

Estudo *in silico* das atividades de triterpenos e iridoides isolados de *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson

In silico activities prediction of triterpenes and iridoids isolated from *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson

DOI 10.17648/2446-4775.2018.602

Dolabela, Maria Fâni^{1*}; da Silva, Amanda Roberta Palheta¹; Ohashi, Leticia Hiromi¹; Bastos, Mirian Leticia Carmo¹; da Silva, Milena Cristina Martins¹; Vale, Valdicley Vieira¹.

¹Universidade Federal do Pará – UFPA, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Instituto de Ciências da Saúde (ICS). Rua Augusto Corrêa, 01, Campus Universitário do Guamá, Campus III – Complexo da Saúde, CEP: 66075-110, Belém, Pará, Brasil.

*Correspondência: fanidolabela@gmail.com

Resumo

O presente trabalho realizou estudos *in silico* para predição das atividades farmacocinética, toxicológica e biológica de triterpenos e iridoides isolados de *Himatanthus articulatus*, utilizada popularmente contra malária, afecções na pele, helmintíases, úlceras gástricas, gastrites, tumores e sífilis. As comparações foram realizadas através dos programas: ChemSketch, PreADMET e PASS online. As características físico-químicas dos compostos foram estimadas pelos servidores *online* Mcule property calculator e Chemicalize.org. Os resultados revelaram que os triterpenos e os iridoides não glicosilados (plumericina e isoplumericina) apresentaram absorção intestinal acima de 90%. Apenas a plumericina e a isoplumericina seguem a regra de Lipinsk, além de apresentarem atividade antineoplásica, antibacteriana e antifúngica. O cinamato de lupeol, cinamato de α -amirina e acetato de lupeol provavelmente atuam nos sinais e sintomas da malária, porém, o acetato de lupeol apresentou maior número de reações adversas. Todas as substâncias mostraram carcinogenicidade, mas apenas os triterpenos demonstraram mutagenicidade. Em termos farmacocinético, toxicológico e biológico, apenas a plumericina e a isoplumericina apresentaram resultados satisfatórios.

Palavras-chave: *Himatanthus articulatus*. Farmacologia. Toxicologia. Predição.

Abstract

This study predicted by *in silico* methods, the pharmacokinetic, toxicological and biological activities of triterpenes and iridoids isolated from *Himatanthus articulatus*, used in Brazilian folk medicine to treat malaria, skin conditions, helminthiasis, gastric ulcers, gastritis, tumors and syphilis. The comparisons were made through the ChemSketch, PreADMET and PASS online programs. The physicochemical characteristics of the compounds were estimated by Mcule property calculator and Chemicalize.org.online

servers. The triterpenes and non-glycosylated iridoids (plumericin and isoplumericin) presented intestinal absorption above 90%. Only plumericin and isoplumericin follow the rule of Lipinski, besides presenting antineoplastic, antibacterial and antifungal activity. Lupeol cinnamate, α -amirin cinnamate and lupeol acetate probably act on the signs and symptoms of malaria, but lupeol acetate presented a greater number of adverse reactions. All substances showed carcinogenicity, but only triterpenes demonstrated mutagenicity. In pharmacokinetic, toxicological and biological terms, only plumericin and isoplumericin presented satisfactory results.

Keywords: *Himatanthus articulatus*. Pharmacology. Toxicology. Prediction.

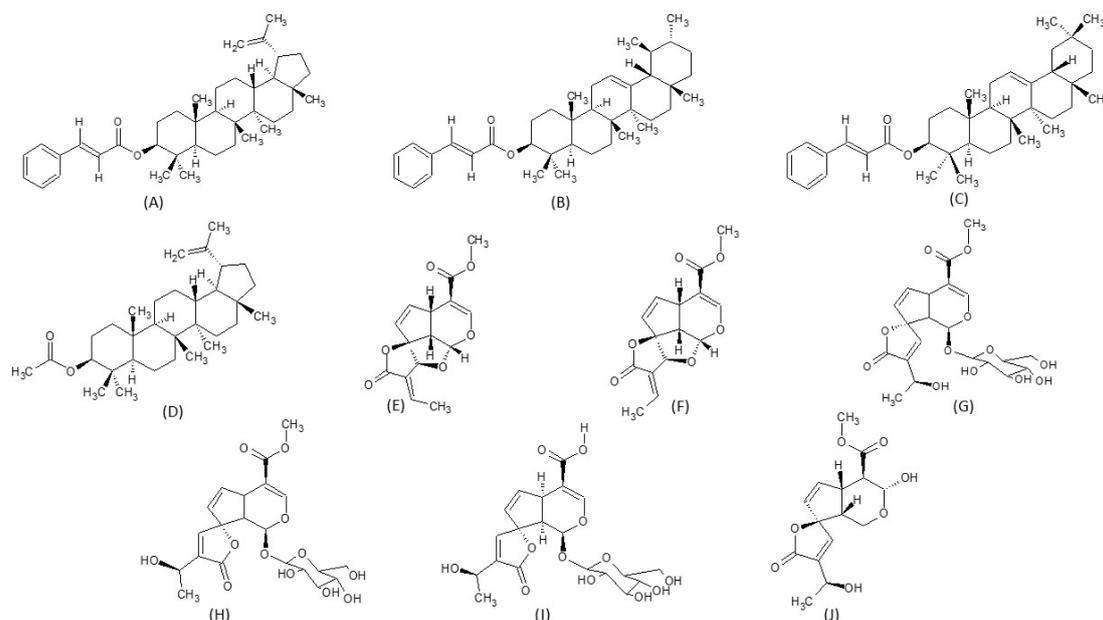
Introdução

A espécie *Himatanthus articulatus* (família Apocynaceae) é encontrada na Bolívia, Panamá, Colômbia, Peru, Venezuela, Guiana, Suriname, Guiana Francesa e no Brasil, ocorrendo neste último nos Estados do Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Roraima, Goiás e Mato Grosso⁽¹⁾. Conhecida popularmente como súcuba, janaguba ou sucuuba, seu látex e o decocto das cascas são usados na medicina popular na Amazônia peruana e brasileira para o tratamento da malária⁽²⁾. Outros usos relatados são: tratamento de afecções na pele, helmintíases, úlceras gástricas, gastrites⁽³⁾, tumores⁽⁴⁾ e sífilis⁽⁵⁾.

