

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

SARAH CAROLINE DE SOUZA SILVA

EFEITO DE PLANTAS MEDICINAIS BRASILEIRAS NA ATIVIDADE
TRANSCRICIONAL DO RECEPTOR PREGNANO X EM CÉLULAS HELA

BRASÍLIA

2019

SARAH CAROLINE DE SOUZA SILVA

EFEITO DE PLANTAS MEDICINAIS BRASILEIRAS NA ATIVIDADE
TRANSCRICIONAL DO RECEPTOR PREGNANO X EM CÉLULAS HELA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Francisco de Assis
Rocha Neves

Coorientadora: Dra. Mariella Guimarães
Lacerda

BRASÍLIA

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de ensino, estudo ou pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Ce

Caroline de Souza Silva, Sarah
EFEITO DE PLANTAS MEDICINAIS BRASILEIRAS NA
ATIVIDADE TRANSCRICIONAL DO RECEPTOR PREGNANO X EM
CÉLULAS HELA /
Sarah Caroline de souza Silva; orientador Francisco de Assis Rocha Neves; co-
orientador Mariella Guimarães Lacerda.-- Brasília, 2019.
99 p.

Dissertação (Mestrado - Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -- Universidade
de Brasília, 2019.

1. receptor pregnano X. 2. *Costus spicatus*. 3. *Solidago microglossa*. 4. *Tabebuia
avellanedae*. I. de Assis Rocha Neves, Francisco, orient. II. Guimarães Lacerda,
Mariella

SARAH CAROLINE DE SOUZA SILVA

EFEITO DE PLANTAS MEDICINAIS BRASILEIRAS NA ATIVIDADE
TRANSCRICIONAL DO RECEPTOR PREGNANO X EM CÉLULAS HELA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 23 de janeiro de 2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Francisco de Assis Rocha Neves (Presidente) - Universidade de Brasília

Profa. Dra. Flora Aparecida Milton - Universidade Federal Fluminense

Dr. Pedro Góes Mesquita - Laboratório Sabin Medicina Diagnóstica

Profa. Dra. Caroline Lourenço de Lima (Suplente) - Universidade de Brasília

Aos meus pais Pedro (*In memoriam*) e
Enedina, à minha irmã Izabele e à minha tia
Denise por acreditarem na minha capacidade e
nunca terem medido esforços para me ajudar.

Ao meu amado, Josivan, pela paciência,
compreensão, apoio e por sempre estar ao meu
lado, mesmo nos momentos mais difíceis.

Dedico este trabalho...

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Francisco por ter disponibilizado a oportunidade de estudar no Laboratório de Farmacologia Molecular (FarMol). Pela compreensão, apoio, paciência, ensinamentos e por ter me ajudado a realizar um grande sonho. Não tenho palavras para descrever o quanto me sinto honrada e agradecida.

À minha coorientadora Dra. Mariella, pela paciência, conselhos e conhecimento transmitido que contribuíram para meu crescimento pessoal e profissional. Hoje, sem dúvidas, sou uma pessoa melhor graças a você. Sem seu auxílio, não conseguiria chegar aonde estou.

À Profa. Dra. Flora, por ter me acompanhado no início do mestrado, pela paciência e por me ajudar a ter persistência. Minha eterna gratidão por tudo que fez por mim.

Aos meus amigos Dr. Álvaro, Sabrina e Mônica, que durante a graduação, me ajudaram a dar os primeiros passos para a vida científica.

Aos meus amigos do FarMol Ráiza, Mateus, Simone, Marcela e Kenzo pelo companheirismo, troca de conhecimentos, palavras de apoio e incentivo, por todos os momentos que passamos juntos e por terem colaborado para realização deste trabalho.

Aos Professores do FarMol Angélica, Luiz Simeoni, Fátima, Ingrid, Djane, Carine e Guilherme, que em algum momento, colaboraram de alguma forma com conhecimento.

Aos Técnicos do FarMol Luciano, Rilva, Letícia e Patrícia do Laboratório de Controle de qualidade pelo auxílio nos momentos que precisei.

Aos Colegas do FarMol Laíza, Marielly, Louise, Michelle, Rafael, Daniela, Nara, Érica, Henrique, Luis, Paloma, Hanna, Palloma, Amandda, Kaian, Cíntia, Carol, Natália, Fernanda, Isadora, Sidney, Manuel, Júlio pelas conversas e momentos de descontração.

A todos os estagiários do FarMoL que colaboraram para deixar as coisas em ordem no laboratório.

Aos membros da banca Caroline e Pedro por terem aceitado o convite para participar da banca e ajudarem a melhorar este trabalho.

À Profa. Dra. Dâmaris por ter disponibilizado os extratos e pela ajuda.

À CAPES pelo auxílio financeiro.

A todos que contribuíram com ajuda de alguma forma, direta ou indiretamente.

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.”

(Charles Chaplin)

“Talvez não tenhamos conseguido fazer o melhor, mas lutamos para que o melhor fosse feito (...).”

(Martin Luther King)

RESUMO

SILVA, Sarah Caroline de Souza. **Efeitos de plantas medicinais brasileiras na atividade transcricional do receptor pregnano X em células HeLa.** Brasília, 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2019.

Em 2008, o Ministério da Saúde do Brasil criou uma lista de plantas medicinais visando contribuir com a incorporação de fitoterápicos seguros e eficientes no sistema público de saúde. Visto que compostos fitoterápicos são eliminados do corpo pelo mesmo sistema que remove outras substâncias, o uso de plantas medicinais concomitantemente com medicamentos alopáticos pode resultar em interações medicamentosas. O receptor pregnano X é um fator de transcrição que exerce um importante papel no metabolismo e eliminação de xenobióticos, portanto, a investigação da ação de plantas neste receptor é relevante. O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos de três plantas medicinais brasileiras, *Costus spicatus* (Jacq.) Sw, *Solidago microglossa* DC. e *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb, na atividade transcricional do receptor pregnano X *in vitro*. Os ensaios de viabilidade celular mostraram que concentrações até 3,0 mg/mL de *Costus spicatus*, 1,12 mg/mL de *Solidago microglossa* e 1,8 mg/mL de *Tabebuia avellanedae* não foram consideradas tóxicas para células HeLa. O extrato de *Solidago microglossa* aumentou a atividade transcricional do receptor pregnano X nas concentrações de 0,4 e 0,5 mg/mL (3,5 e 2,6 vezes, respectivamente, em relação ao veículo, $p < 0,05$). Em contraste, o de *Tabebuia avellanedae* diminuiu a atividade transcricional em todas as concentrações testadas (0,1 até 0,7 mg/mL), e na concentração mais alta, a inibição do receptor pregnano X foi cerca de 73% em relação à atividade observada na presença de rifampicina, agonista total deste receptor nuclear ($p < 0,05$). O extrato de *Costus spicatus* não mostrou efeito agonista ou antagonista no receptor pregnano X. Nossos resultados demonstraram que o extrato de *Solidago microglossa* se comportou como agonista do receptor pregnano X e o de *Tabebuia avellanedae* como um antagonista deste receptor. Embora não se saiba se estes resultados são reproduzíveis *in vivo*, novos estudos são necessários para se investigar risco de interação medicamentosa e a segurança do uso desses fitoterápicos com outros medicamentos.

Palavras-chave: agonismo, antagonismo, receptor pregnano X, *Costus spicatus*, *Solidago microglossa*, *Tabebuia avellanedae*.

ABSTRACT

SILVA, Sarah Caroline de Souza. **Effects of Brazilian medicinal plants on the transcriptional activity of the pregnane X receptor in HeLa cells.** Brasília, 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2019.

In 2008, the Brazilian Ministry of Health created a list of national medicinal plants aiming to contribute to the incorporation of secure and efficient phytotherapy in the public health care system. Since phytotherapeutic compounds are eliminated from the body by the same system that removes other substances, the use of medicinal plants concomitantly with allopathic medicines may result in drug interactions. Pregnane X receptor is a transcription factor that exerts an important role in metabolism and elimination of xenobiotics, so it is relevant to investigate the action of plant specimens on this receptor. The objective of this study was to evaluate the effects of three Brazilian medicinal plants, *Costus spicatus* (Jacq.) Sw, *Solidago microglossa* DC. and *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb, on *in vitro* pregnane X receptor transcriptional activity. The cell viability assays showed that concentrations up to 3.0 mg/mL of *Costus spicatus*, 1.12 mg/mL of *Solidago microglossa* and 1.8 mg/mL of *Tabebuia avellanedae* were not considered toxic to HeLa cells. The extract of *Solidago microglossa* increased the transcriptional activity of pregnane X receptor at concentrations of 0.4 and 0.5 mg/mL (3.5 and 2.6-fold, respectively, relative to the vehicle, $p < 0.05$). In contrast, *Tabebuia avellanedae* decreased pregnane X receptor transcriptional activity at all concentrations tested (0.1 to 0.7 mg/mL), and at the highest concentration, the pregnane X receptor inhibition was about 73% in relation to the activity observed in the presence of rifampicin, total agonist of this nuclear receptor ($p < 0.05$). The extract of *Costus spicatus* showed no agonist or antagonistic effect on pregnane X receptor. Our results demonstrated that the extract of *Solidago microglossa* behaved as a pregnane X receptor agonist and *Tabebuia avellanedae* as an antagonist of this receptor. Although we still do not know whether these results are reproducible *in vivo*, new studies are necessary to investigate the risk of drug interaction and safety of phototherapy with other medicines.

Keywords: agonism, antagonism, pregnane X receptor, *Costus spicatus*, *Solidago microglossa*, *Tabebuia avellanedae*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Inflorescência e folhas da <i>Costus spicatus</i> (cana-de-macaco).....	5
Figura 2. A inflorescência e as folhas de <i>Solidago microglossa</i> (arnica brasileira).....	8
Figura 3. Árvore florida de <i>Tabebuia avellanedae</i> (ipê roxo).....	11
Figura 4. Estrutura linear dos receptores nucleares.....	15
Figura 5. Estrutura cristalográfica do LBD de hPXR.....	19
Figura 6. Mecanismos de ação do PXR.....	19
Figura 7. Ensaio de viabilidade celular	38
Figura 8. Extrato aquoso de <i>Costus spicatus</i> não ativou o hPXR	39
Figura 9. O extrato aquoso de <i>Costus spicatus</i> não é antagonista de hPXR.	40
Figura 10. Extrato aquoso de <i>Costus spicatus</i> não apresentou efeito sobre o CMV-LUC	41
Figura 11. O extrato aquoso de <i>Solidago microglossa</i> é agonista de hPXR.	42
Figura 12. O extrato aquoso de <i>Solidago microglossa</i> não alterou a atividade transcricional do hTR β	43
Figura 13. O extrato aquoso de <i>Solidago microglossa</i> diminuiu a atividade transcricional do CMV-LUC.....	44
Figura 14. O extrato aquoso <i>Tabebuia avellanedae</i> não é agonista de hPXR.	45
Figura 15. Efeito antagonista do extrato aquoso de <i>Tabebuia avellanedae</i> sobre o hPXR.....	46
Figura 16. Extrato aquoso de <i>Tabebuia avellanedae</i> não apresentou efeito sobre o CMV-LUC	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Lista de fitoterápicos disponíveis no SUS e suas ações ou indicações.....	4
Tabela 2. Ligantes agonistas e suas recomendações de uso ou ação.....	27
Tabela 3. Ligantes antagonistas e suas recomendações de uso ou ação.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABC	Família de proteínas do cassete de ligação de ATP
ABCB1	Membro 1 da subfamília B de cassetes de ligação de ATP
ABCB2	Membro 2 da subfamília C de cassetes de ligação de ATP
AF-1	Função de ativação 1
AF-2	Função de ativação 2
ANOVA	Análise de variância
AR	Receptor de androgênio
CaCl ₂	Cloreto de cálcio
Caco-2	Adenocarcinoma colorretal humano
CIM	Concentração inibitória mínima
CO	Monóxido de carbono
COUP-TF	Fator de transcrição do promotor <i>upstream</i> de ovoalbumina de galinha
CYP450	Citocromo P450
CYP2B6	Citocromo P450 família 2 subfamília B membro 6
CYP3A	Citocromo P450 família 3
CYP3A4	Citocromo P450 família 3 subfamília A membro 4
DAX-1	Reversão sexual sensível à dosagem, região crítica de hipoplasia suprarrenal congênita do cromossomo X, gene 1
DBD	Domínio de ligação ao DNA
DMEM	Meio Dulbecco MEM
DMSO	Dimetilsulfóxido
ER	Receptor de estrogênio
ET-743	Ecteinascidina 743
F288	Felinalanina 288
FOXO1	Fator de transcrição <i>forkhead</i> FKHR
FXR	Receptor farnesoide X
GAL4	Fator de transcrição de levedura
GR	Receptor de glicocorticoide
GSH	Glutationa reduzida
GST	Glutationa S-transferase
HAT	Histonas acetiltransferases
HDACs	Histonas desacetilases

HepG2	Carcinoma hepatocelular
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
LB	Lúria Bertani
LBD	Domínio de ligação ao ligante
LUC	Luciferase
LXR	Receptor hepático X
MDR1	Proteína 1 de resistência a múltiplas drogas
MR	Receptor de mineralocorticoide
MS	Ministério da Saúde
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazólio)
NCI	Instituto Nacional de Câncer
NcoR	Correpressor de receptores nucleares
NF-kB	Fator nuclear kappa B
NR1I2	Subfamília do receptor nuclear 1, grupo I, membro 2
Nurr1	Receptor nuclear relacionado 1
Nurr77	Fator de crescimento do nervo IB
PAR	Receptor ativado por pregnano
PBS	Solução salina de fosfato
PC-3	Adenocarcinoma de próstata de humanos
PCN	Pregnenolona-16 α -carbonitrilo
PGC-1	Coativador do receptor ativado por proliferador de peroxissoma gama
PNR	Receptor nuclear fotorreceptor específico
PPAR	Receptor ativado por proliferador de peroxissoma
PR	Receptor de progesterona
PXR	Receptor pregnano X
RNAm	RNA mensageiro
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
RNs	Receptores nucleares
RXR	Receptor de retinoide X
RXR α	Receptor retinoide X alfa
SFB	Soro fetal bovino
SHP	Pequeno parceiro heterodímero
SRC-1	Coativador de receptor esteroide 1

SULT	Sulfotransferase
SUS	Sistema Único de Saúde
SXR	Receptor esteroide e xenobiótico
TLX	Receptor nuclear sem cauda
TR β	Receptor do hormônio tireoideano β
TR4	Receptor órfão testicular 4
UGT	UDP-glucuronosiltransferase
VDR	Receptor da vitamina D
W299	Triptofano 299
Y306	Tirosina 306

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1	PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS.....	3
2.1.1	<i>Costus spicatus</i> (Jacq.) Sw.	5
2.1.1.1	Uso na medicina popular.....	6
2.1.1.2	Efeitos Farmacológicos	6
2.1.1.2.1	<i>Efeito hepatoprotetor e antidiabético</i>	6
2.1.1.2.2	<i>Atividade antifúngica</i>	6
2.1.1.2.3	<i>Efeito antioxidante e antimicrobiano</i>	7
2.1.1.2.4	<i>Atividade anti-inflamatória e analgésica</i>	7
2.1.1.3	Compostos fitoquímicos.....	7
2.1.2	<i>Solidago microglossa</i> DC.	8
2.1.2.1	Uso na medicina popular.....	8
2.1.2.2	Efeitos Farmacológicos	8
2.1.2.2.1	<i>Atividade antimicrobiana</i>	9
2.1.2.2.2	<i>Atividade antiproliferativa</i>	9
2.1.2.2.3	<i>Atividade hepatoprotetora</i>	9
2.1.2.2.4	<i>Efeito cicatrizante</i>	10
2.1.2.2.5	<i>Atividade antiviral</i>	10
2.1.2.3	Compostos fitoquímicos.....	10
2.1.3	<i>Tabebuia avellanadae</i> Lorentz ex Griseb.....	10
2.1.3.1	Uso na medicina popular.....	11
2.1.3.2	Efeitos Farmacológicos	11
2.1.3.3	Outros efeitos	12
2.1.3.4	Compostos fitoquímicos.....	12
2.1.3.4.1	<i>Lapachol</i>	12
2.2	INTERAÇÃO MEDICAMENTOSA	13
2.3	RECEPTORES NUCLEARES	15
2.3.1	Estrutura.....	15
2.3.2	Classificação dos Receptores Nucleares.....	16
2.4	RECEPTOR PREGNANO X	17
2.4.1	Estrutura do PXR	18

2.4.1.1	Estrutura Cristalográfica do LBD do hPXR.....	18
2.4.2	Mecanismos de ação do PXR	19
2.4.3	PXR no metabolismo de endobióticos	21
2.4.4	PXR no metabolismo de xenobióticos	22
2.4.4.1	Fase 0.....	22
2.4.4.2	Fase I.....	22
2.4.4.3	Fase II.....	23
2.4.4.3.1	<i>UDP-Glucuronosiltransferases</i>	23
2.4.4.3.2	<i>Sulfotransferases</i>	24
2.4.4.3.3	<i>Glutathiona S-transferases</i>	24
2.4.4.4	Fase III.....	25
2.4.5	Ligantes sintéticos e naturais do PXR.....	26
2.4.5.1	Agonistas.....	26
2.4.5.2	Antagonistas	28
3	OBJETIVOS.....	31
3.1	OBJETIVO GERAL	31
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
4	MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1	EXTRATOS AQUOSOS.....	32
4.2	CULTURA DE CÉLULAS	32
4.3	ENSAIO DE VIABILIDADE CELULAR	32
4.4	TRANSFORMAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE PLASMÍDEO	34
4.5	ENSAIO DE TRANSFEÇÃO TRANSIENTE E GENE REPÓRTER	35
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
5	RESULTADOS	37
5.1	AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR COM EXTRATOS AQUOSOS...37	
5.2	ESTUDO DO EFEITO DOS EXTRATOS AQUOSOS SOBRE A ATIVIDADE TRANSCRICIONAL DO hPXR POR TRANSFEÇÃO TRANSIENTE E GENE REPÓRTER.....	39
5.2.1	O extrato aquoso de <i>Costus spicatus</i> não alterou a atividade transcricional do hPXR	39
5.2.2	O extrato aquoso de <i>Solidago microglossa</i> DC. demonstrou efeito agonista sobre hPXR	41

5.2.3	O extrato aquoso de <i>Tabebuia avellanedae</i> apresentou ação antagonista sobre o hPXR	44
6	DISCUSSÃO.....	47
7	CONCLUSÃO.....	52
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos têm sido cada vez mais utilizados no Brasil. A busca por estes produtos cresceu 161% entre 2013 e 2015 nas unidades básicas de saúde (BRASIL, 2016). Atualmente, existem 12 medicamentos fitoterápicos, disponibilizados em 14 estados brasileiros, que estão incluídos na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME): *Aloe vera* (babosa), *Cynara scolymus* (alcachofra), *Glycine max* (isoflavona-de-soja), *Harpagophytum procumbens* (garra-do-diabo), *Maytenus officinalis* (espinheira-santa), *Mentha x piperita* (hortelã), *Mikania glomerata* (guaco), *Plantago ovata* (plantago), *Rhamnus purshiana* (cáscara-sagrada), *Salix alba* (salgueiro), *Schinus terebinthifolius* (aroeira) e *Uncaria tomentosa* (unha de gato) (BRASIL, 2012a; BRASIL, 2017).

No Brasil, o Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos (PNPMF) propõe “Garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional” (BRASIL, 2017). Para atender esta proposta, o MS, através do PNPMF, divulgou a Relação de Espécies Vegetais de Interesse do Sistema Único de Saúde - SUS (RENISUS) contendo 71 espécies vegetais com potencial terapêutico que possam guiar pesquisas com a finalidade de ampliar o uso de fitoterápicos que ofereçam segurança e eficácia no SUS (BRASIL, 2009).

Porém, o consumo de plantas medicinais ou fitoterápicos juntamente com drogas alopáticas, pode ocasionar em interações medicamentosas e comprometer a eficácia da terapêutica e causar possíveis complicações (HOGLE *et al.*, 2018). Um exemplo clássico de interação é com a *Hipericum perforatum*, conhecida popularmente como erva de São João e utilizada como antidepressivo. Quando administrada concomitantemente com anticoncepcionais orais, pode diminuir os efeitos destes medicamentos por acelerar o metabolismo de uma enzima do citocromo P450 (CYP 450), a CYP3A4. Esta enzima é regulada pelo receptor pregnano X (PXR) e a erva de São João é um agonista potente deste receptor (MOORE *et al.*, 2000; SCHWARZ; BUSCHEL; KIRCH, 2003).

O PXR é um fator de transcrição dependente de ligantes encontrado principalmente no fígado e no intestino que participa da metabolização da maioria dos xenobióticos por

expressar e regular enzimas metabolizadoras de drogas como a CYP 450 (TEBBENS *et al.*, 2018). Ele é ativado por diversos endobióticos e xenobióticos, o que pode afetar a farmacocinética (ZHANG; XIE; KRASOWSKI, 2008). Quando o PXR é ativado por um agonista, a expressão destas enzimas podem ser aumentadas, e faz com que drogas sejam metabolizadas mais rapidamente, o que pode provocar uma interação medicamentosa (SINZ, 2013) e em alguns casos, acúmulo de metabólitos tóxicos (WANG, Y. M. *et al.*, 2014). Já a sua inativação pode ter o resultado oposto, exemplo é a diminuição do metabolismo de fármacos, aumentando sua biodisponibilidade (MANI; DOU; REDINBO, 2013).

Devido ao vasto número de plantas ainda pouco estudadas, o uso de plantas medicinais ou fitoterápicos serem de fácil acesso e, muitas vezes, a população fazer o uso destes concomitantemente com outros medicamentos, são necessários estudos para observar possíveis riscos de interações medicamentosas e também para contribuir com o uso consciente e seguro pela população. Para colaborar com estes propósitos, neste trabalho foram selecionadas três espécies de plantas constantes na RENISUS, a *Costus spicatus* (Jacq.) Sw., a *Solidago microglossa* DC. e a *Tabebuia avellanae* Lorentz ex Griseb. A *Costus spicatus* (Jacq.) Sw., nomeada de ‘cana-do-brejo’, é usada no tratamento contra dor e inflamação (QUINTANS JUNIOR *et al.*, 2010). A *Solidago microglossa* DC., conhecida como ‘arnica brasileira’, é utilizada para constipação, cicatrização de feridas e alívio da dor (BIESKI *et al.*, 2012). E a *Tabebuia avellanae* Lorentz ex Griseb denominada como ‘ipê roxo’, tem seu uso como analgésico, para tratamento de doenças estomacais e de pele (COELHO *et al.*, 2010). Neste trabalho, foram realizados ensaios de transfecção transiente e gene repórter para verificar se os extratos aquosos destas plantas alteravam a atividade transcricional do hPXR.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS

O Brasil apresenta um vasto número de espécies e um complexo bioma, configurando entre os 17 países com maior biodiversidade no mundo (PIMENTEL *et al.*, 2015). Apresenta 20-22% do total de plantas mundiais, com mais de 45.000 espécies (DUTRA *et al.*, 2016). Dentre as espécies de plantas, destacam-se as medicinais. Elas são usadas desde os primórdios da humanidade para cerimônias religiosas, diminuir a dor, prevenir e curar diversas doenças (DE LUCA *et al.*, 2012). Uma vantagem é que o conhecimento tradicional do uso de plantas medicinais pode contribuir para o desenvolvimento de pesquisas (BRASIL, 2006).

É importante ressaltar que existe uma diferença entre plantas medicinais e fitoterápicos (ROSA; BARCELOS; BAMPI, 2012). A planta medicinal é aquela que em seus órgãos há compostos, dentre eles, os princípios ativos, que provocam resposta biológica e que podem ser utilizados tanto para síntese de medicamentos quanto para fins terapêuticos (SOFOWORA; OGUNBODEDE; ONAYADE, 2013; SOUZA, 2015). Já os fitoterápicos são medicamentos adquiridos através da matéria-prima ativa vegetal e não possuem compostos de origem natural ou sintética isolados ou purificados (BRASIL, 2014). No Brasil, eles são classificados em duas categorias: os medicamentos fitoterápicos, onde sua segurança e eficácia foram avaliadas através de testes clínicos padronizados e os produtos tradicionais fitoterápicos, onde estudos demonstraram sua segurança em humanos na literatura técnico-científica ao longo de 30 anos (ANVISA, 2015).

Atualmente, tem aumentado o número de trabalhos científicos relacionados aos compostos químicos e efeitos farmacológicos de plantas medicinais publicados em periódicos científicos nacionais e internacionais, o que implica em avanço científico (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998). Os compostos fitoquímicos das plantas são responsáveis pelas propriedades terapêuticas. As técnicas científicas levam ao isolamento e identificação desses compostos (IBRAHIM *et al.*, 2014) e colaboram para o desenvolvimento da medicina moderna e descobertas de medicamentos (SEN; SAMANTA, 2015). Alguns exemplos de medicamentos desenvolvidos a partir de plantas são a morfina (*Papaver somniferum* L., conhecida como 'ópio'), a aspirina (*Salix alba* L., popularmente denominada

de ‘salgueiro’), a quinina (*Cinchona* spp., chamada de ‘cinchona’) e a digoxina (*Digitalis purpúrea* ou ‘dedaleira’) (VICKERS; ZOLLMAN; LEE, 2001).

Hoje são oferecidos 12 medicamentos fitoterápicos no SUS em 14 estados do Brasil (BRASIL, 2012a), sendo eles Acre, Amazonas, Bahia, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Pará, Paraíba, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Sergipe, São Paulo e Tocantins (BRASIL, 2012b). Eles são indicados para diversas funcionalidades como tratamento de queimaduras, artrite, gastrite e úlcera (BRASIL, 2016) (Tabela 1). Esses medicamentos estão integrados na RENAME (BRASIL, 2017).

Tabela 1. Lista de fitoterápicos disponíveis no SUS e suas ações ou indicações.

Nome científico	Nome popular	Indicação/Ação
<i>Aloe vera</i>	Babosa	Queimaduras 1º e 2º graus
<i>Cynara scolymus</i>	Alcachofra	Hipercolesterolemia leve
<i>Glycine max</i>	Isoflavona-de-soja	Sintomas do climatério
<i>Harpagophytum procumbens</i>	Garra-do-diabo	Dor lombar baixa aguda e coadjuvante em osteoartrite
<i>Maytenus ilicifolia</i>	Espinheira-santa	Auxilia no tratamento de gastrite e úlcera
<i>Mentha x piperita</i>	Hortelã	Tratamento síndrome do cólon irritável e antiespasmódica
<i>Mikania glomerata</i>	Guaco	Expectorante e broncodilatador
<i>Plantago ovata</i>	Plantago	Síndrome do cólon irritável e obstipação intestinal
<i>Rhamnus purshiana</i>	Cáscara-sagrada	Obstipação intestinal
<i>Salix alba</i>	Salgueiro	Tratamento de dor lombar baixa aguda
<i>Schinus terebenthifolius</i>	Aroeira	Cicatrizante, anti-inflamatório e antisséptica tópica
<i>Uncaria tomentosa</i>	Unha-de-gato	Artite e osteoartrite

Fonte: Adaptado de Brasil (2012a).

De acordo com MS, houve um crescimento no SUS de 161% no uso de medicamentos fitoterápicos e à base de plantas medicinais para tratamento de doenças entre 2013 e 2015 (BRASIL, 2016). Segundo dados do Sistema de Informação em Saúde para a Atenção Básica (SISAB), em 1.205 estabelecimentos da Atenção Básica distribuídos em 822 municípios, foram registrados 89.037 atendimentos de fitoterapia no ano de 2016 (BRASIL, 2017).

