



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E
SINTÉTICOS BIOATIVOS



THYFANNE SUELLEN TAVARES LINHARES

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA E FARMACOLÓGICA NÃO-CLÍNICA DA FRAÇÃO
ALCALOÍDICA DE *Sida rhombifolia* L.: UM ESTUDO *IN SILICO* E *IN VIVO***

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

João Pessoa
28 de Fevereiro de 2024

THYFANNE SUELLEN TAVARES LINHARES

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA E FARMACOLÓGICA NÃO-CLÍNICA DA FRAÇÃO
ALCALOÍDICA DE *Sida rhombifolia* L.: UM ESTUDO *IN SILICO* E *IN VIVO***

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PPgPNSB), da Universidade Federal da Paraíba como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Farmacologia de Produtos Naturais.

Orientador: Margareth de Fátima Formiga
Melo Diniz

João Pessoa
28 de Fevereiro de 2024

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

L755a Linhares, Thyfanne Suellen Tavares.

Avaliação toxicológica e farmacológica não-clínica da fração alcaloídica de *Sida rhombifolia* L. : um estudo in silico e in vivo / Thyfanne Suellen Tavares Linhares. - João Pessoa, 2024.
93 f. : il.

Orientação: Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Toxicologia. 2. *Sida rhombifolia*. 3. Alcaloides.
4. Cardiotoxicidade. 5. Doxorrubicina. I. Diniz,
Margareth de Fátima Formiga Melo. II. Título.

UFPB/BC

CDU 615.9(043)

THYFANNE SUELLEN TAVARES LINHARES

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA E FARMACOLÓGICA NÃO-CLÍNICA DA FRAÇÃO
ALCALOÍDICA DE *Sida rhombifolia* L.: UM ESTUDO *IN SILICO* E *IN VIVO***

Aprovado em 28 de Fevereiro de 2024.

BANCA EXAMINADORA



Profª. Dra. Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz

Orientadora



Profº Dr. Enéas Ricardo de Moraes Gomes

Membro Externo Titular



Profª Dra. Maria de Fátima Vanderlei de Souza

Membro Interno Titular

DEDICATÓRIA

À minha querida avó, Dona Claudete, que está comigo desde sempre, que me criou e me ensinou tudo que eu sei. Meu anjo, espero estar te orgulhando, daqui! Aos meus amados pais, que sempre apoiaram minhas decisões profissionais e me proporcionaram todo suporte financeiro e emocional para que eu tivesse a oportunidade de realizar meus sonhos.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, primeiramente e sobre todas as coisas, por me abençoar e me dar forças para seguir em frente sempre, em todos os dias da minha vida.

" 'Porque sou eu que conheço os planos que tenho para vocês', diz o Senhor, 'planos de fazê-los prosperar e não de causar dano, planos de dar a vocês esperança e um futuro'. "

Jeremias 29:11

Aos meus pais (Thetis Tavares e Marcos Linhares) e, à toda minha família, por todo o apoio e força que sempre me proporcionaram. Obrigado por tudo. Sem vocês, isso não seria possível.

Ao meu companheiro de vida (Fernando Amschlinger), por sempre estar comigo, me incentivar, cuidar de mim e me ajudar em tudo. Obrigado por tornar os momentos mais difíceis em coisas pequenas.

Às amigas (Emille Wannick, Débora Aquino e Thaís Matos), sem vocês eu estaria louca, vocês foram muito valiosas nessa jornada. Por isso, meu muito obrigada.

Aos meus colaboradores e parceiros (Janderson Albuquerque, Wallace Amorim, Profº Arthur Willian, Drº Valério Vasconcelos, Auristela Medeiros, Profª Micheline Donato, Profº Enéas Gomes, Profº Fábio Santos, Rômulo Soares, Profª Fátima Vanderlei e Profº Abrahão Filho), assim como ninguém faz nada sozinho, dou graças a Deus por ter o auxílio de vocês nesse trabalho.

Ao LABETOX-UFPB, por me fornecer as condições necessárias para a realização deste trabalho.

Ao CAPES e ao CNPQ, por fomentar o incentivo ao ensino e a pesquisa em nosso país.

RESUMO

Sida rhombifolia (Malvaceae) é uma planta conhecida popularmente no Brasil como “matapasto”, “guaxuma” e “relógio”, sendo muito utilizada pela população indiana para o tratamento de hipertensão, diabetes e gota. Dela já foram isolados compostos alcaloides, como a criptolepinona e o sal de criptolepina, que apresentaram atividade vasorrelaxante e antioxidante em ensaios não-clínicos em roedores. A doxorrubicina (Doxo) é um antibiótico amplamente utilizado como agente antineoplásico sendo tratamento de primeira escolha para tumores sólidos e malignidades hematológicas. Porém, esse medicamento tem como um de seus inúmeros efeitos colaterais os eventos cardiotoxícos. Nesse contexto, o monitoramento clínico do quadro cardíaco desses pacientes é realizado por meio de exames ecocardiográficos, a fim de analisar os efeitos cardiotoxícos e buscar alternativas para melhorar o prognóstico. Portanto, o presente estudo busca avaliar os efeitos toxicológicos e farmacológicos (como possível cardioproteção) da fração de alcaloides obtida de *Sida rhombifolia*. Portanto, para o estudo *in silico*, foi utilizada a ferramenta AdmetSAR para analisar os parâmetros farmacocinéticos dos alcaloides. Para o *in vivo*, camundongos Swiss adultos (machos e fêmeas) foram utilizados e tratados com a fração alcaloídica (FrAlc) na concentração de 200 mg/Kg, seguindo OCDE 407. Em dois grupos de animais, a cardiotoxicidade foi induzida com administração de doxo em doses cumulativas semanais, durante quatro semanas, concomitantemente ao uso da FrAlc. Avaliações de aspectos toxicológicos, como peso e consumo, e avaliações ecocardiográficas foram realizadas semanalmente. Como resultado, o estudo *in silico* serviu de base para a compreensão de alguns aspectos e também gerou questões que foram sanadas ao longo do trabalho. Devido aos registros ecocardiográficos não fornecerem reconhecimento de padrões para verificar os efeitos cardiotoxícos causados pela doxo, não foi possível observar se FrAlc (200 mg/kg) foi capaz de promover efeito cardioprotetor, porém foi possível inferir que seu uso minimizou alguns eventos induzidos por doxo. Observou-se também que o uso da FrAlc não apresentou alterações clínicas relevantes ou óbitos, indicando baixa toxicidade. Assim, a FrAlc demonstrou perspectivas favoráveis, toxicologicamente, o que a torna interessante na terapêutica e disponível para novos estudos sobre seus efeitos farmacológicos, principalmente no que diz respeito ao seu potencial antioxidante.

Palavras-chave: *Sida rhombifolia*, alcaloides, toxicologia, cardiotoxicidade, doxorrubicina, AdmetSAR.

ABSTRACT

Sida rhombifolia (Malvaceae) is a plant popularly known in Brazil as “matapasto”, “guaxuma” and “relógio”, being widely used by the Indian population for the treatment of high blood pressure, diabetes and gout. Alkaloid compounds have already been isolated from it, such as cryptolepinone and cryptolepine salt, which showed vasorelaxant and antioxidant activity in non-clinical trials in rodents. Doxorubicin (Dox) is an antibiotic widely used as an antineoplastic agent, and is the first-choice treatment for solid tumors and hematological malignancies. However, this drug has cardiotoxic events as one of its numerous side effects. In this context, clinical monitoring of the cardiac condition of these patients is carried out using echocardiographic examinations in order to analyze the cardiotoxic effects and seek alternatives to improve the prognosis. Therefore, the present study seeks to evaluate the toxicological effects and pharmacological effects (such as possible cardioprotection) of the alkaloid fraction obtained from *Sida rhombifolia*. Therefore, for the *in silico* study, the AdmetSAR tool was used to analyze the pharmacokinetic parameters of the alkaloids. For *in vivo*, adult Swiss mice (male and female) were used and treated with the alkaloid fraction (FrAlc) at a concentration of 200 mg/Kg, following OECD 407. In two groups of animals, cardiotoxicity was induced with administration of doxo in weekly cumulative doses, for four weeks, concomitantly with the use of FrAlc. Assessments of toxicological aspects, such as weight and consumption, and echocardiographic assessments were carried out weekly. As a result, the *in silico* study served as a basis for understanding some aspects and also generated questions that were resolved throughout the work. Due to the echocardiographic records not providing pattern recognition to verify the cardiotoxic effects caused by doxo, it was not possible to observe whether FrAlc (200 mg/kg) was capable of promoting a cardioprotective effect, however it was possible to infer that its use minimized some doxo induced events. It was also observed that FrAlc did not present relevant clinical changes or deaths, indicating low toxicity. Thus, FrAlc demonstrated favorable prospects, toxicologically, which makes it interesting in therapeutics and available for further studies on its pharmacological effects, especially with regard to its antioxidant potential.

Keywords: *Sida rhombifolia*, alkaloids, toxicology, cardiotoxicity, doxorubicin, AdmetSAR.

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ALT - Alanina aminotransferase
AST - Aspartato aminotransferase
ANOVA - Análise de Variância
DALY - Ano de vida ajustado por incapacidade
DMSO - Dimetilsulfóxido
DCV - Doença cardiovascular
DD - Diâmetro diastólico
DS - Diâmetro sistólico
DOX/DOXO - Doxorrubicina
ERO - Espécie Reativa de Oxigênio
EEB - Extrato etanólico bruto
EEAA - Extrato etanólico aquoso ácido
EEAB - Extrato etanólico aquoso básico
ECG - Eletrocardiograma
FAT - Fração de alcaloides totais
FrAlc - Fração alcaloídica
FCA - Fase clorofórmica ácida
FE - Fração de ejeção
FEnc - Fração de encurtamento
gp-P - Glicoproteína P
HVE - Hipertrofia Ventricular esquerda
HCM - Hemoglobina Corpuscular média
VCM - Volume corpuscular médio
CHCM - Concentração de hemoglobina corpuscular média
VIA IP - Via de administração intraperitoneal
SBC - Sociedade Brasileira de Cardiologia
OMS - Organização Mundial da Saúde
Sida sp - Gênero da planta Sida
Grupo sida - Grupo que foi tratado com a fração alcaloídica da *Sida rhombifolia*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. HIPÓTESES.....	14
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	14
3.1 Alcaloides e Plantas medicinais.....	14
3.2 Sida sp: classificação sistemática.....	19
3.2.1 Alcaloides da Sida rhombifolia.....	23
3.3 Doenças cardiovasculares e a Cardiotoxicidade.....	24
3.4 Antraciclinas: Mecanismos de ação e a cardiotoxicidade.....	26
3.4.1 Doxorubicina e a Cardiotoxicidade.....	29
3.5 Bioprospecção de Produtos Vegetais e Estudos Toxicológicos.....	30
4. OBJETIVOS.....	33
4.1 Objetivo Geral.....	33
4.2 Objetivos Específicos.....	33
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
5.1 Substâncias teste.....	33
5.1.1 Produção do extrato etanólico bruto (EEB).....	34
5.1.2 Obtenção da fração de alcaloides totais (FAT).....	34
5.2 Estudo não-clínico in silico.....	35
5.2.1 Ensaios Toxicológicos in silico.....	35
5.3 Ensaios não-clínicos in vivo: Toxicológico e Farmacológico.....	36
5.3.1 Delineamento do estudo toxicológico subcrônico.....	36
5.3.2 Consumo de Água, Ração e Peso corporal.....	37
5.3.3 Análise Ecocardiográfica.....	38
5.3.4 Parâmetros hematológicos.....	38
5.3.5 Parâmetros Bioquímicos.....	39
5.4 Análise Estatística.....	39
6. RESULTADOS.....	39
6.1 Obtenção da fração de alcaloides da Sida rhombifolia.....	39
6.2 Dos ensaios in silico.....	42
6.3 Dos aspectos toxicológicos da experimentação in vivo.....	46
6.3.1 Curva de Mortalidade.....	46
6.3.2 Avaliação do peso corporal e do consumo de água e ração.....	47
6.3.3 Análise Bioquímica.....	49
6.3.4 Análise Hematológica.....	50
6.4 Avaliação Ecocardiográfica.....	56
7. DISCUSSÃO.....	58
8. CONCLUSÕES.....	72
9. PERSPECTIVAS.....	73
REFERÊNCIAS.....	74

10. ANEXOS.....	93
Anexo I - Tabela com os dados do hematológico.....	93
Anexo II - Tabela com valores de referência para o hematológico.....	94

1. INTRODUÇÃO

Historicamente, diversas civilizações sempre buscaram uma forma de tratar suas doenças. A maioria delas buscava, na natureza, plantas com propriedades curativas (IJAZ et al., 2018). O uso de plantas para fins medicinais, passado de geração em geração, produziu o que, hoje, conhecemos como etnofarmacologia e, ela tem nos possibilitado a descoberta de novos fármacos a partir de diversas hipóteses levantadas, relacionadas às atividades farmacológicas de algumas plantas, relatadas pelo conhecimento popular (MACHADO, 2004).

Os produtos naturais têm sido considerados uma fonte de recursos para a descoberta de novos medicamentos (HARVEY; EDRADA-EBEL; QUINN, 2015). Eles apresentam vantagens em relação aos compostos sintéticos, uma vez que não apenas demonstram atividade biológica, mas também são suscetíveis a serem substratos de um ou mais dos vários sistemas de transportadores que direcionam os compostos para seus locais de ação intracelular (HERT et al., 2009). Ao longo dos anos, o conhecimento etnofarmacológico tem desempenhado um papel crucial na identificação e no desenvolvimento dessas novas substâncias bioativas, provenientes de fontes naturais, com o objetivo de contribuir para a criação de novas formulações medicamentosas (MACHADO, 2004).

O Brasil é um país rico em diversidade botânica, abrigando uma vasta gama de espécies vegetais. No entanto, apenas cerca de um quarto desse elenco, composto por aproximadamente 55 mil espécies, foi catalogado até o momento. Além disso, é digno de destaque que o número de espécies de plantas em investigação para fins medicinais ainda é consideravelmente limitado (DI STASI, 1996). É importante ressaltar que qualquer droga vegetal que contenha substância com potencial terapêutico, em sua composição, pode servir como ponto de partida para a síntese de produtos químicos e farmacêuticos, sendo assim, considerada como uma planta medicinal (BRASIL, 2011).

A composição das plantas abriga uma ampla gama de metabólitos, que podem ser classificados em primários e secundários. No que diz respeito aos metabólitos secundários e os efeitos farmacológicos que eles trazem consigo, destacam-se os alcaloides. Estes, formam um grupo de metabólitos nitrogenados, notadamente heterogêneos, caracterizados intrinsecamente por sua basicidade, dependendo da disponibilidade de par de elétrons do nitrogênio, podendo fornecer

caráter ácido quando o nitrogênio é quaternário. Além disso, esses compostos possuem uma ampla gama de ações farmacológicas (SBF, 2009).

A fitoterapia é uma realidade presente na sociedade brasileira atualmente, e a criação de um marco regulatório de desempenho continua desempenhando um papel fundamental em sua consolidação. Diversas normas já foram promulgadas, tanto para atualizar as existentes quanto para introduzir novos conceitos ao conjunto normativo existente. Destaca-se, portanto, a RDC nº 14, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), publicada em 31 de março de 2010, que estabelece os requisitos mínimos para o registro de medicamentos fitoterápicos. Esta norma trouxe como principal alteração o resgate da inclusão de medicamentos vegetais como objetos de registro fitoterápico, exigindo um rigor maior na comprovação da segurança e eficácia desses medicamentos, considerando aspectos como controle de qualidade, eficácia, riscos de uso, reprodutibilidade e qualidade (BRASIL, 2010).

Alguns medicamentos registrados pelos órgãos reguladores no período de 1981 a 2014 revelam que 33% deles tiveram sua origem a partir de fitoterápicos, são eles os fitofármacos, substâncias isoladas provenientes de produtos naturais ou derivados destes, com estrutura química e atividade farmacológica definida (NEWMAN & CRAGG, 2016). Na área oncológica, como exemplo, das 175 pequenas moléculas aprovadas, 131 (75%) são de origem natural ou derivadas diretamente de fontes naturais (NEWMAN & CRAGG, 2016), dentre essas moléculas a doxorrubicina exerce importantes papéis terapêuticos.

A doxorrubicina, uma antraciclina isolada do fungo *Streptomyces peucetius*, tem sido amplamente empregada como agente antineoplásico no tratamento de tumores sólidos e neoplasias hematológicas. Apesar de fornecer efeitos terapêuticos no combate ao câncer, a doxorrubicina apresenta como principal efeito colateral: a cardiotoxicidade. Essa cardiotoxicidade pode ser aguda, subaguda, crônica ou tardia (MINOTTI et al., 2004; FERREIRA et al., 2007; MATSUBARA & FERREIRA, 2005). Na prática clínica é bastante comum a utilização de certos medicamentos com propriedades vasorelaxantes, antiarrítmicos e na proteção cardíaca após enfarte do miocárdio, como, por exemplo, os bloqueadores beta-adrenérgicos (MALBOUISSON et al., 2005).

Diversas plantas podem ser utilizadas para o tratamento de problemas de saúde relacionados ao coração. A *Sida rhombifolia* (Malvaceae), é uma planta popularmente conhecida no Brasil como “matapasto”, “guaxuma” e “relógio”,

bastante usada pela população indiana para o tratamento da hipertensão arterial, diabetes e gota (THOUNAOJAM, et al., 2009; ISWANTINI, et al., 2009). Desta forma, foram extraídos compostos que possuem potencial atividade vasorelaxante e antioxidante em modelos de roedores: criptolepinona, sal de criptolepina e quindolina (CHAVES et al., 2017).

Uma abordagem em ascensão que visa prever a toxicidade de compostos, como a criptolepinona e o sal de criptolepina nos ecossistemas, poupando tempo e recursos, além de contornar questões éticas, é a utilização de metodologias *in silico*. O termo "*in silico*" sugere simulações computacionais como referência a experimentos biológicos. Essa modelagem representa um avanço significativo nos estudos toxicológicos, ela serve de base para os estudos toxicológicos, especialmente na predição de riscos, utilizando uma variedade de abordagens metodológicas, como o admetSAR (ALVES, et al., 2023).

Tendo em vista que o desequilíbrio entre os sistemas antioxidantes e a produção de compostos oxidativos pode levar o organismo ao estresse oxidativo, e este relaciona-se à patogênese de várias doenças crônicas, inflamatórias e cardiovasculares (SILVA et al., 2006). Alguns estudos indicam que substâncias antioxidantes podem ter a capacidade de promover a inibição ou melhora da cardiotoxicidade por antraciclinas (GRANADOS-PRINCIPAL et al., 2010). No entanto, até agora não há experimentos conclusivos nessa área, sobretudo quanto ao uso de alcaloides para prevenir a cardiomiopatia induzida por doxorubicina.

Contudo, devido ao potencial farmacológico encontrado nos alcaloides da *Sida rhombifolia*, que indicam um efeito vasorrelaxante e antioxidante, surge a iniciativa em testá-los, toxicologicamente e farmacologicamente, na perspectiva da prospecção de um medicamento fitoterápico com atividade cardioprotetora (FERRO, DM 2019).

Portanto, o presente projeto de pesquisa teve como um de seus objetivos, avaliar a atividade cardioprotetora da fração alcaloidica da *Sida rhombifolia*, bem como a toxicidade subcrônica da fração. Para a avaliação foi induzida a cardiotoxicidade pela dox seguida do tratamento com a FrAlc e avaliação por ecocardiografia utilizando os parâmetros com base no ventrículo esquerdo, demonstrado pela figura 1.

Figura 1. Desenho experimental para a avaliação ecocardiográfica.



Fonte: Labetox, 2022.

2. HIPÓTESES

→ A fração de alcaloides da *Sida rhombifolia* apresentará efeitos tóxicos relevantes?

H1: Não, ela não apresentará efeitos tóxicos relevantes.

H0: Sim, ela apresentará efeitos tóxicos relevantes.

→ O uso de compostos alcaloides com potencial antioxidante, nesse caso, a fração alcaloídica da *Sida*, poderá reduzir os efeitos cardiotoxicos induzidos pela doxorrubicina e promover cardioproteção?

H1: Sim, ela será capaz de reduzir.

H0: Não, ela não reduzirá.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Alcaloides e Plantas medicinais

Dentre os metabólitos secundários presentes nas plantas, estão os alcalóides. Estes, representam 20% dos metabólitos nitrogenados descritos e constituem um grupo heterogêneo de compostos com estruturas complexas, de caráter básico, geralmente constituídos de carbono, hidrogênio e nitrogênio, este

último frequentemente incorporado em anéis heterocíclicos, muitas vezes oxigenados. Alguns autores limitam a definição de alcaloides e compostos com nitrogênio em anéis heterocíclicos, enquanto os proto-alcaloides incluem aqueles com nitrogênio em cadeias laterais acíclicas. A biogênese desses compostos geralmente tem origem em aminoácidos, embora alguns alcaloides tenham outras origens, como a terpênica ou do acetato. Além disso, eles podem exibir uma notável atividade farmacológica ou toxicológica (Adaptado de: HAJJAR et al., 2020; CABRAL; PITA, 2015; PAGARE et al., 2015).

Os alcaloides podem ser classificados de acordo com o vegetal ou a família da qual se origina; segundo a sua biossíntese, a qual envolve três classes: os alcalóides verdadeiros, os protoalcalóides e os pseudoalcalóides; a partir da sua estrutura química, que se caracteriza diante do sistema heterocíclico, número de ligações ao nitrogênio e função química que possuem; e pelas atividades farmacológicas que promovem em determinados sistemas fisiológicos (FISCHER, 2016), a exemplo das figuras 2 (a) e (b) e a figura 3, logo abaixo.

Figuras 2 (a) e (b). Representação de alcaloides verdadeiros, derivados de aminoácidos, contendo um átomo de nitrogênio em anel heterocíclico.

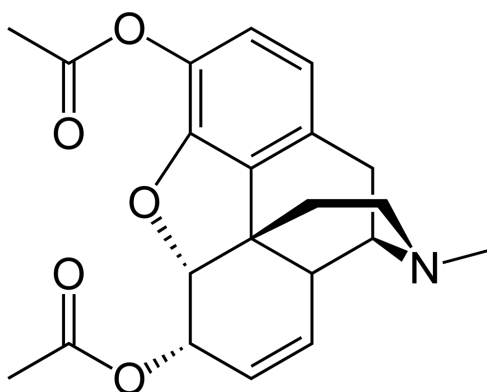


Imagem (2a) - Estrutura química da morfina.
Fonte: Gratispng.com - Acesso em 28/11/2023.

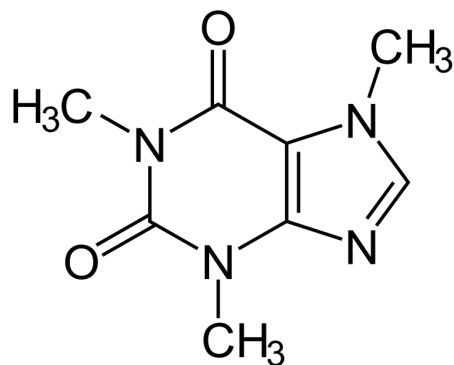
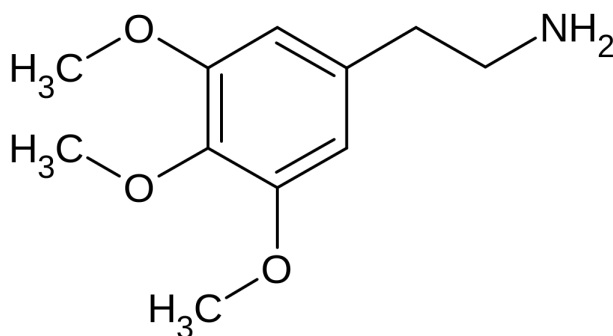


Imagem (2b) - Estrutura química da cafeína.
 Fonte: pngwing.com - Acesso em 28/11/2023.

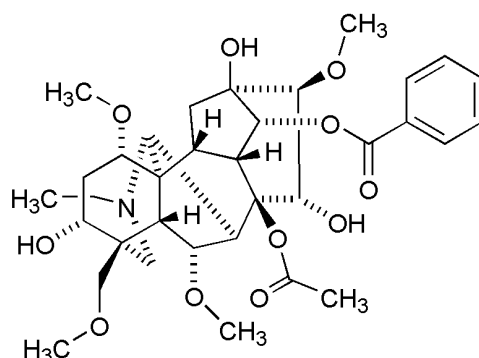
Figura 3. Representação da estrutura química da mescalina, como exemplo de um proto-alcalóide, o qual se apresenta, de maneira geral, como um composto que contém um átomo de nitrogênio não pertencente a um sistema heterocíclico, caracterizando-se como uma amina simples.



Fonte: pngwing.com - Acesso em 28/11/2023.

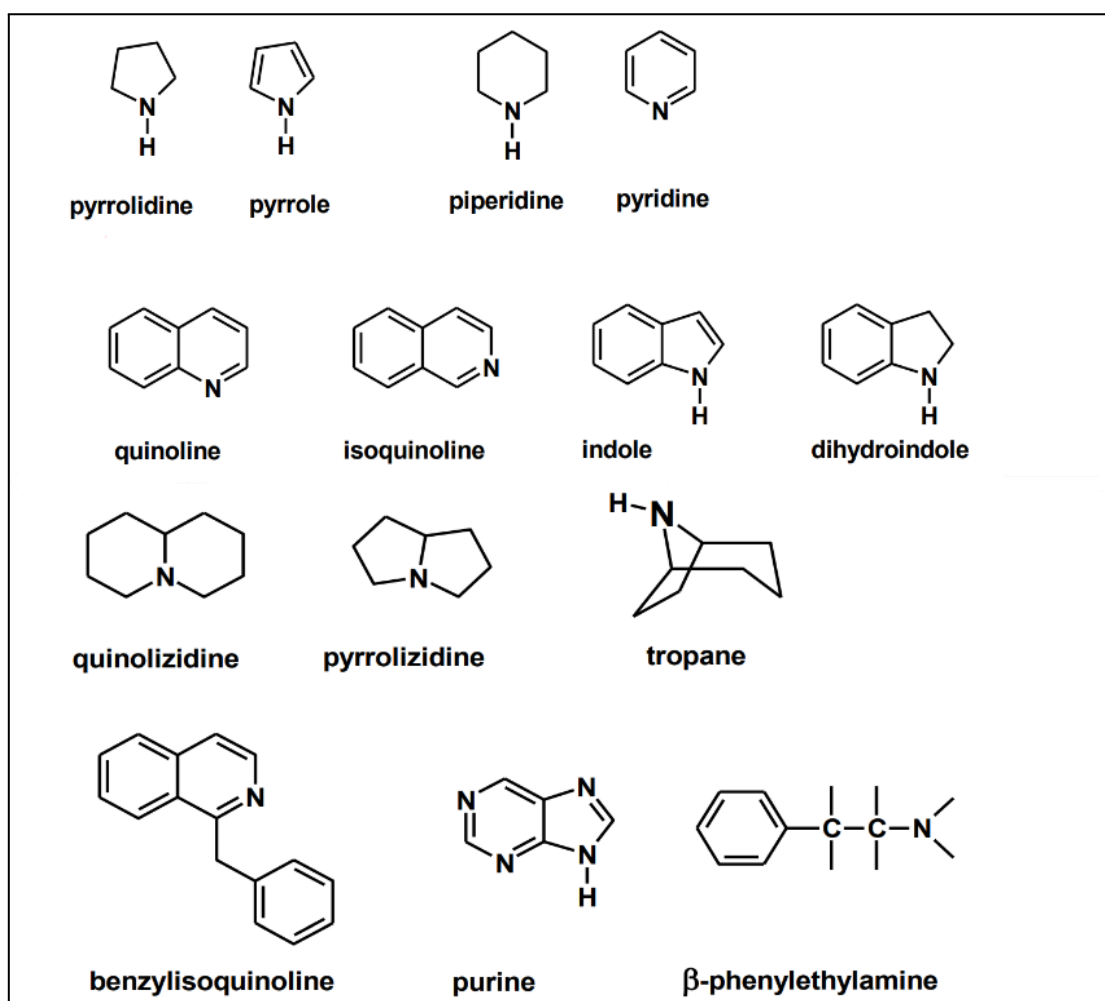
Na imagem a seguir (figura 4), há uma representação dos pseudoalcaloides, compostos nitrogenados não derivados de aminoácidos, com o átomo de nitrogênio em anel heterocíclico, ou não. São conhecidos assim, pois possuem as características dos alcaloides, mas são originados a partir do metabolismo dos terpenos ou do acetato.

Figura 4. Na imagem, a Aconitina, originada do Acônito (*Aconitum napellus*) pelo metabolismo dos terpenos.



