

Predição do comportamento farmacocinético, toxicidade e de atividades biológicas de alcaloides isolados de *Geissospermum laeve* (Vell.) Miers

Prediction of pharmacokinetic behavior, toxicity and biological activities of alkaloids isolated from *Geissospermum laeve* (Vell.) Miers

Predicción del comportamiento farmacocinética, toxicidad y actividades biológicas de alcaloides aislados de *Geissospermum laeve* (Vell.) Miers

Recebido: 09/12/2020 | Revisado: 17/12/2020 | Aceito: 18/12/2020 | Publicado: 24/12/2020

Gleison Gonçalves Ferreira

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

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: gleisonhist@gmail.com

Dayse Lúcia do Nascimento Brandão

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

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: daysena25@yahoo.com.br

Maria Fâni Dolabela

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

Universidade Federal do Pará, Brasil

E-mail: fanidolabela20@gmail.com

Resumo

O presente trabalho realizou estudos *in silico* com o objetivo de prever as atividades farmacocinéticas, toxicológicas e biológicas de alcaloides isolados de *Geissospermum laeve*. Os desenhos das moléculas e análises físico-químicas foram feitas no ChemSketch e Chemicalize.org, o comportamento farmacocinético e toxicidade foram realizadas por comparação nos programas PreADMET e PASS online. Os resultados descrevem que as moléculas demonstram bom comportamento farmacocinético e biodisponibilidade, com destaque para a Geissosquizina que apresenta alta permeabilidade gastrointestinal, depuração aceitável, sendo metabolizada pela CYP 3A4 e maior interação com receptores-alvos. A Pereirina e Vellosiminol apresentaram atividades sobre neuroreceptores, enquanto que a Flavopererina demonstrou atividades de modulação enzimática, dessa forma essas moléculas destacaram-se quanto às atividades biológicas apresentadas. Todas as substâncias se

apresentaram tóxicas e mutagênicas, sendo necessários estudos aprofundados que auxiliem a elucidação do índice de seletividade das mesmas. Ao considerar os aspectos farmacocinéticos, toxicológicos e biológicos destacamos que a Pereirina e o Vellosiminol apresentam resultados mais promissores.

Palavras-chave: Alcaloides; *In silico*; *Geissospermum laeve*.

Abstract

This study predicted by *in silico* methods with the objective of predicting the pharmacokinetic behavior, toxicological and biological activities of alkaloids isolated from *Geissospermum laeve*. The designs of the molecules and physical-chemical analyzes were made at ChemSketch and Chemicalize.org, the pharmacokinetic behavior and toxicity were made by comparison in the PreADMET and PASS programs online. The results describe that the molecules demonstrate good pharmacokinetic behavior and bioavailability, with emphasis on Geissosquizine, which presents high gastrointestinal permeability, acceptable clearance, being metabolized by CYP 3A4 and greater interaction with target receptors. Pereirina and Vellosiminol presented activities on neuroreceptors, while Flavopererina showed activities of enzymatic modulation, in this way these molecules stood out in relation to the biological activities presented. All substances proved to be toxic and mutagenic, probe studies are needed to aid elucidate their selectivity index. When considering the pharmacokinetic, toxicological and biological aspects we highlight the Pereirin and Vellosiminol show more promising results.

Keywords: Alkaloids; *In silico*; *Geissospermum laeve*.

Resumen

El presente trabajo realizó estudios *in silico* con el objetivo de predecir las actividades farmacocinéticas, toxicológicas y biológicas de alcaloides aislados de *Geissospermum laeve*. Los diseños de las moléculas y los análisis físico-químicos se realizaron en ChemSketch y Chemicalize.org, el comportamiento farmacocinético y la toxicidad se realizaron por comparación en los programas PreADMET y PASS en línea. Los resultados describen que las moléculas demuestran buen comportamiento farmacocinético y biodisponibilidad, con énfasis en Geissosquizine, que presenta alta permeabilidad gastrointestinal, aclaramiento aceptable, siendo metabolizada por CYP 3A4 y mayor interacción con receptores diana. Pereirina y Vellosiminol presentaron actividades sobre neuroreceptores, mientras que Flavopererina mostró actividades de modulación enzimática, de esta manera estas moléculas se destacaron

en relación a las actividades biológicas presentadas. Se descubrió que todas las sustancias eran tóxicas y mutagénicas, lo que requería estudios en profundidad para ayudar a dilucidar su índice de selectividad. Al considerar los aspectos farmacocinéticos, toxicológicos y biológicos, destacamos que Pereirina y Vellosiminol presentan resultados más prometedores.

Palabras clave: Alcaloides; *In silico*; *Geissospermum laeve*.

1. Introdução

A *Geissospermum laeve* (Vell.) Miers é uma árvore nativa, mas não endêmica do Brasil, que possui ampla distribuição nos biomas brasileiros. Na região Norte é encontrada nos estados do Pará, Amazonas e Amapá. É popularmente conhecida como pau-peira, pau-forquilha, camará-do-mato, camará-de-bilro, pau-de-pente (Reflora, 2020). Tendo como basônimo *Tabernaemontana laevis* Vell. e heterotípico *Geissospermum vellosii* Allemão, caracteriza-se por uma árvore que varia entre 2 a 10 metros de altura, com ramos claros ou acastanhados, sulcados, estrigosos ou glabros. As folhas são alternas, quando jovens são estrigosas em ambas as faces e quando adultas glabras em ambas as faces. De base arredondada e seu ápice é acuminado. Seus frutos são bacáceos e sua semente é nua (Reflora, 2020; Tropicos, 2020).

Seu uso pelas comunidades tradicionais remonta ao Brasil colônia como antipirético. Entre os usos populares atribuídos a *G. laeve* se encontram antimalárica (Muñoz, 2000), antipirética, estimulante sexual, nos distúrbios do trato gastrointestinal (Tavares, 2008), tratamento de infecções fúngicas e antissépticas (Fenner, et al., 2006), erisipela, diarreias crônicas, hemorragias e astenia (Almeida, et al., 2009). Um estudo demonstrou que o extrato etanólico e a fração de diclorometano possuíam ação anti-inflamatória (Muñoz, 2000). A atividade antimalárica do extrato etanólico e alcaloides isolados da espécie também foram demonstrados em estudos *in vitro* (Brandão, 2012).