O PNPMF do MS criou a RENISUS em 2008, uma lista contendo 71 plantas medicinais com potencial terapêutico para nortear o desenvolvimento de pesquisas e gerar produtos de interesse ao SUS e, com isso, aumentar o número de medicamentos fitoterápicos para o uso da população com segurança e eficácia na saúde primária (BRASIL, 2009).

Para a realização deste trabalho, foram escolhidos três extratos constantes na RENISUS: (i) *Costus spicatus* (Jacq.) Sw, (ii) *Solidago microglossa* DC. e (iii) *Tabebuia avellaneda* Lorentz ex Griseb. O critério para escolha destes foi a disponibilidade dos mesmos no Laboratório de Farmacologia Molecular da Faculdade de Saúde da Universidade de Brasília.

2.1.1 *Costus spicatus* (Jacq.) Sw.

Costus spicatus Swartz (Costacea) (PICANCO *et al.*, 2016), no Brasil conhecida como ‘cana-do-brejo’, ‘canarana’, ‘canamansa’, ‘cana-de-macaco’ e ‘pobre-velho’ (BORRÁS, 2003; LORENZI; MATOS, 2008 *apud* PAES; MENDONÇA; CASAS, 2013), é uma espécie nativa encontrada no Brasil, Colômbia, México e Costa Rica, (PEREIRA DA SILVA; BERNARDO; PARENTE, 1999; PICANCO *et al.*, 2016) (Figura 1).



Figura 1. Inflorescência e folhas da *Costus spicatus* (cana-de-macaco). Obtido de PAES; MENDONÇA; CASAS, 2013.

2.1.1.1 Uso na medicina popular

As folhas, caules e rizomas são popularmente utilizados no tratamento de infecções do trato urinário, como anti-inflamatório e diurético hipoglicemiante (ULIANA *et al.*, 2015).

2.1.1.2 Efeitos Farmacológicos

Existem estudos na literatura que demonstram que a *Costus spicatus* possui vários efeitos: hepatoprotetor, antidiabético (NASCIMENTO *et al.*, 2016; AZHAGUMADHAVAN *et al.*, 2018), antifúngico (SILVA *et al.*, 2008), antioxidante, antimicrobiano (ULIANA *et al.*, 2015), anti-inflamatório e analgésico (QUINTANS JUNIOR *et al.*, 2010; PICANCO *et al.*, 2016).

2.1.1.2.1 Efeito hepatoprotetor e antidiabético

No estudo de Azhagumadhavan e colaboradores (2018), o extrato aquoso de *Costus spicatus* mostrou atividade antidiabética e hepatoprotetora. O diabetes foi induzido em ratos com estreptozotocina e o extrato aquoso foi capaz de normalizar os níveis de glicose no sangue, comparável com a eficácia do antidiabético glibenclamida e das enzimas hepáticas, especificamente fosfatase alcalina, transaminase oxalacética glutâmica e transaminase sérica glutâmica pirúvica, não danificando o fígado em comparação à glibenclamida. De acordo com Nascimento e colaboradores (2016), o extrato aquoso de *Costus spicatus* mostrou ter efeito hipoglicemiante em camundongos. No estudo, tiveram dois grupos de camundongos: os que receberam dieta hiperglicemiante e o outro a mesma dieta mais o extrato aquoso, ambos por 16 dias. O primeiro grupo teve um aumento da glicemia em jejum em 29,25%, porém o segundo grupo mostrou redução da glicose sanguínea em jejum de 20,59%.

2.1.1.2.2 Atividade antifúngica

Uma fração de flavonoides do extrato aquoso das folhas de *Costus spicatus* apresentou atividade antifúngica para os dermatófitos que causam a tinea, sendo eles *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum gypseum*, *Epidermophyton floccosum* e principalmente, *Microsporum canis* (SILVA *et al.*, 2008).

2.1.1.2.3 Efeito antioxidante e antimicrobiano

O extrato acetônico das folhas de *Costus spicatus* apresentou Índice de Atividade Antioxidante (AAI) de $0,56 \pm 0,068$, considerado moderado de acordo com Scherer e Godoy, onde o AAI moderado é de 0,05 a 1,0. No mesmo estudo, eles observaram atividade antimicrobiana expressa pela concentração inibitória mínima (CIM), onde o extrato acetônico das folhas exibiu forte atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* com CIM de 0,5 mg/mL e *Candida albicans* com CIM de 0,25 mg/mL. Estas bactérias estão relacionadas a infecção do trato urinário. O controle norfloxacin teve o CIM de 0,5 mg/mL, 0,25 mg/mL e 0,031 mg/mL, respectivamente (ULIANA *et al.*, 2015).

2.1.1.2.4 Atividade anti-inflamatória e analgésica

O extrato aquoso da folha de *Costus spicatus* demonstrou efeito inibitório significativo do edema, na migração de células inflamatórias e na síntese de prostaglandina, dessa forma, apresentando atividade anti-inflamatória. Além disso, reduziu significativamente a nocicepção induzida por veneno da víbora *Bothrops atrox*. O suposto mecanismo é a inibição central da dor (PICANCO *et al.*, 2016). Pesquisas de Quintans Junior e colaboradores (2010) mostraram que o extrato metanólico obtido a partir das folhas de *Costus spicatus* possuem propriedades anti-inflamatórias e analgésicas que, provavelmente são mediadas através da inibição da síntese de prostaglandinas.

2.1.1.3 Compostos fitoquímicos

Há presença de compostos fitoquímicos como polifenóis, saponinas e heterosídeos cianogênicos no extrato aquoso e etanólico de diversas partes do *Costus spicatus* (caule, raiz, rizoma e folhas) (PAES; MENDONÇA; CASAS, 2013). Já no extrato hidroalcoólico das partes vegetativas, foram encontradas leucoantocianidinas e flavononas (PAES; MENDONÇA; CASAS, 2013). Em outros estudos foram encontrados alcaloides, fenóis, taninos (BITENCOURT; ALMEIDA, 2014) e saponinas com estrutura esteroidal (DA SILVA; BERNARDO; PARENTE, 1999). Outros compostos como quercetina, kaempferideo, tamarixetina, especificamente quercetina 3-O-b-D-glucopiranosídeo, kaempferide 3-O-b-D-glucopiranosídeo e tamarixetina 3-O-bD-glucopiranosídeo foram identificados (DA SILVA, BERNARDO; PARENTE, 2000).

2.1.2 *Solidago microglossa* DC.

Solidago microglossa DC. (Asteraceae) é espécie bastante encontrada no sul do Brasil, Paraguai, Uruguai e Argentina (BAGGIO *et al.*, 2012). É sinônimo de *Solidago chilensis* Meyen (PEREIRA *et al.*, 2018). Popularmente conhecida no Brasil por ‘arnica’, ‘arnica-brasileira’, ‘arnica-silvestre’ e ‘erva-lanceta’ (BAGATINI *et al.*, 2009) (Figura 2).



Figura 2. A inflorescência e as folhas de *Solidago microglossa* (arnica brasileira). Obtido de BEVILAQUA *et al.*, 2015.

2.1.2.1 Uso na medicina popular

As partes mais utilizadas na medicina popular são o rizoma seco, as raízes e as folhas secas (SABIR *et al.*, 2012) e a planta é utilizada para alívio da dor, cicatrização de feridas, constipação, fraturas ósseas, hipertensão, inflamação uterina, pneumonia, relaxamento muscular e vermífugo (BIESKI *et al.*, 2012).

2.1.2.2 Efeitos Farmacológicos

Possui ação analgésica, anti-inflamatória, antisséptica, estimulante (KAZIYAMA; FERNANDES; SIMONI, 2012), antimicrobiana (BRASILEIRO *et al.*, 2006; MOREL *et al.*,

2006; FREIRES *et al.*, 2010), antiproliferativa (BAGATINI *et al.*, 2009), hepatoprotetora (SABIR *et al.*, 2012), cicatrizante (NETO *et al.*, 2004) e antiviral (KAZIYAMA; FERNANDES; SIMONI, 2012).

2.1.2.2.1 Atividade antimicrobiana

O óleo das folhas de *Solidago microglossa* inibiu o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella setubal*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* (MOREL *et al.*, 2006). Já o extrato etanólico de *Solidago microglossa* na concentração de 5 mg/mL apresentou atividade antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus*. O alo de inibição foi maior ou igual ao do controle cloranfenicol (BRASILEIRO *et al.*, 2006). Em estudo de Freires e colaboradores (2010), observou-se que nas linhagens bacterianas de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei*, bactérias do biofilme dentário mostraram-se susceptíveis à ação das tinturas de *Solidago microglossa* com CIM de 7,8 mg/mL e 1,9 mg/mL, respectivamente.

2.1.2.2.2 Atividade antiproliferativa

A infusão de *Solidago microglossa* demonstrou ser tóxica e apresentou atividade antiproliferativa no teste do sistema *Allium cepa*, bioindicador de genotoxicidade e citotoxicidade de plantas medicinais (BAGATINI; SILVA; TEDESCO, 2007), sugerindo em eucariotos a inibição do ciclo celular, tornando-o um provável potencial terapêutico (BAGATINI *et al.*, 2009).

2.1.2.2.3 Atividade hepatoprotetora

De acordo com estudos de Sabir e colaboradores (2012), o tratamento na dosagem de 100 e 200 mg/kg com o extrato etanólico de *Solidago microglossa* protegeu contra lesão hepática induzida pelo paracetamol (250 mg/kg) em ratos Wistar, com isso, o extrato demonstrou ter um efeito hepatoprotetor.

2.1.2.2.4 Efeito cicatrizante

O extrato aquoso bruto em forma de injeções intraperitoniais na concentração de 16,1 mg/kg diminuiu de forma sutil as feridas abertas em ratos Wistar após aplicação por 14 dias. Entretanto, dose 3,4 vezes maior que a dose terapêutica (54,7 mg/kg) causaram letalidade em 50% do total de roedores (DL₅₀), o que pode comprometer a segurança do seu uso (NETO *et al.*, 2004).

2.1.2.2.5 Atividade antiviral

O extrato aquoso de *Solidago microglossa* apresentou atividade antiviral na concentração máxima não tóxica em linhagem celular de rim bovino (MDBK) de 1000 µg/mL com porcentagem de inibição de 43% sobre o herpesvírus bovino (BoHV-1) (KAZIYAMA; FERNANDES; SIMONI, 2012).

2.1.2.3 Compostos fitoquímicos

Os compostos fitoquímicos encontrados nas folhas da *Solidago microglossa* são: saponinas, alcaloides, taninos, flavonoides (CHICOUREL *et al.*, 1998; BAGGIO *et al.*, 2012), aminogrupos, antraquinonas, mucilagem, taninos, triterpenos, cumarinas, o flavonoide glicosídico quercitrina (SMOLAREK, 2011), α -spinasterol e solidagenona (MOREL *et al.*, 2006).

2.1.3 *Tabebuia avellanadae* Lorentz ex Griseb

Tabebuia avellanadae Lorentz ex Griseb (Bignoniaceae), sinônimo de *Handroanthus impetiginosus* (Mart. Ex DC.) Mattos (LOHMANN, 2015), popularmente conhecida como ‘ipê-roxo’, ‘pau-d’arco-roxo’, ‘ipê-roxo-da-mata’ (MARTINS; LAGO; CICERO, 2011), é uma árvore encontrada em florestas tropicais da América do Sul, principalmente no nordeste do Brasil (SUO *et al.*, 2012; SUO *et al.*, 2013; PARK, J. G. *et al.*, 2017) e na América Central (ZHANG; HASEGAWA; OHTA, 2016) (Figura 3).



Figura 3. Árvore florida de *Tabebuia avellanae* (ipê roxo). Obtido de HUSSAIN *et al.*, 2007.

2.1.3.1 Uso na medicina popular

É utilizada como auxílio no tratamento de doenças de pele e estomacais e também como analgésico (COELHO *et al.*, 2010).

2.1.3.2 Efeitos Farmacológicos

Estudos mostram que a *Tabebuia avellanae* possui ação antiúlcera (PEREIRA *et al.*, 2013), antidepressiva (FREITAS *et al.*, 2013), antinociceptiva, antiedematogênica (DE MIRANDA *et al.*, 2001), antimicrobiana (MACHADO *et al.*, 2003), antioxidante (SUO *et al.*, 2013), antimelanogênica (KIM *et al.*, 2015) e anticolite (PARK, H. J. *et al.*, 2017).

2.1.3.3 Outros efeitos

O extrato metanólico da casca de *Tabebuia avellanedae* apresentou atividade larvicida de mosquitos com 100% de mortalidade a 100 mg/L contra *Aedes aegypti*, *Culex pipiens pallens* e *Ochlerotatus togoi* (KIM; JEON; LEE, 2013).

2.1.3.4 Compostos fitoquímicos

Compostos fitoquímicos da espécie foram relatados em estudos, como flavonoides, saponinas, taninos condensados, triterpenos, esteroides (ARAÚJO *et al.*, 2015), derivados de ácido benzoico (KREHER *et al.*, 1988) e ciclopenteno (ZHANG; HASEGAWA; OHTA, 2016), glicosídeos, tais como iridoides (NAKANO *et al.*, 1993), feniletanoide (AWALE *et al.*, 2005) e fenilpropanol (ARAÚJO *et al.*, 2015), antraquinonas, naftoquinonas (UEDA *et al.*, 1994) e furanonaftoquinonas (KREHER *et al.*, 1988).

2.1.3.4.1 Lapachol

Lapachol, uma naftoquinona, é um dos compostos isolados mais estudados da *Tabebuia avellanedae* e extraído de várias outras espécies de plantas da família Bignoniaceae. Foi isolada pela primeira vez em 1858 por Arnaudon (ARNAUDON, 1858 *apud* DA SILVA JÚNIOR *et al.*, 2009). Em 1882, Paternó elucidou sua estrutura, porém, de forma incorreta, descreveu a posição errada de uma dupla ligação na cadeia lateral (PATERNÓ, 1882 *apud* DE CARVALHO DA SILVA; FRANCISCO FERREIRA, 2016). Mais tarde, Hooker relatou sua estrutura corretamente (HOOKER, 1892 *apud* DE CARVALHO DA SILVA E FRANCISCO FERREIRA, 2016). Possui propriedades analgésica, antimalária, antibiótica, antiulcerogênica, anti-inflamatória, anticancerígena (ARAÚJO; ALENCAR; ROLIM NETO, 2002), antiviral (FONSECA; BRAGA; SANTANA, 2003) e anti-helmíntica (MATA-SANTOS *et al.*, 2015).

A atividade antitumoral do lapachol chegou a ser testada na fase I de ensaios clínicos em 1974 pelo Instituto Nacional de Câncer (NCI) nos Estados Unidos (HUSSAIN *et al.*, 2007). O lapachol apresentava baixa biodisponibilidade e para atingir concentrações terapêuticas no plasma eram necessárias altas doses da substância, por isso, as investigações foram suspensas. Além disso, as doses altas implicavam em efeitos tóxicos (FALKENBERG, 2003).

Outros compostos da *Tabebuia avellanae* análogos do lapachol foram isolados, como a α -lapachona e a β -lapachona (HUSSAIN *et al.*, 2007). Um derivado da α -lapachona, a epoxy- α -lapachona diminuiu o número de amastigotas e promastigotas de *Leishmania braziliensis* e *Leishmania amazonenses*, conferindo assim atividade antiparasitária sobre a leishmaniose (SOUZA-SILVA *et al.*, 2014). Já β -lapachona é um composto lipofílico (KIM *et al.*, 2015) e possui atividade anti-helmíntica (MATA-SANTOS *et al.*, 2015) e antimelanogênica (KIM *et al.*, 2015).

As pessoas veem na fitoterapia um método de cura e prevenção mais acessível por ser de baixo custo e de fácil acesso, ao contrário do que ocorre com outros medicamentos (CRUZ; ÁLVIM, 2013). Porém, a falta de vigilância efetiva do uso, eficácia, qualidade e toxicidade desses produtos naturais transformou sua utilização em um problema de saúde pública, devido ao seu uso indiscriminado (ASHIQ; HUSSAIN; AHMAD, 2014). Muitas vezes, pela crença de que “se é natural não faz mal”, isso pode ocasionar em intoxicações e em interações medicamentosas (ANVISA, 2018).

2.2 INTERAÇÃO MEDICAMENTOSA

Uma interação medicamentosa é quando a resposta de um medicamento é alterada de alguma maneira pela presença de outro coadministrado (ROBERTSON; PENZAK, 2007), o que pode ocasionar em aumento ou diminuição do efeito da droga. Com isso, esses efeitos podem ser tanto nocivos, quanto vantajosos ao tratamento (SNYDER; POLASEK; DOOGUE, 2012).

O receptor pregnano X (PXR) está envolvido em interações (MANI; DOU; REDINBO, 2013). Ele é um RN que regula genes que codificam diversas enzimas que participam do metabolismo de xenobióticos (TOLSON; WANG, 2010), como, por exemplo, grande parte das enzimas CYP 450. Agonistas e antagonistas de PXR podem aumentar ou diminuir a expressão destas enzimas, respectivamente. Em ambos os casos, quando estes referidos compostos são administrados concomitantemente com outro medicamento, a farmacocinética e farmacodinâmica tem a possibilidade de serem alteradas, e isso pode resultar em interações medicamentosas (WEI *et al.*, 2016).

O primeiro registro de interação com extrato de plantas foi com a erva de São João. Foi observado que esta planta é capaz de interagir com diversos medicamentos por ser agonista de PXR (MOORE *et al.*, 2000). A erva de São João associada com medicamento contraceptivo oral pode diminuir as concentrações ou os efeitos do medicamento (HENDERSON *et al.*, 2002). Outro exemplo com esta planta foi descrito em uma revisão sistemática realizada por Ernst (2002), onde relatou que a mesma diminuiu os níveis de ciclosporina (imunossupressor) por induzir a CYP3A4 e a glicoproteína P (P-gp), e com isso, aumentou o risco de rejeição de transplante em pacientes. Estudos mostraram que, em linhagem celular de adenocarcinoma de próstata de humanos (PC-3) (KAIGHN *et al.*, 1979), houve aumento da expressão da CYP3A4 e MDR1 com o pré-tratamento com agonista seletivo e potente SR12813 de hPXR e ocorreu resistência das células ao taxol e a vimblastina (CHEN *et al.*, 2007). Estudos sugerem também que quando a rifampicina, agonista de PXR, induz a CYP3A4, pode haver uma maior depuração metabólica do calcitriol, forma ativa da vitamina D (1 α ,25-dihidroxitamina D3) em células LS180. Consequentemente, efeitos deste hormônio na absorção intestinal de cálcio tem a possibilidade de serem reduzidos. Com isso, os pacientes que recebem terapia crônica com agonistas de PXR tem maior a chance de desenvolver osteoporose (ZHENG *et al.*, 2012).

Os antagonistas de PXR bloqueiam o sítio de ligação (RANG *et al.*, 2011) e diminuem a atividade transcricional deste receptor, podendo assim, inibir várias enzimas do metabolismo de xenobióticos. Por este motivo, pode ocorrer o aumento da concentração de medicamentos coadministrados com estes compostos na corrente sanguínea pela redução da depuração hepática (TISSERAND; YOUNG, 2014). Desta forma, isso tem a possibilidade de propiciar benefícios como melhoria da eficácia terapêutica por minimizar ou prevenir as interações medicamentosas (BURK *et al.*, 2018) e também diminuir a resistência ao câncer (SMUTNY; PAVEK, 2014). Um exemplo é um estudo que mostrou que a inibição de PXR com extratos de melão amargo (*Momordica charantia*) em células de câncer de cólon HT-29 reduziu a expressão de proteínas como PXR e MDR1 e aumentou e sensibilizou o efeito da doxorubicina sobre a proliferação celular (KWATRA *et al.*, 2013; PONDUGULA; PAVEK; MANI, 2016).

2.3 RECEPTORES NUCLEARES

A Superfamília de receptores nucleares (RN) é um grupo de fatores de transcrição (TUCKERMANN; BOURGUET; MANDRUP, 2010) que possui 48 membros identificados em humanos (DASH; TYAGI, 2016). Os ligantes dos RNs podem atravessar a membrana plasmática sem atuar com receptores da superfície celular e interagir com eles no meio intracelular (SEVER; GLASS, 2013). Os componentes desta família de receptores controlam diversos processos fisiológicos: desenvolvimento, inflamação, reprodução, metabolismo e homeostase (LIU; DOWNES; EVANS, 2015; DASH; TYAGI, 2016) e são alvos para o tratamento de doenças como asma, diabetes, doença coronariana, câncer, obesidade, osteoporose e hipertensão (DASH; TYAGI, 2016).

2.3.1 Estrutura

Os RNs possuem de cinco a seis domínios denominados de A à F, partindo do amino terminal para o carbono terminal da proteína (PAWLAK; LEFEBVRE; STAELS, 2012).

Os RNs possuem uma estrutura comum: um domínio amino-terminal altamente variável que inclui diversas regiões de ativação de transcrição distintas (o domínio A/B, também denominado de função de ativação 1 (AF-1), o domínio de ligação ao DNA (DBD, domínio C), região de dobradiça (domínio D) e um domínio de ligação ao ligante (LBD, domínio E). Além disso, têm uma cauda carboxi-terminal altamente variável (o domínio F) que na maioria dos casos têm funções desconhecidas (MANGELSDORF *et al.*, 1995) (Figura 4).

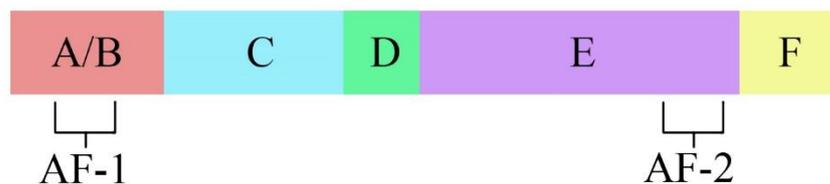


Figura 4. Estrutura linear dos receptores nucleares. (A/B) região N terminal variável que possui o domínio de transativação independente de ligante AF-1; (C) domínio de ligação ao DNA conservado (DBD); (D) região de dobradiça variável; (E) região conservada que contém o domínio de ligação ao ligante (LBD), a superfície de dimerização e o domínio de transativação AF-2 dependente do ligante; (F) região que é encontrada em alguns receptores nucleares, mas com função desconhecida. Adaptado de HART, 2002.

A região amino terminal (domínio A/B) é a mais diversificada entre os RNs (HELSEN; CLAESSENS, 2014), contém pelo menos uma região de ativação da transcrição AF-1 e vários domínios de transativação autônomos (AD); possui comprimento variável, de menos de 50 a mais de 500 aminoácidos (ROBINSON-RECHAVI; ESCRIVA GARCIA; LAUDET, 2003).

A região mais conservada é o domínio de ligação ao DNA (DBD; Domínio C) (PAWLAK; LEFEBVRE; STAELS, 2012), composta por dois dedos de zinco: a caixa P (P-box), no primeiro módulo de dedo de zinco, α hélice que permite as interações de sequências específicas com o DNA. O segundo módulo de dedo de zinco na caixa D (D-box) permite que os DBDs do receptor se hetero ou se homodimerizem (RUFF *et al.*; 2000; HELSEN; CLAESSENS, 2014).

O domínio D não é bem conservado entre os diferentes receptores (STEGER; SCHNABEL; SCHMIDT, 2002) e age como uma dobradiça entre o DBD e o LBD, permitindo a rotação do DBD (ARANDA; PASCUAL, 2001).

O LBD ou região E tem sido o foco principal para a descoberta de medicamentos, pois é o sítio no qual os ligantes se ligam. Possui tamanho e caráter únicos, com diversos aminoácidos que garantem especificidade para ligantes. Dentro do LBD, existe uma região denominada função de ativação-2 (AF-2) que recruta ativadores transcricionais de forma dependente do ligante (HUANG; CHANDRA; RASTINEJAD, 2010; KOJETIN; BURRIS, 2013; RASTINEJAD, 2013).

O domínio F ou carboxi-terminal é encontrado somente em alguns RN e é uma cauda com funções desconhecidas (SEVER; GLASS, 2013).

2.3.2 Classificação dos Receptores Nucleares

Os RNs, com base nas propriedades de ligação ao ligante, podem ser divididos em três classes: RNs de esteroides (classe I), RNs órfãos adotados (Classe II) e RNs órfãos (Classe III) (BAIN *et al.*, 2007; GADALETA; MAGNANI, 2014).

A família de receptores esteroides (classe I) inclui o receptor de progesterona (PR), o receptor de estrogênio (ER), receptor de glicocorticoide (GR), receptor de androgênio (AR), o receptor de mineralocorticoide (MR), o receptor do hormônio tireoidiano (TR), o receptor do ácido retinóico (RAR) e o receptor da vitamina D (VDR) (BAIN *et al.*, 2007; SONODA; PEI; EVANS, 2008).

Os receptores órfãos adotados (classe II) eram inicialmente órfãos e tornaram-se “adotados”, pois seus ligantes foram identificados recentemente (WAGNER; ZOLLNER; TRAUNER, 2011). Esta classe é composta pelo receptor retinoide X (RXR), PXR, receptor hepático X (LXR), receptor farnesoide X (FXR) e receptor ativado por proliferadores de peroxissomas (PPAR) (BAIN *et al.*, 2007).

A terceira classe de receptores tem sido denominada receptores órfãos, uma vez que seus ligantes ainda não são conhecidos (BAIN *et al.*, 2007). Os receptores que integram esta classe são: reversão sexual sensível à dosagem, região crítica de hipoplasia suprarrenal congênita do cromossomo X, gene 1 (DAX-1) (MIZUSAKI *et al.*, 2003), parceiro heterodímero curto (SHP) (ZOU *et al.*, 2015), Rev-erb α , Rev-erb β (SAFE *et al.*, 2014), receptor órfão testicular 4 (TR4) (SAFE *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2015), receptor nuclear sem cauda (TLX) (WANG; XIONG, 2016), receptor nuclear fotorreceptor específico (PNR) (FULTON *et al.*, 2017), fator I de transcrição do Promotor *Upstream* de Ovalbumina de Galinha (COUP-TFI/EAR3) (DAI; HUSSAIN, 2012; ALFANO *et al.*, 2014), fator II de transcrição do Promotor *Upstream* de Ovalbumina de Galinha (COUP-TFII/ARP-1) (DAI; HUSSAIN, 2012; LE GUEVEL *et al.*, 2017), fator de crescimento do nervo IB (Nur77) e receptor nuclear relacionado 1 (Nurr1) (RANHOTRA, 2015).

2.4 RECEPTOR PREGNANO X

O PXR, produto do gene da subfamília do receptor nuclear 1, grupo I, membro 2 (NR1I2), também conhecido como receptor ativado por pregnano (PAR) ou receptor esteroide e xenobiótico (SXR) (DAGNINO *et al.*, 2014; BREWER; CHEN, 2016) é um fator de transcrição (KUMARI; MUKHOPADHYAY; TYAGI, 2012; DAGNINO *et al.*, 2014), membro da superfamília de RNs órfãos adotados (PONDUGULA; PAVEK; MANI, 2016). Ele é ativado por ligante e se liga aos promotores de seus genes alvos para regular a expressão

destes (PONDUGULA; MANI, 2013). É denominado como “regulador mestre” ou “xenosensor” (SARADHI *et al.*, 2006) por seus ligantes serem tanto moléculas endógenas, quanto exógenas (DUSSAULT; FORMAN, 2002), como medicamentos fitoterápicos (XU; HUANG; BI, 2016), drogas, pesticidas, compostos nutricionais, esteroides, ácidos biliares e vitaminas (SARADHI *et al.*, 2006; DI MASI *et al.*, 2009). Esses compostos podem se tornar tóxicos quando são acumulados no corpo (SONODA *et al.*, 2003) e o PXR confere proteção contra agentes nocivos através da sua ativação, induzindo a metabolização de compostos exógenos e endógenos, e assim, acelerando a eliminação de substâncias potencialmente tóxicas. Porém, a alteração da atividade transcricional do PXR pode ocasionar interações medicamentosas (XIE *et al.*, 2000; LI *et al.*, 2012).