Fonte: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Aconitine_new.png - Acesso em 28/11/2023.

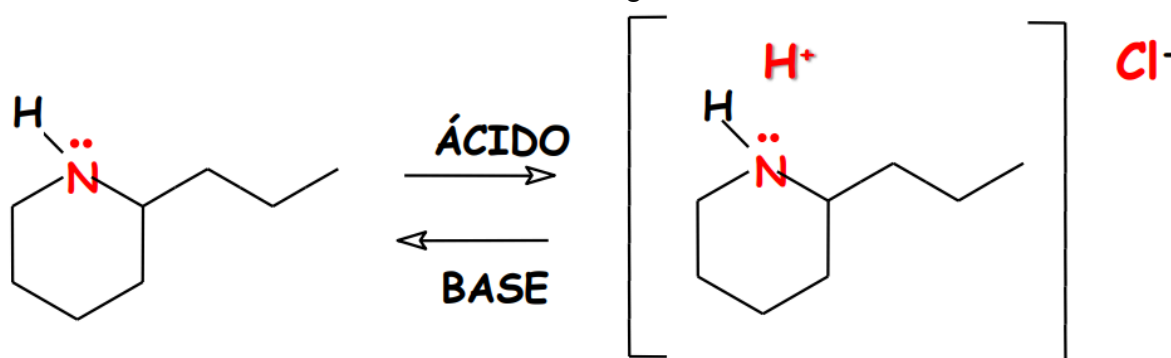
Quadro 1. Representação da classificação química, em função do sistema heterocíclico.



Fonte: Fischer, 2016 - FCF/USP.

Os alcalóides são encontrados, predominantemente, associados aos ácidos orgânicos. A sua solubilidade vai variar de acordo com a forma encontrada. Quando associado aos ácidos orgânicos, são insolúveis em meio aquoso e solúveis em solventes orgânicos. Quando na forma de um sal, são solúveis em meio aquoso e, insolúveis em solventes orgânicos. Mesmo apresentando caráter básico, no geral, o grau de basicidade destes alcaloides pode ser variável, a depender da disponibilidade do par de elétrons do nitrogênio (figura 5). Logo, poderá apresentar caráter ácido quando o nitrogênio for quaternário (Rev. Bras. Farmacogn., 2013).

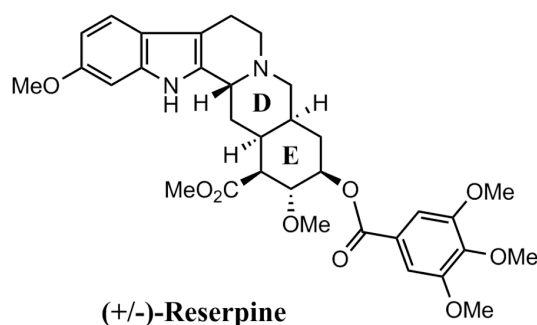
Figura 5. Variação no grau de basicidade do alcalóide, diante do par de elétrons livres do nitrogênio.



Fonte: Fischer, 2016 - FCF/USP.

Atualmente, encontramos uma diversidade de substâncias alcaloídicas com múltiplas atividades farmacológicas, alvo de pesquisas médicas. Desde o século XIX, após Friedrich Sertürner isolar a morfina do *Papaver somniferum*, diversos alcaloides também foram descobertos, como a atropina, a reserpina, entre outros. Ao longo dos anos, avanços tecnológicos e novas técnicas fitoquímicas permitiram o isolamento e a descoberta de novas substâncias ativas, advindas de plantas, muitas das quais tornaram-se fármacos ou serviram como base para a síntese de derivados. Até agora, aproximadamente 27.683 alcaloides foram identificados, desempenhando papel vital na sociedade como antimaláricos, anti-hipertensivos e tratamentos para asma. Dentre esses, cerca de 200 são comercializados internacionalmente (AMIRKIA; HEINRICH, 2014).

Figura 6. Estrutura da reserpina



Fonte: Grátispng.com - Acesso em 28/11/2023.

3.2 *Sida* sp: classificação sistemática

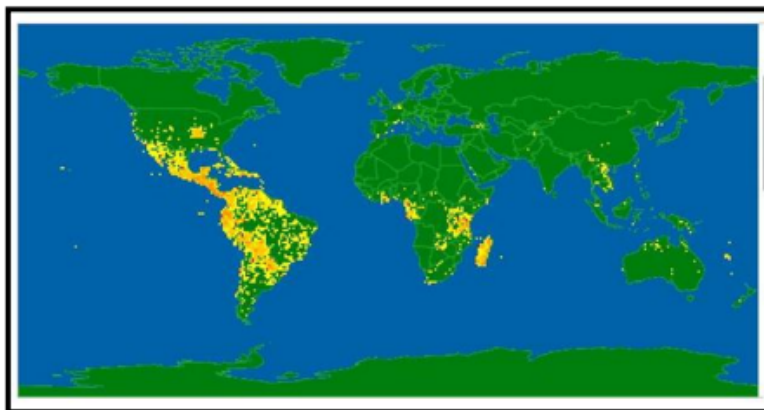
O conhecimento sobre as plantas vem evoluindo com o passar dos anos e, junto a ele o uso destas para fins medicinais, sendo ainda a primeira escolha terapêutica em determinadas comunidades. Estudar plantas, conhecer sobre os metabólitos secundários presentes nela e observar os efeitos farmacológicos, positivos ou não, gerados por estes metabólitos é algo que desperta o interesse da classe pesquisadora, dentre eles farmacêuticos, médicos, botânicos e até os órgãos governamentais. Trata-se do incentivo à fitoterapia e reconhecimento do uso das plantas medicinais, já proposto pela OMS desde 1978 (VEIGA, et al., 2005; CHAVES et al., 2012; PEREIRA, 2012).

O Brasil possui uma diversidade de plantas, no entanto, apenas cerca de um quarto desse elenco ($\approx$ 55 mil espécies) são conhecidas. Ainda assim, o número de espécies que são estudadas para fins medicinais é muito reduzido, aproximadamente 5.000 espécies (DI STASI, 1996; PUPO e GALO, 2007). Dentre as plantas mais estudadas no país, estão a família Malvaceae (CHAVES et al., 2013).

A família Malvaceae possui uma diversidade de plantas com propriedades terapêuticas importantes, devido à presença de metabólitos biologicamente ativos, na sua composição, dentre elas estão os gêneros *Hibiscus*, *Sida*, *Pavonia*, *Abutilon*, *Nototriche*, *Cristaria* e *Gossypium* (STEVENS, 2003; SUNDARAGANAPATHY et al., 2013). Nativo do Brasil, o gênero *Sida* sp. da família Malvaceae, possui aproximadamente 250 espécies distintas, das quais muitas

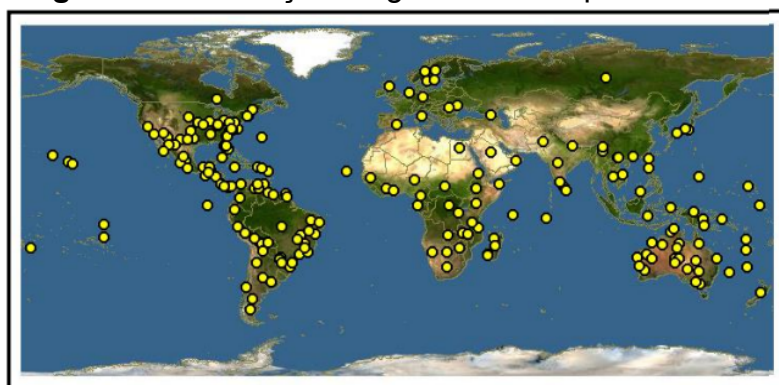
delas estão distribuídas por diversos países e, sendo utilizadas no tratamento de alguns distúrbios de saúde (FRYXELL, 1985; FUERTES, 1993; BOVINI, 2015; DINDA B et al., 2015).

Figura 7. Distribuição das Malvaceae no mundo.



Fonte: www.tropicos.org - adaptado de CHAVES et al., 2013.

Figura 8. Distribuição do gênero *Sida* sp. no mundo.



Fonte: www.discoverlife.org - adaptado de CHAVES et al., 2013.

Muitas espécies do gênero *Sida* sp. vêm ganhando importância no cenário mundial, sendo usada na medicina popular para finalidades terapêuticas distintas. Como por exemplo, em Madagascar e Camarões, com propriedades antissépticas, para tratamento de úlceras, abscessos e furúnculos (cataplasma); na Índia como afrodisíaco, diurético, no tratamento de disenterias, gota, tuberculose (infusão das folhas), é também usada nos sintomas de febre, doenças cardíacas e alguns casos de inflamação ou como antídoto para o veneno da serpente *Bothrops atrox* (raiz e caule) (ECHOU et al, 1996; DRURY, 1998; EKRAMUL et al., 2000; NOUMI & YOMI, 2001; OTERO et al., 2000).

A *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae), conhecida popularmente no Brasil como

"matapasto", "guaxuma" e "relógio", é amplamente utilizada pela população indiana para tratar a hipertensão arterial, diabetes e gota (THOUNAOJAM, et al., 2009; ISWANTINI, et al., 2009). Estudos anteriores avaliaram, inclusive, a atividade dela na inibição da xantina oxidase (ISWANTINI, et al., 2009).

Figuras 9 (a), (b) e (c) - Imagens da *Sida rhombifolia* L.



Figura 9a

Fonte: Flora digital - UFSC, 2023 - De Daniel Grasel.



Figura 9b

Fonte: Flora digital - UFSC, 2014 - De João Augusto Bagatini.



Figura 9c

Fonte: Flora digital - UFSC, 2014 - De João Augusto Bagatini.

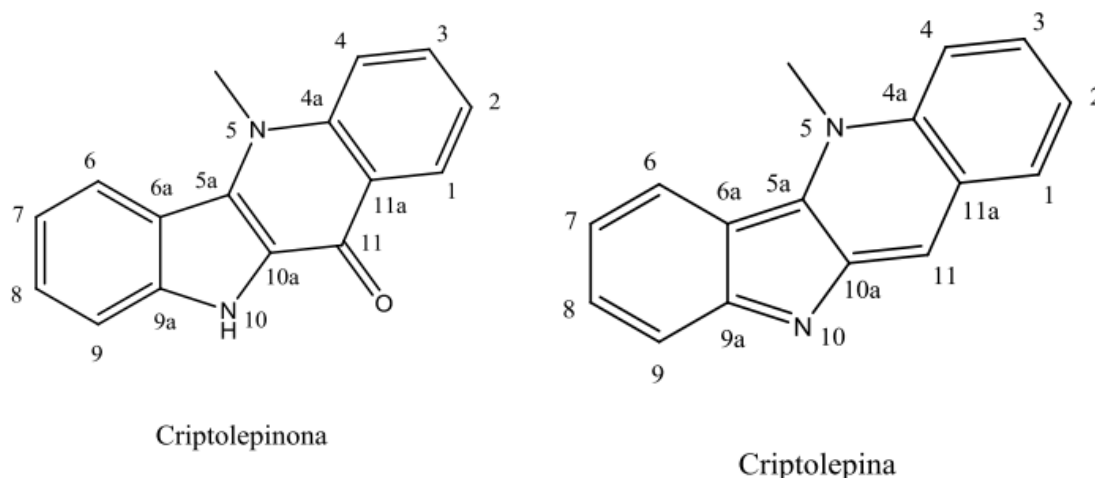
3.2.1 Alcaloides da *Sida rhombifolia*

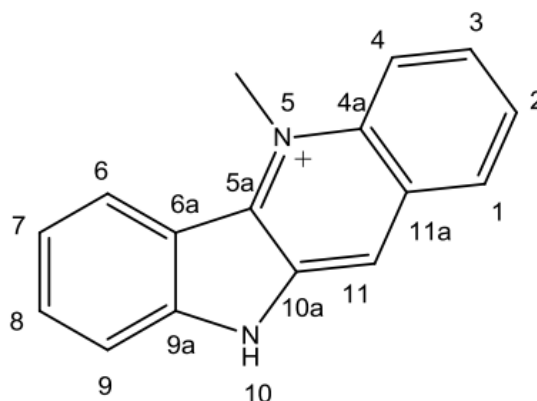
Recentemente, em estudos desenvolvidos por um grupo de pesquisadores da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), foram isolados da *Sida rhombifolia* alguns alcaloides com potencial farmacológico. Ao serem testados, demonstraram atividade antioxidante e vasorelaxante dependente de endotélio, em artérias mesentéricas isoladas de roedores. Os alcaloides indoquinolínicos, isolados da *S. rhombifolia*, foram a criptolepinona e o sal de criptolepina (CHAVES et. al., 2013; 2017).

Nesse contexto, observando os estudos toxicológicos (agudo e crônico) com o extrato etanólico bruto (EEB) de *Sida rhombifolia*, bem como o estudo toxicológico de suas frações, dentre elas, a fração hidroalcoólica, a qual é necessária para que se origine a fração alcaloídica (RAMALHO, 2019), além das considerações sobre a atividade vasorrelaxante dos alcaloides de indoquinolina (CHAVES, 2013; 2017) surgiu a necessidade de se realizar mais estudos farmacológicos com suas respectivas frações para uma melhor análise dos seus respectivos efeitos.

Sendo assim, a fração alcaloídica da *S. rhombifolia*, nosso objeto de estudo, obtida através do EEB das partes aéreas da planta e, testada para a presença de alcaloides com os reagentes Dragendorff e Bouchardat, irá conter os alcaloides criptolepinona e o sal de criptolepina, já mencionados anteriormente (CHAVES et. al., 2013).

Figura 10. Estruturas químicas dos alcaloides bioativos encontrados em *Sida rhombifolia*.





Sal de Criptolepina

Fonte: CHAVES et al., 2013.

3.3 Doenças cardiovasculares e a Cardiotoxicidade

No cenário brasileiro, as doenças cardiovasculares (DCV) são especificamente uma parcela alarmante, representando 27% do total de óbitos e estabelecendo-se como a principal causa de morte na população do país (Oliveira *et al.*, 2020). De acordo com a Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC), as doenças cardiovasculares são uma das causas de morte no Brasil e no mundo, levando ao aumento da morbidade e ao ano de vida ajustado por incapacidade (DALY) (PRÉCOMA *et al.*, 2019).

As taxas de morbidade e mortalidade são elevadas, impactando cerca de 1,2 bilhão de indivíduos em todo o mundo. Surpreendentemente, apenas 14% conseguem manter essas condições sob controle, e a prevalência aumenta significativamente com o avanço da idade, resultando na morte prematura de milhões de pessoas a cada ano (OMS, 2022). As doenças cardiovasculares são um grupo de condições que afetam o coração e os vasos sanguíneos, incluindo doenças como hipertensão, aterosclerose, infarto do miocárdio e insuficiência cardíaca e, por isso, são considerados as principais causas de morbidade e mortalidade no mundo (OPRAIL *et al.*, 2019).

A cardiotoxicidade está vinculada a danos progressivos na função e na estrutura cardíaca (WU *et al.*, 2017). O coração passa por um processo de remodelação estrutural e funcional em decorrência de diversos estímulos, sejam

eles fisiológicos ou patológicos. Essas modificações são consideradas patológicas quando ocorrem em resposta a condições como hipertensão, isquemia, danos decorrentes de isquemia/reperfusão, estresse, hiper-ativação neuro-hormonal e sobrecarga pós-carga (WU *et al.*, 2017).

Inicialmente, as alterações são uma resposta adaptativa do coração para se adaptar ao estresse hemodinâmico. Entretanto, a elevação crônica de pressão, dentre outros sinais, leva ao remodelamento cardíaco patológico (GOLDSMITH; BORG, 2002; PORTER; TURNER, 2009; SOUDERS *et al.*, 2012; WORONIECKI *et al.*, 2017). Este remodelamento patológico é inicialmente desencadeado com o objetivo de mitigar o estresse na parede ventricular, buscando preservar temporariamente a função cardíaca. Gradualmente, esse processo evolui para uma sequência de modificações que culminam em insuficiências cardíacas e, eventualmente, resultam em óbito (NAKAMURA; SADOSHIMA, 2018).

Dentre as primeiras manifestações visíveis de danos cardíacos, incluem-se a hipertrofia do ventrículo esquerdo (HVE) e o comprometimento da função ventricular (FU *et al.*, 2014; MESSERLI; RIMOLDI; BANGALORE, 2017). A hipertrofia ventricular esquerda (HVE) surge como uma resposta característica à sobrecarga de pressão ou a estados patológicos que intensificam o estresse na parede cardíaca (SOUDERS *et al.*, 2012). Com a manutenção prolongada desta sobrecarga, a disfunção ventricular avança, resultando no desenvolvimento de um remodelamento concêntrico do ventrículo esquerdo. Além disso, é importante salientar que a HVE está associada a hipertrofia dos cardiomiócitos e, normalmente está associado a um aumento da espessura do ventrículo (MESSERLI; RIMOLDI; BANGALORE, 2017a; NAKAMURA; SADOSHIMA, 2018; SHIMUZI; MINAMINO, 2016; WU *et al.*, 2017).

Pacientes em tratamento oncológico experimentaram eventos adversos que impactam diretamente sobre o sistema cardiovascular devido às terapias quimioterápicas. É natural, portanto, que os indivíduos ao enfrentarem esse diagnóstico e iniciarem o tratamento antineoplásico tornem-se suscetíveis a uma variedade de efeitos colaterais. Dessa forma, a cardiotoxicidade decorrente do uso de certos agentes quimioterápicos emerge como um dos fatores de risco associados ao tratamento, exigindo uma monitorização constante e análise cuidadosa, considerando o estado clínico do paciente (KALIL *et al.*, 2011).

3.4 Antraciclinas: Mecanismos de ação e a cardiotoxicidade

As antraciclinas são uma classe de antibióticos antitumorais que têm propriedades citotóxicas, sendo frequentemente utilizadas como agentes quimioterápicos no tratamento de diversos tipos de câncer, incluindo câncer de mama, leucemia e linfoma. Exemplos de antraciclinas são a doxorrubicina, daunorrubicina, epirubicina, mitoxantrona e idarrubicina. Essas substâncias funcionam interferindo com a replicação do DNA e a síntese de RNA nas células cancerosas, inibindo assim seu crescimento e proliferação. E, apesar de sua eficácia no tratamento do câncer, as antraciclinas podem causar efeitos colaterais significativos, especialmente cardiotoxicidade, o que limita sua utilização em alguns casos (Cruz, M. et al., 2016).

Estudos mostram que existem três tipos de mecanismos de ação distintos, para esses fármacos. O principal e mais relevante envolve a inibição da enzima topoisomerase II, impedindo a replicação do DNA, e resultando na quebra dos filamentos na fita de DNA. O segundo mecanismo se dá pela modificação da fluidez e transporte de íons na membrana celular, comprometendo a atividade celular. O terceiro e último mecanismo ocorre por estresse oxidativo, pela promoção da síntese de radicais livres de oxigênio e peroxidação lipídica, desencadeados por uma reação enzimática, ocasionando danos no DNA (ALMEIDA et al., 2005; ARMENIAN; BHATIA, 2018). Ainda assim, a ciência, apesar de muito avançada quanto ao conhecimento sobre a cardiotoxicidade gerada pelas antraciclinas, não traz exatidão sobre o mecanismo pelo qual ocorre a indução desse efeito (AGUNBIADE; ZAGHLOL; BARAC, 2019).

Inúmeras já foram as teorias sobre o mecanismo da toxicidade miocárdica induzida pelas antraciclinas. Desde a inibição da replicação de DNA e transcrição de RNA, ao dano do DNA causado por radicais livres, peroxidação lipídica e alquilação ou uma inibição da topoisomerase II, entre outras hipóteses (WANG et al., 2021). Em 1976, acreditava-se que a ligação da doxorrubicina ao DNA da célula cardíaca promoveu alteração na síntese proteica e consequentes alterações funcionais e estruturais nos cardiomiócitos. Tal fato foi observado em um estudo, no qual, após 14 horas de administração do fármaco, foram registradas áreas de degeneração focal, caracterizadas por lesão mitocondrial e alargamento das cisternas do retículo sarcoplasmático

(LAMBERTENGHI-DELILIERS et al., 1976).

Atualmente, a teoria sobre o mecanismo da cardiomiopatia induzida pelas antraciclinas está sendo amplamente associada ao impacto significativo que essas substâncias exercem sobre a respiração mitocondrial e a integridade dos cardiomiócitos, promovendo a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) (SCHIRONE; TOLDO; CIANFLONE; SALA; GRECO, 2022). As EROs promovem danos à membrana celular cardíaca, alterando a sua permeabilidade. Essa alteração interfere no metabolismo do cálcio intracelular, levando a um aumento na concentração desse íon. Esse processo ativa mecanismos que desencadeiam peroxidação lipídica, modificações na permeabilidade da membrana celular e danos ao DNA/RNA, resultando em apoptose celular e formação de tecido fibroso (AGUNBIADE; ZAGHLOL; BARAC, 2019).

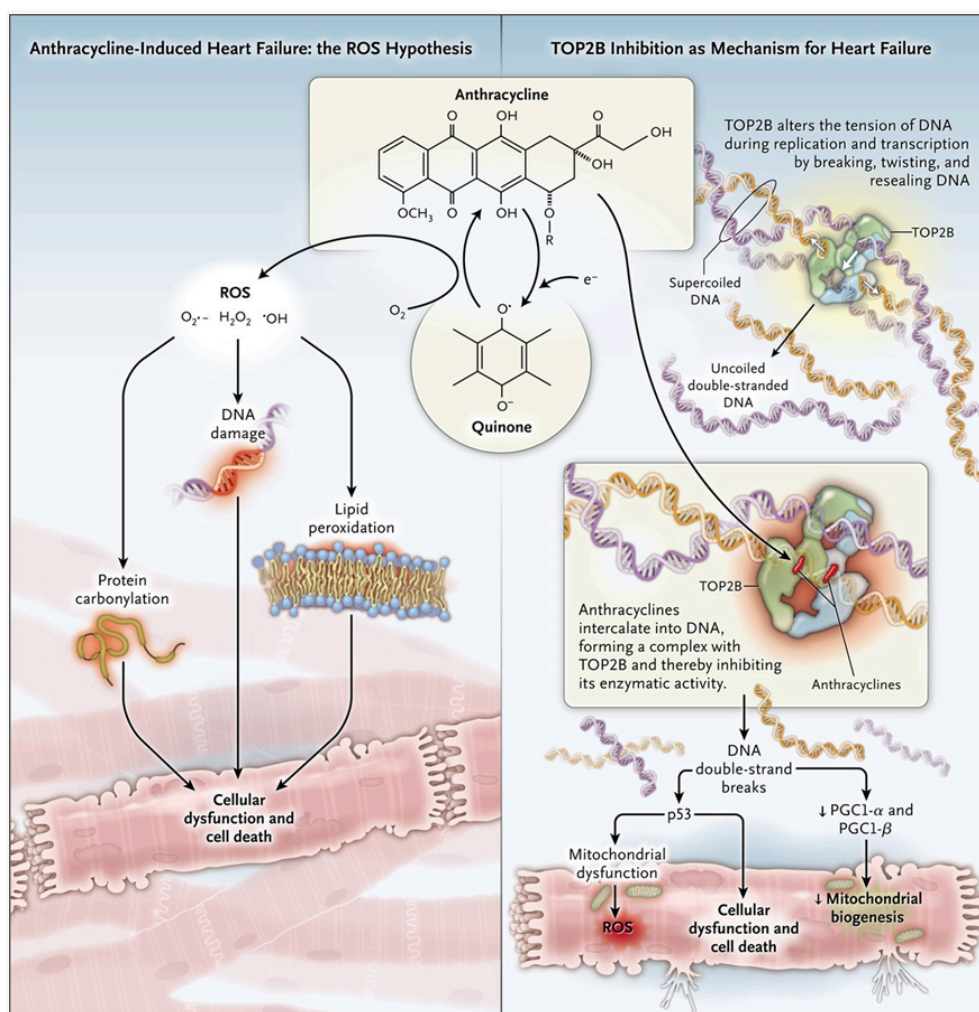
Além disso, as EROs podem interagir com DNA mitocondrial, entre outros, impactando a função mitocondrial e diminuindo as reservas de energia celular. A elevada concentração de mitocôndrias nos miócitos cardíacos, combinada com a capacidade de aumentar sua produção em resposta à hipertrofia, pode predispor o coração à uma maior toxicidade que outros tecidos corporais (AGUNBIADE; ZAGHLOL; BARAC, 2019).

Efeitos agudos ou subagudos da quimioterapia com as antraciclinas podem incluir alterações cardíacas temporárias, como arritmias e disfunção ventricular, detectáveis por eletrocardiografias. Esses eventos podem ocorrer desde o início do tratamento até duas semanas após a sua conclusão, são relativamente raros e, podem ser reversíveis após a interrupção do tratamento. A cardiotoxicidade crônica, manifestando-se precocemente ou tardiamente após a quimioterapia, pode levar à disfunção cardíaca grave e até mesmo à morte. Embora alguns estudos sugiram a possibilidade de prever o risco e a gravidade da disfunção ventricular através de lesões agudas no miocárdio, a relação entre a toxicidade aguda e crônica ainda não está totalmente esclarecida. O diagnóstico de disfunção cardíaca relacionada à terapia oncológica é geralmente baseado na avaliação de sintomas, exames físicos, exames clínicos e parâmetros de função ventricular (LANCELLOTTI P. et al., 2015; CARDINALE D. et al., 2000; ALBINI A. et al., 2010; PLANA JC. et al., 2014).

Existem fatores de risco que podem aumentar a predisposição à cardiotoxicidade causada por essa categoria. Estes podem estar associados a dose cumulativa do medicamento, a taxa de infusão, a combinação com outras

substâncias tóxicas, o sexo (feminino), a faixa etária (18 a 65 anos), distúrbios eletrolíticos como hipocalcemia e hipomagnesemia e a existência de condições cardiovasculares preexistentes (ADÃO et al., 2012 e 2013; HAJJAR et al., 2020).

Figura 11. Mecanismos de ação referente às lesões causadas pelas antraciclina nas células cardíacas.

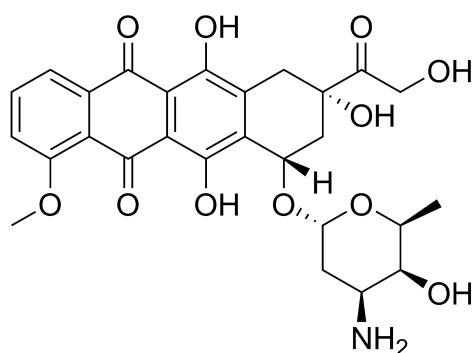


Legenda: O modelo clássico de cardiotoxicidade das antraciclina envolve a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) pela porção quinona comum a todas as antraciclina. Um modelo alternativo, apoiado por um estudo de Zhang (Zhang et al., 2012), postula que a toxicidade é causada pela inibição da função da topoisomerase II beta (TOP2B) pelas antraciclina. Sem TOP2B funcional, ocorrem quebras de DNA de fita dupla, levando a eventos como a ativação da proteína supressora de tumor p53, disfunção mitocondrial e geração de ERO que resultam na morte de células cardíacas. Na imagem, as atividades de PGC1- α e PGC1- β descritas, foram reduzidas. Estes, são coativadores 1 α e 1 β do receptor ativado por proliferador de peroxissoma, que estimulam a biogênese mitocondrial, entre outras funções. (Fonte: Sawyer, 2013).

3.4.1 Doxorrubicina e a Cardiotoxicidade

O cloridrato de doxorrubicina ou adriamicina (figura 12) é uma substância obtida e isolada de culturas de *Streptomyces peucetius* var. *caesius*, representando uma das primeiras antraciclinas que, até hoje, mantém sua relevância na oncologia. Atualmente, ela desempenha um papel fundamental como agente antineoplásico no tratamento de tumores sólidos e neoplasias sanguíneas, demonstrando resultados significativos. Entretanto, apesar de sua eficácia no combate ao câncer, a doxorrubicina acarreta como efeito colateral predominantemente a cardiotoxicidade (MINOTTI et al., 2004; FERREIRA et al., 2007; MATSUBARA & FERREIRA, 2005). Esse aspecto limita seu uso, uma vez que tal efeito adverso pode resultar em complicações fatais para os pacientes. Sendo assim, como complemento ao tratamento, exames de ecocardiografia são trabalhados para monitorar a progressão da cardiotoxicidade (WALKER, 2013; WANG et al., 2021).

Figura 12. Estrutura química da Doxorrubicina.



Fonte: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=4150016> - Acesso em 28/11/2023.