Mesmo que os alcaloides da espécie sejam descritos desde 1938, ainda são escassos os estudos que analisam a farmacocinética e os possíveis efeitos tóxicos desses constituintes. Nesse sentido, esse artigo tem como objetivo descrever, pela primeira vez, os aspectos farmacocinéticos, toxicológicos e de atividades biológicas obtidas por estudos *in silico* de cinco alcaloides isolados de *Geissospermum laeve*.

2. Metodologia

2.1 Coleta de dados

Para esse trabalho foi realizada uma pesquisa bibliográfica em bases indexadas de portais e periódicos (CAPES, *Scielo*, Google Acadêmico) sem restrições de data com os seguintes descritores *Geissospermum laeve* e *Geissospermum vellossi* selecionando os principais alcaloides isolados da espécie. Trata-se de um trabalho quantitativo por comparação (Pereira, et al., 2018) que analisa a variedade das atividades farmacocinética, toxicológica, físico-química e biológica das moléculas desenhadas, realizado através de uma revisão bibliográfica de periódicos nacionais e internacionais (Correa-Barbosa, et al., 2020).

2.2 Estudos *in silico*

No estudo *in silico* foram utilizados os seguintes programas: ChemSketch versão 2.1, 2019, para o desenho das estruturas químicas; PreADMET (versão 2.0, Copyright© 2005-2017) (PreADMET, 2020), para as predições farmacocinéticas e toxicológicas; PASS online - Prediction of activity spectra for substances (versão 2.0, Way2Drug.com© 2011-2020) (PASS online, 2020), para as previsões de espectros de atividades biológicas, Sistema operacional Windows 2010 (Filimonov, et al., 1995); o servidor online Chemicalize.org (ChemAxon - Copyright© 1998-2020 ChemAxon Ltd.)[12], para estimar as características físico-químicas dos compostos (Chemicalize, 2020).

Os cálculos farmacocinéticos de absorção, permeabilidade de membranas celulares (coeficiente de partição, lipofilicidade: hidrofiliicidade, entre outros) e tóxicológicos foram realizados por comparação com substâncias semelhantes. A predição da biodisponibilidade levou em consideração a Regra de Lipinski ou "Regra dos Cinco" (Lipinski, 2004) onde um bom candidato a fármaco possuirá (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 (log P) menor ou igual a 5; (6) área de superfície polar (PSA) menor ou igual a 140 Å (Lipinski, et al., 1997).

Nos estudos farmacocinéticos avaliou-se a absorção intestinal (Human Intestinal Absorption = HIA), onde foram considerados os parâmetros de HIA 0-20% (baixa absorção), 20-70% (moderada absorção), >70% (elevada absorção); permeabilidade em células Caco2

(Yee, 1997) e MDCK onde as moléculas foram consideradas de alta permeabilidade em valores >70 nm/sec, de média permeabilidade 4-70 nm/sec e de baixa permeabilidade <4 nm/sec (Yazdanian, et al., 1998). Para análise da distribuição dessas substâncias, os referenciais foram $>90\%$ ligado fortemente à albumina e $<90\%$ ligação moderada a fraca à albumina. Para a capacidade ou não de atravessar a barreira hematoencefálica, empregaram-se os seguintes critérios: atravessa livremente a BHE $>2,0$, atravessa de forma moderada a BHE valores entre 2,0-0,1 e atravessa de forma reduzida ou não atravessa $<0,1$ (Ajay, et al., 1999).

As análises das atividades biológicas foram feitas por similaridade a mais de 300.000 compostos orgânicos que incluem medicamentos e candidatos, metais pesados, toxinas, dentre outros. A predição de alterações induzidas na expressão gênica foi feita usando a ferramenta DIGEP-Pred (Prediction of Drug-induced changes of Gene Expression Profile) que utiliza como base a similaridade de compostos químicos encontrados nas bases de dados Comparative Toxicogenomics Database (CTD), Connectivity Map Database (CMap) e L1000 Project (DIGEP-Pred, 2020), todos os teste adotam tecnologia de previsão baseada em P.A.S.S (Prediction of Activity Spectra for Substances), adotou-se P_a (probabilidade de atividade) $\geq 0,7$, ou seja, 70% como critério de avaliação.

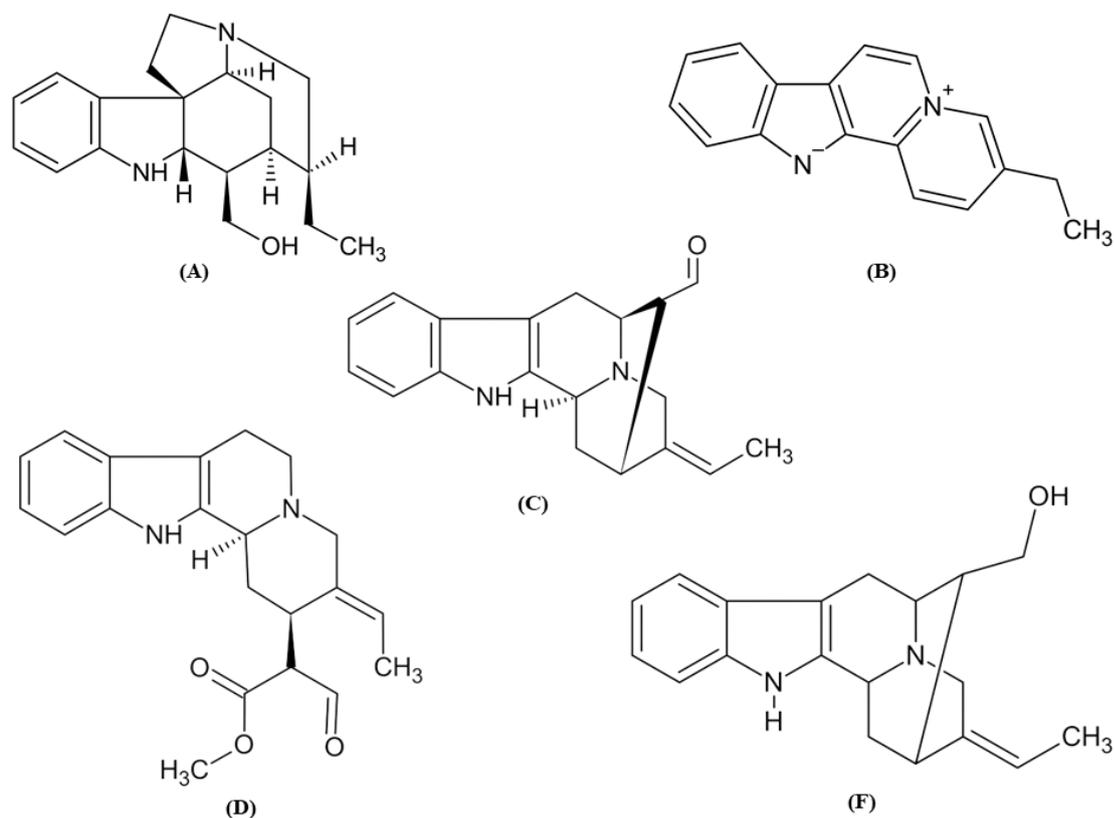
Nos estudos de avaliação de toxicidade foram adotados os seguintes parâmetros: para toxicidade em algas - serão tóxicos valores < 1 mg/L e não tóxicos valores > 1 mg/L; toxicidade em *Daphnia sp* - tóxico $< 0,22$ $\mu\text{g/mL}$ e não tóxico $> 0,22$ $\mu\text{g/mL}$; toxicidade em peixes Medaka - muito tóxico < 1 mg/L, tóxico entre 1-10 mg/L, prejudiciais entre 10-100 mg/L e não tóxico > 100 mg/L (PreADMET, 2020). A citotoxicidade para linhagens tumorais e não tumorais foi feita usando o CLC-Pred (Cell Line Cytotoxicity Predictor) que extrai informações de citotoxicidade da ChEMBLdb (version 23) (CLC-Pred, 2020) e para avaliação de carcinogenicidade em roedores foi utilizado o PreADMET e o *ROSC-Pred* (Rodent Organ-specific Carcinogenicity Prediction) criado com base nos dados encontrados na Carcinogenic Potency Database (CPDB) (ROSC-Pred, 2020), ambos os teste utilizam tecnologia de previsão baseada em P.A.S.S, adotando-se também $P_a \geq 0,7$.

