Brandão, D. L. N. (2012). *Portulaca pilosa L. e Geissosperma vellosii estudos botânicos, farmacognóstico, fitoquímico e atividades biológicas*. 177 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêutica) - Universidade Federal do Pará. Instituto de Ciências da Saúde, Belém. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

Braz, C. L., et al. (2018). Medicamentos com atividade sobre o citocromo P450 utilizados por idosos em domicílio. *Rev Med Minas Gerais*, 28, e-1927. doi: <http://dx.doi.org/10.5935/2238-3182.20180069>.

Carvalho, C. A., Fernandes, B. C. T. M., & Freire, R. B. (2005). Supressão da resposta imunitária humoral causada pela citrinina. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 57(2), 171-176. doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352005000200005>.

Chandraratna, R. A. S. (1996). Tazarotene, first of a new generation of receptor selective retinoids. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 135(49), 18-25. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.1996.tb15662.x>.

Cheng, J. W. M., Frishman, W. H. & Aronow, W. S. (2009). Updates on cytochrome P450-mediated cardiovascular drug interactions. *Am J Ther.*, 16, 155–163. doi: 10.1097/MJT.0b013e31813e63be.

Coelho-Ferreira, M. R. & Jardim, M. A. G. (2005). Algumas espécies medicinais usadas pelos moradores da ilha de Algodoal, Maiandeuá, município de Maracanã, Pará. *Bol Mus Para Emilio Goeldi*, 1(2), 45-51.

Correa-Barbosa, J., Silva, M. C. M. da, Percário, S., Brasil, D. do S. B., Dolabela, M. F., & Vale, V. V. (2020). *Aspidosperma excelsum* and its pharmacological potential: *in silico* studies of pharmacokinetic prediction, toxicological and biological activity. *Research, Society and Development*, 9(10), e3629108635. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i10.8635>.

Costa, C. R., Olivi, P., Botta, C. M. R., & Espindola, E. L. G. (2008). A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. *Quim Nova*, 31(7), 1820-1830. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000700038>.

Cunha, T. S., Cunha, N. S., Moura, M. J. C. S., & Marcondes, F. K. (2004). Esteróides anabólicos androgênicos e sua relação com a prática desportiva. *Rev. Bras. Cienc. Farm.[online]*, 40(2), 165-179.

Dawson, R. T. (2001). Drugs in sport - the role of the physician. *J. Endocrinol.*, 170(1), 55-61. doi: 10.1677/joe.0.1700055.

Demopoulos, C. A., Pinckard, R. N. & Hanahan, D. J. (1979). Platelet activating factor. Evidence for 1-O-alkyl-acetyl-srt-glyceryle-phosphocholine as the active component (a new class of lipid chemical mediators). *J. Biol. Chem.*, 254, 9355–9358.

Devlin, T. (2005). *Textbook of Biochemistry with clinical correlations*, Wiley-Liss, 6ª edição. ISBN 13 978-0-471-67808-3.

Diniz, D. G. A., Lima, E. & Antoniosi Filho, N. R. (2002). Isotretinoína: perfis farmacológico, farmacocinético e analítico. *Rev. Bras. Cienc. Farm.[online]*, 38(4), 415-430.

Dolabela, M. F., et al. (2018). Estudo *in silico* das atividades de triterpenos e iridoides isolados de *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson. *Revista Fitos*, 12(3), 227-242. doi: 10.17648/2446-4775.2018.602.

Drwal, M. N., Banerjee, P., Dunkel, M., Wettig, M. R., & Preissner, R. (2014). ProTox: a web server for the *in silico* prediction of rodent oral toxicity. *Nucleic Acids Res*, 42, 53- 58. doi: 10.1093/nar/gku401.

Ferreira F. A. (2012). *Avaliação das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do extrato hidroetanólico de partes aéreas de Portulaca pilosa L. (Portulacaceae)*. 121 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêutica) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências da Saúde, Belém. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.2012.

Guilhermino, L., Diamantino, T., Silva, M. C., & Soares, A. M. V. M. (2000). Acute toxicity test with *Daphnia magna*: Na alternative to mammals in the Prescreening of Chemical Toxicity? *Ecotoxicol Environ Saf.*, 46(3), 357- 362. doi: 10.1006/eesa.2000.1916.

Jiao, J. A., Zhang, Y., Lou, D. W. (2007). Antihyperlipidemic and antihypertensive effect of triterpenoid-rich extract from bamboo shavings and vasodilatador effect of friedelin on phenylephrine- induced vasoconstriction in thoracic aotas os rats. *Phytotherapy Research*, 21, 1135-1141.

Kuipers, H., Wijnen, J. A., Hartgens, F. & Willems, S. M. (1991). Influence of anabolic steroids on body composition, blood pressure, lipid profile and liver functions in body builders. *Int. J. Sports Med.*, 12 (4), 413-418.

Lipinski, C. A., Dominy, F. B. W., & Feeney, P. J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advenced Drug Delivery Reviews*, 46(1-3), 3-26. doi: 10.1016/s0169-409x(00)00129-0.

Lipinski, C. A. (2004). Lead-and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discov. Today Technol.*, 1, 337-42. doi: 10.1016/j.ddtec.2004.11.007.

Liu, L., Howe, P., Zhou, Y. F., Xu, Z. Q., Hocart, C. & Zhan, R. (2000). Fatty acids and β -carotene in Australian purslane (*Portulaca oleracea*) varieties. *Journal of Chromatography A*, 893, 207-213.