Botanicamente, *H. articulatus* e *H. sucuuba* foram tratadas como espécies diferentes. No entanto, em revisão do gênero, estas passaram a ser consideradas sinônimas e o nome aceito é *H. articulatus*⁽¹⁾. Caracteriza-se por ser uma árvore que pode atingir 10 a 20 metros de altura, apresenta tronco vultoso e casca gretada, folha simples, alterna espiralada, glabra, coriácea e de margem inteira, com flores brancas em campânulas de base amarela, os frutos são fálcos verdes, quando imaturos e marrom escuro quando maduros⁽⁶⁾.

O extrato hexânico de *H. sucuuba* foi submetido ao fracionamento em coluna de sílica gel, utilizando eluentes de polaridades crescentes, isolando os seguintes ésteres triterpenos: cinamato de lupeol (**FIGURA 1A**), cinamato de α -amirina (**FIGURA 1B**), cinamato de β -amirina (**FIGURA 1C**), acetato de lupeol (**FIGURA 1D**). Também foram isolados os iridoides, plumericina (**FIGURA 1E**) e isoplumericina (**FIGURA 1F**)⁽⁷⁾. Do extrato etanólico isolou-se o iridoide plumierídeo (**FIGURA 1G**)⁽⁸⁾. Em outro estudo, realizado com o extrato aquoso, obtido por infusão das cascas de *H. sucuuba*, foi isolado e identificado o isoplumierídeo (**FIGURA 1H**)⁽⁹⁾. Do látex, isolou-se o ácido 15-desmetilisoplumierídeo (**FIGURA 1I**)⁽¹⁰⁾. O Plumeridóide C (**FIGURA 1J**) foi isolado a partir das cascas por meio de partição líquido-líquido, além de várias outras técnicas cromatográficas e cristalização⁽¹¹⁾.

FIGURA 1: Substâncias isoladas de *H. articulatus*.



Legenda: A- cinamato de lupeol, B- cinamato de α -amirina, C- cinamato de β -amirina, D- acetato de lupeol, E- plumericina, F- isoplumericina, G- plumierídeo, H- isoplumierídeo, I- ácido 15-desmetilisoplumierídeo e J- plumierídóide C.

Estudos anteriores demonstraram diversas atividades biológicas atribuídas a estes compostos. O cinamato de lupeol, cinamato de α -amirina, cinamato de β -amirina e o acetato de lupeol apresentaram atividades anti-inflamatória e analgésica (12,13). O extrato, frações e plumierídeo obtidos da casca de *H. articulatus* foram considerados inativos ($CI_{50} > 50 \mu\text{g/mL}$) para atividade antiplasmodica *in vitro* (cepas W2 do *P. falciparum*), contudo, em testes com camundongos infectados com *Plasmodium berghei*, promoveram maior sobrevivência. Provavelmente, o uso popular desta espécie como antimalárico, pode estar relacionado ao fato de ocorrer uma redução dos sinais e sintomas da doença como, por exemplo, prevenção da malária cerebral(8).

Em termos fitoquímicos, os infusos, chás e látex de *H. articulatus* contêm, provavelmente, diferentes metabólitos secundários, conforme dito anteriormente. No entanto, a maioria desses constituintes carece de informações sobre os aspectos farmacocinéticos e toxicológicos. Este artigo descreve, pela primeira vez, os resultados farmacocinéticos, toxicológicos e atividades biológicas obtidos nos estudos *in silico* das moléculas isoladas de *H. articulatus*.

Materiais e métodos

1. Coleta de dados

Neste trabalho foi realizado um levantamento bibliográfico dos estudos realizados com *H. articulatus*, selecionando os principais triterpenos e iridoides já isolados.

2. Estudos *in silico*

No estudo foram utilizados os seguintes programas: ChemSketch versão 11.02, 2008, para o desenho das estruturas químicas; PreADMET (versão 2.0, Copyright® 2005) ⁽¹⁴⁾, para as predições farmacocinéticas e toxicológicas; PASS online -*Prediction of activity spectra for substances* (Way2Drug.com® 2011 versão 2.0 – 2016)⁽¹⁵⁾, para as previsões de espectros de atividades biológicas, Sistema operacional Windows 2010⁽¹⁶⁾; os servidores *online* Mcule property calculator (Mcule – 2017)⁽¹⁷⁾ e Chemicalize.org (ChemAxon, Southan 2013 - Copyright® 1998-2017 ChemAxon Ltd.)⁽¹⁸⁾, para estimar as características físico-químicas dos compostos.

Os cálculos de ADMETox foram realizados por comparação com substância semelhante, seguindo a regra de Lipinski ou "regra dos cinco" e de líder-similar, nos quais se estabelece que uma molécula deve apresentar valores para 4 parâmetros múltiplos de 5: log P menor ou igual a 5, Massa Molecular menor ou igual a 500, aceptores de ligação de Hidrogênio menor ou igual a 10 e doadores de ligação de hidrogênio menor ou igual a 5⁽¹⁹⁾.

Nos estudos farmacocinéticos avaliou-se a permeabilidade cutânea (alta permeabilidade: <0,1, Baixa permeabilidade: > 0,1) e a absorção intestinal (Human intestinal absorption = HIA), sendo considerados os seguintes parâmetros: HIA 0-20% (baixa absorção), 20-70% (moderada absorção), >70% (elevada absorção)⁽²⁰⁾; Permeabilidade em células Caco2 e MDCK - Alta permeabilidade >70 nm/sec, média permeabilidade 4-70 nm/sec e baixa permeabilidade <4 nm/sec⁽²¹⁾. Em relação à distribuição das substâncias se utilizou os seguintes referenciais: ligado fortemente à albumina >90% e ligação moderada a fraca à albumina <90%⁽¹⁴⁾. Em relação à substância atravessar ou não a barreira hematoencefálica, utilizou-se os seguintes critérios: atravessa livremente a BHE >2,0, atravessa de forma moderada a BHE 2,0-0,1 e atravessa de forma reduzida ou não atravessa <0,1⁽²²⁾.

Para avaliação dos resultados de metabolismo foram utilizados os seguintes critérios: se as substâncias sofrem metabolismo de fase 1, se inibem alguma CYP e quais CYP foram inibidas. Substâncias que inibem 2 ou mais CYP, em especial CYP3A4 e CYP2C9, podem interferir no metabolismo de um grande número de fármacos e outras substâncias, podendo contribuir para elevação da sua toxicidade. Para substâncias que inibem apenas uma CYP, pode ocorrer redução do número de fármacos que possuem interação farmacocinética com esta. Substâncias não inibidoras e não indutoras de CYP são consideradas substâncias ideais, pois não interferem no metabolismo de outros fármacos.