3. Resultado e Discussão

Para este trabalho foram escolhidos cinco alcaloides isolados de *G. leave* que não desobedecem nenhuma das “Regra dos Cinco”. A Pereirina (Figura 1A) isolada em 1938. Flavopererina (Figura 1B) isolada em 1957. A Vellosimina (Figura 1C) que foi isolada por meio de partição líquido-líquido. A Geissosquizina (Figura 1D) isolada das cascas, também

por meio de partição líquido-líquido, onde a fração orgânica foi alcalinizada à pH 10. Vellosiminol (Figura 1E) foi obtido também das cascas por fracionamento (Brandão, 2012; Vital, et al., 2015).

Figura 1. Alcaloides isolados de *Geissospermum laeve*.



Legenda: A – Pereirina; B – Flavopererina; C – Vellosimina; D – Geissosquizina e E – Vellosiminol.
Fonte: Autores.

Ao avaliarmos as características farmacocinéticas para absorção no programa PreADMET, analisou-se a permeabilidade em 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 (Balimane, Chong, 2005), elas permitem avaliar a capacidade potencial de um fármaco ser absorvido dentro de estudos *in vivo*, ainda, é possível determinar os mecanismos de transportes de um grande número de fármacos ou candidatos. Os resultados expressam que todas as substâncias avaliadas apresentam média permeabilidade em células Caco2, com a Vellosimina apresentando maior permeabilidade (44,5 %).

As células MDCK (Madin-Darby canine kidney) são oriundas de rim canino e sofrem diferenciação em células epiteliais colunares com membranas semipermeáveis quando cultivadas, assim, apresentam-se como modelo escolhido para avaliar permeabilidade *in vivo*

(Balimane, Chong, 2005). Em células MDCK a maioria das substâncias apresentaram alta permeabilidade, o que pode indicar que essas substâncias usam transportes passivos para adentrar a membrana celular (Souza, Freitas, Storpirtis, 2007), com exceção da Geissosquizina, que apresentou média permeabilidade (Tabela 1).

Todas as substâncias apresentaram elevada absorção pelo trato gastrointestinal (valores > 90%), sendo que a Flavopereirina apresentou absorção de 100%. Para a produção de novos fármacos, um equilíbrio entre permeabilidade e solubilidade e buscado, a Flavopereirina apresenta um coeficiente de partição próximo ao do éter dietílico (0,89), a Pereirina e o Vellosimol próximo ao benzeno (2,13) tais características sugerem lipossolubilidade o que pode favorecer a distribuição da substância para o SNC e tecido adiposo, porém, pode limitar a absorção no tratado gastrintestinal (Tabela 1).

Vellosimina e Geissosquizina apresentam coeficiente de partição próximo ao do pentano (3,68) o que descreve uma baixa hidrossolubilidade retratando uma maior probabilidade de distribuir-se e acumular em tecido adiposo e maior probabilidade de atravessar a barreira hematoencefálica (Tabela 1).

Tabela 1. Predições farmacocinéticas de alcaloides isolados de *Geissospermum laeve*.

Composto	Absorção		Distribuição		Metabolismo		
	MDCK (nm/sec)	Caco2 nm/sec	HIA (%)	PP (%)	BHE	Fase I	Inibição
Pereirina	77	28	93	49	Alta	Fracamente	CYP 2D6 CYP 2C19;
Flavopereirina	281	35,5	100	75	Moderada	Fracamente	CYP 2C9; CYP 2D6
Vellosimina	242	44,5	93	58	Alta	CYP 3A4	CYP 2D6
Geissosquizina	10	22	93	69	Alta	CYP 3A4	CYP 2D6
Vellosiminol	256	35	92	50	Alta	CYP 3A4	CYP 2D6

Legenda: 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. Fonte: Autores.

As características de polaridade são importantes na modulação da permeabilidade intestinal, não sendo, contudo, as únicas responsáveis por isso. Fatores como tamanho da

molécula ou ligações de hidrogênio, também influenciam sobre a permeabilidade celular (Subramanian, Kitchen, 2006), nesse sentido, acreditamos que esses outros fatores influenciaram os resultados aqui encontrados, o que explica o comportamento cinético predito para as moléculas.

As substâncias se ligam de forma moderada a fraca às proteínas plasmáticas (PP), tendo a Flavopereirina maior grau de ligação (75%) e a Pereirina menor (49%). A ligação as PP é fundamental para a distribuição de um fármaco. Se fortemente ligada, existe uma dificuldade, pela diminuição da biodisponibilidade, do fármaco se difundir ou se transportar para o alvo, visto que, geralmente, é a forma livre – ou seja, não-ligada as PP, que tem a capacidade de se difundir pelas membranas (Tabela 1) (Golan et al., 2009).

