



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



ANDERSON FELIPE SOARES DE FREITAS

ANÁLISE TOXICOLÓGICA E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS
DE EXTRATO HIDROETANÓLICO DE CLADÓDIOS DE *Harrisia adscendens* (Gürke)
Britton & Rose

Recife
2025

ANDERSON FELIPE SOARES DE FREITAS

ANÁLISE TOXICOLÓGICA E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS
DE EXTRATO HIDROETANÓLICO DE CLADÓDIOS DE *Harrisia adscendens* (Gürke)
Britton & Rose

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial para obtenção do
título de doutor em Ciências Biológicas

Área de concentração: Meio Ambiente

Orientador: Thiago Henrique Napoleão

Coorientador: Alisson Macário de Oliveira

Recife

2025

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Freitas, Anderson Felipe Soares de.

Análise toxicológica e avaliação de atividades farmacológicas de extrato hidroetanólico de cladódios de *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose / Anderson Felipe Soares de Freitas. - Recife, 2025.

103 f.: il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, 2025.

Orientação: Thiago Henrique Napoleão.

Coorientação: Alisson Macário de Oliveira.

Inclui referências.

1. Rabo-de-raposa; 2. Toxicidade; 3. Inflamação; 4. Cicatrização; 5. Dor; 6. Avaliação in silico. I. Napoleão, Thiago Henrique. II. Oliveira, Alisson Macário de. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

ANDERSON FELIPE SOARES DE FREITAS

ANÁLISE TOXICOLÓGICA E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS
DE EXTRATO HIDROETANÓLICO DE CLADÓDIOS DE *Harrisia adscendens* (Gürke)
Britton & Rose

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial para obtenção do
título de doutor em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 31/03/2025

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Thiago Henrique Napoleão (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Leydianne Leite de Siqueira Patriota (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Wêndeo Kennedy Costa (Examinadora Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Juliane Nancy de Oliveira Silva (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Marília Gabriela Muniz Arruda (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho a todos que acreditaram em mim e me apoiaram ao longo desta jornada. Em especial, à minha vó, Dona Ivonete, que sempre esteve ao meu lado, me ajudando em tudo, nunca hesitou em me oferecer seu apoio incondicional, demonstrando que o amor e a confiança são forças essenciais para alcançar qualquer conquista.

AGRADECIMENTOS

Aproveito este momento para expressar minha gratidão a todos que, de alguma forma, contribuíram para que eu pudesse trilhar este novo caminho em minha vida.

Primeiramente, agradeço aos meus avós, Seu Assis e Dona Ivonete, que sempre me apoiaram com todas as forças, mesmo sem entender exatamente do que se tratava este desafio, mas sabendo que era um passo importante para o meu futuro. Foram eles que me ensinaram os valores e qualidades que carrego comigo hoje. Serei eternamente grato pela criação que me deram, pelo apoio incondicional às minhas decisões e por me ensinarem a pensar no amanhã, e não apenas no agora. Obrigado por tudo!

Aos meus tios e tias, Maurício, Amaury, Tia Bete, Tia Josi, Tia Vaninha e Tia Lú, sou muito grato por todo o suporte e ajuda ao longo dessa caminhada. Obrigado por estarem sempre por perto quando precisei.

Ao professor Thiago, meu orientador, agradeço pela confiança e pelo suporte ao longo desta jornada. Sua orientação foi fundamental para o desenvolvimento deste trabalho e para meu crescimento acadêmico e profissional. Sou grato pela dedicação, pelos ensinamentos durante o doutorado.

Meu agradecimento também ao Sr. Dr. Alisson, que me acompanha desde a graduação e esteve presente em diversos momentos dessa caminhada, sempre disposto a ajudar. Muito obrigado, Sr.

Não posso deixar de mencionar meus amigos que, apesar do contato reduzido nos últimos anos, seguem sendo essenciais na minha vida. Heron, Edim, Bito e Cleiton Oliver: obrigado por tudo! A amizade de vocês é um pilar importante para mim.

Agradeço a Cláudia, pelo empenho e dedicação ao longo do projeto. Estendo minha gratidão a todos que, de alguma forma, contribuíram para essa jornada, seja com apoio técnico, discussões ou incentivo.

Por fim, agradeço à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pela concessão da bolsa de Doutorado e pelo apoio no desenvolvimento desta pesquisa.

"O sucesso é a soma de pequenos esforços repetidos dia após dia." – Robert Collier

RESUMO

Harrisia adscendens (Gürke) Britton & Rose, um cacto nativo da Caatinga brasileira, é tradicionalmente empregado na medicina popular. Este estudo avaliou a composição fitoquímica, toxicidade e atividades farmacológicas de um extrato hidroetanólico dos cladódios de *H. adscendens*, integrando abordagens experimentais *in vivo* e *in silico*. O processo de extração foi otimizado utilizando um delineamento fatorial, sendo escolhido o método de turbólise, usando 10% de material vegetal e etanol: água 1:1. A composição química do extrato foi analisada por LC-ESI-MS. A toxicidade aguda (2000 mg/kg) e subaguda (doses repetidas de 250, 500 e 1000 mg/kg por 28 dias) e genotoxicidade *in vivo* (testes do cometa e micronúcleo) foram avaliadas. Atividade antinociceptiva foi avaliada por meio do teste de contorções abdominais e da formalina e a ação anti-inflamatória do extrato foi investigada utilizando os modelos de edema de pata e de peritonite induzidos por carragenina. A atividade antipirética foi determinada em modelo de febre induzida por levedura. Todos esses ensaios foram realizados por administração oral das doses 100, 200 e 400 mg/kg. A ação cicatrizante de gel contendo o extrato (5 e 10%) também foi investigada. Por fim, a composição do extrato foi analisada por UPLC/MS-MS e os compostos detectados foram investigados quanto ao perfil de segurança e possíveis bioatividades utilizando ferramentas *in silico*. A análise por LC-ESI-MS identificou três acetofenonas, um ácido hidroxicinâmico, três ácidos fenólicos e um flavonoide. Não foram observadas alterações comportamentais ou mortalidade tanto na avaliação aguda quanto subaguda. Os parâmetros hematológicos e bioquímicos permaneceram normais, com exceção de uma redução na contagem total de leucócitos em fêmeas tratadas com doses repetidas. Os resultados dos testes de genotoxicidade não indicaram danos ao DNA. O extrato demonstrou atividade antinociceptiva em ambos os ensaios e, no teste da formalina, foi especialmente ativo na fase inflamatória. No modelo de edema de pata, o extrato reduziu o inchaço em 47,5% na dose de 400 mg/kg. Além disso, reduziu a infiltração de leucócitos e os níveis de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-6, IL-1 β e IFN- γ) no modelo de peritonite. O extrato exibiu atividade antipirética, promovendo redução da temperatura corporal após 90 min de administração. O gel contendo o extrato acelerou a regeneração tecidual, promovendo contração da ferida após 6 dias, especialmente na concentração de 10% (43,02%). Foram identificados 43 compostos por UPLC-MS, incluindo terpenoides, alcaloides e polietídeos. Desses, 5 (11,6%) apresentaram potencial mutagênico no teste *in silico*, enquanto 88,4% foram considerados não-mutagênicos. A análise de LD₅₀ classificou a maioria dos compostos (26) na categoria não-tóxicos. A análise *in silico* sugeriu atividades biológicas relevantes, como a

inibição de CDP-glicerol glicerofosfotransferase, agonismo da integridade da membrana, inibição de fosfatases de açúcar e inibição da enzima hidrolase de alquenilglicerofosfocolina. Essas atividades sugerem implicações para o tratamento de distúrbios metabólicos, neurodegenerativos e infecciosos. Os resultados indicam que *H. adscendens* possui um perfil de segurança favorável e potencial terapêutico relevante para o tratamento de dor, inflamação, febre e cicatrização de feridas. Estudos futuros poderão aprofundar a compreensão de seus mecanismos de ação, explorar sinergias com fármacos convencionais e desenvolver formulações para uso clínico.

Palavras-chave: rabo-de-raposa; toxicidade; inflamação; febre; dor; cicatrização; avaliação *in silico*.

ABSTRACT

Harrisia adscendens (Gürke) Britton & Rose, a cactus native to the Brazilian Caatinga, is traditionally used in folk medicine. This study evaluated the phytochemical composition, toxicity, and biological activities of a hydroethanolic extract from the cladodes of *H. adscendens*, integrating in vivo and in silico experimental approaches. The extraction process was optimized using a factorial design, with the turbolysis method being chosen, utilizing 10% plant material and a 1:1 ethanol:water ratio. The chemical composition of the extract was analyzed by LC-ESI-MS. Acute toxicity (2000 mg/kg), subacute toxicity (repeated doses of 250, 500, and 1000 mg/kg for 28 days), and genotoxicity in vivo (comet and micronucleus tests) were evaluated. Antinociceptive activity was assessed using abdominal writhing and formalin tests, and the anti-inflammatory action of the extract was investigated using the paw edema and peritonitis models induced by carrageenan. Antipyretic activity was determined in a yeast-induced fever model. All these assays were conducted by oral administration of doses of 100, 200, and 400 mg/kg. The wound healing action of a gel containing the extract (5 and 10%) was also investigated. Finally, the composition of the extract was analyzed by UPLC/MS-MS, and the detected compounds were investigated for safety profile and possible bioactivities using *in silico* tools. LC-ESI-MS analysis identified three acetophenones, one hydroxycinnamic acid, three phenolic acids, and one flavonoid. No behavioral changes or mortality were observed in either acute or subacute assessments. Hematological and biochemical parameters remained normal, except for a reduction in total leukocyte count in females treated with repeated doses. Genotoxicity test results did not indicate DNA damage. The extract showed antinociceptive activity in both assays and was particularly active in the inflammatory phase of the formalin test. In the paw edema model, the extract reduced swelling by 47.5% at the dose of 400 mg/kg. Furthermore, it reduced leukocyte infiltration and pro-inflammatory cytokine levels (TNF- α , IL-6, IL-1 β , and IFN- γ) in the peritonitis model. The extract exhibited antipyretic activity, promoting a reduction in body temperature 90 minutes after administration. The gel containing the extract accelerated tissue regeneration, promoting wound contraction after 6 days, especially at the 10% concentration (43.02%). Forty-three compounds were identified by UPLC-MS, including terpenoids, alkaloids, and polyketides. Of these, 5 (11.6%) had mutagenic potential, while 88.4% were considered non-mutagenic. The LD₅₀ analysis classified most of the compounds (26) in the non-toxic category. *In silico* analysis suggested relevant biological activities, such as the inhibition of CDP-glycerol glycerophosphotransferase, membrane integrity agonism, inhibition of sugar phosphatases, and inhibition of

alkylglycerophosphocholine hydrolase. These activities suggest implications for the treatment of metabolic, neurodegenerative, and infectious disorders. The results indicate that *H. adscendens* has a favorable safety profile and relevant therapeutic potential for the treatment of pain, inflammation, fever, and wound healing. Future studies may further elucidate its mechanisms of action, explore synergies with conventional drugs, and develop formulations for clinical use.

Keywords: rabo-de-raposa; toxicity; inflammation; fever; pain; wound healing; in silico evaluation.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo Geral.....	14
2.2 Objetivos Específicos.....	14
3. REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1. Estudos toxicológicos	15
3.2. Dor	16
3.3. Inflamação.....	19
3.4 <i>Harrisia adscendens</i>	22
3.5. Estudos <i>in silico</i>	23
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4.1 Artigo 1	26
4.2 Artigo 2	52
4.3. Artigo 3.....	74
5. CONCLUSÃO	98

1. INTRODUÇÃO

As plantas têm sido aliadas fundamentais da humanidade desde os tempos mais remotos, oferecendo soluções terapêuticas desde civilizações antigas, como as egípcias, hindus, persas, gregas e as culturas pré-colombianas das Américas. Ao longo da história, o conhecimento tradicional e a observação minuciosa da natureza permitiram que as plantas medicinais se tornassem pilares no tratamento de doenças e na preservação da saúde (Rocha et al., 2021).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define plantas medicinais como "todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursoras de fármacos semissintéticos" (Napagoda; Wijesundara, 2022). Esses princípios ativos, responsáveis pelos efeitos terapêuticos, estão presentes em diversas partes das plantas, como raízes, folhas, sementes e flores, e sua utilização depende do conhecimento tradicional e científico para garantir eficácia e segurança (Jain; Khatana; Vijayvergia, 2019).

No contexto brasileiro, a importância das plantas medicinais é inegável e profundamente enraizada na cultura e na história do país. O Brasil, com sua vasta extensão territorial e biodiversidade única, abriga uma riqueza extraordinária de recursos naturais, incluindo uma ampla variedade de espécies vegetais com propriedades terapêuticas (Rodrigues et al., 2011; Carneiro et al., 2014). Essas plantas desempenham um papel central na medicina tradicional de comunidades indígenas, quilombolas, ribeirinhas e outras, que utilizam o conhecimento transmitido oralmente de geração em geração para tratar diversas enfermidades. Além disso, as plantas medicinais têm um impacto significativo no sistema de saúde pública do Brasil, especialmente em regiões onde o acesso a cuidados médicos convencionais é limitado (Pereira et al., 2015; Borges; Sales, 2018).

Diante da relevância das plantas medicinais para a sociedade, a avaliação de sua toxicidade é essencial para garantir sua qualidade, segurança e eficácia, além de prevenir efeitos adversos, interações medicamentosas e intoxicações. É importante destacar que algumas plantas podem apresentar toxicidade aguda ou crônica, dependendo de fatores como dose, via de administração, forma de preparo, parte utilizada e composição química (Tokarnia et al., 2000; Nasri, 2013).

No universo diversificado das plantas medicinais, as cactáceas emergem como um grupo botânico notável com relevância terapêutica. As cactáceas têm despertado o interesse da comunidade científica devido às suas capacidades de sobreviver em ambientes hostis, o que

leva à produção de substâncias diferenciadas, muitas com propriedades farmacológicas (Lucena et al., 2013; Siegloch et al., 2020).

Entre as cactáceas brasileiras com potencial terapêutico, encontram-se as espécies do gênero *Harrisia*, uma presença marcante na rica biodiversidade neotropical, estendendo-se desde o Caribe até as vastas paisagens do Paraguai e Argentina. No território brasileiro, encontramos três espécies desse gênero, das quais uma é endêmica (*Harrisia adscendens*) e duas são compartilhadas com o Paraguai, possivelmente estendendo-se até a Bolívia (*Harrisia balansa* e *Harrisia tortuosa*) (Zappi, Taylor, 2020).

Harrisia adscendens (Gürke) Britton & Rose, nativa da Caatinga, é conhecida popularmente como "rabo de raposa". Essa planta tem uma importância significativa na medicina popular, com sua utilização em infusões contra amenorreia, bem como em aplicações como diurético, anti-inflamatório e alívio de dores de dente (Agra; Freitas; Barbosa-Filho, 2007; Andrade et al., 2006; Zappi et al., 2015).

Apesar da relevância do gênero *Harrisia* e do uso tradicional de suas espécies na medicina popular, observa-se uma lacuna de estudos científicos abordando suas propriedades biológicas, bem como a segurança de seu uso. Considerando que o conhecimento científico pode oferecer uma base sólida para entender e validar as propriedades terapêuticas das plantas, esta tese se propõe a avaliar a toxicidade e atividades antinociceptiva, anti-inflamatória e antipirética de extrato hidroetanólico de cladódios de *H. adscendens*, além de sua caracterização fitoquímica e avaliação *in sílico*.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o extrato hidroetanólico de cladódios de *Harrisia adscendens* quanto ao perfil fitoquímico, toxicidade e atividades antinociceptiva, anti-inflamatória e cicatrizante em camundongos, integrando abordagens experimentais *in vivo* e *in silico*.

2.2 Objetivos Específicos

- Produzir um extrato hidroetanólico otimizado dos cladódios de *Harrisia adscendens* por meio de planejamento fatorial;
- Traçar o perfil fitoquímico do extrato por meio de análises cromatográficas e espectrofotométricas;
- Avaliar a toxicidade aguda, subaguda e a genotoxicidade *in vivo* em camundongos Swiss;
- Avaliar a atividade antinociceptiva *in vivo* utilizando os testes de formalina e contorções abdominais induzidas por ácido acético;
- Avaliar a atividade anti-inflamatória *in vivo* por meio dos modelos de peritonite e edema de pata induzidos por carragenina;
- Produzir uma formulação em gel contendo o extrato;
- Avaliar a atividade cicatrizante *in vivo* da formulação produzida em modelo de ferida cutânea em camundongos Swiss;
- Integrar abordagens *in silico* para avaliação do perfil de segurança e predição de atividades biológicas dos compostos do extrato.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Estudos toxicológicos

Quando se iniciam pesquisas envolvendo plantas medicinais ou seus derivados, torna-se fundamental a análise da toxicidade aguda, independentemente da duração prevista do tratamento. A legislação classifica os "fitoterápicos" como substâncias sujeitas a regulamentações rigorosas, sendo imperativo conduzir estudos que demonstrem não apenas sua eficácia, mas também a segurança (Campos *et al.*, 2016).

O teste de toxicidade aguda, de maneira geral, segue as diretrizes do protocolo 423 da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (*The Organisation for Economic Co-operation and Development*, OECD). Esse procedimento envolve a administração de uma única dose de uma preparação ou potencial medicamento, fornecendo uma estimativa inicial e uma avaliação das propriedades tóxicas. Esse teste oferece informações cruciais sobre os riscos à saúde associados à exposição a curto prazo pela via oral. Durante a avaliação do teste são observados os possíveis efeitos tóxicos do composto, que podem incluir alterações na pele, pelos, olhos, membranas mucosas, respiração, sistema autônomo e nervoso central, atividade somatomotora e padrão de comportamento. Essas alterações são cuidadosamente observadas e registradas. Além disso, o teste serve como base para a definição do regime de dosagem em estudos de toxicidade crônica e subcrônica (OECD, 2001; Moura *et al.*, 2012).

O teste de toxicidade aguda fornece também um parâmetro denominado dose letal 50% (DL₅₀), que é um parâmetro estatístico que representa a probabilidade de que a dose cause um efeito letal em metade da população animal testada (PIERRE *et al.*, 2019). É possível classificar o nível de toxicidade dos compostos através da DL₅₀ em 6 níveis de toxicidade (Rossiana *et al.*, 2020), mostrados na Tabela 1.

O teste de toxicidade em doses repetidas (subaguda) oferece informações sobre os riscos à saúde decorrentes da exposição repetida a doses em um intervalo curto de tempo. São realizadas administrações da substância em dias consecutivos, durante um período de 14 a 28 dias. Após a última administração é conduzido a avaliação dos possíveis efeitos tóxicos como alterações na pele, pelos, olhos e membranas mucosas, além disso, é importante observar a

atividade autonômica, como lacrimejamento e piloereção, bem como mudanças na marcha, postura e resposta ao manuseio entre outros. Todas essas alterações devem ser registradas e observadas para avaliação de reversibilidade. A interpretação dos resultados desse estudo pode levar em consideração os efeitos tóxicos observados e os achados obtidos por meio de autópsias (OECD, 2008; ANVISA, 2013).

Tabela 1. Toxicidade dos compostos com base em DL₅₀ (Rossiana *et al.*, 2020)

Nível	Classificação	Faixa
1	Extremamente tóxico	DL ₅₀ ≤ 1 mg/kg
2	Altamente tóxico	1 mg/kg ≤ DL ₅₀ ≤ 50 mg/kg
3	Moderadamente tóxico	50 mg/kg ≤ DL ₅₀ ≤ 500 mg/kg
4	Ligeiramente tóxico	500 mg/kg ≤ DL ₅₀ ≤ 5000 mg/kg
5	Quase não tóxico	5.000 mg/kg ≤ DL ₅₀ ≤ 15.000 mg/kg
6	Inofensivo	DL ₅₀ ≥ 15.000 mg/kg

Os estudos de toxicidade subaguda são projetados para avaliar a progressão e regressão do trauma induzido por drogas, mas geralmente são insuficientes para identificar quaisquer efeitos colaterais que possam ocorrer durante o uso clínico de longo prazo (HAYES; WANG; DIXON, 2020). Além disso, os estudos fornecem informações sobre as características gerais da toxicidade, tais como a toxicidade para órgãos-alvo específicos, a relação dose-resposta, respostas a metabólitos tóxicos formados no organismo, respostas retardadas, efeitos cumulativos e informações sobre reversibilidade e irreversibilidade do efeito (CAVAGNARO, 2010).

Como exemplo, um estudo de toxicidade por doses repetidas realizado por Yang *et al.* (2019) indicou que o extrato etanólico das folhas de *Epigynum auritum* pode ser considerado seguro para uso, especialmente em doses inferiores a 625 mg/kg. Por outro lado, existem plantas letais, como observado no estudo de Badin *et al.* (2023), que demonstraram que o extrato etanólico de *Luffa operculata* apresentou uma DL₅₀ de 3,3 mg/kg por via intraperitoneal em camundongos, podendo ser considerada uma planta com alta toxicidade.

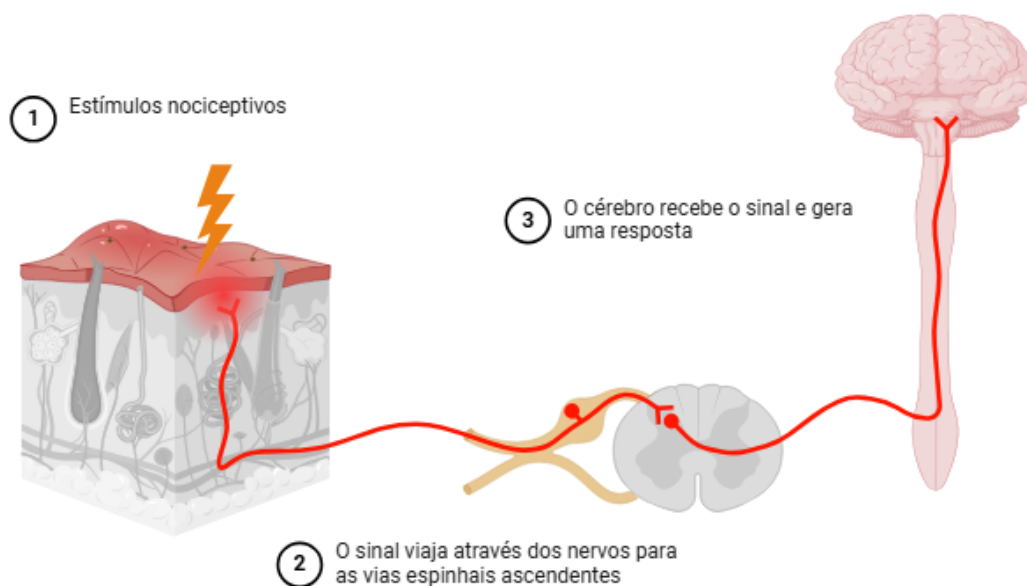
3.2. Dor

A definição abrangente da dor, conforme a Associação Internacional para o Estudo da Dor (*International Association for the Study of Pain*, IAPS), é: "uma experiência sensorial e

emocional desagradável associada a dano real ou potencial ao tecido, ou descrita em termos de tal dano" (Love-Jones, 2019). A dor é um mecanismo biológico de transdução de sinal provocado por estímulos nocivos do ambiente, tanto internos quanto externos, e sua função primordial é induzir comportamentos preventivos, visando suprimir a causa da dor e limitar ou restaurar os danos (Lent, 2010). Por ser uma experiência subjetiva, a dor engloba um componente cognitivo e emocional ou afetivo substancial (Silva & Ribeiro-Filho, 2011).

Os receptores da dor, conhecidos como nociceptores, são terminações nervosas livres amplamente distribuídas em todos os tecidos e órgãos, incluindo a pele, órgãos internos, parênquima de órgãos sólidos, vasos sanguíneos, ossos e articulações (Guyton & Hall, 2011; Lent, 2010). A dor tem início a partir de estímulos nociceptivos que ativam ou sensibilizam esses nociceptores (Sandkuhler, 2009), desencadeando um potencial de ação transmitido pelo neurônio periférico até a medula espinhal, onde o sinal é então encaminhado para o segundo neurônio e, posteriormente, para regiões superiores do sistema nervoso central, como demonstrado na Figura 1 (Guyton & Hall, 2011; Lent, 2010).

Figura 1 - Esquema ilustrativo do mecanismo da dor.



Fonte: Autoria própria.

Em relação à duração, a dor pode ser classificada como aguda ou crônica. A dor aguda é caracterizada por sua natureza pontual, limitada e tende a desaparecer quando o estímulo causador cessa. Por outro lado, a dor crônica persiste por um longo período e está associada a alterações fisiológicas duradouras e modificações no padrão de transmissão neuronal (Garland,

2012). Processos inflamatórios frequentemente envolvem mediadores inflamatórios e/ou causam lesões que ativam ou sensibilizam os nociceptores locais. Diferentes mediadores nociceptivos, como endotelina, substância P, prostaglandinas e aminas simpaticomiméticas, são capazes de sensibilizar diretamente os nociceptores (Yu et al., 2013).

O teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético é um método utilizado para avaliar a atividade antinociceptiva de substâncias em animais. O teste consiste em injetar uma solução de ácido acético intraperitonealmente em camundongos ou ratos e contar o número de contorções que os animais apresentam em um determinado período. O ácido acético provoca uma inflamação local e liberação de mediadores químicos que estimulam as terminações nervosas nociceptivas. As contorções são caracterizadas por contrações da musculatura abdominal, alongamento das patas traseiras e torção do tronco (Figura 2). Substâncias com propriedades analgésicas podem reduzir o número de contorções, indicando um efeito antinociceptivo (Silva et al., 2013; Batista et al., 2016).

Figura 2 - Fotografia de camundongo realizando movimento de extensão dos membros posteriores em modelo de nocicepção química denominado teste de contorção abdominal.



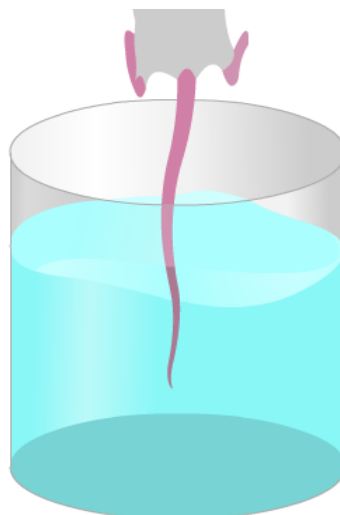
Fonte: Nascimento et al. (2019).

O teste da formalina é uma outra avaliação utilizada para estudar a atividade antinociceptiva em modelos animais. Ele é realizado injetando formalina na pata do camundongo, o que induz uma resposta que pode ser dividida em duas fases distintas: a primeira fase, que está associada à dor neurogênica, ocorre imediatamente após a injeção, e a segunda fase, relacionada à dor inflamatória, acontece após 5 minutos. É analisada a redução do comportamento de lambedura da pata, que é o indicativo de atividade antinociceptiva. Além disso, ele pode ser usado para investigar o envolvimento de sistemas como o opioide na

modulação da dor, tornando-se uma ferramenta importante para o desenvolvimento de novos analgésicos e estudos farmacológicos (Hunskar; Fasmer; Hole, 1985; Fischer et al., 2014; Freitas et al., 2020).

Já o teste de retirada da cauda é uma avaliação comumente empregada para examinar a sensibilidade à dor térmica em modelos experimentais com animais. Nesse teste, a cauda do animal é imersa em um ambiente com temperatura controlada, geralmente água quente, e o tempo que o animal leva para retirar a cauda é registrado como uma medida da resposta à dor (Figura 3). Quanto mais rápido a cauda é retirada, maior é a sensibilidade, indicando desconforto (Berge; Garcia; Hole, 1988; Tjølsen *et al*, 1989; Mwobobia; Kanui; Abelson, 2021).

Figura 3 - Representação da nocicepção térmica pelo teste de retirada de cauda.



Fonte: <https://www.neurofit.com/tech-anim-tail-flick.html>

3.3. Inflamação

A inflamação é um mecanismo de defesa do corpo em resposta a danos físicos, como trauma mecânico, agentes químicos irritantes ou microrganismos invasores (Cruvinel et al., 2010). As descrições das características clínicas da inflamação remontam a papiros egípcios datados de aproximadamente 3000 a.C., mas foi Celsius, um escritor romano do século I d.C., quem primeiro listou os quatro sinais cardinais da inflamação. Ele descreveu o aumento do fluxo sanguíneo e a dilatação dos vasos (rubor), o aumento da permeabilidade vascular (edema), o aumento da temperatura local (calor) e a dor. Mais tarde, Virchow acrescentou um quinto sinal, que é a perda de função (Bianchetti, 2006; Lapa et al., 2007).

O processo inflamatório envolve a ativação de células do sistema imunológico que desempenham um papel crucial na inativação ou destruição de microrganismos invasores, na remoção de substâncias irritantes e antígenos proteicos, além de iniciar a reparação tecidual. Uma vez que o processo de reparação se completa, os sinais de inflamação naturalmente diminuem (Flower & Perretti, 2005). A inflamação pode ser dividida em dois estágios: agudo e crônico. Na fase aguda, os eventos cardinais são desencadeados, envolvendo a resposta imune inata, que ativa mecanismos de defesa. Essa forma de inflamação é de curta duração e geralmente benéfica para o organismo. Se a inflamação persistir, surge a inflamação crônica, que pode levar a uma série de doenças (Reuter et al., 2010). O controle do processo inflamatório é considerado um alvo terapêutico promissor para a redução do risco de doenças e incapacidades (Beavers; Brinkley; Nicklas, 2010).

Durante a resposta inflamatória aguda, ocorre um processo quimiotático em que os leucócitos são atraídos para o local da inflamação por meio de sinais específicos. Essas células desempenham um papel fundamental na promoção dos processos inflamatórios, liberando moléculas solúveis, como citocinas (principalmente IL-1 e 6 e TNF- α). A migração dos leucócitos é regulada por mecanismos rígidos que envolvem a expressão de moléculas solúveis de adesão, como selectina e integrina, quimiocinas e óxido nítrico (Cruvinel, 2010).

O teste de edema de pata induzido por carragenina é um modelo amplamente reconhecido para avaliar a resposta inflamatória em animais. Nesse teste, uma pequena quantidade de carragenina, substância que induz a inflamação, é injetada na pata do animal. A inflamação resultante é caracterizada pelo inchaço da pata e a medida do aumento no volume da pata e a avaliação da intensidade do edema ao longo do tempo permitem determinar o potencial anti-inflamatório de compostos testados. A redução no edema indica uma possível atividade anti-inflamatória (Levy, 1969; Fereidoni et al., 2000; Jisha et al., 2019).