Maeda, A., et al. (2005). Role of Photoreceptor-specific Retinol Dehydrogenase in the Retinoid Cycle *in vivo*. *Journal Of Biological Chemistry*, 280(19), 18822-18832. doi: 10.1074/jbc.m501757200.

Moda, T. L. (2011). *Modelagem in silico de propriedades farmacocinéticas para a avaliação de candidatos a novos fármacos*. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Carlos.

Moraes, F. P. & Colla, L. M. (2018). Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. *Revista eletrônica de farmácia*, 3 (2), 109-122

Nagpal, S., Athanikar, J. & Chandraratna, R.S.A. (1995). Separation of trans-activation and AP1 antagonism functions of retinoic acid receptor α . *J. Biol. Chem.*, 270, 923-927.

Neves, E.S. (1980). *Introdução ao levantamento da flora medicinal de Rondônia*. Porto Velho: Secretaria de Ciência Tecnologia/Secretaria de Saúde. 285p.

Oliveira, B. L. do N. de, Brito, V. S. V., Bezerra, K. C. B., & Landim, L. A. dos S. R. (2020). Potential of using *Portulaca olearca* in the development of products for people with autism spectrum disorder- TEA. *Research, Society and Development*, 9(10), e4939108906. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i10.8906>.

Pass Online. *Prediction of biological activity*. Recuperado de: <http://www.way2drug.com/PASSonline>.

Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Pereira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). Metodologia da pesquisa científica. Santa Maria: UFSM, NTE. Recuperado de https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf.

Pinheiro, K.T.J.S. (2018). *Espécies de uso medicinal comercializadas em duas feiras de Manaus-AM*. 43p. TCC (TECNÓLOGO EM AGROECOLOGIA) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas, Manaus – AM.

Preadmet. (2018). ADME Prediction. Recuperado de: <https://preadmet.bmdrc.kr/admeprediction/>

Revilla, J. (2002). *Plantas Úteis da Bacia Amazônica*. Manaus, AM: SEBRAE-AM/INPA; 532 p.

Rocha, F. L., Roque, F. R. & Oliveira, E. M. (2007). Esteróides anabolizantes: mecanismos de ação e efeitos sobre o sistema cardiovascular. *O mundo da saúde São Paulo*, 31(4), 470-477.

Rocha, M. J., et al. (1994). Effects of hydroalcoholic extracts of *Portulaca pilosa* and *Achyrocline satureioides* on urinary sodium and potassium excretion. *J Ethnopharmacol.*, 43(3), 179-83. doi: 10.1016/0378-8741(94)90040-x.

Silva, D. A. (2015). *Screening de produtos naturais com potencialidade para tratamento de doenças ocasionadas por Helicobacter pylori: um estudo in vitro e in silico*. 108 p. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso Superior de Licenciatura em Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão

Silva, F. A., et al. (1998). Obtenção e caracterização de extratos de *Portulaca pilosa* (Amor-crescido). *XV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil*, Águas de Lindóia: Programa e Resumos, p 185.

Souza, C. C. V. (2010). *Etnobotânica de quintais em 3 comunidades ribeirinhas na amazônica central*. Manaus, AM: INPA/ UFAM, 91p.

Sporn, M. B., & Roberts, A. B. (1985). What is a retinoid? *In: Retinoids differentiation and disease. Ciba Found Symp.*, 113, 1-5.

Stepanchikova, A., et al. (2003). Prediction of Biological Activity Spectra for Substances: Evaluation on the Diverse Sets of Drug-Like Structures. *Current Medicinal Chemistry*, 10(3), 225-233. doi: 10.2174/0929867033368510.

Thompson, D. A. (2005). Retinal degeneration associated with RDH12 mutations results from decreased 11-cis retinal synthesis due to disruption of the visual cycle. *Human Molecular Genetics*, 14(24), 3865-3875. doi: 10.1093/hmg/ddi411.

Vásquez, S. P. F., et al. (2014). Etnobotânica de plantas medicinais em comunidades ribeirinhas do Município de Manacapuru, Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica*, 44(4), 457-472. doi: <https://doi.org/10.1590/1809-4392201400423>

Vennila, R., Kamalraj, S., & Muthumary, J. (2012). *In vitro* studies on anticancer activity of fungal taxol against human breast cancer cell line MCF-7 cells. *Biomedicine & Aging Pathology*, 2(1), 16-18. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biomag.2012.01.001>.

Yazdanian, M., et al. (1998). Correlating partitioning and caco-2 cell permeability of structurally diverse small molecular weight compounds. *Pharmaceutical Research*, 15(9), 1490-1494.

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

Yesalis, C. E., Courson, S. P., & Wright, J. E. (1993). History of anabolic steroid in sport and exercise. In: Yesalis, C.E., *Anabolic steroids in sport and exercise*. Champaign: Human Kinetics, 51-71.

Zucker, E. H. (1985). Hazard Evaluation Division—*Standard evaluation procedure—acute test for freshwater fish*. U.S. EPA Publication 540/9-85-006

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Dayse Lúcia do Nascimento Brandão – 20%

Hanna Patrícia dos Santos Martins-12,5%

Jéssica Melissa Oliveira Tomaz-12,5%

Gleison Gonçalves Ferreira-12,5%

Hanna Oeiras Ramos-12,5%

Sandro Percário- 10%

Maria Fâni Dolabela – 20%