Para a predição da mutagenicidade utilizou-se o Teste Ames, sendo usadas várias estirpes da bactéria *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100 e TA1535). A variável testada é a capacidade de o agente mutagênico provocar a reversão para o crescimento em meio isento de histidina⁽²³⁾. Para interpretação dos resultados do teste de Ames considerou-se positivo quando houve reversão da mutação em uma ou mais bactérias, negativo quando não foi observada reversão da mutação nas mesmas. Quando houve falso positivo, isto é, não houve reversão da mutação em nenhum clone da bactéria e mesmo assim o programa classificou como mutagênico, o resultado não foi considerado.

A predição do potencial carcinogênico dos compostos em roedores (Rodent Carcinogenicity) foi realizada a partir dos dados de National Toxicology Program (NTP) e FDA (Food and Drug Administration). Os resultados foram expressos em: + carcinogênico e – não carcinogênico.

Quanto à avaliação dos critérios de toxicidade em organismos marinhos, foram considerados os seguintes parâmetros: toxicidade em algas - tóxicos < 1 mg/L e não tóxicos > 1 mg/L⁽²⁴⁾; toxicidade em *Daphnia* sp - tóxico < 0,22 µg/mL e não tóxico > 0,22 µg/mL⁽²⁵⁾; toxicidade em peixes Medaka - muito tóxico < 1 mg/L, tóxico entre 1-10 mg/L, prejudiciais entre 10-100 mg/L e não tóxico > 100 mg/L⁽²⁶⁾.

A atividade biológica das substâncias foi avaliada por similaridade com mais de 250.000 substâncias biologicamente ativas, incluindo fármacos e compostos tóxicos. Como critério de avaliação adotou-se o Pa (Probabilidade de atividade) de 0,7, ou seja, 70%⁽¹⁶⁾.

Resultados e Discussão

Para realização deste estudo foram selecionados os principais metabólitos isolados de *H. articulatus*, tais como: triterpenos (cinamato de lupeol, cinamato de α -amirina, cinamato de β -amirina, acetato de lupeol), iridoides não glicosilados (plumericina, isoplumericina e plumieróide C) e iridoides glicosilados (plumierídeo, isoplumierídeo e ácido 15-desmetilisoplumierídeo) (**FIGURA 1**), que em estudos anteriores demonstraram-se promissores para atividade anti-inflamatória, antimicrobiana, antifúngica, atividade antitumoral, entre outras⁽¹³⁾.

Em relação à absorção dos compostos, o programa Preadmet avaliou a permeabilidade em células epiteliais, células Caco2 e células MDCK. As células Caco2 são oriundas de adenocarcinoma de cólon humano (intestino grosso) e possuem a capacidade de diferenciar-se em enterócitos. Os resultados demonstram que todas as substâncias avaliadas apresentaram alta permeabilidade cutânea, porém média permeabilidade em células Caco2. As células MDCK (Madin-Darby canine kidney) são oriundas de rim canino e sofrem diferenciação em células epiteliais colunares com membranas semipermeáveis quando cultivadas, por isso, são utilizadas para avaliação da permeabilidade *in vitro* de novos compostos desde 1989⁽²⁷⁾. Ambas, Caco2 e MDCK são utilizadas para prever a absorção de compostos, pois, formam junções entre as células⁽²⁸⁾. Em células MDCK, os iridoides glicosilados apresentaram média permeabilidade enquanto que triterpenos e iridoides não glicosilados se mostraram menos permeáveis. Isso significa que todas as substâncias avaliadas possuem média absorção em células do intestino grosso, mas apenas os iridoides glicosilados tem média permeabilidade em células renais.

Os triterpenos cinamato de lupeol, cinamato de α -amirina, cinamato de β -amirina, acetato de lupeol – possuem absorção de 100% pelo trato gastrointestinal, enquanto, os iridoides possuem uma menor taxa de absorção. Observou-se que, os iridoides não glicosilados (plumericina= 96,05%, isoplumericina= 96,05% e plumieróide C= 78,38%) apresentaram maior absorção no trato gastrointestinal que os iridoides glicosilados (plumierídeo = 21,46%, isoplumierídeo = 21,46%, ácido 15-desmetilisoplumierídeo= 11,76%) (**TABELA 1**). Tais fatos estão relacionados aos coeficientes de partição óleo-água, isto é, os triterpenos possuem coeficiente de partição (Log P em torno de 8,0), possuindo elevada lipossolubilidade e isso favorece sua absorção atravessando as membranas por difusão passiva. Os iridoides glicosilados possuem caráter polar, o que dificulta a travessia em barreiras celulares, porém, pode contribuir para a solubilidade em meio aquoso devido ao maior número de hidroxilas presentes na molécula⁽²⁹⁾ (**TABELA 2**).

As moléculas de isômeros plumericina e isoplumericina apresentam coeficiente de partição baixo (Log P 0,84), assim como o C (-0,47), sugerindo elevado caráter polar. No entanto, se enquadram perfeitamente

nas regras dos cinco: a molécula para ser bem absorvida deve possuir $\text{Log } P \leq 5$ (ser capaz de solubilizar em água e atravessar membranas), peso molecular menor que 500 Da, no máximo 10 grupos aceptores de hidrogênio e no máximo 5 doadores (**TABELA 2**). Ambas as estruturas apresentam 6 grupos aceptores e nenhum grupo doador de hidrogênio. Essas características são essenciais para uma estrutura química candidata a fármaco⁽¹⁹⁾.

Os triterpenos, provavelmente, ligam-se fortemente às proteínas plasmáticas (100%), o que pode ser considerado um resultado superestimado, pois existe um equilíbrio entre a fração ligada à proteína plasmática e a fração livre. Em geral, fármacos e hormônios sexuais (que possuem anel esteroidal) ligam-se fortemente a Globulina Transportadora de Hormônios Sexuais e de forma muito reduzida à albumina⁽³⁰⁾. Devido às semelhanças estruturais entre os triterpenos e os hormônios sexuais, provavelmente, estes triterpenos podem se ligar a esta proteína, visto que, o programa trabalha com comparação ao seu banco de dados e há substâncias parecidas com os triterpenos, como os próprios esteroides humanos.