A febre é um dos sintomas clássicos associados à inflamação e desempenha um papel fundamental na resposta do organismo a agentes infecciosos e lesões. Quando ocorre uma inflamação, como resultado de uma infecção bacteriana, viral ou devido a lesões teciduais, o sistema imunológico é ativado. Isso desencadeia a liberação de substâncias pró-inflamatórias, como citocinas e prostaglandinas, que têm a capacidade de aumentar a temperatura corporal. A febre é uma resposta adaptativa do corpo e o aumento da temperatura ajuda a acelerar a resposta imunológica, tornando o ambiente menos favorável para a sobrevivência de patógenos invasores (Voltarelli, 1994; Kiekkas et al., 2013; Wilhelms et al., 2014).

A inflamação é a primeira e indispensável etapa do processo de cicatrização tecidual. É uma resposta coordenada do organismo que visa conter o dano, eliminar agentes infecciosos e

preparar o ambiente para o reparo. Quando bem regulada, essa fase permite a ativação de células importantes, como os fibroblastos, além do recrutamento de células-tronco e da liberação de fatores de crescimento, como VEGF, TGF- β e FGF. Esses mediadores são essenciais para estimular a formação de novos vasos sanguíneos (neovascularização) e dar início à regeneração do tecido lesado (Reinke & Sorg, 2012).

A cicatrização ocorre, classicamente, em três fases sobrepostas: inflamatória, proliferativa e de remodelamento. Após a contenção inicial do dano, inicia-se a fase proliferativa, na qual predominam a formação de tecido de granulação, angiogênese, deposição de matriz extracelular e reepitelização. A fase final, de remodelamento, é caracterizada pela reorganização das fibras de colágeno, substituição do colágeno tipo III pelo tipo I e restabelecimento da resistência mecânica da pele. Interferências negativas na fase inflamatória como inflamações crônicas, excesso de radicais livres ou infecções persistentes, podem comprometer toda a cascata cicatricial, resultando em feridas de difícil resolução (Rodrigues et al., 2019).

Nesse contexto, destaca-se o papel crescente das plantas medicinais na promoção da cicatrização. Ricas em compostos bioativos como flavonoides, alcaloides, terpenoides e taninos, essas plantas exercem múltiplas ações que vão desde o controle da inflamação e da carga microbiana até a estimulação da proliferação celular e da síntese de colágeno. Estudos demonstram que espécies como *Aloe vera*, *Calendula officinalis* e *Centella asiatica* possuem eficácia comprovada na aceleração do fechamento de feridas e na regeneração tecidual (Shedoeva et al., 2019; Ullah et al., 2022). Além disso, o uso tradicional e popular dessas plantas é respaldado por uma base crescente de evidências científicas, o que fortalece seu potencial terapêutico como alternativa natural, acessível e de baixo custo (Wound Healing Potential of Some Medicinal Plants, 2022; García, 2023; Khanam, 2021).

Os cactos são plantas que possuem diversas propriedades medicinais, entre elas a atividade anti-inflamatória. Alguns estudos têm demonstrado que extratos de diferentes espécies de cactos podem atuar como anti-inflamatórios, como descrito por Ammar et al. (2018), que relataram a atividade anti-inflamatória de extrato metanólico das flores de *Opuntia ficus-indica* no teste de edema de pata induzido por carragenina. Os autores associaram o efeito anti-inflamatório do extrato à redução do nível de malondialdeído e ao aumento das atividades da catalase e superóxido dismutase e aumento dos níveis de glutathione reduzida. Outro exemplo é o estudo de Pinto et al., (2015) com a fração hexânica de *Pereskia aculeata*, que apresentou atividade anti-inflamatória relacionada à inibição das citocinas interleucina (IL) 6 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α).

3.4 *Harrisia adscendens*

As cactáceas possuem especializações anatômicas, morfológicas e funcionais que possibilitam uma rápida absorção, alta retenção e consumo mínimo de água da chuva ou do ar. Elas são perenes, suculentas e estão presentes em uma variedade de habitats. Além disso, as seguintes alterações nas estruturas vegetativas são observadas: perda ou redução das folhas; a casca e o núcleo são transformados em tecido para armazenamento de água; e ramos laterais se transformam em grupos de espinhos centrais e radiais chamados aréolas (Hughes, Jacobi & Borba, 2013; Martin *et al.*, 2018).

Durante longos períodos de seca, os humanos usam cactos como forragem, servindo de alimento para gado, cabras e ovelhas permitindo assim uma maior produção de leite. Apesar do grande potencial forrageiro dos cactos, outras formas de uso dessas espécies já foram registradas, tais como: a ingestão de frutas frescas de *Cereus jamacaru* (mandacaru) e miolo de *Pilosocereus pachycladus* cozido ou assado (Lucena *et al.*, 2013) e o uso medicinal de alguns cactos, como o *Pilosocereus gounellei* que é popularmente utilizado para inflamações e como hipoglicemiante (Oliveira *et al.*, 2021).

O gênero *Harrisia* faz parte da família Cactaceae, subfamília Cactoideae, tribo Cereae e subtribo Trichocereinae. Este gênero inclui três espécies encontradas nos biomas brasileiros da Caatinga, Cerrado e Pantanal no Nordeste e Centro-Oeste do país: *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose, *Harrisia balansae* (K.Schum.) N.P.Taylor & Zappi e *Harrisia tortuosa* (J.Forbes ex Otto & A.Dietr) (Santos, 2015).

Harrisia adscendens (Figura 4), popularmente conhecida como "rabo de raposa", é uma espécie endêmica do Brasil, com ocorrência na região da Caatinga. Esta planta é nativa e pode ser encontrada em quase todos os estados do Nordeste brasileiro, exceto no Maranhão e no Rio Grande do Norte (Zappi *et al.*, 2015). Na medicina popular, *H. adscendens* é utilizada em forma de infusão para tratar amenorreia, além de ser empregada como diurético, anti-inflamatório e para alívio de dores de dente (Andrade *et al.*, 2006, Agra; Freitas; Barbosa-Filho, 2007). Essa cactácea exibe caules cilíndricos que podem atingir até 1 metro de comprimento e flores brancas e noturnas. Os caules da *H. adscendens* apresentam características distintas, incluindo costelas espaçadas e espinhas brancas, e seus frutos esféricos contêm sementes de tonalidade escura (Franck; Cochrane; Garey, 2013).

Figura 4: *Harrisia adscendens*.



Fonte: Autoria própria.

3.5. Estudos *in silico*

Os estudos *in silico* referem-se ao uso de ferramentas computacionais para simular processos biológicos, químicos e farmacológicos. Essa abordagem tem se consolidado como uma estratégia essencial na pesquisa científica, especialmente em áreas como descoberta de fármacos, Toxicologia e Biologia Estrutural (Ekins et al., 2007; Guerra et al., 2017). O termo "*in silico*" surgiu na década de 1980, inspirado nas expressões "*in vivo*" e "*in vitro*", e tem ganhado destaque com o avanço da Bioinformática e da inteligência artificial (Raies & Bajic, 2016).

A crescente capacidade de processamento dos computadores e o desenvolvimento de algoritmos sofisticados permitem que os estudos *in silico* otimizem a análise de grandes volumes de dados, reduzindo tempo e custos de pesquisa. Com isso, essas metodologias são amplamente utilizadas para prever a interação de compostos químicos com biomoléculas,

avaliar propriedades farmacocinéticas e toxicológicas, além de orientar experimentos laboratoriais (Guerra et al., 2017).

Os estudos *in silico* desempenham um papel fundamental na pesquisa biomédica moderna, oferecendo diversas vantagens em relação aos métodos tradicionais. Algumas das principais razões para sua importância incluem a redução de custos, pois as simulações computacionais diminuem a necessidade de testes laboratoriais extensivos (Guerra et al., 2017); otimização do tempo de pesquisa, pois a triagem de moléculas promissoras pode ser realizada rapidamente, permitindo que pesquisadores foquem nos compostos mais relevantes para ensaios *in vitro* e *in vivo* (Boulay et al., 2024); redução do uso de modelos animais, alinhando-se a princípios éticos e às diretrizes das agências reguladoras (Guerra et al., 2017); e maior precisão nas previsões, já que os métodos computacionais avançados conseguem prever com alta acurácia a toxicidade, solubilidade e biodisponibilidade de compostos, facilitando a seleção de candidatos mais seguros e eficazes (Rodrigues et al., 2023).

Diversas ferramentas computacionais têm sido desenvolvidas para diferentes aplicações nos estudos *in silico*. Entre as principais abordagens, destacam-se a modelagem e o *docking* molecular. A modelagem molecular permite a construção de estruturas tridimensionais de biomoléculas. O *docking* molecular é uma técnica essencial nessa abordagem, utilizada para prever a afinidade entre pequenas moléculas e alvos biológicos, como enzimas e receptores (Boulay et al., 2024). Exemplos de ferramentas incluem AutoDock, GOLD, Glide e SwissDock e sua aplicação é fundamental na descoberta de novos inibidores enzimáticos e no desenvolvimento de fármacos direcionados a proteínas específicas (Rodrigues et al., 2023).

Outra abordagem importante é a QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship), que correlaciona características estruturais de compostos químicos com suas atividades biológicas. Modelos QSAR são amplamente utilizados para prever propriedades farmacocinéticas e toxicológicas de novas moléculas (OECD, 2007; Benigni & Bossa, 2008). Ferramentas como OCHEM, SwissADME e pkCSM são comumente empregadas, contribuindo para a identificação de compostos com alta biodisponibilidade e baixa toxicidade (Lenskaya et al., 2022).

Além disso, a predição de propriedades ADMET (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) é essencial para avaliar a viabilidade de novos fármacos. Modelos computacionais permitem prever como um composto será metabolizado no organismo e se apresentará efeitos adversos significativos (Ekins et al., 2007). Ferramentas como SwissADME, ADMET Predictor e pkCSM são utilizadas para reduzir falhas em testes clínicos ao eliminar candidatos com perfil inadequado (Raies & Bajic, 2016).

Os estudos *in silico* têm sido aplicados em diversas áreas da ciência biomédica. Por exemplo, a aplicação de triagem virtual e *docking* molecular tem sido fundamental na identificação de novas moléculas bioativas. Pesquisas recentes utilizaram *docking* molecular para descobrir potenciais inibidores da proteína Mpro do SARS-CoV-2, contribuindo para o desenvolvimento de antivirais contra a COVID-19 (Rodrigues et al., 2023; Boulay et al., 2024). Além disso, os estudos *in silico* desempenham um papel importante na descoberta de novos agentes antineoplásicos. Modelos QSAR e *docking* molecular têm sido usados para prever a eficácia de compostos naturais contra receptores envolvidos na progressão do câncer (Vicentini et al., 2023; Lenskaya et al., 2022). A Toxicologia preditiva também é uma área em crescimento, auxiliando na avaliação do risco toxicológico de substâncias químicas e na regulamentação de novos produtos químicos e cosméticos sem a necessidade de testes extensivos em animais (Raies & Bajic, 2016).

Entretanto, os estudos *in silico* apresentam algumas limitações. A precisão dos modelos computacionais depende da qualidade dos dados disponíveis, podendo gerar resultados inconsistentes em algumas situações. Além disso, embora as previsões computacionais sejam valiosas, é essencial validar os achados com estudos *in vitro* e *in vivo*. Apesar dessas limitações, os estudos *in silico* revolucionaram a pesquisa biomédica ao proporcionar métodos rápidos e econômicos para a triagem de novos fármacos e avaliação da toxicidade de compostos (Guerra et al., 2017).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados desta tese estão apresentados em forma de artigos.

4.1 Artigo 1

Phytochemical profile and evaluation of acute and subacute toxicities, and genotoxicity of a hydroethanolic extract of cladodes of *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose

Anderson Felipe Soares de Freitas¹, Wêndeo Kennedy Costa¹, Claudia Bernadete de Souza Lira¹, Suéllen Pedrosa da Silva¹, Matheus Cavalcanti de Barros¹, Janaina Carla Barbosa Machado³, Natanael Teles Ramos de Lima⁴, José Maria Barbosa Filho⁴, Patrícia Maria Guedes Paiva¹, Magda Rhayanny Assunção Ferreira³, Luiz Alberto Lira Soares³, Alisson Macário de Oliveira^{1,2}, Thiago Henrique Napoleão¹

¹*Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-420, Recife, Pernambuco, Brazil.*

²*Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual da Paraíba, 58429-500, Campina Grande, Paraíba, Brazil.*

³*Departamento de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.*

⁴*Universidade Federal da Paraíba, Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos, João Pessoa, PB, Brazil*

*Corresponding author. E-mail address: thiago.napoleao@ufpe.br

Abstract

Ethnopharmacological relevance: *Harrisia adscendens* is used in folk medicine to treat inflammation, toothache and as a diuretic. However, studies on its safety are still scarce.

Aim of the study: This study evaluated the phytochemical profile, acute and subacute toxicity, and genotoxicity of a hydroethanolic extract of *H. adscendens* cladodes.

Materials and methods: To obtain the extract, a factorial design was developed by varying the extraction method and proportion of plant drug. Phytochemical analysis was performed by LC-

ESI-MS. Acute toxicity (2000 mg/kg) was evaluated in mice, monitoring mortality and hematological and biochemical parameters. Acute genotoxicity (2000 mg/kg) was evaluated *in vivo* by comet and micronucleus assays. Subacute toxicity (250, 500 and 1000 mg/kg) was evaluated in male and female mice for 28 days, with evaluation of behavioral, hematological and biochemical parameters, in addition to histopathological analysis of organs.

Results: The factorial design indicated better efficiency using 10% (w/v) of drug, 1:1 ethanol:water and turbolysis method. LC-ESI-MS identified eight compounds, including acetophenones, hydroxycinnamic acid, phenolic acid derivatives and a flavonoid. There was no mortality or behavioral changes in the group treated with extract or in the control (saline solution) in a single dose. Acute genotoxicity was also not detected. Treatment for 28 days with *H. adscendens* extract did not promote significant changes in weight gain, food and water consumption or biochemical parameters. However, a reduction in total leukocyte count was observed in females for all doses. Histopathological analysis showed no changes in internal organs.

Conclusion: A hydroethanolic extract of *H. adscendens* cladode rich in polyphenols was obtained without toxicity or genotoxicity to mice. However, it promoted leukopenia in females, which stimulated further studies on its immunomodulatory potential and chronic toxicity.

Keywords: cactus; safety assessment; rabo-de-raposa; polyphenols; traditional medicine.

Introduction

Medicinal plants have played a vital role throughout history, serving as therapeutic resources for the treatment of various diseases (Jamshidi et al., 2017). In Brazil, the traditional use of plants has roots in indigenous, African and European migrant communities. The country's rich biodiversity, with a vast variety of plant species, makes it a privileged location for the exploration of medicinal plants. Traditional knowledge about the therapeutic properties of these plants has been transmitted from generation to generation, and its relevance continues to this day (Ferreira et al., 2019; Sá-Filho et al., 2021; Antunes et al., 2022). Among the various biomes that make up the Brazilian territory, the Caatinga emerges as a notable reservoir of exclusively Brazilian botanical biodiversity, housing more than 3,300 plant species (Fernandes et al., 2020). Among these, we have the cacti (Cactaceae family), which are represented by approximately 58 species, 42 of which are endemic to the semiarid region (Lucena et al., 2013).

The medicinal potential of cacti is recognized, including by the pharmaceutical industry. As an example, we can mention two phytotherapeutics that are widely marketed in Brazil: “Tintura de cactus”, produced from *Cactus grandiflorus* L. and indicated for the treatment of angina pectoris, palpitations and congestive heart failure; and the elixir “Sanativo”, which contains *Cereus hildmannianus* K.Schum., popularly known as mandacaru, and is recommended for the topical treatment of general wounds and other conditions (Andrade et al., 2006; Azoubel; Rios Ribeiro, 2013).

The genus *Harrisia* is part of the Cactaceae family and is widely distributed in the Neotropical region, occurring from the Caribbean to Paraguay and Argentina. In Brazil, there are three species, one endemic (*Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose) and two shared with Paraguay and possibly Bolivia (*Harrisia balansae* (K.Schum.) N.P.Taylor & Zappi) and *Harrisia tortuosa* (J.Forbes) Britton & Rose) (Zappi, Taylor, 2020). *Harrisia adscendens* is a native species of the Caatinga, popularly known as rabo-de-raposa. The species is found in practically all states of northeastern Brazil, except for the states of Maranhão and Rio Grande do Norte. In folk medicine, the infusion is used to treat amenorrhea, inflammation, toothache and as a diuretic (Agra; Freitas; Barbosa-Filho, 2007; Andrade et al., 2006; Zappi et al., 2015).

Santos et al. (2018) reported the identification of two compounds in an ethanolic extract of the roots of *H. adscendens*: 2-methyl-norharmanium, isolated for the first time in a natural product, and 2,6-dihydroxy-4-methoxyacetophenone-2-O-glucopyranoside, which shares similarities with pleoside, and whose identification is unprecedented in the Cactaceae family. However, the lack of toxicological and pharmacological studies available in the literature on *H. adscendens* has stimulated the present study.

Thus, this work aimed to evaluate an hydroethanolic extract of *H. adscendens* cladodes for acute, subacute toxicity and genotoxicity, as well as to determine its phytochemical profile. To our knowledge, this is the first report of *in vivo* investigation on the safety of an extract of *H. adscendens*.

Material and methods

Plant material

The plant was collected in the municipality of Santa Terezinha, Pernambuco (07°22'40" south and longitude 37°28'48") between the months of November and December, before the rainy season. A specimen was deposited in the herbarium of the *Instituto Agronômico de*

Pernambuco (IPA) with the identification number 95231. Plant collection was done with authorization (no. 72024) of the *Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade* (ICMBio) and this study was recorded (A6A60BA) in the *Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado*. The cladodes (stem) was cut and dried in a circulating air oven for 3 days at 45 °C. Then, the material was crushed in an industrial blender.

Factorial design

A factorial design (Table 1) was performed considering three factors: extraction process (turbolysis and maceration), solvent (only water or 1:1 ethanol:water) and the amount of plant drug (5 or 10%, w/v). The turbolysis process was performed in 3 cycles of 30 s, with intervals of 4 min between each cycle. The maceration process was performed dynamically by magnetic stirring for 6 h. The parameters evaluated were the determination of dry residue, total phenol content and flavonoids content. The results were statistically analyzed using the Minitab and Statistica programs. The experiments were performed in triplicate and the results were expressed as the mean obtained for each test.

Total phenol content

The total phenol content was estimated using the Folin-Ciocalteu method (Singleton and Rossi, 1965), with some modifications. Samples of 20 µL of each extract (1 mg/mL) were mixed with 100 µL of the Folin-Ciocalteu reagent. After 3 min at 25 °C, 80 µL of sodium bicarbonate (0.7 M) were added. The reaction was kept in the dark for 2 h at 25 °C. The absorbance was measured at 735 nm using a microplate reader (BioTekUQuant MQX200). Distilled water was used as a negative control. Gallic acid (10–100 µg/mL) was used as a standard and the results were expressed as milligram of gallic acid equivalents per gram (GAE/g) of extract.

Total flavonoid content

The flavonoid content was determined according to the aluminum chloride colorimetric method (Woisky and Salatino, 1998). The extracts were tested at a concentration of 1 mg/mL. The sample (100 µL) was mixed with 100 µL of the reagent [2% AlCl₃ in methanol]. After 1 h

in the dark at 25 °C, the absorbance at 420 nm was read. Distilled water was used in the blank. Quercetin (10-100 µg/mL) was used to obtain the calibration standard curve. The results obtained were expressed as milligram of quercetin equivalents per gram (mg QE/g) of extract. The experiment was performed in triplicate.

Dry residue

The dry residue was determined on an infrared balance (Série-ID v. 18, Marte), using 5 mL of the extractive solution, at a temperature of 130 ± 1 °C, until the mass variation did not change for 30 s.

Thin layer chromatography (TLC)

The extract sample and standards were applied to silica gel 60 - F254 chromatographic plates (Macherey-Nagel®, Germany). After elution of the plates and application of specific developers for different classes of metabolites (Silva et al., 2022), they were dried at 25 °C and observed under ultraviolet light (254 and 365 nm) and visible light.

Phytochemical analysis by LC-ESI-MS

A high performance liquid chromatography system, coupled with an Amazon X (Bruker Daltonics, USA) with an electrospray ion (ESI) source, was used to perform the ESI-MS analysis. The LC System consisted of a LC-20AD solvent pump unit (flow rate of 600 µL/min); a DGU-20A5 online degasser; a CBM-20A system controller and an SPD-M20A (190-800 nm) diode array detector (Shimadzu, Kyoto, Japan). The LC separation was performed on a GIST C-18 (5 mm, 100 Å, 250 x 4.6 µm, Shimadzu) analytical column. Injections (20 µL of a 1 mg/mL solution of extract) were performed using an autosampler (SIL-20A). The mobile phase consisted of 0.1% formic acid in water (solvent A) and methanol (solvent B). Exploratory linear gradient (5-100% B) was performed to elution in 60 min. The analysis parameters were: capillary 4.5 kV, ESI in negative mode, final plate offset 500 V, 4.0 bar nebulizer, dry gas (N₂) with flow rate of 8 mL/min and a temperature of 200 °C. CID fragmentation was achieved in auto MS/MS mode using advanced resolution mode for MS and MS/MS mode. The spectra (*m/z* 50-1,500) were recorded every two seconds.

Animals

Male and female Swiss albino mice (*Mus musculus*) weighing between 25 and 30 g were obtained from the Keizo Asami Institute (iLIKA) of the *Universidade Federal de Pernambuco* (UFPE). The mice underwent an acclimatization period at 22 ± 2 °C, a cycle of 12:12 h (light:dark), with controlled access to food (100 g) and water (100 mL) per cage to allow consumption quantification for toxicological analysis. All experimental procedures were conducted in accordance with ethical guidelines and received approval from the Animal Use Ethics Committee (CEUA) of UFPE, under protocol number 0011/2022.

Acute oral toxicity

Acute toxicity assessment was conducted following the guidelines of the Organization for Economic Co-operation and Development Protocol 423 (OECD, 2001). Female mice were divided into two groups ($n = 3/\text{group}$) and received a single oral gavage dose. The control group received only saline solution (0.9%, w/v, NaCl), while the other groups received *H. adscendens* extract at 2000 mg/kg body weight. Behavioral changes were observed during the first 60-min period after treatment administration, which was divided into four segments (0–15, 15–30, 30–45, and 45–60 min). Subsequently, behavioral assessments were performed daily for a period of 14 days. The evaluation covered several parameters, including piloerection, fecal appearance, sensitivity to auditory stimuli and tactile sensation, mobility, and manifestations of aggressive behavior. In addition, daily assessments were performed to monitor changes in body weight, as well as water and food consumption.

Genotoxicity assessment

Female Swiss albino mice ($n=5/\text{group}$) were categorized into four groups for experimentation: negative control, which received the vehicle (saline) orally; positive control, which received 20 mg/kg methotrexate (MTX) by intraperitoneal injection; and test groups that received a single oral dose of *H. adscendens* extract at 2,000 or 5,000 mg/kg. After an interval of 24 or 48 h after treatment, a 60 μL blood sample was collected from the tail vein.

Comet assay

Blood samples collected after 24 h were used to perform the alkaline comet assay (Singh et al., 1988). Microscope slides were sanded, washed, and coated with a layer of standard agarose. Then, a mixture composed of whole blood (20 μ L) and 0.5% low-melting-point agarose (110 μ L, 37°C) was carefully pipetted onto previously prepared microscope slides and covered with a coverslip. The slides were then immersed for 1 h at 4 °C in a chilled lysis solution (2.5 M NaCl, 100 mM EDTA, and 10 mM Tris). After the lysis step, the slides were transferred to an electrophoresis cuvette and covered with the electrophoresis buffer (300 mM NaOH, 1 mM EDTA, pH 13). The electrophoretic run was conducted at 4 °C for 20 min, with a voltage of 32 V and a current of 300 mA. Subsequently, the slides were neutralized using 0.4 M Tris pH 7.5 for 15 min, followed by drying and fixation with absolute ethanol. Analysis was performed after staining with propidium iodide under a fluorescence microscope (Zeiss-Imager M2; Carl Zeiss AG, Jena, Germany). One hundred nucleoids were evaluated for each animal and were categorized into classes 0, 1, 2, 3, or 4 based on the damage observed. The damage index was calculated by multiplying the number of nucleoids observed in each class by the corresponding class value. The damage frequency (%) was calculated by comparing the number of cells with damage with cells without damage (class 0) in each treatment. Three independent experiments were conducted.

Micronucleus test

Blood collected after a 48-h period was used in the micronucleus assay, conducted as described by Eiji et al. (1999). Microscope slides were prepared, washed, dried, and stained with acridine orange (1 mg/mL). Then, the collected blood (5 μ L) was applied to the slides and covered with a coverslip. The slides were then examined using a Zeiss-Imager M2 fluorescence microscope, equipped with a 40X objective and AlexaFluor 488 filter. The presence of micronuclei (Mn) was evaluated in 2,000 polychromatic erythrocytes (PEC) per animal.

Repeated dose 28-day oral toxicity study

The repeated-dose oral toxicity study followed the recommendations of protocol 407/2008 of the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD, 2008). Male and female mice (5 of each sex per experimental group) were divided into a control group (saline solution *per os*) and groups treated with *H. adscendens* extract (250, 500, or 1,000 mg/kg

per os). The animals were treated daily for 28 consecutive days. During the experimental protocol, the animals were observed daily for the behavioral signs described for the previous test and the occurrence of death. Weight gain and water and food consumption were recorded weekly. On the 29th day, the animals were fasted for 8 h and anesthetized using ketamine (90 mg/kg) and xylazine (5 mg/kg) intraperitoneally to perform puncture of the inferior vena cava and collect blood for analysis of biochemical and hematological parameters. Two separate tubes were used for blood collection: one tube containing the anticoagulant ethylene diamine tetraacetate (EDTA) and the other without any anticoagulant. After blood collection, the animals were euthanized with an overdose of ketamine (300 mg/kg) and xylazine (30 mg/kg) *i.p.*

Assessment of hematological and biochemical parameters

Hematological parameters, including erythrocyte count, hemoglobin levels, hematocrit, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), as well as total and differential leukocyte counts, were assessed using an automated analyzer (Animal Blood Counter: ABC Vet, Montpellier, France) and light microscopy. Biochemical analysis of blood samples was performed to assess the levels of albumin, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase, gamma-glutamyl transferase (GGT), total cholesterol, triglycerides, urea, and creatinine using specific kits (LabtestDiagnostic, Lagoa Santa, Brazil) and a COBAS Mira Plus analyzer (Roche Diagnostics Systems, Basel, Switzerland).

Statistical analysis

Results of acute and repeated dose toxicity were expressed as mean plus standard deviation (SD) of replicates. One-way analysis of variance (ANOVA) was performed, followed by the Bonferroni test for multiple comparisons. In the genotoxicity assessment result data were represented by mean $\pm$ standard error of the mean (SEM). Data normality was previously tested using the Shapiro-Wilk test. Data were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post-test. In all cases, it was used the GraphPad Prism 8.0 software and *p* value < 0.05 was considered statistically significant.

Results and discussion

In this study, a factorial design was carried out for the production of *H. adscendens* cladode extract considering the best extraction conditions to obtain high total contents of phenols and flavonoids in relation to the dry residue. The selection of these parameters was due to the fact that phenolic compounds and flavonoids are known to have a diversity of therapeutic properties such as anti-inflammatory (Maleki, Crespo, Cabanillas, 2019), antinociceptive (Alghamdi, 2020), and antipyretic (Polukonova et al., 2015) activities. The results are shown in Table 1 and Figure 1.

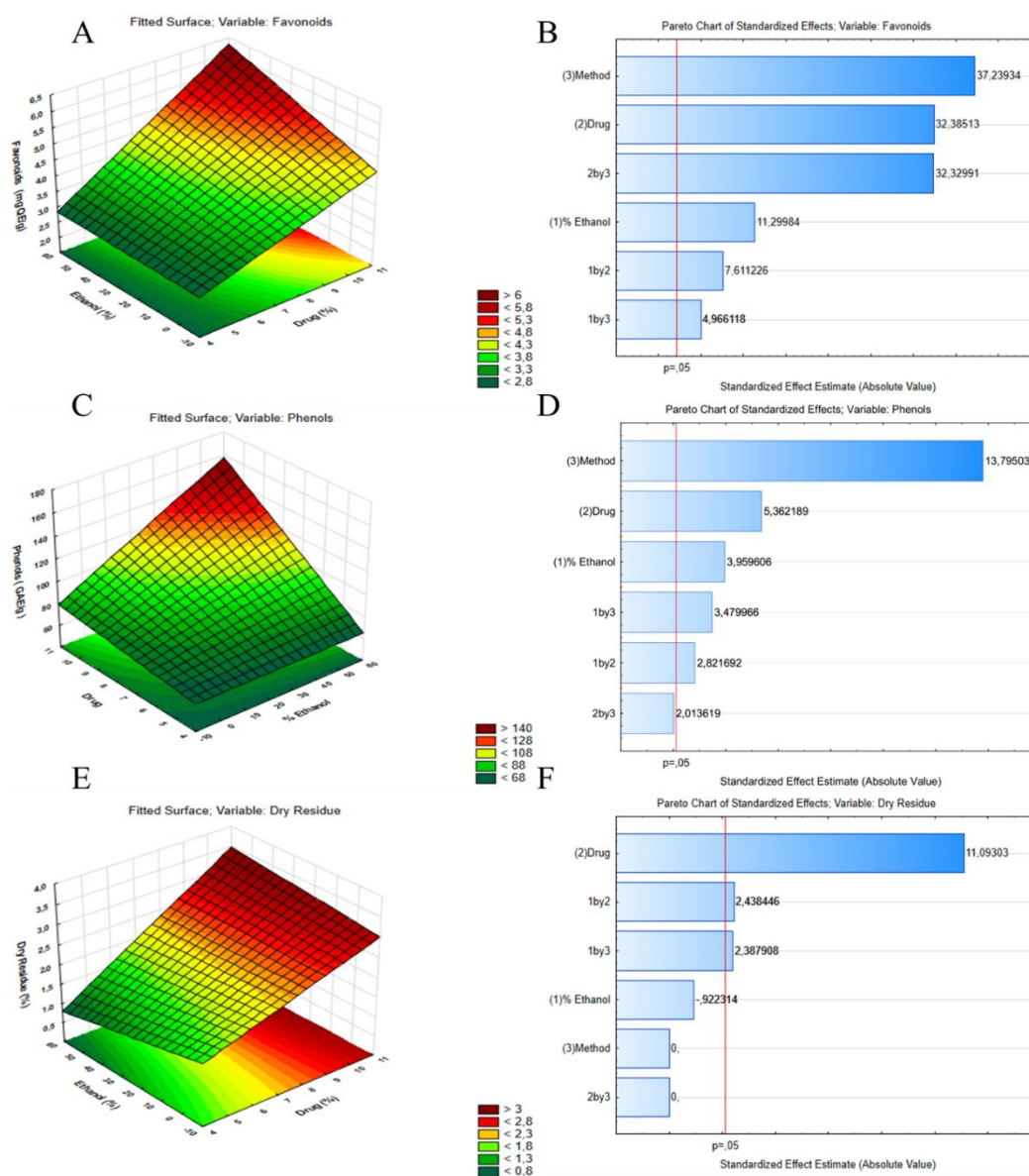
Table 1. Optimization matrix for obtaining extract from *H. adscendens* cladodes.