A maioria das substâncias analisadas atravessam livremente a barreira hematoencefálica, sendo a Flavopereirina a única a atravessa de forma moderada. Existe uma correlação entre a permeabilidade da barreira e cargas elétricas, alguns alcaloides conseguem atravessar a barreira se estiverem ser carga ou estiverem em estado de sal (Bittencourt, Canelas, 1947).

O metabolismo dos fármacos ocorre em duas fases características, sendo a primeira fase marcada por reações catalisadas por uma superfamília de isoformas do citocromo P450, comumente abreviado por CYP. A predição das substâncias avaliadas demonstrou que a maioria usa o CYP como via de metabolização. A Pereirina e a Flavopereirina não inibiram a CYP 3A4 ligando-se fracamente como substrato, característica atualmente desejável, visto que a não inibição permite que a enzima esteja disponível para ligação de outros fármacos que possam ser administrados concomitantemente com essas substâncias (Silva, 2015). Por outro lado, tanto a Vellosimina, Geissosquizina e a Vellosiminol não inibem a CYP 3A4, contudo, são substratos dessa, dessa forma são susceptíveis as reações (biotransformação) necessárias para excreção do organismo (Moda, 2011) (Tabela 1).

A Flavopereirina foi a substância que inibiu o maior número de isoformas da CYP, tendo inibidas as CYP 2C19; CYP 2C9; CYP 2D6 dessa última não sendo substrato, a Pereirina, a Geissosquizina e o Vellosiminol inibem a CYP 2D6 sendo substrato dessa, já a Vellosimina inibe a mesma via, contudo, aparenta ligar-se fracamente à essa. Alguns fatores são importantes quanto à ligação as CYP, entre eles, podemos destacar, o peso molecular que, quando menor, facilita a interação das substâncias como sítios alostéricos, nesse sentido a Flavopereirina possui o menor peso molecular, podendo explicar o seu grau de inibição (Tabela 1) (Lin, Lu, 1998; Guido, Andricopulo, Oliva, 2010).

Outros fatores que contribuem para a ligação aos sítios são as características físico-químicas das substâncias. Segundo a Regra de Lipinski, o logP e o número de aceptores de hidrogênio podem trazer informações importantes sobre o comportamento de uma substância (Linpinsk, 2014). Ao analisar o logP todas as substâncias apresentam valores entre 0,9 (Flavopereirina) e 3,81 (Geissosquizina) as caracterizando com bom equilíbrio. Quanto aos aceptores, que em maior quantidade propiciam um maior número de reações com resíduos de aminoácidos (Dolabela, et al., 2018), por meio de ligações de hidrogênio, a Geissosquizina se destaca por possuir o maior número de aceptores (5), seguido da Pereirina, Vellosimina e do Vellosiminol (3), e a Flavopereirina possui somente 2 aceptores de hidrogênio (Tabela 2).

Tabela 2. Predições das características físico-químicas *Geissospermum laeve*.

Compostos	Massa molecular (g/mol)	logP	Solubilidade*	nALH **	nDLH ***
Pereirina	298,43	2,16	Moderada	3	2
Flavopereirina	246,3	0,9	Moderada	2	1
Vellosimina	292,37	3,42	Moderada	3	1
Geissosquizina	352,42	3,81	Alta	5	1
Vellosiminol	294,39	2,74	Alta	3	2

Legenda: *Solubilidade em solvente aquoso; ** nALH – número de aceptores de ligação de hidrogenio; *** nDLH - número de doadores de ligação de hidrogênio. Massa molecular ≤ 500; Log P ≤ 5; HBA ≤ 10; HBD ≤ 5. Fonte Autores.

Dessa forma, observando os parâmetros farmacocinéticos e físico-químicos, as substâncias analisadas demonstram-se promissoras. As análises exprimem que estes compostos, teoricamente, apresentam bom comportamento farmacocinético e biodisponibilidade, com destaque para a Geissosquizina que apresenta alta permeabilidade em células Caco2 e em HIA o que possibilita a ela ser absorvida no lúmen intestinal, alta solubilidade o que garante a absorção eficaz, média permeabilidade em célula MDCK o que indica uma depuração aceitável, liga-se fracamente as proteínas plasmáticas o que permite que ela tenha uma janela de ação maior, e metabolismo pela CYP 3A4, além de possuir um maior número de ligações de hidrogênio que possibilitaria maior interação entre a substância e os receptores-alvos.

Os alcaloides são compostos nitrogenados derivados, geralmente, de aminoácidos que possuem uma diversidade de atividades biológicas, sendo explorados como fármacos, estimulantes, narcóticos e agentes tóxicos (Plácido, et al., 2018; Adamski, et al., 2020). Os

compostos analisados apresentaram uma variedade de atividades biológicas demonstrando algumas diferenças entre si.

A predição das atividades biológicas da Pereirina demonstrou que a substância possui boas chances de ser um composto analéptico, principalmente respiratório, o que ainda não foi demonstrado por nenhum estudo até o momento. Os alcaloides possuem uma longa história como agentes analéptico, sendo a Cafeína e a Estricnina os primeiros a serem utilizados (Tabela 3) (Wax, 1997).

Outra atividade apresentada pela substância foi a estimular a liberação de Serotonina, alguns estudos demonstram que a Pereirina apresentou redução da recaptação de serotonina em modelos animais (Tavares, 2008; Werner, et al., 2009), dessa forma, a substância parece possuir duas atividades distintas, cabendo realizar estudos mais aprofundados sobre seu mecanismo de ação(Tabela 3).

Por fim, a Pereirina demonstrou que pode agir como inibidora da Gluconato 2-desidrogenase (aceitador) uma enzima presente na parede celular de algumas bactérias aeróbicas como *Pseudomonas*, *Klebsiellas*, *Serratia* (Ramakrishnan, Campbell, 1955), podendo indicar uma possível atividade antibacteriana. A enzima parece participar da produção de ácido glucônico utilizado na indústria de alimentos como fermentador, na indústria farmacêutica é empregado na cosmetologia e no tratamento de anemia na forma de sal (Ramachandran, et al. 2006) (Tabela 3).

Outra atividade biológica comumente ligada a Pereirina é a antiplasmódica, que na literatura apresenta dualidade de resultados, por em alguns estudos apresentar resultados positivos (Mbeunkui, et al. 2012) e outros não (Steele, et al., 2002), quando a predição foi realizada a substancia apresentou $P_a < 0,2$, demonstrando, ao menos na predição *in silico*, não possuir boa atividade antiplasmódica.