É expresso em diversos tecidos como fígado (WANG, Y. M. *et al.*, 2014), intestino (YE *et al.*, 2016), rins (TOVAR-PALACIO *et al.*, 2012), cérebro, medula óssea, glândulas adrenais (LAMBA *et al.*, 2004), coração (MESSINA *et al.*, 2013), células imunológicas (KODAMA; NEGISHI, 2013), estômago (PAVEK, 2016), próstata (CHEN *et al.*, 2007), mas também em muitos cânceres como colorretal (DONG *et al.*, 2017), próstata, osso, mama, ovário, endométrio (PONDUGULA; MANI, 2013), hematológico e cervical (PONDUGULA; PAVEK; MANI, 2016).

2.4.1 Estrutura do PXR

O PXR possui uma estrutura bem semelhante à de outros RNs: sua região N-terminal têm uma curta região AF-1, o DBD está ligado a uma região de dobradiça menor em relação aos outros RNs, o LBD é altamente promíscuo e flexível no C-terminal, onde também dispõe uma região AF-2 (QIAO *et al.*, 2013; BAKSHI *et al.*, 2017).

2.4.1.1 Estrutura Cristalográfica do LBD do hPXR

Como em outros RNs, o LBD do PXR humano é composto por três conjuntos de α -hélices: $\alpha 1/\alpha 3$, $\alpha 4/\alpha 5/\alpha 8$ e $\alpha 7/\alpha 10$ (ONG *et al.*, 2011). A região variável entre $\alpha 1$ e $\alpha 3$ é uma curva de quatro resíduos (IYER; RESCHLY; KRASOWSKI, 2006). Uma alça flexível com resíduos de aminoácidos 309 a 321 substitui a α hélice 6 e fica próxima à cavidade de ligação ao ligante, capaz de interagir com diversas moléculas (WATKINS *et al.*, 2001). Além do mais, possui cinco folhas β anti-paralelas com o $\beta 1$ e $\beta 1'$, duas cadeias não verificadas em

outros RNs (ONG *et al.*, 2011). O tamanho da bolsa de ligação do ligante apresenta ~ 1200-1600 Å³ (BUCHMAN; CHAI; CHEN, 2018) e por ser altamente flexível e hidrofóbica permite que moléculas de vários tamanhos e orientações se liguem (LIU *et al.*, 2011). Um dos locais mais importantes altamente hidrofóbico que interage com a maioria dos ligantes do PXR é definido por três resíduos conservados, a Felinalanina 288 (F288), Triptofano 299 (W299) e Tirosina 306 (Y306) (NGAN *et al.*, 2001) (Figura 5).

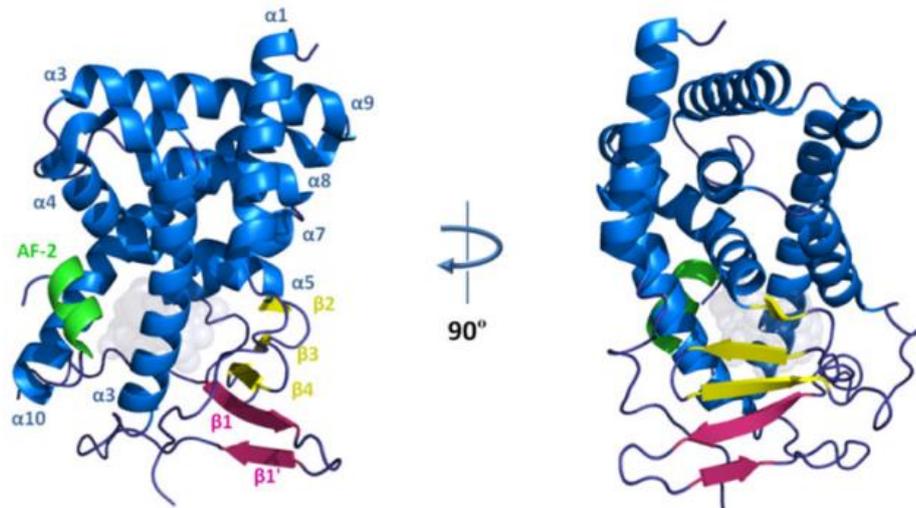


Figura 5. Estrutura cristalográfica do LBD de hPXR. As α -hélices são representadas em azul, as folhas comuns em outros RNs em amarelo, as folhas beta exclusivas do PXR em rosa e a região AF-2 em verde. As esferas transparentes no centro da cavidade de ligação ao ligante é o agonista SR12813. Adaptado de ONG *et al.*, 2011.

2.4.2 Mecanismos de ação do PXR

De forma clássica, comparado aos outros RNs, o PXR possui três mecanismos de regulação da atividade transcricional, sendo eles a transativação e a transrepressão, ambos dependentes de ligantes, e a repressão, independente de ligante (Figura 6).

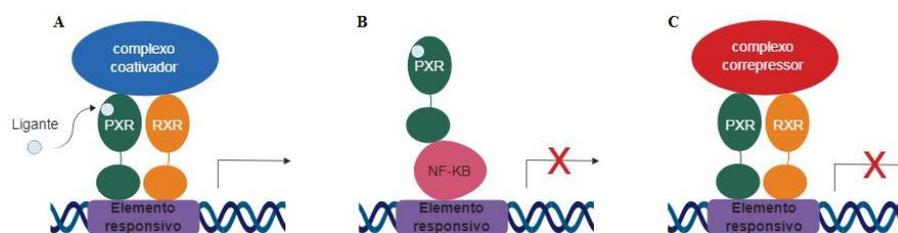


Figura 6. Mecanismos de ação do PXR. a) Ativação dependente de ligante: o PXR heterodimeriza-se com o RXR após a ligação de um agonista, posteriormente, o PXR/RXR interage com o elemento responsivo, ocorre uma mudança conformacional que leva a liberação de proteínas correpressoras e recrutamento do complexo coativador, ativando a transcrição gênica. b) Transrepressão dependente de ligante: na presença de ligantes, o PXR antagoniza outros fatores de transcrição como o NF- κ B, reprimindo a expressão gênica. c) Repressão independente de ligante: na ausência de ligantes, o PXR se liga ao elemento responsivo, porém o complexo correpressor não se dissocia do receptor, dessa forma, a expressão gênica é inibida. Baseado em PASCUAL; GLASS, 2006; RICOTE; GLASS, 2007; PONDUGULA; MANI, 2013.

Na transativação, o PXR é encontrado no citoplasma e quando seus ligantes se ligam, transloca-se para o núcleo da célula. Ele heterodimeriza-se com o receptor retinoide X alfa (RXR α) e se liga aos seus elementos de resposta no DNA, nos promotores dos genes-alvo, para ativar a transcrição (LIM; HUANG, 2008; KODAMA; NEGISHI, 2013; KONG *et al.*, 2016). A expressão gênica é facilitada com a dissociação de proteínas corressoras e associação de proteínas coativadoras na região AF-2 do LBD do PXR (MANI; DOU; REDINBO, 2013). As metiltransferases ou histonas acetiltransferases (HAT) podem causar o relaxamento da cromatina, pois enfraquece sua associação ao DNA, assim promovendo o recrutamento e associação dos coativadores com a maquinaria transcricional (LIM; HUANG, 2008). Os principais coativadores do PXR são o coativador do receptor ativado por proliferador de peroxissoma gama (PGC-1), os membros da família de coativadores p160, coativador de receptor esteroide 1 (SRC-1) e 2 (SRC-2) (HARIPARSAD *et al.*, 2009; IHUNNAH; JIANG; XIE, 2011), fator de transcrição *forkhead* FKHR (FOXO1) e a proteína 1 de interação com o receptor nuclear (*nuclear receptor interacting protein 1*) (RIP140) (HARIPARSAD *et al.*, 2009).

Na transrepressão, a expressão gênica é regulada negativamente. O PXR não se liga aos elementos responsivos dos genes alvo, oposto do que ocorre na transativação (LIU, 2014). O PXR pode reprimir de forma dependente de ligantes outros fatores de transcrição, como exemplo, o fator nuclear kappa B (NF- κ B) (LEFEBVRE *et al.*, 2005), que regula a resposta imune e inflamatória (ZHOU *et al.*, 2006). A repressão do NF- κ B através da ativação do PXR pode diminuir a inflamação (ANDERSEN *et al.*, 2011). Estudo realizado por Zhou e colaboradores (2006), sugere que a ativação do NF- κ B antagoniza o PXR, enquanto a inibição do NF- κ B aumenta a ativação do PXR.

Já na ausência de ligantes, ocorre a repressão do PXR. Os corressores, como o mediador silenciador de receptores de retinoides e hormônios tireoidianos (SMRT), corressor de receptores nucleares (NcoR) (DI MASI *et al.*, 2009) e pequeno parceiro heterodímero (SHP) reprimem a transcrição gênica, pois recrutam histonas desacetilases (HDACs), que fortalecem a associação de histonas ao DNA (NAVARATNARAJAH *et al.*, 2012; PAVEK, 2016).

2.4.3 PXR no metabolismo de endobióticos

O PXR está envolvido em diversos processos fisiológicos, além do metabolismo de drogas (BANERJEE; ROBBINS; CHEN, 2015). Estudos apontam funções cruciais do PXR no metabolismo de glicose e lipídeos, na homeostase mineral óssea e desintoxicação do ácido biliar (IHUNNAH; JIANG; XIE, 2011; CHAI; ZENG; XIE, 2013).

Em relação ao metabolismo de glicose, um estudo de Gotoh e colaboradores demonstrou que o PXR aumentou a gliconeogênese hepática de camundongos em jejum. Foi sugerido que o referido receptor em resposta à baixa concentração glicose induziu fosfoenolpiruvato carboxiquinase 1 (Pepck1) e glicose 6 fosfatase (G6Pase), genes de enzimas que participam da gliconeogênese (GOTOH; MOORE; NEGISHI, 2015). Porém, o estudo de Kodama e colaboradores mostrou um efeito oposto. Foi observado que o PXR ativado pela rifampicina regulou negativamente a expressão da G6Pase e Pepck1 em células de hepatocarcinoma humano Huh7 (KODAMA *et al.*, 2007).

Referente ao metabolismo lipídico, Zhou e colaboradores (2006) sugerem que houve um aumento de triglicerídeos no tecido hepático de camundongos transgênicos (Alb-VP-hPXR) que expressam o hPXR ativado no fígado. Este acúmulo foi relacionado ao aumento da expressão de enzimas esteroil-CoA dessaturase-1 (SCD-1), elongase de ácido graxo livre de cadeia longa (FAE) e do transportador de ácido graxo livre CD36.

Já foi descrito que o PXR participa na homeostase mineral óssea. A vitamina K2, nutriente essencial na participação da coagulação sanguínea, também está envolvida na formação óssea. A suplementação de vitamina K2 é eficaz no tratamento da osteoporose e aumenta a densidade óssea *in vivo* (TABB *et al.*, 2003; ICHIKAWA *et al.*, 2006). Em um estudo realizado por Tabb e colaboradores (2003), as linhagens celulares de osteosarcoma HOS, MG-63 e Saos-2 expressaram o PXR. Neste mesmo estudo, foi observado que a vitamina K2 foi agonista de PXR em dose-dependente (1 μ M e 10 μ M) e induziu a expressão da CYP3A4. A vitamina K2 também regulou positivamente genes marcadores de osteoblastos fosfatase alcalina (ALP), osteopontina (OPN), proteína Gla da matriz (MGP) e osteoprotegerina (OPG). Com isso, a formação óssea pela ativação do PXR pela vitamina K2 pode ser aumentada (ICHIKAWA *et al.*, 2006).

O PXR também possui função na detoxificação do ácido biliar. Staudinger e colaboradores propõe que o ácido litocólico (AL), ácido biliar secundário hidrofóbico tóxico, ativa do PXR e resulta em indução da expressão do transportador 2 de ânions orgânicos independente de sódio (Oatp2) e repressão do colesterol 7 α -hidroxilase (Cyp7a1), ambos são genes que participam do metabolismo, transporte e biossíntese de ácidos biliares (STAUDINGER *et al.*, 2001).

2.4.4 PXR no metabolismo de xenobióticos

O PXR participa da regulação das enzimas metabolizadoras das quatro fases: fase 0, influxo de drogas para as células; fase I, oxidação enzimática; fase II, conjugação e fase III, responsável pelo efluxo de metabólitos para eliminação (PRAKASH *et al.*, 2015; KOTIYA *et al.*, 2016).

2.4.4.1 Fase 0

Na fase 0, um xenobiótico entra na célula (SCHULTHESS, 2016).

2.4.4.2 Fase I

As CYP450 são as principais enzimas da fase I (MITTAL *et al.*, 2015). As CYPs são uma superfamília de enzimas monooxigenases (GIRVAN; MUNRO, 2016) que atuam no metabolismo de xenobióticos através da catalisação de reações oxidativas de uma diversidade de substratos, como compostos nutricionais e drogas (BASHEER; KEREM, 2015). São expressas predominantemente no fígado e no intestino (BARNABA *et al.*, 2017) e no meio intracelular estão localizadas nas mitocôndrias e no retículo endoplasmático liso (MITTAL *et al.*, 2015).

Através de uma ligação tiolato de cisteína altamente conservada, a CYP450 contém um centro de ferro heme ativo ligado a uma proteína (MITTAL *et al.*, 2015). O oxigênio molecular (O₂) ou monóxido de carbono (CO) se liga ao ferro heme e forma um complexo que produz um comprimento de onda máximo de ~ 450 nm, por isso, o nome CYP450 (GUENGERICH *et al.*, 2009; VAN BOGAERT *et al.*, 2011).

A CYP450 possui 57 genes e 59 pseudogenes, com 18 famílias e 43 subfamílias (BAYNES; DOMINICZAK, 2018). Cerca de 12 enzimas das famílias CYP 1, 2 e 3 participam da biotransformação de aproximadamente 70-80% de drogas em uso clínico, das 57 CYPs funcionais (ZANGER; SCHWAB, 2013). A ativação do PXR muitas vezes leva a transcrição de vários genes CYP como CYP1A (MAGLICH *et al.*, 2002), CYP2B6 (GOODWIN *et al.*, 2001; DE MONTELLANO, 2015), CYP2B9, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 (DE MONTELLANO, 2015) e, principalmente, CYP3A4 (IHUNNAH; JIANG; XIE, 2011), que metaboliza aproximadamente 50% de todos os fármacos utilizados na clínica (SMUTNY; DUINTJER TEBBENS; PAVEK, 2015).

Os substratos de CYP3A4 são medicamentos tais como estatinas, antibióticos, bloqueadores de canais de cálcio, imunossupressores, medicamentos contra o câncer e antivirais do vírus da imunodeficiência humana (HIV), que são utilizados na farmacoterapêutica de diversas doenças (SMUTNY; DUINTJER TEBBENS; PAVEK, 2015).

2.4.4.3 Fase II

As enzimas da fase II transformam os metabólitos da fase I ou os próprios fármacos em moléculas mais polares para serem eliminadas através da conjugação (WANG; LECLUYSE, 2003). As enzimas metabolizadoras de fármacos reguladas pelo PXR são UDP-glucuroniltransferase (UGT), sulfotransferase (SULT) e glutathione S-transferase (GST) (IHUNNAH; JIANG; XIE, 2011).

2.4.4.3.1 *UDP-Glucuronosiltransferases*

As enzimas UDP-glucuronosiltransferases (UGTs) realizam o processo de glucuronidação, o que deixa as moléculas mais fáceis para serem eliminadas através da bile e urina. O ácido uridina 5'-difosfo- α -D-glucurônico (UDPGA) forma uma ligação química com um átomo de C, O, N ou S, através de uma reação catalisada pelas UGTs (JANCOVA; ANZENBACHER; ANZENBACHEROVA, 2010).

De acordo com Zhuo e colaboradores (2014), a rifampicina aumentou a expressão da UGT1A1 pela ativação do PXR em linhagem celular de carcinoma ovariano (SKOV-3). Em outro estudo, foi demonstrado que o PXR também regula positivamente outras isoformas da

UGT (UGT1A, UGT1A3 e UGT1A4) em células HepG2 e células Caco-2. Nesse mesmo estudo, a isoforma UGT2B não foi regulada pelo PXR (GARDNER-STEPHEN *et al.*, 2004). Além da rifampicina, outros agonistas do PXR que regulam a UGT são relatados: fenitoína, fenobarbital e carbamazepina. A regulação da UGT1A6 pelo PXR é descrita, apesar de ser em menor frequência (HACKER; MESSER; BACHMANN, 2009).

2.4.4.3.2 *Sulfotransferases*

As enzimas sulfotransferases (SULTs) catalisam uma reação denominada sulfonação (sulfatação) de compostos endógenos e exógenos (ALNOUTI; KLAASSEN, 2008; NASSAR, 2009). Conjugados sulfamato ou sulfato são formados quando há transferência de um grupo sulfonil de um doador sulfato de 3'-fosfoadossorina 5'-fosfossulfato para grupos amino ou hidroxila de moléculas aceptoras, sendo catalizados pelas SULTs (NASSAR, 2009). Assim, na maioria dos casos, diminui a atividade biológica de um composto por aumentar a solubilidade em água tornando mais fácil sua excreção via bile ou rins (GAMAGE *et al.*, 2006).

As SULTs são divididas em cinco famílias (1, 2, 3, 4 e 5) com similaridade de 40% nas sequências de aminoácidos e com sequência de DNA parecida (ALNOUTI; KLAASSEN, 2008). O PXR ativado pela dexametasona induziu a SULT1E1 em camundongos machos. O ativador pregnenolona-16 α -carbonitrilo (PCN), ligante do PXR induziu a expressão de RNA mensageiro (RNAm) de SULT2A1, 2A2 e 4A1 em camundongos fêmeas (ALNOUTI; KLAASSEN, 2008). A dexametasona também induziu a SULT2A em cultura primária de hepatócitos humanos (DUANMU *et al.*, 2002). Já a rifampicina reprimiu o gene SULT1E1 em hepatócitos primários humanos via PXR. A sugestão do mecanismo de repressão é através da interrupção de uma estrutura de cromatina ativa, quando o PXR é ativado por rifampicina, ele interage com o fator nuclear de hepatócito 4a (HNF4a) (KODAMA *et al.*, 2011).

2.4.4.3.3 *Glutathione S-transferases*

As Glutathione S-transferases (GSTs) formam conjugados de glutathione mais hidrofílicos e menos reativos, pois catalisam a conjugação de glutathione reduzida (GSH) com compostos apolares que possuem um átomo de nitrogênio, carbono ou enxofre eletrofílicos (HUBER; ALMEIDA; FÁTIMA, 2008; KNIGHT; CHOUDHURI; KLAASSEN, 2008;

HIGGINS; HAYES, 2011). As GSTs protegem macromoléculas, células e organelas do estresse oxidativo e químico (IHUNNAH; JIANG; XIE, 2011).

Em estudos de Wang e colaboradores (2013), foi observado que houve transcrição de Glutathione S-Transferase Microsomal 1 (MGST1) e Glutathione S-Transferase Microsomal 2 (MGST2) via PXR no ensaio de transcrição reversa seguido de reação em cadeia da polimerase (RT-qPCR). O estudo de Knight e colaboradores (2008) mostrou que a PCN e a espirolactona (SPR) aumentaram significativamente a expressão de classe alfa GSTA1/2 via ativação de PXR.

2.4.4.4 Fase III

Esta fase envolve os membros da família de proteínas dos cassetes de ligação de ATP (ABC). São proteínas transmembranares que possuem dois domínios de ligação no citoplasma e bombeiam drogas para o meio extracelular usando energia da hidrólise de ATP (MASEREEUW; RUSSEL, 2012; PRAKASH, 2015).

O gene *cassete de ligação de ATP 1, subfamília A, membro 1* (ABCB1), também conhecido como proteína 1 de resistência a múltiplas drogas (MDR1), codifica a proteína de permeabilidade ou P-gp (BLOKZIJL *et al.*, 2007; CALLAGHAN *et al.*, 2014) que é regulada também pelo PXR (HARMSSEN *et al.*, 2010). Este gene está relacionado à resistência a múltiplos fármacos na quimioterapia pela sua função de efluxo de drogas (KOTA *et al.*, 2010). A ativação do PXR e indução dos genes do metabolismo de fármacos pode diminuir a eficácia de drogas anticancerígenas, e isso pode ocorrer devido a alguns tratamentos serem realizados em curto intervalo de tempo e em baixas doses e também por alguns tumores terem baixa vascularização (CHEN *et al.*, 2009). Alguns tumores também expressam o PXR, e com isso, aumenta a metabolização do fármaco administrado e ocasiona em resistência. Um exemplo é o tamoxifeno, um modulador seletivo do receptor de estrogênio utilizado como antineoplásico, ele induz a expressão do MDR através do PXR em células de câncer de mama MCF-7 (NAGAOKA *et al.*, 2006).

A P-gp foi induzida em linhagem celular de adenocarcinoma do cólon do intestino humano (LS180) pela ativação do PXR com diversas drogas: ciclofosfamida, docetaxel, ifosfamida, paclitaxel, flutamida, vimblastina, vincristina e tamoxifeno (HARMSSEN *et al.*,

2010). Outro membro da família ABC que também é induzido pela ativação do PXR é a proteína 2 associada à resistência a múltiplas drogas (MRP2/ABCC2). A rifampicina e a hiperforina foram capazes de induzir o RNAm da MRP2 em hepatócitos primários humanos (KAST *et al.*, 2002). A vincristina induz a expressão de ABCC2 e ABCC3 em células de carcinoma através da ligação ao hPXR (CHEN *et al.*, 2009).

2.4.5 Ligantes sintéticos e naturais do PXR

2.4.5.1 Agonistas

O PXR é considerado um RN promíscuo, pois apresenta uma variedade de compostos ativadores estruturalmente diversos (WATKINS; NOBLE; REDINBO, 2002; YU *et al.*, 2011). O medicamento clássico ativador do PXR humano é a rifampicina, um antibiótico utilizado para tratar tuberculose (LI; CHIANG, 2005). Outros medicamentos como clotrimazol (LEHMANN *et al.*, 1998), dexametasona (PASCUSI *et al.*, 2000), fenobarbital (WAGNER *et al.*, 2005), paclitaxel (SCHWAB, 2008) e ritonavir (LUO *et al.*, 2002) são ativadores do PXR (Tabela 2).

Uma das primeiras descobertas de interação entre extrato de plantas medicinais e PXR foi com a *Hypericum perforatum*, conhecida como erva de São João ou Hipérico, utilizada como antidepressivo. Ela ativa o PXR e induz a expressão da CYP3A4 em hepatócitos humanos (MOORE *et al.*, 2000), CYP2D6 e MDR1 (KLEMOW *et al.*, 2011). Outros compostos naturais que ativam a transcrição do PXR incluem kava kava (*Piper methysticum*) (STAUDINGER; DING; LICHTI, 2006), ginkgo (*Ginkgo biloba*) (YEUNG *et al.*, 2008), wu wei zi (*Schisandra chinensis*) (MU *et al.*, 2006) e purpúrea (*Echinacea purpúrea*) (AWORTWE *et al.*, 2015).

Compostos isolados de plantas que ativam o PXR são descritos, exemplos são a nigramida C, extraída da raiz de *Piper nigrum* L. (KANNO *et al.*, 2014), o alisol B 23-acetato, extraído do rizoma de *Alisma rhizome* (KANNO *et al.*, 2017) e a indirubina extraída de raízes secas de Ban-Lan-Gen (*Polygonum tinctorium*, *Isatis indigotica*, *Isatis tinctoria* e *Strobilanthes cusia*) (KUMAGAI *et al.*, 2016).

Mesmo com uma gama de ativadores, novos compostos agonistas de PXR continuam sendo descobertos. Os esteroides marinhos, incisterois, são agonistas potentes do PXR, aumentam a expressão do MDR1 e CYP7A4 via PXR e possuem potencial de aplicação em doenças humanas associadas a desregulação do sistema imune (CHIANESE *et al.*, 2014).

Em estudos de Zhang e colaboradores (2015), foi demonstrado que os ginsenosídeos, compostos ligantes do PXR extraídos do Ginseng (*Panax ginseng*), tiveram função anti-inflamatórias sobre atividade do NF-kB. Eles diminuíram a translocação da subunidade do NF-KB, p65, através da associação física entre o PXR e NF-kB.

Tabela 2. Ligantes agonistas e suas recomendações de uso ou ação.

Agonista sintético/semissintético	Indicação de uso/ ação	Referência
Ácido micofenólico	Imunossupressor	(RATAJEWSKI <i>et al.</i> , 2015)
Carbamazepina	Antiepiléptico	(GREWAL <i>et al.</i> , 2017)
Clotrimazol	Antimicótico	(LEHMANN <i>et al.</i> , 1998)
Dexametasona	Anti-inflamatório e imunossupressor	(PASCUSI <i>et al.</i> , 2000; SCHEER <i>et al.</i> , 2010)
Efavirenz	Antirretroviral	(NARAYANAN <i>et al.</i> , 2018)
Glimepirida	Antidiabético	(BECIC; KAPIC; BECIC, 2003; SINZ <i>et al.</i> , 2006)
Isradipina	Anti-hipertensivo, neuroprotetivo (estudo pré-clínicos)	(DROCOURT <i>et al.</i> , 2001; BIGLAN <i>et al.</i> , 2017)
Lovastatina	Anti-hipercolesterolemia	(LEHMANN <i>et al.</i> , 1998)
Metolazona	Diurético	(BANERJEE; CHEN, 2014)
Rifampicina	Antibiótico	(LI; CHIANG, 2005)
Sr 12813	Hipocolesterolêmico	(BERKHOUT <i>et al.</i> , 1996; SHUKLA <i>et al.</i> , 2011)
Topiramato	Anticonvulsivo	(NALLANI <i>et al.</i> , 2003)
Trifluridina	Antiviral e antineoplásica	(RATAJEWSKI <i>et al.</i> , 2015)
Agonista natural		
Erva de são joão (<i>Hypericum perforatum</i>)	Antidepressivo	(MOORE <i>et al.</i> , 2000)
Forscolina (<i>Coleus forskohlii</i>)	Hipotireoidismo, doença cardíaca e distúrbios respiratórios	(DING; STAUDINGER, 2005)
Ginkgo (<i>Ginkgo biloba</i>)	Deficiência da memória	(YEUNG <i>et al.</i> , 2008; LAU <i>et al.</i> , 2010)
Kava kava (<i>Piper methysticum</i>)	Ansiedade	(STAUDINGER; DING; LICHTI, 2006; SARRIS <i>et al.</i> , 2013)
Makandi (<i>Echinacea purpurea</i>)	Infecções respiratórias, gripe e resfriado	(AWORTWE <i>et al.</i> , 2015)
Wu Wei Zi (<i>Schisandra chinensis</i>)	Tratamento de dispneia, tosse, diaforese, amnésia e insônia	(MU <i>et al.</i> , 2006; WANG <i>et al.</i> , 2017)
Composto natural isolado		
Colupulona (<i>Humulus lupulus</i>)	Atividade antibacteriana	(SIMPSON; SMITH, 1992; TEOTICO <i>et al.</i> , 2008)
Nigramida C (<i>Piper nigrum</i>)	-	(KANNO <i>et al.</i> , 2014)
Piperina (espécies piper)	Antioxidante, melhora função cognição	(CHONPATHOMPIKUNLERT; WATTANATHORN; MUCHIMAPURA, 2010)

2.4.5.2 Antagonistas

Na literatura, há poucos antagonistas de PXR relatados e os seus mecanismos de ação ainda não estão totalmente esclarecidos (SMUTNY; PAVEK, 2014). Os antagonistas podem impedir a ligação de um agonista ao PXR ou deslocar um agonista do seu LBD e ocupar o bolso de ligação do receptor. Eles podem interagir diretamente ou alostéricamente com o PXR, ou seja, tanto no LBD, quanto em outras regiões do referido RN, como na região AF-2, e com isso fortalecer as ligações com correpressores por bloquear a ligação dos coativadores ou do RXR (CHAI *et al.*, 2016).

