



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, ALIMENTOS E
NUTRIÇÃO



CURSO DE FARMÁCIA

GABRIELLE TEIXEIRA MACHADO

**EFEITO PROLIFERATIVO DO EXTRATO ETANÓLICO DE *PORTULACA*
OLERACEA EM CÉLULAS ENDOTELIAIS E FIBROBLASTOS**

CAMPO GRANDE

2023

GABRIELLE TEIXEIRA MACHADO

**EFEITO PROLIFERATIVO DO EXTRATO ETANÓLICO DE *PORTULACA*
OLERACEA EM CÉLULAS ENDOTELIAIS E FIBROBLASTOS**

Trabalho apresentado ao Curso de Farmácia da
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
como requisito para a conclusão do curso.

Aluna: Gabrielle Teixeira Machado

Orientadora: Prof^a Dr^a Danielle Bogo

Co-orientadora: Verônica Assalin Zorgetto Pinheiro

CAMPO GRANDE

2023

AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho a todos que fizeram parte desta etapa tão importante da minha vida.

Agradeço à minha família, que sempre será meu porto seguro e inspiração. Ao meu pai, Jairo, por sempre acreditar em mim e apoiar cada um dos meus sonhos mais malucos, sou sua maior fã! À minha mãe, Rosalice, por ser exemplo de persistência e parceira para o que der e vier, você é minha melhor amiga. Ao meu irmão, que mesmo de longe sempre torceu pelo meu sucesso e foi inspiração de inteligência, espero ser igual a você quando eu crescer!

Ao meu melhor amigo e melhor namorado, Kawê, por estar ao meu lado em todos os momentos. Obrigada por acreditar mais em mim do que eu mesma. Espero viver esse e mais um milhão de sonhos ao seu lado.

Aos meus amigos, que foram parceiros de jornada, conselheiros e companhia para todos os momentos. Tudo é melhor e mais divertido com vocês. Menção honrosa para Pietra, Julia, Lorena, João, Maira, Lucas, Rafael e Rafael (sim, são dois), que dividiram as alegrias e surtos dos últimos meses comigo.

À minha orientadora, Danielle, por me permitir aprender, errar e mudar de ideia milhões de vezes. Obrigada pela oportunidade e pela compreensão de sempre.

À minha mentora e mãe científica, Verônica, por me adotar e acreditar nas minhas capacidades. Obrigada pela amizade, correções fora de hora e conselhos. Sem você esse trabalho nem existiria.

A todos os técnicos de laboratório (em especial Magali, Jefferson e Patrícia), que tornam os laboratórios um ambiente muito mais acolhedor. Também aos pós-graduandos, Amanda, Evelyn e Antolim, que me ensinaram muito sobre pesquisa e me receberam tão bem.

Por fim, agradeço aos meus cachorros Layka, Cadu e Princesa, que trouxeram alegria e bagunça (muita bagunça) para todos os dias difíceis.

RESUMO

A cicatrização tecidual, um processo biológico crucial para a recuperação de lesões e restauração da função dos tecidos corporais, é um foco importante no estudo de inúmeras condições clínicas. Compostos naturais encontrados em plantas, animais e outros organismos vivos têm se revelado uma alternativa promissora na busca por novos tratamentos que acelerem o processo e promovam o remodelamento tecidual. A beldroega (*Portulaca oleracea*) é uma planta suculenta e comestível que tem sido tradicionalmente usada em várias partes do mundo, incluindo na medicina popular, para tratar diversas condições de saúde, que incluem problemas de pele, pequenos cortes, picadas de insetos e feridas superficiais. Além do conhecimento tradicional, a literatura científica possui estudos que investigam o potencial cicatrizante da planta, que parece atuar na redução da inflamação e na promoção da regeneração celular. O presente trabalho avaliou a citotoxicidade *in vitro* do extrato etanólico de *Portulaca oleracea* em células endoteliais de cordão umbilical humano (HUVEC) e fibroblastos murinos (3T3) através do método de Sulforrodamina B (SRB). Além disso, verificou-se a interferência do extrato na capacidade de proliferação, viabilidade celular e indução à adesão ao colágeno tipo I. O parâmetro para avaliar a citotoxicidade foi GI50 (concentração que inibe 50% do crescimento celular). O extrato não apresentou efeito citotóxico ($GI_{50} > 250 \mu\text{g/mL}$) nas linhagens testadas (HUVEC e 3T3) e demonstrou induzir a proliferação e viabilidade das células endoteliais de maneira inversamente proporcional. Além disso, não foi capaz de desaderir as HUVEC previamente aderidas ao colágeno tipo I, logo não apresentou ação proteolítica entre a ligação das proteínas de membrana e o colágeno tipo I. Dessa forma, podemos concluir que o extrato etanólico de *Portulaca oleracea* é capaz de induzir a proliferação e aumentar a aderência de células essenciais nos processos de cicatrização e reparo tecidual, o que corrobora com os estudos já realizados sobre o tema e a torna um forte candidato para o desenvolvimento de novos fármacos e opções terapêuticas para esses processos.