Tabela 3. Avaliação das atividades biológicas de alcaloides isolados de *Geissospermum laeve*.

Composto	Atividades	Eventos adversos
	Analéptico	
	Analéptico respiratório	
Pereirina	Estimulante de liberação de 5-hidroxitriptamina	Depressão
	Inibidora a Gluconato 2-desidrogenase (aceitador)	
Flavopereirina	Inibidora da Taurina desidrogenase	Tremores
	Inibidora da Nitrato redutase (citocromo)	
Vellosimina	*	**
Geissosquizina	*	**
Vellosiminol	Inibidor da recaptção 5-hidroxitriptamina	**
	Inibidor da captação adrenalina	

Legenda: * - Não foram encontradas atividades para os parâmetros estabelecidos; ** - Não foram encontrados eventos adversos para os parâmetros estabelecidos. Fonte: Autores.

A Flavopereirina demonstrou atividade inibidora da enzima Taurina desidrogenase. A Taurina (Ácido 2-aminoetanossulfônico) é um aminoácido livre que não é utilizado na síntese de proteínas e é abundante no meio intracelular, principalmente no cérebro, nos músculos esqueléticos e músculos cardíacos. Ela está envolvida em atividades metabólicas como modulação de cálcio extracelular, desintoxicação, neuromodulação, dentre outros (Tabela 3) (Denipote, 2010).

Outra atividade predita foi a inibição da enzima Nitrato redutase, essa enzima participa da redução do nitrato salivar em nitro, ação mediada por microrganismos orais, esse processo se mostra fundamental na homeostase do óxido nítrico (NO) em mamíferos, incluindo humanos. Como inibidora ela pode assumir um papel de antidoto em casos extremos de intoxicação por NO (Chamizo-Ampudia, et al., 2017).

Na literatura a Flavopereirina é descrita em uma formulação para tratamento do HIV (Vírus na Imunodeficiência Humana) feita em 1994 (Beljanski, 1994; 2005), contudo, a predição *in silico* não demonstrou atividade como antiviral ($P_a < 0,2$) e não há estudos recente que colaborem com essa hipótese. Também foi testado quanto a sua atividade antiplasmódica, sendo considerada uma substância ativas para cepas de *Plasmodium falciparum* tanto cloroquina resistente (K1) quanto sensível (T9-96), já a avaliação *in silico* não demonstrou atividade ($P_a < 0,2$), o que assevera que a Flavopereirina exerce sua atividade antimalárica por outro mecanismo (Steele, et al., 2002; Mbeunkui, et al. 2012).

É importante ressaltar que estudos recentes vêm demonstrando que a Flavopereirina é um agente antiproliferativo de diversos tipos de câncer, entre eles o de próstata e o colón-retal, por um número diferenciados de vias, como a P53, P21, P28 (Li, et al., 2019; Yeh, et al., 2019; Basati, Ghanadi, Abbaszadeh, 2020). Ao predizer a atividade *in silico* ela demonstrou $P_a < 0,7$ como alcaloide antineoplásico. Ao que se demonstra a capacidade dessa substância em reduzir a proliferação tumoral reside na associação de várias atividades biológicas sobre o metabolismo humano.

O Vellosiminol apresentou ação sobre o neurotransmissor Serotonina como uma ação inibitória da sua recaptação. A 5-HT é um indolamina sintetizado a partir do aminoácido Triptofano, que possui ação inibidora e moduladora da atividade psíquica pelas vias serotoninérgicas, esses auto-receptores pré-sinápticos de 5-HT responderão a aumentos dos níveis de 5-HT através de sinalização de proteínas G, o que leva a uma redução dos níveis de cAMP, resultando na diminuição de proteinocinase A e da cálcio-CaM cinase II (Gola, et al., 2009) (Tabela 3).

Também apresentou ação inibitória da captação da Adrenalina (Epinefrina). A Adrenalina é uma catecolamina produzida a partir da síntese oxidativa do aminoácido Tirosina, sua síntese é predominante nas células da medula suprarrenal. Sua ação ocorre por agonismo aos receptores tanto α - (altas concentrações) quanto β - (baixas concentrações) adrenérgicos (Golan, et al., 2009).

Durante o lavamento bibliográfico, poucos estudos foram encontrados tendo o Vellosiminol como alvo de análise. Nas análises de atividade antiplasmódica a substância se mostrou inativa ($CI_{50} = 157 \mu M$) contra cepa *P. falciparum* D1 sensível à cloroquina (Mbeunkui, et al., 2012), o estudo *in silico* apresentou predição inferior a 20% ($P_a < 0,2$) para possível ação antiplasmódica da substância colaborando com os resultados encontrados nos estudos *in vitro*.

Tanto a Vellosimina e Geissosquizina não apresentaram atividades biológicas para os parâmetros adotados ($P_a > 0,7$). Quando ocorre a avaliação *in silico* as moléculas são comparadas a outras já existentes e a similaridade entre elas é avaliada pelo programa que então prediz a capacidade que ela teria de ter a mesma atividade (Sadym, et al., 2003). Algumas atividades são preditas quando adotamos valores menores de que 70% ($P_a < 0,7$) dessa forma, se faz necessário estudos *in vitro* e/ou *in vivo* que nos permitam caracterizar essas atividades nas substâncias avaliadas.

A literatura apresenta poucos dados para Vellosimina e Geissosquizina, para a Vellosimina isolada do gênero *Geissospermum* não foram encontrados resultados quanto a sua atividade biológica. Quanto a Geissosquizina a literatura também apresenta poucos resultados, sendo a atividade antiplasmódica a mais evidenciada. Um análogo dessa substância o metil éter Geissosquizina é um composto usado na medicina oriental e demonstrou atividade contra morte neural e anticonvulsivante induzidas por glutamato (Mimaki, et al., 1997; Tavares, 2008).

Até o momento não foram produzidos trabalhos que descrevem possíveis efeitos adversos dos alcaloides usados nesse estudo. Em relação aos efeitos que foram preditos pelo programa observamos que Pereirina apresentou ação depressora (Tabela 3), essa caracterização, pode decorrer pelo duplo fator de liberação da Serotonina indicada pelo estudo *in silico* e a diminuição da receptação determinado pelos estudos em animais, assim, o esvaziamento das vesículas e o bloqueio da receptação levaria ao estado depressor descrito para a molécula.