Como é de se esperar, os iridoides glicosilados (plumierídeo, isoplumierídeo e ácido 15-desmetilisoplumierídeo) não atravessam, de forma eficiente, a barreira hematoencefálica, enquanto os iridoides não glicosilados (plumericina, isoplumericina e o plumeridóide C) atravessam de forma moderada. Os triterpenos, devido ao seu anel esteroidal, atravessam esta barreira de forma eficiente (**TABELA 1**). Semelhante à absorção, os aspectos relacionados à lipossolubilidade interferem neste aspecto farmacocinético. Isto é, quanto maior for a lipossolubilidade, maior a capacidade de a substância atravessar a membrana⁽²⁹⁾.

No que concerne ao metabolismo por CYP, os triterpenos são metabolizados pela CYP3A4, pois possuem caráter mais lipofílico e tendem a permanecer no organismo. Desta forma, estas substâncias passam pelo processo de biotransformação e se transformam em metabólitos com características mais hidrofílicas. Contudo, os iridoides não glicosilados (plumericina e isoplumericina) que possuem caráter polar são, também, metabolizados pela CYP3A4, ficando ainda mais hidrofílicos. O plumeridóide C, por possuir duas hidroxilas a mais, em sua estrutura, comparada a estrutura da plumericina e da isoplumericina, torna-se mais polar, ligando-se fracamente à CYP3A4. Os iridoides glicosilados, por possuírem um caráter mais hidrofílico, devido à presença da molécula de glicose em sua estrutura, se ligam fracamente à CYP3A4 e são facilmente excretados na urina.

Os triterpenos e os iridoides não glicosilados são capazes de inibir as enzimas CYP2C9 e CYP3A4 (**TABELA 1**). A potência de um inibidor é determinada por seu caráter lipofílico e pela força de ligação⁽³¹⁾. Quando se avalia o caráter lipofílico destas moléculas, pode-se sugerir que os triterpenos, possivelmente, são mais potentes inibidores destas enzimas que os iridoides não glicosilados. A cimetidina é um inibidor reversível relativamente mais fraco (baixa lipossolubilidade e menor afinidade pelo CYP). Por outro lado, o cetoconazol é um potente inibidor do CYP (alta lipossolubilidade)⁽³²⁾. Os iridoides glicosilados possuem menor lipossolubilidade, sendo observado, no estudo preditivo, a inibição de CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19, sendo provável que esta seja fraca.

Tabela 1: Predições farmacocinéticas das substâncias isoladas de *Himatanthus articulatus*.

Moléculas	Absorção				Distribuição		Metabolismo	Inibição
	Cutânea	IG-MDCK (nm/sec)	IG Caco2 (nm/sec)	AIH(%)	PP (%)	BHE	Fase 1	CYP
Triterpenos								
Cinamato de lupeol	Alta	0,045	53,50	100,0	100,0	Alta	CYP3A4	CYP3A4, CYP2C9
Cinamato de α -amirina	Alta	0,049	53,80	100,0	100,0	Alta	CYP3A4	CYP3A4, CYP2C9
Cinamato de β -amirina	Alta	0,045	53,55	100,0	100,0	Alta	CYP3A4	CYP3A4, CYP2C9
Acetato de lupeol	Alta	0,066	51,03	100,0	100,0	Alta	CYP3A4	CYP3A4, CYP2C9
Iridoides								
Plumericina	Alta	2,46	23,14	96,05	76,21	Baixa	CYP3A4	CYP3A4, CYP2C9
Isoplumericina	Alta	2,46	23,14	96,05	76,21	Baixa	CYP3A4	CYP3A4, CYP2C9
Plumierídeo	Alta	15,89	18,06	21,46	33,37	Baixa	Fracamente	CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19
Isoplumierídeo	Alta	15,89	18,06	21,46	33,37	Baixa	Fracamente	CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19
Ácido 15-desmetilisoplumierídeo	Alta	18,82	17,01	11,76	32,75	Baixa	Fracamente	CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19
Plumeridóide C	Alta	0,69	20,97	78,38	47,18	Baixa	Fracamente	CYP3A4, CYP2C9,

Legenda: Permeabilidade cutânea – alta permeabilidade: <0,1, Baixa permeabilidade: > 0,1; Permeabilidade em células Caco2 e MDCK – Alta permeabilidade: >70 nm/sec, Média permeabilidade: 4-70 nm/sec, Baixa permeabilidade <4 nm/sec; Absorção intestinal – Alta absorção: 70-100%, Absorção moderada: 20-70%, Mal absorvida: 0-20%; Ligação às proteínas plasmáticas – Fortemente >90%, Fracamente <90%; Distribuição na Barreira hematoencefálica – Alta distribuição > 2,0, Média distribuição 2,0-0,1, Baixa distribuição >1,0.

Outro fator importante a ser observado em relação à inibição de CYP é a massa molecular. Isto é, moléculas com menor peso molecular podem inibir de forma mais efetiva a enzima por facilitar o contato dessas com os sítios alostéricos. Dessa forma, quem tem a menor massa molecular são os iridoides não glicosilados plumericina e a isoplumericina com massa de apenas 290,26 g/mol. No entanto, observou-se que os iridoides glicosilados inibiram maior diversidade de enzimas CYP (**TABELA 2**). Isto pode estar relacionado ao número de aceptores de Hidrogênio.

De acordo com a regra de Lipinski⁽¹⁹⁾, além da massa molecular, outros fatores físico-químicos devem ser considerados, como o Log P e o número de aceptores de Hidrogênio. Quando se avalia o Log P apenas os triterpenos apresentam valores acima de 5, garantindo a essas substâncias caráter lipofílico. No que concerne ao número de aceptores de Hidrogênio, o maior número de aceptores propicia maior quantidade de sítios que podem reagir com resíduos de aminoácidos, através de ligações de hidrogênios. Quem tem maior número de aceptores são os iridoides glicosilados que possuem 12, e em menor quantidade os triterpenos com apenas 2 aceptores de hidrogênio (**TABELA 2**).

Então, considerando os parâmetros farmacocinéticos e físico-químicos, as moléculas mais promissoras são a plumericina e a isoplumericina. As análises demonstraram que estes compostos, teoricamente, terão bom comportamento farmacocinético, biodisponibilidade e bioatividade, portanto, poderão seguir estudos para a obtenção de novos fármacos⁽¹⁹⁾.