A toxicidade cardíaca, que pode ocorrer de três formas: crônica, subaguda e aguda. Na sua forma crônica, pode manifestar-se com quadro clínico típico de insuficiência cardíaca, o qual se desenvolve de semanas a meses após o término da quimioterapia, apresentando-se em pacientes que receberam uma dose total maior que 550 mg/m². A cardiotoxicidade é uma das formas de toxicidade crônica mais conhecida e estudada, devido às repercussões clínicas importantes. Embora mais rara, a toxicidade cardíaca subaguda é descrita como ocorrendo em dias a semanas, e manifesta-se como pericardite e/ou miocardite (STEINHERTZ et al., 1991).

A toxicidade aguda, por sua vez, ocorre durante o tratamento e pode, por vezes, ser assintomática. Quando se manifesta clinicamente são observadas alterações eletrocardiográficas, como alterações inespecíficas da repolarização ventricular, complexos de baixa voltagem, taquicardia sinusal, extra-sístoles ventriculares e supraventriculares e prolongamento do segmento QT (VILLANI et al., 1985). Essas alterações inespecíficas não implicam, necessariamente, na suspensão do tratamento. Recentemente, em análises dos efeitos agudos, por ecocardiografia, observou-se a ocorrência de disfunção ventricular sistólica e diastólica induzidas pela doxorubicina (SOUZA, et. al., 2009).

Assim sendo, pensando em prevenir a morte de cardiomiócitos e preservar a função cardíaca no tratamento para a cardiotoxicidade, pesquisas mostram que há um enorme interesse no uso de produtos naturais com finalidades terapêuticas, para o manejo de doenças cardiovasculares e a preservação do desempenho cardíaco (MALBOUISSON et al., 2005; MITREGA et al., 2017; HAN, et al., 2017).

3.5 Bioprospecção de Produtos Vegetais e Estudos Toxicológicos

O desenvolvimento de drogas tem como objetivo desenvolver um novo fármaco para o mercado onde envolve a descoberta de novas fontes ou síntese, desenvolvimento de estudos não clínicos (avaliações químicas, biológicas, farmacológicas, toxicológicas, segurança), desenvolvimento de estudos clínicos (fase I a III), lançamento no mercado e pós-comercialização. As informações obtidas por todos esses processos ajudam a indústria farmacêutica a desenvolver um medicamento mais seguro e eficaz (FDA, 2016; PhPHARMA, 2016).

Os estudos de toxicologia no processo de descoberta de medicamentos são utilizados para avaliar a segurança de futuros candidatos a novos fármacos. A finalidade é conseguir respostas em animais para que se possa ter uma compreensão dos riscos aos seres humanos. A segurança é fundamental desde o processo de seleção de candidatos a novos fármacos até passarem por testes clínicos (SOST, 2006; PARASURAMAN, 2011).

Durante testes de toxicidade não clínica, investigações sobre os efeitos farmacológicos e a toxicidade dos candidatos a fármacos devem ser efetuados, bem como a investigação sobre a absorção e metabolismo, a toxicidade dos metabólitos das drogas, volume de distribuição e a velocidade de excreção da droga e de seus metabólitos. Esses estudos são utilizados para selecionar drogas para os estudos clínicos de fase I, fornecendo informações sobre possíveis efeitos secundários minimizando o risco de estes efeitos aparecerem em ensaios clínicos (DE BRUIN et al., 2009).

No campo da toxicologia, os modelos *in vivo* e *in vitro* são comumente reconhecidos como abordagens convencionais para avaliar a toxicidade de produtos químicos em organismos vivos. Os dados obtidos desses modelos nos fornecem informações sobre exposição em contextos de uso e consumo humano. No entanto, esses métodos apresentam limitações devido às diferenças no comportamento, fisiologia e ambiente, tanto entre animais quanto em humanos (BLAAUBOER, 2017; HARTUNG, T.; GEORGE D., 2009).

Uma abordagem em ascensão que visa prever a toxicidade de compostos químicos nos ecossistemas, poupando tempo e recursos, além de contornar questões éticas, é a utilização de metodologias *in silico*. O termo "*in silico*" sugere simulações computacionais como referência a experimentos biológicos. Essa modelagem representa um avanço significativo nos estudos toxicológicos, especialmente na predição de riscos, utilizando uma variedade de abordagens metodológicas, como o admetSAR (ALVES, et al., 2023).

A abordagem *in silico* na pesquisa pré-clínica oferece benefícios, como tempos de resposta mais rápidos, custos reduzidos e isenção de preocupações éticas presentes em estudos *in vivo*. Além disso, tem a capacidade de prever a toxicidade potencial de uma substância, facilitando a definição de doses para estudos tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Esse método proporciona uma alternativa eficaz na avaliação da toxicologia preditiva (PARTHASARATHI; DHAWAN, 2018).

A ferramenta de predição farmacocinética, AdmetSAR, realiza o cálculo das propriedades físico-químicas e as associa com a farmacocinética do composto em questão fornecendo insights sobre a absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade da substância no organismo humano (OGIDIGO, et al., 2018).

As empresas farmacêuticas irão exigir todo o estudo toxicológico e farmacológico, que comprovem as ações na qual se pretende utilizar o futuro fármaco, bem como avaliações toxicológicas de dose única (aguda) ou de doses repetidas (PARASURAMAN, 2011). Nos ensaios *in vivo*, a toxicidade de doses repetidas tem como objetivo avaliar os possíveis efeitos toxicológicos de uma substância quando a mesma é administrada em mais doses durante um período superior a 24 horas. Nos dias seguintes os animais são observados, pelo menos uma vez ao dia, e ao final eutanasiados para autópsias verificando se houve alterações nos órgãos, como é preconizado, por exemplo, na OECD 407 (BRASIL, 2004; OECD 407, 2008).

Nos estudos de toxicidade de doses repetidas da OECD 407, pode ser caracterizado o perfil da substância através da administração repetida durante 28 dias, obtendo informações sobre efeitos tóxicos, bem como órgãos alvos, efeitos na fisiologia do animal, hematologia, bioquímicas e histopatologia. Ainda, poderão ser utilizadas 3 doses, sendo a mais alta escolhida com expectativa de produzir efeitos tóxicos, porém sem causar sofrimento aos animais. As demais doses, devem ser estabelecidas em um sistema decrescente de intervalos de 2 a 4 vezes (BRASIL, 2004).

Assim sendo, os estudos toxicológicos com drogas vegetais que apresentam potencial terapêutico são de grande relevância, uma vez que a validação do seu uso pode significar o uso seguro e a ampliação de novas opções terapêuticas. E, portanto, diante do potencial antioxidante encontrado nos alcaloides da *Sida rhombifolia*, e o desequilíbrio entre o sistema antioxidante e o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), surge a necessidade de testar estes alcaloides, toxicologicamente e farmacologicamente, na perspectiva de verificar possíveis efeitos tóxicos e promover a prospecção de um medicamento fitoterápico com atividade cardioprotetora.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

O presente estudo busca avaliar os efeitos farmacológicos e toxicológicos da fração alcaloídica obtida da *Sida rhombifolia*.

4.2 Objetivos Específicos

- Obtenção da fração alcaloídica (FrAlc) da *Sida rhombifolia*;
- Análise farmacocinética do estudo *in silico* com o sal da criptolepina e a criptolepinona, dois alcaloides presentes na fração alcaloídica da *Sida rhombifolia*;
- Realizar ensaio toxicológico subcrônico em camundongos Swiss machos e fêmeas em doses repetidas de fração alcaloídica (200 mg/kg), com base na OECD 407;
- Avaliação ponderal e alimentar dos animais tratados com a FrAlc;
- Análise bioquímica e hematológica após o tratamento com a FrAlc;
- Investigação do efeito cardioprotetor da FrAlc em modelo animal de cardiotoxicidade induzida pela Doxorubicina;

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Substâncias teste

Foi utilizado um frasco de cloridrato de Doxorubicina 50 mg de lote 658138A da Eurofarma, onde parte foi pesada, reconstituída em água destilada e diluída em soro fisiológico 0,9% para a indução da cardiotoxicidade, obtendo uma

concentração de 2 mg/ml, administrado 1 vez por semana, via IP, durante 4 semanas, totalizando uma dose administrada de 8 mg/ml, sendo ajustado para cada animal de acordo com o peso (0,1ml para cada 10g).

Para o tratamento, foi utilizada a fração alcaloídica da *Sida rhombifolia* na concentração de 200 mg/kg reconstituído em DMSO 10%, e administrado 0,5 ml para cada animal, diariamente, no período de 28 dias. Para a obtenção da fração, esperamos o período de chuvas iniciar para fazer a coleta da planta e iniciar todo o processo de produção do extrato etanólico bruto e, a partir dele, a fração de alcaloides. Todo o processo ocorreu em parceria com a equipe do Laboratório de Fitoquímica Raimundo Braz Filho (IpeFarM- UFPB).

5.1.1 Produção do extrato etanólico bruto (EEB)

Para a produção do extrato etanólico bruto (EEB), a coleta do material botânico foi realizada na primeira quinzena do mês de abril de 2023, em Santa Rita - PB. Um total de 10,8 kg da planta fresca foi coletado e, a partir dessa coleta, foi retirada uma exsicata da planta, para catalogação e identificação botânica da *Sida rhombifolia*, pela Prof^a Maria de Fátima Agra.

Em seguida, o material coletado foi colocado para desidratar a 40°C em uma estufa com ar circulante, por 3 dias. Após secagem, a planta foi submetida ao processo de trituração, obtendo-se 3,751 kg do pó da planta. O pó obtido foi submetido ao processo de maceração, utilizando-se como solvente etanol a 95%. Foram realizadas 5 extrações, com renovação de solvente a cada 72 horas.

Após a maceração, as soluções extrativas obtidas foram concentradas em evaporador rotativo à pressão reduzida e temperatura entre 40-50 °C. . O extrato obtido foi seco em dessecador, resultando em um total de 400g de EEB, o qual foi utilizado para obter a fração de alcaloides totais.

5.1.2 Obtenção da fração de alcaloides totais (FAT)

Para a FAT, após obtenção de 400 g de extrato etanólico bruto (EEB) já concentrado, o mesmo foi solubilizado em alíquotas de HCL a 3% e foi deixado em agitação mecânica por alguns minutos até completa dissolução. A solução obtida,

formada por sais de alcalóides, foi levada à filtração no funil de Buchner a vácuo e com celite. O filtrado foi levado para a ampola de separação, onde adicionou-se clorofórmio para formar a fase clorofórmica ácida (FCA), que ao ser separada gerou o extrato etanólico aquoso ácido (EEAA).

Posteriormente, o EEAA foi basificado em hidróxido de amônio (NH_4OH), até obter uma solução de pH 9,0-10,0. Após basificar a solução, esta foi adicionada à ampola de separação e, foi adicionado clorofórmio para separar a fração de alcaloides totais (FAT) do extrato etanólico aquoso básico (EEAB). Importante destacar que, durante a separação, foram feitos os testes de Bouchardat e Dragendorff, para verificar a presença de alcaloides em alguns momentos e, até o final da separação, quando já não se observaria precipitados, indicando que não havia mais a presença de alcaloides na solução testada.

Após isso, tanto a FCA, quanto a FAT, foram lavadas com água destilada para remover o excesso de ácido e base. Após a lavagem, a FAT foi concentrada em rotaevaporador e, em seguida, passou pelo processo de secagem em estufa (por 7 dias).

5.2 Estudo não-clínico *in silico*

5.2.1 Ensaios Toxicológicos *in silico*

Para predição teórica dos alcaloides, criptolepinona e sal de criptolepina, compostos majoritários, presentes na fração alcaloídica da *S. rhombifolia*, foi utilizado o software *Molinspiration Online Property Calculation Toolkit* para triagem *in silico*, e a ferramenta admetSAR, visando avaliar as propriedades físico-químicas, farmacocinéticas, toxicológicas e atividade biológica das substâncias em importantes alvos farmacológicos de drogas.

Foram calculadas as propriedades moleculares utilizando a regra dos cinco de Lipinski, no software mencionado acima, que estabelece parâmetros estruturais relevantes para a predição teórica do perfil de biodisponibilidade oral, tais como: número de grupos aceptores de ligação hidrogênio (nALH) menor ou igual a 10; número de grupos doadores de ligação hidrogênio (nDLH) menor ou igual a 5; massa molecular (MM) menor ou igual a 500 g/mol; coeficiente de partição

octanol-água (millog P) menor ou igual a 5; área de superfície polar (PSA) menor ou igual a 140 (SILVA, 2015).

Para avaliação dos parâmetros farmacocinéticos e toxicológicos teóricos (ADMET – Absorção, Distribuição, Metabolização, Excreção e Toxicidade) utilizou-se a ferramenta admetSAR, com o objetivo de analisar a viabilidade das substâncias a partir de suas propriedades físico-químicas. Os parâmetros avaliados foram a permeabilidade à barreira hematoencefálica, permeabilidade às células Caco-2, absorção intestinal, atuação como substratos e inibidores das enzimas do complexo citocromo P450 e como inibidor do transporte renal de cátions, relacionados à absorção, toxicidade e metabolização (SOUZA, 2019).

5.3 Ensaios não-clínicos *in vivo*: Toxicológico e Farmacológico

5.3.1 Delineamento do estudo toxicológico subcrônico

O estudo de toxicidade subcrônico foi baseado nas diretrizes da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD 407) que preconiza o estudo de toxicidade oral, de dose repetida de 28 dias em roedores, no qual ocorre a condução do estudo de toxicologia não clínica e estudos de segurança farmacológica para o desenvolvimento de medicamentos (OECD 407, 2008).

Este método fornece insights sobre os riscos potenciais à saúde decorrentes da exposição à substância em análise, a fração alcaloídica, por administração oral. A abordagem consiste na administração oral repetida ao longo de um período limitado (uma dose diária por 28 dias). Este protocolo é direcionado principalmente ao uso em roedores, com um mínimo de 10 animais (5 fêmeas e 5 machos)(OECD 407, 2008).

A administração do composto em estudo foi realizada por gavagem. O relatório resultante desse estudo abrangerá observações clínicas e funcionais, registros de peso corporal e consumo de alimentos/água, além de análises hematológicas, bioquímicas, e avaliações macroscópicas e histopatológicas durante uma necropsia.

Após a aprovação do projeto na Comissão de Ética no Uso de Animais (protocolo 4474200520), camundongos Swiss, sendo 5 machos e 5 fêmeas por

grupo, receberam um tratamento de 200mg/Kg da fração alcaloídica por via oral/gavagem (grupo sida). Para o grupo doxo, a doxorubicina foi reconstituída em água destilada e diluída em soro fisiológico 0,9%, sendo administrado 1 vez por semana, via IP, durante 4 semanas, totalizando uma dose administrada de 8 mg/ml. Para o grupo doxo, foram 6 machos e 6 fêmeas devido a probabilidade de ocorrer mais mortes.

Após a administração, foram observados os efeitos gerais apresentados pelos animais, uma vez ao dia, sempre no mesmo horário, nos 28 dias que se seguiram. Tudo isso, com o objetivo de mapear possíveis alterações toxicológicas (ALMEIDA et al., 1999).

Dois grupos também com 10 animais (5 machos e 5 fêmeas), cada um, foram tratados apenas com os veículos salina e DMSO 10% (grupos controles), utilizados na diluição da doxorubicina e da fração alcaloídica da *Sida rhombifolia*, respectivamente. Assim sendo, o experimento observou comportamento e parâmetros de cinco grupos de tratamento: O grupo controle salina, o grupo controle DMSO, o grupo doxo, o grupo sida e o grupo doxo-sida. Diariamente, foram observados o consumo de água e ração, além da evolução ponderal semanal.

Os parâmetros observados foram: sinais tóxicos de caráter geral, clínicos e funcionais, mortalidade, peso e consumo de água e ração, hemograma, contagem de plaquetas e análises bioquímicas do sangue (OECD 407, 2008). Ao fim do período de observação, todos os animais sobreviventes foram eutanasiados por meio de uma injeção de cetamina (300 mg/Kg) e xilazina (30 mg/Kg), segundo recomendação do CONCEA, e em seguida necropsiados.

5.3.2 Consumo de Água, Ração e Peso corporal

Este experimento avaliou o peso corporal, a ingestão de água e ração por animais machos e fêmeas, diariamente, durante um período de 28 dias. Em 4 tempos, contabilizados como tempo 1 (T1), primeiro dia de experimento, tempo 2 (T2), sétimo dia, tempo 3 (T3), décimo quarto dia de experimento e tempo 4 (T4), vigésimo oitavo dia e, ao fim do experimento, foi realizada a análise estatística dos mesmos. Os dados foram obtidos a partir do consumo por caixa de animais, tendo

em vista que os animais foram alocados em caixas, por grupo de tratamento e, não em gaiolas metabólicas individuais.

5.3.3 Análise Ecocardiográfica

Para as análises ecocardiográficas, os animais foram pesados e em seguida levados para o Laboratório de Biotecnologia Celular e Molecular da UFPB. Antes do exame, os animais receberam via intraperitoneal (ip) os anestésicos cloridrato de cetamina (70 mg/kg) e cloridrato de xilazina (7 mg/kg).

Em seguida, foi realizada a tricotomia da porção esquerda do tórax dos camundongos e, posteriormente, foi realizada a avaliação ecocardiográfica nos animais, nos modos mono (M) e bidimensional (bi), sendo as variáveis analisadas: o diâmetro diastólico, diâmetro sistólico, septo interventricular, a parede posterior do ventrículo esquerdo e fração de ejeção. Para realização do exame, os animais foram postos em decúbito dorsal e foi utilizado o equipamento modelo SonoSite M-Turbo. Para avaliar as medidas estruturais do coração foram obtidas imagens em modo monodimensional (modo-M) orientadas pelas imagens em modo bidimensional, estando o transdutor em posição paraesternal em eixo menor.

A avaliação do ventrículo esquerdo (VE) foi realizada posicionando o cursor do modo-M logo abaixo do plano da valva mitral, no eixo menor, no nível dos músculos papilares (DE SIMONE, et al., 1992). A função sistólica do VE foi avaliada pela porcentagem de encurtamento sistólico ((diâmetro diastólico - diâmetro sistólico) / diâmetro diastólico) e, a partir deste dado foi encontrado o valor da fração de ejeção (FE). Os métodos utilizados para encontrar a FE foram: método de Teichholz, método do Delta e o método de Pombo (TEICHHOLZ et al., 1976; POMBO et al., 1972).

5.3.4 Parâmetros hematológicos

As análises hematológicas foram feitas através do estudo da série vermelha (eritrograma), branca (leucograma), contagem de plaquetas e pesquisa de hematozoários. No eritrograma foi realizada a contagem de hemácias, determinação do hematócrito, da hemoglobina, do volume corpuscular médio (VCM), da

hemoglobina corpuscular média (HCM), além da concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM). No leucograma foi feita a contagem global dos leucócitos e contagem diferencial. Foi utilizado o Analisador Hematológico celular automático de uso veterinário e as lâminas coradas com panótico rápido para diferenciação e confirmação de resultados.

5.3.5 Parâmetros Bioquímicos

As análises bioquímicas foram realizadas em amostras de soro. As dosagens de lactato, uréia, cálcio, magnésio e transaminases: Aspartato Aminotransferase (AST) e Alanina Aminotransferase (ALT) foram realizadas no analisador bioquímico automatizado CHEMWELL-T.

5.4 Análise Estatística

Os dados foram organizados em uma planilha e, em seguida, os que apresentaram natureza contínua foram submetidos ao teste de normalidade de ShapiroWilk ($p > 0.05$). Os que apresentaram distribuição normal estão representados por média, desvio padrão e a comparação para entre grupos foi feita utilizando Análise de Variância (ANOVA) de uma via com post-hoc de Tukey ou pelo teste T para amostras independentes. Os dados sem distribuição normal estão apresentados por mediana e intervalo interquartilico. As variáveis do ecocardiograma, pesagem, consumo de água e consumo de ração, foram comparadas entre os tratamentos, tempo de tratamento e sexo, pelo teste de Friedman, e as variáveis da hematologia e bioquímica foram analisadas pela anova fatorial. As análises foram feitas no SPSS 20 e para as comparações adotou-se o nível de significância de 5%.

6. RESULTADOS

6.1 Obtenção da fração de alcaloides da *Sida rhombifolia*

Após todo o processo de coleta e produção, obtivemos a fração alcaloidica da Sida, na qual se observou um rendimento de 3,836 g da FAT. As figuras abaixo,

representam algumas etapas do processo de produção da FAT e a própria fração obtida.



Figura 13 - Solubilização do EEB com HCL a 3%.



Figura 14 - Filtração no funil de Buchner a vácuo, com celite.



Figura 15 - Formação da FCA e separação do EEAA.



Figura 16 - Separação da FAT do EEAB.

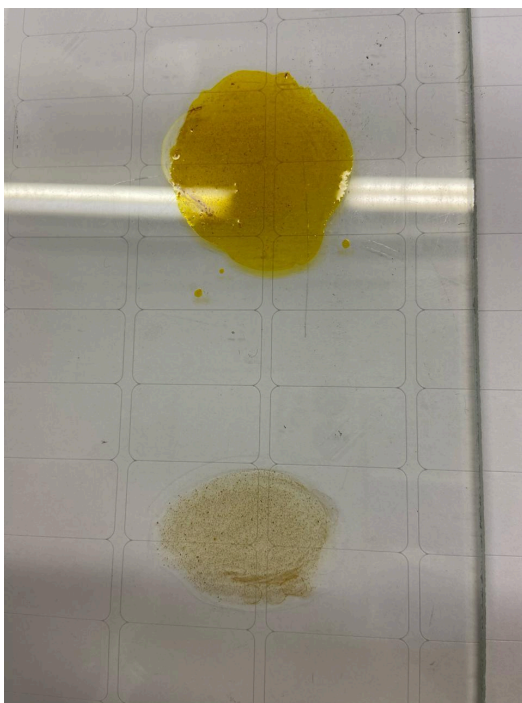


Figura 17 - Testes de Dragendorff e Bouchardat.



Figura 18 - Lavagem da FAT.

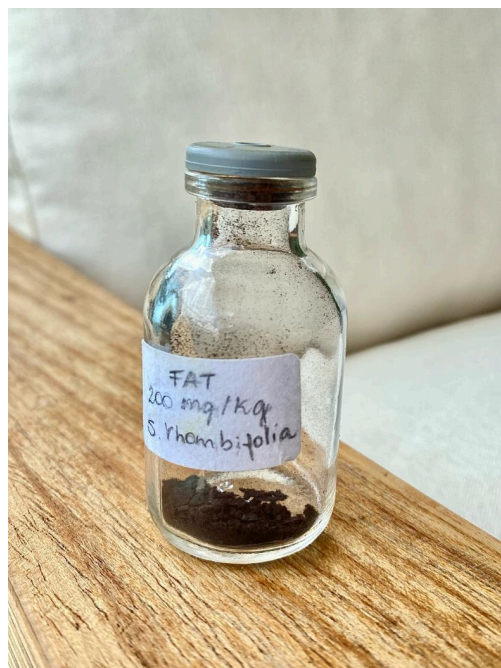


Figura 19 - Fração de alcaloides após secagem.

6.2 Dos ensaios *in silico*

O estudo farmacocinético do sal de criptolepina e da criptolepinona realizado no programa *Molinspiration Online Property Calculation Toolkit* nos permitiu observar que as moléculas estudadas seguem as 5 regras de lipinski (tabelas 1 e 2). A ferramenta AdmetSAR, nos forneceu informações sobre seus possíveis locais de absorção, distribuição, metabolização, excreção e toxicidade (ADMET). Diante dos resultados apresentados nas tabelas 1, 2, 3 e 4, o sal de criptolepina e a criptolepinona apresentaram positividade para um suposto dano na barreira hematoencefálica (BBB), bem como para o teste de absorção intestinal humana (HIA). Além disso, apresentou permeabilidade às células intestinais do tipo Caco-2. O composto também mostrou não ser substrato da glicoproteína P e nem ser inibidor da mesma, também mostrou não interferir no transporte renal de cátions orgânicos. As substâncias apresentaram, ainda, uma distribuição subcelular mitocondrial e quanto ao metabolismo, não mostraram ser substrato das enzimas CYP450 2C9, 2D6 e 3A4. Além disso, apresentaram atividade inibitória para as CYP450 1A2, 2D6 e 3A4, além de apresentarem alta promiscuidade inibitória CYP. No estudo de toxicidade, a substância mostrou ser inibidor fraco de HERG, apresentou toxicidade pelo teste de AMES, não foi classificada como carcinogênica,

não é biodegradável e foi classificada na categoria III de toxicidade oral aguda, com o sal da criptolepina apresentando uma DL50 de 2.2183 mol/Kg e a criptolepinona com DL50 de 2.0021 mol/kg.

Tabela 1 - Resultado das propriedades moleculares pelo software Molispiration, para o sal de criptolepina.

Parâmetros	Resultados	Valores de referência
nALH	2	≤ 10
nDLH	0	≤ 5
milog P	3,86	≤ 5
Massa molecular	232,29	≤ 500 g/mol
TPSA	17,83	≤ 140

Tabela 2 - Resultado das propriedades moleculares pelo software Molispiration, para a criptolepinona.

Parâmetros	Resultados	Valores de referência
nALH	3	≤ 10
nDLH	1	≤ 5
milog P	2,57	≤ 5
Massa molecular	248,28	≤ 500 g/mol
TPSA	37,8	≤ 140

Tabela 3 - Propriedades de classificação ADMET, calculadas no software admetSAR, para o sal de criptolepina.

Modelos	Resultados
Absorção	
Barreira Hematoencefálica	BBB+ (94%)
Absorção Intestinal Humana	HIA+ (91%)
Permeabilidade Caco-2	Caco2+ (57%)
Substrato de glicoproteína P	NS (64%)

Inibidor da glicoproteína P	NI (90%)
Transportador Renal de Cátions Orgânicos	NI (59%)
Distribuição	
Localização subcelular	Mitocôndria (76%)
Metabolismo	
Substrato CYP450 2C9	NS (80%)
Substrato CYP450 2D6	NS (80%)
Substrato CYP450 3A4	NS (63%)
Inibidor CYP450 1A2	I (69%)
Inibidor CYP450 2C9	NI (94%)
Inibidor CYP450 2C19	NI (88%)
Inibidor CYP450 2D6	I (82%)
Inibidor CYP450 3A4	I (64%)
Promiscuidade Inibitória CYP	Alta (74%)
Toxicidade	
Mutagênese AMES	AMES + (86%)
Carcinogenicidade	NC (96%)
Biodegradação	NB (97%)
Toxicidade Oral Aguda	III (74%)
Regressão - DL50, mol/kg	
Toxicidade Oral Aguda	2.2183

Fonte: Dados da autora em colaboração com o prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho, 2023. Legenda: I – inibe ; NI – não inibe; NS – não substrato; S – substrato; NC – não carcinogênico; NB – não biodegradável.

Tabela 4 - Propriedades de classificação ADMET, calculadas no software admetSAR, para a criptolepinona.

Modelos	Resultados
Absorção	
Barreira Hematoencefálica	BBB+ (97%)
Absorção Intestinal Humana	HIA+ (99%)
Permeabilidade Caco-2	Caco2+ (61%)
Substrato de glicoproteína P	NS (59%)
Inibidor da glicoproteína P	NI (72%)
Transportador Renal de Cátions Orgânicos	NI (60%)
Distribuição	
Localização subcelular	Mitocôndria (83%)
Metabolismo	
Substrato CYP450 2C9	NS (75%)
Substrato CYP450 2D6	NS (66%)
Substrato CYP450 3A4	NS (53%)
Inibidor CYP450 1A2	I (88%)
Inibidor CYP450 2C9	NI (92%)
Inibidor CYP450 2C19	NI (87%)
Inibidor CYP450 2D6	I (52%)
Inibidor CYP450 3A4	I (55%)
Promiscuidade Inibitória CYP	Alta (65%)
Toxicidade	
Mutagênese AMES	AMES + (79%)
Carcinogenicidade	NC (97%)

Biodegradação	NB (98%)
Toxicidade Oral Aguda	III (67%)
Regressão - DL50, mol/kg	
Toxicidade Oral Aguda	2.0021

Fonte: Dados da autora em colaboração com o prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho, 2023. Legenda: I – inibe ; NI – não inibe; NS – não substrato; S – substrato; NC – não carcinogênico; NB – não biodegradável.

6.3 Dos aspectos toxicológicos da experimentação *in vivo*

6.3.1 Curva de Mortalidade

No presente estudo não ocorreram mortes para os grupos controle e para o grupo que foi submetido apenas ao tratamento com a fração alcaloídica obtida da *Sida rhombifolia*. No entanto, obtivemos mortes nos grupos que receberam as doses cumulativas de doxorrubicina, tanto com os camundongos machos, quanto os camundongos fêmeas (tabelas 5 e 6). O tratamento com a FrAlc foi capaz de reduzir em cerca de 50% a morte pela Dox. Os resultados podem ser observados nas tabelas abaixo.