O primeiro antagonista do PXR descrito foi um composto natural proveniente do tunicato marinho *Ecteinascidia turbinata*, o antineoplásico ecteinascidina 743 (ET-743) (SYNOLD; DUSSAULT; FORMAN, 2001; CHAI *et al.*, 2016). Ele suprime a transcrição do ABCB1 (SYNOLD; DUSSAULT; FORMAN, 2001), porém seu mecanismo não está claro e não se sabe se ele antagoniza de forma direta o PXR (CHAI *et al.*, 2016). Outros antagonistas descobertos no decorrer dos anos foram o cetoconazol (HUANG *et al.*, 2007) e a metformina (KRAUSOVA *et al.*, 2011). Huang e colaboradores (2007) propõem que o cetoconazol impede a interação do coativador SRC-1 ao hPXR. Dois possíveis mecanismos são sugeridos, apesar de não estarem totalmente elucidados: no primeiro, após um agonista se ligar ao hPXR, o cetoconazol interage de forma alostérica com o receptor e modifica sua estrutura, impedindo a ligação do coativador SRC-1. No segundo, um agonista se liga ao hPXR, o cetoconazol se liga ao sítio do coativador e inibe de forma direta a ligação do SRC-1. O possível local de interação do cetoconazol a região AF-2 do hPXR (EKINS *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2007). Apesar disso, o cetoconazol, em doses terapêuticas, não foi capaz de antagonizar o PXR ativado pela erva de São João em humanos (FUCHS *et al.*, 2013). Em relação à metformina, um estudo de Krausova e colaboradores (2011) sugere que este medicamento interrompe a interação do coativador SRC-1 com o PXR na presença de rifampicina, com isso, suprime a expressão da CYP3A4.

Produtos naturais antagonistas de PXR também são descritos na literatura. O sulforafano é um composto encontrado em vegetais do gênero *Brassica*, principalmente brócolis (POULTON *et al.*, 2013; CHAI *et al.*, 2016). Ensaios sugerem que o sulforafano interage com o LBD e a região AF-2 do PXR (ZHOU *et al.*, 2007; EKINS *et al.*, 2008).

Porém, em humanos, este efeito não foi observado (POULTON *et al.*, 2013). Outra planta descrita é a *Solanum paniculatum* L. (jurubeba). Sua infusão diminuiu a expressão gênica da CYP3A4 via ação antagonista do hPXR (MAZZARI *et al.*, 2016). Já flavolignan silibina e isosilibina, compostos do Cardo-mariano (*Silybum marianum* L. Gaertn.) são antagonistas do PXR (MOOIMAN *et al.*, 2013). Mooiman e colaboradores (2013) sugerem que estes compostos se ligam a região AF-2 do PXR, especificamente no aminoácido Felinalanina 429A, porém mais estudos são necessários para comprovar este mecanismo (Tabela 3).

Tabela 3. Ligantes antagonistas e suas recomendações de uso ou ação.

Antagonista sintético/semissintético	Indicação de uso/ ação	Referência
A-792611	Antirretroviral (inibidor da protease do HIV)	(HEALAN-GREENBERG <i>et al.</i> , 2008)
Camptotecina	Anticancerígeno	(CHEN <i>et al.</i> , 2010)
Cetoconazol	Antifúngico	(FUCHS <i>et al.</i> , 2013)
Enilconazol	Antifúngico	(WANG <i>et al.</i> , 2007)
Fluconazol	Antifúngico	(WANG <i>et al.</i> , 2007)
Metformina	Anti-hiperglicêmico	(KRAUSOVA <i>et al.</i> , 2011)
Pazopanibe	Antiangiogênico	(CASTANEDA; GOMEZ, 2009; BURK <i>et al.</i> , 2018)
Pimecrolimo	Antiangiogênico	(MCCORMACK, 2014; BURK <i>et al.</i> , 2018)
Antagonista Natural		
Cardo mariano (<i>Silybum marianum</i>)	Hepatoprotetor	(MOOIMAN <i>et al.</i> , 2013; BAHMANI <i>et al.</i> , 2015)
Jurubeba (<i>Solanum paniculatum</i>)	Antidiarreico e espasmolítico	(CLEMENTINO-NETO <i>et al.</i> , 2016; MAZZARI <i>et al.</i> , 2016)
Composto isolado natural ou derivado		
Coumestrol	Osteoprotetor	(WANG <i>et al.</i> , 2008; ZHAI <i>et al.</i> , 2018)
Resveratrol (vinho tinto e uva vermelha)	Antioxidante e anti-inflamatório	(SMUTNY; PAVEK, 2014; SZKUDELSKI; SZKUDELSKA, 2015)
Sesamina (<i>Sesamum indicum</i>)	Reduz níveis de colesterol sérico e hepático	(HIROSE <i>et al.</i> , 1991; LIM <i>et al.</i> , 2012)
Sulforafano (gênero <i>Brassica</i>)	Anticancerígeno	(POULTON <i>et al.</i> , 2013; CHAI <i>et al.</i> , 2016)
Isotiocianato de alilo (AITC) (<i>Brassica</i> sp.)	Bactericida	(SHIN; MASUDA; NAOHIDE, 2004; LIM, Y. P. <i>et al.</i> , 2015)
Ecteinascidin-743 (ET-743)	Antineoplásico	(SYNOLD; DUSSAULT; FORMAN, 2001)
Outros		
SPB00574	-	(EKINS <i>et al.</i> , 2008)
SPB03255	-	(EKINS <i>et al.</i> , 2008)

Existem diversas plantas medicinais com poucos estudos que estão sendo utilizadas de forma indiscriminada. Isso acontece porque a maioria da população brasileira não possui conscientização de que produtos à base de plantas podem causar malefícios. Além do mais, muitas vezes, quando são utilizados com outros medicamentos, existe a possibilidade de ocasionar interações medicamentosas, por seus compostos ativos poderem alterar a atividade transcricional do PXR, regulador de diversas enzimas do metabolismo de xenobiótico, dentre elas, a CYP3A4.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo estudar três plantas constantes na RENISUS, a *Costus spicatus* (Jacq.) Sw, *Solidago microglossa* DC. e *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb., observando se os referidos extratos das plantas induziram agonismo ou antagonismo no PXR.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar se os extratos aquosos das folhas de *Costus spicatus* (Jacq.) Sw, *Solidago microglossa* DC. e *Tabebuia avellanadae* Lorentz ex Griseb. alteram a atividade transcricional do hPXR em ensaios *in vitro* realizados com células de mamífero.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar as concentrações não tóxicas dos extratos aquosos em células HeLa;
- Avaliar se há atividade agonista, com as concentrações estabelecidas pelo ensaio de viabilidade celular, dos extratos aquosos sobre o hPXR;
- Analisar se há atividade antagonista dos extratos aquosos que não demonstraram ação agonista sobre o hPXR

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Farmacologia Molecular da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília entre 2016 e 2018.

4.1 EXTRATOS AQUOSOS

As drogas vegetais das folhas de *Costus spicatus* (Jacq.) Sw, *Solidago microglossa* DC. e *Tabebuia avellanedae* Lorentz Griseb foram fornecidas pela distribuidora Florien (Piracicaba, São Paulo, Brasil). Os extratos aquosos foram produzidos a partir das folhas e cedidos pela Profa. Dra. Dâmaris Silveira, do Laboratório de Controle de Qualidade e Produtos Naturais da Universidade de Brasília.

Os extratos foram obtidos por infusão com 100 g de droga vegetal das folhas em 1000 mL de água destilada de 70°C a 40°C em um recipiente tampado, posteriormente filtrados, congelados, liofilizados e armazenados a -20°C (BARROS *et al.*, 2017).

4.2 CULTURA DE CÉLULAS

Células HeLa provenientes de adenocarcinoma cervical humano (LUCEY; NELSON-REES; HUTCHINS, 2009) foram cultivadas em placas para cultura de células de 150 cm² em meio de cultura *Dulbecco's Modified Eagle's Medium high-glucose* (DMEM - Sigma Aldrich®), pH 7,0, suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB - Gibco), 3,7 g/L de bicarbonato de sódio (Sigma Aldrich®), 100 UI/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina (Sigma Aldrich®) e mantidas em incubadoras a 37°C com 5% de CO₂.

4.3 ENSAIO DE VIABILIDADE CELULAR

Para investigar a citotoxicidade dos extratos nas células HeLa, foi utilizado o método colorimétrico com o reagente MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) (Sigma Aldrich®). As células absorvem o MTT por meio de endocitose (LIU; SCHUBERT, 1997). O MTT é um sal de tetrazólio com coloração amarelada e hidrossolúvel

(LU *et al.*, 2012). Em células vivas, esse sal é reduzido no citoplasma por enzimas mitocondriais e compartimento endossomal/lisossomal em cristais de formazan, precipitado insolúvel em água que possui coloração roxa (MOSMANN, 1983; BERRIDGE; HERST; TAN, 2005; STEPANENKO; DMITRENKO, 2015). No meio intracelular são armazenados grânulos roxos de formazan e, em seguida, são excitados como cristais em formato de agulha (MOLINARI *et al.*, 2005). Esta reação ocorre apenas em células vivas, então, o número de células viáveis é proporcional à quantidade de cristais formados. Os cristais de formazan são dissolvidos em solventes orgânicos como dimetilsulfóxido (DMSO), isopropanol ácido ou óleo mineral (TWENTYMAN; LUSCOMBE, 1987) e podem ser medidos por espectrofotometria (leitor de ELISA) após solubilização (LU *et al.*, 2012; LIM, S. W. *et al.*, 2015) em comprimento de onda de 570 nm (LU *et al.*, 2012).

Com isso, células HeLa (15.000) foram semeadas por poço em placas de 96 poços e incubadas a 37°C e 5% CO₂ por 24 horas. No dia seguinte, foi realizado o tratamento com concentrações crescentes de cada um dos extratos estudados. A concentração máxima de cada extrato foi determinada baseada na solubilidade dos mesmos em meio de cultura DMEM completo. Depois de 24 horas, foram adicionados 10 µL de solução de MTT (5 mg/mL em solução salina de fosfato (PBS)) em cada poço, seguido por incubação a 37°C e 5% CO₂ por 2 horas. Para a dissolução dos cristais de formazan, o meio de cultura foi removido da placa e 100 µL de solução reveladora de MTT (HCl 0,04 M em isopropanol absoluto) foi adicionada por poço. As placas foram colocadas sob agitação em shaker orbital (Certomat[®] Mo), a temperatura ambiente e protegidas da luz por 45 minutos. Posteriormente, a absorbância foi mensurada a 570 nm em espectrofotômetro (BECKMAN COULTER-DTX800 - Multimode Detector).

Os resultados estão demonstrados em percentagem e se referem à razão entre as células tratadas com extrato diluído em meio de cultura em relação as células tratadas somente com o meio de cultura (controle negativo), considerado como 100%. Para cada extrato foram realizados, no mínimo, dois experimentos independentes em replicata de 8. A partir desse resultado, as concentrações que resultaram em no mínimo 70% de viabilidade celular foram consideradas não citotóxicas (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2009) e escolhidas para serem usadas nos ensaios de transfeção transiente e gene repórter.

4.4 TRANSFORMAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE PLASMÍDEO

Antes de realizar a transfecção transiente, os plasmídeos de interesse foram transformados em bactérias competentes e posteriormente amplificados, extraídos e purificados. Os plasmídeos utilizados foram pM-GAL4-PXR-LBD, GAL4-LUC, CMV-LUC, GAL4-TR β e PG5-LUC. O pM-GAL4-PXR-LBD é um plasmídeo quimérico contendo o DBD do fator de transcrição de levedura GAL4 fusionado ao LBD do PXR humano (hPXR) e o GAL4-LUC é o elemento responsivo do GAL4 fusionado ao gene repórter da luciferase. O CMV-LUC é o plasmídeo de expressão constitutiva que possui o promotor do citomegalovírus (CMV) fusionado ao gene repórter da luciferase. O GAL4-TR β é um plasmídeo quimérico que possui o DBD do GAL4 e o LBD do receptor do hormônio tireoidiano humano β (hTR β) e seu elemento responsivo é o PG5-LUC, que contém cinco domínios de ligação ao DNA de GAL4 fusionado ao gene repórter da luciferase (HOAT *et al.*, 2009).

A transformação consiste na inserção de um DNA plasmidial de interesse em bactérias (FROGER; HALL, 2007) e essas bactérias capazes de receber esse DNA são denominadas células competentes. Neste trabalho, os plasmídeos foram transformados em bactérias competentes *Escherichia coli* (DH5 α) tratadas previamente com cloreto de cálcio (CaCl₂) e, posteriormente, inseridos pelo método de choque térmico. O CaCl₂ facilita a inserção do DNA do meio extracelular para o citoplasma, apesar do mecanismo ainda não estar totalmente esclarecido (PANJA *et al.*, 2006; RAHIMZADEH *et al.*, 2016).

As células competentes foram retiradas do freezer -80°C e 50 μ L foram transferidas para um tubo contendo aproximadamente 600 ng de DNA plasmidial e incubadas por 30 minutos no gelo. Logo depois, a cultura celular foi colocada em banho-maria por 1 minuto e 30 segundos a 42°C. Retornou para o gelo por 2 minutos, foram adicionados 500 μ L de meio Lúria Bertani (LB) sem antibiótico e foram incubadas a 37°C por 1 hora. Após esse período, 50 μ L de LB com bactérias foram semeados em placas contendo meio LB com ágar e ampicilina (antibiótico ao qual os plasmídeos utilizados conferem resistência). Em seguida, foram incubadas por aproximadamente 16 horas à 37°C.

A amplificação foi feita a partir da inoculação de 1 colônia em um tubo de ensaio contendo 5 mL de meio de cultura LB com ampicilina (60 µg/mL), posteriormente, transferido para 300 mL de meio LB com 60 µg/mL de ampicilina. Ambas as etapas foram realizadas *overnight* sob agitação a 300 rpm e 37°C (Shaker INNOVA® 44 – New Brunswick™).

O material foi centrifugado a 4000 rpm por 10 minutos, o *pellet* foi coletado e a extração e a purificação dos mesmos foram realizadas por lise alcalina baseando-se no protocolo da QIAGEN® Plasmid Maxi Kit. Após a purificação, as concentrações dos plasmídeos foram mensuradas em espectrofotômetro Nanovue (Nanovue GE Healthcare).

4.5 ENSAIO DE TRANSFEÇÃO TRANSIENTE E GENE REPÓRTER

Este ensaio foi realizado para investigar os efeitos dos extratos sobre a atividade transcricional do hPXR. A transfeção transiente é um método no qual são introduzidos ácidos nucleicos em células eucarióticas, chama-se transiente porque o DNA se perde com a divisão celular e é expresso por tempo limitado, visto que não é integrado ao genoma (KIM; EBERWINE, 2010; GUTIERREZ-GRANADOS *et al.*, 2018). Neste caso, foram cotransfectados os plasmídeos pM-GAL4-PXR-LBD e GAL4-LUC. O gene da luciferase fornece uma forma indireta de mensurar a expressão do gene de interesse após transfeção (YUN; DASGUPTA, 2014). As enzimas luciferase catalisam a oxidação das luciferinas, que se transformam em oxiluciferina e geram emissão de luz (THORNE; INGLESE; AULD, 2010) que é captada e mensurada em luminômetro. Da mesma forma, para confirmar que o efeito foi específico do receptor PXR, também foi realizado o mesmo experimento, sob as mesmas condições, com o receptor do hormônio tireoidiano humano do tipo β (hTRβ). O hTRβ possui uma pequena bolsa de ligação, sendo assim, ele é extremamente seletivo aos ligantes triiodotironina (T3) e tiroxina (T4) (SANDLER *et al.*, 2004).

No ensaio de agonismo, células HeLa foram plaqueadas (22.000 células por poço) em uma placa de 48 poços com DMEM suplementado com 10% de SFB e mantidas a 37°C e 5% CO₂ na incubadora. No dia seguinte, as células foram cotransfectadas utilizando o reagente Lipofectamina (0,5 µL por poço) (*Lipofectamine*® 2000-Invitrogen) com 60 ng de pM-GAL4-PXR-LBD e 240 ng de GAL4-LUC, totalizando 300 ng de DNA plasmidial por poço, de

acordo com as instruções do fabricante. Depois de 6 horas, o meio de cultura foi trocado e as células tratadas com veículo (DMSO), rifampicina (Rif) 1 μ M ou 10 μ M (controle positivo) ou concentrações crescentes dos extratos diluídos em meio DMEM por 20 horas. Após incubação, as células foram lisadas no vórtex com tampão de lise (100 mM tris pH 7,6 e 0,2% de Triton 100X q.s.p 100 mL H₂O(d)) por 2 minutos e a atividade da luciferase foi mensurada com o substrato luciferina (Promega), seguindo as recomendações do fabricante, em aparelho luminômetro (Glomax 20/20 Luminometer-Promega).

No ensaio de antagonismo, células HeLa foram plaqueadas e transfectadas da mesma forma que no ensaio de agonismo. Após 6 horas da transfecção, foi realizado o primeiro tratamento. O meio de cultura e a lipofectamina foram aspirados e adicionado somente meio de cultura contendo concentrações crescentes dos extratos que não apresentaram ação agonista em hPXR. Depois de 4 horas, foi realizado o segundo tratamento, acrescentando-se o veículo ou a rifampicina 1 μ M nos poços com meio de cultura e nos poços dos extratos. O primeiro tratamento foi realizado com os extratos, pois se os mesmos fossem antagonistas, se ligariam ao LBD do hPXR e bloqueariam a ligação do agonista (rifampicina) (RANG *et al.*, 2011). Se os extratos não fossem antagonistas, não se ligariam ao hPXR e não demonstrariam nenhum efeito. A rifampicina a 10 μ M ocasiona resposta máxima (ZHU *et al.*, 2007) e por ser potente (WANG J. *et al.*, 2014) poderia mover o antagonista do receptor (RANG *et al.*, 2011). Por isso, escolhemos utilizar a rifampicina a 1 μ M, pelo fato desta ser a concentração necessária para induzir 50% do efeito máximo (EC₅₀). A leitura foi realizada após 18 horas do segundo tratamento.

A atividade da luciferase induzida pelos extratos vegetais foi relatada em relação ao veículo (em ensaios de agonismo) ou em relação à rifampicina (em ensaios de antagonismo). Cada experimento foi realizado em triplicata e repetido pelo menos 2 vezes.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão. Para comparar as médias dos grupos, utilizou-se a análise de variância de um fator (ANOVA one-way) seguida pelo teste de Bonferroni utilizando o programa GraphPad Prism (*GraphPad Prism Software*, versão 5.01). Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

5 RESULTADOS

5.1 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR COM EXTRATOS AQUOSOS

O ensaio de viabilidade celular investigou quais concentrações dos extratos aquosos da *Costus spicatus*, *Solidago microglossa* e *Tabebuia avellanae* não foram tóxicas, para serem usadas nos ensaios de transfecção transiente e gene repórter. A concentração não tóxica foi considerada aquela na qual pelo menos 70% de células permaneceram viáveis (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2009).

O extrato de *Costus spicatus* não foi tóxico para as células mesmo com concentrações de até 3,0 mg/mL (Figura 7 A). As concentrações de até 1,12 mg/mL da *Solidago microglossa* e até 1,8 mg/mL da *Tabebuia avellanae* mantiveram as células viáveis em 91,84% e 83,46%, respectivamente (Figura 7 B e C).

Em seguida, os efeitos de concentrações crescentes até as concentrações máximas determinadas pelo ensaio de viabilidade celular usando uma curva dose-resposta foram investigadas no ensaio de transfecção transiente e gene repórter.

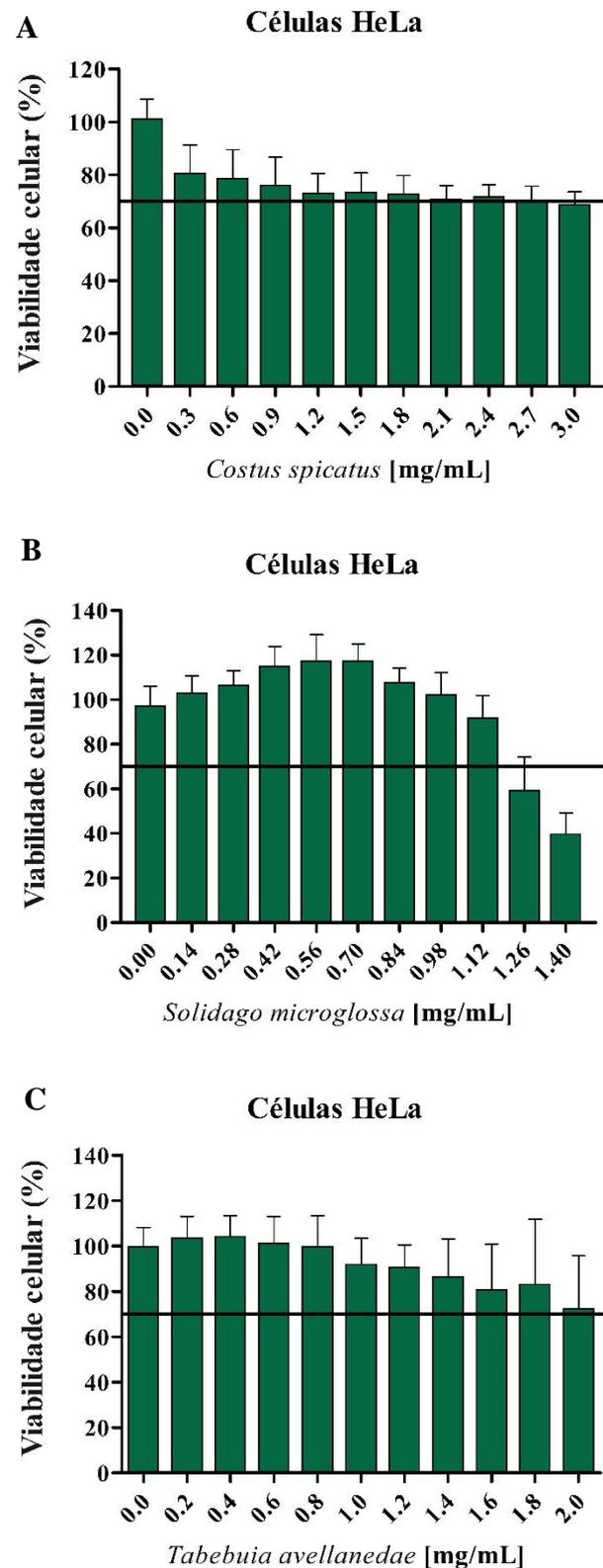


Figura 7. Ensaio de viabilidade celular. Células HeLa foram tratadas com concentrações crescentes dos extratos aquosos de (A) *Costus spicatus*, (B) *Solidago microglossa* ou (C) *Tabebuia avellanedae* por 24 horas e incubadas com MTT por 2 horas. Após completa solubilização dos cristais de formazan, a absorbância foi mensurada e a viabilidade das células tratadas com extrato foi comparada com o controle negativo, considerado como 100%. Resultados de, no mínimo, dois ensaios independentes de cada extrato realizados em replicatas de 8.

5.2 ESTUDO DO EFEITO DOS EXTRATOS AQUOSOS SOBRE A ATIVIDADE TRANSCRICIONAL DO hPXR POR TRANSFECCÃO TRANSIENTE E GENE REPÓRTER

5.2.1 O extrato aquoso de *Costus spicatus* não alterou a atividade transcricional do hPXR

O efeito do extrato aquoso de *Costus spicatus* na atividade transcricional do hPXR foi analisado. Células HeLa foram cotransfectadas com os plasmídeos pM-GAL4-PXR-LBD e o GAL4-LUC e tratadas com o veículo (DMSO) (controle negativo), agonista total de PXR rifampicina (controle positivo) ou concentrações crescentes do extrato da planta. Como pode ser observado na Figura 8, o extrato não modificou a atividade da luciferase em comparação ao veículo ($p>0,05$).

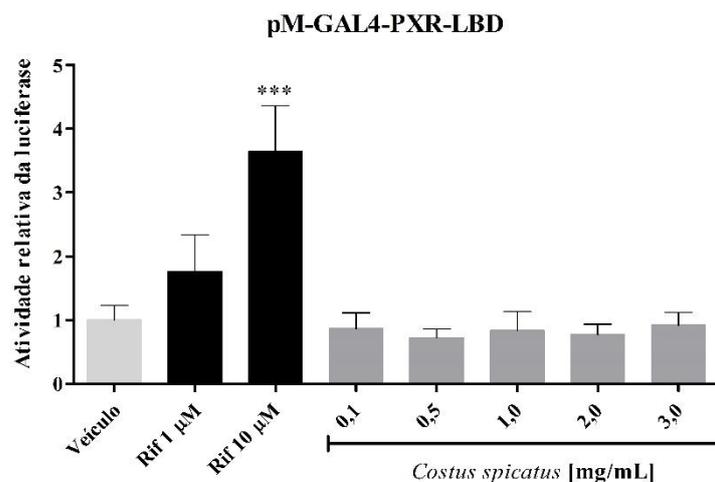


Figura 8. Extrato aquoso de *Costus spicatus* não ativou o hPXR. Células HeLa foram cotransfectadas com os plasmídeos pM-GAL4-PXR-LBD e o GAL4-LUC e tratadas com veículo DMSO (controle negativo), rifampicina (Rif) 1 µM ou 10 µM (controle positivo) ou concentrações de até 3,0 mg/mL do extrato de *Costus spicatus*. Após 20h de tratamento, as células foram lisadas e a atividade da luciferase foi mensurada em aparelho luminômetro e representada como vezes de ativação das células tratadas com rifampicina e diluições do extrato, comparadas com as células tratadas com veículo. Os dados foram expressos como média ± desvio padrão de, no mínimo, dois ensaios independentes realizados em triplicatas. O teste estatístico utilizado foi a análise de variância *one-way* (ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni. *** $p<0,001$ comparado ao veículo.

O ensaio de antagonismo foi efetuado, já que o extrato de *Costus spicatus* não aumentou a atividade transcricional do hPXR. Foram feitos dois tratamentos: o primeiro com o extrato, 6 horas após a transfecção, para que se ele fosse antagonista, priorizar sua ligação

ao receptor citado e o segundo depois de 4 horas com a rifampicina. Se o extrato apresentasse ação antagonista, impediria o agonista de ligar-se ao receptor. Caso contrário, não haveria ligação do extrato ao sítio de ligação e nenhum efeito do extrato seria observado. O tratamento com *Costus spicatus* nas concentrações de 0,1 a 3,0 mg/mL não alterou atividade da luciferase, sendo assim, este resultado sugere que ele não é antagonista do referido receptor ($p>0,05$) (Figura 9).