A Flavopereirina apresentou como efeito adverso tremores, alguns estudos tem demonstrado a correlação entre a Taurina e excitação do SNC e, um dos seus efeitos, seria a produção de tremedeiras uma que vez que a Taurina ativa os receptores, excita os neurônios e produz plasticidade sináptica, afetando, por exemplo, a atividade motora (Dinipote, 2010), por ser inibidora da Taurina desidrogenase a reação observada talvez seja advinda desse processo (Tabela 3).

As substâncias Vellosimina, Geissosquizina e Vellosiminol não apresentaram efeitos adversos para os parâmetros analisados, contudo, isso não quer dizer que elas não possam apresentar efeitos adversos se, por exemplo, aceitarmos $P_a < 0,6$, com esse grau de liberdade a Vellosimina e Vellosiminol apresentam efeitos cardiotoxicos e a Geissosquizina demonstram ação hipotérmica e depressora.

Ao avaliar a capacidade que essas substâncias teriam de apresentar toxicidade, todas se mostraram tóxicas em quase todos os parâmetros. Na avaliação da toxicidade em Algas,

que são utilizadas para avaliar o grau de toxicidade aguda, mesurando somente as mortes, todas as substâncias foram avaliadas como tóxicas (< 1 mg/L). Já os crustáceos *Daphnia sp* são usados como parâmetros de intoxicação tanto aguda, quanto subcrônica, nesse componente a Pereirina se mostrou não tóxica (> 0,22 µg/mL) ao passo que todas as outras se mostraram tóxicas (< 0,22 µg/mL). Já na predição em peixes Medaka, que predizem intoxicação aguda e crônica, além de possibilitar a observação de alterações tóxicas ocorridas em órgãos específicos desses animais, todas as substâncias foram avaliadas como muito tóxicas (< 1 mg/L) (PreADMET, 2020) (Tabela 4).

Tabela 4. Avaliação dos efeitos tóxicos de *Geissospermum laeve*.

Parâmetros Avaliados	Composto				
	Pereirina	Flavopereirina	Vellosimina	Geissosquizina	Vellosiminol
Toxicidade					
Algas	Tóxico	Tóxico	Tóxico	Tóxico	Tóxico
<i>Daphnia sp.</i>	Não Tóxico	Tóxico	Tóxico	Tóxico	Tóxico
Peixes Medaka	Muito Tóxico	Muito Tóxico	Muito Tóxico	Muito Tóxico	Muito Tóxico
Carcinogênico					
Ratos	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
Camundongos	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
Alterações Celulares					
AMES	Mutagênico	Mutagênico	Mutagênico	Mutagênico	Mutagênico
Alteração Gênica	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Citotóxico					
Linhagem tumoral	Positivo	Negativo	*	*	*
Linhagem não tumoral	*	*	*	*	*
Inibição hERG	Baixo	Médio	Médio	Médio	Médio

Legenda: * - Não foi gerado predição para essa substância. Fonte: Autores.

Em um estudo de toxicidade em *Artemia salina* utilizando o extrato etanólico, a fração de neutros e a fração alcaloídica das cascas de *G. laeve*, os seguintes dados foram

encontrados, o extrato etanólico e a fração de neutros foram consideradas tóxicas ($DL_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$) e a fração alcaloídica mostrou-se moderadamente tóxica ($DL_{50} > 150 \mu\text{g/mL}$) (Brandão, 2012). A Flavopereirina demonstrou em macrófagos ser mais seletiva e menos citotóxica quando se aumentou o tempo de exposição, apresentando uma baixa toxicidade (Silva, 2016)

Quando avaliamos o feito carcinogênico de alguma substância *in silico* ela se faz, geralmente, avaliando agentes genotóxicos já conhecidos que induzem ao câncer por interação direta (produto/substância-célula) (Guerra, 2016). Em nossa análise a Pereirina e a Geissosquizina não se apresentaram como carcinogênica para ratos ou camundongos, a Vellosimina e o Vellosiminol compartilham resultado positivo para camundongos e negativos para ratos e a Flavopereirina apresentou-se positiva para ratos, mas não para camundongos (Tabela 4).

Todos os alcaloides analisados nesse estudo apresentam em *in silico* algum grau de atividade antineoplásica, a Pereirina e a Flavopereirina apresentam resultados superiores a 50% ($Pa > 0,5$) e Vellosimina, Geissosquizina e Vellosiminol resultados superiores a 30% ($Pa > 0,3$), a Flavopereirina foi defendida por agente antiproliferativo de alguns tumores (Li, et al., 2019; Yeh, et al., 2019; Basati, Ghanadi, Abbaszadeh, 2020).

Quando alterações gênicas foram previstas, todos as substâncias foram consideradas mutagênicas pelo teste de Ames (PreADMET) e causaram alguma alteração gênica sendo assim considerada positivas (DIGEP-Pred). Quanto aos valores previstos o PreADMET analisa a toxicidade para os clones TA98, TA100 e TA1535 de *Salmonella typhimurium*, que são frequentemente usados no teste de Ames e o resultado pode ser calculado levando em consideração o metabolismo (ativação metabólica pelo fígado de rato a 10% de homogenato, + S9) ou sem considerar o metabolito (Sem ativação metabólica, -S9).

Nesse sentido a Pereirina e a Flavopereirina apresentaram reversão do clone TA 1535 (sem ativação metabólica), a Vellosimina e Vellosiminol apresentaram reversão do clone TA 1535 (com ativação metabólica) e a Geissosquizina não apresentou reversão de nenhum clone o que pode caracterizar um falso-positivo (Tabela 4).

DIGEP-Pred demonstrou que a maioria das alterações gênicas ocorrem em proteínas, não em nível de DNA, uma características de agentes antiproliferativos (Marques, Lopes, 2015; Gupta, et al., 2019) quanto a capacidade de regular a expressão de genes e proteínas, os compostos demonstram que podem ter essa ação, o que condiz com os estudo feitos com o gênero *Geissospermum*, e que, com ressalvas, podem ser transpostas para a espécie em estudo.

A predição de citotoxicidade foi realizada pelo CLC-Pred e pelo PreADMET. Para esse teste, utilizando o CLC-Pred, conseguimos prever somente em linhagens tumorais para Pereirina e a Flavopereirina apresentando resultado positivo e negativo, respectivamente, dentro dos parâmetros previstos. O programa não foi capaz de encontrar resultado para outras substâncias e linhagem não tumoral mesmo fora dos parâmetros (Tabela 4).