Tabela 5 - Taxa de mortalidade dos camundongos swiss fêmeas.

Grupos Experimentais	Taxa de mortalidade (%)
Controle salina	0
Controle DMSO	0
Grupo Doxo	83,3
Grupo Sida	0
Grupo Sida-Doxo	40

Legenda: Foi utilizado um N amostral de 5 animais por grupo, com exceção do grupo Doxo, que teve um N amostral de 6 animais, devido ao seu potencial toxicológico.

Tabela 6 - Taxa de mortalidade dos camundongos swiss machos.

Grupos Experimentais	Taxa de mortalidade (%)
Controle salina	0
Controle DMSO	0
Grupo Doxo	100
Grupo Sida	0
Grupo Sida-Doxo	60

Legenda: Foi utilizado um N amostral de 5 animais por grupo, com exceção do grupo Doxo, que teve um N amostral de 6 animais, devido ao seu potencial toxicológico.

6.3.2 Avaliação do peso corporal e do consumo de água e ração

A ingestão de água e ração foi medida diariamente durante os 28 dias de tratamento e os animais foram pesados 1 vez por semana. Quanto ao consumo de ração (gráfico 3), tanto dos machos quanto das fêmeas, não foi possível observar diferença estatística entre os grupos tratados. Entretanto, no que se refere ao consumo de água (gráfico 4), foi observado uma redução para o grupo doxo ao compará-lo com grupo controle salina, tanto nos camundongos machos quanto nos camundongos fêmeas, no período de 14 e 21 dias. E, ao analisar o período que totaliza 28 dias de tratamento, foi observado esta redução apenas nos camundongos machos do grupo doxo em comparação ao controle salina. E, para o peso corporal dos machos e das fêmeas (gráficos 1 e 2), o software estatístico mostrou que entre o período de 21 a 28 dias houve diferença estatística, para os machos e as fêmeas grupo doxo-sida que apresentaram uma redução do peso, quando comparado aos grupos controles (salina e DMSO) e ao grupo sida. Os resultados podem ser observados nos gráficos abaixo.

Gráfico 1. Peso corporal dos camundongos machos, dividido por tempo e grupo de tratamento.

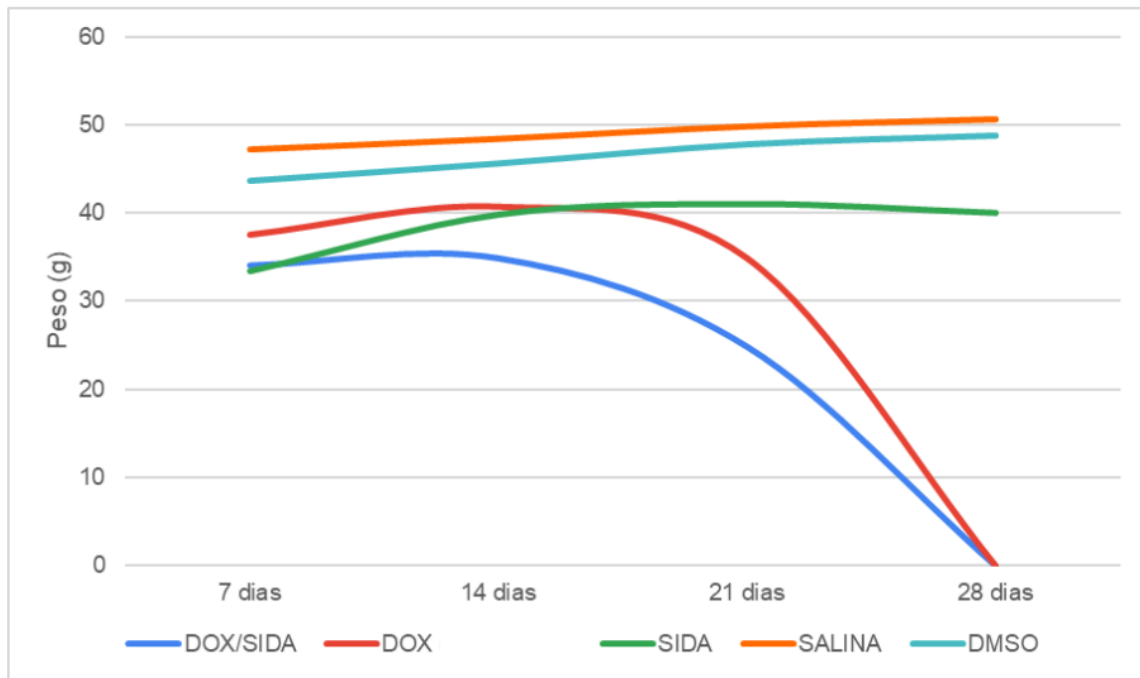


Gráfico 2. Peso corporal dos camundongos fêmeas, dividido por tempo e grupo de tratamento.

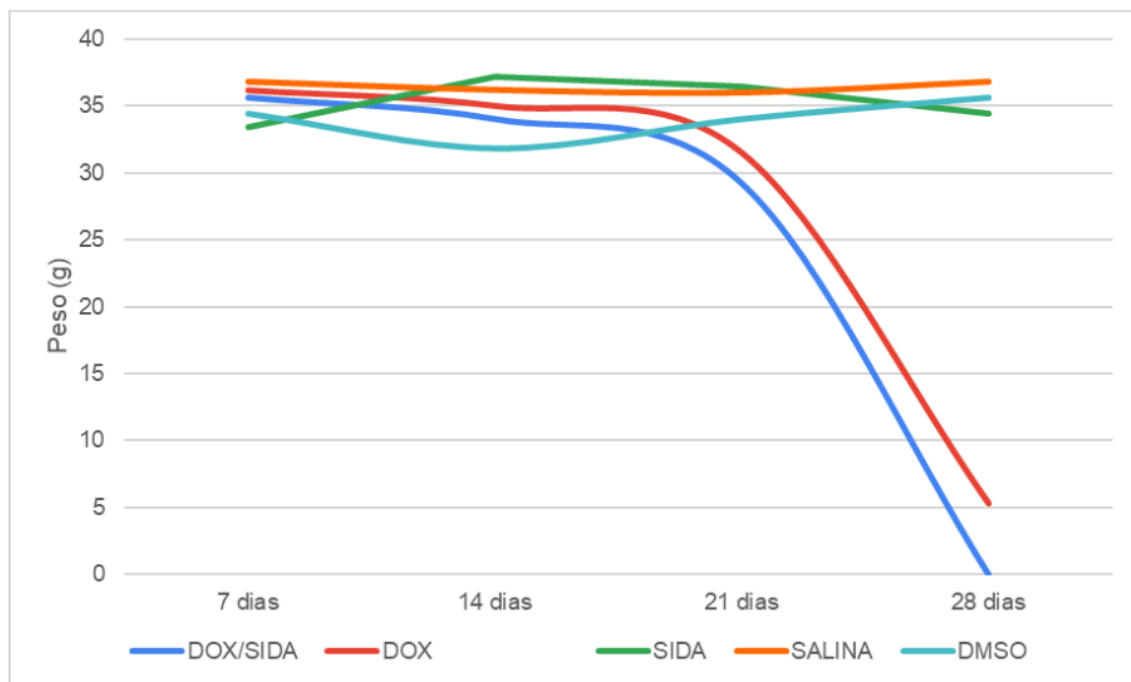


Gráfico 3. Consumo de ração dos camundongos machos e fêmeas, dividido por tempo e grupo de tratamento.

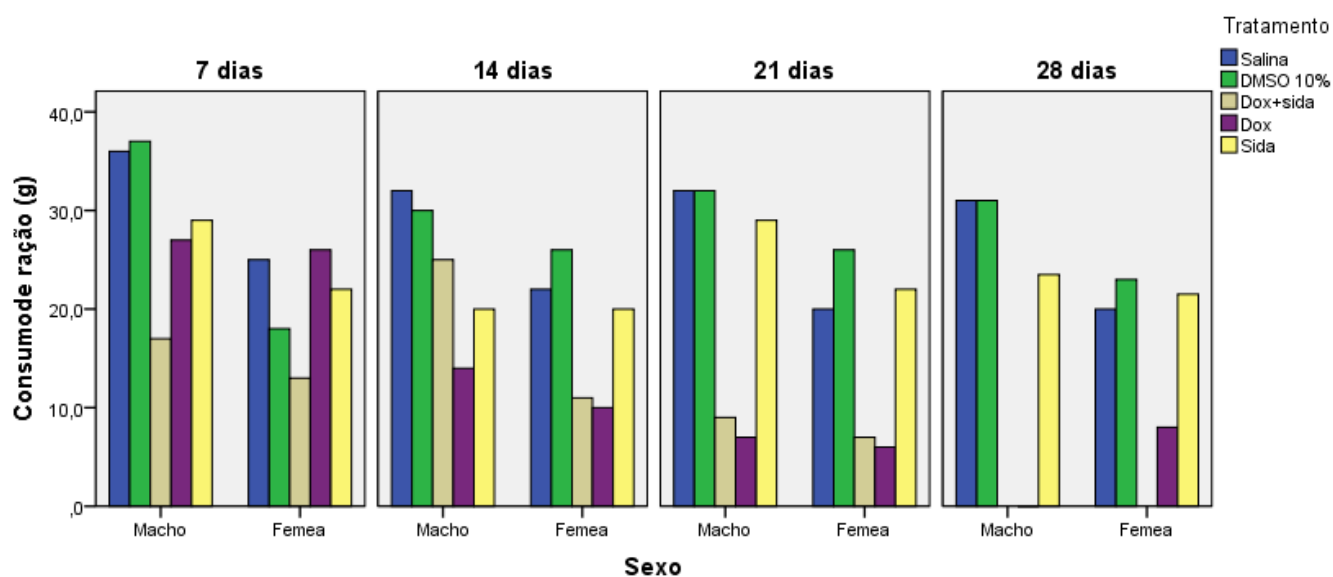
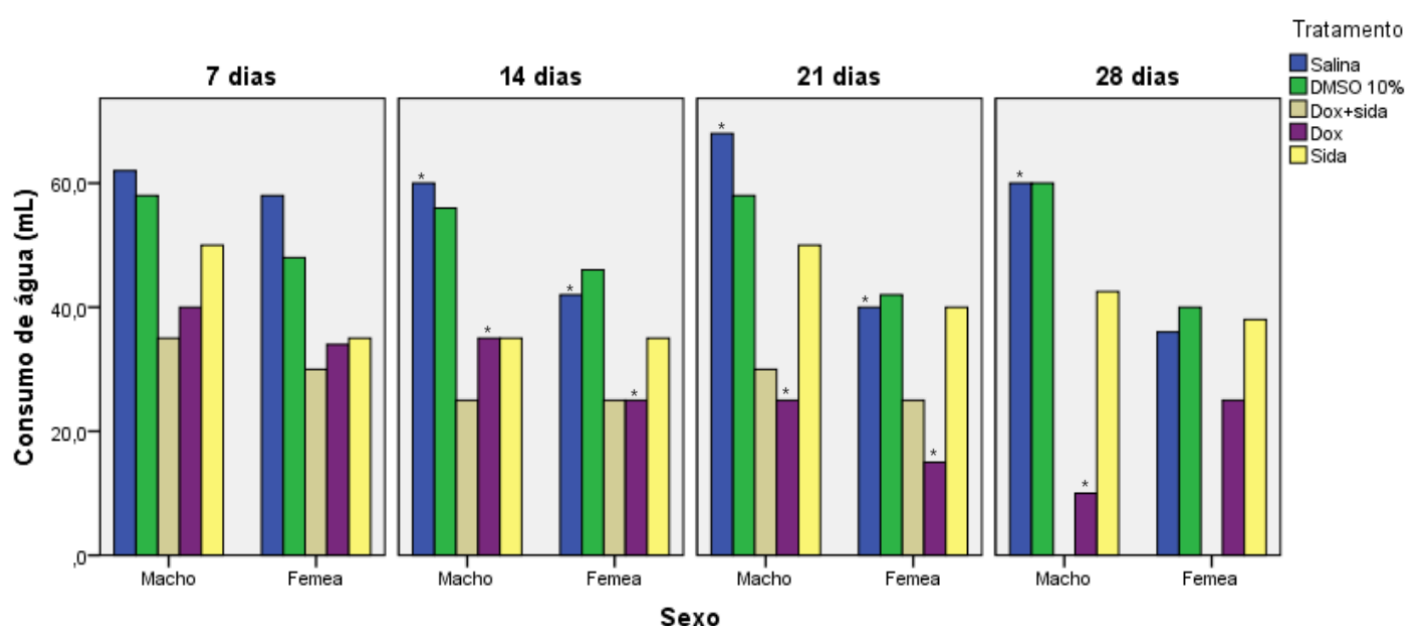


Gráfico 4. Consumo de água dos camundongos machos e fêmeas, dividido por tempo e grupo de tratamento.



Legenda: O asterisco preto compara as alterações entre os grupos tratados para o mesmo sexo.

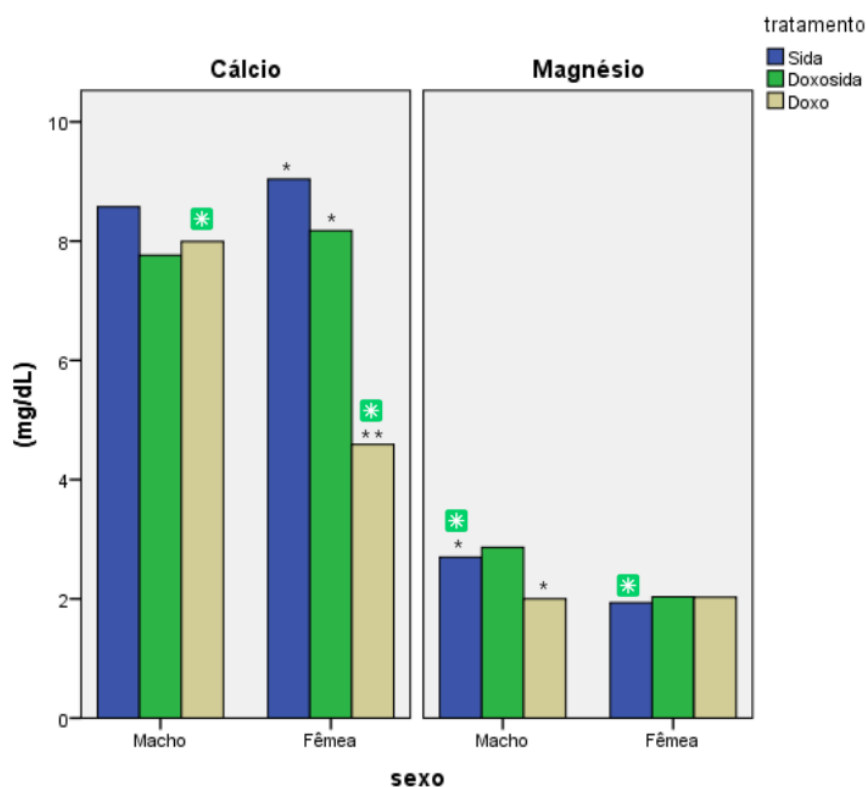
6.3.3 Análise Bioquímica

Ao analisarmos as amostras bioquímicas (gráfico 5), foi possível observar alterações nos níveis de cálcio e magnésio ao comparar os grupos tratados entre

si, em tempos de tratamento distintos. No que se refere ao cálcio, podemos observar que, ao comparar os níveis de cálcio entre as fêmeas dos grupos de tratamento, o grupo doxo apresenta níveis de cálcio reduzidos, quando em comparação com o grupo doxo-sida e o grupo sida. E, quando comparamos o grupo doxo dos machos com o grupo doxo das fêmeas, foi possível observar uma diferença estatística, a qual mostrou que os machos apresentaram níveis de cálcio mais elevados que as fêmeas.

No que se refere ao magnésio, houve diferença estatística entre os sexos, a qual foi possível observar que as fêmeas do grupo sida apresentaram discreta redução nos seus níveis de magnésio, quando em comparação com os machos tratados com a mesma fração alcaloídica da *Sida rhombifolia*. Em se tratando dos machos do grupo sida e do grupo doxo, é possível observar uma redução nos níveis de magnésio para o grupo doxo, em relação ao grupo sida.

Gráfico 5. Representação das alterações dos níveis de cálcio e magnésio.



Legenda: O asterisco preto compara as alterações entre os grupos tratados para o mesmo sexo, e o asterisco verde em destaque compara as alterações entre um mesmo grupo tratado, mas de sexos diferentes (machos e fêmeas).

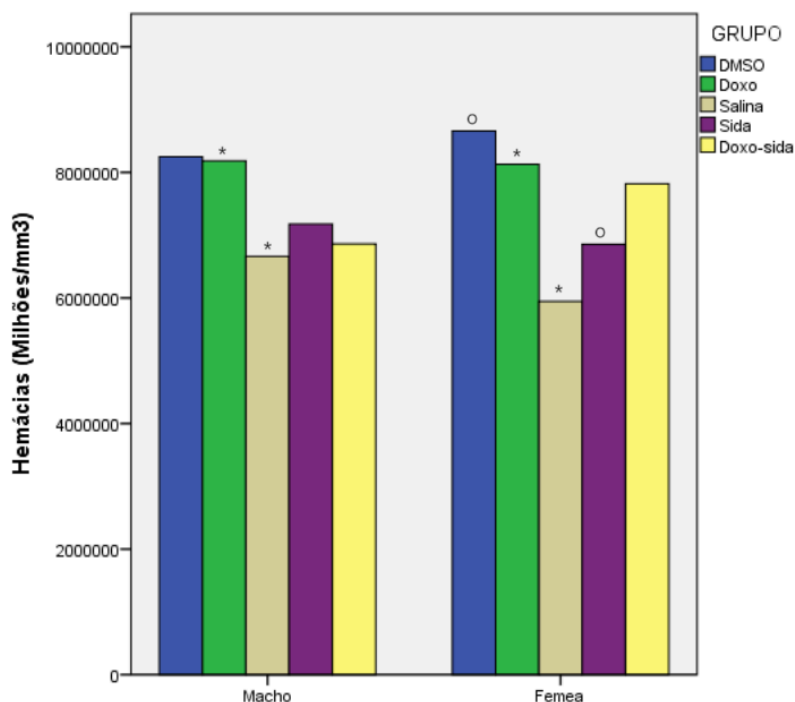
6.3.4 Análise Hematológica

Ao término das análises do perfil hematológico, dos animais controles e tratados, foi possível observar que a série vermelha apresentou diferenças estatísticas nos parâmetros como hemácias, hematócrito, hemoglobina, VCM, HCM, CHCM e plaquetas, tanto para machos, quanto para fêmeas. E, no que se refere à análise da série branca, não foi possível observar alterações leucocitárias tanto para machos, quanto para fêmeas.

Nos gráficos abaixo, é possível observar as diferenças e os parâmetros sendo o asterisco preto para comparar as alterações entre os grupos tratados para o mesmo sexo, e o asterisco verde em destaque para comparar as alterações entre um mesmo grupo tratado, mas de sexos opostos (machos e fêmeas).

Quanto à média de valores para as hemácias (gráfico 6), os camundongos machos do grupo doxo quando comparados ao seu grupo controle (salina) demonstraram um aumento no número de hemácias. Enquanto que as fêmeas demonstraram o mesmo aumento no grupo doxo em relação ao grupo salina e, além deste, as fêmeas do grupo sida apresentaram uma redução do quantitativo de hemácias, em relação ao seu grupo controle (DMSO).

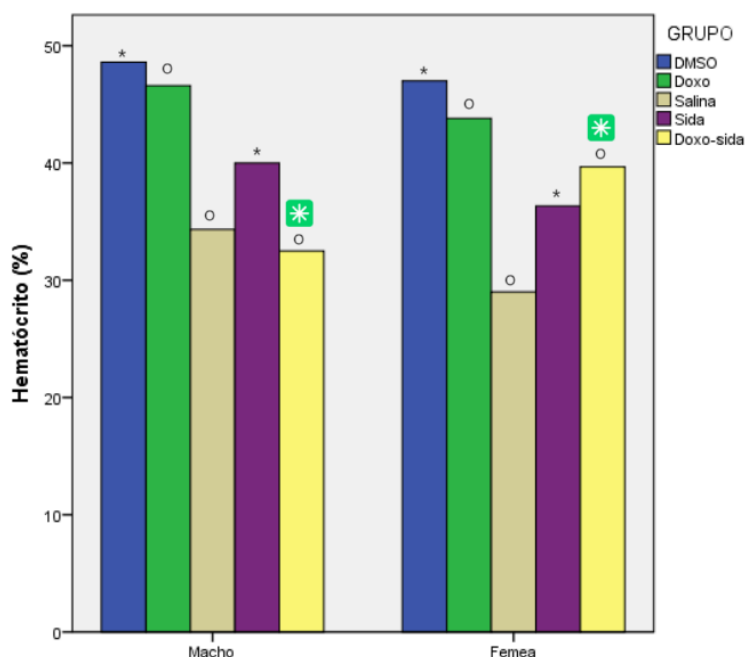
Gráfico 6. Análise de perfil hematológico para o parâmetro das hemácias.



Legenda: O asterisco e o círculo preto comparam as alterações entre os grupos tratados para o mesmo sexo.

Em relação a média percentual para o parâmetro hematócrito (gráfico 7), tanto para machos, quanto para fêmeas, o grupo sida apresenta uma redução percentual para o hematócrito, quando comparado ao grupo DMSO e, quando compara-se com o grupo doxo também. Enquanto que, para ambos os sexos, o grupo doxo apresenta um aumento percentual ao ser comparado com o grupo salina e o grupo doxo-sida. E, comparando machos e fêmeas, observou-se que as fêmeas do grupo doxo-sida apresentaram uma taxa de hematócrito mais elevada que a dos machos.

Gráfico 7. Análise de perfil hematológico para o parâmetro hematócrito.

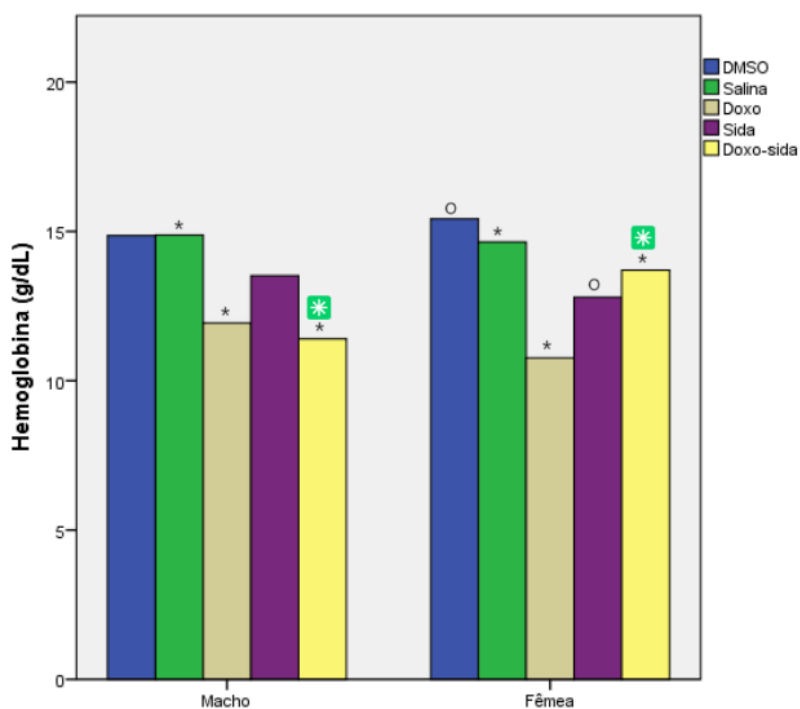


Legenda: O asterisco e o círculo preto comparam as alterações entre os grupos tratados para o mesmo sexo, e o asterisco verde em destaque compara as alterações entre os sexos de um mesmo grupo de tratamento.

No que se refere ao parâmetro hemoglobina (gráfico 8), as fêmeas do grupo doxo apresentaram uma média mais alta ao se comparar com os grupos salina, doxo-sida e sida. E, ao comparar o grupo controle DMSO com o grupo sida, este apresentou uma redução na média da hemoglobina. Enquanto que, os machos do grupo doxo apresentaram uma média mais elevada ao se comparar com os grupos

salina e doxo-sida. E, comparando machos e fêmeas, observou-se que as fêmeas do grupo doxo-sida apresentaram uma média mais elevada que a dos machos.

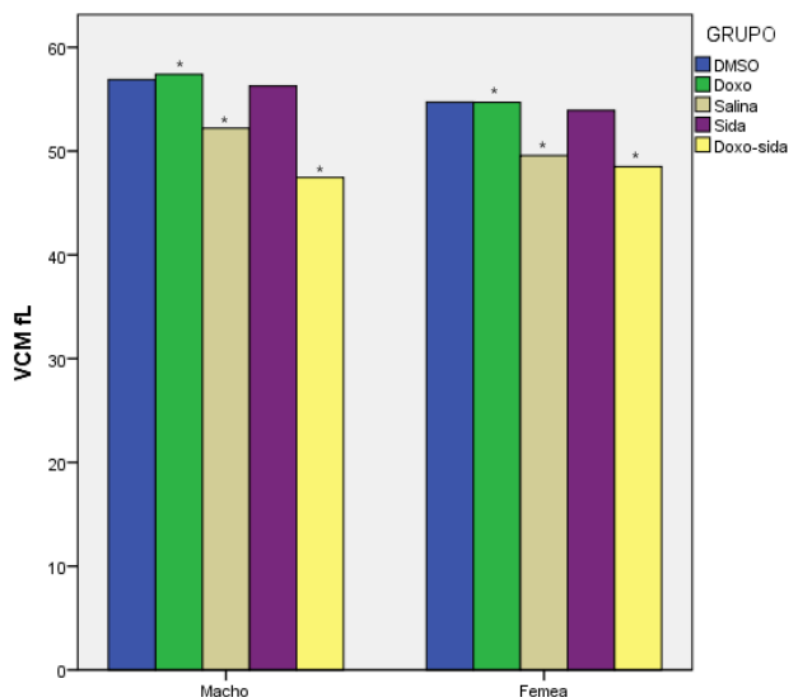
Gráfico 8. Análise de perfil hematológico para o parâmetro hemoglobina.



Legenda: O asterisco e o círculo preto comparam as alterações entre os grupos tratados para o mesmo sexo, e o asterisco verde em destaque compara as alterações entre os sexos de um mesmo grupo de tratamento.

Quanto à análise do volume corpuscular médio (VCM) (gráfico 9), os machos do grupo doxo apresentaram um aumento no tamanho das hemácias em relação ao grupo salina e ao grupo doxo-sida. No que se refere às fêmeas, o mesmo ocorreu com as do grupo doxo, as quais também apresentaram um aumento, quando comparadas ao grupo controle salina e ao grupo doxo-sida. No que tange o grupo sida, este não apresentou qualquer alteração significativa, quando comparado ao seu controle (DMSO), tanto em machos, quanto em fêmeas.

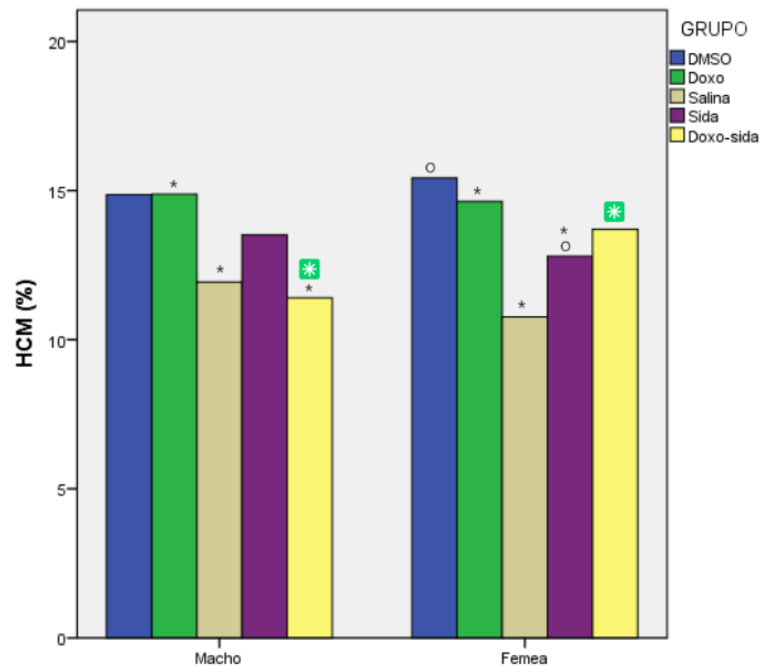
Gráfico 9. Análise de perfil hematológico para o parâmetro VCM.