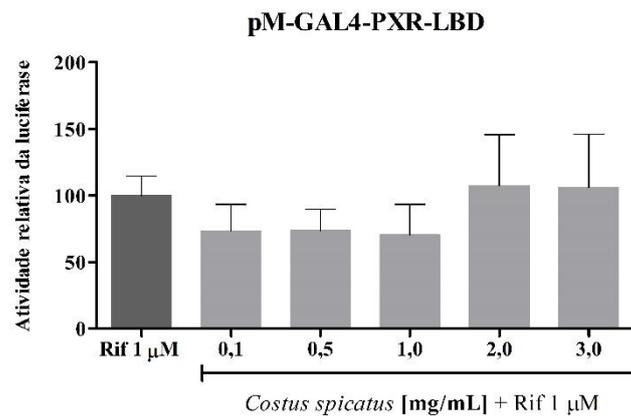


Figura 9. O extrato aquoso de *Costus spicatus* não é antagonista de hPXR. Células HeLa foram cotransfectadas com os plasmídeos pM-GAL4-PXR-LBD e GAL4-LUC e foram realizados dois tratamentos: O primeiro com 6 horas após transfecção com concentrações de até 3,0 mg/mL do extrato aquoso de *Costus spicatus* e o segundo, depois de 4 horas do tratamento com extrato, com rifampicina 1 μ M. Após 20h do segundo tratamento, as células foram lisadas e a atividade da luciferase foi mensurada em aparelho luminômetro e representada como porcentagem de ativação das células tratadas com rifampicina 1 μ M e extrato, comparadas com as células tratadas com rifampicina 1 μ M. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão de, no mínimo, três ensaios independentes em triplicata. O teste estatístico utilizado foi a análise de variância *one-way* (ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni.

O plasmídeo de expressão pM-GAL4-PXR-LBD utilizado no ensaio de agonismo e antagonismo possui o promotor CMV. Para verificar se ocorreu alguma interferência de repressão do promotor ou inibição da luciferase, foi realizada transfecção com o repórter CMV-LUC. O tratamento com o extrato não alterou a atividade transcricional nas concentrações de 0,1 a 3,0 mg/mL ($p>0,05$) (Figura 10).

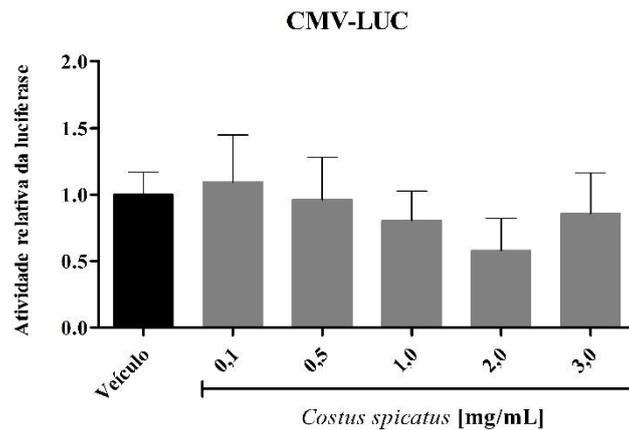


Figura 10. Extrato aquoso de *Costus spicatus* não apresentou efeito sobre o CMV-LUC. Células HeLa foram transfectadas com plasmídeo CMV-LUC e tratadas com veículo ou concentrações de até 3,0 mg/mL do extrato de *Costus spicatus*. Após 20h de tratamento, as células foram lisadas e a atividade da luciferase foi mensurada em aparelho luminômetro e representada como vezes de ativação das células tratadas com extrato, comparadas com as células tratadas com o veículo. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão de, no mínimo, dois ensaios independentes em triplicata. O teste estatístico utilizado foi a análise de variância *one-way* (ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni.

Ao analisar todos os resultados mostrados, o extrato aquoso de *Costus spicatus* não demonstrou ação agonista nem antagonista sobre o hPXR pelo ensaio de transfecção transiente e gene repórter em células HeLa.

5.2.2 O extrato aquoso de *Solidago microglossa* DC. demonstrou efeito agonista sobre hPXR

A concentração máxima não tóxica do extrato aquoso de *Solidago microglossa* no ensaio de viabilidade celular foi de 1,12 mg/mL. No entanto, na transfecção as concentrações entre 0,6 e 1,12 provocaram morte celular. Este efeito ocorreu possivelmente devido a uma combinação entre o reagente lipofectamina e o extrato, causando mais citotoxicidade. Dessa forma, a concentração máxima foi reajustada para 0,5 mg/mL.

O extrato aquoso de *Solidago microglossa* aumentou a atividade transcricional do hPXR nas concentrações 0,4 e 0,5 mg/mL cerca de 3,5 e 2,6 vezes, respectivamente, em relação ao veículo. Essas concentrações tiveram ativações parecidas com a do agonista rifampicina na concentração 10 μ M, que ativou em média 4 vezes o hPXR (Figura 11). À vista disso, o extrato apresentou presença de compostos capazes de provocar agonismo sobre o hPXR neste ensaio ($p < 0,001$).

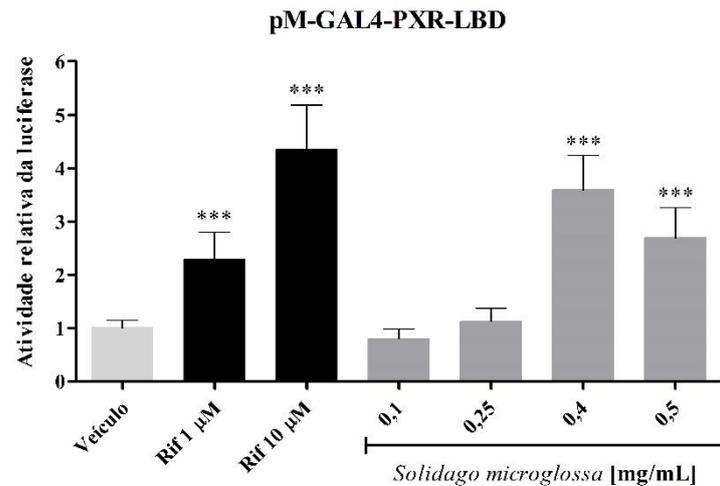


Figura 11. O extrato aquoso de *Solidago microglossa* é agonista de hPXR. Células HeLa foram cotransfectadas com os plasmídeos pM-GAL4-PXR-LBD e o GAL4-LUC e tratadas com veículo DMSO (controle negativo), rifampicina 1 µM ou 10 µM (controle positivo) ou concentrações de até 0,5 mg/mL do extrato de *Solidago microglossa*. Após 20h de tratamento, as células foram lisadas e a atividade da luciferase foi mensurada em aparelho luminômetro e representada como vezes de ativação das células tratadas com rifampicina e diluições do extrato, comparadas com as células tratadas com veículo. Os dados foram expressos como média ± desvio padrão de, no mínimo, três ensaios independentes realizados em triplicatas. O teste estatístico utilizado foi a análise de variância *one-way* (ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni. *** $p < 0,001$ comparado ao veículo.

Para verificar se o *Solidago microglossa* se comportava como agonista seletivo de hPXR, o efeito deste extrato foi analisado em outro receptor nuclear. O objetivo foi confirmar se o extrato testado alterava a atividade transcricional somente do hPXR ou se agia de forma não específica, alterando, por exemplo, a maquinaria de transcrição basal celular. Escolhemos o receptor do hormônio tireoidiano e, para isso, células HeLa foram cotransfectadas com os plasmídeos de expressão GAL4-hTRβ e o repórter PG5-LUC e tratadas com concentrações crescentes do extrato. No ensaio, foi demonstrado que as concentrações do extrato não alteraram a atividade transcricional do hTRβ, sendo assim, o efeito do extrato foi sobre o hPXR ($p > 0,05$) (Figura 12).

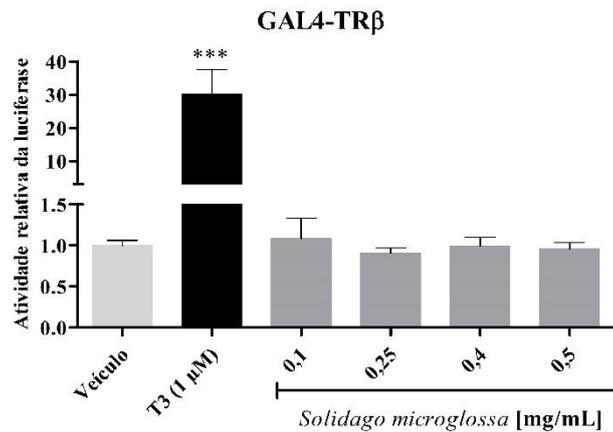


Figura 12. O extrato aquoso de *Solidago microglossa* não alterou a atividade transcricional do hTRβ. Células HeLa foram cotransfectadas com os plasmídeos GAL4-TRβ e o PG5-LUC e tratadas com veículo (DMSO + etanol, controle negativo), triiodotironina (T3) 1 μM (controle positivo) ou concentrações de até 0,5 mg/mL do extrato aquoso de *Solidago microglossa*. Após 20h de tratamento, as células foram lisadas e a atividade da luciferase foi mensurada em aparelho luminômetro e representada como vezes de ativação das células tratadas com T3 e diluições do extrato, comparadas com as células tratadas com veículo. Os dados foram expressos como média ± desvio padrão de, no mínimo, dois ensaios independentes realizados em triplicatas. O teste estatístico utilizado foi a análise de variância *one-way* (ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni. *** $p < 0,001$ comparado ao veículo.

Para verificar se houve interferência da *Solidago microglossa* sobre a atividade da luciferase, assim como no extrato de *Costus spicatus*, o ensaio de gene repórter com CMV-LUC foi realizado. O extrato diminuiu a ativação do CMV em todas as concentrações do extrato, onde 0,1, 0,25, 0,4 e 0,5 mg/mL reprimiram 0,8, 0,7, 0,5 e 0,3 vezes, respectivamente ($p < 0,001$). O DNA plasmidial pM-GAL4-PXR-LBD é dirigido pelo promotor CMV. Como houve aumento da atividade transcricional do hPXR, isso não se deve à ativação do referido promotor, pois os resultados demonstraram que as concentrações da *Solidago microglossa* reprimiram o CMV de forma decrescente (Figura 13).

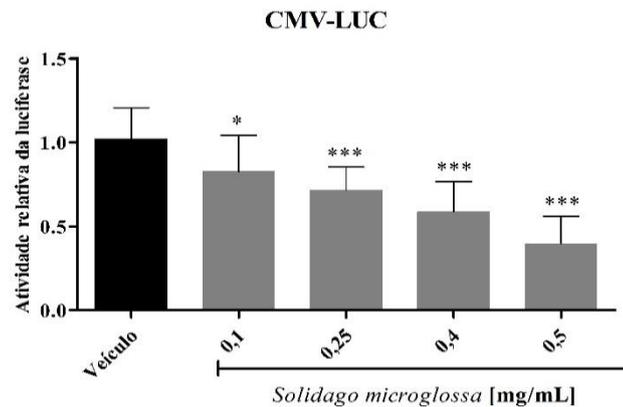


Figura 13. O extrato aquoso de *Solidago microglossa* diminuiu a atividade transcricional do CMV-LUC. Células HeLa foram transfectadas com plasmídeo CMV-LUC e tratadas com veículo ou concentrações de até 0,5 mg/mL do extrato aquoso de *Solidago microglossa*. Após 20h de tratamento, as células foram lisadas e a atividade da luciferase foi mensurada em aparelho luminômetro e representada como vezes de ativação das células tratadas com extrato, comparadas com as células tratadas com veículo. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão de, no mínimo, três ensaios independentes realizados em triplicata. O teste estatístico utilizado foi a análise de variância *one-way* (ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni. * $p < 0,05$ e *** $p < 0,001$ comparado ao veículo.

5.2.3 O extrato aquoso de *Tabebuia avellanae* apresentou ação antagonista sobre o hPXR

A concentração máxima não tóxica do extrato aquoso de *Tabebuia avellanae* foi de 1,8 mg/mL no ensaio de viabilidade celular. Porém, como descrito no ensaio de transfecção com a *Solidago microglossa*, o reagente lipofectamina junto com o extrato aumentou a toxicidade. Por isso, a concentração máxima do extrato de *Tabebuia avellanae* foi reajustada para 0,7 mg/mL. Como é possível observar na Figura 14, o extrato não ativou o hPXR ($p > 0,05$).

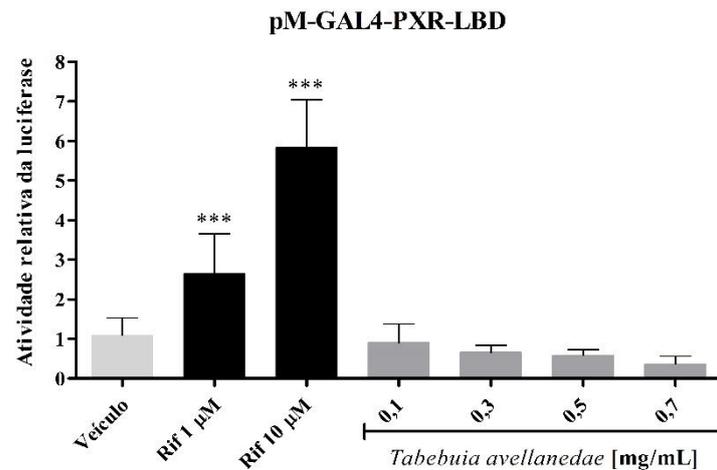


Figura 14. O extrato aquoso *Tabebuia avellanedae* não é agonista de hPXR. Células HeLa foram cotransfectadas com os plasmídeos pM-GAL4-PXR-LBD e GAL4-LUC e tratadas com veículo DMSO (controle negativo), rifampicina 1 µM ou 10 µM (controle positivo) ou concentrações de até 0,7 mg/mL do extrato aquoso de *Tabebuia avellanedae*. Após 20h de tratamento, as células foram lisadas e a atividade da luciferase foi mensurada em aparelho luminômetro e representada como vezes de ativação das células tratadas com rifampicina e diluições do extrato, comparadas com as células tratadas com veículo. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão de, no mínimo, três ensaios independentes. O teste estatístico utilizado foi a análise de variância *one-way* (ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni. *** $p < 0,001$ comparado ao veículo.

O ensaio de antagonismo foi realizado, já que o tratamento com o extrato aquoso de *Tabebuia avellanedae* em células HeLa não ativou o hPXR. A Figura 15 mostra que as concentrações 0,1, 0,3 e 0,5 mg/mL do extrato de *Tabebuia avellanedae* produziram uma diminuição gradativa da atividade transcricional de hPXR de 39%, 58% e 70%, nesta ordem. A repressão máxima foi de aproximadamente 73% na concentração de 0,7 mg/mL. Deste modo, o extrato de *Tabebuia avellanedae* diminuiu de forma dose-dependente a atividade transcricional de hPXR, sugerindo que o extrato é um antagonista do referido receptor.

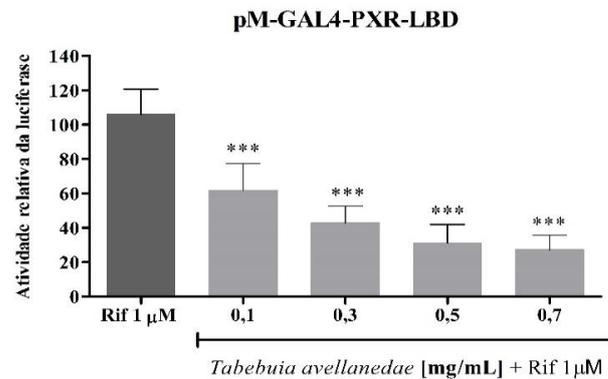


Figura 15. Efeito antagonista do extrato aquoso de *Tabebuia avellanedae* sobre o hPXR. Células HeLa foram cotransfectadas com os plasmídeos pM-GAL4-PXR-LBD e GAL4-LUC e realizados dois tratamentos: O primeiro, 6 horas após transfecção com concentrações de até 0,7 mg/mL do extrato aquoso *Tabebuia avellanedae* e o segundo, depois de 4 horas do tratamento com o extrato, com rifampicina 1 μ M. Após 20h do segundo tratamento, as células foram lisadas e a atividade da luciferase foi mensurada em aparelho luminômetro e representada como porcentagem de ativação das células tratadas com rifampicina 1 μ M e concentrações do extrato, comparadas com as células tratadas com rifampicina 1 μ M. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão de, no mínimo, três ensaios independentes. O teste estatístico utilizado foi a análise de variância *one-way* (ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni. *** $p < 0,001$ comparado com a rifampicina 1 μ M.

Para comprovar que a diminuição da atividade transcricional foi realmente via hPXR e não devido a repressão do promotor CMV ou inibição da luciferase, a transfecção com CMV-LUC foi efetuada, visto que o vetor de expressão utilizado anteriormente, pM-GAL4-PXR-LBD, possui o mesmo promotor. As concentrações do extrato não provocaram diferença na atividade da luciferase em relação ao veículo (Figura 16). Com isso, sugere-se que o extrato é antagonista de hPXR.

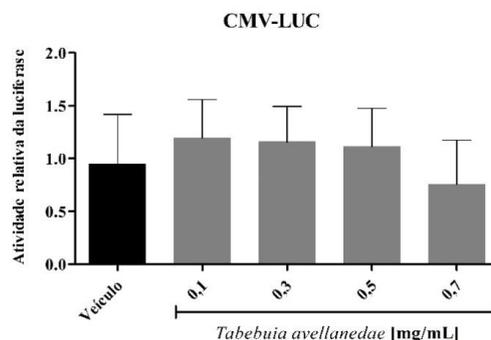


Figura 16. Extrato aquoso de *Tabebuia avellanedae* não apresentou efeito sobre o CMV-LUC. Células HeLa foram transfectadas com plasmídeo CMV-LUC e tratadas com veículo ou concentrações de até 0,7 mg/mL de extrato aquoso de *Tabebuia avellanedae*. Após 20h de tratamento, as células foram lisadas e a atividade da luciferase foi mensurada em aparelho luminômetro e representada como vezes de ativação das células tratadas com extrato em comparação com as células tratadas com veículo. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão de, no mínimo, dois ensaios independentes. O teste estatístico utilizado foi a análise de variância *one-way* (ANOVA) seguida pelo teste de Bonferroni.

6 DISCUSSÃO

Os fitoterápicos vem sendo cada vez mais utilizados pela população mundial (POSADZKI; WATSON; ERNST, 2013). No Brasil, houve um aumento na busca destes compostos em 161% entre 2013 e 2015 (BRASIL, 2016). Devido ao fácil acesso e a crença de o que é natural não faz mal à saúde (BRUNING; MOSEGUI; VIANNA, 2012), muitas pessoas utilizam esses produtos à base de plantas, porém já fazendo uso de outros medicamentos prescritos (IZZO; ERNST, 2009). É possível que isso cause riscos à saúde, uma vez que fitoterápicos podem ter moléculas ativas que possuem capacidade de interagir com drogas de origem sintética (POSADZKI; WATSON; ERNST, 2013) e ocasionar interações farmacocinéticas ou farmacodinâmicas. As interações farmacocinéticas envolvem diferentes mecanismos que influenciam a absorção, metabolismo, distribuição e eliminação das drogas. Já as farmacodinâmicas têm a capacidade de resultar em aumento ou diminuição da atividade farmacológica de xenobióticos (MAMINDLA; PRASAD; KOGANTI, 2016). Por isso, investigações de plantas medicinais são imprescindíveis para que o seu uso seja seguro (IZZO *et al.*, 2005).

Atualmente, existem 12 medicamentos fitoterápicos que estão incluídos na RENAME e são acessíveis nas unidades básicas de saúde de 14 estados brasileiros. Para ampliar ainda mais os produtos à base de plantas para o tratamento de doenças, uma lista foi disponibilizada pelo MS com 71 espécies para orientar pesquisas para que, futuramente, sejam inseridos no SUS fitoterápicos que possam ser usados de forma segura e eficaz (BRASIL, 2009). Neste trabalho foram analisadas três espécies de plantas brasileiras constantes na RENISUS: *Costus spicatus*, *Solidago microglossa* e *Tabebuia avellanedae*.

Inicialmente, foi feito o ensaio de viabilidade celular para avaliar a toxicidade dos extratos na linhagem celular estudada. A concentração máxima encontrada do extrato aquoso de *Costus spicatus* (3,0 mg/mL) foi a mesma utilizada no ensaio de gene repórter. Porém, as concentrações dos extratos aquosos das folhas de *Solidago microglossa* e *Tabebuia avellanedae* foram ajustadas de 1,12 para 0,5 mg/mL e 1,8 para 0,7 mg/mL, respectivamente. Provavelmente, isso ocorreu devido ao reagente lipofectamina juntamente com o extrato terem aumentado ainda mais a toxicidade às células.

O primeiro extrato aquoso das folhas testado por transfecção transiente foi o *Costus spicatus*. Ele não apresentou nenhum efeito sobre o hPXR no ensaio de gene repórter. Em concordância, Mazzari (2017) analisou a atividade deste extrato com uma das concentrações que utilizamos na transfecção (0,1 mg/mL) sobre a CYP3A4, enzima que é regulada pelo hPXR, por meio de ensaio de reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR). Esta referida concentração da *Costus spicatus* não modulou a expressão gênica da CYP3A4 em células HepG2. Apesar dos nossos resultados não terem demonstrado alteração da atividade transcricional do hPXR com esta planta, ela deve ser utilizada com cautela por não existirem dados suficientes confirmando a segurança da mesma.

O próximo extrato testado foi o *Solidago microglossa*. O ensaio de gene repórter sugere que esta planta é agonista do hPXR. O uso desses bioativos requerem cautela, uma vez que os produtos à base de plantas contêm metabólitos secundários, compostos que em plantas tem diversas funcionalidades, como defesa contra patógenos e pragas (BENNETT; WALLSGROVE, 1994; SACHAR; MA, 2013; RASMUSSEN; KLAUSEN; EKSTRAND, 2014). Porém, em humanos, tem a possibilidade de apresentar atividade biológica como ativar o hPXR e isso pode levar à indução do CYP P450 (SEN; SAMANTA, 2015), grupo de isoenzimas que faz parte da fase I do metabolismo de drogas e tornam compostos xenobióticos mais hidrofílicos para serem eliminados pelo corpo (TAXAK; BHARATAM, 2014; CHIDAMBARAN; SADHASIVAM, 2019). Os fitoterápicos podem reduzir a concentração sanguínea de outros medicamentos quando ambos são administrados concomitantemente, e assim, diminuir a eficácia do tratamento (SACHAR; MA, 2013) ou até mesmo produzir efeitos adversos (SEN; SAMANTA, 2015), por exemplo se os metabólitos das drogas forem tóxicos (SACHAR; MA, 2013). Nos nossos estudos de transfecção com a *Solidago microglossa*, a concentração de 0,1 mg/mL não ativou o hPXR. Isso chama atenção porque no ensaio de PCR em tempo real realizado por Mazzari (2017), foi demonstrado que esta planta, nesta mesma concentração, não modulou a expressão gênica da CYP3A4. Entretanto, mais estudos de expressão gênica da CYP3A4 devem ser efetuados com a concentração que houve aumento da atividade transcricional de hPXR no ensaio de transfecção transiente e gene repórter, no caso 0,4 e 0,5 mg/mL.

Além da CYP3A4, Mazzari (2017) realizou ensaio com outra enzima regulada pelo PXR, a GST. A GST é uma enzima que catalisa a conjugação da GSH (VAN DER AAR *et al.*, 1996), que por sua vez é regulada pelo PXR (IHUNNAH; JIANG; XIE, 2011). Ela é

considerada importante para desintoxicação celular de drogas por catalisar a conjugação da GSH com uma variedade de xenobióticos e metabólitos eletrofilicos (URQUHART; TIRONA; KIM, 2007). No estudo de glutathione intracelular de Mazzari (2017), a *Solidago microglossa* diminuiu os níveis de GSH em um nível comparado à inibidora específica da síntese de GSH (Butionina sulfoximina (BSO)) usada como controle positivo (DU *et al.*, 2009). Porém, outro estudo com o extrato metanólico de *Solidago chinenses*, sinonímia botânica da *Solidago microglossa* (MERCANDELI *et al.*, 2012), demonstrou ação diferente. Camundongos fêmeas foram tratados por via oral com extrato e a quercitina e foi demonstrado que estes compostos evitaram a diminuição dos níveis de GSH no tecido gástrico ulcerado dos referidos animais (DE BARROS *et al.*, 2016). Em ambos os casos, os mecanismos dos resultados são desconhecidos, portanto, mais estudos devem ser realizados para esclarecimento.

Após finalização dos ensaios com a *Solidago microglossa*, a próxima planta medicinal testada foi a *Tabebuia avellanedae*. O extrato desta planta sugeriu ser antagonista do hPXR pelo ensaio de transfecção transiente e gene repórter. Não há relatos na literatura que descrevem atividade desta planta neste receptor, porém são descritos ensaios com CYP3A4, enzima regulada pelo PXR. Ensaios de PCR em tempo real realizados por Mazzari (2017) propõem que a infusão de *Tabebuia avellanedae* na concentração de 0,1 mg/mL não foi capaz de modular a expressão gênica da CYP3A4. Já Suo *et al.* (2013) e Suo e Yan (2016) mostraram que compostos isolados de extratos aquosos da referida planta, os glicosídeos fenilpropanoides e iridoídeos, inibiram a CYP3A4 em ensaio de atividade inibitória do CYP P450. Uma provável via de inibição é o antagonismo do hPXR, todavia, mais estudos devem ser realizados para elucidar essa questão (SUO; YAN, 2016).

A diminuição da atividade transcricional do PXR pode inibir enzimas metabolizadoras de drogas e isso geralmente resulta em uma maior concentração da droga na corrente sanguínea, podendo causar reações adversas (YOUNG, 2009). Um possível exemplo deste efeito é com a *Tabebuia avellanedae*, que potencializa o efeito de anticoagulantes (CASSILETH; YEUNG; GUBILI, 2010). A varfarina, um medicamento utilizado com este propósito, é metabolizada por diversas enzimas da CYP450, sendo elas CYP1A2, CYP3A4 e, principalmente, CYP2C9, que são reguladas pelo PXR. Quando outros compostos metabolizados pela CYP são administrados concomitantemente com este medicamento, os riscos de interações medicamentosas aumentam (KAMINSKY; ZHANG, 1997). Diante do

exposto, como foi mostrado que nos nossos ensaios o extrato aquoso de *Tabebuia avellanedae* se comportou como antagonista de hPXR, o mesmo pode aumentar o efeito da varfarina.

Contudo, a inibição do PXR é possível de ser usada como uma ferramenta terapêutica. A ativação do PXR aumenta a conversão do acetaminofeno, também conhecido como paracetamol e utilizado como analgésico, para o metabólito hepatotóxico N-acetil-p-benzoquinona imina, o que pode ocasionar em necrose hepática. Em altas doses, o acetaminofeno, depois de ser metabolizado pela CYP, transforma-se em um metabólito reativo, que se liga de forma covalente as proteínas após depletar a glutatona por reação de conjugação. O uso de um antagonista de PXR tem possibilidade de ser benéfico contra esse efeito (GUO *et al.*, 2004; MATTIA; COLUZZI, 2009; HINSON; ROBERTS; JAMES, 2010).