Run	Water	Ethanol	Plant drug	Method	TPC	TFC	DR (g)
1	1	0	5	-1	24.41±0.18	2.96±0.01	1.71±0.07
2	1	0	10	-1	57.46±0.13	2.76±0.02	3.17±0.54
3	1	0	5	1	112.74±0.14	3.19±0.03	1.71±0.07
4	1	0	10	1	115.80±0.28	6.23±0.14	2.53±0.01
5	0.5	0.5	5	-1	37.07±0.13	3.12±0.04	1.26±0.22
6	0.5	0.5	10	-1	51.62±0.19	3.32±0.19	2.73±0.35
7	0.5	0.5	5	1	116.26±0.41	3.45±0.03	1.26±0.22
8	0.5	0.5	10	1	218.07±0.20	7.83±0.02	3.36±0.22

Water: 1 = 100% water; 0.5 = 50% water. Ethanol: 0 = 0% ethanol; 0.5 = 50% ethanol. Herbal drug: 5 = 5% (w/v); 10 = 10% (w/v). Method: -1 = Maceration; 1 = Turbolysis. TPC: total phenol content; TFP: total flavonoids content; DR: dry residue.

Regarding the flavonoid content (Figure 1A), the ideal configuration was shown to be the use of the turbolysis method, 1:1 ethanol:water and a 10% herbal drug amount. This set of factors resulted in a value of 6.10 ± 0.01 . Considering the total phenol content (Figure 1C), the same conditions proved to be the best option, resulting in a value of 177.67 ± 0.10 . Regarding the dry residue (Figure 1E), once again the use of the turbolysis method, 1:1 ethanol:water and 10% plant drug were the ideal conditions, resulting in a value of 2.53 ± 0.11 .

Figure 1. Evaluation of factorial design for obtaining an extract from *Harrisia adscendens* cladode extract. Response surface and Pareto charts for flavonoid content (A, B), phenol content (C, D) and dry residue (E, F) are shown.



Following the statistical analysis of the factorial design performed, it was possible to identify the relative contribution of each variable regarding the extraction of flavonoids (Figure 1B), phenols (Figure 1D) and the amount of dry residue obtained (Figure 1F). The extraction methodology was the most relevant factor for the extraction of phenols and flavonoids, while the concentration of the drug was the most influential factor for the dry residue. Thus, the extract obtained by turbolysis using 1:1 ethanol:water and 10% of plant drug was used in the next

assays. TLC analysis of this extract revealed the presence of flavonoids, cinnamic acid derivatives, anthracene derivatives, saponins, and reducing sugars. The analysis of the extract through HPLC-ESI-MS allowed to identify 8 compounds, as shown in Table 2.

All peaks were identified as phenolic compounds: 3 are acetophenones (compounds 5, 7 and 8), 1 hydroxycinnamic acid (compound 1) and 3 derivatives of phenolic acids (compounds 2, 3 and 4). In their study, Santos et al. (2018) identified the presence of 2,6-dihydroxy-4-methoxyacetophenone-2-O-glucopyranoside in the hydroethanolic extract of *H. adscendens* roots, while in the present study, 3 similar acetophenones were found, but they differ in the radical as we can see in Figure 2.

Figure 2. Chemical structure of acetophenones present in the hydroethanolic extract of *H. adscendens* cladodes. (A) 2,6-dihydroxy-4-methoxyacetophenone-2-O-glucopyranoside. (B) 2,6-dihydroxy-4-methoxyacetophenone.

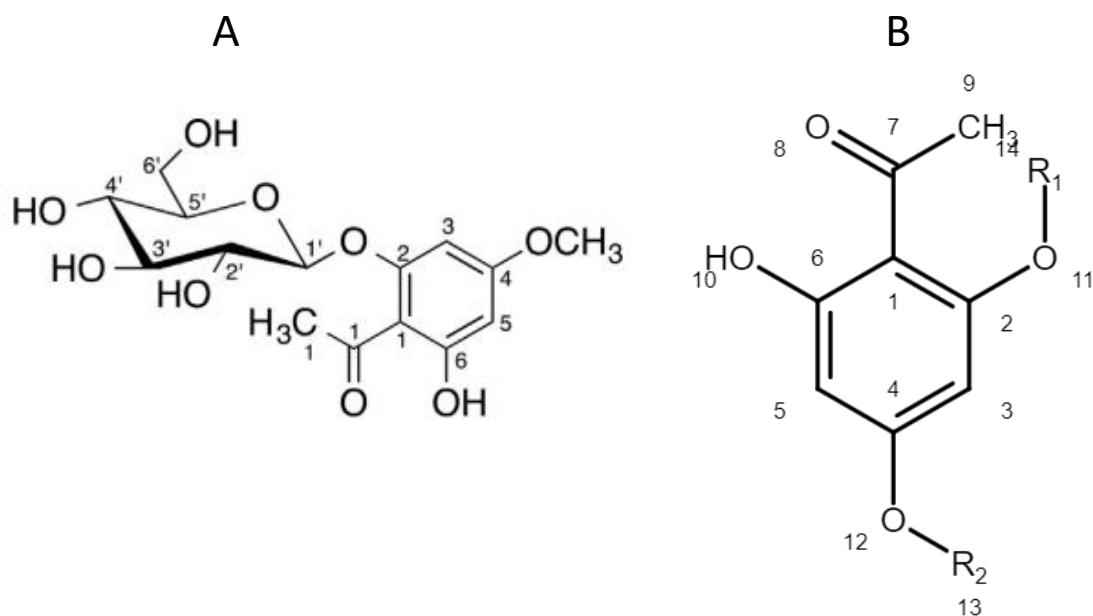


Table 2. Phytochemical profile of *Harrisia adscendens* hydroethanolic extract by HPLC-ESI-MS.

Peak	R.T (min.)	UV (nm)	$\lambda_{\max}$ [M-H] ⁻ m/z	MS ⁿ m/z	Annotation	Reference
1	5.5	-	341	MS ² [341]: 281 (3,06); 179 (100)	Caffeic acid- <i>O</i> -hexoside	Schütz et al., 2005; Zhang et al., 2018
2	9.7	-	405	MS ² [405]: 387 (22.56); 303 (8.48); 191 (100); 179 (3.14)	Quinic acid derivative I	Tambara et al, 2018
3	19.5	-	329	MS ² [329]: 283 (7.09); 269 (10,94)	Quinic acid derivative II	Tambara et al, 2018
4	25.7	283	329	MS ² [329]: 223 (12.53); 167 (100)	Vanillic acid- <i>O</i> -hexoside	Kramberger et al., 2020
5	27.9	284	505	MS ² [505]: 323 (2.95); 181 (100); 166 (11.95)	2,6-Dihydroxy-4-methoxyacetophenone- <i>O</i> -dihexoside	Delnavazi et al., 2015; Santos et al., 2018
6	29.3	267, 330	933	MS ² [933]: 771 (100); 610 (0.24); 463 (0.20)	Quercetin-3- <i>O</i> -hexoside-rutinoside-7- <i>O</i> -hexoside	Llorent-Martínez et al., 2017; Dienaitė et al., 2020
7	32.5	282	343	MS ² [343]: 181 (100); 166 (0.75)	2,6-Dihydroxy-4-methoxyacetophenone- <i>O</i> -hexoside	Delnavazi et al., 2015; Santos et al., 2018
8	37.5	283	385	MS ² [385]: 181 (100); 166 (1.85)	2,6-Dihydroxy-4-methoxyacetophenone- <i>O</i> -acetyl-hexoside	Ye, et al., 2007; Delnavazi et al., 2015; Santos et al., 2018

Acetophenone, an aromatic ketone, is chemically characterized by a carbonyl group attached to a phenyl ring. In industry, acetophenone has applications as an intermediate in the synthesis of a range of products, including fragrances, dyes, medicines and plastics. In medicine, acetophenone has been used as a hypnotic agent, however high concentrations were needed to induce sleep, and it is currently used as a photosensitizing agent in medicines that become inactive until they come into contact with ultraviolet light or sunlight (Beaumetz, 1886; Brown, 2008; Soucy, 2014; Liu et al., 2015). In addition, acetophenone derivatives are precursors to several synthetic drugs, such as the antidepressant Bupropion and the sedative hypnotic agent Zolpidem (Foley et al., 2006; Sumalatha et al., 2009). Neto et al. (2020) reported the antifungal effect of 3,4-(methylenedioxy)-acetophenone against strains *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* and *Candida glabrata*, as well as inhibiting the growth of *Aspergillus fumigatus*.

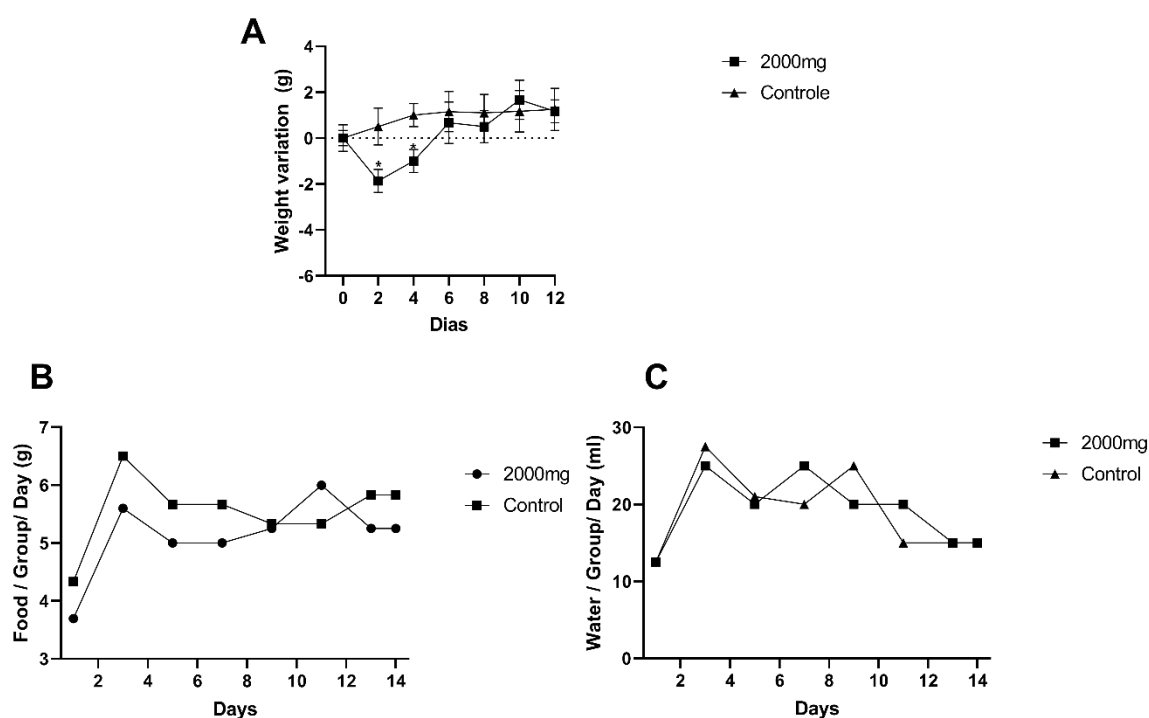
Phenolic acids are a class of compounds that includes hydroxybenzoic acids and hydroxycinnamic acids, characterized by having a hydroxyl group linked to an aromatic ring. Among the biological activities attributed to phenolic acids are neuroprotective, antioxidant, anti-inflammatory, antiallergic, antimicrobial, cardioprotective, anticancer and antidiabetic effects (Anantharaju et al., 2016, Kumar and Goel 2019). These compounds are present in cacti such as *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill (Santiago et al., 2021) and *Myrtillocactus geometrizans* Mart. ex Pfeiff.) Console (Montiel-Sánchez et al., 2021).

In the acute toxicity evaluation, animals that received the 2000 mg/kg dose did not exhibit behavioral alterations when compared to the control group. Parameters such as locomotor activity, posture, reflexes, and respiration were monitored during the test, with no changes indicative of toxicity. When evaluating the water and food consumption and weight variation of the animals, a significant reduction in weight variation was observed in the first 4 days; however, it was reestablished from the 6th day onwards without difference in relation to the control group (Figure 3A). This initial reduction may be related to the low palatability of the extract or to the stress induced by the oral gavage procedure, both of which are known to transiently affect food intake and body weight in rodents (Liu et al., 2018; Mapplebeck et al., 2022). Regarding food and water consumption (Figure 3B and 3C), there were no statistically significant changes when comparing the treated and control groups.

The results obtained in this study corroborate other findings in the literature on cacti. Souza et al. (2018) observed no signs of toxicity in animals subjected to doses of up to 2000 mg/kg of ethanolic extract of *Pilosocereus gounellei* (F.A.C.Weber ex K.Schum.) Byles & G.D.Rowley orally. Similarly, Oliveira et al. (2018) found no changes in animals exposed to

doses of up to 5000 mg/kg of saline extract of *P. gounellei*. In another study, it was investigated the methanolic extract of *Opuntia dillenii* (Ker Gawl.) Haw. cladodes and it was not identified behavioral, biochemical or hematological changes in animals exposed to doses of up to 5000 mg/kg (Siddiqui et al., 2021). These studies reinforce the literature regarding the low or absence of toxicity of cacti, which may be attributed, at least in part, to the presence of phenolic compounds and flavonoids. These metabolites belong to classes widely recognized for their safety profile and protective effects in experimental models. Furthermore, phenolic compounds have been safely consumed through dietary sources for centuries, further supporting their biocompatibility in preclinical studies (Kumar and Goel, 2019).

Figure 3. Variation in weight (A), food consumption (B) and water consumption (C) of animals submitted to evaluation of acute oral toxicity of *H. adscendens* extract. (*) Significant difference ($p < 0,05$) in comparison with control.



The results obtained in the comet assay and micronucleus test are shown in Table 3. The treatment with 2000 mg/kg of extract did not show genotoxicity with polychromatic erythrocytes concentrated in classes 0 and 1, similarly to the negative control. The positive control showed damage concentrated in classes 2, 3 and 4. Similar results were observed in the micronucleus test, in which the treatment at 2,000 mg/kg did not differ from the negative control, but was significantly different from the positive control. Oliveira et al. (2020) described

that oral treatment with saline extract of *P. gounellei* demonstrated chemoprotective action on DNA against cyclophosphamide in mice.

Table 3. Genotoxicity assessment of *Harrisia adscendens* cladode extract administered orally to albino mice.

Groups	Classes					DI	DF	MnPCE
	0	1	2	3	4			
NC	91.13±2.26 [#]	3.25±1.10 [#]	2.38±1.02 [#]	2.13±1.30 [#]	0.63±0.40 [#]	10.88±3.85 [#]	8.88±2.26 [#]	1.60±0.51 [#]
PC	16.0±9.43 [*]	24.38±3.64 [*]	21.63±1.48 [*]	28.83±4.54 [*]	10.0±1.57 [*]	210.8±12.82 [*]	84.50±9.60 [*]	27.40±4.27 [*]
2,000 mg/kg	82.63±2.69 [#]	12.50±2.39 [#]	3.25±0.77 [#]	0.88±0.52 [#]	0.75±0.25 [#]	24.63±3.05 ^{**}	17.38±2.69 [#]	2.20±0.49 ^{**}

NC: Negative Control; PC: Positive Control; MnPCE: Micronucleated polychromatic erythrocytes. DI: Damage index. DF: Damage frequency. (*) $p < 0.05$ compared to the negative control. (#) $p < 0.05$ compared to the positive control.

Since the extract demonstrated safety data in the acute toxicity test and genotoxicity assay, the subacute toxicity assessment was conducted in male and female mice for 28 days. Figure 4 shows the results of the analysis of the variation in body weight, as well as the profiles of water and food consumption. A reduction in food consumption was observed in the groups of males and females treated with 1000 mg/kg, however, there were no significant differences in the weight variation of the animals. Water consumption was not affected throughout the 28 days of treatment.

The analyses of the hematological parameters of male and female mice subjected to subacute toxicity assessment are presented in Table 4. For both sexes, there were no significant changes ($p > 0.05$) in the number of erythrocytes, hematocrit, hemoglobin, MCV, MCH and MCHC in all groups that received the extract. However, a reduction in the total number of leukocytes was observed in all groups of treated females and in the male group treated with 1,000 mg/kg, compared to the control.

Figure 4. Weight variation (A, B), food consumption (C, D), water consumption (E, F) of male and female animals from the control group and treated with *Harrisia adscendens* extract (250, 500 and 1000 mg/kg *per os*) daily for 28 days. (*) Significant differences ($p < 0.05$) were found compared to the control.

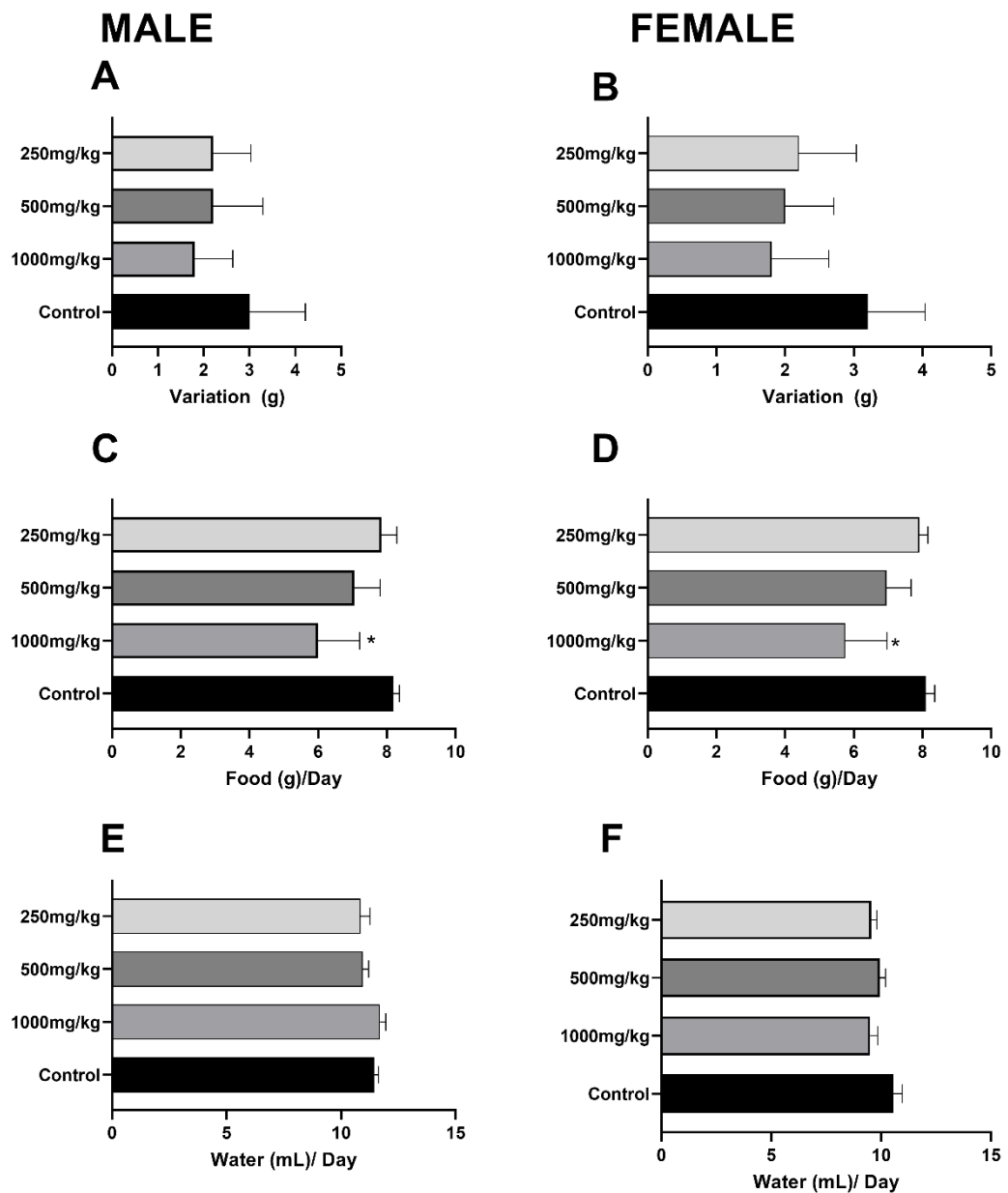


Table 4. Hematological parameters of male and female mice in the control group and after treatment with *Harrisia adscendens* extract (250, 500, and 1000 mg/kg *per os*) daily for 28 days.

Groups	RBC	HB	HCT	MCV	MCH	MCHC	WBC	NEU	LYM	MON	BAS	EOS
Males												
Controle	16.74±1.87	24.88±1.93	87.55±9.47	55.65±6.25	25.17±9.43	29.30±1.58	12.55±3.47	62.31±0.41	25.13±0.71	3.56±0.55	0.14±0.06	1.96±0.28
1000 mg/kg	14.65±3.26	22.65±4.80	76.90±5.87	62.87±3.14	25.67±1.92	27.55±2.58	8.08±1.62*	61.81±1.08	24.52±0.94	3.73±0.67	0.11±0.04	1.87±0.23
500 mg/kg	17.30±2.78	26.00±3.54	90.70±6.70	52.30±1.89	26.89±1.75	29.70±2.20	13.20±2.10	62.27±1.10	25.36±0.75	3.26±0.72	0.10±0.04	1.87±0.19
250 mg/kg	18.27±1.39	26.00±2.65	95.05±5.16	51.80±1.84	34.35±2.62	30.65±2.21	15.65±3.13	62.91±0.51	25.73±0.53	3.45±0.49	0.12±0.05	2.03±0.18
Females												
Controle	13.22±1.40	20.82±2.40	67.54±9.06	49.52±5.91	15.90±0.57	30.33±0.58	13.45±1.98	61.64±1.18	27.08±1.47	3.38±0.71	0.15±0.05	1.79±0.45
1000 mg/kg	14.60±1.74	23.40±2.16	79.12±8.50	54.14±0.86	16.50±0.39	30.54±0.80	3.56±0.52*	62.02±1.88	26.42±1.66	3.46±0.56	0.16±0.05	1.77±0.44
500 mg/kg	13.27±0.99	20.42±1.58	62.67±7.74	42.85±1.30	15.35±0.17	29.67±0.66	3.75±0.64*	60.46±2.58	26.17±1.79	3.50±0.65	0.16±0.02	1.69±0.50
250 mg/kg	11.79±2.08	18.65±2.75	60.85±5.09	51.57±1.29	15.85±0.47	30.82±1.14	5.72±0.83*	51.62±2.24	33.15±2.88	3.45±0.88	0.18±0.08	1.55±0.41

RBC: Red blood cells ($\times 10^6/\text{mm}^3$); HCT: Hematocrit (%); Hb: Hemoglobin (g/dL); MCV: Mean corpuscular volume (fL); MCH: Mean corpuscular hemoglobin (pg); MCHC: Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/dL); WBC: White Blood Cell ($\times 10^3/\text{mm}^3$); NEU: Neutrophils (%); LYM: Lymphocytes (%); MON: Monocytes (%); BAS: Basophils (%); EOS: Eosinophils (%). Values represent the mean $\pm$ SEM (n=5/group). (*) Significant differences ($p < 0.05$) were found compared to the control group.

The reduction in the number of leukocytes may be indicative of an immunomodulatory effect, without indicating insufficiency (values below $1.9 \times 10^3/\text{mm}$) (Santos et al., 2016). Some plants can stimulate or inhibit the production of cytokines, interferons, antibodies and other components of the immune system, influencing the defense against infections, inflammation and allergies. An example of a plant with immunomodulatory activity is *Echinacea purpurea* (L.) Moench, which has compounds such as polysaccharides, chicoric acid and alkamides, which are involved in increasing the activity of natural killer cells together with CD8⁺ T lymphocytes (Souza, Vianna, Oliveira, 2022). Another example is *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Schult.) DC., which has pentacyclic oxindole alkaloids that can inhibit the proliferation of T and B cells, reduce the production of TNF- α and IL-1 β , and modulate the inflammatory response (Sousa et al., 2020; Barbosa et al., 2023). Therefore, it is important to perform more studies on the immunomodulatory activity of *H. adscendens* and on its prolonged use.

In the analysis of biochemical parameters (Table 5), male mice treated with all doses of the extract exhibited a statistically significant reduction in ALT levels compared to the control group ($p < 0.05$), whereas no differences were observed among female groups. AST levels remained stable across all treated groups in both sexes, suggesting the absence of hepatocellular damage. Although the reduction in ALT levels in males was statistically significant, it is not considered toxicologically relevant, and isolated changes in ALT without concurrent alterations in AST or other hepatic markers are not indicative of liver dysfunction (Eaton & Klaassen, 2019). Furthermore, similar reductions in ALT have been reported in studies with plant extracts rich in phenolic compounds, where the decrease is interpreted because of hepatic enzyme modulation rather than liver toxicity Yang, J., et al. (2020). The other parameters (ALP, GGT, TP, BUN, CRE, CHO and TG) did not show significant variations between the treated and control groups.

Table 5. Serum biochemical parameters of male and female mice in the control group and after treatment with *Harrisia adscendens* extract (250, 500, and 1000 mg/kg per os) daily for 28 days.

Groups	ALT	AST	ALP	GGT	TP	BUN	CRE	CHO	TG
Males									
Control	90.41±1.45	80.33±1.27	9.71±0.39	8.85±0.24	10.98±0.20	0.37±0.09	0.27±0.08	100.45±3.32	76.70 ± 4.41
1000 mg/kg	65.70±2.83*	81.50±1.22	9.33±0.15	8.56±0.14	11.16±0.41	0.33±0.04	0.24±0.09	105.55±2.61	82.50 ± 2.49
500 mg/kg	59.85±2.21*	79.80±2.02	9.20±0.16	8.89±0.71	10.79±0.30	0.36 ±0.12	0.29±0.04	107.43±2.02	81.41 ± 2.03
250 mg/kg	75.77 ±2.64*	80.25±1.73	9.27±0.12	8.62±0.40	10.83 ±0.24	0.35±0.01	0.25±0.03	102.43±1.40	81.03 ± 1.61
Females									
Control	89.61±2.21	79.96±1.37	9.39±0.24	9.29±0.33	10.79±0.42	0.35±0.12	0.31±0.06	99.32±3.11	79.30 ± 4.45
1000 mg/kg	82.02±2.11	80.69±1.68	9.41±0.39	9.52±0.43	10.96±0.48	0.40±0.06	0.38±0.09	104.33±1.89	78.66 ± 1.56
500 mg/kg	84.49±1.33	79.88±1.38	9.54±0.21	9.27±0.29	10.35±0.37	0.35±0.04	0.39±0.07	102.43±2.44	76.46 ± 2.33
250 mg/kg	86.64±1.50	79.63±1.82	9.47±0.19	9.68±1.68	10.95±0.98	0.36±0.05	0.35±0.10	101.52±1.72	76.67 ± 1.56

ALT: alanine aminotransferase (U/L); AST: aspartate aminotransferase (U/L); GGT: Gamma-glutamyl transferase (U/L); TP: Total protein (g/dL); BUN: Blood Urea Nitrogen (mg/dL); CRE: Creatinine (mg/dL); CHO: total cholesterol (mg/dL); TG: triglycerides (mmol/L). (*) Statistically significant difference ($p < 0.05$) compared to the control.

Touiti et al. (2020), in their evaluation of subacute toxicity using infusion of *Herniaria glabra* L., *Opuntia ficus indica*, *Zea mays* L. and *Zizyphus lotus* L. in rats, also observed a reduction in ALT values. In this case, the authors related this change observed in the biochemical marker with the variation in the animals' weight, thus not indicating toxicity. Messias et al. (2010), using methanolic extract of the stem of *Cereus jamacaru*, observed an increase of 45.7% and 41.9% for ALT at doses of 250 and 500 mg/kg when compared to the control. In this case, the author also did not associate this change with signs of toxicity, but only with liver overload.

Conclusion

Acute oral treatment with the *H. adscendens* extract did not induce genotoxic effects and presented no signs of severe toxicity. However, a transient reduction in body weight was observed in the first days after administration, and repeated dosing over 28 days resulted in a significant reduction in leukocyte counts, suggesting mild biological responses to the extract. Despite these findings, the absence of behavioral alterations, mortality, or organ damage supports the safety of the extract at the tested doses. These results provide a reasonable basis for the continuation of further studies on this extract, particularly in the context of phytopharmaceutical development.

Acknowledgements

The authors express their gratitude to the *Fundacao de Amparo à Ciencia e Tecnologia do Estado de Pernambuco* (IBPG-1355-2.08/20; APQ-0108-2.08/14) and to the *Conselho Nacional de Desenvolvimento Cientifico e Tecnológico* (CNPq –407192/2018-2) for financial support.

References

Alghamdi, S., 2020. Antinociceptive effect of the citrus flavonoid eriocitrin on postoperative pain conditions. *J. Pain Res.* 13, 805–815. <https://doi.org/10.2147/JPR.S250391>.