Legenda: O asterisco compara as alterações entre os grupos tratados do mesmo sexo.

Quanto ao percentual médio da hemoglobina corpuscular média (HCM) (gráfico 10), os machos do grupo doxo apresentaram um aumento peso da hemoglobina dentro das hemácias em relação ao seu grupo controle salina e ao grupo doxo-sida. No caso das fêmeas, o mesmo ocorreu para o grupo doxo em relação ao seu grupo controle salina e ao grupo sida. E, além destes, as fêmeas do grupo sida mostraram uma redução quando comparado ao grupo DMSO. Já na análise comparativa entre os sexos, foi possível observar que as fêmeas do grupo doxo-sida apresentaram um aumento deste parâmetro em relação aos machos do mesmo grupo de tratamento.

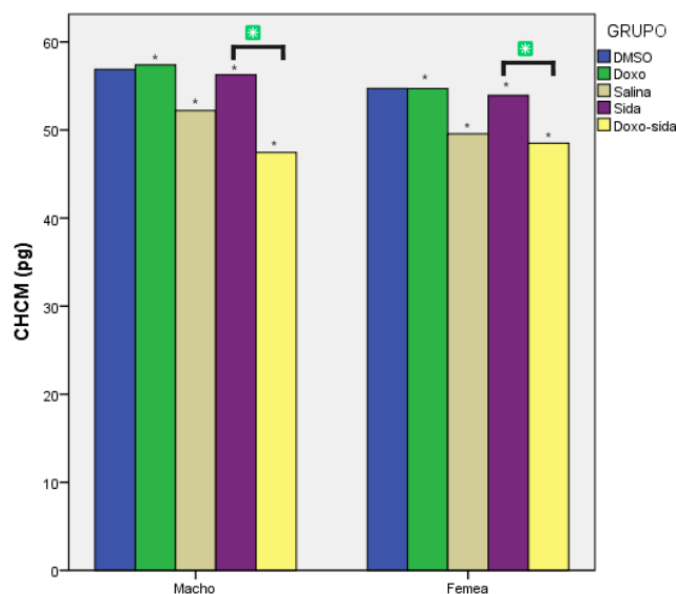
Gráfico 10. Análise de perfil hematológico para o parâmetro HCM.



Legenda: O asterisco e o círculo preto comparam as alterações entre os grupos tratados para o mesmo sexo, e o asterisco verde em destaque compara as alterações entre os sexos de um mesmo grupo de tratamento.

Ao analisarmos a concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) (gráfico 11), foi observado que os machos do grupo doxo apresentaram um aumento na concentração da hemoglobina dentro das hemácias, quando comparado ao seu grupo controle salina e ao grupo doxo-sida. E, um aumento do grupo sida em relação ao grupo doxo-sida. O mesmo ocorreu, ao analisar os grupos tratados das fêmeas.

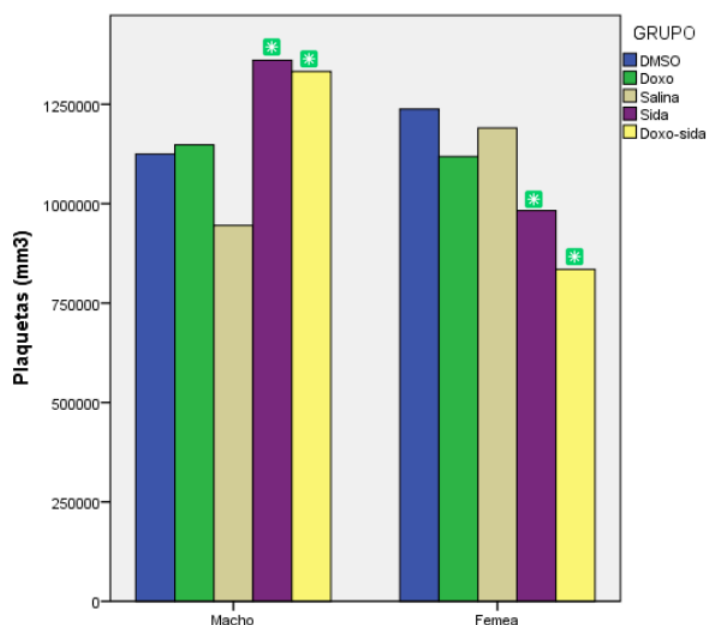
Gráfico 11. Análise de perfil hematológico para o parâmetro CHCM.



Legenda: O asterisco preto compara as alterações entre os grupos tratados do mesmo sexo, e o asterisco verde em destaque compara as alterações entre o grupo sida e o grupo doxo-sida para os animais de um mesmo sexo.

Ao analisarmos o plaquetograma dos animais (gráfico 12), foi possível compreender que não houve diferença entre os grupos de tratamento do mesmo sexo. Porém, foi possível observar uma alteração entre os sexos. Neste caso, foi observado um aumento no número de plaquetas dos machos do grupo sida, em relação às fêmeas do mesmo grupo. Além disso, os machos do grupo doxo-sida apresentaram um aumento quando comparado às fêmeas do mesmo grupo.

Gráfico 12. Análise de perfil hematológico das plaquetas.



Legenda: O asterisco verde em destaque compara as alterações entre os sexos de um mesmo grupo de tratamento.

6.4 Avaliação Ecocardiográfica

As imagens produzidas pelo ecocardiograma foram processadas e delas analisados os parâmetros no ventrículo esquerdo (VE), na intenção de acompanhar o tratamento terapêutico com fração alcaloídica, rica em criptolepinona e sal de criptolepina (figura 20). A análise diferencial da fração de ejeção foi realizada utilizando as técnicas de Teichholz, Pombo e o delta (a partir da fração de encurtamento (FEnc)). Fazendo a análise das frações de ejeção (eixo y), comparando-as entre os grupos testados e entre os sexos (só machos, só fêmeas

e entre machos e fêmeas), de acordo com o tempo de tratamento. A partir das análises, os resultados obtidos não demonstraram diferença estatística significativa, como pode ser observado nos gráficos abaixo (gráficos 13, 14 e 15).

Figura 20. Imagem gerada pelo Ecocardiograma, demonstrando o septo interventricular e o pericárdio.



Fonte: Linhares T.S.T, 2023.

Gráfico 13. Fração de ejeção dos grupos controles (DMSO e *Sida*) e dos grupos tratados (Doxo, *Sida* e Doxo-*Sida*), de machos e de fêmeas, analisadas pelo método de Teichholz.

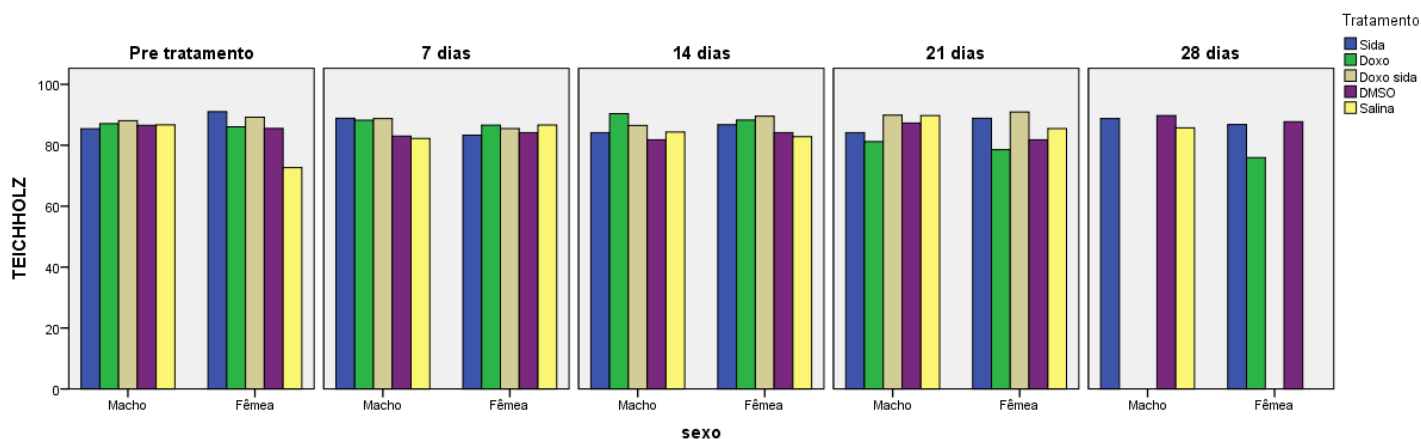


Gráfico 14. Fração de ejeção dos grupos controles (DMSO e *Sida*) e dos grupos tratados (Doxo, *Sida* e Doxo-*Sida*), de machos e de fêmeas, analisadas pelo método de Pombo.

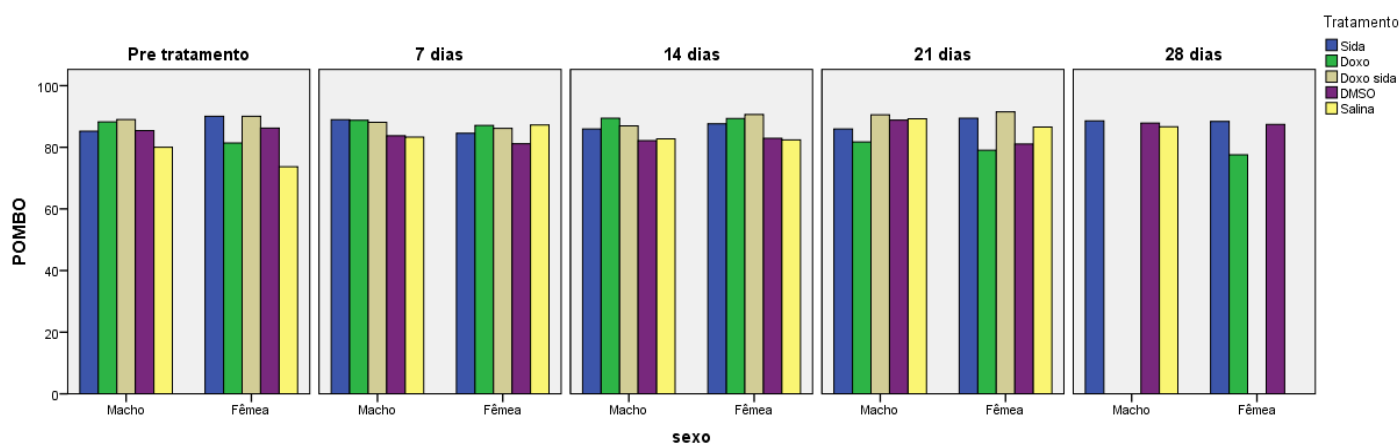
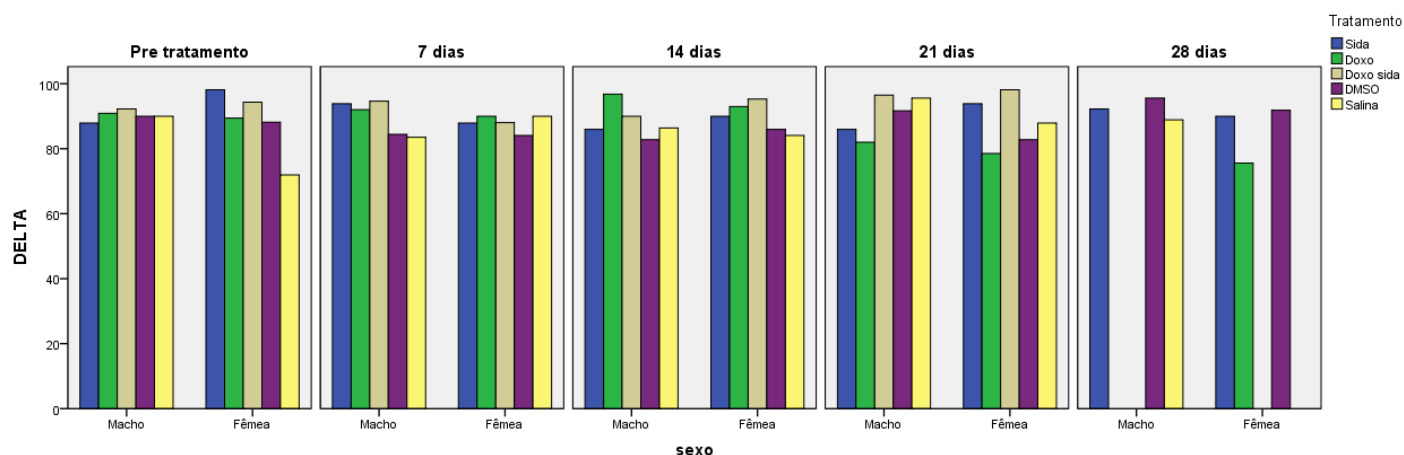


Gráfico 15. Fração de ejeção dos grupos controles (DMSO e *Sida*) e dos grupos tratados (Doxo, *Sida* e Doxo-*Sida*), de machos e de fêmeas, analisadas pelo método de Delta.



7. DISCUSSÃO

Este trabalho foi realizado com a finalidade de avaliar os efeitos toxicológicos e farmacológicos da fração alcaloidica da *Sida rhombifolia*. Diante disso, alterações em grau de mortalidade, parâmetros clínicos e laboratoriais como, função cardíaca, peso corporal, hematologia e bioquímica foram realizados e observados, na busca de obter respostas ou possíveis mecanismos que nos ajudem a chegar nas respostas.

A análise *in silico* representa uma abordagem que oferece eficiência em termos de tempo e despesas para a pesquisa de novos medicamentos. Isso ocorre porque por meio de softwares computacionais é viável avaliar a potencial atividade biológica de uma molécula (PARTHASARATHI; DHAWAN, 2018).

O sal da criptolepina e a criptolepinona, quando analisados, demonstraram resultados negativos tanto para os parâmetros de inibição, quanto como substrato da glicoproteína-P (gp-P). A gp-P é uma proteína que está expressa em quase todo o corpo humano (barreira hematoencefálica, placenta, epitélio intestinal, epitélio tubular renal, canais biliares, etc), presente na membrana celular sendo responsável por extrair substâncias tóxicas e xenobióticas para fora da célula (HODGES et al., 2011).

A glicoproteína-P desempenha um papel crucial no transporte de lipídios, esteróides e medicamentos, o que é vantajoso, considerando que essa glicoproteína atua como uma bomba de efluxo para drogas e diversos compostos, modulando a absorção e distribuição dos fármacos, sendo uma proteína de resistência importante em muitas células cancerígenas (DYSON et al., 2019). A ausência de interação com a glicoproteína P minimiza riscos de falhas terapêuticas, além de possíveis interações medicamentosas, entretanto, substâncias inibidoras da gp-P podem melhorar a efetividade de quimioterápicos, na terapêutica do câncer, doenças causadas por microorganismos, entre outros (WANG et al., 2011; TAIMOOR et al., 2019).

No que tange ao dado em que positiva as substâncias para dano de barreira (BBB+), isso demonstra que, conforme indicado pelo programa AdmetSAR, o sal de criptolepina e a criptolepinona, demonstraram a capacidade de penetrar o sistema nervoso central (SNC), atravessando a barreira hematoencefálica. Para essa penetração, características cruciais incluem a baixa massa molecular da molécula e sua lipofilia, ambos atributos identificados nas substâncias em questão e, que corroboram com os resultados obtidos pela regra dos cinco de Lipinski (DE FALCO et al., 2016; ROSALES et al., 2019).

Na administração de fármacos, a via oral é a mais prevalente, demandando que o composto exiba adequada solubilidade aquosa e permeabilidade intestinal para garantir o efeito terapêutico desejado. A previsão da permeabilidade de fármacos através de membranas do trato gastrointestinal (TGI) pode ser realizada por meio de modelos *in vitro*. As células do tipo Caco-2, originadas de adenocarcinoma de cólon humano, ao serem cultivadas, diferenciam-se em enterócitos e têm a capacidade de antecipar a absorção oral de fármacos por meio de transporte passivo (transcelular e paracelular). Essa abordagem é de notável importância para a indústria farmacêutica ao explorar o estudo farmacocinético dos fármacos (DE

SOUZA, FREITAS, STORPIRTS, 2007; OLANDER et al., 2016).

Assim sendo, as moléculas analisadas apresentaram resultados positivos nos modelos de absorção no intestino humano (HIA+) e permeabilidade em Caco-2 (Caco-2+), indicando uma solubilidade e permeabilidade intestinal satisfatória para as substâncias, ou seja, uma boa biodisponibilidade (CALADO et al., 2014; REIS et al., 2015). Além disso, elas apresentaram distribuição mitocondrial, esse dado é importante tendo em vista que a doxorubicina, durante seu ciclo redox, forma complexos chamados Dox-ferro. Estes, convertem os ânions superóxido em radicais livres que podem ocasionar peroxidação lipídica e disfunção mitocondrial (MINOTTI et al. 2004; QUILES et al. 2002). Logo, os alcaloides da *Sida* poderiam atuar, inibindo esse mecanismo.

As CYP's fazem parte do sistema citocromo P450 que constitui um grupo de enzimas monooxigenases associadas à membrana do retículo endoplasmático liso do fígado e em outros tecidos extra-hepáticos. As enzimas desse sistema, conhecidas como citocromo P450 (CYP-450), desempenham um papel crucial na farmacologia de medicamentos e na toxicologia de xenobióticos. Responsáveis pela metabolização de aproximadamente 75% a 90% dos fármacos em uso atualmente, as enzimas do CYP-450 desempenham um papel central na biotransformação de substâncias (DEVLIN, 2002; GOLAN et al., 2014).

As isoenzimas do sistema CYP450, como a CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 e CYP3A4, são as principais responsáveis pelo metabolismo da maioria dos medicamentos, correspondendo às reações de fase I do metabolismo, para cerca de 75% dos fármacos (ZHOU SF, 2008; DOLIGALSKI CT, et al., 2012). Quando medicamentos que afetam essas enzimas são administrados simultaneamente, podem ocorrer interações que afetam a depuração sistêmica de um ou de ambos os fármacos administrados. A natureza e a relevância clínica dessas interações medicamentosas podem variar dependendo da forma de atuação do fármaco, se ele atua como substrato, indutor e/ou inibidor das enzimas do CYP450 (CHENG JWM, et al., 2009).

Como resultado do estudo, foi possível observar que a criptolepinona e o sal de criptolepina mostraram um perfil de inibidoras das CYP450 (1A2, 2D6 e 3A4), os fármacos que atuam como inibidores de uma enzima específica são capazes de reduzir a eficácia de sua própria transformação metabólica, assim como a de outros medicamentos que compartilham a mesma rota metabólica provocando, em alguns

casos, o aumento da concentração sérica de alguns fármacos aumentando seu grau de toxicidade (RANG HP, et al., 1995; SILVA AA, et al., 2018). Assim sendo, podemos sugerir que a fração alcaloídica (a qual contém o sal de criptolepina e a criptolepinona) poderia aumentar a biodisponibilidade de doxorubicina na corrente sanguínea, visto que a doxorubicina é metabolizada pela CYP450 (3A4) e esta, por sua vez, é inibida pelas substâncias testadas (THOMSON, 2021; SILVA et al., 2018; FERREIRA, 2010).

O estudo *in silico* das substâncias teste (sal de criptolepina e criptolepinona) também mostrou que as substâncias não positivaram para parâmetros de carcinogenicidade evidenciando ser uma substância segura (ISMAIL et al., 2018).

No que se refere à mutagenicidade, para o teste de AMES, considera-se positivo um agente que consegue provocar um aumento reproduzível, correlacionado com a dose, no número de colônias bacterianas revertentes em uma ou mais estirpes. No entanto, classifica-se como um agente mutagênico fraco se o acréscimo no número de colônias revertentes for inferior ao dobro do número de revertentes espontâneos (MORTELMANS K; ZEIGER E, 2000; EASTMOND DA, et al., 2009; MARON DM; AMES BN, 1983; CLAXTON LD, et al., 2010). Uma das vantagens desse teste é a possibilidade de se estabelecer uma relação dose-resposta (AMES BN, 1983; CLAXTON LD, et al., 2010; AMES BN, et al., 1973).

Conforme relatado na literatura, a mutagenicidade está intimamente ligada à carcinogenicidade (XU et al., 2012). Entretanto, em nossos resultados não há um indicativo de carcinogenicidade pelo *in silico*, apenas podemos observar que o sal de criptolepina apresentou 96% de potencial não carcinogênico, todavia, apresenta 86% de potencial mutagênico e, para a criptolepinona, foi obtido um percentual de 97% para o potencial não carcinogênico e 79% para o potencial mutagênico.

Quanto ao teste de biodegradação, este é fundamentado na OECD TG 301C, proporcionando uma avaliação qualitativa das propriedades de biodegradabilidade imediata. Construído como um conjunto de regras derivadas do software SarPy, o modelo, de modo geral, adota uma abordagem conservadora. Na presença de fragmentos conflitantes, a previsão tende para a não biodegradabilidade imediata. De forma que, uma substância é categorizada como não-biodegradável se for identificado pelo menos um fragmento relacionado à não-biodegradabilidade, mesmo que existam fragmentos biodegradáveis. Dessa forma, uma porção do

composto será considerada persistente em qualquer circunstância e, portanto, este será classificado como não-biodegradável (KAR, S.; SANDERSON, H.; ROY, K., 2020; LOMBARDO, et al., 2014).

A biodegradação pode ser caracterizada por meio de um teste preliminar no qual uma concentração elevada do composto em questão é empregada, e a biodegradação é avaliada mediante alguns parâmetros sob condições aeróbicas. A avaliação da biodegradabilidade de um composto químico é de grande importância na análise dos efeitos toxicológicos ao longo do tempo. Esse processo é influenciado por diversos fatores, incluindo as condições ambientais, a estrutura química do composto em avaliação e a sua biodisponibilidade. Geralmente, considera-se que, quando 60% de uma substância se degrada em um período de 28 dias, ela é classificada como facilmente biodegradável (LOMBARDO, et al., 2014; PIZZO, et al., 2013).

No presente estudo, as substâncias se apresentaram como não-biodegradáveis com percentual em torno de 97% para o sal de criptolepina e 98% para a criptolepinona, corroborando com o fundamento do método. O que significaria que num período de 28 dias, menos de 60% de cada substância seria degradada, sendo considerado um produto de difícil biodegradação.

Quanto ao parâmetro de toxicidade oral aguda, o sal de criptolepina e a criptolepinona, ao serem analisados, exibiram seus resultados como grau III ($500 \text{ mg/kg} < \text{DL50} \leq 5000 \text{ mg/kg}$), indicando baixa toxicidade.

Singh et al. (2016) conduziram testes *in silico* com 100 moléculas de alcaloides, onde apenas 18 compostos satisfizeram todos os critérios ADME-Tox e as diretrizes de Lipinski. Entre os compostos avaliados, observou-se interação com a enzima CYP2D6 e CYP3A4, boa permeabilidade de membrana e não carcinogenicidade. Os alcaloides indólicos analisados não apresentaram alta toxicidade. Logo, a previsão desse estudo sugere que os alcaloides da *Sida* como a criptolepinona e o sal de criptolepina, também podem apresentar baixo risco de toxicidade.

A avaliação da toxicologia é fundamental na pesquisa pré-clínica de fármacos, sendo a toxicidade uma das principais preocupações em todas as fases do desenvolvimento farmacêutico. Assim sendo, os estudos *in silico*, utilizando diversos modelos de toxicidade disponíveis em diferentes ferramentas computacionais, são justificáveis na pesquisa de candidatos a fármacos para a

terapêutica de algumas enfermidades (STRADA, 2021).

De acordo com os critérios de classificação de toxicidade *in vivo* da Comunidade Européia, a não ocorrência de mortes, após administração de um produto obtido de uma espécie vegetal, em alta concentração e por via oral, indica um potencial de toxicidade reduzido, para a espécie (BARROS et. al., 2003). No que tange aos estudos de toxicidade aguda e crônica realizados com o EEB da *Sida rhombifolia* e suas frações (dentre elas, a fração hidroalcoólica), foi observado um indicativo de baixa toxicidade, sendo necessários estudos mais detalhados e de maior extensão para avaliar qual o grau de toxicidade da espécie, no seu uso continuado e, nas suas diferentes apresentações (RAMALHO, 2019).

A não ocorrência de mortes relacionada ao uso da Fração alcaloídica, no atual estudo, corrobora com o estudo toxicológico da fração hidroalcoólica da *S. rhombifolia* de Ramalho e col. (2019), no qual não houve mortes, podendo assim sugerir uma correlação ao baixo grau de toxicidade apresentado.

No presente estudo, também, na utilização da fração alcaloídica oriunda da *S. rhombifolia*, observamos que, entre todos os camundongos machos e fêmeas, para os machos tratados com doxorrubicina, houve uma mortalidade de 100%, contra 60% da taxa de mortalidade do grupo Doxo-*Sida* (tabela 6). E, para as fêmeas tratadas com doxorrubicina, houve uma mortalidade de 83,3%, contra 40% da taxa de mortalidade do grupo Doxo-*Sida* (tabela 5). E, para machos e fêmeas do grupo sida, não foi observada a ocorrência de mortes (tabelas 5 e 6).

Devido à alta taxa de mortalidade, que gira em torno de 50-60%, registrada em protocolos crônicos de administração de doxorrubicina, foi possível notar que a fração de alcaloides reduziu a taxa de mortalidade causada pela doxo em aproximadamente 50% (ANJOS FERREIRA et al. 2007; KELISHOMI et al. 2008; NEILAN et al. 2007). Estudos mostram que, normalmente, os óbitos começam a ocorrer entre o quinto e o sétimo dia de tratamento com doxorrubicina a depender da dose utilizada (LI et al., 2006; NEILAN et al., 2007; NOZAKI et al., 2004). Corroborando com estes estudos, foi possível observar resultados semelhantes em nosso experimento.

O uso de agentes quimioterápicos, como a doxorrubicina, tem um determinado impacto na qualidade de vida das pessoas e, inclusive, na dos animais (VAIL, 2009). Entretanto, os efeitos colaterais durante o tratamento podem diminuir a qualidade de vida e até causar o óbito dos pacientes.

Fundamentalmente, a presença de efeitos adversos e a diminuição da qualidade de vida podem desencorajar a continuação do tratamento (THAMM; VAIL, 2007). Entretanto, estudos mostram que substâncias antioxidantes são promissoras em inibir alguns efeitos cardiotoxicos, induzidos por antraciclinas (ROCHA, VCJ 2010). Logo, podemos sugerir que o efeito antioxidante dos alcaloides da *Sida rhombifolia* pode ter relação com a redução do número de mortes no grupo doxo-sida, se caracterizando de forma importante para a terapêutica clínica.

A avaliação do peso corporal, bem como as análises do consumo de água e ração são parâmetros importantes para a avaliação de uma substância, no que diz respeito a sua toxicidade (CUNHA et. al., 2009; FEITOSA et. al., 2015). Isso porque, as alterações nesses parâmetros são, frequentemente, os primeiros indícios de toxicidade e efeitos colaterais de uma substância (AULETTA, 1995; TEO et al., 2002; EI-SANUSI & EI-ADAM, 2007).

Durante o período experimental, na análise observacional diária, foi possível verificar que, alguns animais dos grupos de tratamento, doxo e doxo-sida, apresentaram sintomas como: diarreia, letargia, fraqueza, tremores, dispnéia, bradicardia, distensão abdominal e aspecto anoréxico. Estes sintomas estavam presentes nos grupos tratados, já mencionados acima, mas foram predominantes no grupo doxo. Tais sintomas corroboram com outros estudos em que sintomas como diarreia, letargia e outras reações adversas foram comumente apresentadas por pelos animais tratados com antraciclinas, durante o período experimental (BONADONNA et al. 1970; DERES et al. 2005; SANTOS et al. 2007; ROCHA, VCJ 2010).

Analizando os resultados e a possível existência de efeitos tóxicos, foi observado que, no período de 14 a 21 dias, ocorreu uma redução no consumo de água (gráfico 6) no grupo que recebeu apenas a doxorubicina, quando comparado ao seu controle (salina) para machos e fêmeas e, ao término de 28 dias, os machos do grupo tratado apenas com a doxorubicina, apresentaram uma redução significativa ao ser comparado com seu grupo controle. E, além deste, o software estatístico mostra que entre o período de 21 a 28 dias houve uma redução do peso corporal, para os machos e as fêmeas do grupo doxo-sida, quando comparado aos grupos controles (salina e DMSO) e ao grupo sida. O grupo sida não apresentou nenhuma alteração, para estes parâmetros e, também, não reduziu a redução causada pela doxorubicina, para o consumo de água e peso corporal.