Tabela 2: Predição das características físico-químicas das substâncias isoladas de *Himatanthus articulatus*

Moléculas	Massa molecular (g/mol)	logP	Solubilidade*	HBA**	HBD***
Triterpenos					
Cinamato de lupeol	556.85	10,28	Baixa	2	0
Cinamato de α -amirina	556.85	10,28	Baixa	2	0
Cinamato de β -amirina	556.85	10.43	Baixa	2	0
Acetato de lupeol	468.75	8.59	Baixa	2	0
Iridoides					
Plumericina	290.26	0.84	Alta	6	0
Isoplumericina	290.26	0.84	Alta	6	0
Plumierídeo glicosilado	470.42	-2.37	Alta	12	5
Isoplumierídeo glicosilado	470.42	-2.37	Alta	12	5
Ácido 15-desmetilisoplumierídeo	456.39	-2.46	Alta	12	6
Plumeroide C	310.29	-0.47	Alta	7	2

Legenda: *Solubilidade em solvente aquoso; **HBA - hydrogen-bond acceptors (Aceitadores de ligação de hidrogênio); *** HBD - hydrogen-bond donors (número de doadores de ligação de hidrogênio). Massa molecular \leq 500; Log P \leq 5; HBA \leq 10; HBD \leq 5.

Vários triterpenos e iridoides mostraram-se ativos em diferentes linhagens celulares, apresentaram atividade antimicrobiana e alterações metabólicas (inibição da síntese de colesterol, aumento da liberação de insulina e atividade antioxidante). Os triterpenos, na predição de atividade biológica, apresentaram atividade antineoplásica e o possível mecanismo envolvido nesta atividade, com exceção do acetato de lupeol, é a indução de apoptose, estando envolvidas as caspases 3 e 8 (**TABELA 3**).

As caspases são proteases que clivam proteínas após o resíduo de ácido aspártico, sendo essencial para apoptose. Falhas no processo de apoptose podem levar ao desenvolvimento de tumores, doenças autoimunes, isquemia e mal de Alzheimer⁽³³⁾. No presente estudo os triterpenos mostraram-se promissores ativadores de caspases 3 e 8, conseqüentemente, devem induzir a apoptose.

Plumierídeo e ácido 15-desmetilisoplumierídeo, nos estudos *in silico*, apresentaram ativação seletiva para a caspase 8. Enquanto os triterpenos (cinamato de lupeol, cinamato de α -amirina e cinamato de β -amirina) e os iridoides não glicosilados, não apresentaram seletividade, isto é, ativam tanto a caspase 3, quanto a caspase 8 (**TABELA 3**). Os triterpenos são substâncias com maior lipossolubilidade, podendo realizar ligações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio com as enzimas, enquanto que os iridoides possuem caráter mais polar. Em síntese, os triterpenos, podem ser mais promissores na indução de apoptose.

Em relação à predição de atividades, antibacteriana e antifúngica, os iridoides glicosilados e não glicosilados mostraram-se ativos em ambos os microrganismos. Estudos preditivos demonstraram que os triterpenos (cinamato de lupeol, cinamato de α -amirina, cinamato de β -amirina e acetato de lupeol) possuem atividades, antifúngica e anti-leishmania. Contudo, apenas o cinamato de lupeol, cinamato de α -amirina, cinamato de β -amirina apresentaram atividade antiviral.

Alguns fármacos antifúngicos como, por exemplo, o cetoconazol, da família dos imidazois, inibem enzimas do citocromo P450 do microrganismo, bloqueando a síntese do ergosterol a partir da desmetilação do lanosterol, interferindo na permeabilidade da membrana e a viabilidade dos fungos⁽³⁴⁾. As moléculas (iridoides e triterpenos) possuem ação inibitória sobre as CYP. Talvez este seja o mecanismo envolvido na atividade antifúngica (**TABELA 3**).

Os estudos *in silico* não identificaram nenhuma molécula com atividade antiplasmódica. Em estudos *in vitro*, utilizando clone de *Plasmodium falciparum* sensível (3d7) e resistente à cloroquina (W2), os iridoides também não foram capazes de reduzir significativamente a parasitemia^(35,8). Logo, existe uma coerência entre os estudos *in silico* e *in vitro*.

No entanto, no ensaio *in vivo* em camundongos infectados com *P. berghei*, observou-se uma melhora clínica nos animais tratados com o extrato etanólico de *H. articulatus* (200 mg/Kg), não havendo perdas por mortes neste grupo. Também se observou redução nos níveis de nitrito e nitrato cerebral, provavelmente, esta proteja os camundongos da malária cerebral. Ainda foi observada redução dos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) pulmonar. Essa redução sugere diminuição no processo inflamatório relacionado a peroxidação lipídica das células pulmonares, aumentando a sobrevivência do animal. Além disso, há indícios de que os iridoides possam atuar como anti-inflamatórios, por serem antioxidantes. Assim, a planta pode atuar como antimalária e não como antiplasmódica, ou seja, atua na melhora clínica da doença e não inibindo o crescimento do parasito, podendo ser utilizada como um coadjuvante na terapia⁽⁸⁾. Outra explicação para este fato são os compostos presentes na espécie atuarem de forma sinérgica para ação antimalária, assim como o ocorrido entre a associação de alcaloides isolados de cascas de Cinchona: quinina, quinidina e cinchonina. Ensaio, utilizando clone de *P. falciparum* resistente quinina, avaliou a atividade destes alcaloides de forma isolada e associada, sendo observada uma diminuição drástica na concentração inibitória 50% (CI₅₀) nesta associação⁽³⁶⁾.

Conforme dito anteriormente, o uso popular desta espécie pode estar relacionado a seu efeito sobre a patogênese da malária. Isto é, as alterações oxidativas e efeito anti-inflamatório, pois, tanto o parasito quanto o hospedeiro, frente a infecção por malária, produzem uma grande quantidade de radicais livres, que no caso do hospedeiro é para eliminação do parasito. O parasito, por outro lado, utiliza a produção de radicais livres para infectar as células, primeiro as do fígado (hepatócitos), depois as sanguíneas, causando processos inflamatórios⁽³⁷⁾.

Observou-se que todos os triterpenos e iridoides apresentaram atividade antioxidante, ou seja, serão responsáveis pela captura de radicais livres, impedindo estes de danificar as células. Apenas os triterpenos (A, B, C, D) inibem a síntese de óxido nítrico (NO), diminuindo a chance da malária evoluir para as formas severas. Os triterpenos cinamato de lupeol, cinamato de α -amirina, acetato de lupeol (A, B, D) e os iridoides glicosilados (G, H, I) apresentaram atividade anti-inflamatória (**TABELA 3**), reduzindo o processo inflamatório causado pela infecção às células pelo parasito. Dessa forma, observa-se que os mais

promissores quanto a atividade antioxidante, inibição da síntese de NO e o efeito anti-inflamatório são os triterpenos cinamato de lupeol, cinamato de α -amirina, acetato de lupeol (A, B, D).