Além disso, durante a quimioterapia, a possibilidade de ativação de PXR mediada por drogas é aumentada, uma vez que os pacientes recebem muitos medicamentos além dos anticancerígenos (CHEN, 2010) e isso resulta em aumento da resistência e diminuição da eficácia do tratamento (LIN *et al.*, 2017). Esses efeitos podem ser neutralizados por um antagonista de PXR (CHEN, 2008), mesmo antes da quimioterapia (CHEN *et al.*, 2012). Como resultado, estudos adicionais que identifiquem antagonistas são extremamente necessários, já que eles têm a capacidade de prevenir interações medicamentosas induzidas por PXR (CHEN *et al.*, 2012).

Diversos fatores podem contribuir na quantidade dos compostos bioativos presentes em extratos. Até mesmo sua preparação pode alterar a atividade transcricional do PXR. As plantas medicinais possuem compostos fitoquímicos responsáveis pelos seus efeitos terapêuticos, os metabólitos secundários (SAVITHRAMMA; LINGA RAO; ANKANNA, 2011). Os órgãos das plantas possuem quantidades desiguais destes compostos, que por sua vez, tem a possibilidade de serem alterados por condições ambientais, como: disponibilidade hídrica, composição atmosférica, nutrição do solo, radiação ultravioleta (UV), sazonalidade e temperatura (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; MORAIS, 2009). A partir de órgãos das plantas medicinais são feitos os extratos. A escolha do solvente pode interferir na hora da extração dos compostos ativos (SASIDHARAN *et al.*, 2011) e eles são escolhidos com base na polaridade do soluto de interesse, uma vez que este só será adequadamente dissolvido se tiver polaridade semelhante ao solvente. Alguns solventes mais comumente usados, com polaridade do menos polar para o mais polar, são os seguintes: Hexano <Clorofórmio

<Acetona <Acetona <Metanol <Água (ALTEMIMI *et al.*, 2017). No caso deste trabalho, foram feitos os extratos aquosos para simular o uso de chá, uma das formas comumente utilizada pela população.

Este é o primeiro relato a descrever que *Solidago microglossa* é agonista e *Tabebuia avellanedae* é antagonista de hPXR. Os extratos de plantas medicinais geralmente contêm uma mistura complexa de muitos compostos fitoquímicos ou bioativos (SASIDHARAN *et al.*, 2011). Para descobrir se estes compostos possuem ações independentes, eles podem ser isolados, identificados e caracterizados. Diversos métodos podem ser utilizados para essa finalidade, um deles é a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Após o isolamento, os referidos compostos podem ser testados isoladamente em transfecção transiente e gene repórter para verificar se ocorre alteração da atividade transcricional do hPXR. Além disso, o ensaio de PCR em tempo real é sugerido para analisar se os extratos regulam as expressões gênicas de enzimas reguladas pelo hPXR, como exemplo CYP3A4 e MDR1. Já as expressões proteicas destas enzimas, podem ser avaliadas por Western blotting.

Nossos resultados revelam a importância de estudos com extratos sobre a atividade transcricional do hPXR, uma vez que eles podem alterar o metabolismo de xenobióticos e causar efeitos adversos e toxicidade. Além do mais, com a realização deste trabalho, pretendeu-se contribuir com estudos das plantas da RENISUS e que, posteriormente, investigações aprofundadas possam ser realizadas para confirmar nossos resultados e verificar se as concentrações de *Costus spicatus* e *Solidago microglossa* que alteraram a atividade transcricional de hPXR em nosso estudo, modificam a ação da CYP3A4 pelo referido receptor. As investigações de medicamentos fitoterápicos são essenciais, para prevenir o risco de interações, para que seu uso seja feito de forma segura pela população (IHUNNAH; JIANG; XIE, 2011).

7 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo sugerem que o extrato aquoso das folhas de *Costus spicatus* não alterou a atividade transcricional do hPXR em cultura de células HeLa. Já a *Solidago microglossa* e *Tabebuia avellanae* apresentam atividade agonista e antagonista do referido receptor, respectivamente, pelo ensaio de transfecção transiente e gene repórter na mesma linhagem celular. Esses resultados sugerem que o uso de *Solidago microglossa* e *Tabebuia avellanae* apresentam risco de promover interação medicamentosa. Como o estudo foi realizado em modelo *in vitro*, novos estudos são necessários para se investigar risco de interação medicamentosa e a segurança do uso desses fitoterápico com outros medicamentos, principalmente os metabolizados pela CYP3A4.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFANO, C. et al. The nuclear receptors COUP-TF: a long-lasting experience in forebrain assembly. **Cell Mol Life Sci**, v. 71, n. 1, p. 43-62, Jan 2014. ISSN 1420-682x.

ALNOUTI, Y.; KLAASSEN, C. D. Regulation of sulfotransferase enzymes by prototypical microsomal enzyme inducers in mice. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 324, n. 2, p. 612-21, Feb 2008. ISSN 0022-3565.

ALTEMIMI, A. et al. Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. **Plants (Basel, Switzerland)**, v. 6, n. 4, p. 42, 2017. ISSN 2223-7747. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28937585> >.

ANDERSEN, V. et al. Polymorphisms in NF- κ B, PXR, LXR, PPAR γ and risk of inflammatory bowel disease. **World J Gastroenterol**, v. 17, p. 197–206, 2011. ISSN 2.

ANVISA. **Publicada norma que cria o Produto Tradicional Fitoterápico**, 2015. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=230758&_101_type=content&_101_groupId=219201&_101_urlTitle=publicada-norma-que-cria-o-produto-tradicional-fitoterapico&inheritRedirect=true>. Acesso em: 27 de dezembro de 2018.

ANVISA. Medicamentos fitoterápicos e plantas medicinais, 2018. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/fitoterapicos>>. Acesso em: 5 de julho de 2018.

ARANDA, A.; PASCUAL, A. Nuclear hormone receptors and gene expression. **Physiol Rev**, v. 81, n. 3, p. 1269-304, Jul 2001. ISSN 0031-9333 (Print) 0031-9333.

ARAÚJO, E. L.; ALENCAR, J. R. B.; ROLIM NETO, P. J. Lapachol: segurança e eficácia na terapêutica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 57-59, 2002. ISSN 0102-695X. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2002000300028&nrm=iso >.

ARAÚJO, T. A. D. S. et al. Phytochemical, antioxidant and cytotoxic analysis of Brazilian cerrado plants: Preliminary evidence of their antitumor activity. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 9, p. 310-319, 2015.

ARNAUDON, M. Comptes Rendus Hebdomadares. Des Sianes ‘L’Acord. **Des Science**. 1858, 46, 1152

ASHIQ, S.; HUSSAIN, M.; AHMAD, B. Natural occurrence of mycotoxins in medicinal plants: A review. **Fungal Genetics and Biology**, v. 66, p. 1-10, 2014. ISSN 1087-1845. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1087184514000218> >.

AWALE, S. et al. Nitric oxide (NO) production inhibitory constituents of *Tabebuia avellanedae* from Brazil. **Chem Pharm Bull (Tokyo)**, v. 53, n. 6, p. 710-3, Jun 2005. ISSN 0009-2363 (Print) 0009-2363.

AWORTWE, C. et al. Echinacea purpurea up-regulates CYP1A2, CYP3A4 and MDR1 gene expression by activation of pregnane X receptor pathway. **Xenobiotica**, v. 45, n. 3, p. 218-29, Mar 2015. ISSN 0049-8254.

AZHAGUMADHAVAN, S. et al. Hepatoprotective and antidiabetic effect of aqueous extract of *Costus spicatus* jacq. Rhizome extract in streptozotocin induced diabetic Rats –histological study. **Int. J. of. Life Sciences**, v. A11, n. Special Issue, p. 61-66, 2018.

BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F. D.; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 444-447, 2007. ISSN 0102-695X. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2007000300019&nrm=iso >.

BAGATINI, M. D. et al. Cytotoxic effects of infusions (tea) of *Solidago microglossa* DC. (Asteraceae) on the cell cycle of *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 632-636, 2009.

BAGGIO, A. L. et al. Pesquisa fitoquímica dos princípios ativos presentes na droga vegetal *Solidago microglossa* DC. (arnica brasileira), **Revista Thêma et Scientia**, v.2, 2012.

BAHMANI, M. et al. Silybum marianum: Beyond Hepatoprotection. **J Evid Based Complementary Altern Med**, v. 20, n. 4, p. 292-301, Oct 2015. ISSN 2156-5899.

BAIN, D. L. et al. Nuclear receptor structure: implications for function. **Annu Rev Physiol**, v. 69, p. 201-20, 2007. ISSN 0066-4278 (Print) 0066-4278.

BAKSHI, K. et al. Novel complex of HAT protein TIP60 and nuclear receptor PXR promotes cell migration and adhesion. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 3635, 2017. ISSN 2045-2322. Disponível em: < <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03783-w> >.

BANERJEE, M.; CHEN, T. Thiazide-like diuretic drug metolazone activates human pregnane X receptor to induce cytochrome 3A4 and multidrug-resistance protein 1. **Biochem Pharmacol**, v. 92, n. 2, p. 389-402, 2014. ISSN 2.

BANERJEE, M.; ROBBINS, D.; CHEN, T. Targeting xenobiotic receptors PXR and CAR in

human diseases. **Drug Discov Today**, v. 20, n. 5, p. 618-28, May 2015. ISSN 1359-6446.

BARNABA, C. et al. The catalytic function of cytochrome P450 is entwined with its membrane-bound nature. **F1000Research**, v.9, n.6, p.1-10, 2017. Disponível em: < https://f1000researchdata.s3.amazonaws.com/manuscripts/11877/2e200fbb-b224-4cbf-8bcd-0bff17814910_11015_ayyalusamy_ramamoorthy.pdf?doi=10.12688/f1000research.11015.1&numberOfBrowsableCollections=15&numberOfBrowsableGateways=23>.

BARROS, I. M. de C. et al. Chemical composition and antioxidant activity of extracts from *Erythroxylum suberosum* A.St. Hil.leaves. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 7, p. 88-94, 2017.

BASHEER, L.; KEREM, Z. Interactions between CYP3A4 and Dietary Polyphenols. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2015, p. 854015, 2015. ISSN 1942-0994.

BAYNES, J. W.; DOMINICZAK, M. H. **Medical Biochemistry E-Book**. 5 edition. Elsevier, 2018. Disponível em: < <https://www.elsevier.com/books/medical-biochemistry/baynes/978-0-7020-7299-4>>.

BENNETT, R. N.; WALLSGROVE, R. M. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. **New Phytologist**, v. 127, n. 4, p. 617-633, 1994. Disponível em: < <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1469-8137.1994.tb02968.x> >.

BECIC, F.; KAPIC, E.; BECIC, E. [Glimepiride--an oral antidiabetic agent]. **Med Arh**, v. 57, n. 2, p. 125-7, 2003. ISSN 0350-199x.

BEVILAQUA, G. A. P. et al. **Tecnologia de plantas medicinais e bioativas da flora de clima temperado**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2015. Disponível em: < <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/142292/1/Documento-394-.pdf> >.

BERKHOUT, T. A. et al. The novel cholesterol-lowering drug SR-12813 inhibits cholesterol synthesis via an increased degradation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase. **J Biol Chem**, v. 271, n. 24, p. 14376-82, Jun 14 1996. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258.

BERRIDGE, M. V.; HERST, P. M.; TAN, A. S. Tetrazolium dyes as tools in cell biology: new insights into their cellular reduction. **Biotechnol Annu Rev**, v. 11, p. 127-52, 2005. ISSN 1387-2656 (Print) 1387-2656.

BIESKI, I. G. C. et al. Ethnopharmacology of Medicinal Plants of the Pantanal Region (Mato Grosso, Brazil). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, p. 36, 2012. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1155/2012/272749> >.

BIGLAN, K. M. et al. A novel design of a Phase III trial of isradipine in early Parkinson disease (STEADY-PD III). **Annals of Clinical and Translational Neurology**, Hoboken, v. 4, n. 6, p.

360-368, 2017. ISSN 2328-9503. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5454402/>>.

BITENCOURT, A. P. R.; ALMEIDA, S. S. M. D. S. Estudo fitoquímico, toxicológico e microbiológico das folhas de *Costus spicatus* Jacq. **Biota Amazônica**, v. 4, n.4, p. 75-79, 2014. ISSN 2179-5746.

BLOKZIIL, H. et al. Decreased P-glycoprotein (P-gp/MDR1) expression in inflamed human intestinal epithelium is independent of PXR protein levels. **Inflamm Bowel Dis**, v. 13, n. 6, p. 710-20, Jun 2007. ISSN 1078-0998 (Print) 1078-0998.

BORRÁS, M. R. L. **Plantas da Amazônia: medicinais ou mágicas - Plantas comercializadas no mercado Adolpho Lisboa**. Manaus: Valer, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Medicina alternativa: Uso de plantas medicinais e fitoterápicos sobre 161%**, 2016. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/editoria/saude/2016/06/uso-de-plantas-medicinais-e-fitoterapicos-sobe-161>>. Acesso em: 5 de julho de 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **MS elabora Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS**, 2009. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/sus/pdf/marco/ms_relacao_plantas_medicinais_sus_0603.pdf>. Acesso em: 16 Julho de 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Plantas medicinais e fitoterápicos no SUS**, 2017. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/acoes-e-programas/programa-nacional-de-plantas-medicinais-e-fitoterapicos-ppnmpf/plantas-medicinais-e-fitoterapicos-no-sus>>. Acesso em: 16 Junho de 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Relação de fitoterápicos oferecidos pelo SUS**. 2012a. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/editoria/saude/2012/11/sus-tem-fitoterapicos-para-doencas-simples/relacao-de-fitoterapicos-oferecidos-pelo-sus/view>>. Acesso em: Junho de 2018.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 26, de 13 de maio de 2014**, 2014. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026_13_05_2014.pdf>. Acesso em: 31 de agosto de 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica**. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. **SUS tem fitoterápicos para doenças simples**. 2012b. Disponível em: < <http://www.brasil.gov.br/editoria/saude/2012/11/sus-tem-fitoterapicos-para-doencas-simples>>. Acesso em: Junho de 2018.

BRASILEIRO, B. G. et al. Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 195-202, 2006. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322006000200004&nrm=iso >.

BREWER, C. T.; CHEN, T. PXR variants: the impact on drug metabolism and therapeutic responses. **Acta Pharm Sin B**, v. 6, n. 5, p. 441-449, Sep 2016. ISSN 2211-3835 (Print) 2211-3835.

BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G.; VIANNA, C. M. D. M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu - Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 17, p. 2675-2685, 2012. ISSN 1413-8123. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232012001000017&nrm=iso >.

BUCHMAN, C. D.; CHAI, S. C.; CHEN, T. A current structural perspective on PXR and CAR in drug metabolism. **Expert Opin Drug Metab Toxicol**, v. 14, n. 6, p. 635-647, Jun 2018. ISSN 1742-5255.

BURK, O. et al. Identification of approved drugs as potent inhibitors of pregnane X receptor activation with differential receptor interaction profiles. **Arch Toxicol**, v. 92, n. 4, p. 1435-1451, Apr 2018. ISSN 0340-5761.

CALLAGHAN, R.; LUK, F.; BEBAWY, M. Inhibition of the multidrug resistance P-glycoprotein: time for a change of strategy? **Drug Metab Dispos**, v. 42, n. 4, p. 623-31, Apr 2014. ISSN 0090-9556.

CASSILETH, B. R.; YEUNG, K. S.; GUBILI, J. **Herb-drug Interactions in Oncology**. People's Medical Publishing House-USA, 2010. ISBN 9781607950417. Disponível em: < https://books.google.com.br/books?id=etCkDPOW_oMC >.

CASTANEDA, C. A.; GOMEZ, H. L. Pazopanib: an antiangiogenic drug in perspective. **Future Oncol**, v. 5, n. 9, p. 1335-48, Nov 2009. ISSN 1479-6694.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, p. 99-105, 1998. ISSN 0100-4042. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40421998000100015&nrm=iso >.

CHAI, S. C. et al. Small-molecule modulators of PXR and CAR. **Biochim Biophys Acta**, v. 1859, n. 9, p. 1141-1154, Sep 2016. ISSN 0006-3002 (Print) 0006-3002.

CHAI, X.; ZENG, S.; XIE, W. Nuclear receptors PXR and CAR: implications for drug metabolism regulation, pharmacogenomics and beyond. **Expert Opin Drug Metab Toxicol**, v. 9, n. 3, p. 253-66, Mar 2013. ISSN 1742-5255.

CHEN, T. Nuclear receptor drug discovery. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 12, n. 4, p. 418-426, 2008. ISSN 1367-5931. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1367593108001117>>.

CHEN, Y. et al. Regulation of drug resistance by human pregnane X receptor in breast cancer. **Cancer Biol Ther**, v. 8, n. 13, p. 1265-72, Jul 2009. ISSN 1538-4047.

_____. Nuclear receptors in the multidrug resistance through the regulation of drug-metabolizing enzymes and drug transporters. **Biochem Pharmacol**, v. 83, n. 8, p. 1112-26, Apr 2012. ISSN 0006-2952.

_____. Camptothecin attenuates cytochrome P450 3A4 induction by blocking the activation of human pregnane X receptor. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 334, n. 3, p. 999-1008, Sep 2010. ISSN 0022-3565.

_____. Human pregnane X receptor and resistance to chemotherapy in prostate cancer. **Cancer Res**, v. 67, n. 21, p. 10361-7, Nov 1 2007. ISSN 0008-5472.

CHIANESE, G. et al. Incisterols, highly degraded marine sterols, are a new chemotype of PXR agonists. **Steroids**, v. 83, p. 80-5, May 2014. ISSN 0039-128x.

CHICOUREL, E. L. et al. Contribuição ao conhecimento analítico de três compostas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 7-8, p. 59-66, 1998. ISSN 0102-695X. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X1998000100007&nrm=iso>.

CHIDAMBARAN, V.; SADHASIVAM, S. 6 - Pharmacogenomics. In: COTÉ, C. J.; LERMAN, J., *et al* (Ed.). **A Practice of Anesthesia for Infants and Children (Sixth Edition)**. Philadelphia: Content Repository Only!, 2019. p.378 - 467. ISBN 978-0-323-42974-0.

CHONPATHOMPIKUNLERT, P.; WATTANATHORN, J.; MUCHIMAPURA, S. Piperine, the main alkaloid of Thai black pepper, protects against neurodegeneration and cognitive impairment in animal model of cognitive deficit like condition of Alzheimer's disease. **Food Chem Toxicol**, v. 48, n. 3, p. 798-802, Mar 2010. ISSN 0278-6915.

CLEMENTINO-NETO, J. et al. Toxicological, Antidiarrheal and Spasmolytic Activities of

Solanum paniculatum. **Planta Med**, v. 82, n. 1-2, p. 58-64, Jan 2016. ISSN 0032-0943.

COELHO, J. M. et al. O efeito da sulfadiazina de prata, extrato de ipê-roxo e extrato de barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 37, p. 045-051, 2010. ISSN 0100-6991. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-69912010000100010&nrm=iso>.

CRUZ, M. T. da; ALVIM, M. N. Fitoterápicos: estudos com plantas para fins terapêutico e medicinal. **Acervo da Iniciação Científica**. v. 1, 2013. Disponível em: <<http://www3.izabelahendrix.edu.br/ojs/index.php/aic/article/view/395>>. Acesso em: 05 de julho de 2018.

DASH, A.; TYAGI, R. A Compendium of Nuclear Receptors: The Superfamily of Ligand-Modulated Transcription Factors. **Journal of Endocrinology and Reproduction**. 20. 149-176, 2016. 10.18311/jer/2016/8538.

DA SILVA, B. P.; BERNARDO, R. R.; PARENTE, J. P. A new steroidal saponin from the rhizomes of *Costus spicatus*. **Planta Med**, v. 65, n. 3, p. 285-7, Apr 1999. ISSN 0032-0943 (Print) 0032-0943.

_____. Flavonol glycosides from *Costus spicatus*. **Phytochemistry**, v. 53, n. 1, p. 87-92, 2000. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942299004410>>.

DA SILVA JÚNIOR, E. N. et al. Hooker's 'lapachol peroxide' revisited. **Tetrahedron Letters**, v. 50, n. 14, p. 1575-1577, 2009. ISSN 0040-4039. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040403909001427>>.

DE CARVALHO DA SILVA, F.; FRANCISCO FERREIRA, V. Natural Naphthoquinones with Great Importance in Medicinal Chemistry. **Current Organic Synthesis**, v. 13, n. 3, p. 334-371, 2016.

DAGNINO, S. et al. Affinity purification using recombinant PXR as a tool to characterize environmental ligands. **Environ Toxicol**, v. 29, n. 2, p. 207-15, Feb 2014. ISSN 1520-4081.

DAI, K.; HUSSAIN, M. M. NR2F1 disrupts synergistic activation of the MTTP gene transcription by HNF-4alpha and HNF-1alpha. **J Lipid Res**, v. 53, n. 5, p. 901-8, May 2012. ISSN 0022-2275.

DE BARROS, M. et al. Pharmacological reports about gastroprotective effects of methanolic extract from leaves of *Solidago chilensis* (Brazilian arnica) and its components quercitrin and afzelin in rodents. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**, v. 389, n. 4, p. 403-17, Apr 2016. ISSN 0028-1298.

DE LUCA, V. et al. Mining the Biodiversity of Plants: A Revolution in the Making. **Science**, v. 336, n. 6089, p. 1658-1661, 2012. Disponível em: < <http://science.sciencemag.org/content/sci/336/6089/1658.full.pdf> >.

DE MIRANDA, F. G. et al. Antinociceptive and antiedematogenic properties and acute toxicity of *Tabebuia avellanedae* Lor. ex Griseb. inner bark aqueous extract. **BMC Pharmacol**, v. 1, p. 6, 2001. ISSN 1471-2210.

DE MONTELLANO, P. R. O. **Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry**. Springer International Publishing, 2015. ISBN 9783319121086. Disponível em: < <https://books.google.com.br/books?id=abZnBwAAQBAJ> >.

DI MASI, A. et al. Nuclear receptors CAR and PXR: Molecular, functional, and biomedical aspects. **Mol Aspects Med**, v. 30, n. 5, p. 297-343, Oct 2009. ISSN 0098-2997.

DING, X.; STAUDINGER, J. L. Induction of drug metabolism by forskolin: the role of the pregnane X receptor and the protein kinase a signal transduction pathway. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 312, n. 2, p. 849-56, Feb 2005. ISSN 0022-3565 (Print) 0022-3565.

DONG, Y. et al. Pregnane X receptor is associated with unfavorable survival and induces chemotherapeutic resistance by transcriptional activating multidrug resistance-related protein 3 in colorectal cancer. **Mol Cancer**, v. 16, n. 1, p. 71, Mar 2017. ISSN 1476-4598.

DROCOURT, L. et al. Calcium channel modulators of the dihydropyridine family are human pregnane X receptor activators and inducers of CYP3A, CYP2B, and CYP2C in human hepatocytes. **Drug Metab Dispos**, v. 29, n. 10, p. 1325-31, Oct 2001. ISSN 0090-9556 (Print) 0090-9556.

DU, Z.-X. et al. Role of oxidative stress and intracellular glutathione in the sensitivity to apoptosis induced by proteasome inhibitor in thyroid cancer cells. **BMC cancer**, v. 9, p. 1-11, 2009. ISSN 1471-2407. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/PMC2666756/> >.

DUANMU, Z. et al. Effects of dexamethasone on aryl (SULT1A1)- and hydroxysteroid (SULT2A1)-sulfotransferase gene expression in primary cultured human hepatocytes. **Drug Metab Dispos**, v. 30, n. 9, p. 997-1004, Sep 2002. ISSN 0090-9556 (Print) 0090-9556.

DUSSAULT, I.; FORMAN, B. M. The nuclear receptor PXR: a master regulator of "homeland" defense. **Crit Rev Eukaryot Gene Expr**, v. 12, n. 1, p. 53-64, 2002. ISSN 1045-4403 (Print) 1045-4403.

DUTRA, R. C. et al. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacol Res**, v. 112, p. 4-29, Oct 2016. ISSN 1043-6618.

EKINS, S. et al. Human pregnane X receptor antagonists and agonists define molecular

requirements for different binding sites. **Mol Pharmacol**, v. 72, n. 3, p. 592-603, Sep 2007. ISSN 0026-895X (Print) 0026-895x.

_____. Computational discovery of novel low micromolar human pregnane X receptor antagonists. **Mol Pharmacol**, v. 74, n. 3, p. 662-72, Sep 2008. ISSN 0026-895x.

ERNST, E. St John's Wort supplements endanger the success of organ transplantation. **Arch Surg**, v. 137, n. 3, p. 316-9, Mar 2002. ISSN 0004-0010 (Print) 0004-0010.

FALKENBERG, D. B. Matinhas nebulares e vegetação rupícola dos Aparados da Serra Geral (SC/RS), sul do Brasil. 2003. 558 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2003.

FONSECA, S. G. C.; BRAGA, R. M. C.; SANTANA, D. P. **Lapachol- química, farmacologia e métodos de dosagens**: *Rev Bras Farm.* 84: 9-16. p. 2003.

FREIRES, I. D. A. et al. Atividades antibacteriana e antiaderente in vitro de tinturas de *Schinus terebinthifolius* (Aroeira) e *Solidago microglossa* (Arnica) frente a bactérias formadoras do biofilme dentário. **Odontologia Clínico-Científica (Online)**, v. 9, p. 139-143, 2010. ISSN 1677-3888. Disponível em: <
http://revodonto.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1677-38882010000200010&nrm=iso >.

FREITAS, A. E. et al. Antidepressant-like action of the bark ethanolic extract from *Tabebuia avellanedae* in the olfactory bulbectomized mice. **J Ethnopharmacol**, v. 145, n. 3, p. 737-45, Feb 13 2013. ISSN 0378-8741.

FROGER, A.; HALL, J. E. Transformation of Plasmid DNA into E. coli Using the Heat Shock Method. In: (Ed.). **J Vis Exp**, 2007. ISBN 1940-087X (Electronic).

FUCHS, I. et al. Effect of the CYP3A inhibitor ketoconazole on the PXR-mediated induction of CYP3A activity. **Eur J Clin Pharmacol**, v. 69, n. 3, p. 507-13, Mar 2013. ISSN 0031-6970.

FULTON, J. et al. Heterodimers of photoreceptor-specific nuclear receptor (PNR/NR2E3) and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPARgamma) are disrupted by retinal disease-associated mutations. **Cell Death Dis**, v. 8, n. 3, p. e2677, Mar 16 2017.

GADALETA, R. M.; MAGNANI, L. Nuclear receptors and chromatin: an inducible couple. **J Mol Endocrinol**, v. 52, n. 2, p. R137-49, Apr 2014. ISSN 0952-5041.

GAMAGE, N. et al. Human sulfotransferases and their role in chemical metabolism. **Toxicol Sci**, v. 90, n. 1, p. 5-22, Mar 2006. ISSN 1096-6080 (Print) 1096-0929.

GARDNER-STEPHEN, D. et al. Human PXR variants and their differential effects on the

regulation of human UDP-glucuronosyltransferase gene expression. **Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals**, v. 32, n. 3, p. 340-347, 2004. ISSN 0090-9556 1521-009X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2652677/> >.

GIRVAN, H. M.; MUNRO, A. W. Applications of microbial cytochrome P450 enzymes in biotechnology and synthetic biology. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 31, p. 136-145, 2016. ISSN 1367-5931. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1367593116300138> >.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, p. 374-381, 2007. ISSN 0100-4042. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000200026&nrm=iso >.

GOODWIN, B. et al. Regulation of the human CYP2B6 gene by the nuclear pregnane X receptor. **Mol Pharmacol**, v. 60, n. 3, p. 427-31, Sep 2001. ISSN 0026-895X (Print) 0026-895x.