A redução do peso corporal e do consumo de água pelo grupo tratado com Doxo já era prevista, pois alguns estudos apontaram estes sinais clínicos, entre os diversos efeitos colaterais da doxorrubicina, em roedores (MELO, 2012; VIÉRA, 2015). Contudo, assim como estes, as previsões para o grupo doxo como a do consumo de ração também era esperada, podendo também ser inferido sob a perspectiva de ser mais um dos efeitos colaterais deste agente antineoplásico, estando associado ao seu grande potencial emetogênico, o qual traz consigo a perda de apetite, além de sintomas clássicos como náuseas, dor, êmese, diarreia e etc (RIBEIRO, 2019; AMERICAN CANCER SOCIETY, 2017; VIÉRA, 2015).

O estudo *in silico* prediz que, as substâncias presentes em nossa fração alcaloidica (sal de criptolepina e criptolepinona), se apresentaram como inibidoras da enzima que metaboliza a doxorrubicina, a CYP450 (isoforma 3A4). Logo, na teoria, aumentariam as concentrações séricas de doxorrubicina e, conseqüentemente, seus efeitos colaterais seriam mais exacerbados e durariam mais tempo (SARANGI et al., 2011; KONATE et al., 2012; CHATURVEDI; KWAPE; FULUKANI, 2015). Contudo, a predição do software, isoladamente, não é capaz de definir que as alterações e sintomas no grupo doxo-sida se deram a partir da inibição da CYP, pois, a clínica deve ser predominante (KWAPE; FULUKANI, 2015).

É importante destacar que, em torno do 21º ao 28º dia experimental, os animais dos grupos doxo e doxo-sida começaram a entrar em fase de sofrimento, devido ao protocolo de indução da toxicidade por doxorrubicina e, portanto, visando o bem-estar animal, como preconiza a CEUA, estes animais foram sendo eutanasiados a medida que iam apresentando os sinais de dor e sofrimento (BRASIL - CONCEA, 2018; ROCHA, VCJ 2010). Logo, apesar de alguns sintomas e características físicas dos efeitos colaterais e dados brutos coletados, serem visíveis durante nosso estudo, ao analisar os resultados das medianas e intervalos de quartis de cada grupo (pelo teste de Friedman), não foi possível identificar significância estatística em alguns parâmetros.

Sabe-se que o tratamento com antraciclinas pode causar efeitos indesejáveis além da toxicidade cardíaca, como distúrbios eletrolíticos, supressão de medula óssea, entre outros (ADÃO et al., 2012 e 2013; HAJJAR et al., 2020). Sendo assim, diante dos parâmetros bioquímicos avaliados, foram observadas alterações apenas nos níveis dos eletrólitos cálcio e magnésio. De forma que, as fêmeas que receberam a fração alcaloidica da *Sida rhombifolia* apresentaram níveis reduzidos

de magnésio, em relação aos machos tratados com a mesma substância.

Estudos anteriores com a *Sida rhombifolia* demonstraram alterações hepáticas caracterizadas pelo aumento dos níveis séricos das transaminases (ALT e AST), quando comparadas aos grupos controles (ASSAM ASSAM et al., 2010). Outro estudo preliminar, toxicológico agudo, desenvolvido pelo laboratório de ensaios toxicológicos da UFPB - LABETOX, com o extrato bruto etanólico (EEB) da *Sida rhombifolia*, na dose de 2000 mg/kg (seguindo a OECD 423), demonstraram alterações enzimáticas, caracterizadas pelo aumento de AST e ALT, que sugere uma possível hepatotoxicidade e corrobora com o estudo de ASSAM ASSAM et al. (2010) (RAMALHO et. al., 2019). Entretanto, no estudo da fração de alcaloides, as alterações das enzimas hepáticas não foram observadas, porém no lugar delas foi observado uma discreta hipomagnesemia.

Ainda sobre o eletrólito magnésio, foi possível observar que os machos do grupo doxo apresentaram níveis de magnésio reduzidos, quando comparado ao grupo sida. Essa hipomagnesemia observada no grupo doxo pode estar associada às doses cumulativas do quimioterápico doxorubicina e a diarreia prolongada causada por ela como efeito colateral já descrito em tópicos anteriores (ADÃO et al., 2013; RASCHI et al., 2010). Além disso, os sinais e sintomas observados experimentalmente e já relatados anteriormente, como fraqueza, espasmos e tremores, também podem ter sido causados pela hipomagnesemia (POLLAK et al., 2004).

No que se refere ao cálcio, não foram observadas alterações significativas deste eletrólito para o grupo sida, quando comparado ao seu controle (DMSO). Já as fêmeas do grupo doxo apresentaram redução dos níveis desse eletrólito, quando comparados ao grupo doxo-sida e sida. Enquanto que entre machos e fêmeas, as fêmeas do grupo doxo apresentaram níveis mais reduzidos, em relação aos machos do grupo doxo.

O cálcio (Ca^{2+}) desempenha um papel fundamental em uma ampla gama de processos intra e extracelulares em todos os organismos (MIYASHIRO K, HAUACHE OM, 2002). Dentro das células, o cálcio está principalmente envolvido na proliferação, diferenciação e movimentação celular, na regulação de várias funções celulares, como contração muscular, secreção hormonal e metabolismo do glicogênio, além de servir como mensageiro secundário e cofator enzimático. No ambiente extracelular, participa de diversas funções vitais, como coagulação

sanguínea, adesão celular, manutenção da integridade do esqueleto e regulação da excitabilidade celular (BROWN, EM 1991;1999).

Os sintomas associados à hipocalcemia são predominantemente neuromusculares, incluindo algumas parestesias, síndromes, broncoespasmo, tetania, convulsões e prolongamento do intervalo QT no ECG. A gravidade dos sintomas geralmente reflete a gravidade da hipocalcemia, fato esse, observado em nosso estudo para o grupo doxos das fêmeas (SHANE, ES 1999).

Diante das alterações bioquímicas observadas, constatamos que entre os fatores de risco que aumentam a predisposição para toxicidade por doxorubicina, variáveis como prevalência no sexo feminino e distúrbios eletrolíticos (mais especificamente a hipocalcemia e hipomagnesemia) puderam ser observados em nosso estudo (RASCHI et al., 2010; ADÃO et al., 2013; HAJJAR et al., 2020). Principalmente a associação destas variáveis no que se refere aos níveis de cálcio. Também foi possível inferir que a FrAl promoveu a manutenção dos níveis de cálcio para o grupo doxo-sida, diante da hipocalcemia causada pela doxorubicina em camundongos fêmeas. Tal fato foi possível de ser observado na clínica dos animais, tendo em vista que eles apresentaram uma resposta fisiológica melhor (sinais e sintomas clínicos mais brandos para letargias, parestesias, entre outros e, em alguns casos, ausentes) do que o grupo que recebeu apenas a doxorubicina.

A avaliação dos parâmetros sanguíneos é fundamental para analisar os riscos associados à administração de certas substâncias em seres humanos. O sistema hematológico desempenha um papel crucial na detecção precoce de toxicidade, tornando-se um alvo significativo para substâncias prejudiciais. Portanto, é uma ferramenta importante para avaliar o estado de saúde física e patológica tanto em humanos quanto em animais (LI et al. 2010; OLSON et al. 2000).

Em nossa corrente sanguínea, são encontrados três principais tipos de células originadas na medula óssea: os glóbulos vermelhos, também conhecidos como eritrócitos ou hemácias, os glóbulos brancos, denominados leucócitos, e as plaquetas. Em resumo, o conjunto destas células e tudo que as compõem fazem parte do exame que conhecemos como hemograma (BEUTLER E; WAALEN J, 2006). Assim sendo, ao analisar o hemograma dos nossos animais controles e tratados, observamos alterações nas hemácias, hematócrito, hemoglobina, VCM, HCM, CHCM e plaquetas.

Os indicadores (hemácia, hematócrito e hemoglobina) quando reduzidos podem caracterizar algum tipo de anemia e, se aumentados, caracterizam policitemia que significa que há um alto índice de hemácias na circulação sanguínea (GEORGE-GAY B; PARKER K, 2003; LORENZI, 2006). Considerando a análise estatística observamos que, mesmo estando dentro dos valores de referência pré-estabelecidos, ocorreram oscilações quanto ao aumento e redução das taxas referente aos parâmetros analisados. Assim sendo, a análise destes indicadores infere que os resultados apresentados pelas fêmeas do grupo sida, ao serem comparadas com o seu grupo controle (DMSO), nos sugerem uma possível anemia. Enquanto que o grupo doxo, tanto para machos, quanto para fêmeas, preserva níveis elevados destes indicadores quando comparado a outros grupos tratados, sendo sugestivo de policitemia (SCHALM et al., 1975; QUINTON JF, 2005; QUESENBERRY et al., 2012; TEIXEIRA VN, 2014).

O hematócrito se caracteriza por ser a taxa percentual do sangue que é ocupado pelas hemácias. Logo, entende-se que cerca de 38 a 50% do nosso sangue é composto por hemácias (BEUTLER E; WAALLEN J, 2006; GEORGE-GAY B; PARKER K, 2003). Quanto às hemácias, o aumento das suas taxas pode ser responsável por reduzir o fluxo sanguíneo e causar a formação de coágulos, devido ao sangue que se torna mais espesso. Assim sendo, como o uso de doxorubicina pode ocasionar a formação de coágulos nos vasos sanguíneos, embolia pulmonar (fatal em alguns casos), entre outros, é possível sugerir que o grupo doxo manteve seus níveis elevados devido a um dos efeitos colaterais do próprio medicamento (MARTINS et al., 2011).

Para auxiliar no diagnóstico diferencial de patologias hematológicas, a série vermelha é composta pelos índices hematimétricos, são eles: Hemoglobina corpuscular média (HCM), Volume corpuscular médio (VCM) e Concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) (LORENZI, 2006).

O volume corpuscular médio (VCM) é considerado um dos principais critérios para a classificação de anemias, depois da hemoglobina e do hematócrito. Ele descreve sobre o volume médio (tamanho) dos eritrócitos e, são usados para predizer se as hemácias são microcíticas, normocíticas ou macrocíticas. Quando microcíticas, classifica-se em um quadro anêmico. Contudo, só a diminuição do VCM não pode ser considerada um indicativo de anemia, tendo em vista que ele depende de parâmetros como o hematócrito e a hemoglobina, alterados de forma

severa (BESSMAN et al. 1983; MARQUES, 2016).

Juntamente com o VCM, os parâmetros HCM que se caracteriza como o peso da hemoglobina e, o CHCM que prediz a concentração de hemoglobina no interior das hemácias, são valores que servem para indicar a quantidade da hemoglobina na hemácia e, auxiliar na diferenciação das anemias, se são hipocrômicas ou hiperocrômicas (DELOUGHERY T, 2014; GREEN R; MITRA AD, 2017; SAVAGE et al., 2000).

Ao analisarmos nossos índices hematimétricos e compará-los com o que diz a literatura, o aumento do VCM, HCM e CHCM nos grupos dox, de ambos os sexos, pode sugerir a existência de hemácias macrocíticas (DELOUGHERY T, 2014; GREEN R; MITRA AD, 2017; SAVAGE et al., 2000). Um dos efeitos colaterais que a doxorrubicina pode ocasionar é a supressão da medula óssea, isso faz com que ela reduza a produção de hemácias, leucócitos e plaquetas em quantidade adequada para o organismo, porém este dado não foi observado em nosso estudo (INCA, 2015).

Quanto ao grupo sida, este não apresentou alterações para o VCM, tanto de machos, quanto de fêmeas. Entretanto, o HCM das fêmeas do grupo sida, se mostrou reduzido quando comparado ao seu controle. Além disso, as fêmeas do grupo tratado com doxorrubicina e a fração alcaloidica, demonstraram um aumento desse parâmetro em relação aos machos do mesmo grupo. As alterações nos índices de HCM, embora estatisticamente comprovados, não têm implicação clínica relevante, dado que os resultados estão próximos ou incluídos nos parâmetros de referência. Essas disparidades podem ser atribuídas à variabilidade biológica entre os roedores (CASTELLO BRANCO et al., 2011; GIKNIS; CLIFFORD, 2006; LEWIS et al., 2002).

Quanto às alterações visualizadas para o CHCM, quando em conjunto com o VCM e HCM e, mesmo com as diferenças estatísticas apresentadas, não se pode justificar ou diagnosticar como algum tipo de anemia, uma vez que, para que seja uma anemia se faz necessário que a concentração de hemoglobina também esteja abaixo da concentração considerada normal para roedores, o que não foi possível observar em nossos resultados (SPERANDIO et al. 2015).

Apesar dos resultados apresentarem significância estatística para o plaquetograma, há estudos que indicam que os índices hematológicos dos roedores podem se assemelhar aos dos humanos, com exceção da contagem de hemácias e

plaquetas, que tendem a ser bem mais elevadas nos ratos e camundongos (FEITOSA et al., 2015; SANTANA et al., 2014). Além disso, as oscilações de redução para as fêmeas e o aumento para os machos podem ser explicadas a partir da variabilidade biológica, na qual os parâmetros estabelecidos para cada sexo são mais elevados para o sexo masculino e mais reduzidos para o sexo feminino, nas devidas proporções (KARAZAWA EHI; JAMRA M, 1989; SÁ et al., 2023).

É importante destacar que, os valores de referência pré-estabelecidos nesse estudo foram estudados e adaptados a partir de nomes bem avaliados na área de pesquisa e estudo veterinário (SCHALM et al., 1975; QUINTON JF, 2005; QUESENBERRY et al., 2012; TEIXEIRA VN, 2014; DE SOUSA BARBOSA et al., 2017).

Apesar de demonstrarem alta eficácia para o tratamento de alguns tipos de câncer, as antraciclinas acabam sendo restritas pelo seu potencial cardiotoxico. Pesquisas indicam uma considerável variação na incidência de cardiotoxicidade, sendo influenciada pelas definições utilizadas, como regimes de quimioterapia e pelas características da população de pacientes. A prevalência de insuficiência cardíaca, causada pelo seu uso, varia de 1% a 5%, enquanto a redução assintomática da função sistólica do ventrículo esquerdo varia de 5% a 20% (TEI et al., 1995; MISHRA et al., 2007).

Tradicionalmente, a detecção da cardiotoxicidade causada pela quimioterapia com doxorubicina baseia-se na avaliação da função do ventrículo esquerdo (VE), seja por eletro ou ecocardiogramas, antes e durante o tratamento, utilizando a fração de ejeção (FE) do VE. Por sua vez, o estudo ecocardiográfico na avaliação da função ventricular esquerda (VE) é uma das principais aplicações clínicas deste método diagnóstico (TEI et al., 1995; SAHN et al., 1978; SCHILLER et al., 1989; KARANTH et al., 2010; SZTECHMAN et al., 2020).

A abordagem ecocardiográfica unidimensional oferece medidas precisas e padronizadas das dimensões da cavidade e da espessura das paredes do VE no final da sístole e da diástole, a partir das quais são calculados índices de função sistólica durante a fase de ejeção, a fração de ejeção, bem como a porcentagem de encurtamento sistólico da dimensão ventricular esquerda (% ΔD), utilizando para isso, o método do Delta, Teichholz e Pombo (APPEL et al., 2011; JASSAL et al., 2009; TEICHHOLZ et al., 1976; POMBO et al., 1972).

A disfunção diastólica devido à toxicidade cumulativa dose-dependente pode

ocorrer com doses cumulativas equivalentes a 200 mg/m², enquanto a disfunção sistólica geralmente ocorre com doses acima de 400 mg/m². No entanto, foi observada disfunção na função diastólica com doses cumulativas tão baixas quanto 120mg/m² (YET; BICKFORD, 2009; GEIGER et al., 2010; NAGY et al., 2008).

Na tentativa de induzir a toxicidade cardíaca, utilizamos uma dose cumulativa equivalente a 8 mg/kg. Pois, é conhecido que o dano causado pelas antraciclinas aumenta com doses cumulativas mais elevadas. Administrações repetidas desses agentes podem ocasionar danos dose-dependentes aos cardiomiócitos, causando disfunção cardíaca (YET; BICKFORD, 2009; GEIGER et al., 2010; NAGY et al., 2008; SCHIMMEL et al, 2004; PASSUELLO et al., 2013).

Pontes et al. (2010), descreve um modelo experimental de cardiomiopatia induzida por doxorubicina, no qual a dose testada era de 5 mg/kg e, ao fim de 6 meses de tratamento foi concluído que a doxorubicina induziu a dilatação cardíaca, constituindo-se como um dos modelos experimentais para cardiomiopatias. De forma semelhante, Balachandar et al. (2003) descreve a indução de cardiomiopatia em seu experimento, a partir da administração crônica de doxorubicina na dose de 1,2 mg/kg/semana, durante 14 semanas.

Entretanto, ao analisar nossos resultados, no que se refere à fração de ejeção calculada a partir de três diferentes métodos, não foi possível observar alterações significativas nos parâmetros ecocardiográficos dos grupos tratados, quando comparados entre si ou aos seus controles. Uma das hipóteses para o resultado obtido é o tempo de tratamento, visto que há estudos em que as alterações cardíacas são visíveis numa dose de 5 mg/kg, mas com um tempo de tratamento de 24 semanas (DUDNAKOVÁ et al., 2003; PONTES et al., 2010). Contudo, o nosso totalizou 4 semanas, por ser um estudo subcrônico, no qual se avaliava os efeitos toxicológicos da fração alcaloídica e o seu potencial antioxidante sobre os efeitos cardiotóxicos da doxorubicina (FERRO DM, 2019).

Outra hipótese, portanto, seria o próprio método ecocardiográfico utilizado. Pois, as medidas unidimensionais da fração de ejeção e encurtamento somente expressam adequadamente a função sistólica global, quando não há alteração nos segmentos de mobilidade ventricular ou de remodelamento ventricular. Além disso, a ecocardiografia é um método que tem uma sensibilidade limitada para identificar mudanças precoces e, contribuem para essa limitação, alguns fatores relacionados ao próprio paciente, como janela acústica inadequada, e também ao examinador

(variações intra e interobservador) sendo considerados limitações da técnica (APPEL et al., 2011; JASSAL et al., 2009; KARANTH et al., 2010).

Portanto, em alguns casos, opta-se por outros métodos, como o eletrocardiograma para avaliar efeitos agudos e, se há prolongamento do intervalo QT, ou a ventriculografia radioisotópica, em algumas situações de avaliações crônicas. Além disso, esses marcadores (FE e FEnc) têm sido associados à previsão do desenvolvimento tardio de disfunção ventricular e à mortalidade após o tratamento com doxorrubicina, o que corrobora mais uma vez, com o fato de que o tempo de tratamento prolongado contribui para o aparecimento das lesões (APPEL et al., 2011; JASSAL et al., 2009; KARANTH et al., 2010).

8. CONCLUSÕES

Considerando os modelos de toxicidade e o estudo *in silico* para o sal de criptolepina e a criptolepinona, pode-se concluir que elas possuem uma boa biodisponibilidade oral, grau de toxicidade regular (devido a mutagenicidade por dose-resposta).

Assim sendo, ao fim dos 28 dias de tratamento *in vivo* foi possível observar que o uso da fração alcaloidica (200 mg/kg), que esse ensaio corrobora com o estudo *in silico* quanto a baixa toxicidade apresentada e, a não ocorrência de mortes ou sinais e sintomas fora da normalidade, para a dose administrada. Além disso, não demonstrou nenhuma relevância clínica além de uma hipomagnesemia nas fêmeas do grupo sida em relação aos machos do mesmo grupo.

Quanto à ação da fração sobre a doxorrubicina e as alterações causadas por ela, foi possível observar que a doxo promoveu seus efeitos colaterais, um alto grau de mortalidade e as alterações bioquímicas. Sobre os distúrbios eletrolíticos, a fração alcaloidica promoveu a preservação dos níveis de cálcio para o grupo doxo-sida, inibindo a hipocalcemia gerada pela doxo.

No que se refere ao tratamento associado, os grupos doxo-sida tiveram uma menor taxa de mortalidade, sugerindo que o tratamento com a fração alcaloidica reduziu esse índice e alguns outros quando comparados aos grupos tratados apenas com a doxorrubicina.

No que se refere à função cardíaca e o efeito cardioprotetor, não houve

alterações significativas para a fração de ejeção, dentre os grupos tratados. Sugerindo ter relação com o tempo de tratamento e o método de detecção utilizado.

9. PERSPECTIVAS

A diferença entre o desempenho de compostos isolados e dos extratos vegetais é visível, já que os benefícios terapêuticos da planta se baseiam na sinergia ou antagonismo de outros metabólitos secundários, como terpenos e flavonoides, fato esse que não é demonstrado no estudo *in silico*, já que o mesmo calcula as interações dos compostos de forma isolada. Por isso, os ensaios *in vitro* e *in vivo* são importantes na elucidação dos efeitos farmacológicos da fração.

Logo, outros modelos de cardiotoxicidade devem ser utilizados para avaliar o efeito cardioprotetor e antioxidante da fração, pois mesmo o ecocardiograma não mostrando diferenças significativas entre o grupo doxo e o grupo doxo-sida, outros mecanismos de cardioproteção podem estar envolvidos, tendo em vista o potencial antioxidante da fração de alcaloides. Além disso, a distribuição mitocondrial destes alcaloides é um dado que merece ser estudado, diante da atividade antioxidante relatada.

Portanto, como perspectiva futura, na busca de entender o mecanismo antioxidante dos alcaloides da *Sida*, deve-se avaliar o uso de outras metodologias como o estudo *in vitro*, eletrocardiogramas de rotina, avaliação da peroxidação lipídica induzida por doxorubicina nas mitocôndrias cardíacas, investigar o mecanismo pelo qual a FrAl preserva os níveis do cálcio, entre outras coisas.

REFERÊNCIAS

ABDEL-RAHEEM, I. T.; ABDEL-GHANY, A. A. Hesperidin alleviates doxorubicin induced cardiotoxicity in rats. **Journal of the Egyptian National Cancer Institute**, v. 21, n. 2, p. 175–184, 2009.

ADÃO, R.; DE KEULENAER, G.; LEITE-MOREIRA, A.; BRÁS-SILVA, C. Cardiotoxicidade associada à terapêutica oncológica: mecanismos fisiopatológicos e estratégias de prevenção. **Revista Portuguesa de Cardiologia**, v. 32, n. 5, p. 395-409, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.repc.2012.11.0027>.

AGUNBIADE, T. A.; ZAGHLOL, R. Y.; BARAC, A. Heart Failure in Relation to Anthracyclines and Other Chemotherapies. **Methodist Debakey Cardiovascular Journal**, v. 15, n. 4, p. 243, 1 out. 2019.

ALBINI, A.; PENNESI, G.; DONATELLI, F.; CAMMAROTA, R.; DE FLORA, S.; NOONAN, D. M. Cardiotoxicity of anticancer drugs: the need for cardio-oncology and cardio-oncological prevention. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 102, n. 1, p. 14-25, 2010. <https://doi.org/10.1093/jnci/djp440> 10.

ALBINI, A.; PENNESI, G.; DONATELLI, F.; CAMMAROTA, R.; DE FLORA, S.; NOONAN, D. M.. Cardiotoxicity of anticancer drugs: the need for cardio-oncology and cardio-oncological prevention. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 102, n. 1, p. 14-25, 2010.

ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A.; REINA, L. C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L. LOPES, M. T. P. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 118-129, fev. 2005.

ALVES, E. A.; TAVARES, G. G.; BORGES, L. L. Importância da atenção farmacêutica para a quimioterapia antitumoral. **Revista Brasileira Militar de Ciências**, v.6, n. 15, p. 29, 2020.

ALVES, G.; FALCAO, A.; FORTUNA, A. In vitro and in vivo relevance of the P-glycoprotein probe substrates in drug discovery and development: focus on rhodamine 123, digoxin and talinolol. **J Bioequiv Availab**, v. 1, n. 2, p. 1-23, 2011.

ALVES, M. S.; STREIT, L.; PIZZOLATO, T. M. Utilização de Modelos *in silico* para Avaliação da Toxicidade de Resíduos de Agrotóxicos, Fármacos e Metabólitos em Águas Naturais. **Química Nova**, v. 46, p. 881-889, 2023. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20230062>

AMERICAN CANCER SOCIETY. Chemotherapy for breast cancer. 2017. Disponível em: https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/treatment/chemotherapy-for-breast-cancer.html#written_by_apoptotic_cell_death_in_arterial_hypertension_mechanisms_and_potential_management. **Hypertension**, v. 38, n. 6, p. 1406-122001. doi: 10.1161/hy1201.099615.

AMES, B. N.; DURSTON, W. E.; YAMASAKI, E.; LEE, F. D. Carcinogens are mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for

detection. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 70, n. 8, p. 2281-2285, 1973.

AMIRKIA, V.; HEINRICH, M. Alkaloids as drug leads—A predictive structural and biodiversity-based analysis. *Phytochemistry letters*, v. 10, p. 48-53, 2014.

ANJOS FERREIRA, A. L.; RUSSELL, R. M.; ROCHA, N.; LADEIRA, M. S. P.; SALVADORI, D. M. F.; NASCIMENTO, M. C. M. O., et al. (2007). Effect of lycopene on doxorubicin-induced cardiotoxicity: an echocardiographic, histological and morphometrical assessment. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 101(1), 16-24.

APPEL, J. M.; SOGAARD, P.; MORTENSEN, C. E.; SKAGEN, K.; NIELSEN, D. L. Tissue-Doppler assessment of cardiac left ventricular function during short-term adjuvant epirubicin therapy for breast cancer. **Journal of the American Society of Echocardiography**, v. 24, n. 2, p. 200-206, 2011.

ARCHER, J. Testes de emocionalidade em ratos e camundongos: uma revisão. **Animal Behavior**, v. 21, n. 2, p. 205–235. doi: 10.1016 / s0003-3472 (73) 80065-x.

ARMENIAN, S.; BHATIA, S. Predicting and Preventing Anthracycline-Related Cardiotoxicity. **American Society Of Clinical Oncology Educational Book**, n. 38, p.3-12, 2018.

ASSAM J. P.; DZOYEM, J. P.; PIEME, C. A.; PENLAP, V. B. *In vitro* antibacterial activity and acute toxicity studies of aqueous-methanol extract of *Sida rhombifolia* Linn. (Malvaceae). **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 10, n. 40, 2010.

ASSUMPÇÃO, J. U. C. V. Farmacocinética pré-clínica e cardiotoxicidade da doxorubicina veiculada por sistema microemulsionado. **Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)**. Araraquara: Universidade Estadual Paulista; 2011.

AULETTA, C. S.; RAC, M. Acute, subchronic, and chronic toxicology. **Handbook of toxicology**, p. 51-162, 1995.

BALACHANDAR, A. V., MALARKODI, K. P., & VARALAKSHMI, P. (2003). Protective role of DL α -lipoic acid against adriamycin-induced cardiac lipid peroxidation. *Human & Experimental Toxicology*, 22(5), 249-254.

BARBAR, T.; MAHMOOD, S. S.; LIU, J. E. Cardiomyopathy prevention in cancer patients. **Cardiology Clinics**, v. 37, n. 4, p. 441-447, 2019.

BARROS, M. V. L.; MACEDO, A. V. S.; SARVARI, S. I.; FALEIROS, M. H.; FELIPE, P. T.; SILVA, J. L. P. Alteração contrátil segmentar ventricular esquerda é preditor independente de cardiotoxicidade em pacientes com câncer de mama em tratamento quimioterápico. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 112, n. 1, p. 50-56, 2019.

BASTOS, M.L.; CARMO, H.; CARVALHO, F.; DINIS-OLIVEIRA, R.J.; REMIÃO, F.; SILVA, R. (2015). Modulation of P-glycoprotein efflux pump: induction and activation as a therapeutic strategy. **Pharmacology & therapeutics**, v. 149, p. 1-123, 2015.

BESSMAN, J. D.; GILMER, P. R.; GARDNER, F. H. Improved classification of anemias by MCV and RDW. **American Journal of Clinical Pathology**, Oxford, v. 80, n. 3, p. 322-326, 1983.

BEUTLER, E.; WAALEN, J. The definition of anemia: what is the lower limit of normal of the blood hemoglobin concentration? **Blood**, v. 107, n. 5, p. 1747-1750, 2006.

BISWANATH DINDA, B. D.; NIRANJAN DAS, N. D.; SUBHAJIT DINDA, S. D.; MANIKARNA DINDA, M. D.; INDRAJIT SILSARMA, I. S. The genus *Sida* L.–A traditional medicine: Its ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological data for commercial exploitation in herbal drugs industry. **Journal of ethnopharmacology**, v. 176, p. 135-176, 2015.

BLAAUBOER, B. J. The long and winding road of progress in the use of in vitro data for risk assessment purposes: From “carnation test” to integrated testing strategies. **Toxicology**, v. 332, p. 4-7, 2015.

BLANC, L. O. Os efeitos cardiotoxicos gerados pelas antraciclinas: uma revisão integrativa. **Tese (especialização em oncologia)**, 2013.