Como já demonstrado a Flavopereirina realiza sua ação antiproliferativa via apoptose celular, mediada por genes que realizam essa regulação, já a Pereirina pode realizar esse controle também pela via indutiva da apoptose o que caracterizaria o valor positivo, frente a linhagens tumorais. O extrato etanólico e frações isoladas de *Geissospermum sericeum* demonstraram possuir atividade antitumoral para câncer gástrico, sendo sugerido seletividade a esse (Bastos, 2017), alguns alcaloides encontrados desse estudo também são encontrados em *Geissospermum laeve* o que pode caracterizar a mesma atividade a essa espécie.

Quanto a predição de risco cardíaco foi utilizado o bloqueio dos canais hERG K⁺, que está associado com arritmia cardíaca letal. Por se de fácil ligação o hERG é um dos mais importantes alvos a serem considerados em estágios iniciais do processo de desenvolvimento de drogas (Aronov, 2005). A Pereirina foi a única que demonstrou baixo risco, enquanto as demais apresentaram médio risco, lembrando que ao aceitar $P_a < 0,6$ a Flavopereirina, Vellosimina, Geissosquizina, Vellosiminol apresentaram carditotoxicidade o que condiz com os resultados aqui expressos. Não foram encontrados na literatura, até o momento, estudos que descrevam esse efeito.

4. Conclusão

Em relação às atividades biológicas a Pereirina, Flavopereirina e o Vellosiminol demonstraram atividades inibitórias e excitativas de um conjunto diversificado de enzimas e hormônios necessários ao metabolismo humano. Quanto a Vellosimina e a Geissosquizina cabem aqui ressalvas para a limitação da predição *in silico*, mas podemos encontrar dentro da literatura caminhos que podem ser seguidos por essas duas substâncias. Quanto as reações adversas esperadas, para todos os compostos são necessários mais estudos que elucidem como eles provocam suas reações, visto que, todas as substâncias se apresentaram tóxicas e mutagênicas, sendo indispensáveis estudos mais aprofundados que auxiliem ao deslindamento desses efeitos tóxicos. Diante dos dados expressos, acreditamos que a Pereirina e o Vellosiminol são candidatos promissores para o desenvolvimento de novos fármacos, para isso, são necessários estudos que elucidem os mecanismos de ação dessas substâncias,

principalmente as que agem sobre os neurotransmissores, dessa forma, estudos *in vitro* e *in vivo* devem ser realizados.

Referências

Adamski, Z., Blythe, L. L., Milella, L., & Bufo, S. A. (2020). Biological Activities of Alkaloids: From Toxicology to Pharmacology. *Toxins*, 12, 210.

Ajay, A, Bemis, G. W., & Murcko, M. A. (1999). Designing libraries with CNS activity. *Journal of medicinal chemistry*, 42(24), 4942-4951.

Almeida, M. R., Lima, J. A., Santos, N. P. D., & Pinto, A. C. (2009). Pereirina: o primeiro alcaloide isolado no Brasil? *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(4), 942-952.

Aronov, A. M. (2005). Predictive in silico modeling for hERG channel blockers. *Drug discovery today*, 10(2), 149-155. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359644604032787>.

Balimane, P. V., & Chong, S. (2005). Cell culture-based models for intestinal permeability: a critique. *Drug discovery today*, 10(5), 335-343.

Basati, G., Ghanadi, P., & Abbaszadeh, S. (2019). A review of the most important natural antioxidants and effective medicinal plants in traditional medicine on prostate cancer and its disorders. *Journal of Herbmed Pharmacology*. Recuperado de: <http://eprints.lums.ac.ir/2176/>.

Bastos, M. L. C., (2017). *Avaliação da citotoxicidade e seletividade do extrato, frações e alcaloide de Geissospermum sericeum (Apocynaceae) em linhagens celulares ACP02, HepG2 e VERO*. 108 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Pará. Instituto de Ciências da Saúde. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas.

Beljanski, M. (1994). Flavopereirine-based pharmaceutical composition for treatment of HIV infection. *Patent family written in French. PCT Int. Appl*, 33. Recuperado de: <https://patents.google.com/patent/US5519028A/en>.

Beljanski, M. (2005). Flavopereirine-based pharmaceutical composition and use thereof for treating HIV. *Canadian Patent. CA, 2120001*. Recuperado de: <https://patents.google.com/patent/FR2694693B1/en>.

Bittencourt, J. M. T., & Canelas, H. M. (1947). Barreira hemoencefálica. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 5(2), 181-201.

Brandão, D. L. N. (2012). *Portulaca Pilosa L. e Geissospermum velosii Leavis: estudos botânicos, farmacognóstico, fitoquímico e atividades biológicas*. 128 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Pará. Instituto de Ciências da Saúde. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas.

Chamizo-Ampudia, A., Sanz-Luque, E., Llamas, A., Galvan, A., & Fernandez, E. (2017). Nitrate reductase regulates plant nitric oxide homeostasis. *Trends in Plant Science*, 22(2), 163-174.

Chemicalize. (2020). Instant cheminformatics solutions. Recuperado de: <https://chemicalize.com/welcome>.

CLC-Pred. (2020). Cell Line Cytotoxicity Predictor. Recuperado de: <http://www.way2drug.com/Cell-line/>.

Correa-Barbosa, J., da Silva, M. C. M., Percário, S., Brasil, D. D. 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-. Recuperado de: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/8635>.

De Oliveira Plácido, N. S., da Silveira Carlos, A. L., Soares, C. M. F., de Souza, R. L., Fricks, A. T., & Lima, Á. S. (2016). A partição de alcaloides em sistemas aquosos bifásicos baseados em líquidos iônicos. *Semana de Pesquisa da Universidade Tiradentes-SEMPESq*, (18).

Denipote, F. G. (2010). *Influência da taurina na remodelação cardíaca induzida pela exposição à fumaça do cigarro*. 90 f. Dissertação (Mestrado em Fisipatologia), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

DIGEP-Pred. (2020). Prediction of Drug-induced changes of Gene Expression Profile. Recuperado de: <http://www.way2drug.com/ge/>.

Dolabela, M. F., Silva, A. R. P. D., Ohashi, L. H., Bastos, M. L. C., Silva, M. C. M. D., & Vale, V. V. (2018). Estudo in silico das atividades de triterpenos e iridoides isolados de *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson. *Revista Fitos*, 12, 227.

Fenner, R., Betti, A. H., Mentz, L. A., & Rates, S. M. K. (2006). Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 42(3), 369-394.

Filimonov, D. A., et al. (1995). 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. *Eksperimental'naia i klinicheskaia farmakologiya*, 58(2), 56-62.