GOTOH, S.; MOORE, R.; NEGISHI, M. Nuclear Receptor PXR; a Novel Glucose Sensor That Regulates Hepatic Gluconeogenesis. **The FASEB Journal**, v. 29, n. 1_supplement, p. 934.8, 2015. Disponível em: < https://www.fasebj.org/doi/abs/10.1096/fasebj.29.1_supplement.934.8 >.

GREWAL, G. K. et al. Exploring the Carbamazepine Interaction with Human Pregnane X Receptor and Effect on ABCC2 Using in Vitro and in Silico Approach. **Pharm Res**, v. 34, n. 7, p. 1444-1458, Jul 2017. ISSN 0724-8741.

GUENGERICH, F. P. et al. Measurement of cytochrome P450 and NADPH-cytochrome P450 reductase. **Nat Protoc**, v. 4, n. 9, p. 1245-51, 2009. ISSN 1750-2799.

GUO, G. L. et al. Enhanced acetaminophen toxicity by activation of the pregnane X receptor. **Toxicol Sci**, v. 82, n. 2, p. 374-80, Dec 2004. ISSN 1096-6080 (Print) 1096-0929.

GUTIERREZ-GRANADOS, S. et al. Advancements in mammalian cell transient gene expression (TGE) technology for accelerated production of biologics. **Crit Rev Biotechnol**, p. 1-23, Jan 2018. ISSN 0738-8551.

HACKER, M.; MESSER, W. S.; BACHMANN, K. A. **Pharmacology: Principles and Practice**. Elsevier Science, 2009. ISBN 9780080919225. Disponível em: < <https://books.google.com.br/books?id=5YDMmjWXe-AC> >.

HARIPARSAD, N. et al. Identification of pregnane-X receptor target genes and coactivator and corepressor binding to promoter elements in human hepatocytes. **Nucleic Acids Res**, v. 37, n. 4, p. 1160-73, Mar 2009. ISSN 0305-1048.

HARMSSEN, S. et al. PXR-mediated induction of P-glycoprotein by anticancer drugs in a human colon adenocarcinoma-derived cell line. **Cancer Chemother Pharmacol**, v. 66, n. 4, p. 765-71, Sep 2010. ISSN 0344-5704.

HART, S. M. Modulation of nuclear receptor dependent transcription. **Biological Research**, v. 35, p. 295-303, 2002. ISSN 0716-9760. Disponível em: <https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-97602002000200021&nrm=iso>.

HEALAN-GREENBERG, C. et al. A human immunodeficiency virus protease inhibitor is a novel functional inhibitor of human pregnane X receptor. **Drug Metab Dispos**, v. 36, n. 3, p. 500-7, Mar 2008. ISSN 0090-9556.

HELSEN, C.; CLAESSENS, F. Looking at nuclear receptors from a new angle. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 382, n. 1, p. 97-106, 2014. ISSN 0303-7207. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0303720713003717>>.

HENDERSON, L. et al. St John's wort (*Hypericum perforatum*): drug interactions and clinical outcomes. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 54, n. 4, p. 349-356, 2002. ISSN 0306-5251. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1874438/>>.

HIGGINS, L. G.; HAYES, J. D. Mechanisms of induction of cytosolic and microsomal glutathione transferase (GST) genes by xenobiotics and pro-inflammatory agents. **Drug Metab Rev**, v. 43, n. 2, p. 92-137, May 2011. ISSN 0360-2532.

HINSON, J. A.; ROBERTS, D. W.; JAMES, L. P. Mechanisms of acetaminophen-induced liver necrosis. **Handbook of experimental pharmacology**, n. 196, p. 369-405, 2010. ISSN 0171-2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20020268>>.

HIROSE, N. et al. Inhibition of cholesterol absorption and synthesis in rats by sesamin. **J Lipid Res**, v. 32, n. 4, p. 629-38, Apr 1991. ISSN 0022-2275 (Print) 0022-2275.

HOAT, T. X. et al. Development of a high-throughput method for the systematic identification of human proteins nuclear translocation potential. **BMC Cell Biol**, v. 10, p. 69, Sep 2009. ISSN 1471-2121.

HOGLE, B. C. et al. PXR as a mediator of herb-drug interaction. **J Food Drug Anal**, v. 26, n. 2s, p. S26-s31, Apr 2018. ISSN 1021-9498 (Print).

HOOKER, S.C. The constitution of "lapachic acid" (Lapachol) and his derivatives. **J. Chem. Soc., Trans.**, v. 61, p. 611-650, 1892.

HUANG, H. et al. Inhibition of drug metabolism by blocking the activation of nuclear receptors by ketoconazole. **Oncogene**, v. 26, n. 2, p. 258-68, Jan 11 2007. ISSN 0950-9232 (Print) 0950-

9232.

HUANG, P.; CHANDRA, V.; RASTINEJAD, F. Structural overview of the nuclear receptor superfamily: insights into physiology and therapeutics. **Annu Rev Physiol**, v. 72, p. 247-72, 2010. ISSN 0066-4278.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; FÁTIMA, Â. D. Glutathiona e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Química Nova**, v. 31, p. 1170-1179, 2008. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422008000500046&nrm=iso >.

HUSSAIN, H. et al. **Lapachol: an overview**: ARKIVOC, p. 145-171, 2007. Disponível em: < <http://www.arkat-usa.org/get-file/23192> >.

IBRAHIM, M. A. et al. Anti-trypanosomal activity of African medicinal plants: A review update. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 154, n. 1, p. 26-54, 2014. ISSN 0378-8741. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874114002876> >.

ICHIKAWA, T. et al. Steroid and xenobiotic receptor SXR mediates vitamin K2-activated transcription of extracellular matrix-related genes and collagen accumulation in osteoblastic cells. **J Biol Chem**, v. 281, n. 25, p. 16927-34, Jun 23 2006. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258.

IHUNNAH, C. A.; JIANG, M.; XIE, W. Nuclear receptor PXR, transcriptional circuits and metabolic relevance. **Biochim Biophys Acta**, v. 1812, n. 8, p. 956-63, Aug 2011. ISSN 0006-3002 (Print) 0006-3002.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Biological evaluation of devices - Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity**. Third edition, 2009.

IYER, M.; RESCHLY, E. J.; KRASOWSKI, M. D. Functional evolution of the pregnane X receptor. **Expert Opin Drug Metab Toxicol**, v. 2, n. 3, p. 381-97, Jun 2006. ISSN 1742-5255 (Print) 1742-5255.

IZZO, A. A. et al. Cardiovascular pharmacotherapy and herbal medicines: the risk of drug interaction. **Int J Cardiol**, v. 98, n. 1, p. 1-14, Jan 2005. ISSN 0167-5273 (Print) 0167-5273.

IZZO, A. A.; ERNST, E. Interactions between herbal medicines and prescribed drugs: an updated systematic review. **Drugs**, v. 69, n. 13, p. 1777-98, 2009. ISSN 0012-6667.

JANCOVA, P.; ANZENBACHER, P.; ANZENBACHEROVA, E. Phase II drug metabolizing enzymes. **Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub**, v. 154, n. 2, p. 103- 16, Jun 2010. ISSN 1213-8118 (Print) 1213-8118.

KAIGHN, M. E. et al. Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC-3). **Invest Urol**, v. 17, n. 1, p. 16-23, Jul 1979. ISSN 0021-0005 (Print) 0021-0005.

KAMINSKY, L. S.; ZHANG, Z. Y. Human P450 metabolism of warfarin. **Pharmacol Ther**, v. 73, n. 1, p. 67-74, 1997. ISSN 0163-7258 (Print) 0163-7258.

KANNO, Y. et al. Nigramide C is a natural agonist of human pregnane x receptor. **Drug Metab Dispos**, v. 42, n. 6, p. 1084-9, Jun 2014. ISSN 0090-9556.

_____. Alisol B 23-acetate from the rhizomes of *Alisma orientale* is a natural agonist of the human pregnane X receptor. **Phytomedicine**, v. 26, p. 22-27, Mar 15 2017. ISSN 0944-7113.

KAST, H. R. et al. Regulation of multidrug resistance-associated protein 2 (ABCC2) by the nuclear receptors pregnane X receptor, farnesoid X-activated receptor, and constitutive androstane receptor. **J Biol Chem**, v. 277, n. 4, p. 2908-15, Jan 25 2002. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258.

KAZIYAMA, V. M.; FERNANDES, M. J. B.; SIMONI, I. C. Atividade antiviral de extratos de plantas medicinais disponíveis comercialmente frente aos herpesvírus suíno e bovino. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 14, p. 522-528, 2012. ISSN 1516-0572. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722012000300015&nrm=iso >.

KIM, J. H. et al. Melanogenesis inhibition of beta-lapachone, a natural product from *Tabebuia avellanedae*, with effective in vivo lightening potency. **Arch Dermatol Res**, v. 307, n. 3, p. 229-38, Apr 2015. ISSN 0340-3696.

KIM, M. G.; JEON, J. H.; LEE, H. S. Larvicidal activity of the active constituent isolated from *Tabebuia avellanedae* bark and structurally related derivatives against three mosquito species. **J Agric Food Chem**, v. 61, n. 45, p. 10741-5, Nov 13 2013. ISSN 0021-8561.

KIM, T. K.; EBERWINE, J. H. Mammalian cell transfection: the present and the future. In: (Ed.). **Anal Bioanal Chem**. Berlin/Heidelberg, v.397, 2010. p.3173-8. ISBN 1618-2642 (Print) 1618-2650 (Electronic).

KLEMOW, K. M. et al. Medical Attributes of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*). In: ND; BENZIE, I. F. F., et al (Ed.). **Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects**. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis Llc, 2011.

KNIGHT, T. R.; CHOUDHURI, S.; KLAASSEN, C. D. Induction of Hepatic Glutathione S-Transferases in Male Mice by Prototypes of Various Classes of Microsomal Enzyme Inducers. **Toxicological Sciences**, v. 106, n. 2, p. 329-338, 2008. ISSN 1096-6080 1096-0929. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2581675/> >.

KODAMA, S. et al. Human nuclear pregnane X receptor cross-talk with CREB to repress cAMP activation of the glucose-6-phosphatase gene. **Biochem J**, v. 407, n. 3, p. 373-81, Nov 1 2007. ISSN 0264-6021.

KODAMA, S. et al. Liganded pregnane X receptor represses the human sulfotransferase SULT1E1 promoter through disrupting its chromatin structure. **Nucleic Acids Res**, v. 39, n. 19, p. 8392-403, Oct 2011. ISSN 0305-1048.

KODAMA, S.; NEGISHI, M. PXR cross-talks with internal and external signals in physiological and pathophysiological responses. **Drug Metab Rev**, v. 45, n. 3, p. 300-10, Aug 2013. ISSN 0360-2532.

KOJETIN, D. J.; BURRIS, T. P. Small Molecule Modulation of Nuclear Receptor Conformational Dynamics: Implications for Function and Drug Discovery. **Mol Pharmacol**, v. 83, n.1, p. 1-8, 2013. ISSN 1.

KONG, Q. et al. Co-expression of pregnane X receptor and ATP-binding cassette sub-family B member 1 in peripheral blood: A prospective indicator for drug resistance prediction in non- small cell lung cancer. **Oncol Lett**, v. 11, n. 5, p. 3033-3039, May 2016. ISSN 1792-1074

(Print) 1792-1074.

KOTA, B. P. et al. Characterization of PXR mediated P-glycoprotein regulation in intestinal LS174T cells. **Pharmacol Res**, v. 62, n. 5, p. 426-31, Nov 2010. ISSN 1043-6618.

KOTIYA, D. et al. Role of PXR in Hepatic Cancer: Its Influences on Liver Detoxification Capacity and Cancer Progression. **PLoS One**, v. 11, n. 10, p. e0164087, 2016. ISSN 1932-6203.

KRAUSOVA, L. et al. Metformin suppresses pregnane X receptor (PXR)-regulated transactivation of CYP3A4 gene. **Biochem Pharmacol**, v. 82, n. 11, p. 1771-80, Dec 1 2011. ISSN 0006-2952.

KREHER, B. et al. New Furanonaphthoquinones and other Constituents of *Tabebuia avellaneda* and their Immunomodulating Activities in vitro. **Planta Med**, v. 54, n. 6, p. 562-3, Dec 1988. ISSN 0032-0943 (Print) 0032-0943.

KUMAGAI, T. et al. Indirubin, a component of Ban-Lan-Gen, activates CYP3A4 gene transcription through the human pregnane X receptor. **Drug Metab Pharmacokinet**, v. 31, n. 2, p. 139-45, Apr 2016. ISSN 1347-4367.

KUMARI, S.; MUKHOPADHYAY, G.; TYAGI, R. K. Transcriptional Regulation of Mouse PXR Gene: An Interplay of Transregulatory Factors. **PLoS ONE**, San Francisco, USA, v. 7, n. 8, p. e44126, 2012. ISSN 1932-6203. Disponível em: <

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3429448/> >.

KWATRA, D. et al. Bitter melon extracts enhance the activity of chemotherapeutic agents through the modulation of multiple drug resistance. **J Pharm Sci**, v. 102, n. 12, p. 4444-54, Dec 2013. ISSN 0022-3549.

LAMBA, V. et al. PXR (NR1I2): splice variants in human tissues, including brain, and identification of neurosteroids and nicotine as PXR activators. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 199, n. 3, p. 251-65, Sep 2004. ISSN 0041-008X (Print) 0041-008x.

LAU, A. J. et al. Human pregnane X receptor agonism by *Ginkgo biloba* extract: assessment of the role of individual ginkgolides. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 335, n. 3, p. 771-80, Dec 2010. ISSN 0022-3565.

LE GUEVEL, R. et al. Inactivation of the Nuclear Orphan Receptor COUP-TFII by Small Chemicals. **ACS Chem Biol**, v. 12, n. 3, p. 654-663, Mar 2017. ISSN 1554-8929.

LEFEBVRE, P. et al. Transcriptional Activities of Retinoic Acid Receptors. **Vitamins & Hormones**, v. 70, p. 199–264, 2005.

LEHMANN, J. M. et al. The human orphan nuclear receptor PXR is activated by compounds that regulate CYP3A4 gene expression and cause drug interactions. **J Clin Invest**, v. 102, n. 5, p. 1016-23, Sep 1998. ISSN 0021-9738 (Print) 0021-9738.

LI, T.; CHIANG, J. Y. Mechanism of rifampicin and pregnane X receptor inhibition of human cholesterol 7 alpha-hydroxylase gene transcription. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 288, n. 1, p. G74-84, Jan 2005. ISSN 0193-1857 (Print) 0193-1857.

LI, T. et al. Targeting the pregnane X receptor in liver injury. **Expert opinion on therapeutic targets**, v. 16, n. 11, p. 1075-1083, 2012. ISSN 1744-7631.

LIM, S. W. et al. Reduction of MTT to Purple Formazan by Vitamin E Isomers in the Absence of Cells. In: (Ed.). **Trop Life Sci Res**, v.26, 2015. p.111-20. ISBN 1985-3718 (Print) 2180-4249 (Electronic).

LIM, Y.-P. et al. Sesamin: A Naturally Occurring Lignan Inhibits CYP3A4 by Antagonizing the Pregnane X Receptor Activation. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, p. 15, 2012. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1155/2012/242810> >.

LIM, Y. P. et al. Allyl isothiocyanate (AITC) inhibits pregnane X receptor (PXR) and constitutive androstane receptor (CAR) activation and protects against acetaminophen- and amiodarone-induced cytotoxicity. **Arch Toxicol**, v. 89, n. 1, p. 57-72, Jan 2015. ISSN 0340-5761.

LIM, Y. P.; HUANG, J. D. Interplay of pregnane X receptor with other nuclear receptors on gene regulation. **Drug Metab Pharmacokinet**, v. 23, n. 1, p. 14-21, 2008. ISSN 1347-4367.

LIN, W. et al. SPA70 is a potent antagonist of human pregnane X receptor. **Nature Communications**, v. 8, n. 1, p. 741, 2017. ISSN 2041-1723. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41467-017-00780-5>>.

LIU, C. **Pregnane X Receptor SUMOylation and De-SUMOylation**. 2014. 107 p. (Master of Science). University of Kansas, United States, 2014.

LIU, S.; DOWNES, M.; EVANS, R. M. **Metabolic Regulation by Nuclear Receptors**. 2015, Tokyo. Springer Japan. p. 25-37.

LIU, Y.; SCHUBERT, D. Cytotoxic amyloid peptides inhibit cellular 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction by enhancing MTT formazan exocytosis. **J Neurochem**, v. 69, n. 6, p. 2285-93, Dec 1997. ISSN 0022-3042 (Print) 0022-3042.

LIU, Y. H. et al. Regulation of human pregnane X receptor and its target gene cytochrome P450 3A4 by Chinese herbal compounds and a molecular docking study. **Xenobiotica**, v. 41, n. 4, p. 259-80, Apr 2011. ISSN 0049-8254.

LOHMANN, L.G. *Bignoniaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB114258>>. Acesso em. 27/12/2018.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. 2.ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008.

LU, L. et al. Exocytosis of MTT formazan could exacerbate cell injury. **Toxicol In Vitro**, v. 26, n. 4, p. 636-44, Jun 2012. ISSN 0887-2333.

LUCEY, B. P.; NELSON-REES, W. A.; HUTCHINS, G. M. Henrietta Lacks, HeLa cells, and cell culture contamination. **Arch Pathol Lab Med**, v. 133, n. 9, p. 1463-7, Sep 2009. ISSN 0003-9985.

LUO, G. et al. CYP3A4 induction by drugs: correlation between a pregnane X receptor reporter gene assay and CYP3A4 expression in human hepatocytes. **Drug Metab Dispos**, v. 30, n. 7, p. 795-804, Jul 2002. ISSN 0090-9556 (Print) 0090-9556.

MACHADO, T. B. et al. In vitro activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analogues, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Int J Antimicrob Agents**, v. 21, n. 3, p. 279-84, Mar 2003. ISSN 0924-8579 (Print) 0924-8579.

MAGLICH, J. M. et al. Nuclear pregnane x receptor and constitutive androstane receptor

regulate overlapping but distinct sets of genes involved in xenobiotic detoxification. **Mol Pharmacol**, v. 62, n. 3, p. 638-46, Sep 2002. ISSN 0026-895X (Print) 0026-895x.

MAMINDLA, S.; PRASAD, K.V.S.R.G.; KOGANTI, B. Herb-Drug Interactions: An Overview of Mechanisms and Clinical Aspects. **Int J Pharm Sci Res**, v.7, n. 9, p. 3576-862016, 2016. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.7(9).3576-86.

MANGELSDORF, D. J. et al. The nuclear receptor superfamily: the second decade. **Cell**, v. 83, n. 6, p. 835-9, Dec 15 1995. ISSN 0092-8674 (Print) 0092-8674.

MANI, S.; DOU, W.; REDINBO, M. R. PXR antagonists and implication in drug metabolism.

Drug Metab Rev, v. 45, n. 1, p. 60-72, Feb 2013. ISSN 0360-2532.

MARTINS, L.; LAGO, A. A. D.; CICERO, S. M. Qualidade fisiológica de sementes de *Tabebuia avellanedae* e *Tabebuia impetiginosa* à ultra-secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, 2011. vol.33, n.4, p.626-634. ISSN 0101-3122.

MASEREEUW, R.; RUSSEL, F. G. Regulatory pathways for ATP-binding cassette transport proteins in kidney proximal tubules. **Aaps j**, v. 14, n. 4, p. 883-94, Dec 2012. ISSN 1550-7416.

MATA-SANTOS, T. et al. Anthelmintic activity of lapachol, beta-lapachone and its derivatives against *Toxocara canis* larvae. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 57, n. 3, p. 197-204, May-Jun 2015. ISSN 0036-4665.

MATTIA, C.; COLUZZI, F. What anesthesiologists should know about paracetamol (acetaminophen). **Minerva Anestesiol**, v. 75, n. 11, p. 644-53, Nov 2009. ISSN 0375-9393.

MAZZARI, A. L. D. A. In vitro effects of selected medicinal plants shortlisted for clinical use in the Brazilian public health system in CYP3A4 mRNA gene expression, glutathione levels and P-Glycoprotein activity and their implications for herb-drug interactions. 2017. 339p. Thesis (Doutorate in Pharmacognosy) – School of Pharmacy, University of London, United Kingdom. 2017.

MAZZARI, A. L. et al. In vitro Effects of Four Native Brazilian Medicinal Plants in CYP3A4 mRNA Gene Expression, Glutathione Levels, and P-Glycoprotein Activity. **Front Pharmacol**, v. 7, p. 265, 2016. ISSN 1663-9812 (Print) 1663-9812.

MCCORMACK, P. L. Pazopanib: a review of its use in the management of advanced renal cell carcinoma. **Drugs**, v. 74, n. 10, p. 1111-25, Jul 2014. ISSN 0012-6667.

MERCANDELI, A. L. A. et al. Evidence for the Safe Use of the Extract from the Brazilian Arnica, *Solidago chilensis* Meyen, in Primary Health Care. **Chinese Medicine**, v. Vol.03No.01, p. 5, 2012. Disponível em: <http://www.scirp.org/journal/PaperInformation.aspx?PaperID=18048

>.

MESSINA, A. et al. Expression and inducibility of CYP1A1, 1A2, 1B1 by beta-naphthoflavone and CYP2B2, CYP3As by rifampicin in heart regions and coronary arteries of pig. **Res Vet Sci**, v. 94, n. 1, p. 77-83, Feb 2013. ISSN 0034-5288.

MITTAL, B. et al. Cytochrome P450 in Cancer Susceptibility and Treatment. **Adv Clin Chem**, v. 71, p. 77-139, 2015. ISSN 0065-2423 (Print) 0065-2423.

MIZUSAKI, H. et al. Dax-1 (dosage-sensitive sex reversal-adrenal hypoplasia congenita critical region on the X chromosome, gene 1) gene transcription is regulated by wnt4 in the female developing gonad. **Mol Endocrinol**, v. 17, n. 4, p. 507-19, Apr 2003. ISSN 0888-8809 (Print) 0888-8809.

MOLINARI, B. L. et al. Kinetics of MTT-formazan exocytosis in phagocytic and non-phagocytic cells. **Micron**, v. 36, n. 2, p. 177-83, 2005. ISSN 0968-4328 (Print) 0968-4328.

MOOIMAN, K. D. et al. Milk thistle's active components silybin and isosilybin: novel inhibitors of PXR-mediated CYP3A4 induction. **Drug Metab Dispos**, v. 41, n. 8, p. 1494-504, Aug 2013. ISSN 0090-9556.

MOORE, L. B. et al. St. John's wort induces hepatic drug metabolism through activation of the pregnane X receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, n. 13, p. 7500-7502, 2000. ISSN 0027-8424 1091-6490. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC16574/> >.

MORAIS, L. A. S. D. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Hortic bras**, v. 27, n. 2, p. S4050- S4063, 2009.

MOREL, A. F. et al. Antimicrobial activity of extractives of *Solidago microglossa*. **Fitoterapia**, v. 77, n. 6, p. 453-455, 2006. ISSN 0367-326X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X06001298> >.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J Immunol Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, Dec 16 1983. ISSN 0022-1759 (Print) 0022-1759.

MU, Y. et al. Traditional Chinese medicines Wu Wei Zi (*Schisandra chinensis* Baill) and Gan Cao (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) activate pregnane X receptor and increase warfarin clearance in rats. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 316, n. 3, p. 1369-77, Mar 2006. ISSN 0022-3565 (Print) 0022-3565.

NAGAOKA, R. et al. Tamoxifen activates CYP3A4 and MDR1 genes through steroid and xenobiotic receptor in breast cancer cells. **Endocrine**, v. 30, n. 3, p. 261-8, Dec 2006. ISSN

1355-008X (Print) 1355-008x.

NAKANO, K. et al. Iridoids from *Tabebuia avellanedae*. **Phytochemistry**, v. 32, n. 2, p. 371-373, 1993. ISSN 0031-9422. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942200949963>>.

NALLANI, S. C. et al. Dose-dependent induction of cytochrome P450 (CYP) 3A4 and activation of pregnane X receptor by topiramate. **Epilepsia**, v. 44, n. 12, p. 1521-8, Dec 2003. ISSN 0013-9580 (Print) 0013-9580.

NARAYANAN, B. et al. Probing Ligand Structure-Activity Relationships in Pregnane X Receptor (PXR): Efavirenz and 8-Hydroxyefavirenz Exhibit Divergence in Activation. **ChemMedChem**, v. 13, n. 7, p. 736-747, Apr 2018. ISSN 1860-7179.

NASCIMENTO, C. C. H. C. et al. Analysis of hypoglycemic effect of an aqueous extract of *Costus spicatus* on F1 mice subjected to hyperglycemic diet. **Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.**, v. 3, n. 2, p. 99-107, 2016.

NASSAR, A. F. **Drug Metabolism Handbook: Concepts and Applications**. Wiley, 2009. ISBN 9780470439258. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?id=PQoVsVPqo1kC>>.

NAVARATNARAJAH, P. et al. Rifampicin-independent interactions between the pregnane X receptor ligand binding domain and peptide fragments of coactivator and corepressor proteins. **Biochemistry**, v. 51, n. 1, p. 19-31, Jan 2012. ISSN 0006-2960.

NETO, M. A. F. et al. Systemic use of *Solidago microglossa* DC in the cicatrization of open cutaneous wounds in rats. **Braz. J. morphol. Sci.**, v. 21, n. 4, p. 207-210, 2004. ISSN 0102-9010.

NGAN, C.-H. et al. The structural basis of pregnane X receptor binding promiscuity. **Biochem**, v.48, n.48, p. 11572-11581, 2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2789303/pdf/nihms-157957.pdf>>.

ONG, S. S. et al. Pregnane X Receptor in Drug Development. In: RUNDFELDT, D. C. (Ed.). **Drug Development - A Case Study Based Insight into Modern Strategies**, 2011. cap. 13, p.654.

PAES, L. S.; MENDONÇA, M. S.; CASAS, L. L. Aspectos Estruturais e Fitoquímicos de partes vegetativas de *Costus spicatus* (Jacq.) Sw. (Costaceae). **Rev. bras. plantas med.** [online], v.15, p.380-390, 2013.

PANJA, S. et al. Role of membrane potential on artificial transformation of E. coli with plasmid DNA. **J Biotechnol**, v. 127, n. 1, p. 14-20, Dec 2006. ISSN 0168-1656 (Print) 0168-1656.

PARK, H. J. et al. Oral administration of taheebo (*Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb.) water extract prevents DSS-induced colitis in mice by up-regulating type II T helper immune responses. **BMC Complement Altern Med**, v. 17, n. 1, p. 448, Sep 2017. ISSN 1472-6882.

PARK, J. G. et al. Tabetri™ (*Tabebuia avellanedae* Ethanol Extract) Ameliorates Osteoarthritis Symptoms Induced by Monoiodoacetate through Its Anti-Inflammatory and Chondroprotective Activities. **Mediators of Inflammation**, v. 2017, p. 14, 2017. Disponível em: < <https://doi.org/10.1155/2017/3619879> >.

PASCUAL, G.; GLASS, C. K. Nuclear receptors versus inflammation: mechanisms of transrepression. **Trends Endocrinol Metab**, v. 17, n. 8, p. 321-7, Oct 2006. ISSN 1043-2760 (Print) 1043-2760.

PASCUSSI, J. M. et al. Dexamethasone induces pregnane X receptor and retinoid X receptor-alpha expression in human hepatocytes: synergistic increase of CYP3A4 induction by pregnane X receptor activators. **Mol Pharmacol**, v. 58, n. 2, p. 361-72, Aug 2000. ISSN 0026-895X (Print) 0026-895x.