BONADONNA, G., MONFARDINI, S., DE LENA, M., FOSSATI-BELLANI, F., & BERETTA, G. (1970). Phase I and preliminary phase II evaluation of adriamycin (NSC 123127). *Cancer Research*, 30(10), 2572-2582.

BOVINI, M. G. *Sida* na Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**; Rio de Janeiro, Brasil: 2015.

BRANCO, A. C. D. S. C., DINIZ, M. D. F. F. M., DE ALMEIDA, R. N., SANTOS, H. B., DE OLIVEIRA, K. M., DO AMARAL RAMALHO, J., & DANTAS, J. G. Parâmetros bioquímicos e hematológicos de ratos Wistar e camundongos Swiss do Biotério Professor Thomas George. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 15, n. 2, p. 209-14, 2011.

BRASIL, Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Diretrizes para estruturação de farmácias no âmbito do Sistema Único de Saúde**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009b. (Série A. Normas e Manuais Técnicos), 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira / Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília: Anvisa, 2011. 126p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos _ **Gerência de Avaliação de Segurança e Eficácia – GESEF**. Brasília, 31 de janeiro de 2013 – vs 2.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Os ensaios não clínicos indispensáveis ao registro de medicamentos. **Gerência Geral de Medicamentos e Produtos Biológicos – GGMed**. Brasília: Anvisa, 2019.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 90 de 16/03/2004 / (D.O.U. 18/03/2004)**. Determina a publicação do guia para a realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos. 2004.

BRASIL. CONCEA – Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal. Resolução Normativa nº 37 de janeiro de 2018. **Diretriz da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Experimentação Animal**.

BRASIL. **Portaria nº N° 874**, de 16 de maio de 2013. Institui a Política Nacional para a Prevenção e Controle do Câncer na Rede de Atenção à Saúde das Pessoas com Doenças Crônicas no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2013/prt0874_16_05_2013.html

BROWN EM. Physiology and pathophysiology of the extracellular calcium sensing receptor. *Am J Med* 1999;106:238-53.

BROWN EM. Extracellular Ca²⁺ sensing, regulation of parathyroid cell function, and role of Ca²⁺ and other ions as extracellular (first) messengers. *Physiol Rev* 1991;71:371-411.

CABRAL, C.; PITA, J. Alcaloides—Relevância na Farmácia e no Medicamento. **Ciclo de exposições**, 2015.

CALADO, A. M. C.; RAMOS, R. A. N.; CINTRA, R. J.; ALVES, L. C.; TINUCCI-COSTA, M. Expressão da glicoproteína-p e MRP1 em tecidos de cães com leishmaniose visceral. **ARS Veterinaria**, v. 30, n. 2, p 71-76, 2016.

CARDINALE, D.; COLOMBO, A.; LAMANTIA, G.; COLOMBO, N.; CIVELLI, M.; DE GIACOMI, G.; CIPOLLA, C. M. Anthracycline-induced cardiomyopathy: clinical relevance and response to pharmacologic therapy. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 55, n. 3, p. 213-220, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2009.03.095>

CARVALHO, G. A. C. Impacto das intervenções do farmacêutico clínico no cuidado de pacientes oncológicos: Uma revisão sistemática. **Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)**, 2018.

CASCORBI, I. Drug interactions—principles, examples and clinical consequences. **Deutsches Ärzteblatt International**, v. 109, n. 33-34, p. 546, 2012.

CECHUINEL, A.; FONTANA, S. A. P.; GIUSTINA, K. P. D.; PEREIRA, A. S.; PRADO, S.S. Estudo/análise documental: uma revisão teórica e metodológica. **Criar Educação**, v. 5, n. 1, 2016.

CHATURVEDI, P.; KWAPE, T. E.; FULUKANI, I. Evaluation of free radical scavenging activities of *Sida rhombifolia* extracts. **Indian Journal of Plant Sciences**, v.4, n.1, p. 5-10, 2015.

CHAVES, O. S.; GOMES, R. A.; TOMAZ, A. C. D. A.; FERNANDES, M. G.; DAS GRAÇAS MENDES JUNIOR, L.; DE FÁTIMA AGRA, M.; DE FÁTIMA VANDERLEI DE SOUZA, M. Secondary metabolites from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) and the vasorelaxant activity of cryptolepinone. **Molecules**, v. 18, n. 3, p. 2769-2777, 2013.

CHAVES, O. S.; TELES, Y. C. F.; MONTEIRO, M. M. D. O.; MENDES JUNIOR, L. D. G.; AGRA, M. D. F.; BRAGA, V. D. A.; SOUZA, M. D. F. V. D Alkaloids and phenolic compounds from *Sida rhombifolia* L (Malvaceae) and vasorelaxant activity of two indoloquinoline alkaloids. **Molecules**, v. 22, n. 1, p. 94, 2017.

CHENG, J. W. M.; FRISHMAN, W. H.; ARONOW, W. S. Updates on cytochrome p450-mediated cardiovascular drug interactions. **Disease-a-Month**, v. 56, n. 3, p. 163-179, 2010.

CHUWA, T.; RODEHEFFER, R. J. New index of combined systolic and diastolic myocardial performance: a simple and reproducible measure of cardiac function—a study in normals and dilated cardiomyopathy. **Journal of cardiology**, v. 26, n. 35, p. 7-366, 1995.

CICOGNA, A. C.; ROBINSON, K. G.; CONRAD, C. H.; SQUIRE, R.; OKOSHI, M. P.; BING, O. H. Myocardial function during the transition from compensated left ventricular hypertrophy to failure. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 69, n. 6, p. 381-384, 1997.

CLAXTON, L. D.; UMBUZEIRO, G. A.; DEMARINI, D. M. The Salmonella mutagenicity assay: the stethoscope of genetic toxicology for the 21st century. **Environmental health perspectives**, v. 118, n. 11, p. 1515-1522, 2010.

CRUZ, M.; DUARTE-RODRIGUES, J.; CAMPELO, M. Cardiotoxicidade na terapêutica com antraciclinas: estratégias de prevenção. Revista Portuguesa de Cardiologia, v. 35, n. 6, p. 359-371, 2016.10.1016/j.repc.2015.12.004.

CUOMO, A.; RODOLICO, A.; GALDIERI, A.; RUSSO, M.; CAMPI, G.; FRANCO, R.; MERCURIO, V. Heart failure and cancer: mechanisms of old and new cardiotoxic drugs in cancer patients. **Cardiac failure review**, v. 5, n. 2, p. 112, 2019.

DAMY, S. B.; CAMARGO, R. S.; CHAMMAS, R.; FIGUEIREDO, L. F. P. D. L. Aspectos fundamentais da experimentação animal-aplicações em cirurgia experimental. Revista da Associação Médica Brasileira, v. 56, p. 103-111, 2010.

DE ANDRADE MARTINS, W., DE SOUZA, V. B., ROCHA, L. F. C., & JUNIOR, H. V. Cardiomiopatia por doxorubicina em pacientes com câncer de mama—a propósito de dois casos. **Revista Brasileira de Cardiologia**, v. 24, n. 3, p. 196-198, 2011.

DE ANDRADE MARTINS, W.; DE SOUZA, V. B.; ROCHA, L. F. C.; JUNIOR, H. V. Cardiomiopatia por doxorubicina em pacientes com câncer de mama—a propósito de dois casos. **Revista Brasileira de Cardiologia**, v. 24, n. 3, p. 196-198, 2011.

DE FALCO, A.; CUKIERMAN, D. S.; HAUSER-DAVIES, R. A.; REY, N. A. Doença de alzheimer: hipóteses etiológicas e perspectivas de tratamento. **Química Nova**; v. 39, n. 1, p. 63-80, 2016.

DE SOUSA BARBOSA, B.; PRAXEDES, É. A.; LIMA, M. A.; PIMENTEL, M. M. L.; SANTOS, F. A.; BRITO, P. D.; BEZERRA, M. B. Perfil hematológico e bioquímico de camundongos da linhagem Balb-c. **Acta Scientiae Veterinariae** , v. 45, p. 1-5, 2017.

DE SOUZA, J.; FREITAS, Z. M. F.; STORPIRTS, 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. 514-527, 2007.

DELOUGHERY, T. Microcytic anemia. **New England Journal of Medicine**, v. 371, n. 14, p. 1324-1331, 2014. doi: 10.1056/NEJMra1215361.

DERES, P., HALMOSI, R., TOTH, A., KOVACS, K., PALFI, A., HABON, T., et al. (2005). Prevention of doxorubicin-induced acute cardiotoxicity by an experimental antioxidant compound. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 45(1), 36-43.

DEVLIN, T. M. **Manual de bioquímica: com correlações clínicas**. Editora Blucher, 2021.

DI STASI, L. C. Plantas medicinais: arte e ciência. **Um guia de estudo interdisciplinar**-Editora da UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA-São Paulo-SP, 1996.

DINIZ, M. D. F. F. M., MELO, A. F. M. D., SANTOS, H. B., SILVA, M. V. B., & MEDEIROS, I. A. Ensaios toxicológicos pré-clínicos agudos com as folhas de *Cissampelos Sympodialis* Eichl em ratos. **Rev. bras. ciênc. saúde**, p. 135-142, 2004.

DOLIGALSKI, C. T.; LOGAN, A. T.; SILVERMAN, A. Drug interactions: a primer for the gastroenterologist. **Gastroenterol Hepatol**, v. 8, n. 6, p. 373-383, 2012.

DORES, H.; ABECASIS, J.; CORREIA, M. J.; GÂNDARA, F.; FONSECA, C.; AZEVEDO, J.; MENDES, M. Detecção de cardiotoxicidade subclínica induzida por Trastuzumabe em portadoras de câncer de mama. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 100, n. 4, p. 328-332, 2013.

DUDNAKOVÁ, T. V.; LAKOMKIN, V. L.; TSYPLENKOVA, V. G.; SHEKHONIN, B. V.; SHIRINSKY, V. P.; KAPELKO, V. I. Alterations in myocardial cytoskeletal and regulatory protein expression following a single Doxorubicin injection. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 41, n. 5, p. 788-794, 2003.

DYSON, J.; et al. Direct and indirect P-glycoprotein transfers in MCF7 breast cancer cells. *Journal of Theoretical Biology*, v. 461, p. 239-253, 2019.

EASTMOND, D. A.; HARTWIG, A.; ANDERSON, D.; ANWAR, W. A.; CIMINO, M. C.; DOBREV, I.; DOUGLAS, G. R.; NOHMI, T.; PHILLIPS, D. H.; VICKERS, C. Mutagenicity testing for chemical risk assessment: update of the WHO/ IPCS Harmonized Scheme. **Mutagenesis**, v. 24, n. 4, p. 341-349, 2009.

ECHOU, A. J.; ABOUBACAR, N.; DRAMANE, K.; ELLA, E. M.; JOHNSON, E. A.; ENOW-OROCK, G. E.; KOFFI, W. C. Traditional medicine and pharmacopoeia. Contribution to ethnobotanical and floristic studies in Cameroon. Organisation of African Unity Scientific and Research Commission. **Centre national de production de manuels scolaire Benin Porto-novo**, 1996.

EL-SANUSI, N.I.; EL-ADAM, S. The effect of low levels of dietary *Ruta graveolens* and *Solenostemma argel* or their mixture on bovans chicks. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, Dubai, v. 2, n. 1, p. 27-31, 2007.

ERCOLE, F. F.; DE MELO, L. S.; ALCOFORADO, C. L. G. C. Revisão integrativa versus revisão sistemática. **REME-Revista Mineira de Enfermagem**, v. 18, n. 1, 2014.

EWER, M. S.; EWER, S. M. Cardiotoxicity of anticancer treatments: what the cardiologist needs to know. **Nature Reviews Cardiology**, v. 7, n. 10, p. 564-575, 2010. doi: <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2010.121> 8.

FEITOSA, C. M.; DOS SANTOS, P. R. P.; DE FREITAS, R. M.; RODRIGUES, A. M. X.; DA COSTA JUNIOR, J. S.; DO NASCIMENTO CAVALCANTE, A. Ensaios pré-clínicos em ratos tratados com 1,3-diestearil-2-oleil-glicerol, constituinte isolado de *Platonia insignis*. **Revista ConScientiae Saúde**, São Paulo, v. 14, n. 4, p. 555-567, 2015.

FERREIRA NETO, C. B. J. Interações medicamentosas dos antineoplásicos. Almeida JRC, organizador. **Farmacêuticos em oncologia: uma nova realidade**. 2ª ed. São Paulo: Atheneu, cap. 12, p. 385-415, 2010.

FERREIRA, A.L.A.; RUSSELL, R.M.; ROCHA, N.; LADEIRA, M.S.P.; SALVADORI, D.M.F.; NASCIMENTO, M.; MATSUI, M.; CARVALHO, F. A.; TANG, G.; MATSUBARA, L. S.; MATSUBARA, B. B. Effect of lycopene on doxorubicin-induced cardiotoxicity: An echocardiographic, histological and morphometrical assessment. **Basic Clin Pharmacol Toxicol.**, v. 101, n. 1, p. 16-24, 2007.

FERRO, D. M. Guanxuma (*Sida rhombifolia* L.): Obtenção de extratos com potencial antioxidante por métodos a alta pressão e encapsulação via spray-drying. Tese (doutorado), 2019.

FLAUZINO, V. H. P.; VITORINO, P. G. S.; HERNANDES, L. O.; GOMES, D. M.; CESÁRIO, J. M. S. Paciente cardiopata em tratamento de câncer: Implicações para o cuidado de enfermagem. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 6, p. 1-12, 2021.

FORTUÑO, M. A.; RAVASSA, S.; FORTUÑO, A.; ZALBA, G.; DÍEZ, J. Cardiomyocyte

GEIGER, S.; LANGE, V.; SUHL, P.; HEINEMANN, V.; STEMMLER, H. J. Anticancer therapy induced cardiotoxicity: review of the literature. **Anticancer Drugs**, v. 21, n. 6, p. 578-590, 2010.

GENUXAL BAXTER. São Paulo: Baxter Hospitalar Ltda.; 2019. **Bula de medicamento**. [acesso 2019 nov. 11]. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=4968352019&pIdAnexo=11207943 14.

GEORGE-GAY, B.; PARKER, K. Understanding the complete blood count with differential. **Journal of PeriAnesthesia Nursing**, v. 18, n. 2, p. 96-117, 2003.

GIKNIS, M. L. A.; CLIFFORD, C. B. Clinical laboratory parameters for Crl:CD (SD) rats. **Charles River Laboratories**, Massachusetts, p. 1-18, 2006. Disponível em: https://www.crj.co.jp/cms/pdf/info_common/50/8250933/rm_rm_r_clinical_parameters_cd_rat_06.pdf. Acesso em: 6 out. 2019.

GOLAN, D. et al. **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

GRANADOS-PRINCIPAL, S., QUILES, J. L., RAMIREZ-TORTOSA, C. L., SANCHEZ-ROVIRA, P., & RAMIREZ-TORTOSA, M. C. (2010). New advances in molecular mechanisms and the prevention of adriamycin toxicity by antioxidant nutrients. *Food and Chemical Toxicology*, 48(6), 1425-1438.

GREEN, R.; MITRA, A. D. Megaloblastic anemias: nutritional and other causes. **Medical Clinics**, v. 101, n. 2, p. 297-317, 2017. doi: 10.1016/j.mcna.2016.09.013.

GRIPP, E. A.; OLIVEIRA, G. E.; FEIJÓ, L. A.; GARCIA, M. I.; XAVIER, S. S.; SOUSA, A. S. Acurácia do *strain* longitudinal global na predição de cardiotoxicidade em uma coorte de pacientes com câncer de mama em tratamento com antracíclicos e/ou Trastuzumab. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 110, n. 2, p. 140-150, 2018.

GUIMARÃES, S.; MOURA, D.; SOARES DA SILVA, P. Terapêutica medicamentosa e suas bases farmacológicas, **Manual de farmacologia e farmacoterapia**, 5ª Edição, Porto Editora, Porto, 2006.

HADI, N.; YOUSIF, N. G.; AL-AMRAN, F. G.; HUNTEI, N. K.; MOHAMMAD, B. I.; ALI, S. J. Vitamin E and telmisartan attenuates doxorubicin induced cardiac injury in rat through down regulation of inflammatory response. **BMC Cardiovascular Disorders**, v. 12, p. 1-7, 2012.

HAJJAR, L. A.; COSTA, I. B. S. D. S. D.; LOPES, M. A. C. Q.; HOFF, P. M. G.; DIZ, M. D. P. E.; FONSECA, S. M. R.; KALIL FILHO, R. Diretriz Brasileira de Cardio-oncologia–2020. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 115, p. 1006-1043, 2020.

HALL, C. S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. **Journal of Comparative psychology**, v. 18, n. 3, p. 385, 1934.

HALL, C. S. Emotional behavior in the rat. III. The relationship between emotionality and ambulatory activity. **Journal of comparative psychology**, v. 22, n. 3, p. 345, 1936.

HAN, J.; WANG, D.; YE, L.; LI, P.; HAO, W.; CHEN, X.; MA, J.; WANG, B.; SHANG, HARTUNG, T.; DASTON, G. Are in vitro tests suitable for regulatory use?. **Toxicological sciences**, v. 111, n. 2, p. 233-237, 2009.

HARVEY, A. L.; EDRADA-EBEL, R.; QUINN, R. J. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. *Nature reviews drug discovery*, v. 14, n. 2, p. 111-129, 2015.

HERT, J.; IRWIN, J. J.; LAGGNER, C.; KEISER, M. J.; SHOICHET, B. K. HERT, Jérôme et al. Quantifying biogenic bias in screening libraries. *Nature chemical biology*, v. 5, n. 7, p. 479-483, 2009.

HEYWOOD, V. H. Flowering Plants on the World, Ed. B. T. Batsford Ltda., London, 1993.

HODGES, L. M.; MARKOVA, S. M.; CHINN, L. W.; GOW, J. M.; KROETZ, D. L.; KLEIN, T. E.; ALTMAN, R. B. Very important pharmacogene summary: ABCB1 (MDR1, P-glycoprotein). *Pharmacogenetics and genomics*, v. 21, n. 3, p. 152, 2011.

IEMITSU, M.; MIYAUCHI, T.; MAEDA, S.; SAKAI, S.; FUJII, N.; MIYAZAKI, H.; KAKINUMA, Y.; MATSUDA, M.; YAMAGUCHI, I. Cardiac hypertrophy by hypertension and exercise training exhibits different gene expression of enzymes in energy metabolism. *Hypertension research: official journal of the Japanese Society of Hypertension*, v. 26, n. 10, p. 829–837, 2003. <https://doi.org/10.1291/hypres.26.829>

IJAZ, S.; AKHTAR, N.; KHAN, M. S.; HAMEED, A.; IRFAN, M.; ARSHAD, M. A.; &ASRAR, M. S. Plant derived anticancer agents: A green approach towards skin cancers. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 103, p. 1643-1651, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.04.113>.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). Quimioterapia: o que é?. Rio de Janeiro, 2015; (INCA) p.50-76.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro: **INCA**, 2019.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Estimativa 2023 – Incidência de Câncer no Brasil/ Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro: **INCA**, 2022.

INSTITUTO PARA PRÁTICAS SEGURAS NO USO DE MEDICAMENTOS (ISMP). Antineoplásicos parenterais: erros de medicação, riscos e práticas seguras na utilização. **Boletim ISMP Brasil**, v. 3, n. 3, p. 1-4, 2014.

ISMAIL, M.; HASAN, H.; EL-ORFALI, Y.; ISMAIL, H.; KHAWAJA, G. Anti-inflammatory, antioxidative, and hepatoprotective effects of trans 9-tetrahydrocannabinol/sesame oil on adjuvant-induced arthritis in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2018, 2018.

ISWANTINI, D.; DARUSMAN, L.K.; HIDAYAT, R. ISWANTINI, D. et al. Indonesian Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.) as antigout and inhibition kinetics of flavonoids crude extract on the activity of xanthine oxidase. *Journal of Biological Sciences*, v. 9, n. 5, p. 504-508, 2009.

J.; LI, D.; ZHENG, Q. Rosmarinic Acid Protects against Inflammation and Cardiomyocyte Apoptosis during Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury by Activating Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma. **Front Pharmacol.**, v. 11, n. 8, p. 456, 2017.

JAMES, P. A.; OPARIL, S.; CARTER, B. L.; CUSHMAN, W. C.; DENNISON-HIMMELFARB, C.; HANDLER, J.; ORTIZ, E. 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). **Jama**, v. 311, n. 5, p. 507-520, 2014. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.284427> 16.

JASSAL, D. S.; HAN, S. Y.; HANS, C.; SHARMA, A.; FANG, T.; AHMADIE, R.; SINGAL, P. K. Utility of tissue Doppler and strain rate imaging in the early detection of

trastuzumab and anthracycline mediated cardiomyopathy. **Journal of the American Society of Echocardiography**, v. 22, n. 4, p. 418-424, 2009.

KACIMI, R.; GERDES, A. M. Alterations in G protein and MAP kinase signaling pathways during cardiac remodeling in hypertension and heart failure. *Hypertension*, v. 41, n. 4, p. 968-977, 2003.

KALIL FILHO, R., HAJJAR, L. A., BACAL, F., HOFF, P. M., DIZ, M. D. P., & GALAS, F. R. B. G. I Diretriz Brasileira de cardio-oncologia da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 96, p. 01-52, 2011.

KANAAN, S.; TERRA, M. A.; SARAMAGO, R. H.; XAVIER, A. R.; SILVA, M. L.; BENJO, A. M. **Bioquímica clínica**. 2a. ed. São Paulo, SP: Atheneu, 2014.

KANG, Y.; XIAO, F.; CHEN, H.; WANG, W.; SHEN, L.; ZHAO, H.; HE, B. Cardiotoxicidade subclínica induzida por antraciclina no seguimento a longo prazo de sobreviventes de linfoma: uma análise speckle tracking multi-layer. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 110, n. 3, p. 219-228, 2018.

KAR, S.; SANDERSON, H.; ROY, K.; BENFENATI, E.; LESZCZYNSKI, J. Ecotoxicological assessment of pharmaceuticals and personal care products using predictive toxicology approaches. **Green Chemistry**, v. 22, n. 5, p. 1458-1516, 2020.

KARANTH, N. V.; ROY, A.; JOSEPH, M.; DE PASQUALE, C.; KARAPETIS, C.; KOCZWARA, B. Utility of prechemotherapy echocardiographical assessment of cardiac abnormalities. **Supportive Care in Cancer**, v. 19, p. 2021-2026, 2011.

KARAZAWA, E. H. I.; JAMRA, M. Normal hematological parameters. **Revista de Saúde Pública**, v. 23, p. 58-66, 1989. <https://doi.org/10.1590/S0034-89101989000100008>

KELISHOMI, R. B., EJTEMAEEMEHR, S., TAVANGAR, S. M., RAHIMIAN, R., MOBARAKEH, J. I., & DEHPOUR, A. R. (2008). Morphine is protective against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rat. *Toxicology*, 243, 96-104.

KONATE, K.; MAVOUNGOU, J. F.; OUÉDRAOGO, M.; LEPENGUE, A. N.; SOUZA, A.; BARRO, N.; M'BATCHI, B. Preliminary toxicity study, anti-nociceptive and anti-inflammatory properties of extracts from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae). **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, n. 9, p. 3136, 2012.

KRISHNAMURTHY, B.; RANI, N.; BHARTI, S.; GOLECHHA, M.; BHATIA, J.; NAG, T. C.; RAY, R.; ARAVA, S.; ARYA, D. S. Febuxostat ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. **Chemico-Biological Interactions**, v. 237, p. 96–103, 2015.

LAKHANI, H. V.; PILLAI, S. S.; ZEHR, M.; DAO, B.; TIRONA, M. T.; THOMPSON, E.; SODHI, K. Detecting early onset of anthracyclines-induced cardiotoxicity using a novel panel of biomarkers in West-Virginian population with breast cancer. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 7954, 2021.

LAMBERTENGHI-DELILIERIS, G.; ZANON, P.L.; POZZOLI, E.F.; BELLINI, O. Myocardial injury induced by a single dose of adriamycin: an electron microscopic study. **Tumori**, v. 62, n. 5, p. 517-28, 1976.

- LEFRAK, E. A.; PIŤHA, J.; ROSENHEIM, S.; GOTTLIEB, J. A. A clinicopathologic analysis of adriamycin cardiotoxicity. **Cancer**, v. 32, n. 2, p. 302-314, 1973.
- LEWIS, R. W.; BILLINGTON, R.; DEBRYUNE, E.; GAMER, A.; LANG, B.; CARPANINI, F. Recognition of adverse and non adverse effects in toxicity studies. **Toxicologic Pathology, North Carolina**, v. 30, n. 1, p. 66-74, 2002.
- LI, K., SUNG, R. Y. T., HUANG, W. Z., YANG, M., PONG, N. H., LEE, S. M., et al. (2006). Thrombopoietin protects against in vitro and in vivo cardiotoxicity induced by doxorubicin. *Circulation*, 113, 2211-2220.
- LI, X.; LIU, M.; SUN, R.; ZENG, Y.; CHEN, S.; ZHANG, P. Cardiac complications in cancer treatment—A review. **Hellenic Journal of Cardiology**, v. 58, n. 3, p. 190-193, 2017.
- LI, X.; LUO, Y.; WANG, L.; LI, Y.; SHI, Y.; CUI, Y.; XUE, M. Acute and subacute toxicity of ethanol extracts from *Salvia przewalskii* Maxim in rodents. **Journal of ethnopharmacology**, v. 131, n. 1, p. 110-115, 2010.
- LOBATO, L.; CAMPOS, L. O.; CAETANO, S. A.; BRAZ, W. R. Cuidados farmacêuticos no tratamento oncológico: uma revisão integrativa da literatura. **Conexão Ci, Formiga/MG**, v. 14, n. 1, p.31-38, 2019.
- LOMBARDO, A.; PIZZO, F.; BENFENATI, E.; MANGANARO, A.; FERRARI, T.; GINI, G. A new in silico classification model for ready biodegradability, based on molecular fragments. **Chemosphere**, v. 108, p. 10-16, 2014. doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.02.073. Epub 2014 Apr 6. PMID: 24875906.
- LORENZI, T.F. **Manual de hematologia: propedêutica e clínica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 711p.
- MACHADO R. B.; PEREIRA E.; CALDAS D.; GONÇALVES N.; SANTOS K.; TABOR E.; STEININGER, M. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. **Conservation International, Brasília** – DF. 2004.
- MALBOUISSON, L. M. S.; SANTOS, L. M. D.; AULER, Jr. J. O. C.; CARMONA, M. J. C. Proteção miocárdica em cirurgia cardíaca. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 55, p. 558-574, 2005.
- MARON, B. J.; EPSTEIN, S. E. Hypertrophie cardiomyopathy: A discussion of nomenclature. **The American journal of cardiology**, v. 43, n. 6, p. 1242-1244, 1979.
- MARON, D. M.; AMES, B. N. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, v. 113, n. 3-4, p. 173-215, 1983.
- MARQUES, T. C. A. Relatório de estágio: mestrado em análises clínicas. 2016. **Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas)** – Faculdade de Farmácia de Coimbra, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2016.
- MATSUBARA, L. S.; ALA, F. Cardiomiopatias tóxicas. **Tratado de cardiologia** SOCESP. São Paulo: Manole, p. 845-57, 2005.

MINOTTI, G.; MENNA, P.; SALVATORELLI, E.; CAIRO, G.; GIANNI, L. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. **Pharmacol Rev.**, v. 56, n. 2, p. 185-229, 2004.

MISHRA, R. K.; KIZER, J. R.; PALMIERI, V.; ROMAN, M. J.; GALLOWAY, J. M.; FABSITZ, R. R.; DEVEREUX, R. B. Utility of the myocardial performance index in a population with high prevalences of obesity, diabetes, and hypertension: the strong heart study. **Echocardiography**, v. 24, n. 4, p. 340-347, 2007.

MITRĘGA, K.A.; SPAŁEK, A.M.; NOŻYŃSKI, J.; PORC, M.; STANKIEWICZ, M.; KRZEMIŃSKI, T.F. Cardiomyopathy development protection after myocardial infarction in rats: Successful competition for major dihydropyridines' common metabolite against captopril. **Plos one**, v. 12, n. 6, p. e0179633, 2017.

MIYASHIRO K, HAUACHE OM. Mutações do gene do receptor sensível ao cálcio extracelular e suas doenças associadas. *Arq Brasil Endocrinol Metab* 2002;46:411-17.