Os triterpenos (cinamato de lupeol, cinamato de α -amirina, cinamato de β -amirina e acetato de lupeol) possuem semelhança estrutural com os corticosteroides, devido à presença do anel esteroidal (glicorticoide), ao qual tem sido atribuída atividade anti-inflamatória, estimulando a transcrição de proteínas anti-inflamatórias, além de reduzir a síntese de citocinas pró-inflamatórias como interleucinas (IL-6 e IL-2), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e prostaglandinas⁽³⁸⁾.

Nestes estudos preditivos várias alterações metabólicas foram observadas, em especial na redução dos níveis lipídicos e glicêmicos (**TABELA 3**). Vale ressaltar que, buscar novos fármacos hipoglicemiantes e redutores do colesterol é muito importante. Até o presente, nenhum estudo que avaliasse estes efeitos foi realizado com a *H. articulatus*.

Tabela 3: Predição de atividades biológicas de substâncias isoladas de *Himatanthus articulatus*.

Atividades	Triterpenos					Iridoides				
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Câncer										
Antineoplásicos	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Indução de apoptose	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
Estimulação de caspase 3	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+
Estimulação de caspase 8	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
Microrganismos e parasitos										
Antibacteriano	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Antifúngico	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Antiviral	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Antiplasmódica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Antileishmania	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
Anti-inflamatório										
Anti-inflamatório	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-
Alterações metabólicas e efeito sobre o estresse oxidativo										
Hipolipêmico	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-
Inibição da síntese colesterol	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Aumento de liberação de insulina	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
Antioxidante	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Inibição da síntese de NO	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

Legenda: A- cinamato de lupeol, B- cinamato de α -amirina, C- cinamato de β -amirina, D- acetato de lupeol, E- plumericina, F- isoplumericina, G- plumierídeo, H- isoplumierídeo, I- ácido 15-desmetilisolplumierídeo e J- plumeridóide C. (+) possui atividade biológica; (-) não possui atividade biológica.

Em relação aos eventos adversos, os triterpenos, com exceção do cinamato de β -amirina, podem causar distúrbio de comportamento, mostrando que são possíveis substâncias psicoativas. Este resultado, possivelmente, ocorreu devido às semelhanças estruturais destas substâncias a outros esteroides, como os esteroides anabolizantes, causadores de comportamentos agressivos e síndromes comportamentais⁽³⁹⁾.

Os estudos preditivos sugerem que os triterpenos, de maneira geral, apresentaram uma maior diversidade de eventos. Dentre eles, destaca-se o acetato de lupeol, que além de causar distúrbios de comportamento, pode causar também hipercolesterolemia, nefrotoxicidade, fraqueza muscular e irritação (**TABELA 4**). No caso da hipercolesterolemia, talvez, esteja relacionado à molécula de acetato presente na substância, visto que o acetato está presente na estrutura da acetil-CoA, que é um precursor para a síntese de colesterol no organismo⁽⁴⁰⁾.

Tabela 4. Eventos adversos das substâncias isoladas de *Himatanthus articulatus*.

Tipos de eventos adversos	Triterpenos					Iridoides				
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Sistema nervoso central										
Distúrbio de comportamento	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Alterações metabólicas										
Hipercolesterolemia	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Sistema cardiovascular renal										
Nefrotoxicidade	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Outros										
Fraqueza	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Fraqueza muscular	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Ototoxicidade	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Irritação	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Sensibilização	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: A- cinamato de lupeol, B- cinamato de α -amirina, C- cinamato de β -amirina, D- acetato de lupeol, E- plumericina, F- isoplumericina, G- plumierídeo, H- isoplumierídeo, I- ácido 15-desmetilisoplumierídeo e J- plumeridóide C. (+) possui o evento adverso; (-) não possui o evento adverso.

Os agentes mutagênicos podem alterar a sequência de bases do DNA, podendo desencadear a carcinogenicidade. Na **TABELA 5** observa-se que muitos compostos com potencial mutagênico podem ser carcinogênicos. No caso dos iridoides (plumericina, isoplumericina, plumierídeo e isoplumierídeo, observou-se que apresentam potencial mutagênico proporcional ao potencial de alquilação do DNA⁽⁴¹⁾. Em outro estudo, observou-se que em doses menores, o extrato demonstrou efeitos protetores para o DNA contra danos induzidos pelo peróxido de hidrogênio, indicando um importante efeito antígeno-tóxico. Por outro lado, em altas doses, são observados a formação de micronúcleos⁽⁴¹⁾.

Quanto ao ensaio em organismos marinhos, com objetivo de avaliar a toxicidade de substâncias com potencial farmacológico, os órgãos fiscalizadores sugerem que sejam utilizadas mais de uma espécie e que

pertençam a diferentes níveis tróficos. Assim, geralmente são utilizadas algas (base da cadeia alimentar), crustáceos (consumidores primários das algas), e os peixes, que são os consumidores secundários⁽⁴²⁾.

Nas predições de toxicidade em algas, todas as estruturas submetidas ao teste foram consideradas tóxicas (**TABELA 5**). Na avaliação de toxicidade em crustáceos *Daphnia* sp., apenas os triterpenos cinamato de lupeol, cinamato de α -amirina, cinamato de β -amirina e acetato de lupeol (**TABELA 5**) apresentaram-se tóxicos, possivelmente, devido a lipossolubilidade mais elevada em relação aos iridoides, sendo absorvidos de maneira mais eficiente pelos organismos. As algas são utilizadas para avaliar a toxicidade aguda, mensurando apenas as mortes, enquanto a *Daphnia* é utilizada como parâmetro tanto agudo quanto subcrônico e os peixes servem para demonstrar intoxicação aguda e crônica e, por serem animais maiores possibilita verificar as alterações tóxicas ocorridas em órgãos específicos desses animais⁽⁴³⁾.

Em relação à toxicidade em peixes Medaka, o aumento da hidrossolubilidade pela presença da molécula de glicose nas estruturas parece ser um bom preditivo para a diminuição ou anulação da toxicidade nesses organismos. Desse modo estruturas que não apresentam a molécula de açúcar ligado a seu esqueleto, como: os triterpenos cinamato de lupeol, cinamato de α -amirina, cinamato de β -amirina e acetato de lupeol e os iridoides plumericina, isoplumericina e plumeridóide C, (**TABELA 5**) apresentaram-se como tóxicas para peixes.