Golan, D., Tashjian Junior, A. H., Armstrong, E. J., & Armstrong, A. W. (2009). Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia. In *Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia* (pp. xxiv-952).

Guerra, L. R. (2016). *Avaliação da capacidade preditiva de carcinogenicidade e mutagenicidade de modelos in silico gratuitos para compostos orgânicos voláteis*. 263 f. Tese (Doutorado em Ciência e Biotecnologia). Universidade Federal Fluminense.

Guido, R. V., Andricopulo, A. D., & Oliva, G. (2010). Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. *Estudos avançados*, 24(70), 81-98.

Gupta, A. K., Tulsyan, S., Bharadwaj, M., & Mehrotra, R. (2019). Systematic review on cytotoxic and anticancer potential of N-substituted Isatins as novel class of compounds useful

in multidrug-resistant cancer therapy: in silico and in vitro analysis. *Topics in Current Chemistry*, 377(3), 15. Recuperado de: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s41061-019-0240-9.pdf>.

Li, J. M., et al. (2019). Flavopereirine suppresses the growth of colorectal cancer cells through p53 signaling dependence. *Cancers*, 11(7), 1034. Recuperado de: <https://www.mdpi.com/2072-6694/11/7/1034/htm>.

Lin, J. H., & Lu, A. Y. (1998). Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications. *Clinical pharmacokinetics*, 35(5), 361-390.

Lipinski, C. A. (2004). Lead-and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*, 1(4), 337-341.

Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews*, 23(1-3), 3-25.

Marques, J. P., & Lopes, G. C. (2015). Alcaloides como agentes antitumorais: considerações químicas e biológicas. *Revista Uningá Review*, 24(1). Recuperado de: <http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/1674>.

Mbeunkui, F., Grace, M. H., Lategan, C., Smith, P. J., Raskin, I., & Lila, M. A. (2012). In vitro antiplasmodial activity of indole alkaloids from the stem bark of *Geissospermum vellosii*. *Journal of ethnopharmacology*, 139(2), 471-477.

Mimaki, Y., Toshimizu, N., Yamada, K., & Sashida, Y. (1997). Anti-convulsion effects of choto-san and chotoko (*Uncariae Uncis* cam Ramulus) in mice, and identification of the active principles. *Yakugaku Zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 117(12), 1011-1021.

Mota, T. (2011). *Modelagem In silico de propriedades farmacocinéticas para a avaliação de candidatos a novos fármacos*. 218 f. Tese (Doutor em Ciência). Universidade de São Paulo. Instituto de Física.

Muñoz, V., et al. (2000). A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach: Part I. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the Chacobo Indians. *Journal of Ethnopharmacology*, 69(2), 127-137.

PASS online. (2020). Prediction of biological activity. Recuperado de: <http://www.way2drug.com/passonline/>.

Pereira, A. S., et al. (2018). Metodologia da pesquisa científica. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Recuperado de: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1.

PREADMET. (2020). ADME Prediction. Recuperado de <https://preadmet.bmdrc.kr/admeprediction/>.

Ramachandran, S., Fontanille, P., Pandey, A., & Larroche, C. (2006). Gluconic acid: Properties, applications and microbial production. *Food Technology & Biotechnology*, 44(2).
Ramakrishnan, T., & Campbell, J. J. R. (1955). Gluconic dehydrogenase of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochimica et biophysica acta*, 17, 122-127.

Reflora. (2020). Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Recuperado de: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/ConsultaPublicaUC/ConsultaPublicaUC.do#CondiacaoTaxonCP>.

Rodrigues, M., et al. (2013). Chemical composition, ethnopharmacology and biological activity of *Geissospermum Allemão* species (*Apocynaceae* Juss.). Rio de Janeiro. *Revista Fitos*, 8(2), 73-160.

ROSC-Pred. (2020). Rodent Organ-specific Carcinogenicity Prediction. Recuperado de: <http://www.way2drug.com/ROSC/>.

Sadym, A., Lagunin, A., Filimonov, D., & Poroikov, V. (2003). Prediction of biological activity spectra via the Internet. *SAR and QSAR in Environmental Research*, 14(5-6), 339-347. Recuperado de: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10629360310001623935>.

Silva, F. (2015). *Desenvolvimento de modelos de QSAR para identificação de substratos e inibidores de CYP3A4*. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Goiás.

Silva, J. V. S. (2016). *Estudos farmacognósticos, fitoquímicos e atividade antileishmania de espécies Geissospermum (Apocynaceae)*. 142 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Pará. Instituto de Ciências da Saúde. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas.

Souza, J. D., Freitas, Z. M. F., & Storpirtis, S. (2007). Modelos in vitro para determinação da absorção de fármacos e previsão da relação dissolução/absorção. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 43(4), 515-527.

Steele, J. C., Veitch, N. C., Kite, G. C., Simmonds, M. S., & Warhurst, D. C. (2002). Indole and β -Carboline Alkaloids from *Geissospermum sericeum*. *Journal of natural products*, 65(1), 85-88.

Subramanian, G., & Kitchen, D. B. (2006). Computational approaches for modeling human intestinal absorption and permeability. *Journal of molecular modeling*, 12(5), 577.

Tavares, J.A.W. (2008). *Avaliação da atividade antinociceptiva do extrato bruto, das frações e dos compostos obtidos de Geissospermum vellosii*. 78 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia). Universidade Federal de Santa Maria. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-graduação em Farmacologia.

Tropicos. (2020). Missouri Botanical Garden. Recuperado de: <https://www.tropicos.org/name/1802715>.

Wax, P. M. (1997). Analeptic use in clinical toxicology: a historical appraisal. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 35(2), 203-209.

Werner, J. A., et al. (2009). Evidence for a role of 5-HT_{1A} receptor on antinociceptive action from *Geissospermum vellosii*. *Journal of ethnopharmacology*, 125(1), 163-169.

Yazdanian, M., Glynn, S. L., Wright, J. L., & Hawi, A. (1998). Correlating partitioning and Caco-2 cell permeability of structurally diverse small molecular weight compounds. *Pharmaceutical research*, 15(9), 1490.

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.

Yeh, H. T., et al. (2019). Flavopereirine induces cell cycle arrest and apoptosis via the AKT/p38 MAPK/ERK1/2 signaling pathway in human breast cancer cells. *European journal of pharmacology*, 863, 172658. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299919306107>.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Gleison Gonçalves Ferreira – 50%

Dayse do Nascimento Brandão – 25%

Maria Fâni Dolabela – 25%