- Anantharaju, P.G., Gowda, P.C., Vimalambike, M.G., Madhunapantula, S.V., 2016. An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers. *Nutr. J.* 15, 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12937-016-0217-2>
- Andrade, C.T.S., Marques, J.G.W., Zappi, D.C., 2006. Utilização medicinal de cactáceas por sertanejos baianos. *Rev. Bras. Plantas Med.* 8(3), 36–42. https://www1.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/Botanica/RBPM-RevistaBrasileiradePlantasMedicinais/artigo6_v8_n3.pdf (accessed 16 October 2024).
- Antunes, C., Arbo, M.D., Konrath, E.L., 2022. Hepatoprotective native plants documented in Brazilian traditional medicine literature: Current knowledge and prospects. *Chem. Biodivers.* 19(6), e202100933. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100933>.
- Azoubel, M.C.F., Ribeiro, N.C.R., 2013. Efeito local do uso do *Schinus terebinthifolius* e associações (Sanativo®) no pós-operatório de exodontias de molares inferiores. *J. Dent. Public Health.* 4(1), 165. <https://doi.org/10.17267/2238-2720revbahianaodonto.v4i1.165>.
- Barbosa, F.C., Rezende, J.D.P., Silva, E.J., 2023. *Uncária tomentosa* (Wild.) D.C. em processos inflamatórios na doença de Alzheimer. *REVISA* 12(1), 93–111. . Recuperado de <https://rdcsa.emnuvens.com.br/revista/article/view/207> (accessed 16 October 2024).
- Beaumetz, D., 1886. Lecture on hypnone. *Boston Med. Surg. J.* 114(5), 97–100.
- Brown, W.H., 2008. Acetophenone. *Encyclopædia Britannica*. <https://www.britannica.com/science/acetophenone>.
- Delnavazi, M., Ghiasi, S., Fattahi, M., & Hamedani, M. P. (2015). Azerosides A and B: Two new phloroacetophenone glycosides from the roots of *Dorema glabrum* Fisch. & CA Mey. *Medicinal Chemistry Research*, 24, 787-796. <https://doi.org/10.1007/s00044-014-1170-2>
- Dienaitė, L., Pukalskienė, M., Pukalskas, A., & Venskutonis, P. R. (2020). Phytochemical composition, antioxidant and antiproliferative activities of defatted sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berry pomace fractions consecutively recovered by pressurized ethanol and water. *Antioxidants*, 9(4), 274. <https://doi.org/10.3390/antiox9040274>
- Eaton, D. L., & Klaassen, C. D. (2019). Principles of toxicology. In Casarett & Doull's *Toxicology: The Basic Science of Poisons* (9th ed., pp. 13–48). McGraw-Hill.
- Fernandes, M.F., Cardoso, D., de Queiroz, L.P., 2020. An updated plant checklist of the Brazilian Caatinga seasonally dry forests and woodlands reveals high species richness and endemism. *J. Arid Environ.* 174, 104079. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2019.104079>.
- Ferreira, E.T., dos Santos, E.S., Monteiro, J.S., Gomes, M.D.S.M., de Oliveira Menezes, R.A., de Souza, M.J.C., 2019. A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos: uma revisão

- integrativa sobre a atuação do enfermeiro. *Braz. J. Health Rev.* 2(3), 1511–1523. Retrieved from <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/1383>
- Foley, K.F., DeSanty, K.P., Kast, R.E., 2006. Bupropion: pharmacology and therapeutic applications. *Expert Rev. Neurother.* 6(9), 1249–1265. <https://doi.org/10.1586/14737175.6.9.1249>.
- Ghasemzadeh, A., Ghasemzadeh, N., 2011. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *J. Med. Plants Res.* 5(31), 6697–6703. <https://doi.org/10.5897/JMPR11.1404>.
- Jamshidi-Kia, F., Lorigooini, Z., Amini-Khoei, H., 2017. Medicinal plants: Past history and future perspective. *J. Herbmed Pharmacol.* 7(1), 1–7. <https://doi.org/10.15171/jhp.2018.01>.
- Kramberger, K., Barlič-Maganja, D., Bandelj, D., Baruca Arbeiter, A., Peeters, K., Mikulič-Petkovšek, M., & Štampar, F. (2020). HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS determination of bioactive compounds and antioxidant activity comparison of the hydroalcoholic and water extracts from two *Helichrysum italicum* species. *Metabolites*, 10(10), 403. <https://doi.org/10.3390/metabo10100403>
- Kumar, N., Goel, N., 2019. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnol. Rep.* 24, e00370. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370>.
- Larbie, C., Owusu Nyarkoh, C., Owusu Adjei, C., 2019. Phytochemical and safety evaluation of hydroethanolic leaf extract of *Tecoma stans* (L.) Juss. Ex Kunth. *Evid.-Based Complement. Altern. Med.* 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/7417624>.
- Liu, L., Liu, J., Liu, Y., Zhang, Y., Li, Y., & Wang, G. (2018). Effect of taste masking on the pharmacokinetics of valsartan solid dispersions. *Physiology & Behavior*, 188, 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.01.020>
- Liu, L., Pilles, B.M., Reiner, A.M., Gontcharov, J., Zinth, W., 2015. 2'-Methoxyacetophenone: An efficient photosensitizer for cyclobutane pyrimidine dimer formation. *ChemPhysChem.* 16(16), 3483–3487. <https://doi.org/10.1002/cphc.201500582>.
- Llorent-Martínez, E. J., Zengin, G., Fernández-de Córdova, M. L., Bender, O., Atalay, A., Ceylan, R., ... & Uysal, S. (2017). Evaluation of antioxidant potential, enzyme inhibition activity and phenolic profile of *Lathyrus cicera* and *Lathyrus digitatus*: Potential sources of bioactive compounds for the food industry. *Food and Chemical Toxicology*, 107, 609–619. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.07.047>

- Lucena, C.M., de Lucena, R.F.P., Costa, G.M., Carvalho, T.K.N., Costa, G.G.D.S., Alves, R.R.D.N., Pereira, D.D., Ribeiro, J.E.S., Alves, C.A.B., Quirino, Z.G.M., Nunes, E.N., 2013. Use and knowledge of Cactaceae in Northeastern Brazil. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 9, 1–11. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-9-62>.
- Maleki, S.J., Crespo, J.F., Cabanillas, B., 2019. Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food Chem.* 299, 125124. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125124>.
- Mapplebeck, S., Doyle, L., Hill, M. N., & Takasaki, C. (2022). Refinement of oral gavage in mice: Effects of experience, restraint methods, and habituation. *Animals*, 12(13), 1670. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9237992/>
- Messias, J.B., Caraciolo, M., Oliveira, I.M.D., Montarroyos, U.R., Bastos, I.V., Guerra, M.D.O., Souza, I.A., 2010. Avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de ratas no segundo terço da gestação submetidas à ação do extrato metanólico de *Cereus jamacaru* DC., Cactaceae. *Rev. Bras. Farmacogn.* 20, 478–483. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2010000400003>
- Montiel-Sánchez, M., García-Cayuela, T., Gómez-Maqueo, A., García, H.S., Cano, M.P., 2021. In vitro gastrointestinal stability, bioaccessibility and potential biological activities of betalains and phenolic compounds in cactus berry fruits (*Myrtillocactus geometrizans*). *Food Chem.* 342, 128087. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128087>.
- Neto, H.D., Nóbrega, J., Duarte, G., Borges, F., Barbosa Filho, J., Rodrigues, L., Oliveira Filho, A.L., 2020. Estudo de atividade antimicrobiana de 3, 4-(metilenodióxi)-acetofenona. *Scientia Plena* 16(1). <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2020.014501>.
- Oliveira, A.M., da Silva, W.A.V., Ferreira, M.R.A., Paiva, P.M.G., de Medeiros, P.L., Soares, L.A.L., Carvalho, B.M., Napoleão, T.H., 2019. Assessment of 28-day oral toxicity and antipyretic activity of the saline extract from *Pilosocereus gounellei* (Cactaceae) stem in mice. *J. Ethnopharmacol.* 234, 96–105. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.01.036>.
- Oliveira, A.M., de Freitas, A.F.S., de Souza Costa, M.D., da Silva Torres, M.K., de Araujo Castro, Y.A., Almeida, A.M.R., Guedes Paiva, P.M.G., Carvalho, B.M., Napoleão, T.H., 2021. *Pilosocereus gounellei* (Cactaceae) stem extract decreases insulin resistance, inflammation, oxidative stress, and cardio-metabolic risk in diet-induced obese mice. *J. Ethnopharmacol.* 265, 113327. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113327>.
- Oliveira, A.M., de Freitas, A.F.S., Paiva, P.M.G., Napoleão, T.H., 2020. Genotoxicity assessment of saline extract from *Pilosocereus gounellei* (Cactaceae) and its

- chemopreventive effect against cyclophosphamide-induced DNA damage. *Heliyon* 6(4). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03811>
- Oliveira, A.M., de Luna Freire, M.O., da Silva, W.A.V., Ferreira, M.R.A., Paiva, P.M.G., Soares, L.A.L., Medeiros, P.L., Carvalho, B.M., Napoleão, T.H., 2018. Saline extract of *Pilosocereus gounellei* stem has antinociceptive effect in mice without showing acute toxicity and altering motor coordination. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 95, 289–297. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2018.04.004>.
- Oliveira, D.M.D., Bastos, D.H.M., 2011. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. *Quím. Nova* 34, 1051–1056. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000600023>
- Polukonova, N.V., Navolokin, N.A., Raïkova, S.V., Masliakova, G.N., Bucharskaia, A.B., Durnova, N.A., Shub, G.M., 2015. Anti-inflammatory, antipyretic and antimicrobial activity of flavonoid-containing extract of *Gratiola officinalis* L. *Eksperimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya* 78(1), 34–38. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25826873/> (accessed 16 October 2024).
- Sá-Filho, G.F. de, Silva, A.I.B. da, Costa, E.M. da, Nunes, L.E., Ribeiro, L.H. de F., Cavalcanti, J.R.L. de P., Guzen, F.P., Oliveira, L.C. de, Cavalcante, J. de S., 2021. Plantas medicinais utilizadas na caatinga brasileira e o potencial terapêutico dos metabólitos secundários: uma revisão. *Res. Soc. Dev.* 10(13). <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i13.21096>.
- Santiago, E., Juárez, I., Cid, C., De Peña, M.P., 2021. Extraction of (Poly)phenolic compounds of cactus (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.) cladodes. *Food Anal. Methods* 14, 1167–1175. <https://doi.org/10.1007/s12161-020-01946-6>
- Santos, E.W., Oliveira, D.C. de, Hastreiter, A., Silva, G.B. da, Beltran, J.S. de O., Tsujita, M., Crisma, A.R., Neves, S.M.P., Fock, R.A., Borelli, P., 2016. Hematological and biochemical reference values for C57BL/6, Swiss Webster and BALB/c mice. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 53(2), 138–145. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v53i2p138-145>.
- Santos, G. L. D., Lemos, E. L., Fernandes, A. F. C., Rocha, W. R. V., Catão, R. M. R., Braz Filho, R., & Alves, H. D. S. (2018). Phytochemical study of *Harrisia adscendens*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 28, 298-302. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.03.003>
- Schütz, K., Kammerer, D. R., Carle, R., & Schieber, A. (2005). Characterization of phenolic acids and flavonoids in dandelion (*Taraxacum officinale* WEB. ex WIGG.) root and herb by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 19(2), 179-186. <https://doi.org/10.1002/rcm.1767>

- Siddiqui, F., Farooq, A.D., Mudassar, Kabir, N., Fatima, N., Abidi, L., Faizi, 2021. Toxicological assessment of *Opuntia dillenii* (Ker Gawl.) Haw. Cladode methanol extract, fractions and its alpha pyrones: Opuntiol and opuntioside. *J. Ethnopharmacol.* 280, 114409. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114409>.
- Silva, K.W.L., de Barros, R.S., de Souza Gomes, D.C., Rocha, T.J.M., dos Santos, A.F., Fonseca, S.A., 2019. Perfil fitoquímico e avaliação da atividade antioxidante da espécie *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. <https://doi.org/10.48016/GT4L3Xenccultcap12>
- Silva, S. P., da Costa, C. B. L., de Freitas, A. F. S., da Silva, J. D. F., Costa, W. K., da Silva, W. S. F. L., ... & Napoleão, T. H. (2023). Saline extract of *Portulaca elatior* leaves with photoprotective and antioxidant activities does not show acute oral and dermal toxicity in mice. *Toxicological Research*, 39(2), 179-190. <https://doi.org/10.1007/s43188-022-00160-2>
- Soucy, N.V., 2014. Acetophenone. *Encycl. Toxicol.* 43–45. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-386454-3.01157-x>.
- Sousa, J.M.G., da Silva Campos, J., Clemente, A.D., da Silva, C.A., 2020. *Uncaria tomentosa* com ênfase na relevância clínica: Revisão integrativa. *Rev. Multidiscip. Saúde* 1(3), 85–85. Recuperado de <https://editoraime.com.br/revistas/index.php/rem/article/view/461>
- Souza, L.O., Vianna, D.R., de Oliveira, J.R.S., 2022. Atividade imunomoduladora e antiviral de extratos de *Echinacea purpurea*: uma revisão da literatura. *ULAKES J. Med.* 2(3). <https://doi.org/10.56084/ulakesjmed.v2i3.820>
- Sumalatha, Y., Reddy, T.R., Reddy, P.P., Satyanarayana, B., 2009. A simple, efficient and scalable synthesis of hypnotic agent, zolpidem. *Arkivoc* 2, 315–320. <http://dx.doi.org/10.3998/ark.5550190.0010.230>
- Tambara, A. L., de Los Santos Moraes, L., Dal Forno, A. H., Boldori, J. R., de Freitas, C. M., Soares, F. A. A., ... & Denardin, E. L. G. (2018). Purple pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.) protects against oxidative stress and increases the lifespan in *Caenorhabditis elegans* via the DAF-16/FOXO pathway. *Food and Chemical Toxicology*, 120, 639-650. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.08.016>
- Tian, Z., Jia, H., Jin, Y., Wang, M., Kou, J., Wang, C., Rong, X., Xie, X., Han, G., Pang, X., 2019. Chrysanthemum extract attenuates hepatotoxicity via inhibiting oxidative stress in vivo and in vitro. *Food Nutr. Res.* 63, 10.29219/fnr.v63.1667. <https://doi.org/10.29219/fnr.v63.1667>.

- Touiti, N., Bousta, D., Boukhira, S., Chebaibi, M., Achour, S., 2020. Phytochemical screening, acute and subacute toxicity of aqueous extract from a mixture of some recipe of *Hernaria glabra*, *Opuntia ficus-indica*, *Zea mays*, and *Zizyphus lotus* used traditionally against renal lithiasis. *Pharmacogn. Res.* 12(1). https://doi.org/10.4103/pr.pr_89_19
- Yang, J., et al. (2020). Antioxidant polyphenols modulate hepatic enzyme profiles in subchronic toxicity studies. *Food and Chemical Toxicology*, 136, 111082. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111082>
- Ye, M., Han, J., Chen, H., Zheng, J., & Guo, D. (2007). Analysis of phenolic compounds in rhubarbs using liquid chromatography coupled with electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 18, 82-91. <https://doi.org/10.1016/j.jasms.2006.08.009>
- Zappi, D., Taylor, N.P., 2020. Cactaceae in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB129760>.
- Zhang, Y., Li, X., Li, J., Liang, H., & Lai, X. (2018). Compounds identification in semen cuscuteae by ultra-high-performance liquid chromatography (UPLCs) coupled to electrospray ionization mass spectrometry. *Molecules*, 23(5), 1199. <https://doi.org/10.3390/molecules23051199>

4.2 Artigo 2

Atividades antinociceptiva, anti-inflamatória, antipirética e cicatrizante de extrato hidroetanólico de cladódios de *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose

Anderson Felipe Soares de Freitas¹, Suéllen Pedrosa da Silva¹, Cláudia Bernadete de Souza Lira¹, Amanda de Oliveira Marinho¹, Patrícia Maria Guedes Paiva¹, Leydianne Leite de Siqueira Patriota¹, Alisson Macário de Oliveira^{1,2}, Thiago Henrique Napoleão¹

¹ Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-420, Recife, Pernambuco, Brazil.

² Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual da Paraíba, 58429-500, Campina Grande, Paraíba, Brazil.

RESUMO

Harrisia adscendens é uma planta endêmica do Brasil que é utilizada na medicina popular, contudo, não existem estudos na literatura que comprovem suas atividades biológicas. Nesse sentido, esse artigo visou avaliar as atividades antinociceptiva, anti-inflamatória e antipirética do extrato hidroetanólico de cladódios de *H. adscendens*. Ainda, foi avaliada a atividade cicatrizante de gel contendo o extrato. No teste de formalina, o extrato demonstrou atividade antinociceptiva especialmente na fase inflamatória. O extrato também inibiu o desenvolvimento do edema de pata induzido por carragenina, alcançando 47,50% de inibição na dose de 400 mg/kg. Além disso, reduziu a infiltração de leucócitos e os níveis de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-6, IL-1 β e IFN- γ) no modelo de peritonite induzida por carragenina, evidenciando seu potencial anti-inflamatório. A avaliação da atividade antipirética revelou que o extrato reduziu significativamente a temperatura corporal, principalmente na dose de 400 mg/kg. Além disso, o gel produzido contendo o extrato (10%) demonstrou atividade cicatrizante. Os resultados indicam potenciais farmacológicos do extrato de *Harrisia adscendens*, justificando estudos mais aprofundados para elucidar seus mecanismos de ação e explorar seu uso terapêutico.

Palavras chaves: Antinociceptivo, rabo-de-raposa, inflamação, febre, cicatrização

INTRODUÇÃO

A busca contínua por estratégias para alívio da dor e inflamação é um dos desafios cruciais enfrentados na área da saúde. Essas respostas fisiológicas complexas são muitas vezes sintomas de doenças crônicas, lesões ou disfunções autoimunes, desencadeando desconforto físico e emocional significativo, afetando a qualidade de vida dos afetados (Yamamoto^{vá}, 2019; Cohen et al., 2021). Nesse sentido, o ser humano tem olhado para a natureza ao seu redor desde o início dos tempos, reconhecendo nas plantas medicinais uma fonte de alívio e cura (Rocha *et al.*, 2021)

A dor pode ser definida como “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a dano tecidual real ou potencial, ou descrita em termos de tal dano” (Raja *et al.*, 2020). Ela abrange uma variedade de tipos, como dor aguda, crônica, somática, visceral e neuropática; além disso, pesquisas indicam que queixas de dor mais comuns são dores de cabeça, distúrbios temporomandibulares e dores crônicas não especificadas (Nasser e Afify, 2019). Plantas cactáceas como *Pereskia sacharosa* (Ruiz *et al.*, 2022) e *Pilosocereus gounellei* (Oliveira *et al.*, 2018) têm sido documentadas na literatura científica por sua eficácia antinociceptiva, o que reforça a validade de seus usos com base no conhecimento tradicional da população.

O gênero *Harrisia*, composto por um conjunto de 19 espécies de cactos, representa um grupo de plantas nativas das Américas Central e do Sul. Essas plantas são adaptadas a uma variedade de habitats, desde florestas tropicais até regiões desérticas e costeiras, e demonstram notável resiliência à seca. Além de seu valor ecológico como fornecedoras de alimento e abrigo para várias formas de vida, algumas espécies de *Harrisia* têm uma importância adicional na medicina tradicional, onde são usadas para tratar infecções, inflamações e distúrbios gastrointestinais (Zimmermann; Pérez, 2010; Silva, 2018; Torres; Zamora; Nuñez, 2023).

Harrisia adscendens é endêmica do Brasil e frequentemente encontrada em áreas de Caatinga e Cerrado. Além de sua presença marcante no ambiente natural, essa espécie também está presente na medicina tradicional, onde é utilizada para tratar enfermidades, como problemas renais e dores (Santos *et al.*, 2018). Um estudo fitoquímico de suas raízes revelou a presença de novos metabólitos secundários, incluindo um alcaloide β -carbolina e uma acetofenona, que são exclusivos do gênero *Harrisia* e da família Cactaceae (Santos et al., 2018).

Com o intuito de preencher uma lacuna na literatura em relação às propriedades farmacológicas da *H. adscendens*, o presente artigo realizou uma avaliação das atividades

antinociceptiva, anti-inflamatória, antipirética e cicatrizante de extrato hidroetanólico dos cladódios de *H. adscendens*.

METODOLOGIA

Material vegetal e preparação do extrato

A planta foi coletada na região de Santa Terezinha, Pernambuco, nas coordenadas 07°22'40" S e 37°28'48" W. O material botânico foi identificado e depositado no Herbário Dárdano de Andrade Lima – IPA, sob número de tombo 95231. O extrato hidroetanólico foi preparado a partir do pó obtido após a secagem dos cladódios. O processo de turbólise incluiu três ciclos de 30 s com intervalos de 4 min, com uma proporção de 10% (p/v) de droga vegetal, utilizando etanol:água 1:1 como solvente. Após a extração, o extrato foi seco usando um Mini Spray dryer LM MSDi 1.0 (LabMiq do Brasil, Ribeirão Preto, Brasil).

Animais

Camundongos machos ou fêmeas albinos suíços (*Mus musculus*) com peso entre 25 e 30 g foram obtidos do Instituto Keizo Asami (iLIKA) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os camundongos passaram por um período de aclimatização a 22 ± 2 °C, com um ciclo de 12:12 h (luz:escuro) e acesso ad libitum a alimento e água. Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as diretrizes éticas e receberam aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE, sob o protocolo número 0011/2022.

Avaliação da atividade antinociceptiva

Teste de contorções induzidas por ácido acético

O método empregado foi o proposto por Hunskaar e Hole (1987), com pequenas modificações por Viana *et al.* (1998). Os camundongos machos foram divididos em seis grupos ($n = 6$ por grupo). Os grupos foram tratados com solução salina por via oral (controle), extrato de *H. adscendens* (100, 200 ou 400 mg/kg por via oral), morfina (10 mg/kg, i.p.) ou indometacina (20 mg/kg, i.p.). Posteriormente, cada animal recebeu uma injeção intraperitoneal

de ácido acético a 0,85% (v/v) em solução salina. A solução salina ou o extrato vegetal foram administrados 1 hora antes do ácido acético, enquanto a morfina ou a indometacina foram administradas 30 minutos antes. Os camundongos foram então colocados em uma caixa de polietileno para registrar o período de latência (tempo até a primeira contorção) e o número de contorções no intervalo correspondente a 5 a 15 min após a injeção de ácido acético.

Teste de imersão da cauda

Camundongos machos foram pré-selecionados quanto à sensibilidade, imergindo suas caudas (3 cm de comprimento) em água quente ($55 \pm 1^\circ\text{C}$). Foram selecionados os animais que retiraram suas caudas em menos de 5 s. O teste foi realizado conforme adaptado por Khatun *et al.* (2015). Os camundongos foram divididos em cinco grupos ($n = 6$ por grupo) que receberam solução salina por via oral (controle), morfina 10 mg/kg i.p. (controle positivo) ou extrato de *H. adscendens* (100, 200 ou 400 mg/kg por via oral). O período de latência (tempo necessário para cada camundongo retirar a cauda) foi determinado 30, 60 e 90 min após a administração dos tratamentos. Um período de latência de 20 s foi considerado analgesia completa, e a cauda foi retirada para evitar lesões.

Teste de formalina

Camundongos machos foram divididos em seis grupos ($n = 6$ por grupo), e os seguintes pré-tratamentos foram administrados: solução salina por via oral (controle), extrato de *H. adscendens* (100, 200 ou 400 mg/kg por via oral), morfina (10 mg/kg i.p.) ou indometacina (20 mg/kg i.p.). Após 60 min, 20 μL de formalina a 2,5% (v/v) em solução salina foram injetados na região subplantar da pata traseira direita de cada animal. O tempo que o camundongo passou lambendo sua pata foi registrado durante os primeiros 5 min após a injeção de formalina (primeira fase: dor neurogênica) e entre 15 e 30 min após a injeção (segunda fase: dor inflamatória) (Hunskar e Hole, 1987).

Atividade antipirética

A investigação da atividade antipirética do extrato de *H. adscendens* seguiu o protocolo descrito por Oliveira *et al.* (2019). Inicialmente, 30 camundongos machos foram pré-

selecionados com base em suas temperaturas retais, que variavam entre 35,0 °C e 36,0 °C. Em seguida, esses animais receberam uma injeção subcutânea de *Saccharomyces cerevisiae* (1 mL/100 g de peso corporal), que consistia em uma suspensão a 15% (p/v) em solução salina. Após um período de 18 h, as temperaturas retais foram medidas novamente, e os camundongos que apresentaram um aumento de temperatura corporal superior a 1 °C foram aleatoriamente distribuídos em grupos de cinco. Esses grupos receberam tratamentos distintos, incluindo solução salina 0,9% (controle), extrato de *H. adscendens* (nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg, administradas por via oral) ou dipirona 100 mg/kg (controle positivo). As temperaturas retais foram monitoradas em intervalos de 30, 60, 90, 120 e 180 min após a administração dos tratamentos.

Ensaio de atividade anti-inflamatória

Edema de pata induzido por carragenina

Os camundongos foram distribuídos em cinco grupos, cada um contendo seis animais. Para induzir o edema na pata, foi injetada uma solução de carragenina a 2%, com um volume de 15 µL por animal, na região subplantar da pata direita. Na pata esquerda, os animais receberam uma injeção de 15 µL de solução salina a 0,9%, conforme descrito por Winter et al. (1962). Previamente à indução do edema, os animais foram pré-tratados com diferentes substâncias: extrato de *H. adscendens* nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg, solução salina 0,9% (controle) ou indometacina (20 mg/kg). Todos os tratamentos foram administrados por via oral, 1 h antes da injeção da carragenina. O volume da pata direita foi mensurado em intervalos de 1, 2, 3 e 4 h após a indução do edema, utilizando um paquímetro digital.

A atividade anti-inflamatória foi medida como a área sob a curva (ASC). A inibição total (TI%) foi obtida para cada grupo e em cada registro usando a seguinte razão: $TI (\%) = [ASC_{\text{controle}} - ASC_{\text{Tratado}}] \cdot 100 / ASC_{\text{Ccontrole}}$.

Peritonite induzida por carragenina

Camundongos machos foram divididos em cinco grupos experimentais (n=6 por grupo) e a peritonite foi induzida pela injeção intraperitoneal de 0,25 mL de solução de carragenina a 1% (p/v). Trinta minutos após a indução da peritonite, os animais receberam, via oral, 10 mg/kg

de diclofenaco (controle positivo), veículo (salina; controle negativo) ou o extrato nas doses de 100, 200 e 400 mg/kg. Quatro horas após a inoculação da carragenina, os animais foram sacrificados e 2 mL de salina contendo 1 mM de EDTA foram injetados na cavidade peritoneal para coleta do fluido peritoneal. O fluido coletado foi centrifugado a 3000 rpm por 5 min a 25 °C para separar as células. As células precipitadas foram então utilizadas para contagem total de leucócitos utilizando uma câmara de Neubauer sob microscopia óptica (Eclipse E100, Nikon, Tóquio, Japão), após diluição em solução de Turk (1:20) (Marinho et al., 2024). Os resultados foram expressos como o número total de células por mililitro de exsudato peritoneal (leucócitos/mL). A medição dos parâmetros inflamatórios foi realizada no sobrenadante do fluido peritoneal.

Medição de parâmetros inflamatórios

Proteínas totais

A quantificação de proteínas totais no sobrenadante do fluido peritoneal foi determinada seguindo o método descrito por Lowry et al. (1951) usando albumina sérica bovina (31,25–500 µg/mL) como padrão.

Medição dos níveis de citocinas

Interferon-gama (IFN- γ), interleucinas (IL) 2, 4, 6, 10 e 17, e fator de necrose tumoral alfa (TNF α) foram medidos no sobrenadante do fluido peritoneal usando o kit de citocinas Th1/Th2/Th17 Cytometric Bead Array (CBA) II (Becton Dickinson Biosciences, EUA) seguindo as instruções do fabricante. Os dados foram adquiridos no citômetro de fluxo BD Accuri C6 (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, EUA). Curvas padrão (0–5000 pg/mL) foram determinadas para cada citocina e os dados foram analisados usando o software BD Accuri C6.

Medição da atividade da mieloperoxidase (MPO)

A atividade da MPO foi determinada usando a técnica descrita por Bradley et al. (1982) com algumas modificações. O sobrenadante do fluido peritoneal ou homogeneizado das patas direitas (20 µL) foi incubado com 180 µL de o-dianisidina (0,167 mg/mL em tampão fosfato

pH 6,0). Peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 1% foi usado como substrato para MPO. Após 15 min de incubação, as absorvências foram determinadas em um espectrofotômetro de microplacas em um comprimento de onda de 460 nm.

Produção de gel contendo o extrato de *H. adscendens*

Para a produção do gel, foi utilizado Carbopol 940 como agente espessante. O extrato foi incorporado ao gel nas concentrações de 5% e 10% (p/v), de forma a garantir a homogeneidade e a estabilidade da formulação. A mistura foi agitada continuamente até atingir a consistência adequada para aplicação tópica.

Ensaio de cicatrização cutânea

Os camundongos machos foram anestesiados por via intraperitoneal com quetamina (50 mg/kg do animal) e xilazina (20 mg/kg do animal). Após a aplicação anestésica, cada animal foi submetido à tricotomia na região dorsal e à indução das lesões com um Punch dermatológico (região crânio-caudal) expondo a fáscia muscular (Thomé et al., 2012). Os animais foram tratados uma vez ao dia, por 12 dias. Os grupos (n=6) foram divididos em controle negativo (gel base), controle positivo (acetato de clostebol e sulfato de neomicina, ambos 5 mg), e dois grupos testes (gel contendo o extrato a 5% e gel contendo o extrato a 10%). O fechamento da ferida foi analisado através da mensuração da área da lesão. As medidas foram realizadas a cada 2 dias, com auxílio de um paquímetro digital. A porcentagem de contração (C%) da ferida foi calculada de acordo com a equação fornecida: $C (\%) = (\text{área da ferida no dia 1} - \text{área da ferida no dia 12}) \times 100 / \text{área da ferida no dia 1}$.