Foram realizados testes *in vivo* de toxicidade sistêmica do látex de *H. articulatus* diluído em ratas da linhagem Wistar, os quais demonstraram que a referida amostra não alterou os parâmetros bioquímicos (ureia, creatinina e fosfatase alcalina), nem alterou o peso (absoluto e relativo) dos órgãos como: fígado, rim, baço, útero, ovário, coração, pulmão e adrenais. Além disso, este estudo demonstrou não haver alterações gestacionais nas ratas tratadas com o látex da planta⁽⁴⁴⁾, corroborando com os estudos *in silico*, que foram negativos para a ação de embriotoxicidade e teratogenia das substâncias analisadas (**TABELA 5**).

Tabela 5. Eventos tóxicos das substâncias isoladas de *Himatanthus articulatus*.

Parâmetros avaliados	Triterpenos				Iridoides					
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Toxicidade										
Algas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Daphnia</i> sp.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Peixes Medaka	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
Carcinogênico										
Ratos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Camundongos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mutagênico	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
Citotóxico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Embriotóxico e Teratogenia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: A- cinamato de lupeol, B- cinamato de α -amirina, C- cinamato de β -amirina, D- acetato de lupeol, E- plumericina, F- isoplumericina, G- plumeridóide, H- isoplumeridóide, I- ácido 15-desmetilisoplumeridóide e J- plumeridóide C. (+) apresenta toxicidade; (-) não apresenta toxicidade.

Conclusão

Em relação à predição de atividade biológica, a plumericina e a isoplumericina demonstraram atividade antineoplásica, antibacteriana e antifúngica ratificando o uso popular desta planta. Os triterpenos cinamato de lupeol, cinamato de α -amirina e acetato de lupeol, podem possuir atividade antioxidante, anti-inflamatória e inibitória para síntese de óxido nítrico, atuantes nos sinais e sintomas da malária. Destes, o cinamato de lupeol e cinamato de α -amirina, provavelmente, possuem menor número de reações adversas. A plumericina e a isoplumericina destacaram-se como promissoras para candidatas ao desenvolvimento de novos fármacos antineoplásicos, antibacterianos, antifúngicos e antioxidantes. É necessário, porém, estudos pré-clínicos e clínicos para a comprovação destes resultados, bem como avaliação da carcinogenicidade em camundongos e ratos, haja vista estudos mostrarem que o efeito carcinogênico é dose-dependente.

Agradecimentos

Os autores agradecem às agências de fomento FAPESPA, Capes e CNPq.

Referências

1. Spina AP. **Estudo taxonômico, micro morfológico e filogenético do gênero *Himatanthus* Wild. Ex. Schult. (Apocynaceae: Rauvolfioideae-Plumerieae)**. 197p. 2004. Campinas. Tese de Doutorado [Instituto de Biologia], Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP. [\[Link\]](#).
2. Milliken W. Traditional anti-malarial medicine in Roraima-Brazil. **Econ Bot.** 1997; 5(3):212-237. ISSN: 1874-9364. [\[CrossRef\]](#) [\[Link\]](#).
3. Di Stasi LC, Hiruma-Lima CA. **Gentianales medicinais**. In: Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. São Paulo: Editora da UNESP; 2002. p. 375-385. ISBN: 85-7139-411-3 [\[Link\]](#).
4. Van Den Berg ME. **Plantas medicinais na Amazônia: Contribuição ao seu conhecimento Sistemático**. 3ª ed. Belém: CNPq/PRU/MPEG. 2010. ISBN: 978-85-61377-19-9.
5. Gilbert B. Produtos naturais industrializáveis da Amazônia. **Rev Fitos.** 2006; 2(3):30-38. [\[Link\]](#).
6. Lorenzi H & Matos FJA. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Instituto Plantarum, São Paulo, p.68-9, 2002.
7. Silva JRA, Rezende CM, Pinto AC, Pinheiro, MLB, Cordeiro MC, Tamborini E, et al. Ésteres Triterpênicos de *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson. **Quim Nova.** 1998; 21(6):702-704. ISSN: 1678-7064. [\[CrossRef\]](#).
8. Vale VV, Vilhena TC, Trindade RCS, Ferreira MRC, Percário S, Soares LF, et al. Anti-malarial activity and toxicity assessment of *Himatanthus articulatus*, a plant used to treat malaria in the Brazilian Amazon. **Malar J.** 2015; 14: 132. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).

9. Silva JRA, Amaral ACF, Silveira CV, Rezende CM, Pinto, AC. Quantitative determination by HPLC of iridoids in the bark and latex of *Himatanthus sucuuba*. **Acta Amazon**. 2007; 37(1):119-122. ISSN: 1809-4392. [[CrossRef](#)].
10. Barreto AS, Amaral ACF, Silva JRA, Schripsema J, Rezende CM, Pinto AC. Ácido 15-desmetilisolplumierídeo, um novo iridóide isolado das cascas de *Plumeria rubra* e do látex de *Himatanthus sucuuba*. **Quim Nova**. 2007; 30 (5): 1133-1135. ISSN: 1678-7064. [[CrossRef](#)].
11. Waltenberger B, Rollinger JM, Griesser UJ, Stuppner H, Belbrich T. Plumeridoid C from the Amazonian traditional medicinal plant *Himatanthus sucuuba*. **Acta Crystallogr C**. 2011 oct; 67(Pt10):o409–o412. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
12. Miranda ALP, Silva JRA, Rezende CM, Neves JS, Parrini SC, Pinheiro MLB. et al. Anti-inflammatory and analgesic activities of the latex containing triterpenes from *Himatanthus sucuuba*. **Plan Med**. 2000; 66: 284-286. [[CrossRef](#)] [[Link](#)].
13. Vale VV. **Estudo fitoquímico e atividade antiplasmódica em *Plasmodium falciparum* (W2) de *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson (Apocynaceae)**. 115p. 2014. Pará. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas], Universidade Federal do Pará. [[Link](#)].
14. PREADMET. ADME Prediction. [[Link](#)]. Acesso em: 15 ago 2017.
15. PASS Online. Prediction of biological activity. [[Link](#)]. Acesso em: 15 ago. 2017.
16. Filimonov DA, Poroikov VV, Karaicheva EI, Kazarian RK, Budunova AP, Mikhailovskii EM, et al. The Computerized Prediction of the spectrum of Biological Activity of Chemical Compounds by their structural formula: the PASS system. Prediction of activity Spectra for substance. **Eksp Klin Farmakol**. 1995; 58(2):56-62. [[PubMed](#)].
17. Mcule. Property calculator. [[Link](#)]. Acesso em: 28 nov. 2017.
18. Chemicalize. Instant cheminformatics solutions. [[Link](#)]. Acesso em: 28 nov. 2017.
19. Lipinski CA. Lead-and drug-like compounds: the rule of five revolution. **Drug Discov Today Technol**. 2004;1(4):337-341. ISSN: 1740-6749. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
20. Yee S. *In vitro* permeability across Caco-2 cells (colonic) can predict *in vivo* (small intestinal) absorption in man – fact or myth. **Pharm Res**. 1997; 14 (6): 763-766. ISSN: 1573-904X. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
21. Yazdanian M, Glynn SL, Wright JL, Hawi A. Correlating partitioning and Caco-2 cell permeability of structurally diverse small molecular weight compounds. **Pharm Res**. 1998; 15(9):1490-1494. ISSN: 1573-904X. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
22. Ajay A, Bermis GW, Murkco MA. Designing libraries with CNS activity. **J Med Chem**. 1999; 42(24):4942-4951. ISSN: 1520-4804. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