MIYOSHI, T.; TANAKA, H.; KANEKO, A.; TATSUMI, K.; MATSUMOTO, K.; MINAMI, H.; KAWAI, H.; HIRATA, K. I. Left ventricular endocardial dysfunction in patients with preserved ejection fraction after receiving anthracycline. **Echocardiography**, v. 31, n. 7, p. 848–857, 2014.

MORTELMANS, K.; ZEIGER, E. The Ames *Salmonella*/microsome mutagenicity assay. **Mutation research/fundamental and molecular mechanisms of mutagenesis**, v. 455, n. 1-2, p. 29-60, 2000.

MOURA, L. R.; VIEGAS, A. A.; NASCIUTTI, P. R.; CARVALHO, R. O. A.; DE MOURA, V. M. B. D. Cardiotoxicidade Induzida pela Doxorubicina: Patogenia, Diagnóstico e Terapias Antioxidantes. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia**, v.11 n.22; p. 2015

NAGY, A. C.; CSEREP, Z.; TOLNAY, E.; NAGYKALNAI, T.; FORSTER, T. Early diagnosis of chemotherapy-induced cardiomyopathy: a prospective tissue Doppler imaging study. **Pathology & Oncology Research**, v. 14, p. 69-77, 2008.

NARANJO, C. A.; BUSTO, U.; SELLERS, E. M.; SANDOR, P.; RUIZ, I.; ROBERTS, E. A.; GREENBLATT, D. J. A method for estimating the probability of adverse drug reactions. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 30, n. 2, p. 239-245, 1981. <https://doi.org/10.1038/clpt.1981.154>

NEILAN, T. G., BLAKE, S. L., ICHINOSE, F., RAHER, M. J., BUYS, E. S., JASSAL, D. S., et al. (2007). Disruption of nitric oxide synthase 3 protects against the cardiac injury, dysfunction, and mortality induced by doxorubicin. *Circulation*, 116(5), 506-514.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *Journal of natural products*, v. 79, n. 3, p. 629-661, 2016.

NOZAKI, N., SHISHIDO, T., TAKEISHI, Y., & KUBOTA, I. (2004). Modulation of doxorubicin induced cardiac dysfunction in toll-like receptor-2-knockout mice. *Circulation*, 110(18), 2869-2874.

OECD, Test No. 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents. **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals**, Section 4, OECD Publishing, Paris. 2008.

OECD, Test No. 423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method. **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals**, Section 4, OECD Publishing, Paris. 2001.

OGIDIGO, J. O.; ANOSIKE, C.; NWODO, O. F. C.; OMOTUYI, O.; NASH, O.; METIBEMU, S.; SANI, M. *In silico* molecular docking and pharmacokinetic studies of some selected phyto-constituents of *Byrophyllum pinnatum* as a potential selective inhibitor of MAO-B. **Pharmacologyonline**, v. 3, n. 45, p. 14-49, 2018.

OLANDER, M.; WISNIEWSKI, J. R.; MATSSON, P.; LUNDQUIST, P.; ARTURSSON, P. The Proteome of Filter-Grown Caco-2 Cells With a Focus on Proteins Involved in Drug Disposition. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, n. 2, p. 817-827, 2016.

OLIVEIRA, G. M. M. D.; BRANT, L. C. C.; POLANCZYK, C. A.; BIOLO, A.; NASCIMENTO, B. R.; MALTA, D. C.; RIBEIRO, A. L. P. Estatística Cardiovascular–Brasil 2020. *Arquivos brasileiros de Cardiologia*, v. 115, n. 3, p. 308-439, 2020.

OLIVEIRA, G. N. Metabólitos produzidos por *Streptomyces* spp. com atividade antitumoral. **Trabalho de conclusão de curso (graduação em farmácia)**, 2014.

OLSON, H.; BETTON, G.; ROBINSON, D.; THOMAS, K.; MONRO, A.; KOLAJA, G.; HELLER, A. Concordance of the toxicity of pharmaceuticals in humans and in animals. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 32, n. 1, p. 56-67, 2000.

PANIDIS, I. P.; KOTLER, M. N.; REN, J. F.; MINTZ, G. S.; ROSS, J.; KALMAN, P. Development and regression of left ventricular hypertrophy. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 3, n. 5, p. 1309-1320, 1984.

PARTHASARATHI, R.; DHAWAN, A. *In silico* approaches for predictive toxicology. In: *In vitro* toxicology. **Academic Press**, 2018. p. 91-109.

PASSUELLO, L. B.; FARIA, M. C. D.; CERQUEIRA, P. M.; GONÇALVES, P. V. B.; DURAND, R. M. V. Estabilidade físico-química de medicamento da classe das antraciclina (doxorubicina). **RBM – Revista Brasileira de Medicina**, 2013.

PEREIRA, F. O. Novas substâncias para malvaceas: *Sida rhombifolia* L. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos), 2012.

PIAZZA, T.; IZIDORO, J. B.; PORTELLA, M. A. M.; ULYSSES, P.; JÚNIOR, A. A. G.; CHERCHIGLIA, M. L. Avaliação de diretrizes clínicas brasileiras em oncologia: carências no rigor do desenvolvimento, aplicabilidade e independência editorial. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 37, p. e00031920, 2021.

PINHO, M. S.; ABREU, P. A.; NOGUEIRA, T. A. Atenção farmacêutica a pacientes oncológicos: uma revisão integrativa da literatura. **Revista Brasileira de Farmácia Hospitalar e Serviços de Saúde**, v. 7, n. 1, 2016.

PINTO, C. M.; SILVA, D. C.; PINTO, G. H.; SANTOS, M. H. H. Quimioterapia e cardiotoxicidade. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v. 27, n. 4, p. 266-273, 2017.

PIZZO, F.; LOMBARDO, A.; MANGANARO, A.; BENFENATI, E. *In silico* models for predicting ready biodegradability under REACH: a comparative study. **Science of the total environment**, v. 463, p. 161-168, 2013.

POMBO, J. F.; TROY, B. L.; RUSSEL, R. O. Left ventricular volumes and ejection fraction by echocardiography. **Circulation**, v. 46, p. 26-35, 1972.

PONTES, J. C. D. V.; GOMES JÚNIOR, J. F.; SILVA, G. V. R.; BENFATTI, R. A.; DIAS A. E. M. A. S. J.; DUARTE, J. J.; GARDENAL, N.; MAÇANORI ODASHIRO, M.; SANTOS, C. H. M. Estudo anatomopatológico da miocardiopatia induzida pela doxorubicina em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 137-143, 2010.

POOLE, T.B. The UFAW Handbook on the care and management of laboratory animals. **London: Longman Scientific & Technical**; 1999

PORTUGAL, G.; BRANCO, L. M.; GALRINHO, A.; CARMO, M. M.; TIMÓTEO, A. T.; FELICIANO, J.; FERREIRA, R. C. Importância da deformação longitudinal na detecção da cardiotoxicidade induzida por quimioterapia e na identificação de padrões específicos de afetação segmentar. **Revista Portuguesa de Cardiologia**, v. 36, n. 1, p. 9-15, 2017.

PRECOMA, D. B.; OLIVEIRA, G. M. M. D.; SIMAO, A. F.; DUTRA, O. P.; COELHO, O. R.; IZAR, M. C. D. O.; Updated cardiovascular prevention guideline of the Brazilian Society of Cardiology-2019. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 113, p. 787-891, 2019.

PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European journal of pharmacology**, v. 463, n. 1-3, p. 3-33, 2003.

QUESENBERRY, K. E.; CARPENTER, J. W. Ferrets, Rabbits and Rodents: Clinical Medicine and Surgery 3 ed. ISBN 10: 1416066217. Kotze SH, van der Merwe EL, Bennett NC, O'Riain MJ, 2010. The comparative anatomy of the abdominal gastrointestinal tract of six species of African mole rat (Rodent Bathyerigidae). **Journal of Morphology**, v. 271, p. 50-60, 2012.

QUILES, J. L., HUERTAS, J. R., BATTINO, M., MATAIX, J., & RAMÍREZ-TORTOSA, C. (2002). Antioxidant nutrients and adriamycin toxicity. *Toxicology*, 180, 79-95.

QUINTON, J. F. **Novos animais de estimação – pequenos mamíferos**. São Paulo: Roca, 2005.

RAMALHO, L. D. S. N.; DIAS, G. T.; GUEDES, E. J. R. C. E.; DA SILVA OLIVEIRA, M., LIRA, A. B.; CHAVES, O. S.; LIMA, C. M. B. L. Acute toxicity evaluation of ethanolic extract of the air parts of *Sida rhombifolia* L., in wistar rats. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 13, n. 14, p. 181-187, 2019.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, FM.; GARDNER, P. **Pharmacology**, 3. ed., New York, Churchill Livingstone, 1995.

RASCHI, E.; VASINA, V.; URSINO, M. G.; BORIANI, G.; MARTONI, A.; DE PONTI, F. Anticancer drugs and cardiotoxicity: insights and perspectives in the era of targeted therapy. **Pharmacology & therapeutics**, v. 125, n. 2, p. 196-218, 2010.

REDDY, D. S. Cellular and molecular biology of cardiac hypertrophy. **Current Science**, v. 72, n. 1, p. 13–30, 1997.

- REIS, A. M. M.; PEDROSO, L. A.; COSTA, S. C.; DE FIGUEIREDO, T. P. Medicamentos utilizados por idosos no domicílio que atuam como substratos ou moduladores da Glicoproteína P. **Revista Brasileira de Farmácia Hospitalar e Serviços de Saúde**. v. 6, n. 1, p. 30-36, 2015.
- RIBEIRO, J. D. C.; GOMES, E. R. Efeitos da angiotensina (1-7) na toxicidade induzida por tratamento com doxorrubicina. **Dissertação (mestrado)**, 2019.
- RICHEY, P. A.; BROWN, S. P. Pathological versus physiological left ventricular hypertrophy: a review. **Journal of sports sciences**, v. 16, n. 2, p. 129–141, 1998. <https://doi.org/10.1080/026404198366849>
- ROCHA, R. M.; SCHNEIDER, R. S.; MOREIRA, I. Cardio-oncologia: onde estamos? **Revista HUPE**, Rio de Janeiro, v. 12, p. 93-99, 2013.
- ROCHA, V. C. J. (2010). *Estratégia para reduzir a cardiotoxicidade da doxorrubicina (DOX) sem afetar sua atividade antineoplásica*.
- ROSALLES, Pauline Fagundes et al. Pesquisa bioquímica de alcalóides indólicos ativos de *Tabernaemontana catharinensis*: atividade antitumoral, toxicidade in silico e estudos de modelagem molecular. **Química Bioorgânica**, v. 85, p. 66-74, 2019.
- SÁ, A. C. M. G. N.; SILVA, A. G.; GOMES, C. S.; SÁ, A. T. N.; MALTA, D. C. (2023). Diferenças entre intervalos de referência de hemograma de adultos brasileiros com e sem traço falciforme segundo os exames laboratoriais da Pesquisa Nacional de Saúde. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 26, p. e230003, 2023. <https://doi.org/10.1590/1980-549720230003.supl.1>
- SÁ, M. P. B. O.; GOMES, R. A. F.; SILVA, N. P. C.; FILHO, I. C. Cardiotoxicidade e quimioterapia. **Revista Brasileira de Clínica Médica**, v. 7, p. 326-330, 2010.
- SAHN, D. J.; DEMARIA, A.; KISSLO, J.; WEYMAN, A. Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. **Circulation**, v. 58, n. 6, p. 1072-1083, 1978.
- SANTANA, L. C. L. R.; BRITO, M. R. M.; SOUSA, G. F.; FREITAS, R. M. Estudo das propriedades físico-químicas e avaliação da toxicidade aguda do extrato etanólico das folhas de *Mikania glomerata* Sprengel. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 3, supl. I, p. 670-678, 2014.
- SANTOS, R. V. T., BATISTA JR, M. L., CAPERUTO, E. C., & ROSA, L. F. B. P. C. (2007). Chronic supplementation of creatine and vitamins C and E increases survival and improves biochemical parameters after doxorubicin treatment in rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 34, 1294-1299.
- SARANGI, R. N.; MISHRA, U. S.; PANDA, S. K.; BEHERA, S. Evaluation of antidiarrhoeal activity of *Sida rhombifolia* Linn. Root. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 2, p. 157-160, 2011.
- SAVAGE, D. G.; OGUNDIPE, A.; LINDENBAUM, J.; STABLER, S. P.; HALLEN, Etiology and diagnostic evaluation of macrocytosis. **The American journal of the medical sciences**, v. 319, n. 6, p. 343-352, 2000.

- SAWYER, D. B. Anthracyclines and heart failure. **New England Journal of Medicine**, v. 368, n. 12, p. 1154-1156, 2013.
- SCHALM, O. W.; JAIN, N. C.; CARROLL, E. J. **Veterinary hematology**. Lea & Febiger., 1975.
- SCHILLER, N. B.; SHAH, P. M.; CRAWFORD, M.; DEMARIA, A.; DEVEREUX, R.; FEIGENBAUM, H.; TAJIK, A. J. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. **Journal of the American Society of Echocardiography**, v. 2, n. 5, p. 358-367, 1989.
- SCHIMMEL, K. J.; RICHEL, D. J.; VAN DEN BRINK, R. B.; GUCHELAAR, H. J. Cardiotoxicity of cytotoxic drugs. **Cancer treatment reviews**, v. 30, n. 2, p. 181-191, 2004.
- SCHIRONE, L.; TOLDO, S.; CIANFLONE, E.; SALA, V.; GRECO, E. The Role of Anthracyclines in Cardio-Oncology: oxidative stress, inflammation, and autophagy. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2022, p. 1-3, 2022.
- SCHULZE, M. M. Tratamento Quimioterápico em Pacientes Oncológicos. **Revista Brasileira de Oncologia Clínica**. v. 4, n. 12, p. 17-23, 2008.
- SHANE ES. Hypocalcemia: pathogenesis, differential diagnosis, and management. In: *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. 4 th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 1999; 223-26.
- SILVA SOFRÁS, F. M.; DESIMONE, M. F. Entourage Effect and Analytical Chemistry: Chromatography as a Tool in the Analysis of the Secondary Metabolism of *Cannabis sativa* L. **Current Pharmaceutical Design**, v. 29, n. 6, p. 394-406, 2023.
- SILVA, A. A. D.; CARLOTTO, J.; ROTTA, I. Padronização da ordem de infusão de medicamentos antineoplásicos utilizados no tratamento dos cânceres de mama e colorretal. **Einstein (São Paulo)**, v. 16, 2018.
- SILVA, C. M. P. D. C.; PINTO, G. H.; SANTOS, M. H. H. Quimioterapia e cardiotoxicidade. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, v. 27, n. 4, p. 266-273, 2017.
- SILVA, D. A. Screening de produtos naturais com potencialidade para tratamento de doenças ocasionadas por *Helicobacter pylori*: um estudo *in vitro* e *in silico*. **Trabalho de Conclusão de Curso**, 2015.
- SILVA, D. A.; SILVA, T. M. S.; LINS, A. C.S.; COSTA, D. A.; CAVALCANTE, J. M. S.; MATIAS, W. N.; SOUZA, M. F. V.; BRAZ FILHO, R. Constituintes Químicos e Atividade Antioxidante de *Sida galheirensis* Ulbr. (Malvaceae). **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1250- 1256, 2006.
- SILVA, G. A.; JARDIM, B. C.; FERREIRA, V. M.; JUNGER, W. L. Mortalidade por câncer nas capitais e no interior do Brasil: uma análise de quatro décadas. **Revista de Saúde Pública**, v. 54, p. 126, 2020
- SINGH, G.; SINGH, A. T.; ABRAHAM, A.; BHA, B.; MUKHERJEE, A.; VERMA, R.; AGARWAL, S. K.; JHA, S.; MUKHERJEE, R.; BURMAN, A. C. Protective effects of

Terminalia arjuna against Doxorubicin-induced cardiotoxicity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 117, n. 1, p. 123–129, 2008.

SINGH S, DAS T, AWASTHI M, PANDEY VP, PANDEY B, DWIVEDI UN. DNA topoisomerase-directed anticancerous alkaloids: ADMET-based screening, molecular docking, and dynamics simulation. **Biotechnol Appl Biochem**. 2016;63(1):125-137.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACÊUTICOS EM ONCOLOGIA. **Guia para notificação de reações adversas em oncologia**. 2. ed. Belo Horizonte: ANVISA; 2011.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA (SBF). Alcaloides. **Disciplina de farmacognosia II** – UFPR, 2009. Disponível em: <http://www.sbfognosia.org.br/Ensino/alcaloides.html> (Acesso em: 02/12/2021).

SOUSA, A. S; OLIVEIRA, G. S; ALVES, L. H. A pesquisa bibliográfica: princípios e fundamentos. **Cadernos da FUCAMP**, v. 20, n. 43, 2021.

SOUZA, C. A.; VIGORITO, A. C.; ARANHA, F. J.; OLIVEIRA, G. B.; EID, K. A.; RUIZ, M. A.. Cytoprotective therapy in patients treated with chemotherapy and/or antineoplastic radiotherapy. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 22, p. 123-128, 2000.

SOUZA, H. D.; DE SOUSA, R. P.; LIRA, B. F.; VILELA, R. F.; BORGES, N. H.; SIQUEIRA-JUNIOR, J. P. D.; ATHAYDE-FILHO, P. F. D. Synthesis, *in silico* study and antimicrobial evaluation of new selenoglycolicamides. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, p. 188-197, 2019.

SOUZA, M. T.; SILVA, M. D.; CARVALHO, R. Revisão integrativa: o que é e como fazer. **Einstein (São Paulo)**, v. 8, p. 102-106, 2010.

SOUZA, N. N. F.; ROSCANI, M. G.; POLEGATO, B. F.; PEREIRA, E. J.; FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S.; MATSUBARA, B. B. Avaliação ecocardiográfica da cardiotoxicidade aguda induzida pela doxirrubicina em ratos. **Revista Brasileira de ecocardiografia e imagem cardiovascular**, v. 22, n. 3, p. 20-25, 2009.

SOUZA, V. B. D.; SILVA, E. N.; RIBEIRO, M. L.; MARTINS, W. D. A. Hipertensão arterial no paciente com câncer. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 104, p. 246-252, 2015. <http://dx.doi.org/10.5935/abc.20150011>

SPERANDIO, N., DA ROCHA SANT'ANA, L. F., FRANCESCHINI, S. D. C. C., & PRIORE, S. E. Diferenças no ponto de corte de hemoglobina para diagnóstico de anemia em função da raça/cor. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 25, n. 1, p. 100-107, 2015.

STEINHERZ, L. J.; STEINHERZ, P. G.; TAN, C. T., HELLER, G.; MURPHY, M. L. Cardiac toxicity 4 to 20 years after completing anthracycline therapy. **Jama**, v. 266, n. 12, p. 1672-1677, 1991.

STRADA, M. F. Estudos *in silico* visando aplicação farmacológica de cafeatos monoterpênicos idealizados. **Trabalho de Conclusão de Curso**, 2021.

SUNDARAGANAPATHY, R.; NIRAIMATHI, V.; ANANDA, T.; JAMBULINGAM, M.; NARASIMHAN, B.; AAKASH, D. Phytochemical studies and pharmacological screening of *Sida rhombifolia* Linn. **Hygeia Journal Drug and Medicine**, v. 5, n. 1, p 19–22, 2013.

SZTECHMAN, D.; ŻERA, T.; CZARZASTA, K.; WOJCIECHOWSKA, M.; SZCZEPAŃSKA-SADOWSKA, E.; CUDNOCH-JĘDRZEJEWSKA, A. Transthoracic echocardiography: from guidelines for humans to cardiac ultrasound of the heart in rats. **Physiological Measurement**, v. 41, n. 10, p. 10TR02, 2020.
doi:10.1088/1361-6579/abb3a3

TAIMOOR F. Reversal of P-Glycoprotein Mediated Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* by Various agents. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 38, n. 1, p. 18-23, 2019.

TEICHHOLZ, L. E.; KREULEN, T.; HERMAN, M. V.; GORLIN, R. Problems in echocardiographic volume determinations: echocardiographic-angiographic correlations in the presence or absence of asynergy. **The American journal of cardiology**, v. 37, n. 1, p. 7-11, 1976.

TEIXEIRA, V. N. Rodentia-roedores exóticos (rato, camundongo, hamster, gerbilo, porquinho-da-índia e chinchila). CUBAS ZS, SILVA JCR & CATÃO-DIAS JL. **Tratado de animais selvagens: Medicina Veterinária**, v. 2, p. 1169-1208, 2014.

TEO, S.; STIRLING, D.; THOMAS, S.; HOBERMAN, A.; KIORPES, A.; KHETANI, V. A 90-day oral gavage toxicity study of d-methylphenidate and d, l-methylphenidate in Sprague–Dawley rats. **Toxicology**, v. 179, n. 3, p. 183-196, 2002.

THAMM, D. H.; VAIL, D. M. Mast cell tumors. **Small Animal Clinical Oncology**, p.402 – 424, 2007.

THOUNAOJAM, M. C.; JADEJA, R. N.; PATEL, V. B.; DEVKAR, R. V.; RAMACHANDRAN, A. V. Potential of *Sida rhomboides* roxb leaf extract in controlling hypertriglyceridemia in experimental models. **Pharmacognosy research**, v. 1, n. 4, 2009.

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. Editora Roca, 2015.

TSAI, H. R.; GJESDAL, O.; WETHAL, T.; HAUGAA, K. H.; FOSS, A.; FOSS, S. D.; EDVARSEN, T. Left ventricular function assessed by two-dimensional speckle tracking echocardiography in long-term survivors of hodgkin's lymphoma treated by mediastinal radiotherapy with or without anthracycline therapy. **American Journal of Cardiology**, v. 107, n. 3, p. 472–477, 2011.

UNASUS. Curso de especialização em linhas de cuidado em enfermagem doenças crônicas não transmissíveis. Disponível em:
<https://unasus2.moodle.ufsc.br/pluginfile.php/14512/mod_resource/content/2/un06/top_02p02.html>.

VAIL, D.M. Supporting the veterinary cancer patient on chemotherapy: neutropenia and gastrointestinal toxicity. **Topics in companion Animal Medicine**, v. 24, n.3, p.122-129, 2009.

VIÉRA, R. B. Toxicidade do cloridrato de doxorubicina na dose de 120mg/m², em cadelas com tumor venéreo transmissível. **Dissertação (mestrado)**, 2015.

VILLANI, F.; COMAZZI, R.; GENITONI, V.; LACAITA, G.; GUINDANI, A.; CRIPPA, F.; MONTI, E.; PICCININI, F.; ROZZA, A.; LANZA, E. Preliminary evaluation of myocardial toxicity of 4'-deoxydoxorubicin: experimental and clinical results. **Drugs under experimental and clinical research**, v. 11, n. 3, p. 223-231, 1985.

WALKER, C. M.; SALDANA, D. A.; GLADISH, G. W.; DICKS, D. L.; KICKSKA, G.; MITSUMORI, L. M.; REDDY, G. P. Cardiac complications of oncologic therapy. **Radiographics**, v. 33, n. 6, p. 1801–1815, 2013.

WANG, Y.; WANG, S.; GAO, Y. S.; CHEN, Z.; ZHOU, H. M.; YAN, Y. B. Dissimilarity in the Folding of Human Cytosolic Creatine Kinase Isoenzymes. **PLoS ONE**, v. 6, n. 9, p. e24681, 9 set. 2011.

WANG, Z.; CHEN, Y.; LIANG, H.; BENDER, A.; GLEN, R. C.; YAN, A. P-glycoprotein substrate models using support vector machines based on a comprehensive data set. **Journal of chemical information and modeling**, v. 51, n. 6, p. 1447-1456, 2011.

WANG, Z.; GAO, J.; TENG, H.; PENG, J. Effects of doxorubicin on heme biosynthesis and metabolism in cardiomyocyte. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 116, p. 315-322, 2021. doi: 10.36660 / abc.20190437.

WESSLER, J. D.; GRIP, L. T.; MENDELL, J.; GIUGLIANO, R. P. The P-glycoprotein transport system and cardiovascular drugs. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 61, n. 25, p. 2495-2502, 2013..

WU, A. H. Cardiotoxic drugs: clinical monitoring and decision making. **Heart**, v. 94, n. 11, p. 1503-1509, 2008.

XU, C. Y.; CHENG, F. X.; CHEN, L.; DU, Z.; LI, W. H.; LIU, G. X.; LEE, P. W.; TANG, Y. *In silico* prediction of chemical flame mutagenicity. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 52, p.2840 – 2847, 2012.

YEH, E.T.; BICKFORD, C. L. Cardiovascular complications of cancer therapy: incidence, pathogenesis, diagnosis, and management. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 53, n. 24, p. 2231-2247, 2009.

ZAMORANO, J. L.; LANCELLOTTI, P.; RODRIGUEZ MUNOZ, D.; ABOYANS, V.; ASTEGGIANO, R.; GALDERISI, M.; SUTER, T. M. 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines: The Task Force for cancer treatments and cardiovascular toxicity of the European Society of Cardiology (ESC). **European heart journal**, v. 37, n. 36, p. 2768-2801, 2016.

ZHOU, S. F. Drugs behave as substrates, inhibitors and inducers of human cytochrome P450 3A4. **Current Drug Metabolism**, v. 9, p. 310-322, 2008.

10. ANEXOS

Anexo I - Tabela com os dados do hematológico

		Macho		Fêmea	
Exame	Tratamento	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Hemácias (Milhões/mm ³)	DMSO	8,24	611571.75	8,66	328435.69
	DOXO	8,18	470180.82	8,13	172191.75
	SALINA	6,66	1440046.30	5,94	477214.14
	SIDA	7,17	620620.66	6,85	447202.42
	SIDA-DOXO	6,86	1216223.66	7,82	795675.81
Hematócrito (%)	DMSO	48.60	4.34	47.00	2.24
	DOXO	46.60	2.30	43.80	1.30
	SALINA	34.33	8.96	29.00	1.73
	SIDA	40.00	2.92	36.33	02.07
	SIDA-DOXO	32.50	6.36	39.67	6.66
Hemoglobina (g/dL)	DMSO	14,86	0,92	15,42	0,69
	DOXO	14,88	0,5	14,64	0,32
	SALINA	11,93	2,39	10,77	0,85
	SIDA	13,52	1,01	12,8	0,4
	SIDA-DOXO	11,4	1,98	13,7	1,42
VCM fL	DMSO	56,88	1,11	54,72	1,3
	DOXO	57,4	2,41	54,7	0,73
	SALINA	52,2	4,16	49,57	1,24
	SIDA	56,28a	2,01	53,92	0,81
	SIDA-DOXO	47,45	0,92	48,5	5,26
HCM (%)	DMSO	14.86	0.92	15.42	0.69
	DOXO	14.88	0.50	14.64	0.32
	SALINA	11.93	2.39	10.77	0.85
	SIDA	13.52	01.01	12.80	0.40
	SIDA-DOXO	11.40	1.98	13.70	1.42
CHCM (pg)	DMSO	56.88	1.11	54.72	1.30
	DOXO	57.40	2.41	54.70	0.73
	SALINA	52.20	4.16	49.57	1.24
	SIDA	56.28	2.01	53.92	0.81
	SIDA-DOXO	47.45	0.92	48.50	5.26

Leucócitos totais (mm ³)**	DMSO	17.98	0.61	17.76	0.41
	DOXO	18.20	0.95	17.96	0.28
	SALINA	17.93	1.10	18.03	0.32
	SIDA	18.82	0.84	18.60	0.75
	SIDA-DOXO	17.05	0.78	17.43	1.31
Plaquetas (mm ³)	DMSO	1125000.00	49512.62	1238000.00	85839.97
	DOXO	1148200.00	89753.55	1118800.00	73903.32
	SALINA	945333.33	351824.29	1190333.33	454828.91
	SIDA	1360600.00	228641.20	982666.67	66228.90
	SIDA-DOXO	1332500.00	296277.74	835000.00	292610.66

- Dados do programa estatístico SPSS20;
- Diferença significativa ($p < 0.05$);

Anexo II - Tabela com valores de referência para o hematológico

Valores de Referência	
Hemácias (Milhões/mm ³)	6,60 – 10,70
Hematócrito (%)	33 a 47
Hemoglobina (g/dL)	10,2 a 16,2
VCM fL	42,3 a 56,9
HCM (pg)	10,7 a 17,1
CHCM (g/dL)	29,5 a 35,1
Leucócitos totais (mm ³)	5.000 - 12.000**
Plaquetas (µl-mm ³)	300.000 - 900.000

** Os leucócitos dos animais, apesar de estarem acima dos valores de referência, na leitura das lâminas, não foi observado leucocitose aparente que justificasse o valor. Logo, consideramos os parâmetros como normais, levando em consideração o perfil de reprodutibilidade e a variabilidade genética dos camundongos, tendo em vista que também não houve diferença estatística entre os animais controles e tratados.