Análise estatística

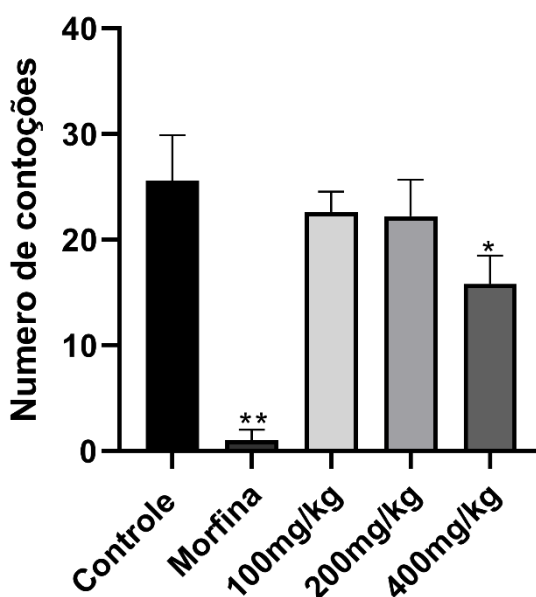
Os resultados foram expressos como média das repetições $\pm$ desvio padrão (DP). Foi realizada análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Bonferroni para comparações múltiplas. Um valor de $p < 0,05$ foi adotado como nível de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético é de suma importância na triagem farmacológica, uma vez que desempenha um papel fundamental na avaliação de compostos potencialmente analgésicos. Esse teste oferece uma maneira confiável de avaliar a capacidade antinociceptiva do composto de interesse em modelos animais, fornecendo informações valiosas sobre seu potencial terapêutico (Singh et al., 1983; Gawade, 2012).

No presente estudo, observou-se uma redução significativa no número de contorções no grupo que recebeu uma dose de 400 mg/kg do extrato em comparação com o grupo controle negativo (Figura 1). Esse achado está em linha com resultados previamente relatados por Andrade et al. (2017), cuja pesquisa envolveu o extrato metanólico das raízes de *H. adscendens* em concentrações até 400 mg/kg, sendo também detectada uma redução das contorções em relação ao grupo controle negativo.

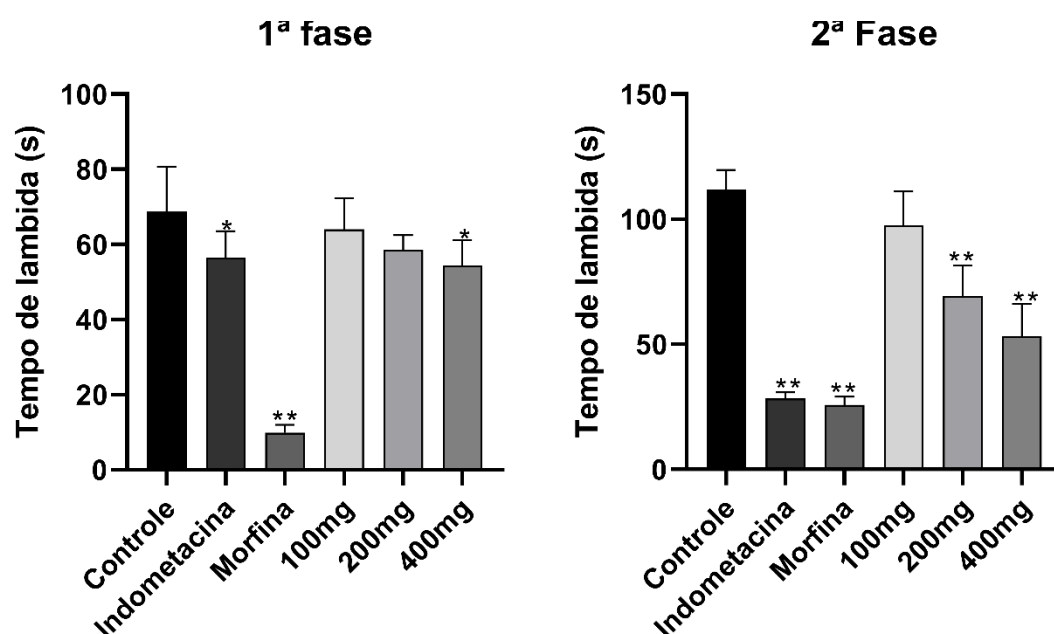
Figura 1. Contorções abdominais induzidas por ácido acético no grupo controle negativo, controle positivo (morfina) e tratamentos com o extrato hidroetanólico de *H. adscendens*. Resultados expressos como média $\pm$ DP. (*) $p < 0,05$ e (**) $p < 0,001$ em relação ao controle.



Seguindo o estudo, foi realizado o teste da formalina, que é uma avaliação utilizada para estudar a atividade antinociceptiva em modelos animais. A resposta à injeção de formalina pode ser dividida em duas fases distintas: a primeira fase, que está associada à dor neurogênica, ocorre imediatamente após a injeção e a segunda fase, relacionada à dor inflamatória, acontece 5 minutos. Avaliando os resultados exibidos na Figura 2, pode-se notar que, na primeira fase do teste, o extrato na dose de 400 mg/kg promoveu uma redução discreta, porém significativa, no tempo de lambida da pata. Na segunda fase do experimento, observam-se resultados mais

expressivos, com significância estatística nas doses de 200 e 400 mg/kg. Esses resultados sugerem potencial atividade anti-inflamatória do extrato. Além disso, os resultados corroboram com Andrade *et al.*, (2017), que também obteve melhores resultado na segunda fase do teste utilizando o extrato metanólico das raízes de *H. adscendens* em doses até 400 mg/kg.

Figura 2. Efeito do extrato hidroetanólico de *H. adscendens* (100, 200 ou 100 mg/kg) sobre a nocicepção induzida por formalina em camundongos. Morfina e indometacina foram usadas como controle positivo. Resultados expressos como média $\pm$ DP. (*) $p < 0,05$ e (**) $p < 0,001$ em relação ao controle negativo.

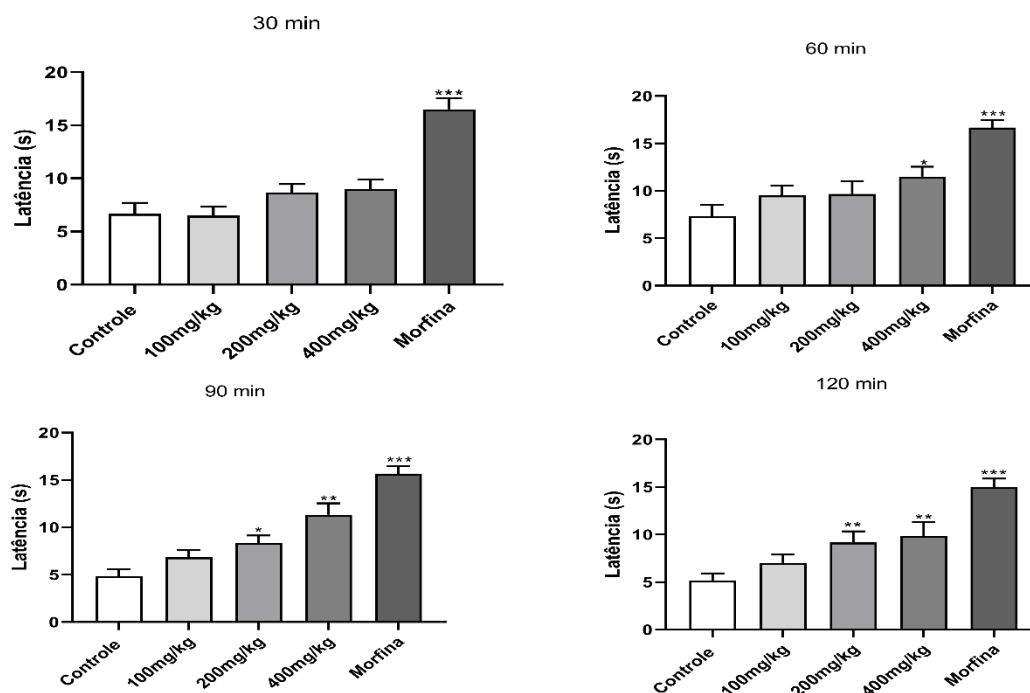


Outros estudos que investigaram cactáceas por meio do teste da formalina descreveram resultados mais robustos na segunda fase desse teste, como Pinto *et al.* (2015) utilizando a fração hidrometanólica de *Pereskia aculeata* e Oliveira *et al.* (2018) utilizando o extrato salino de *Pilosocereus gounellei*. Tais resultados sugerem uma perspectiva promissora de atividade anti-inflamatória no contexto da família das cactáceas.

No teste de retirada da cauda (Figura 3), foi possível observar um aumento significativo na latência a partir de 60 min após a administração do extrato na dose de 400 mg/kg, em comparação ao grupo controle negativo. Além disso, entre 90 e 120 min, foi observado um aumento significativo da latência nos grupos que receberam as doses de 200 e 400 mg/kg. Esses

resultados sugerem um indicativo da redução da sensibilidade à dor térmica nos animais, corroborando com os achados anteriores.

Figura 3. Efeito do extrato hidroetanólico de *H. adscendens* sobre a nocicepção no teste de retirada de cauda em camundongos. Resultados expressos como média $\pm$ DP. (*) $p < 0,05$ e (**) $p < 0,001$ em relação ao controle negativo.



O desempenho observado com o extrato de *H. adscendens* neste estudo é comparável ao de outras plantas da mesma família. Por exemplo, no estudo de Layachi et al. (2023), o uso do extrato aquoso e etanólico das flores de *Opuntia ficus-indica* na dose de 500 mg/kg resultou em um aumento médio de aproximadamente 50% no tempo de latência em comparação com o grupo controle negativo. Além disso, Benattia et al. (2019) demonstraram um aumento no tempo de latência dos grupos tratados com 500 mg/kg do extrato hidroetanólico das sementes de *Opuntia ficus-indica*.

Após a finalização da avaliação antinociceptiva, passou-se à investigação da atividade anti-inflamatória do extrato de *H. adscendens*. Para isso, foi realizado o teste de edema de pata induzido por carragenina. Os resultados da Tabela 1 evidenciam a inibição significativa do desenvolvimento do edema nos grupos tratados o extrato a 200 e 400 mg/kg durante o primeiro período de observação e em todos os grupos a partir de 2 horas de teste. O melhor resultado foi

o grupo de 400 mg/kg, que apresentou uma inibição de 47,50% frente ao controle negativo. Estudos demonstram que cerca de 1 hora após a administração da carragenina, ocorre uma liberação significativa de mediadores, como histamina e serotonina. Isso resulta em vasodilatação e aumento da permeabilidade dos capilares (Akunne et al., 2016; Benattia et al., 2019; Souza et al., 2020), sugerindo assim a possibilidade que o extrato possua atividade como anti-histamínico. Akunne et al. (2016) avaliaram a atividade anti-inflamatória do extrato de partes aéreas da cactácea *Rhipsalis neves-armondii* no teste de edema de pata, descreveram uma inibição de 30% com a fração n-hexano e 53,33% de inibição com a fração de acetato de etila, ambas na dose de 400 mg/kg.

Tabela 1. Efeito do extrato hidroetanólico de *H. adscendens* sobre o edema de pata induzido pela carragenina em camundongos. Indometacina foi utilizada como controle positivo. ASC (área sob a curva), IT (inibição total). Os valores foram expressos em média $\pm$ desvio padrão. (*) $p < 0,001$ em relação ao controle negativo.

Grupos	Tempo			ASC	IT (%)
	1h	2h	3h		
Controle	4,85 $\pm$ 0,59	4,34 $\pm$ 0,59	3,03 $\pm$ 0,28	8,29 $\pm$ 1,19	-
Indometacina 20 mg/kg	2,23 $\pm$ 0,31*	1,75 $\pm$ 0,32*	1,05 $\pm$ 0,13*	3,39 $\pm$ 0,64*	59,08
100mg/kg	3,58 $\pm$ 0,53	3,26 $\pm$ 0,35*	1,83 $\pm$ 0,34*	5,97 $\pm$ 0,90*	28,04
200mg/kg	3,19 $\pm$ 0,23*	2,30 $\pm$ 0,22*	1,74 $\pm$ 0,25*	4,77 $\pm$ 0,51*	42,52
400mg/kg	2,89 $\pm$ 0,41*	2,08 $\pm$ 0,33*	1,65 $\pm$ 0,21*	4,35 $\pm$ 0,74*	47,50

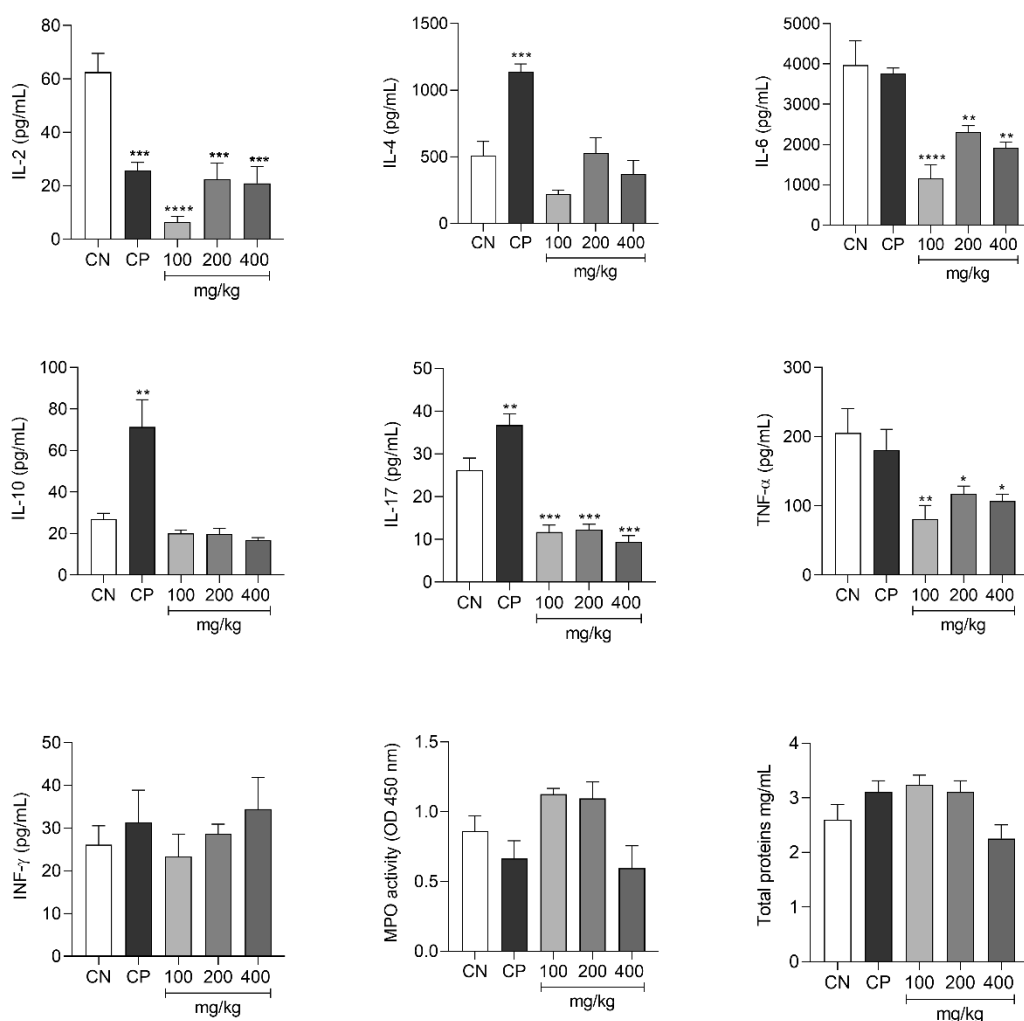
O modelo de peritonite induzida por carragenina é amplamente utilizado para estudar respostas inflamatórias. Ele causa aumento da permeabilidade vascular e acúmulo de leucócitos, com células polimorfonucleares predominando inicialmente, seguidas por células mononucleares (Hara et al., 1994). Os resultados (Tabela 2) mostraram que o extrato de *H. adscendens* apresentou efeito dose-dependente na inibição da migração de células para o peritônio. O grupo controle, tratado com solução salina, apresentou uma média de $9,54 \times 10^6$ células/mL no peritônio, refletindo a resposta inflamatória normal à carragenina. A dose de 100 mg/kg do extrato causou uma inibição de apenas 9,90%, enquanto as doses de 200 e 400 mg/kg reduziram a migração em 25,50% e 43,96%, respectivamente.

Tabela 2. Migração leucocitária observada no teste de peritonite induzida por carragenina

Grupos	Migração de células peritoneais ($\times 10^6$ células/mL)	Inibição (%)
Controle negativo	9,54	-
Diclofenaco (10mg/kg)	2,90	69,63%
100mg/kg	8,59	9,90%
200mg/kg	7,10	25,50%
400mg/kg	5,34	43,96%

Na peritonite, os níveis de citocinas no fluido peritoneal são significativamente maiores do que no plasma (Martineau & Shek, 2000; Hendriks et al., 2010) e níveis elevados de IL-1, IL-2, IL-6 e TNF- α se correlacionam com a intensidade da resposta inflamatória (Savolyuk et al. 2016). O tratamento com o extrato de *H. adscendens* resultou em uma redução significativa nos níveis de citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-2, IL-6, IL-17 e TNF- α (Figura 4). A dose de 400 mg/kg apresentou o maior efeito anti-inflamatório. O extrato não teve um impacto significativo nos níveis de IL-4, IL-10 e INF- γ (Figura 4), nem na atividade da MPO (Figura 4)

Figura 4. Dosagens de citocinas no fluido peritoneal de animais dos grupos controle negativo (CN), controle positivo (CP, diclofenaco 10 mg/kg) e tratados com o extrato de *H. adscendens* a 100, 200 e 400 mg/kg submetidos à indução de peritonite por carragenina. (*) $p < 0,05$, (**) $p < 0,01$, (***) $p < 0,001$, (****) $p < 0,0001$ em relação ao grupo CN.



A redução nos níveis de citocinas pró-inflamatórias indica que o extrato de *H. adscendens* pode estar inibindo a ativação de células imunes, como linfócitos T e neutrófilos, e a produção de mediadores inflamatórios. A ausência de efeito sobre IL-4, IL-10 e INF- γ sugere que o extrato não está promovendo a resolução da inflamação por meio do aumento da IL-10, não está interferindo diretamente na resposta imune celular e não está impactando diretamente a resposta Th2. A ausência de efeito sobre a atividade da MPO sugere que o extrato não alterou a atividade dos neutrófilos já presentes no local da inflamação. No entanto, ele pode estar inibindo a migração dessas células, resultando em uma menor quantidade de neutrófilos no fluido peritoneal, mesmo sem afetar sua atividade enzimática (Gallová et al., 2004, Liang et al., 2009, Vyver et al., 2016). Sendo assim, o extrato pode estar inibindo a migração de neutrófilos para o local da inflamação, reduzindo sua contagem no fluido peritoneal, mas sem afetar a atividade da MPO dos neutrófilos já presentes. Há ainda a possibilidade de haver de efeitos

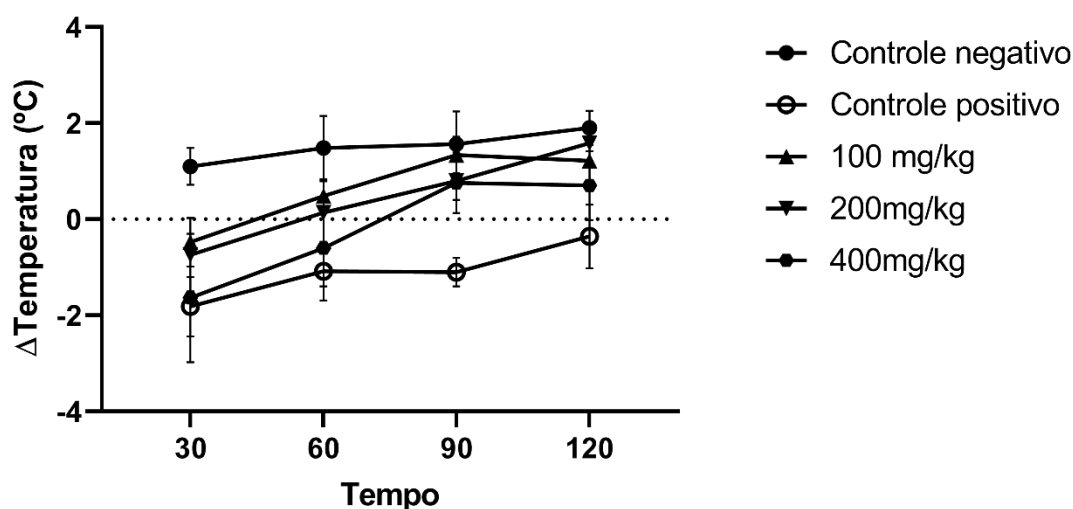
indiretos, ou seja, o extrato pode estar atuando indiretamente na contagem de neutrófilos por modular a produção de citocinas que influenciam a produção e a sobrevivência dos neutrófilos (Granger, Kubes 1994, Koch et al., 2021).

Estudos prévios demonstram a atividade anti-inflamatória das cactáceas, como o de Lima et al. (2024) que investigaram o extrato aquoso e etanólico de cladódios de *Cereus jamacaru*. Os autores observaram uma inibição significativa da migração de leucócitos no teste de peritonite, com o extrato aquoso causando 66% de inibição na dose de 300 mg/kg e o extrato etanólico demonstrando 73,5% de inibição na concentração de 100 mg/kg. Além disso, Siddiqui et al. (2016) associaram os compostos isolados opuntiol e opuntiosídeo (α -pirona) presentes na *Opuntia dillenii* com atividades anti-inflamatórias, interferindo em vários processos envolvidos na inflamação, como as vias PLA2, COX, LOX e citocinas.

A febre é um dos sintomas clássicos associados à inflamação e desempenha um papel fundamental na resposta do organismo a agentes infecciosos e lesões. Quando ocorre uma inflamação, como resultado de uma infecção bacteriana, viral ou devido a lesões teciduais, o sistema imunológico é ativado. Isso desencadeia a liberação de substâncias pró-inflamatórias, como citocinas e prostaglandinas, que têm a capacidade de aumentar a temperatura corporal. A febre é uma resposta adaptativa do corpo, e seu aumento de temperatura ajuda a acelerar a resposta imunológica, tornando o ambiente menos favorável para a sobrevivência de patógenos invasores (Voltarelli, 1994; Kiekkas et al., 2013; Wilhelms et al., 2014).

Os dados apresentados na Figura 5 ilustram a variação da temperatura durante o teste de atividade antipirética. É possível observar uma redução significativa em todos os grupos tratados com o extrato nos primeiros 60 minutos do teste. No entanto, durante o período de 90 a 120 minutos, observamos uma redução significativa apenas no grupo tratado com 400 mg/kg em comparação com o controle negativo.

Figura 5. Efeito do extrato hidroetanólico de *H. adscendens* sobre a temperatura corporal em camundongos com febre induzida por levedura. Dipirona foi usado como controle positivo.



Os compostos identificados no extrato hidroetanólico de *H. adscendens*, tais como acetofenonas, ácido hidroxicinâmico, derivados de ácidos fenólicos e flavonoides (especialmente a quercetina-3-O-hexosídeo-rutinosídeo-7-O-hexosídeo) (Freitas et al., no prelo), fornecem uma base química para as atividades farmacológicas observadas. Esses metabólitos, sobretudo os flavonoides e as acetofenonas, são conhecidos por suas propriedades antinociceptivas e anti-inflamatórias, atuando na inibição de mediadores pró-inflamatórios, como prostaglandinas e citocinas (TNF- α , IL-6 e IL-1 β) (Maleki et al., 2019; Kumar & Goel, 2019), o que explica a redução da dor na segunda fase do teste de formalina e a inibição do edema de pata induzido por carragenina. Ademais, esses compostos também apresentam atividade antipirética, modulando a liberação de citocinas envolvidas na febre, como IL-1 β (Polukonova et al., 2015; Tian et al., 2019), o que justifica a redução da temperatura corporal observada nos camundongos tratados.

A cicatrização de feridas é um processo complexo e dinâmico que envolve uma série de fases coordenadas, sendo a inflamação uma das primeiras e mais cruciais etapas. O processo inflamatório atua como uma defesa imediata contra infecções e danos teciduais, recrutando células imunes para o local da lesão e liberando mediadores bioquímicos que preparam o tecido para as fases subsequentes de reparo (Khémiri et al., 2019). Nesse contexto, também foi realizado teste de cicatrização utilizando uma formulação de gel feita com Carbopol 940 e o extrato de *H. adscendens*, nas concentrações de 5 e 10%. Os resultados obtidos (Figura 6) nos

dias 6 e 12 mostraram que o extrato teve um efeito positivo na cicatrização, principalmente na concentração de 10%.

No sexto dia, observamos que o gel contendo 10% do extrato apresentou uma cicatrização significativamente melhor que o grupo tratado com gel a 5%, (43,02% e 32,42%, respectivamente). No décimo segundo dia de experimento foi observado atividade significativa apenas no gel a 10% (65,32%). A Figura 7 traz imagens que representam a cronologia do processo de cicatrização em todos os grupos.

Figura 6. Contração da ferida após 12 dias nos grupos controle negativo (NC), controle positivo (PC) e tratados com gel contendo o extrato hidroetanólico de cladódios de *H. adscendens* a 5 o 10%. (*) $p < 0,05$; (**) $p < 0,001$ em relação ao controle negativo.

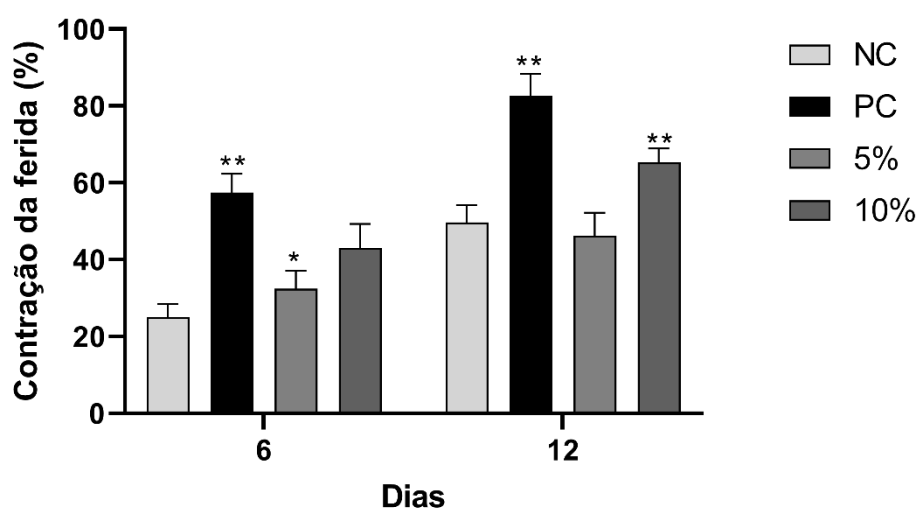
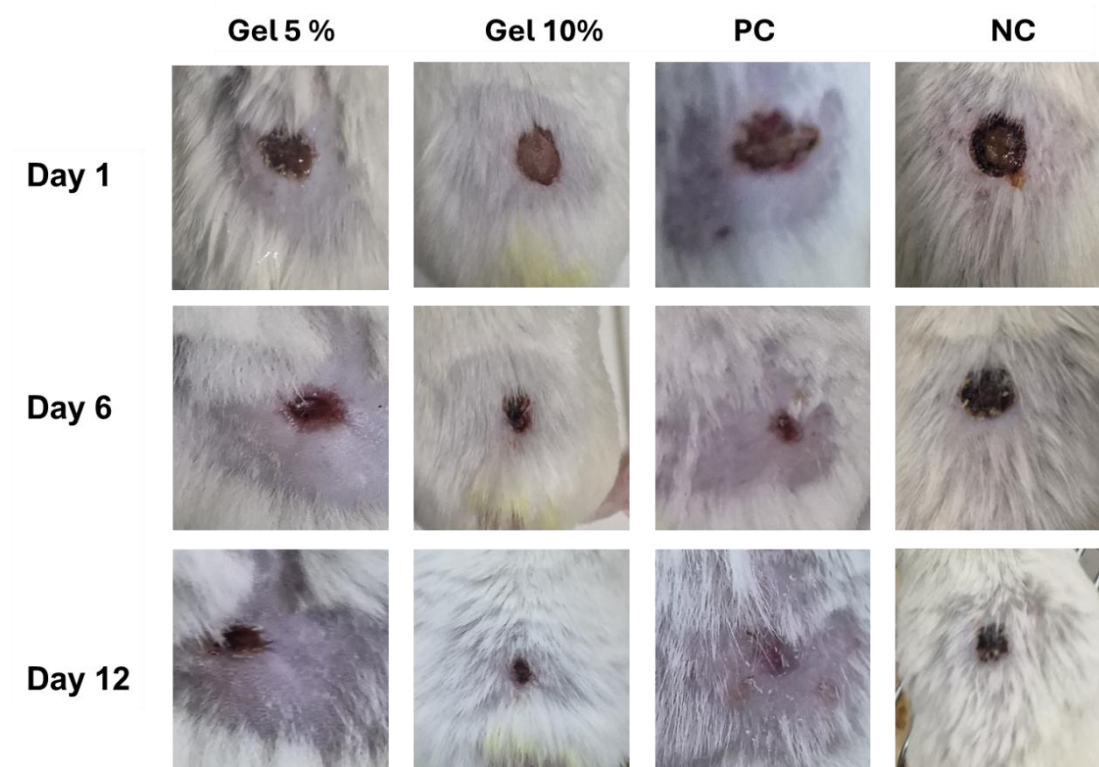


Figura 7. Cronologia da cicatrização de feridas excisionais nos grupos controle negativo (NC), controle positivo (PC) e tratados com gel contendo o extrato hidroetanólico de cladódios de *H. adscendens* a 5 o 10%.



Outros estudos já demonstraram as atividades cicatrizantes de cactáceas, como no estudo de Khémiri *et al.* (2019), utilizando 0,6 $\mu\text{l}/\text{m}^2$ do óleo de *Opuntia ficus-indica*, obtido das folhas e flores da planta e aplicado topicamente em ratos. Foi obtida uma taxa de contração da ferida de 90% no 9º dia de tratamento, comparada a apenas 50% no grupo controle. Outro exemplo é o estudo de Lima *et al.* (2006), ao produzir uma formulação contendo *Cereus peruvianus* Miller, que causou redução de 100% da ferida em ratos após 16 dias, enquanto para o controle negativo foram necessários 24 dias de experimento.

CONCLUSÃO

O estudo revelou evidências promissoras do potencial farmacológico do extrato hidroetanólico de *H. adscendens*. Ao avaliar a atividade antinociceptiva, verificou-se uma redução da nocicepção, especialmente na segunda fase do teste de formalina, indicando uma possível atividade anti-inflamatória do extrato. Essa eficácia como um agente anti-inflamatório foi demonstrada em diferentes modelos. Os resultados são reforçados pela demonstração de

atividade antipirética. Além disso, o gel produzindo com o extrato apresentou atividade cicatrizante significativa.