23. Ames BN, Mccann J, Yamasaki E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/Mammalian-microsome mutagenicity test. **Mutation Research**. 1975; 31: 347-364. ISSN: 0165-1161. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
24. Costa CR, Olivi P, Botta CMR, Espindola ELG. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Quim Nova**. 2008; 3(7):1820-1830. ISSN: 1678-7064. [[CrossRef](#)].
25. Guilhermino L, Diamantino T, Silva MC, Soares AMVM. Acute toxicity test with *Daphnia magna*: Na alternative to mammals in the Prescreening of Chemical Toxicity? **Ecotoxicol Environ Saf**. 2000; 46(3):357-362. ISSN: 0147-6513. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
26. Zucker E. Hazard Evaluation Division Standard Evaluation Procedure: Acute toxicity test for freshwater Fish. USEPA Publication 540/9-85-006, 1985. [[Link](#)].
27. Irvine JD, Takahashi L, Lockhart K, Cheong J, Tolan JW, Selick HE, Grove JR. MDCK (Madin-Darby canine kidney) cells: A tool for membrane permeability Screening. **J Pharm Sci**. 1999; 88 (1): 28-33. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
28. Balimane PV, Chong S. Cell cultures-based models for intestinal permeability: a critique. **Drug Discovery Today**. 2005; 10 (5): 335-343. ISSN: 1359-6446. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
29. Martins CR, Lopes WA, Andrade JB. Solubilidade das substâncias orgânicas. **Quim Nova**. 2013; 36 (8):1248-1255. ISSN: 0100-4042. [[CrossRef](#)].
30. Vieira JGH, Tachibana TT, Obara LH, Nishida SK, Lombardi MT, Maciel RMB. Desenvolvimento de ensaio imunofluorométrico para a medida da globulina ligadora de tiroxina (*thyroxine-binding globulin*, TBG) e sua aplicação em casos de deficiência desta proteína. **J Bras Patol Med Lab**. 2002;38(4):255-260. ISSN: 1678-4774. [[CrossRef](#)].
31. Guido RVC, Andricopulo AD, Oliva G. Planejamento de fármacos biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **Estud Av**. 2010;24(70):81-98. ISSN: 0103-4014. [[CrossRef](#)].
32. Lin JH, Lu AYH. Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications. **Clin Pharmacokinet**. 1998; 35(5):361-390. ISSN: 1179-1926. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
33. Kruidering M, Evan GI. Caspase-8 in Apoptosis: The Beginning of "The End"?" **IUBMB Life**. 2000; 50(2):85-90. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
34. Martinez R. Atualização no uso de agentes antifúngicos. **J Bras Pneumol**. 2006; 32(5):449-60 [[CrossRef](#)].
35. Kvist LP, Christensen SB, Rasmussen HB, Mejia K, Gonzalez A. Identification and evaluation of Peruvian plants used to treat malaria and leishmaniasis. **J Ethnopharmacol**. 2006; 106(3):390-402. ISSN: 0378-8741. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

36. Druilhe O, Brandicourt O, Chongsuphajaisiddhi T, Berthe J. Activity of a combination of three Cinchona bark alkaloids against *Plasmodium falciparum* *in vitro*. **Antimicrob Agents Chemother**. 1988; 32(2):250-254. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
37. Percário S, Moreira DR, Gomes BAQ, Ferreira MES, Gonçalves ACM, Laurindo PSOC, et al. Oxidative Stress in Malaria International. **J Mol Scien**. 2012;13(12): 16346-16372. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
38. Alvarenga SM, Giorgi RDN, Chahade WH. Antiinflamatórios hormonais: Glicocorticóides. **Einstein**. 2008; 6(Supl.1):S159-S6 [[Link](#)].
39. Martins CM, Carijó FH, Almeida MC, Silveira M, Mirailh MXN, Peixoto MM, et al. Efeito psicológico do abuso de anabolizantes. **Cien Cog**. 2005; 05: 84-91 [[Link](#)].
40. Nelson DL, Cox MM. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. ISBN: 9788536324180.
41. Hude WVD, Scheutwinkel-Reich M, Braun R. Bacterial mutagenicity of the tranquilizing constituents of *Valerianaceae* roots. **Mut Res**. 1986; 169(1-2):23-27. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
42. Rebouças SO, Silva J, Bertoni RS, Decker N, Santos MS, Rossatto RR, et al. Assessment of the genotoxic and mutagenic properties of *Himatanthus articulatus* bark extracts used as phytotherapeutic drug in the Amazon. **J Ethnopharmacol**. 2013; 147(2): 474-480. ISSN: 0378-8741. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)].
43. Arenzon A, Lorenzo C, Coimbra NJ, Schulz UH. A determinação da toxicidade crônica para peixes baseada apenas na sobrevivência é suficiente? **Ecotoxicol Environ Contam**. 2013; 8(2): 65-68. [[CrossRef](#)] [[Link](#)].
44. Moura ER. **Avaliação da toxidade reprodutiva e sistêmica do látex de *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson em roedores**. 60p. 2016. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal [Centro de Ciências Agrárias], Universidade Federal do Piauí. Teresina. [[Link](#)].

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Histórico do artigo: Submissão: 24/01/2018 | Aceite: 05/09/2018 | Publicação: 29/10/2018

Como citar este artigo: Dolabela MF, da Silva ARP, Ohashi LH, Bastos MLC, da Silva MCM, Vale, VV. Estudo *in silico* das atividades de triterpenos e iridoides isolados de *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson. **Revista Fitos**. Rio de Janeiro. 2018; 12(3): 227-242. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/602>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.