PATERNÒ, E. Ricerche sull'acido lapacico. **Gazz. Chim. Ital.**, v. 12, p. 337-392, 1882.

PAVEK, P. Pregnane X Receptor (PXR)-Mediated Gene Repression and Cross-Talk of PXR with Other Nuclear Receptors via Coactivator Interactions. **Front Pharmacol**, v. 7, p. 456, 2016. ISSN 1663-9812 (Print) 1663-9812.

PAWLAK, M.; LEFEBVRE, P.; STAELS, B. General molecular biology and architecture of nuclear receptors. **Curr Top Med Chem**, v. 12, n. 6, p. 486-504, 2012. ISSN 1568-0266 (Print).

PEREIRA, I. T. et al. Antiulcer effect of bark extract of *Tabebuia avellanedae*: activation of cell proliferation in gastric mucosa during the healing process. **Phytother Res**, v. 27, n. 7, p. 1067-73, Jul 2013. ISSN 0951-418x.

PEREIRA, L. S. et al. Cadmium induced changes in *Solidago chilensis* Meyen (Asteraceae) grown on organically fertilized soil with reference to mycorrhizae, metabolism, anatomy and ultrastructure. **Ecotoxicol Environ Saf**, v. 150, p. 76-85, Apr 2018. ISSN 0147-6513.

PEREIRA DA SILVA, B.; BERNARDO, R. R.; PARENTE, J. P. A furostanol glycoside from rhizomes of *Costus spicatus*. **Phytochemistry**, v. 51, n. 7, p. 931-935, 1999. ISSN 0031-9422. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942299000771> >.

PICANCO, L. C. et al. Pharmacological activity of *Costus spicatus* in experimental Bothrops atrox envenomation. **Pharm Biol**, v. 54, n. 10, p. 2103-10, Oct 2016. ISSN 1388-0209.

PIMENTEL, V. et al. Biodiversidade brasileira como fonte da inovação farmacêutica: uma nova esperança?. *Revista do BNDES*, Rio de Janeiro, n.43 , p. 41-89, jun. 2015.

PONDUGULA, S. R.; MANI, S. Pregnane xenobiotic receptor in cancer pathogenesis and therapeutic response. **Cancer Lett**, v. 328, n. 1, p. 1-9, Jan 2013. ISSN 0304-3835.

PONDUGULA, S. R.; PAVEK, P.; MANI, S. Pregnane X Receptor and Cancer: Context-Specificity is Key. **Nucl Receptor Res**, v. 3, Jun 12 2016. ISSN 2314-5706 (Print) 2314-5706.

POSADZKI, P.; WATSON, L.; ERNST, E. Herb-drug interactions: an overview of systematic reviews. **Br J Clin Pharmacol**, v. 75, n. 3, p. 603-18, Mar 2013. ISSN 0306-5251.

POULTON, E. J. et al. Sulforaphane is not an effective antagonist of the human pregnane X-receptor in vivo. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 266, n. 1, p. 122-31, Jan 2013. ISSN 0041-008x.

PRAKASH, C. et al. Nuclear Receptors in Drug Metabolism, Drug Response and Drug Interactions. **Nucl Receptor Res**, v. 2, 2015. ISSN 2314-5706 (Print) 2314-5706.

QIAO, E. et al. Expression of the PXR gene in various types of cancer and drug resistance. **Oncol Lett**, v. 5, n. 4, p. 1093-1100, Apr 2013. ISSN 1792-1074 (Print) 1792-1074.

QUINTANS JUNIOR, L. J. et al. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Costus spicatus* in experimental animals. **Pharm Biol**, v. 48, n. 10, p. 1097-102, Oct 2010. ISSN 1388-0209.

RAHIMZADEH, M. et al. Impact of heat shock step on bacterial transformation efficiency. In: (Ed.). **Mol Biol Res Commun**. Shiraz, Iran, v.5, 2016. p.257-61. ISBN 2322-181X (Print) 2345-2005 (Electronic).

RANG, H. P. et al. **Rang & Dale Farmacologia: Como agem os fármacos: Princípios gerais**.

7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

RANHOTRA, H. S. The NR4A orphan nuclear receptors: mediators in metabolism and diseases. **J Recept Signal Transduct Res**, v. 35, n. 2, p. 184-8, Apr 2015. ISSN 1079-9893.

RASMUSSEN, M. K.; KLAUSEN, C. L.; EKSTRAND, B. Regulation of cytochrome P450 mRNA expression in primary porcine hepatocytes by selected secondary plant metabolites from chicory (*Cichorium intybus* L.). **Food Chem**, v. 146, p. 255-63, Mar 2014. ISSN 0308-8146.

RASTINEJAD, F. et al. Understanding Nuclear Receptor Form and Function Using Structural Biology. **J Mol Endocrinol**, v. 51, n. 3, p. T1-t21, Dec 2013. ISSN 0952-5041 (Print).

RATAJEWSKI, M. et al. Screening of a chemical library reveals novel PXR-activating pharmacologic compounds. **Toxicol Lett**, v. 232, n. 1, p. 193-202, Jan 05 2015. ISSN 0378-4274.

RICOTE, M.; GLASS, C. K. PPARs and molecular mechanisms of transrepression. **Biochim Biophys Acta**, v. 1771, n. 8, p. 926-35, Aug 2007. ISSN 0006-3002 (Print) 0006-3002.

ROBERTSON, S.; PENZAK, S. Chapter 15 - Drug Interactions. In: ATKINSON, A. J.; ABERNETHY, D. R., *et al* (Ed.). **Principles of Clinical Pharmacology (Second Edition)**. Burlington: Academic Press, 2007. p. 229-247. ISBN 978-0-12-369417-1.

ROBINSON-RECHAVI, M.; ESCRIVA GARCIA, H.; LAUDET, V. The nuclear receptor superfamily. **J Cell Sci**, v. 116, n. Pt 4, p. 585-6, Feb 2003. ISSN 0021-9533 (Print) 0021-9533.

ROSA, R. L.; BARCELOS, A. L. V.; BAMPI, G. Investigação do uso de plantas medicinais no tratamento de indivíduos com diabetes melito na cidade de Herval D' Oeste - SC. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, p. 306-310, 2012. ISSN 1516-0572. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722012000200009&nrm=iso>.

RUFF, M. et al. Estrogen receptor transcription and transactivation: Structure-function relationship in DNA- and ligand-binding domains of estrogen receptors. **Breast Cancer Res.**, v. 2, n.5, p. 353-359, 2000.

SABIR, S. M. et al. Antioxidant and hepatoprotective activity of ethanolic extract of leaves of *Solidago microglossa* containing polyphenolic compounds. **Food Chemistry**, v. 131, n. 3, p. 741-747, 2012. ISSN 0308-8146. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814611012830>>.

SACHAR, M.; MA, X. Nuclear receptors in herb-drug interactions. **Drug Metab Rev**, v. 45, n. 1, p. 73-8, Feb 2013. ISSN 0360-2532.

SAFE, S. et al. Minireview: Role Of Orphan Nuclear Receptors in Cancer and Potential as Drug Targets. **Molecular Endocrinology**, v. 28, n. 2, p. 157-172, 2014. ISSN 0888-8809. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1210/me.2013-1291>>.

SANDLER, B. et al. Thyroxine-thyroid hormone receptor interactions. **J Biol Chem**, v. 279, n. 53, p. 55801-8, Dec 31 2004. ISSN 0021-9258.

SARADHI, M. E. A. et al. Pregnane and Xenobiotic Receptor (PXR): a Promiscuous Xenosensor in Human Health and Disease. . **Journal of Endocrinology and Reproduction**, v. [S.l.], p. 1-12 2006. ISSN 2455-1244. Disponível em: <<http://www.informaticsjournals.com/index.php/jer/article/view/6094>>.

SARRIS, J. et al. Kava in the treatment of generalized anxiety disorder: a double-blind,

randomized, placebo-controlled study. **J Clin Psychopharmacol**, v. 33, n. 5, p. 643-8, Oct 2013. ISSN 0271-0749.

SASIDHARAN, S. et al. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. **Afr J Tradit Complement Altern Med**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2011. ISSN 2505-0044.

SAVITHRAMMA, N.; LINGA RAO, M.; ANKANNA, S. Screening of Medicinal Plants for Secondary Metabolites. **Middle-East Journal of Scientific Research**, v. 8, p. 579-584, 2011. ISSN 1990-9233.

SCHEER, N. et al. In vivo responses of the human and murine pregnane X receptor to dexamethasone in mice. **Drug Metab Dispos**, v. 38, n. 7, p. 1046-53, Jul 2010. ISSN 0090-9556.

SCHULTHESS, P. **Thermodynamic modeling explains the regulation of CYP1A1 expression in the liver**. Dissertation (Doctor rerum naturalium) im Fach Biophysik. 2016. Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin.

SCHWAB, M. **Encyclopedia of Cancer**. Springer Berlin Heidelberg, 2008. ISBN 9783540368472. Disponível em: < <https://books.google.com.br/books?id=mLUEf1kbbDgC> >.

SCHWARZ, U. I.; BUSCHEL, B.; KIRCH, W. Unwanted pregnancy on self-medication with St John's wort despite hormonal contraception. In: (Ed.). **Br J Clin Pharmacol**. England, v.55, 2003. p.112-3. ISBN 0306-5251 (Print) 0306-525.

SEN, T.; SAMANTA, S. K. Medicinal plants, human health and biodiversity: a broad review. **Adv Biochem Eng Biotechnol**, v. 147, p. 59-110, 2015. ISSN 0724-6145 (Print) 0724-6145.

SEVER, R.; GLASS, C. K. Signaling by Nuclear Receptors. **Cold Spring Harb Perspect Biol.**, v.5, n.3, 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3578364/pdf/cshperspect-SIG-a016709.pdf> >.

SHIN, I. S.; MASUDA, H.; NAOHIDE, K. Bactericidal activity of wasabi (*Wasabia japonica*) against *Helicobacter pylori*. **Int J Food Microbiol**, v. 94, n. 3, p. 255-61, Aug 1 2004. ISSN 0168-1605 (Print) 0168-1605.

SHUKLA, S. J. et al. Identification of clinically used drugs that activate pregnane X receptors. **Drug Metab Dispos**, v. 39, n. 1, p. 151-9, Jan 2011. ISSN 0090-9556.

SILVA, D. N. et al. Antifungal activity of a flavonoid-rich fraction from *Costus spicatus* leaves against dermatophytes. **Planta Medica**, v. 53, p. 87-92, 2008.

SIMPSON, W. J.; SMITH, A. R. Factors affecting antibacterial activity of hop compounds and

their derivatives. **J Appl Bacteriol**, v. 72, n. 4, p. 327-34, Apr 1992. ISSN 0021-8847 (Print) 0021-8847.

SINZ, M. et al. Evaluation of 170 xenobiotics as transactivators of human pregnane X receptor (hPXR) and correlation to known CYP3A4 drug interactions. **Curr Drug Metab**, v. 7, n. 4, p. 375-88, May 2006. ISSN 1389-2002 (Print) 1389-2002.

SINZ, M. W. Evaluation of pregnane X receptor (PXR)-mediated CYP3A4 drug-drug interactions in drug development. **Drug Metabolism Reviews**, v. 45, n. 1, p. 3-14, 2013. ISSN 0360-2532. Disponível em: < <https://doi.org/10.3109/03602532.2012.743560> >.

SMOLAREK, F. S. F. Contribuição ao estudo fitoquímico, toxicológico e das atividades biológicas da espécie vegetal *Solidago microglossa* DC. (Compositae). 2011. 140 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SMUTNY, T.; DUINTJER TEBBENS, J.; PAVEK, P. Bioinformatic analysis of miRNAs targeting the key nuclear receptors regulating CYP3A4 gene expression: The challenge of the CYP3A4 “missing heritability” enigma. **Journal of Applied Biomedicine**, v. 13, n. 3, p. 181-188, 2015. ISSN 1214-021X. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1214021X15000241> >.

SMUTNY, T.; PAVEK, P. Resveratrol as an inhibitor of pregnane X receptor (PXR): another lesson in PXR antagonism. **J Pharmacol Sci**, v. 126, n. 2, p. 177-8, 2014. ISSN 1347-8613.

SNYDER, B. D.; POLASEK, T. M.; DOOGUE, M. P. Drug interactions: principles and practice. **Australian Prescriber**, v. 35, p. 85-88, 2012. Disponível em: <<https://www.nps.org.au/australian-prescriber/articles/drug-interactions-principles-and-practice#article> >.

SOFOWORA, A.; OGUNBODEDE, E.; ONAYADE, A. The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention. **Afr J Tradit Complement Altern Med**, v. 10, n. 5, p. 210-29, Aug 2013. ISSN 2505-0044.

SONODA, J. et al. A nuclear receptor-mediated xenobiotic response and its implication in drug metabolism and host protection. **Curr Drug Metab**, v. 4, n. 1, p. 59-72, Feb 2003. ISSN 1389-2002 (Print) 1389-2002.

SONODA, J.; PEI, L.; EVANS, R. M. Nuclear receptors: Decoding metabolic disease. **FEBS Letters**, v. 582, n. 1, p. 2-9, 2008. ISSN 0014-5793. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S001457930701160X> >.

SOUZA, D. C. L. Técnicas moleculares para caracterização e conservação de plantas medicinais e aromáticas: uma revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, p. 495-503, 2015. ISSN 1516-0572. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-

05722015000300495&nrm=iso >.

SOUZA-SILVA, F. et al. Evidences for leishmanicidal activity of the naphthoquinone derivative epoxy-alpha-lapachone. **Exp Parasitol**, v. 147, p. 81-4, Dec 2014. ISSN 0014-4894.

STAUDINGER, J. et al. **The nuclear receptor PXR is a lithocholic acid sensor that protects against liver toxicity**, v. 98, n.6, p. 3369-3374, 2001.

STAUDINGER, J. L.; DING, X.; LICHTI, K. Pregnane X receptor and natural products: beyond drug-drug interactions. **Expert Opin Drug Metab Toxicol**, v. 2, n. 6, p. 847-57, Dec 2006. ISSN 1742-5255 (Print) 1742-5255.

STEGER, G.; SCHNABEL, C.; SCHMIDT, H. M. The hinge region of the human papillomavirus type 8 E2 protein activates the human p21(WAF1/CIP1) promoter via interaction with Sp1. **J Gen Virol**, v. 83, n. Pt 3, p. 503-10, Mar 2002. ISSN 0022-1317 (Print) 0022-1317.

STEPANENKO, A. A.; DMITRENKO, V. V. Pitfalls of the MTT assay: Direct and off-target effects of inhibitors can result in over/underestimation of cell viability. **Gene**, v. 574, n. 2, p. 193-203, Dec 2015. ISSN 0378-1119.

SUO, M. et al. Anti-inflammatory constituents from *Tabebuia avellanedae*. **Fitoterapia**, v. 83, n. 8, p. 1484-8, Dec 2012. ISSN 0367-326x.

_____. Bioactive phenylpropanoid glycosides from *Tabebuia avellanedae*. **Molecules**, v. 18, n. 7, p. 7336-45, Jun 2013. ISSN 1420-3049.

SUO, M. R.; YAN, S. Y. Iridoid Glycosides from *Tabebuia avellanedae*. **Chem Biodivers**, v. 13, n. 12, p. 1611-1616, Dec 2016. ISSN 1612-1872.

SYNOLD, T. W.; DUSSAULT, I.; FORMAN, B. M. The orphan nuclear receptor SXR coordinately regulates drug metabolism and efflux. **Nat Med**, v. 7, n. 5, p. 584-90, May 2001. ISSN 1078-8956 (Print) 1078-8956.

SZKUDELSKI, T.; SZKUDELSKA, K. Resveratrol and diabetes: from animal to human studies. **Biochim Biophys Acta**, v. 1852, n. 6, p. 1145-54, Jun 2015. ISSN 0006-3002 (Print) 0006-3002.

TABB, M. M. et al. Vitamin K2 regulation of bone homeostasis is mediated by the steroid and xenobiotic receptor SXR. **J Biol Chem**, v. 278, n. 45, p. 43919-27, Nov 2003. ISSN 0021-9258 (Print) 0021-9258.

TAXAK, N.; BHARATAM, P. V. Drug metabolism: A fascinating link between chemistry and

biology. **Resonance**, v. 19, n. 3, p. 259-282, 2014.

TEBBENS, J. D. et al. Mathematical Models in the Description of Pregnane X Receptor (PXR)-Regulated Cytochrome P450 Enzyme Induction. **Int J Mol Sci**, v. 19, n. 6, Jun 2018. ISSN 1422-0067.

TEOTICO, D. G. et al. Structural basis of human pregnane X receptor activation by the hops constituent colupulone. **Mol Pharmacol**, v. 74, n. 6, p. 1512-20, Dec 2008. ISSN 0026-895x.

THORNE, N.; INGLESE, J.; AULD, D. S. Illuminating insights into firefly luciferase and other bioluminescent reporters used in chemical biology. **Chemistry & biology**, v. 17, n. 6, p. 646-657, 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2925662/> >.

TISSERAND, R.; YOUNG, R. 4 - Kinetics and dosing. In: TISSERAND, R. e YOUNG, R. (Ed.). **Essential Oil Safety (Second Edition)**. St. Louis: Churchill Livingstone, 2014. p. 39-67. ISBN 978-0-443-06241-4.

TOLSON, A. H.; WANG, H. Regulation of drug-metabolizing enzymes by xenobiotic receptors: PXR and CAR. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 62, n. 13, p. 1238-49, Oct 2010. ISSN 0169-409x.

TOVAR-PALACIO, C. et al. The role of nuclear receptors in the kidney in obesity and metabolic syndrome. **Genes Nutr**, v. 7, n. 4, p. 483-98, Oct 2012. ISSN 1555-8932.

TUCKERMANN, J.; BOURGUET, W.; MANDRUP, S. Meeting Report: Nuclear Receptors: Transcription Factors and Drug Targets Connecting Basic Research with Translational Medicine. **Mol Endocrinol**, v. 24, n. 7, p. 1311–1321, 2010. doi: 10.1210/me.2010-0083, 2010. ISSN 7.

TWENTYMAN, P. R.; LUSCOMBE, M. A study of some variables in a tetrazolium dye (MTT) based assay for cell growth and chemosensitivity. **Br J Cancer**, v. 56, n. 3, p. 279-85, Sep 1987. ISSN 0007-0920 (Print).

UEDA, S. et al. Production of anti-tumour-promoting furano-naphthoquinones in *Tabebuia avellaneda* cell cultures. **Phytochemistry**, v. 36, n. 2, p. 323-325, 1994. ISSN 0031-9422. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942200970699> >.

ULIANA, M. P. et al. In vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Costus spicatus* Swartz used in Folk Medicine for Urinary Tract Infection in Brazil. **Lat. Am. J. Pharm.**, v. 34, n. 4, p. 766-772, 2015.

URQUHART, B. L.; TIRONA, R. G.; KIM, R. B. Nuclear receptors and the regulation of drug-metabolizing enzymes and drug transporters: implications for interindividual variability in response to drugs. **J Clin Pharmacol**, v. 47, n. 5, p. 566-78, May 2007. ISSN 0091-2700 (Print)

0091-2700.

VAN BOGAERT, I. N. et al. The role of cytochrome P450 monooxygenases in microbial fatty acid metabolism. **FEBS J**, v. 278, n. 1742-4658 (Electronic), p. 206-221, 2011.

VAN DER AAR, E. M. et al. Structure-activity relationships for chemical and glutathione S-transferase-catalysed glutathione conjugation reactions of a series of 2-substituted 1-chloro-4-nitrobenzenes. **Biochem J**, v. 320 (Pt 2), p. 531-40, Dec 1996. ISSN 0264-6021 (Print) 0264-6021.

VICKERS, A.; ZOLLMAN, C.; LEE, R. Herbal medicine. **Western Journal of Medicine**, v. 175, n. 2, p. 125-128, 2001. ISSN 0093-0415. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1071505/> >.

WAGNER, M. et al. CAR and PXR agonists stimulate hepatic bile acid and bilirubin detoxification and elimination pathways in mice. **Hepatology**, v. 42, n. 2, p. 420-30, Aug 2005. ISSN 0270-9139 (Print) 0270-9139.

WAGNER, M.; ZOLLNER, G.; TRAUNER, M. Nuclear receptors in liver disease. **Hepatology**, v. 53, n. 3, p. 1023-34, Mar 2011. ISSN 0270-9139.

WANG, H. et al. Activated pregnenolone X-receptor is a target for ketoconazole and its analogs. **Clin Cancer Res**, v. 13, n. 8, p. 2488-95, Apr 2007. ISSN 1078-0432 (Print) 1078-0432.

WANG, H.; LECLUYSE, E. L. Role of orphan nuclear receptors in the regulation of drug-metabolising enzymes. **Clin Pharmacokinet**, v. 42, n. 15, p. 1331-57, 2003. ISSN 0312-5963 (Print) 0312-5963.

WANG, H. et al. The phytoestrogen coumestrol is a naturally occurring antagonist of the human pregnane X receptor. **Mol Endocrinol**, v. 22, n. 4, p. 838-57, Apr 2008. ISSN 0888-8809 (Print) 0888-8809.

WANG, J. et al. Biology of PXR: role in drug-hormone interactions. **EXCLI Journal**, v. 13, p. 728-739, 2014. ISSN 1611-2156. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4464432/> >.

WANG, T.; XIONG, J.Q. The Orphan Nuclear Receptor TLX/NR2E1 in Neural Stem Cells and Diseases. **Neuroscience Bulletin**, Singapore, v. 32, n. 1, p. 108-114, 2016. ISSN 1673-7067 1995-8218. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5563749/> >.

WANG, X. et al. Shear stress activation of nuclear receptor PXR in endothelial detoxification. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 110, n. 32, p. 13174-9, Aug 2013. ISSN 0027-8424.

_____. Chapter 24 - Identification of the Absorbed Constituents of Schisandra Lignans by Serum Pharmacochemistry of TCM. In: (Ed.). **Serum Pharmacochemistry of Traditional Chinese Medicine**: Academic Press, 2017. p. 337-350. ISBN 978-0-12-811147-5.

WANG, Y. M. et al. Pregnane X receptor and drug-induced liver injury. **Expert Opin Drug Metab Toxicol**, v. 10, n. 11, p. 1521-32, Nov 2014. ISSN 1742-5255.

WATKINS, R. E.; NOBLE, S. M.; REDINBO, M. R. Structural insights into the promiscuity and function of the human pregnane X receptor. **Curr Opin Drug Discov Devel**, v. 5, n. 1, p. 150-8, Jan 2002. ISSN 1367-6733 (Print) 1367-6733.

WATKINS, R. E. et al. The human nuclear xenobiotic receptor PXR: structural determinants of directed promiscuity. **Science**, v. 292, n. 5525, p. 2329-33, Jun 2001. ISSN 0036-8075 (Print) 0036-8075.

WEI, Y. et al. A Molecular Aspect in the Regulation of Drug Metabolism: Does PXR-Induced Enzyme Expression Always Lead to Functional Changes in Drug Metabolism? **Current Pharmacology Reports**, v. 2, n. 4, p. 187-192, August 2016. ISSN 2198-641X. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s40495-016-0062-1> >.

XIE, W. et al. Reciprocal activation of xenobiotic response genes by nuclear receptors SXR/PXR and CAR. **Genes & development**, v. 14, n. 23, p. 3014-3023, 2000. ISSN 0890-9369. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11114890> >.

XU, C.; HUANG, M.; BI, H. PXR- and CAR-mediated herbal effect on human diseases. **Biochim Biophys Acta**, v. 1859, n. 9, p. 1121-9, Sep 2016. ISSN 0006-3002 (Print) 0006-3002.

YE, N. et al. PXR Mediated Protection against Liver Inflammation by Ginkgolide A in Tetrachloromethane Treated Mice. **Biomol Ther (Seoul)**, v. 24, n. 1, p. 40-8, Jan 2016. ISSN 1976-9148 (Print) 1976-9148.

YEUNG, E. Y. et al. Identification of *Ginkgo biloba* as a novel activator of pregnane X receptor. **Drug Metab Dispos**, v. 36, n. 11, p. 2270-6, Nov 2008. ISSN 0090-9556.

YOUNG, D. C. **Computational Drug Design: A Guide for Computational and Medicinal Chemists**. Wiley, 2009. ISBN 9780470451847. Disponível em: < <https://books.google.com.br/books?id=OgQ-IO4YH2kC> >.

YU, C. et al. Identification of novel pregnane X receptor activators from traditional Chinese medicines. **J Ethnopharmacol**, v. 136, n. 1, p. 137-43, Jun 2011. ISSN 0378-8741.

YUN, C.; DASGUPTA, R. Luciferase reporter assay in *Drosophila* and mammalian tissue culture cells. **Current protocols in chemical biology**, v. 6, n. 1, p. 7-23, 2014. ISSN 2160-4762. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4059354/> >.

ZANGER, U. M.; SCHWAB, M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 138, n. 1, p. 103-141, 2013. ISSN 0163-7258. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163725813000065> >.

ZHAI, Y. et al. The higher osteoprotective activity of psoralidin in vivo than coumestrol is attributed by its presence of an isopentenyl group and through activated PI3K/Akt axis. **Biomed Pharmacother**, v. 102, p. 1015-1024, Jun 2018. ISSN 0753-3322.

ZHANG, B.; XIE, W.; KRASOWSKI, M. D. PXR: a xenobiotic receptor of diverse function implicated in pharmacogenetics. **Pharmacogenomics**, v. 9, n. 11, p. 1695-709, Nov 2008. ISSN 1462-2416.

ZHANG, J. et al. Ginsenosides Regulate PXR/NF-kappaB Signaling and Attenuate Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis. **Drug Metab Dispos**, v. 43, n. 8, p. 1181-9, Aug 2015. ISSN 0090-9556.

ZHANG, L.; HASEGAWA, I.; OHTA, T. Anti-inflammatory cyclopentene derivatives from the inner bark of *Tabebuia avellanedae*. **Fitoterapia**, v. 109, p. 217-23, Mar 2016. ISSN 0367-326x.

ZHENG, X. E. et al. Human PXR-mediated induction of intestinal CYP3A4 attenuates 1alpha,25-dihydroxyvitamin D(3) function in human colon adenocarcinoma LS180 cells. **Biochem Pharmacol**, v. 84, n. 3, p. 391-401, Aug 2012. ISSN 0006-2952.

ZHOU, C. et al. The dietary isothiocyanate sulforaphane is an antagonist of the human steroid and xenobiotic nuclear receptor. **Mol Pharmacol**, v. 71, n. 1, p. 220-9, Jan 2007. ISSN 0026-895X (Print) 0026-895x.

_____. Mutual repression between steroid and xenobiotic receptor and NF-kappaB signaling pathways links xenobiotic metabolism and inflammation. **J Clin Invest**, v. 116, n. 8, p. 2280- 2289, Aug 2006. ISSN 0021-9738 (Print).

ZHU, Z. et al. Use of cryopreserved transiently transfected cells in high-throughput pregnane X receptor transactivation assay. **J Biomol Screen**, v. 12, n. 2, p. 248-54, Mar 2007. ISSN 1087-0571.

ZHUO, W. et al. Role of pregnane X receptor in chemotherapeutic treatment. **Cancer chemotherapy and pharmacology**, v. 74, n. 2, p. 217-227, 2014. ISSN 0344-5704 1432-0843. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4386062/> >.

ZOU, A. et al. New Insights into Orphan Nuclear Receptor SHP in Liver Cancer. **Nucl Receptor Res**, v.2, 2015. doi:10.11131/2015/101162. Disponível em:< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4618403/pdf/nihms716789.pdf>>.