REFERÊNCIAS

- AKUNNE, T. C. et al. Anti-inflammatory and anticancer activities of extract and fractions of *Rhipsalis neves-armondii* (Cactaceae) aerial parts. **Cogent Biology**, v. 2, n. 1, p. 1237259, 2016.
- ANDRADE, C. et al. Atividade analgésica e anti-inflamatória dos extratos metanólicos bruto das raízes de cactáceas utilizadas na medicina popular. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 19, n. 2, p. 219-228, 2017.
- ANTUNES-RICARDO, M. et al. In vivo anti-inflammatory effects of isorhamnetin glycosides isolated from *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill cladodes. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 803-808, 2015.
- BENATTIA, F. K. et al. Pharmaco-analytical study and phytochemical profile of hydroethanolic extract of Algerian prickly pear (*Opuntia ficus-indica*. L). **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 20, n. 9, p. 696-706, 2019.
- BERGE, O. G.; GARCIA-CABRERA, I.; HOLE, K. Response latencies in the tail-flick test depend on tail skin temperature. **Neuroscience Letters**, v. 86, n. 3, p. 284-288, 1988.
- Biotechnology Reports**, v. 24, p. e00370, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370>.
- BRADLEY, P. P.; CHRISTENSEN, R. D.; ROTHSTEIN, G. Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. **Blood**, v. 60, n. 3, p. 618-622, 1982.
- COHEN, S. P.; VASE, L.; HOOTEN, W. M. Chronic pain: an update on burden, best practices, and new advances. **The Lancet**, v. 397, n. 10289, p. 2082-2097, 2021.
- FEREIDONI, M. et al. An accurate and simple method for measurement of paw edema. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 43, n. 1, p. 11-14, 2000.
- FISCHER, M. et al. The interphase of the formalin test. **PAIN®**, v. 155, n. 3, p. 511-521, 2014.
- FRANCK, A. R. Monograph of *Harrisia* (Cactaceae). **Phytoneuron**, v. 85, n. 4, p. 102-134, 2016.
- FRANCK, A. R.; COCHRANE, B. J.; GAREY, J. R. Phylogeny, biogeography, and infrageneric classification of *Harrisia* (Cactaceae). **Systematic Botany**, v. 38, n. 1, p. 210-223, 2013.

- FREITAS, A. F. S. et al. Phytochemical profile and evaluation of acute and subacute toxicities, and genotoxicity of a hydroethanolic extract of cladodes of *Harrisia adscendens*. [manuscript submitted for publication – no prelo].
- GAWADE, S. Acetic acid induced painful endogenous infliction in writhing test on mice. **Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics**, v. 3, n. 4, p. 348, 2012.
- GRANGER, D. N.; KUBES, P. The microcirculation and inflammation: modulation of leukocyte-endothelial cell adhesion. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 55, n. 5, p. 662-675, 1994.
- HARA, C. M. et al. Cinética das alterações vasculares e celulares na peritonite induzida pela Carragenina em *Gallus gallus*. Efeito de drogas antiinflamatórias esteroidais e não esteroidais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 31, n. 3-4, p. 173-180, 1994.
- HENDRIKS, T. et al. Peritoneal cytokines predict mortality after surgical treatment of secondary peritonitis in the rat. **Journal of the American College of Surgeons**, v. 211, n. 2, p. 263-270, 2010.
- HUNSKAAR, S.; FASMER, O. B.; HOLE, K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 14, n. 1, p. 69-76, 1985.
- JISHA, N. et al. Anti-inflammatory efficacy of methanolic extract of *Muntingia calabura* L. leaves in carrageenan-induced paw edema model. **Pathophysiology**, v. 26, n. 3-4, p. 323-330, 2019.
- KIEKKAS, P. et al. Fever effects and treatment in critical care: literature review. **Australian Critical Care**, v. 26, n. 3, p. 130-135, 2013.
- KOCH, M. S. et al. Aspectos gerais da mieloperoxidase e seu envolvimento em doenças: uma breve revisão. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, 2021.
- LAYACHI, R. et al. Assessment of analgesic properties of alcohol and aqueous extracts of *Opuntia ficus-indica* flowers. **Notulae Scientia Biologicae**, v. 15, n. 1, p. 11351-11351, 2023.
- LEVY, L. Carrageenan paw edema in the mouse. **Life Sciences**, v. 8, n. 11, p. 601-606, 1969.
- LIANG, J.; ZHENG, Z.; WANG, M.; HAN, L.; ZHENG, Z.; PENG, J.; LIU, Z.; WEI, Y. Myeloperoxidase (MPO) and interleukin-17 (IL-17) plasma levels are increased in patients with acute coronary syndromes. **Journal of International Medical Research**, v. 37, n. 3, p. 862-866, 2009.

- LIMA, A. A. D. et al. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of aqueous and ethanolic extracts from *Cereus jamacaru* DC. (Cactaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 67, e24240230, 2024.
- LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265-275, 1951.
- MALEKI, S. J.; CRESPO, J. F.; CABANILLAS, B. Anti-inflammatory effects of flavonoids. **Food Chemistry**, v. 299, p. 125124, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125124>. Acesso em: 16 out. 2024.
- MARTINEAU, L.; SHEK, P. N. Peritoneal cytokine concentrations and survival outcome in an experimental bacterial infusion model of peritonitis. **Critical Care Medicine**, v. 28, n. 3, p. 788-794, 2000.
- MWOBOBIA, R. M.; KANUI, T. I.; ABELSON, K. S. P. The effects of clonidine and yohimbine in the tail flick and hot plate tests in the naked mole rat (*Heterocephalus glaber*). **BMC Research Notes**, v. 14, p. 1-5, 2021.
- NASSER, S. A.; AFIFY, E. A. Sex differences in pain and opioid mediated antinociception: Modulatory role of gonadal hormones. **Life Sciences**, v. 237, 116926, 2019.
- OLIVEIRA, A. M. et al. Saline extract of *Pilosocereus gounellei* stem has antinociceptive effect in mice without showing acute toxicity and altering motor coordination. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 95, p. 289-297, 2018.
- PINTO, N. D. C. C. et al. *Pereskia aculeata*: A plant food with antinociceptive activity. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 12, p. 1780-1785, 2015.
- POLUKONOVA, N. V.; NAVOLOKIN, N. A.; RAIKOVA, S. V.; MASLIAKOVA, G. N.; BUCHARSKAIA, A. B.; DUMOVA, N. A.; SHUB, G. M. Anti-inflammatory, antipyretic and antimicrobial activity of flavonoid-containing extract of *Gratiola officinalis* L. **Ekspierimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya**, v. 78, n. 1, p. 34-38, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25826873/>. Acesso em: 16 out. 2024.
- RAJA, S. N.; CARR, D. B.; COHEN, M.; FINNERUP, N. B.; FLOR, H.; GIBSON, S.; ROCHA, L. P. B.; OLIVEIRA ALVES, J. V.; SILVA AGUIAR, I. F.; SILVA, F. H.; SILVA, R. L.; ARRUDA, L. G.; SILVA, M. V. Uso de plantas medicinais: Histórico e relevância. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, e44101018282-e44101018282, 2021.
- RUIZ-VELASCO-MARTÍNEZ, F.; GONZÁLEZ-TRUJANO, M. E.; CABAÑAS-GARCÍA, E.; YÁÑEZ-RECENDIS, N.; PÉREZ-MOLPHE-BALCH, E.; SÁNCHEZ-JARAMILLO, E.;

- GÓMEZ-AGUIRRE, Y. A. Antinociceptive activity of *Pereskia sacharosa* Griseb. (Cactaceae) and localization of bioactive compounds in mice brain. **Phytomedicine Plus**, v. 2, n. 4, p. 100331, 2022.
- SANTOS, G. L. D. D.; LEMOS, E. L.; FERNANDES, A. F. C.; ROCHA, W. R. V. D.; CATÃO, R. M. R.; BRAZ FILHO, R.; ALVES, H. D. S. Phytochemical study of *Harrisia adscendens*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, n. 3, p. 298-302, 2018.
- SIDDIQUI, F.; NAQVI, S.; ABIDI, L.; FAIZI, S.; AVESI, L.; MIRZA, T.; FAROOQ, A. D. *Opuntia dillenii* cladode: Opuntiol and opuntioside attenuated cytokines and eicosanoids mediated inflammation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 182, p. 221-234, 2016.
- SILVA, J. M. A Praça Euclides da Cunha, a paisagem sertaneja materializada em um jardim histórico moderno patrimônio cultural do Brasil. **Patrimônio e Memória**, v. 14, n. 1, p. 126-150, 2018.
- SINGH, P. P.; JUNNARKAR, A. Y.; RAO, C. S.; VARMA, R. K.; SHRIDHAR, D. R. Acetic acid and phenylquinone writhing test: a critical study in mice. **Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology**, v. 5, n. 9, p. 601-606, 1983.
- SOUZA, K. B. R.; CASAIS, L. L.; AGUIAR, M. C. O modelo de dor inflamatória induzida pela carragenina como estratégia para avaliar a ação de drogas sobre a dor miofascial. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 19, n. 3, p. 507-513, 2020.
- THOMÉ, R. G.; SANTOS, H. B. D.; SANTOS, F. V. D.; OLIVEIRA, R. J. D. S.; DE CAMARGOS, L. F.; PEREIRA, M. N.; RIBEIRO, R. I. M. A. Evaluation of healing wound and genotoxicity potentials from extracts hydroalcoholic of *Plantago major* and *Siparuna guianensis*. **Experimental Biology and Medicine**, v. 237, n. 12, p. 1379-1386, 2012.
- TIAN, Z.; JIA, H.; JIN, Y.; WANG, M.; KOU, J.; WANG, C.; RONG, X.; XIE, X.; HAN, G.; PANG, X. Chrysanthemum extract attenuates hepatotoxicity via inhibiting oxidative stress in vivo and in vitro. **Food & Nutrition Research**, v. 63, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.29219/fnr.v63.1667>. Acesso em: 16 out. 2024.
- TJØLSEN, A.; LUND, A.; BERGE, O. G.; HOLE, K. An improved method for tail-flick testing with adjustment for tail-skin temperature. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 26, n. 3, p. 259-265, 1989.
- TORRES, C. A.; ZAMORA, C. M. P.; NUÑEZ, M. B.; GONZALEZ, A. M. Ethnobotanical uses and potential pharmaceutical applications of the Cactaceae family. In: **Ethnobotany**. CRC Press, 2023, p. 63-99.

VAN DE VYVER, M.; ENGELBRECHT, L.; SMITH, C.; MYBURGH, K. H. Neutrophil and monocyte responses to downhill running: Intracellular contents of MPO, IL-6, IL-10, pstat3, and SOCS 3. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 26, n. 6, p. 638-647, 2016.

VOLTARELLI, J. C. Febre e inflamação. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 27, n. 1/2, p. 7-48, 1994.

WILHELMS, D. B.; KIRILOV, M.; MIRRASEKHIAN, E.; ESKILSSON, A.; KUGELBERG, U. Ö.; KLAR, C.; ENGBLOM, D. Deletion of prostaglandin E2 synthesizing enzymes in brain endothelial cells attenuates inflammatory fever. **Journal of Neuroscience**, v. 34, n. 35, p. 11684-11690, 2014.

YAMAMOTOVÁ, A. Endogenous antinociceptive system and potential ways to influence it. **Physiological Research**, v. 68, 2019.

ZIMMERMANN, H. G.; PÉREZ SANDI CUÉN, M. La amenaza de los piojos harineros *Hypogeococcus pungens* e *Hypogeococcus festerianus* (Hemiptera: Pseudococcidae) a las cactáceas mexicanas y del Caribe. **Cactáceas y Suculentas Mexicanas**, v. 66, n. 2, p. 36-45, 2021.

4.3. Artigo 3

Predição de atividades farmacológicas e de toxicidade de compostos presentes em extrato de *Harrisia adscendens* usando modelos *in silico*

Anderson Felipe Soares de Freitas¹, Suéllen Pedrosa da Silva¹, Patrícia Maria Guedes Paiva¹, Alisson Macário de Oliveira^{1,2}, Thiago Henrique Napoleão¹

¹*Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-420, Recife, Pernambuco, Brazil.*

²*Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual da Paraíba, 58429-500, Campina Grande, Paraíba, Brazil.*

RESUMO

O presente estudo avaliou o potencial bioativo do extrato hidroetanólico de *Harrisia adscendens* através de análises *in silico*, focando suas propriedades farmacológicas e perfis de segurança. Foram identificados 43 compostos por UPLC-MS, incluindo terpenoides, alcaloides e policetídeos. A ferramenta TEST (*Toxicity Estimation Software Tool*) avaliou a mutagenicidade, revelando que 5 compostos (11,6%) apresentaram potencial mutagênico, enquanto 88,4% foram considerados não-mutagênicos. A análise de LD50 pelo TEST classificou os compostos segundo o GHS, com um composto na categoria 1 (extremamente tóxico), dois na categoria 3 (toxicidade moderada), treze na categoria 4 (baixa toxicidade) e 26 na categoria 5 (não tóxicos). A análise *in silico* sugeriu atividades biológicas relevantes, como a inibição de CDP-glicerol glicerofosfotransferase, agonismo da integridade da membrana, inibição de fosfatases de açúcar e inibição da enzima hidrolase de alquenilglicerofosfocolina. Essas atividades sugerem um potencial para modular vias metabólicas críticas, com implicações para o tratamento de distúrbios metabólicos, neurodegenerativos e infecciosos. O perfil toxicológico favorável da maioria dos compostos, com baixa toxicidade, ausência de mutagenicidade e risco mínimo de efeitos adversos, reforçam o potencial do extrato de *H. adscendens* para desenvolvimento farmacológico futuro.

Palavras chaves: *Harrisia adscendens*, análise *in silico*, inibidor da CDP-glicerol glicerofosfotransferase, descoberta de medicamentos, distúrbios metabólicos.

INTRODUÇÃO

Desde tempos remotos, a natureza tem sido uma fonte essencial para o desenvolvimento e sobrevivência da humanidade, que ao longo dos milênios evoluiu para as sociedades contemporâneas. Essas comunidades utilizaram recursos naturais para construir abrigos, desenvolver meios de transporte e, fundamentalmente, cultivar plantas que pudessem nutrir suas populações. Com o avanço da agricultura, foi observado que muitas plantas, além de suas propriedades nutricionais, também possuíam características medicinais (Braga, 2011; Coelho, Melo e borges, 2023).

Atualmente, mais de 80% da população mundial utiliza medicamentos à base de plantas (Miraldi e Baini, 2018). A fitoterapia moderna foca na padronização de extratos de plantas para garantir eficácia e segurança. No entanto, a ausência de informações completas sobre a composição dos extratos e seus possíveis efeitos adversos continua sendo um desafio (Firenzuoli e Gori, 2007; Miraldi e Baini, 2018). O avanço da tecnologia em áreas como a farmacogenômica e a metabolômica está sendo empregado para avaliar as qualidades farmacológicas e a segurança dos fitoterápicos (Firenzuoli e Gori, 2007).

Na atualidade, estudos *in silico* de extratos de plantas têm se tornado cada vez mais importantes na descoberta de fármacos e na compreensão da atividade das plantas medicinais, oferecendo métodos eficientes e econômicos para a descoberta de fármacos além da redução do uso de animais de laboratório nas pesquisas (Yi et al., 2018). Essas técnicas computacionais incluem triagem virtual e análise de redes e ajudam a elucidar a base farmacológica das plantas medicinais, além de modelar interações moleculares com receptores celulares, podendo assim elucidar os mecanismos de ação dos compostos (Yi et al., 2018; Waghulde et al., 2018).

Pesquisas *in silico* já foram conduzidas com vários extratos de plantas para explorar seus potenciais compostos e atividades biológicas. Por exemplo, um estudo sobre o extrato de *Cistus parviflorus* revelou fortes efeitos antimicrobianos contra *Escherichia coli*, com compostos como ácido elágico e catequina mostrando afinidade de ligação ao DNA bacteriano (El-Shibani et al., 2023). Da mesma forma, Prasetyo, Martati e Saputra (2024) em sua pesquisa sobre *Andrographis paniculata* identificaram compostos como desoxi-11,12-didesidroandrografídeo e andrografisídeo como agentes anti-HIV por meio de docking molecular e análises dinâmicas. Além disso, a análise *in silico* do extrato de *Lactuca saligna*

destacou compostos como apigenina 7-O-glicuronídeo e quercetina-3-O-glicuronídeo como potenciais agentes antibacterianos (Bouymajane et al., 2024).

Harrisia adscendens (Gürke) Britton & Rose, nativa da Caatinga, é conhecida popularmente como "rabo de raposa". Essa planta tem uma importância significativa na medicina popular, com sua utilização em infusões contra amenorreia, bem como em aplicações como diurético, anti-inflamatório e alívio de dores de dente (Agra; Freitas; Barbosa-Filho, 2007; Andrade et al., 2006; Zappi et al., 2015). Apesar da sua relevância na medicina popular, observa-se uma lacuna de estudos científicos abordando suas propriedades biológicas, bem como a segurança de seu uso.

Visando as possibilidades fornecidas pelos estudos *in silico*, esse artigo teve como objetivo realizar uma avaliação *in silico* de propriedades farmacológicas e perfis de segurança dos compostos detectados através de UPLC-MS no extrato hidroetanólico de *Harrisia adscendens*.

METODOLOGIA

Material vegetal e preparação do extrato

A planta foi coletada na região de Santa Terezinha, Pernambuco, nas coordenadas 07°22'40" S e 37°28'48" W. O material botânico foi identificado e depositado no Herbário Dárdano de Andrade Lima – IPA, sob número de tombo 95231. O extrato hidroetanólico foi preparado a partir do pó obtido após a secagem dos cladódios. O processo de turbólise incluiu três ciclos de 30 s com intervalos de 4 min, com uma proporção de 10% (p/v) de droga vegetal, utilizando etanol:água 1:1 como solvente. Após a extração, o extrato foi seco usando um Mini Spray dryer LM MSDi 1.0 (LabMaq do Brasil, Ribeirão Preto, Brasil).

Perfil fitoquímico UPLC-MS/MS

O extrato seco foi solubilizado em metanol e transferido para tubos de 1,4 mL codificados (Micronic), os quais foram previamente pesados em balança calibrada. As amostras foram secas em Speedvac a 40°C. Após secagem, as massas foram aferidas na mesma balança previamente utilizada e solubilizadas em DMSO 99,5% (Sigma-Aldrich), para uma concentração de 10 mg/mL e transferidas para placas LDV (Beckman 12782 - 9 µL), seguindo

procedimento padronizado. As amostras foram armazenadas em atmosfera de nitrogênio à -20°C até o uso.

Parâmetros da análise UPLC-MS/MS

Foi realizado um método de cromatografia líquida (LC) para análise fitoquímica do extrato utilizando sistema UPLC Acquity HClass (Waters), equipado com coluna C18 BEH Acquity de 1,7 μm (2,1 x 100 mm, Waters), operando a um fluxo de 0,5 ml/min e uma temperatura de coluna de 40 °C. O gradiente de eluição foi programado da seguinte forma: 90% de água, 5% de acetonitrila (CH_3CN) e 5% de solução de ácido fórmico 2% (fase móvel inicial); aos 10 minutos, a concentração de CH_3CN foi aumentada para 95%, mantendo 5% da solução de ácido fórmico a 2% (curva 6); aos 12 minutos, a fase móvel foi alterada para 100% de CH_3CN (curva 1); e 3 minutos de recalibração na fase móvel inicial (totalizando 15 minutos). Após a separação cromatográfica, os analitos foram submetidos à análise de espectrometria de massa (MS/MS) utilizando um espectrômetro de massa tandem uhr-ESI-QqTOF Impact II (Bruker), operando no modo positivo. Os parâmetros foram configurados com uma taxa de aquisição de 8 Hz e um espectro em linha, com um limite absoluto de 25 contagens. Para a ionização, a fonte foi ajustada com os seguintes parâmetros: deslocamento de placa de extremidade de 500 V, voltagem de capilar de 4500 V, pressão de nebulização de 4 Bar para o gás de secagem N_2 , com fluxo de 10 l/min e uma temperatura de secagem de 200°C. Para calibração do espectrômetro, uma solução de formiato de sódio 10 mM foi utilizada, garantindo uma calibração precisa e confiável do instrumento para análise em alta resolução. Após a análise os dados brutos foram convertidos em mzXML no software do equipamento.

Parâmetros NP³ MS Workflow:

Os dados LC-MS/MS obtidos (mzXML) foram processados através do software NP³ MS Workflow (BAZZANO et al., 2024). A análise do NP³ MS Workflow anota estruturas químicas com base na correspondência dos espectros MS/MS com a base de dados de espectros in sílico UNPD-ISDB (ALLARD et al., 2016).

Descrição do fluxo de trabalho para obtenção das anotações dos espectros MS/MS em base de dados MS/MS experimentais:

Os espectros consenso gerados pelo NP³ MS Workflow foram pesquisados nas bibliotecas espectrais do GNPS (<https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/static/gnps-splash.jsp>). Os espectros da biblioteca foram filtrados removendo todos os íons de fragmentos MS/MS dentro de +/- 17 Da do precursor *m/z*. Os espectros MS/MS foram filtrados em janela escolhendo apenas os 6 principais íons de fragmentos na janela +/- 50 Da em todo o espectro. A tolerância à massa do íon precursor foi definida como 0,025 Da e uma tolerância ao íon do fragmento MS/MS de 0,025 Da. Todas as correspondências mantidas entre espectros consenso das amostras e os espectros da biblioteca GNPS, deveriam ter uma pontuação acima de 0,65 e pelo menos 6 picos correspondentes.

T.E.S.T

Estudos *in silico* foram realizados utilizando a ferramenta de software *Toxicity Estimation Software Tool* (TEST) (Versão 5.1.2), utilizando os SMILES (*Simplified Molecular Input Line Entry System*) dos compostos encontrados no LC/MS para avaliação da mutagenicidade e DL50.

SwissADME

O software SwissADME (www.swissadme.ch) do *Swiss Institute of Bioinformatics* (<http://www.sib.swiss>) foi utilizado para avaliar os compostos referente a sua solubilidade em água, absorção gastrointestinal, passagem na barreira hematoencefálica e ao metabolismo do citocromo p450.

PASSonline

Para avaliar as atividades biológicas dos compostos presentes no extrato de *Harrisia adscendens*, foi utilizada a ferramenta PASS Online (Prediction of Activity Spectra for Substances), acessível em <http://www.way2drug.com/PASSOnline/>. O PASS Online fornece duas probabilidades para cada atividade prevista: Pa (Probabilidade de ser ativo), que indica a probabilidade de o composto apresentar a atividade biológica específica, e Pi (Probabilidade de ser inativo), que indica a probabilidade de o composto não apresentar a atividade biológica específica. As atividades com maior Pa foram selecionadas para discussão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após avaliação do UPLC-MS/MS, foram identificados 43 compostos presentes no extrato, sendo 9 terpenoides, 8 alcaloides, 7 policetídeos, 5 chiquimatos e fenilpropanóides, 4 ácidos graxos, 4 carboidratos, 2 aminoácidos e peptídeos e 4 sem classificação definida.

Os compostos encontrados estão descritos na Tabela 1. Dentre eles, destacamos alguns deles. A prosopina é um alcaloide derivado de piperidina. O *aurantiamide acetate* é um derivado dipeptídico que já foi isolado de várias fontes, incluindo *Aspergillus penicilloides* (Isshiki et al., 2001), *Arisaema erubescens* (Ducki et al., 1996) e *Portulaca oleracea* (Jiang et al., 2018) e já foi relatado quanto a sua atividade na inibição seletiva de cisteína proteinases, particularmente catepsinas L e B, demonstrando propriedades anti-inflamatórias em modelos de artrite em ratos (Isshiki et al., 2001). *Sariotin F* é um composto encontrado no fungo *tenuipes* que já mostrou atividade antimalárica frente ao *Plasmodium falciparum* (Bunyapaiboonsri et al., 2009). *Mycoleptodiscin B* é um alcaloide isolado pela primeira vez de um fungo endófito, *Mycoleptodiscus* sp., que já demonstrou atividade anticâncer em diferentes linhagens celulares (Ortega et al., 2013). *Salaspermic acid* é um hormônio vegetal essencial para a defesa contra patógenos e estresses abióticos (Ding & Ding, 2020). *2,6-dihydroxy-4-methoxy-acetophenone 2-O-beta-rutinoside* faz parte do grupo das acetofenonas, que possui diversas atividades biológicas relacionadas, tais como atividades anti-inflamatórias e antitumorais (Cerutti et al., 2020). *Picrorhizin* é um composto encontrado na *Picrorhiza kurroa*, que é uma erva medicinal. Agarobiose é um dissacarídeo derivado da agarose, descrito como agente anticariogênico, particularmente contra a bactéria *Streptococcus mutans* (Yu et al., 2019, Kim et al., 2022).

Tabela 1. Perfil fitoquímico do extrato hidroetanólico de *Harrisia adscendens* por UPLC-ESI-MS.

Nº	MZCONSENSUS	RTMEAN	CHEMICAL NAMES	CLASSIFIER PATHWAY	MOLECULAR FORMULA
1	318,3005	457,393	2-aminooctadecane-1,3,4-triol	Fatty acids	C18H39NO3
2	324,2019	214,656	3-Methoxy-2-[(5-methyl-1-pentylpyrrol-2-yl)methylidene]-4-pyrrol-1-ylpyrrole	Alkaloids	C20H25N3O
3	316,2849	434,367	6-(11-hydroxy-dodecyl)-2-hydroxymethyl-piperidin-3-ol Prosopin	Alkaloids	C18H37NO3
4	445,2122	405,899	Aurantiamide acetate	Amino acids and Peptides	C27H28N2O4
5	310,3107	666,206	1-Hexadecanoylpyrrolidine	Fatty acids	C20H39NO
6	305,1596	111,835	creoside I	Terpenoids	C14H24O7
7	302,306	452,497	2-Aminooctadecane-3,4-diol	Fatty acids	C18H39NO2
8	411,1863	144,072	nonioside K	Terpenoids	C17H30O11
9	298,0971	118,839	5'-S-Methyl-5'-thioadenosine	Carbohydrates	C11H15N5O3S
10	621,308	687,035	3,4-dehydrocycleanine	Alkaloids	C38H40N2O6
11	413,2151	233,146	mukaadial 6-O-alpha-L-rhamnopyranoside Mukaadial 6-O-?-L-rhamnopyranoside	Terpenoids	C21H32O8
12	397,1705	123,789	1-beta-vicianosyl-(S)-2-methylbutyrate		C16H28O11
13	394,1712	55,5274	brevianamide L	Alkaloids	C22H23N3O4
14	278,1238	33,3312	3-hydroxyheteroendrin Nitrile,2-O-beta-D-glucopyranoside-(R)-2,3-Dihydroxy-3-methylbutanoic acid	Terpenoids	C11H19NO7
15	424,2545	187,561	sonneratine A	Alkaloids	C26H33NO4
16	593,2764	634,223	6,7-methanedioldioxy-6'-methoxy-2,2'-dimethyl-oxyacanthan-12'-ol Cepharanoline cepharanthine	Alkaloids	C36H36N2O6
17	414,1972	134,959	isariotin F	Alkaloids	C21H32ClNO5
18	266,1238	31,913	4-[[[(2R,3S,4R,5R)-2,3,4,5-tetrahydroxyoxan-2-yl]methylamino]butanoic acid	Carbohydrates	C10H19NO7
19	251,1608	28,3484	longipin-2-ene-7beta,9alpha-diol-1-one	Terpenoids	C15H22O3
20	345,1182	189,068	4'-Me ether,O-beta-D-glucopyranoside-2',4',6'-Trihydroxyacetophenone Pleoside	Polyketides	C15H20O9
21	387,2015	183,688	junipeionolosite	Terpenoids	C19H30O8
22	384,1867	142,807	2-methyl-4-(7(9)H-purin-9-ylamino)-butyl beta-D-glucopyranoside	Alkaloids	C16H25N5O6
23	293,2112	439,069	8-Hydroxyoctadeca-11,17-dien-9-ynoic acid	Fatty acids	C18H28O3
24	373,1134	110,989	1-O-[(E)-5-hydroxyferuloyl]-beta-glucopyranose	Shikimates and Phenylpropanoids	C16H20O10
25	344,1339	43,171	1-Deoxy-1-L-tyrosino-D-fructose	Amino acids and Peptides	C15H21NO8
26	507,2284	461,776	(2-Benzamido-3-phenylpropyl) 2-benzamido-3-phenylpropanoate		C32H30N2O4
27	368,2278	166,244	mycoleptodiscin B	Terpenoids	C23H29NO3
28	613,27	175,131	satratoxin H 12',13'-diacetate	Terpenoids	C33H40O11
29	474,1613	168,147	Lamellarin P lamellarin-P	Shikimates and Phenylpropanoids	C27H23NO7
30	353,0843	142,594	5-O-(3-chloro-2-hydroxy-3-methylbutyl)-8-methoxypsoralen	Shikimates and Phenylpropanoids	C17H17ClO6
31	477,1605	186,67	4-O-beta-D-apifuranosyl-(1->2)-beta-D-glucopyranosyl-2-hydroxy-6-methoxyacetophenone	Polyketides	C20H28O13
32	344,1342	139,828	2-[(4R,5S,6S)-5-hydroxy-4-methoxy-6-[(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxycyclohex-2-en-1-ylidene]acetonitrile		C15H21NO8
33	225,0758	219,696	2-Benzyl-2-hydroxybutanedioic acid	Shikimates and Phenylpropanoids	C11H12O5

34	473,3185	689,887	salaspermic acid	Terpenoids	C29H44O5
35	491,176	180,536	2,6-dihydroxy-4-methoxy-acetophenone 2-O-beta-rutinoside	Polyketides	C21H30O13
36	493,1554	109,741	Picrorhizin		C20H28O14
37	507,1709	161,931	Echisoside Hyrcanoside	Polyketides	C21H30O14
38	342,14	44,2795	4-amino-4-deoxy-alpha-D-glucopyranosyl alpha-D-glucopyranoside 4-Trehalosamin	Carbohydrates	C12H23NO10
39	489,1604	223,528	(3S)-3-hydroxy-3-methyl-5-oxo-5-[[[(2R,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-(2-methoxy-4-methoxycarbonylphenoxy)oxan-2-yl]methoxy]pentanoic acid	Shikimates and Phenylpropanoids	C21H28O13
40	477,1604	173,992	2,4-dihydroxy-6-methoxyacetophenone 4-O-beta-D-apiofuranosyl-(1->6)-beta-D-glucopyranoside erythroxyloside A	Polyketides	C20H28O13
41	325,1131	160,841	Agarobiose	Carbohydrates	C12H20O10
42	328,249	448,439	curvularide B	Polyketides	C18H33NO4
43	477,1596	165,62	1-[4-[4,5-Dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-(3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxyoxan-2-yl]oxy-2,6-dihydroxyphenyl]ethanone	Polyketides	C20H28O13

O avanço das metodologias experimentais *in vivo* e *in vitro*, aliado ao aumento dos estudos toxicológicos, resultou na criação de extensos bancos de dados que fornecem informações detalhadas sobre a toxicidade de uma ampla variedade de substâncias químicas. Nesse cenário, modelos computacionais para a predição da toxicidade de compostos químicos têm se mostrado extremamente promissores, contribuindo significativamente para a análise de risco e segurança de produtos químicos já existentes, além de desempenharem um papel fundamental no desenvolvimento e descoberta de novos produtos voltados ao consumo humano (Guerra et al., 2017).

O T.E.S.T é uma aplicação de código aberto desenvolvida pela Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA). O software engloba diversos modelos que avaliam os limiares de toxicidade aguda e mutagenicidade por meio de leitura cruzada de análogos estruturais ou regressão multivariada. Os modelos são construídos com base em centenas de descritores de propriedades estruturais, constitucionais, de conectividade, forma, topológicas, de distância molecular, fragmentos e eletrotológicas. O software TEST tem como banco de dados o EPA ECOTOX (US EPA 2022). Cada modelo de leitura cruzada ou regressão possui um domínio de aplicabilidade específico. O software oferece um limiar de LD₅₀ estimado com base em cada predição do modelo e uma média de consenso dos diferentes modelos de avaliação presente.

Após a avaliação da mutagenicidade dos compostos (Figura 1), foi possível observar que, dos 43 compostos apenas 5 (2, 9, 10, 16 e 17) mostraram-se como potenciais mutagênicos, assim 88,4% dos compostos foram considerados não mutagênicos. O composto 17 possui relato de citotoxicidade contra células cancerígenas KB, BC e NCI-H187 (Bunyapaiboonsri et al., 2009).

Já avaliando a LD₅₀ obtida pelo software (Figura 2), obtivemos 1 composto considerado como categoria 1 (composto 28), extremamente tóxico, 2 como categoria 3, toxicidade moderada (compostos 11 e 26), 13 considerados da categoria 4, baixa toxicidade (2, 4, 10, 13, 14, 15, 17, 23, 27, 29, 33, 34, 42), e 26 da categoria 5, não tóxicos, 1 composto o software não conseguiu realizar o cálculo da LD₅₀, a categorização seguiu a *Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals* (GHS) (United Nations, 2015).

O composto 28, identificado como satratoxin H 12',13'-diacetate, apresentou a maior toxicidade entre os analisados. Este composto também é encontrado no cogumelo tóxico *Podostroma cornu-damae* (Hypocreaceae), conhecido por causar intoxicações severas, incluindo mortes. Estudos relatam a presença de satratoxin H 12',13'-diacetate em tecidos de vítimas fatais na coreia do sul (Choe et al., 2018). Além disso, Wannemacher et al., (1997) definiu a DL50 da satratoxin H em camundongos via I.P em 1 mg/kg, corroborando com os

valores encontrados no presente estudo. Referente aos compostos da categoria 3 (11 e 26), não foram encontrados relatos sobre sua toxicidade na literatura.

Figura 1. Mutagenicidade obtida pelo software T.E.S.T

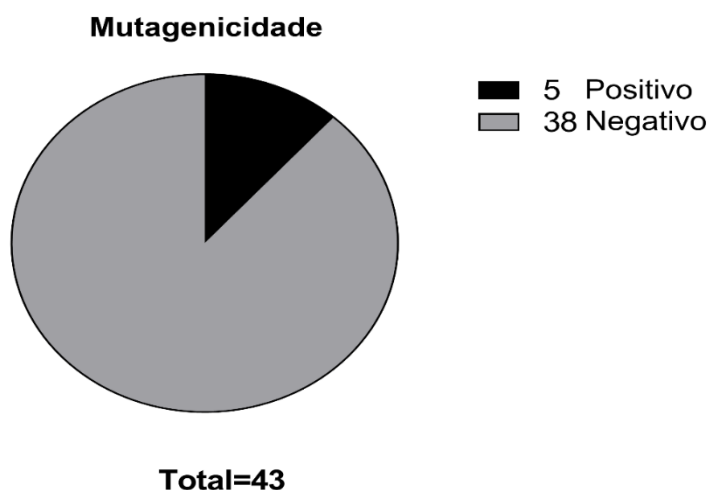
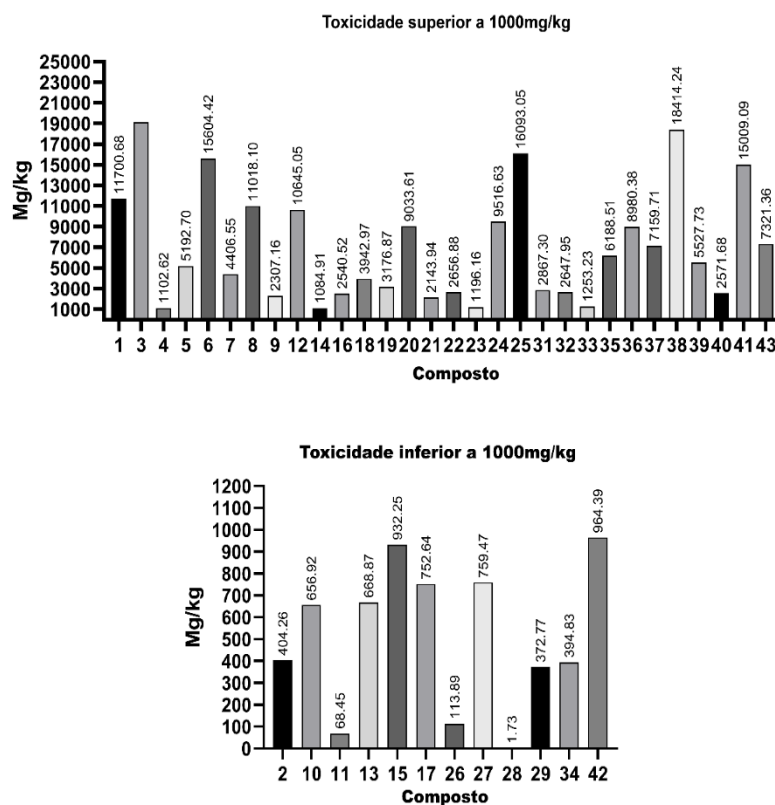


Figura 2. Valores da LD₅₀ em ratos obtidas pelo software T.E.S.T



Em conjunto, as análises de toxicidade *in silico* sugerem que o extrato de *Harrisia adscendens* apresenta baixo potencial tóxico *in vitro* e *in vivo*, indicando um perfil de segurança promissor. De maneira geral, as cactáceas são consideradas plantas de baixa toxicidade, como por exemplo a *Pilosocereus gounellei*, cujo extrato salino administrado por 28 dias em doses diárias de até 1000 mg/kg não causou alterações bioquímicas e hematológicas nos animais (Oliveira et al., 2019). Tavares et al. (2023) mostraram que extrato etanólico de *Nopalea cochenillifera* não causou toxicidade aguda nos animais testados em doses até 2000 mg/kg.

Seguindo as análises, foi realizada a avaliação da solubilidade em água, absorção pelo trato gastrointestinal, passagem na barreira hematoencefálica e metabolismo pelo sistema citocromo P450, utilizando a webtool SwissADME. Os resultados obtidos estão demonstrados na Tabela 2.

Dos 43 compostos avaliados, 8 foram considerados pouco solúveis em água (1,5,7, 10,16,26,29,34), 9 foram considerados com uma solubilidade moderada (3, 4, 13, 15, 17, 23, 27, 28, 30), 10 compostos foram solúveis (2, 9, 11, 22, 24, 31, 33, 39, 42, 43), 11 compostos classificados como muito solúveis (6, 8, 12, 19, 20, 21, 25, 35, 36, 37, 40) e 5 como altamente solúveis (14, 18, 32, 38, 41). A solubilidade em água é um fator crucial para a eficácia de compostos bioativos, influenciando diretamente sua biodisponibilidade e, consequentemente, sua atividade biológica e impacto ambiental. No desenvolvimento de medicamentos, a solubilidade aquosa é essencial para a absorção oral, influenciando a biodisponibilidade, a biotransformação e a excreção dos fármacos (Ganesan e Barakat 2017). Em aplicações ambientais, a solubilidade determina a distribuição e o potencial tóxico de compostos bioativos, impactando diretamente o meio ambiente (Delgado et al., 2022).

Tabela 2. Avaliação da solubilidade em água, absorção gastrointestinal (GI abs), permeabilidade da barreira hematoencefálica (BBB perm) e inibição das enzimas citocromo P450 (CYP), realizado pela webtool swissADME.

Molécula	Solubilidade em água	GI abs	BBB perm	CYP1A2 inb	CYP2C19 inb	CYP2C9 inb	CYP2D6 inb	CYP3A4 inb
1	Poorly soluble	High	No	No	No	No	Yes	No
2	Soluble	High	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes
3	Moderately soluble	High	Yes	No	No	No	Yes	No
4	Moderately soluble	High	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes
5	Poorly soluble	High	Yes	Yes	No	No	No	No
6	Very soluble	High	No	No	No	No	No	No
7	Poorly soluble	High	Yes	No	No	No	Yes	No

8	Very soluble	Low	No	No	No	No	No	No
9	Soluble	Low	No	No	No	No	No	No
10	Poorly soluble	High	No	No	No	No	No	No
11	Soluble	High	No	No	No	No	No	No
12	Very soluble	Low	No	No	No	No	No	No
13	Moderately soluble	High	No	No	Yes	Yes	No	No
14	Highly soluble	Low	No	No	No	No	No	No
15	Moderately soluble	High	Yes	No	No	No	Yes	Yes
16	Poorly soluble	High	No	No	No	No	No	No
17	Moderately soluble	High	No	No	No	No	Yes	Yes
18	Highly soluble	Low	No	No	No	No	No	No
19	Very soluble	High	Yes	No	No	No	No	No
20	Very soluble	Low	No	No	No	No	No	No
21	Very soluble	Low	No	No	No	No	No	No
22	Soluble	Low	No	No	No	No	No	No
23	Moderately soluble	High	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No
24	Soluble	Low	No	No	No	No	No	No
25	Very soluble	Low	No	No	No	No	No	No
26	Poorly soluble	High	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes
27	Moderately soluble	High	Yes	No	No	Yes	No	Yes
28	Moderately soluble	Low	No	No	No	No	No	No
29	Poorly soluble	High	No	No	Yes	Yes	No	No
30	Moderately soluble	High	No	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
31	Soluble	Low	No	No	No	No	No	No
32	Highly soluble	Low	No	No	No	No	No	No
33	Soluble	High	No	No	No	No	No	No
34	Poorly soluble	High	No	No	No	No	No	No
35	Very soluble	Low	No	No	No	No	No	No
36	Very soluble	Low	No	No	No	No	No	No
37	Very soluble	Low	No	No	No	No	No	No
38	Highly soluble	Low	No	No	No	No	No	No
39	Soluble	Low	No	No	No	No	No	No
40	Very soluble	Low	No	No	No	No	No	No
41	Highly soluble	Low	No	No	No	No	No	No
42	Soluble	High	No	No	No	No	No	No
43	Soluble	Low	No	No	No	No	No	No

No caso dos compostos analisados, aqueles com boa solubilidade, como 2, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 19, 23, 27, 29, 33, 42, demonstraram alta absorção GI, o que é indicativo de uma boa capacidade de atravessar a mucosa intestinal e ser absorvido na corrente sanguínea. Essa

característica é particularmente relevante, pois a absorção oral é a via preferencial para muitos pacientes (Elgendy, Adejare, 2024). A absorção gastrointestinal é um fator determinante na biodisponibilidade dos compostos e, conseqüentemente, em sua eficácia terapêutica. A eficácia de um fármaco depende de sua capacidade de ser absorvido pelas células intestinais e de alcançar concentrações terapêuticas adequadas no organismo (Moura, Reyes, 2002). A solubilidade e as propriedades físico-químicas dos compostos são fatores críticos que influenciam a absorção GI, como discutido por Sheng et al. (2024), que apontam que compostos com alta lipofilicidade, menor número de doadores de ligações de hidrogênio e menor volume molecular geralmente apresentam melhores taxas de absorção devido às interações mais favoráveis com as membranas intestinais.

Por outro lado, compostos com solubilidade moderada ou baixa, como 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 17, 18, 20, 21, 22, 24, 25, 28, 30, 31, 32, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 43, tendem a ter uma absorção GI mais restrita, o que pode dificultar a obtenção de concentrações terapêuticas adequadas quando administrados por via oral. Esses compostos podem necessitar de estratégias formulativas específicas, como o uso de excipientes que aumentem sua solubilidade, ou até de vias alternativas de administração, para garantir uma absorção adequada e minimizar potenciais falhas terapêuticas (Mikovski et al., 2019).

A barreira hematoencefálica (BBB) representa um dos maiores desafios no desenvolvimento de medicamentos para o sistema nervoso central (SNC) devido à sua permeabilidade seletiva, que restringe a passagem de muitas substâncias (Gecioni Loch-Neckel, Janice Koepp, 2010). Compreender os fatores que influenciam essa permeabilidade é fundamental para o desenvolvimento de tratamentos eficazes para doenças do SNC e para evitar efeitos colaterais em medicamentos não destinados ao cérebro (Carpenter et al., 2014).

Os compostos que demonstraram alta permeabilidade à BBB, como 2, 3, 5, 7, 19, 23, 27, apresentam uma lipofilicidade favorável, o que facilita sua passagem por difusão passiva através das junções apertadas entre as células endoteliais que formam a BBB. A lipofilicidade é um dos principais determinantes da capacidade de difusão passiva através da BBB, como apontado por Fong (2015), que destaca que compostos com maior lipofilicidade e menor tamanho molecular geralmente têm uma maior probabilidade de atravessar a barreira. Essa característica é particularmente importante para o desenvolvimento de medicamentos destinados a tratar doenças neurológicas, uma vez que a capacidade de atingir o SNC é essencial para a eficácia terapêutica.

Entretanto, para compostos como 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 21, 22, 24, 25, 28, 29, 30, 31, 32, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 43, que possuem baixa ou moderada lipofilicidade, a

capacidade de atravessar a BBB pode ser limitada, uma vez que esses compostos podem não ser suficientemente lipofílicos para atravessar as junções apertadas entre as células endoteliais por difusão passiva. Além disso, compostos com maior tamanho molecular podem enfrentar dificuldades adicionais em atravessar a barreira. A modulação da lipofilicidade e o uso de sistemas de transporte especializados, como transportadores mediadores ou transcitoses mediadas por receptores, podem ser necessários para otimizar a permeabilidade à BBB desses compostos (Vilar et al., 2010; Fong, 2015).

A atividade das enzimas do citocromo P450 (CYP450) é fundamental no metabolismo de medicamentos e na detoxificação de xenobióticos (Gueguen et al., 2006; Iacopetta et al., 2023). Essas enzimas, particularmente as isoformas CYP3A4 e CYP2D6, são responsáveis pelo metabolismo de cerca de 90% dos fármacos, e sua atividade pode ser influenciada por polimorfismos genéticos, resultando em variações na resposta aos medicamentos (Lynch e Price, 2007). Além disso, as enzimas CYP são reguladas principalmente a nível transcricional por receptores nucleares e podem ser moduladas por substâncias endógenas e exógenas (Gueguen et al., 2006). A interação entre fármacos e CYP450 pode causar reações adversas ou falhas terapêuticas, o que destaca a importância de entender as possíveis interações medicamentosas para otimizar tratamentos (Lynch e Price, 2007).

As isoformas CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 e CYP3A4 são particularmente relevantes para o metabolismo de uma grande variedade de fármacos e substâncias xenobióticas (Tornio e Backman, 2018). A inibição dessas enzimas pode levar a interações medicamentosas graves, alterando a farmacocinética e farmacodinâmica de terapias em andamento. Por exemplo, ritonavir, um inibidor conhecido do CYP3A4, pode aumentar a eficácia de outros fármacos antirretrovirais ao reduzir o metabolismo desses compostos (Foti, 2023).

A análise dos dados *in silico*, que mostram a inibição de várias isoformas do CYP450 por 43 moléculas diferentes, permite uma avaliação crítica do risco de interações medicamentosas. Moléculas como as 6, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 18, 19, 21, 22, 24, 25, 28, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42 e 43 não apresentaram inibição significativa de nenhuma das cinco isoformas do CYP450, o que lhes confere um perfil metabólico favorável. Esse perfil minimiza o risco de interações medicamentosas, o que é desejável para a segurança terapêutica. No entanto, como afirmado por Gueguen et al. (2006) e Iacopetta et al. (2023), a ausência de inibição *in silico* não garante que não ocorram interações em contextos fisiológicos, o que enfatiza a importância de estudos adicionais, incluindo ensaios *in vivo*, para confirmar esses resultados.

A inibição seletiva de enzimas específicas, como o CYP2D6, observada nas moléculas 3, 7, 15 e 17, pode causar um aumento significativo na concentração plasmática de fármacos metabolizados por essa isoforma, como antidepressivos, antipsicóticos e analgésicos. A inibição do CYP2D6 pode levar a efeitos adversos graves, como toxicidade ou falhas terapêuticas (Lynch e Price, 2007). Nesse caso, a coadministração dessas moléculas com substratos do CYP2D6 requer monitoramento cuidadoso.

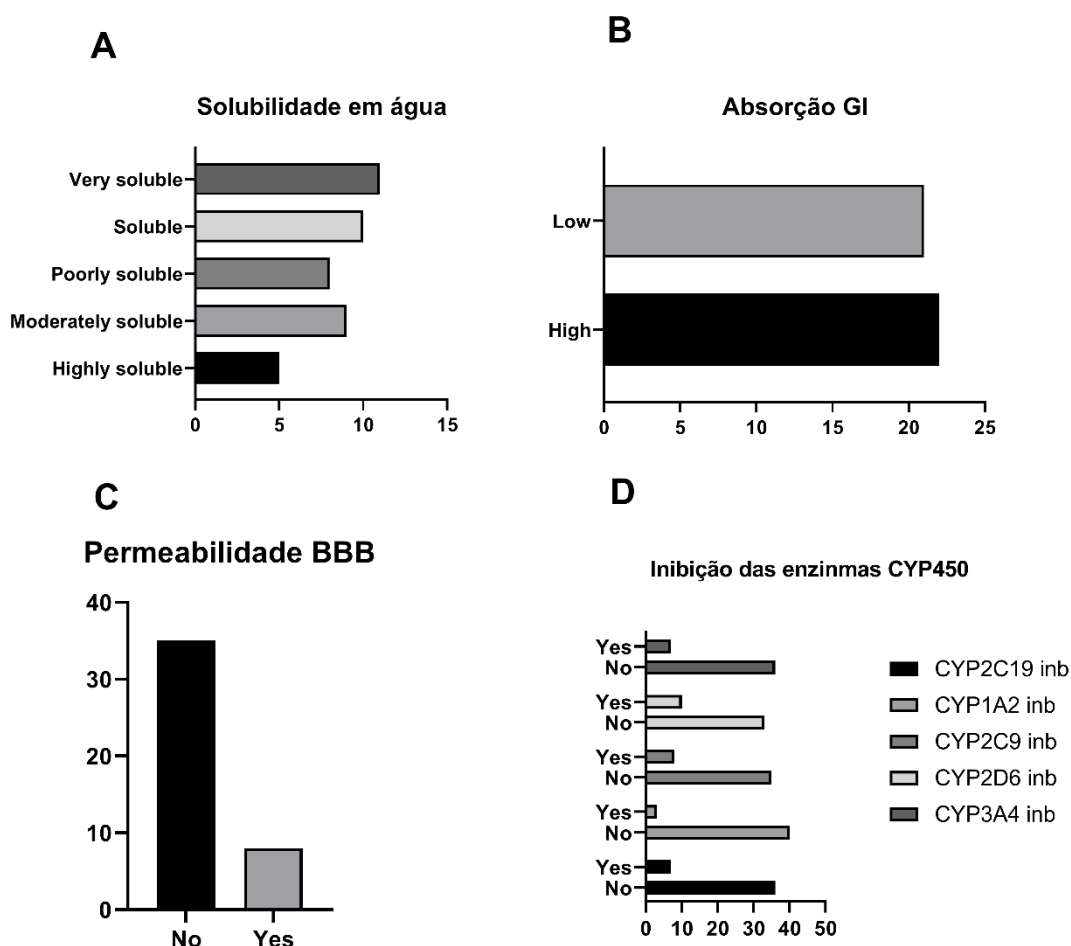
Moléculas como as 4, 13, 26 e 29, que inibem as isoformas CYP2C19 e CYP2C9, apresentam um perfil de risco moderado, uma vez que essas isoformas são responsáveis pelo metabolismo de uma variedade de fármacos, incluindo anticoagulantes, anticonvulsivantes e hipoglicemiantes (Tornio e Backman, 2018). A inibição simultânea dessas duas isoformas aumenta o risco de interações medicamentosas e exige uma avaliação cuidadosa do perfil de segurança. A determinação dos valores de IC_{50} para cada isoforma seria fundamental para quantificar o risco e fornecer uma orientação mais precisa sobre o uso clínico dessas moléculas, conforme destacado por Iacopetta et al. (2023) e Foti (2023).

A inibição de múltiplas isoformas, observada nas moléculas 2, 4, 23, 26 e 30, sugere um alto potencial para interações medicamentosas (Gueguen et al., 2006; Foti, 2023). A molécula 2 inibe CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 e CYP3A4, enquanto a molécula 4 inibe CYP2C19, CYP2C9 e CYP3A4. A molécula 26 inibe CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 e CYP3A4, e a molécula 30 inibe todas as cinco isoformas testadas. Esse perfil de inibição ampla pode levar a uma modificação significativa no metabolismo de outros medicamentos, aumentando o risco de interações medicamentosas e potencializando os efeitos adversos (Lynch e Price, 2007). A molécula 23 apresenta um perfil de inibição semelhante ao da molécula 30, exceto pela ausência de inibição do CYP3A4. O uso dessas moléculas deve ser cuidadosamente monitorado, especialmente quando administradas concomitantemente com outros fármacos, como ressaltado por Foti (2023).

Por fim, as moléculas 5, 23 e 30, que inibem a isoforma CYP1A2, têm um perfil que, embora menos comum, ainda pode causar interações medicamentosas clinicamente significativas, dependendo dos fármacos coadministrados. A inibição do CYP1A2, embora menos frequente do que a de outras isoformas, pode ser relevante para o metabolismo de alguns medicamentos e xenobióticos, exigindo atenção para a possível modulação de sua atividade (Paixão et al., 2016).

A **Figura 3** traz um resumo dos principais parâmetros preditivos obtidos *in silico* para os compostos selecionados do extrato, incluindo solubilidade em água, absorção gastrointestinal, permeabilidade à barreira hematoencefálica (BBB) e potencial de inibição das enzimas CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 e CYP3A4. Os dados apresentados sintetizam os resultados discutidos ao longo do texto, reforçando a predominância de compostos com boa absorção oral e baixo risco de interações medicamentosas.

Figura 3. (A) Representação gráfica da classificação da solubilidade em água dos compostos, (B) predição da absorção gastrointestinal, (C) permeabilidade à barreira hematoencefálica, (D) inibição prevista das principais isoformas do citocromo P450: CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 e CYP3A4.



Seguindo o estudo, foram avaliadas possíveis atividades biológicas dos compostos (Tabela 3). A atividade mais repetida foi a inibição do CDP-glicerol glicerofosfotransferase, identificada nos compostos 11, 20, 22, 32, 35, 37, 39, 41 e 43. A inibição dessa enzima está associada à modulação de processos de biossíntese lipídica, indicando seu papel fundamental na regulação da integridade da membrana celular e no metabolismo lipídico (Tang et al., 1979; Imoto et al., 1992). Esses efeitos podem ter implicações terapêuticas em condições como

dislipidemias ou outras doenças metabólicas, sendo um alvo promissor para o desenvolvimento de tratamentos direcionados (Baba et al., 1999)

Tabela 3. Avaliação da possibilidade de atividade (P.A), possibilidade de inatividade (P.I), e atividade biológica dos compostos pela webtool PASSonline

	P.A	P.I	ATIVIDADE	P.A	P.I	ATIVIDADE	P.A	P.I	ATIVIDADE
1	0,977	0,000	Lactase inhibitor	0,972	0,001	Sphinganine kinase inhibitor	0,966	0,001	Mycothioliol-S-conjugate amidase inhibitor
2	0,57	0,016	Lactase inhibitor	0,544	0,009	CDP-diacylglycerol-serine O-phosphatidyltransferase inhibitor	0,512	0,019	Mycothioliol-S-conjugate amidase inhibitor
3	0,9	0,002	Beta-mannosidase inhibitor	0,757	0,046	CYP2C12 substrate	0,722	0,013	Immunostimulant
4	0,91	0,001	Lactase inhibitor	0,875	0,002	Mycothioliol-S-conjugate amidase inhibitor	0,814	0,001	CDP-diacylglycerol-serine O-phosphatidyltransferase inhibitor
5	0,91	0,002	Acetylesterase inhibitor	0,866	0,005	Alkylacetylgllycerophosphatase inhibitor	0,841	0,003	Gluconate 5-dehydrogenase inhibitor
6	0,97	0,002	Alkenylglycerophosphocholine hydrolase inhibitor	0,955	0,002	Sugar-phosphatase inhibitor	0,951	0,003	Benzoate-CoA ligase inhibitor
7	0,97	0,000	Mycothioliol-S-conjugate amidase inhibitor	0,946	0,002	Acylcamitine hydrolase inhibitor	0,942	0,003	Sphinganine kinase inhibitor
8	0,97	0,001	Alkenylglycerophosphocholine hydrolase inhibitor	0,961	0,002	Sugar-phosphatase inhibitor	0,959	0,002	G-protein-coupled receptor kinase inhibitor
9	0,98	0,001	Methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH) inhibitor	0,975	0,001	Lysine 2,3-aminomutase inhibitor	0,961	0,002	Nucleotide metabolism regulator
10	0,86	0,002	Histamine release stimulant	0,855	0,002	Oxygen scavenger	0,780	0,016	5 Hydroxytryptamine release stimulant
11	0,98	0,001	CDP-glycerol glycerophosphotransferase inhibitor	0,920	0,001	Aspartyltransferase inhibitor	0,905	0,005	Antineoplastic
12	0,94	0,003	Alkenylglycerophosphocholine hydrolase inhibitor	0,932	0,003	Antihypercholesterolemic	0,929	0,003	Sugar-phosphatase inhibitor
13	0,45	0,014	RNA directed DNA polymerase inhibitor	0,428	0,045	HMGCS2 expression enhancer	0,466	0,134	Phosphatase inhibitor
14	0,96	0,002	Sugar-phosphatase inhibitor	0,955	0,002	Alkenylglycerophosphocholine hydrolase inhibitor	0,947	0,003	Benzoate-CoA ligase inhibitor
15	0,86	0,009	5 Hydroxytryptamine release stimulant	0,796	0,017	Gluconate 2-dehydrogenase (acceptor) inhibitor	0,781	0,039	Aspulvinone dimethylallyltransferase inhibitor
16	0,97	0,003	Spasmolytic	0,933	0,001	Leukopoiesis stimulant	0,904	0,002	Muscle relaxant
17	0,66	0,033	Antineoplastic	0,596	0,009	Gestagen antagonist	0,613	0,046	TP53 expression enhancer
18	0,91	0,003	Exoribonuclease II inhibitor	0,888	0,005	G-protein-coupled receptor kinase inhibitor	0,888	0,005	Beta-adrenergic receptor kinase inhibitor
19	0,91	0,005	Testosterone 17beta-dehydrogenase (NADP+) inhibitor	0,891	0,005	Antineoplastic	0,883	0,006	CYP2J substrate

20	0,96	0,001	3-Phytase inhibitor	0,961	0,003	Membrane integrity agonist	0,953	0,003	CDP-glycerol glycerophosphotransferase inhibitor
21	0,93	0,002	Vasoprotector	0,890	0,006	Benzoate-CoA ligase inhibitor	0,887	0,006	Alkenylglycerophosphocholine hydrolase inhibitor
22	0,93	0,003	Benzoate-CoA ligase inhibitor	0,875	0,014	CDP-glycerol glycerophosphotransferase inhibitor	0,758	0,010	Immunosuppressant
23	0,91	0,004	Antieczematic	0,871	0,004	GST A substrate	0,872	0,006	G-protein-coupled receptor kinase inhibitor
24	0,96	0,001	Free radical scavenger	0,954	0,003	Membrane integrity agonist	0,942	0,002	Lipid peroxidase inhibitor
25	0,89	0,013	Membrane integrity agonist	0,864	0,004	Fucosterol-epoxide lyase inhibitor	0,860	0,004	Levanase inhibitor
26	0,88	0,009	Polyporopepsin inhibitor	0,864	0,013	Phobic disorders treatment	0,843	0,013	Methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH) inhibitor
27	0,86	0,007	Gluconate 2-dehydrogenase (acceptor) inhibitor	0,738	0,043	Testosterone 17beta- dehydrogenase (NADP+) inhibitor	0,726	0,042	CYP2J substrate
28	0,96	0,004	Antineoplastic	0,947	0,002	Antineoplastic (non-small cell lung cancer)	0,943	0,002	Cytostatic
29	0,71	0,037	Chlordecone reductase inhibitor	0,690	0,067	Aspulvinone dimethylallyltransferase inhibitor	0,621	0,020	General pump inhibitor
30	0,86	0,004	CYP2A6 substrate	0,845	0,005	CYP2A substrate	0,800	0,004	CYP2A11 substrate
31	0,98	0,002	Caspase 3 stimulant	0,930	0,001	Transcription factor stimulant	0,930	0,001	Transcription factor NF kappa B stimulant
32	0,95	0,004	CDP-glycerol glycerophosphotransferase inhibitor	0,923	0,003	Spasmolytic, urinary	0,923	0,003	Sugar-phosphatase inhibitor
33	0,94	0,002	3-Phytase inhibitor	0,942	0,003	Monodehydroascorbate reductase (NADH) inhibitor	0,935	0,002	DNA-(apurinic or apyrimidinic site) lyase inhibitor
34	0,89	0,005	Antineoplastic	0,815	0,015	CYP2H substrate	0,813	0,022	Testosterone 17beta- dehydrogenase (NADP+) inhibitor
35	0,96	0,002	Membrane permeability inhibitor	0,945	0,004	CDP-glycerol glycerophosphotransferase inhibitor	0,943	0,004	Membrane integrity agonist
36	0,96	0,003	Antiinfective	0,961	0,002	Alkenylglycerophosphocholine hydrolase inhibitor	0,955	0,002	Sugar-phosphatase inhibitor
37	0,95	0,004	CDP-glycerol glycerophosphotransferase inhibitor	0,944	0,004	Membrane integrity agonist	0,941	0,002	3-Phytase inhibitor
38	0,98	0,001	UDP-N-acetylglucosamine 4- epimerase inhibitor	0,970	0,001	Beta-mannosidase inhibitor	0,970	0,002	CDP-glycerol glycerophosphotransferase inhibitor
39	0,96	0,002	Antihypercholesterolemic	0,948	0,002	Membrane permeability inhibitor	0,938	0,004	Membrane integrity agonist
40	0,97	0,002	Caspase 3 stimulant	0,919	0,001	Transcription factor NF kappa B stimulant	0,919	0,001	Transcription factor stimulant

41	0,96	0,003	CDP-glycerol glycerophosphotransferase inhibitor	0,953	0,002	Sugar-phosphatase inhibitor	0,951	0,002	Glucan endo-1,3-beta-D- glucosidase inhibitor
42	0,72	0,040	Acrocyllindropepsin inhibitor	0,716	0,040	Saccharopepsin inhibitor	0,716	0,040	Chymosin inhibitor
43	0,96	0,003	CDP-glycerol glycerophosphotransferase inhibitor	0,955	0,003	Membrane integrity agonist	0,949	0,001	3-+D17:J45Phytase inhibitor

A segunda atividade mais observada foi o agonismo da integridade da membrana, identificado nos compostos 6, 20, 24, 37 e 39. A integridade da membrana celular desempenha um papel essencial na regulação de processos fisiológicos, como a troca de íons e nutrientes, além de proteger as células contra danos induzidos por estresse oxidativo, conforme demonstrado por estudos anteriores (Sailakshmi et al., 2023; Celik et al., 2013). Além disso, esses compostos podem ter aplicações terapêuticas significativas, como na proteção celular ou no aumento da permeabilidade das membranas biológicas, particularmente em tratamentos que envolvem a entrega de medicamentos, como observado em estudos sobre sistemas de liberação controlada (Wang et al., 2021).

A terceira atividade mais frequente observada foi a inibição de fosfatase de açúcar, identificada nos compostos 6, 8, 12, 32 e 36. Essa atividade está relacionada ao controle de vias metabólicas que regulam a homeostase de açúcares e nucleotídeos (Bokor, 2019; Gaboriaud-Kolar e Skaltsounis, 2013). A inibição dessas fosfatases pode afetar diretamente o metabolismo de carboidratos, desempenhando um papel crucial no controle da glicemia e, assim, apresentando implicações terapêuticas significativas em condições como o diabetes, onde o controle de metabolismo glicêmico é essencial para o manejo da doença (Spasov et al., 2016; Harvey et al., 2017).

Uma quarta atividade que se destacou foi a inibição da hidrolase de alquenilglicerofosfocolina, observada nos compostos 6, 8, 12, 14, 21, 22, 25 e 36. Essa enzima, também conhecida como lisoplasmalogenase, desempenha um papel crucial na degradação de lisoplasmalógenos, liberando aldeídos livres e glicerofosfoetanolamina (Gunawan e Debuch, 1985). A inibição dessa atividade sugere uma modulação potencial de processos relacionados à biossíntese de lipídios, que é essencial para a manutenção da integridade celular e a resposta ao estresse metabólico.

A inibição da hidrolase de alquenilglicerofosfocolina pode impactar o equilíbrio lipídico, especialmente em condições associadas a alterações na composição de plasmalógenos, como observado em doenças neurodegenerativas (Ryan et al., 2009). Além disso, a regulação dessa enzima poderia influenciar vias de sinalização celular mediadas por fosfolipídios, com

potenciais aplicações terapêuticas em distúrbios metabólicos e doenças relacionadas à disfunção lipídica (Hilgard et al., 1996; Widmer et al., 2006).

Essas atividades mais frequentes evidenciam a diversidade de alvos e os mecanismos que esses compostos podem modular, apontando para um potencial terapêutico promissor em áreas como distúrbios metabólicos, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas e infecções, destacando a importância desses compostos na exploração de novos caminhos para intervenções farmacológicas.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo reforçam o potencial do extrato hidroetanólico de *Harrisia adscendens* como uma rica fonte de compostos bioativos, com atividades promissoras em diferentes contextos terapêuticos. A análise *in silico* revelou a prevalência de atividades como a inibição de CDP-glicerol glicerofosfotransferase, o agonismo da integridade da membrana, e a inibição de fosfatases de açúcar e da hidrolase de alquenilglicerofosfocolina. Essas atividades destacam os compostos como potenciais moduladores de vias metabólicas críticas, com implicações para o tratamento de distúrbios metabólicos, neurodegenerativos e infecciosos. A avaliação toxicológica *in silico* demonstrou um perfil de segurança favorável para a maioria dos compostos, com baixa toxicidade e ausência de mutagenicidade na maioria das moléculas analisadas. Esses achados sugerem que os compostos de *Harrisia adscendens* possuem um potencial considerável para desenvolvimento farmacêutico, especialmente no contexto de doenças que envolvem disfunções lipídicas, inflamatórias e metabólicas.

REFERÊNCIAS

- BOKOR, Éva. 1. N- and C-Glycopyranosyl heterocycles as glycogen phosphorylase inhibitors. In: **Carbohydrates in Drug Discovery and Development**. Elsevier, 2019. doi: 10.1016/B978-0-12-817467-8.00007-4.
- BOUYMAJANE, A. et al. Phenolic Compound, Antioxidant, Antibacterial, and In Silico Studies of Extracts from the Aerial Parts of *Lactuca saligna* L. **Molecules**, v. 29, n. 3, p. 596, 2024.
- BRAGA, C. D. M. Histórico da utilização de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, n. 1, p. 1-8, 2011.

- BUNYAPAIBOONSRI, T. et al. Isariotins E and F, spirocyclic and bicyclic hemiacetals from the entomopathogenic fungus *Isaria tenuipes* BCC 12625. **Journal of Natural Products**, v. 72, n. 4, p. 756-759, 2009.
- CARPENTER, T. S. et al. A method to predict blood-brain barrier permeability of drug-like compounds using molecular dynamics simulations. **Biophysical Journal**, v. 107, n. 3, p. 630-641, 2014.
- CELIK, E. et al. Agonist leukadherin-1 increases CD11b/CD18-dependent adhesion via membrane tethers. **Biophysical Journal**, v. 105, n. 11, p. 2517-2527, 2013.
- CERUTTI, M. L. et al. Effects of 2', 6'-dihydroxy-4'-methoxydihydrochalcone on innate inflammatory response. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 393, p. 2061-2072, 2020.
- CHOE, S. et al. Identification of trichothecene-type mycotoxins in toxic mushroom *Podostroma cornu-damae* and biological specimens from a fatal case by LC-QTOF/MS. **Forensic Science International**, v. 291, p. 234-244, 2018.
- COELHO, E. C. F.; DE MELO, A. B. F.; BORGES, L. L. Avaliação do espectro de bioatividade das estruturas encontradas na *Tabebuia avellaneda* empregando ferramentas in silico. **Revista Brasileira Militar de Ciências**, v. 9, n. 23, 2023.
- DELGADO, D. R.; CARDENAS-TORRES, R. E.; ORTIZ, C. P. Mathematical modeling of the aqueous solubility of bioactive substances of environmental interest. In: **2022 8th International Engineering, Sciences and Technology Conference (IESTEC)**, p. 498-503, 2022.
- DING, P.; DING, Y. Stories of salicylic acid: a plant defense hormone. **Trends in Plant Science**, v. 25, n. 6, p. 549-565, 2020.
- DUCKI, S. et al. Isolation of aurantiamide acetate from *Arisaema erubescens*. **Planta Medica**, v. 62, n. 3, p. 277-278, 1996.
- ELGENDY, A. et al. In vitro and in silico approaches for screening intestinal permeability and absorption of drugs. **Bulletin of Pharmaceutical Sciences Assiut University**, v. 47, n. 1, p. 101-117, 2024.
- EL-SHIBANI, F. A. et al. Polyphenol fingerprint, biological activities, and in silico studies of the medicinal plant *Cistus parviflorus* L. extract. **ACS Omega**, v. 8, n. 50, p. 48269-48279, 2023.
- FIRENZUOLI, F.; GORI, L. Herbal medicine today: clinical and research issues. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 4, p. 37-40, 2007.

- FONG, C. W. Permeability of the blood–brain barrier: molecular mechanism of transport of drugs and physiologically important compounds. **The Journal of Membrane Biology**, v. 248, n. 4, p. 651-669, 2015.
- FOTI, R. S. Cytochrome P450 and other drug-metabolizing enzymes as therapeutic targets. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 51, n. 8, p. 936-949, 2023.
- GABORIAUD-KOLAR, N.; SKALTSOUNIS, A. L. Glycogen phosphorylase inhibitors: a patent review (2008–2012). **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 23, n. 8, p. 1017-1032, 2013.
- GANESAN, A.; BARAKAT, K. Solubility: a speed–breaker on the drug discovery highway. **MOJ Bioequiv Availab**, v. 3, n. 3, p. 56-58, 2017.
- GUEGUEN, Y. et al. Cytochromes P450: xenobiotic metabolism, regulation and clinical importance. **Annales de Biologie Clinique**, v. 64, n. 6, p. 535-548, 2006.
- GUERRA, L. R. et al. Assessment of predictivity of volatile organic compounds carcinogenicity and mutagenicity by freeware in silico models. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 91, p. 1-8, 2017.
- GUNAWAN, J.; DEBUCH, H. Alkenylhydrolase: a microsomal enzyme activity in rat brain. **Journal of Neurochemistry**, v. 44, n. 2, p. 370-375, 1985.
- GUPTA, R.; SHARMA, P.; GUPTA, J. A Review: In silico study and characterization bioactive compound by using LCMS techniques from plant extract. **International Journal for Multidisciplinary Research (IJFMR)**, v. 5, n. 2, 2023.
- HARVEY, C. et al. Trehalose-6-Phosphate Phosphatase Structure and Inhibitor Design. **The FASEB Journal**, v. 31, p. 923-925, 2017.
- HILGARD, P.; POHL, J.; ENGEL, J. The development of alkylphosphocholines as signal transduction inhibitors: experimental and clinical challenges. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 123, p. 286-287, 1997.
- IMOTO, M.; TANIGUCHI, Y.; UMEZAWA, K. Inhibition of CDP-DG: inositol transferase by inostamycin. **Journal of Biochemistry**, v. 112, n. 5, p. 637-641, 1992.
- ISSHIKI, K. et al. Aurantiamide acetate, a selective cathepsin inhibitor, produced by *Aspergillus penicilloides*. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 65, n. 5, p. 1195-1197, 2001.
- JIANG, M. et al. An isoindole alkaloid from *Portulaca oleracea* L. **Natural Product Research**, v. 32, n. 20, p. 2431-2436, 2018.
- KIM, K. H. et al. U.S. Patent No. 11,458,152. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office, 2022.

- LIU, H. L. et al. Piperidine alkaloids from Chinese mangrove *Sonneratia hainanensis*. **Journal of Natural Products**, v. 73, n. 4, p. 664-668, 2010.
- LOCH-NECKEL, G.; KOEPP, J. The blood-brain barrier and drug delivery in the central nervous system. **Revista de Neurología**, v. 51, n. 3, p. 165-174, 2010.
- LYNCH, T.; PRICE, A. M. Y. The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. **American Family Physician**, v. 76, n. 3, p. 391-396, 2007.
- MIKOVSKI, A. I. et al. Tissue culture and biotechnological techniques applied to passion fruit with ornamental potential: an overview. **Ornamental Horticulture**, v. 25, n. 2, p. 189-199, 2019.
- MIRALDI, E.; BAINI, G. Medicinal plants and health in human history: From empirical use to modern phytotherapy. **Journal of the Siena Academy of Sciences**, v. 10, n. 1, 2018.
- MOURA, M. R. L.; REYES, F. G. R. Drug-nutrient interaction: a review. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 2, p. 223-238, 2002.
- ORTEGA, H. E. et al. Mycoleptodiscins A and B, cytotoxic alkaloids from the endophytic fungus *Mycoleptodiscus* sp. F0194. **Journal of Natural Products**, v. 76, n. 4, p. 741-744, 2013.
- PAIXÃO, C. S. et al. Polimorfismos genéticos da família citocromo P450 e o câncer. **Saúde & Ciência em Ação**, v. 2, n. 2, p. 118-133, 2016.
- PRASETIYO, A.; MARTATI, T.; SAPUTRA, P. W. In Silico Study of Bioactive Compounds in Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Burm. F. Nees) as HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitor. **Jurnal Jamu Indonesia**, v. 9, n. 2, p. 95-105, 2024.
- RYAN, S. D. et al. Amyloid- β 42 signals tau hyperphosphorylation and compromises neuronal viability by disrupting alkylacylglycerophosphocholine metabolism. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 49, p. 20936-20941, 2009.
- SAILAKSHMI, S. et al. Screening of coumarin derivatives as membrane integrity agonist using chem informatics approach. **Annals of Phytomedicine: An International Journal**, v. 12, n. 1, p. 1-10, 2023.
- SHENG, M. et al. A hybrid evaluation of the intestinal absorption performance of compounds from molecular structure. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 104, n. 1, p. e14576, 2024.
- SOUZA, J. D.; FREITAS, Z. M. F.; STORPIRTIS, S. Modelos in vitro para determinação da absorção de fármacos e previsão da relação dissolução/absorção. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 4, p. 515-527, 2007.

- SPASOV, A. A.; CHEPLJAEVA, N. I.; VOROB'EV, E. S. Glycogen phosphorylase inhibitors in the regulation of carbohydrate metabolism in type 2 diabetes. **Russian Journal of Bioorganic Chemistry**, v. 42, n. 2, p. 133-142, 2016.
- TANG, C. T.; ENGEL, R.; TROPP, B. E. Glycerol 3-phosphate analogues as metabolic inhibitors in *Escherichia coli* 3-hydroxy-4-oxobutyl-1-phosphonate, a drug that interferes with normal phosphoglyceride metabolism. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism**, v. 572, n. 3, p. 472-482, 1979.
- TAVARES, E. D. A. et al. Toxicity and Anti-Inflammatory Activity of Phenolic-Rich Extract from *Nopalea cochenillifera* (Cactaceae): A Preclinical Study on the Prevention of Inflammatory Bowel Diseases. **Plants**, v. 12, n. 3, p. 594, 2023.
- TORNIO, A.; BACKMAN, J. T. Cytochrome P450 in pharmacogenetics: an update. **Advances in Pharmacology**, v. 83, p. 3-32, 2018.
- UNITED NATIONS. Globally Harmonized System for Classification and Labelling of Chemicals (6th rev. ed.). **United Nations**, New York, 2015.
- VILAR, S.; CHAKRABARTI, M.; COSTANZI, S. Prediction of passive blood–brain partitioning: straightforward and effective classification models based on in silico derived physicochemical descriptors. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 28, n. 8, p. 899-903, 2010.
- WAGHULDE, S.; KALE, M. K.; PATIL, V. R. In silico docking and drug design of herbal ligands for anticancer property. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 7, n. 6S, p. 84-91, 2018.
- WANNEMACHER, R. W. et al. Trichothecene mycotoxins. In: **Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare**, p. 655-676, 1997.
- WIDMER, F. et al. Hexadecylphosphocholine (miltefosine) has broad-spectrum fungicidal activity and is efficacious in a mouse model of cryptococcosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, n. 2, p. 414-421, 2006.
- YI, F. et al. In silico approach in reveal traditional medicine plants pharmacological material basis. **Chinese Medicine**, v. 13, p. 1-20, 2018.
- YU, B. et al. Inostamycin, an inhibitor of cytidine 5'-diphosphate 1,2-diacyl-sn-glycerol (CDP-DG): inositol transferase, suppresses invasion ability by reducing productions of matrix metalloproteinase-2 and -9 and cell motility in HSC-4 tongue carcinoma cell line. **Clinical & Experimental Metastasis**, v. 17, n. 1, p. 1-8, 1999.
- YU, S. et al. Anticariogenic activity of agarobiose and agarooligosaccharides derived from red macroalgae. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 26, p. 7297-7303, 2019.

5. CONCLUSÃO

O extrato hidroetanólico de *Harrisia adscendens* apresentou baixa toxicidade em testes agudos e subagudos, sem alterações hematológicas e bioquímicas significativas, além de ausência de genotoxicidade, uma vez que a análise genotóxica não indicou danos ao DNA, reforçando sua segurança para uso oral. Nos testes antinociceptivos, o extrato reduziu significativamente a resposta à dor em modelos experimentais, enquanto no modelo de edema de pata induzido por carragenina demonstrou efeito anti-inflamatório, no teste de peritonite o extrato resultou em uma redução significativa nos níveis de citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-2, IL-6, IL-17 e TNF- α , indicando potencial para tratar processos inflamatórios. Também exibiu ação antipirética relevante, reduzindo a temperatura corporal em modelos febris. O perfil fitoquímico do extrato revelou uma composição rica em compostos fenólicos e flavonoides, como acetofenonas e ácidos fenólicos. Estudos *in silico* corroboraram sua segurança, indicando baixa toxicidade e ausência de mutagenicidade para a maioria dos compostos identificados. Esses achados sugerem um potencial terapêutico promissor, abrindo possibilidades para o desenvolvimento de novas terapias.

REFERÊNCIAS

- AGRA, M. de F.; FREITAS, P. F. de; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.
- AMMAR, I. et al. Anti-inflammatory activity and phenolic composition of prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) flowers. **Industrial Crops and Products**, v. 112, p. 313-319, 2018.
- ANDRADE, C. T. S.; MARQUES, J. G. W.; ZAPPI, D. C. Utilização medicinal de cactáceas por sertanejos baianos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 3, p. 36-42, 2006.
- ANVISA. Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos. **Anvisa**, Brasília, 2013.
- ANVISA. Medicamentos fitoterápicos e plantas medicinais. **Portal Anvisa**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/fitoterapicos>. Acesso em: 20 fev. 2025.
- BADIN, R. C.; MANAÇAS, L. R. A.; DE SOUZA, I. A. Avaliação toxicológica e determinação da DL50 do extrato bruto de *Luffa operculata* Cogn. (Cucurbitaceae). **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 27, n. 7, p. 3830-3843, 2023.
- BATISTA, E. K. F. et al. Atividades antinociceptiva e antiinflamatória do extrato etanólico de *Luehea divaricata*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, p. 433-441, 2016.
- BEAVERS, K. M.; BRINKLEY, T. E.; NICKLAS, B. J. Effect of exercise training on chronic inflammation. **Clinica Chimica Acta**, v. 411, p. 785-793, 2010.
- BENIGNI, R.; BOSSA, C. Predictivity and reliability of QSAR models: the case of mutagens and carcinogens. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 18, p. 137-147, 2008. doi:10.1080/15376510701857056.
- BERNADI, W. A. et al. Effects of topical application of essential oil from resin of almescar (*Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand) in experimentally induced skin wounds in rats. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 22, n. 1, p. 10-15, 2015.
- BIANCHETTI, E. S. Estudo da interferência de diferentes dietas nutricionais sobre as ações anti-inflamatórias e analgésicas do Etoricoxib (Arcóxia®). 2006. Dissertação (Mestrado) - Universidade José do Rosário (UNIFENAS), Alfenas, 2006.
- BORGES, F. V.; SALES, M. D. C. Políticas públicas de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil: sua história no sistema de saúde. **Pensar Acadêmico**, v. 16, n. 1, p. 13-27, 2018.
- BOULAY, E. et al. In silico human cardiomyocyte action potential modeling: exploring ion channel input combinations. **International Journal of Toxicology**, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/10915818241237988>. Acesso em: 20 fev. 2025.
- BRASIL. Formulário Nacional da Farmacopéia Brasileira. **Ministério da Saúde**, 2012.
- CAMPOS, S. C. et al. Toxicidade de espécies vegetais. **Revista Brasileira de Plantas**

Medicinais, v. 18, n. 1, supl. 1, p. 373-382, 2016. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722016000500373&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: 20 fev. 2025.

CARNEIRO, F. M. et al. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais**, v. 3, n. 2, p. 44-75, 2014.

CARVALHO, J. C. T. et al. Anti-inflammatory activity of the crude extract from the fruits of *Pterodon emarginatus* Vog. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 64, n. 2, p. 127-133, 1999.

CARVALHO, W. A.; LEMÔNICA, L. Mecanismos Celulares e Moleculares da Dor Inflamatória. Modulação Periférica e Avanços Terapêuticos. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 48, p. 137-158, 1998.

CAVAGNARO, J. Considerations for the Preclinical Safety Evaluation of Biopharmaceuticals. **Comprehensive Toxicology**, Second Edition, v. 3, p. 29-51, 2010. DOI: 10.1016/B978-0-08-046884-6.00308-0.

CRUVINEL, W. de M. et al. Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 50, n. 4, p. 434-447, 2010. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0482-50042010000400008&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 11 jul. 2020.

DACIE, J. V.; LEWIS, S. M.; CATOVSKY, D. Blood cell cytochemistry and supplementary techniques. In: **Practical Hematology**, Churchill Livingstone, Edinburgh, p. 120-148, 1975.

EKINS, S.; MESTRES, J.; TESTA, B. In silico pharmacology for drug discovery: methods for virtual ligand screening and profiling. **British Journal of Pharmacology**, v. 152, n. 1, p. 9-20, 2007.

FLOWER, R. J.; PERRETTI, M. Controlling inflammation: a fat chance? **The Journal of Experimental Medicine**, v. 201, p. 671-674, 2005.

GARCÍA, L. C. Treatment and healing of simple skin wounds with the use of medicinal plants. **Physiology**, v. 38, S1, p. 5734517, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/physiol.2023.38.s1.5734517>. Acesso em: 13 abr. 2025.

GARLAND, E. L. Pain processing in the human nervous system: a selective review of nociceptive and biobehavioral pathways. **Primary Care: Clinics in Office Practice**, v. 39, n. 3, p. 561-571, 2012.

GUERRA, L. R. et al. Assessment of predictivity of volatile organic compounds carcinogenicity and mutagenicity by freeware in silico models. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 91, p. 1-8, 2017.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 1216 p.

HAYES, A. W.; WANG, T.; DIXON, D. Toxicologic testing methods. **Comprehensive Toxicology**, v. 3, p. 29-51, 2010. DOI: 10.1016/B978-0-08-046884-6.00308-0.

- JAIN, C.; KHATANA, S.; VIJAYVERGIA, R. Bioactivity of secondary metabolites of various plants: a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 10, n. 2, p. 494-504, 2019.
- KHANAM, S. A systematic review on wound healing and its promising medicinal plants. **IJCAAP**, v. 5, n. 4, p. 170–176, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.18231/IJCAAP.2020.036>. Acesso em: 13 abr. 2025.
- KHATUN, A.; IMAM, M. Z.; RANA, M. S. Antinociceptive effect of methanol extract of leaves of *Persicaria hydropiper* in mice. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, p. 63, 2015.
- KWON, J. et al. Nimesulide-induced hepatotoxicity: A systematic review and meta-analysis. **PLoS One**, v. 14, n. 1, p. e0209264, 2019.
- LAPA, A. J. et al. **Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais**. 5. ed. São Paulo: Setor de Produtos Naturais, Departamento de Farmacologia, UNIFESP/EPM, 2007. 119 p.
- LENSKAYA, K. et al. Drug development by in silico methods. **Georgian Medical News**, n. 332, p. 103-108, 2022.
- LENT, R. **Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociência**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2010. 786 p.
- LUCENA, C. M. et al. Use and knowledge of Cactaceae in Northeastern Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 9, p. 1-11, 2013.
- MAZIERO, M.; TEIXEIRA, M. P. A expansão da utilização de fitoterápicos no Brasil. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 9, n. 2, 2017.
- MOURA, N. S. et al. Ensaios toxicológicos: Um estudo sobre a utilização de testes in vivo e in vitro. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 25, n. 1, p. 1-10, 2012.
- NAPAGODA, M.; WIJESUNDARA, D. Medicinal plants as sources of novel therapeutics: The history, present, and future. **Chemistry of Natural Products, Phytochemistry, and Pharmacology of Medicinal Plants**, v. 3, p. 4-18, 2022.
- NASCIMENTO, O. et al. Análise antinociceptiva e anti-inflamatória do extrato aquoso de *Pimpinella anisum* proveniente do Sertão da Paraíba. **Revista Interdisciplinar em Saúde**, v. 6, p. 42-57, 2019. DOI: 10.35621/23587490.v6.n5.p42-57.
- NASRI, H.; SHIRZAD, H. Toxicity and safety of medicinal plants. **Journal of HerbMed Pharmacology**, v. 2, n. 2, p. 21-22, 2013.
- OECD. Guidance document on the validation of (quantitative) structure-activity relationship [(Q)SAR] models. **OECD**, 2007.
- PEREIRA, J. B. A. et al. O papel terapêutico do Programa Farmácia Viva e das plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, p. 550-561, 2015.
- PIERRE, M. O. et al. Determination of Descriptors Which Influence the Toxicity of

Organochlorine Compounds Using QSAR Method. **Chemical Science International Journal**, v. 27, n. 1, p. 1-13, 2019. DOI: 10.9734/CSJI/2019/v27i130107. Disponível em: <http://journalcsij.com/index.php/CSIJ/article/view/30107>.

PINTO, N. C. C. et al. *Pereskia aculeata* Miller leaves present in vivo topical anti-inflammatory activity in models of acute and chronic dermatitis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 173, p. 330-337, 2015.

RAIES, A. B.; BAJIC, V. B. In silico toxicology: computational methods for the prediction of chemical toxicity. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science**, v. 6, n. 2, p. 147-172, 2016.

RAMSEY, D. T. et al. Effects of three occlusive dressing materials on healing of full thickness skin wounds in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 56, n. 7, p. 941-949, 1995.

REINKE, J. M.; SORG, H. Wound repair and regeneration. **European Surgical Research**, v. 49, n. 1, p. 35-43, 2012.

REUTER, S. et al. Oxidative stress, inflammation and cancer: How are they linked? **Free Radical Biology & Medicine**, v. 49, p. 1603-1616, 2010.

ROCHA, L. P. B. et al. Uso de plantas medicinais: Histórico e relevância. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, p. e44101018282-e44101018282, 2021.

RODRIGUES, H. G. et al. Efeito embriotóxico, teratogênico e abortivo de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, p. 359-366, 2011.

RODRIGUES, M. et al. Wound healing: A cellular perspective. **Physiological Reviews**, v. 99, n. 1, p. 665-706, 2019.

RODRIGUES, T. C. M. L. et al. In silico studies on natural products and derivatives against different types of cancer. **Current Medicinal Chemistry**, v. 30, 2023.

ROSSIANA, N. et al. Urgency longterm oil sludge biophytoremediation: Acute, subchronic toxicity on liver and kidney rats. **Environmental Technology & Innovation**, v. 19, p. 100766, 2020.

SANTOS, G. L. D. dos. Estudo fitoquímico, caracterização físico-química e avaliação da atividade antimicrobiana de *Harrisia adscendens* (GÜRKE) Britton & Rose (CACTACEAE). 2015. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015.

SCHIANTARELLI, P. et al. Antiinflammatory activity and bioavailability of percutaneous piroxicam. **Arzneimittel-Forschung**, v. 32, n. 3, p. 230-235, 1982.

SHEDOEVA, A. et al. Wound healing and the use of medicinal plants. Evidence-Based **Complementary and Alternative Medicine**, v. 2019, p. 2684108, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2019/2684108>. Acesso em: 13 abr. 2025.

SIEGLOCH, A. et al. Potencial de espécies da família Cactaceae no Brasil: uma revisão sistemática. **Biodiversidade**, v. 19, n. 4, 2020.

SILVA, J. C. et al. Modelos experimentais para avaliação da atividade antinociceptiva de produtos naturais: uma revisão. **Brazilian Journal of Pharmacy**, v. 94, p. 18-23, 2013.

STANLEY, P. L. et al. Mouse skin inflammation induced by multiple topical applications of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 4, n. 4, p. 262-271, 1991.

ŠUKOVIĆ, D. et al. Phenolic profiles of leaves, grapes and wine of grapevine variety vranac (*Vitis vinifera* L.) from Montenegro. **Foods**, v. 9, n. 2, p. 138, 2020.

THOMÉ, R. G. et al. Evaluation of healing wound and genotoxicity potentials from extracts hydroalcoholic of *Plantago major* and *Siparuna guianensis*. **Experimental Biology and Medicine**, v. 237, n. 12, p. 1379-1386, 2012.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000.

ULLAH, F. et al. Medicinal plants: An insight into wound healing. **The Healer Journal of Physiotherapy and Rehabilitation Sciences**, v. 2, n. 3, p. 254–264, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.55735/hjprs.v2i3.96>. Acesso em: 13 abr. 2025.

VICENTINI, M. de L.; FERRERO, R.; MANZIN, A. In silico experiments to explore the heating efficiency of magnetic nanoparticles in hyperthermia preclinical tests. **Advanced Theory and Simulations**, v. 6, 2023.

WINTER, C. A.; RISLEY, E. A.; NUSS, G. W. Carrageenin-induced edema in hindpaw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 111, p. 544-547, 1962.

Wound healing potential of some medicinal plants. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, p. 106–116, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.47583/ijpsrr.2022.v77i01.017>. Acesso em: 13 abr. 2025.

YANG, M. et al. Acute and subacute toxicity evaluation of ethanol extract from aerial parts of *Epigynum auritum* in mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 131, p. 110534, 2019.

YU, D. et al. Strontium ranelate reduces cartilage degeneration and subchondral bone remodeling in rat osteoarthritis model. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 34, n. 3, p. 393-402, 2013.

ZAPPI, D.; TAYLOR, N.; SANTOS, M. R.; LAROCCA, J. Cactaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 2015. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB1540>. Acesso em: 20 fev. 2025.