Descritores: beldroega; cicatrização; citotoxicidade; angiogênese;

ABSTRACT

Tissue healing, a crucial biological process for injury recovery and tissue function restoration, stands as a significant focus in the study of numerous clinical conditions. Natural compounds found in plants, animals, and other living organisms have emerged as a promising alternative in the quest for new treatments that expedite the process and promote tissue remodeling. Purslane (*Portulaca oleracea*), a succulent and edible plant, has traditionally been used across various parts of the world, including in folk medicine, to treat various health conditions such as skin problems, minor cuts, insect bites, and superficial wounds. Beyond traditional knowledge, scientific literature holds studies investigating the plant's healing potential, suggesting its role in reducing inflammation and promoting cell regeneration. This study evaluated the *in vitro* cytotoxicity of the ethanolic extract of *Portulaca oleracea* on human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) and murine fibroblasts (3T3) using the Sulforhodamine B (SRB) method. Additionally, the extract's interference with cell proliferation capacity, cell viability, and induction of detachment from type I collagen were examined. The parameter used to assess cytotoxicity was the GI50 (the concentration inhibiting 50% of cell growth). The extract showed no cytotoxic effect ($GI_{50} > 250 \mu\text{g/mL}$) on the tested cell lines (HUVEC and 3T3) and demonstrated an ability to inversely proportionally induce endothelial cell proliferation and viability. Furthermore, it was unable to detach previously adhered HUVEC to type I collagen, hence presenting no proteolytic action between membrane proteins and type I collagen. Consequently, we can conclude that the ethanolic extract of *Portulaca oleracea* can induce proliferation and enhance the adherence of essential cells in the processes of healing and tissue repair. This aligns with prior studies on the subject, positioning it as a strong candidate for the development of new drugs and therapeutic options for these processes.

Keywords: purslane; cicatrization; cytotoxicity; angiogenesis;

LISTA DE ABREVIATURAS

BSA: soroalbumina bovina

CO₂: gás carbônico

DMEM: do inglês, Modified Eagle Medium

HUVEC: do inglês, Human Umbilical Vein Endothelial Cells

MEC: matriz extracelular

PBS: do inglês, phosphate buffered saline

RPMI: do inglês, Rowell Park Memorial Institute Medium

SDS: do inglês, sodium dodecyl sulfate

SFB: soro fetal bovino

SRB: sulforrodamina

pH: potencial hidrogeniônico

TCA: ácido tricloroacético

COL: colágeno

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Aspecto morfológico de <i>Portulaca oleracea</i>	9
Figura 2. Distribuição geográfica de <i>Portulaca oleracea</i> no território brasileiro, registrado na base de dados do Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira (SiBBR)	10
Figura 3. Esquema representativo da metodologia empregada para a obtenção do extrato etanólico.....	20
Figura 4. Porcentagem de crescimento celular diante de diferentes concentrações do extrato (0.25, 2.5, 25 e 250 µg/ml) em fibroblastos murinos (3T3)	24
Figura 5. Porcentagem de crescimento celular diante de diferentes concentrações do quimioterápico doxorrubicina (0.025, 0.25, 2.5 e 25 µg/ml) em fibroblastos murinos (3T3)	24
Figura 6. Porcentagem de crescimento celular diante de diferentes concentrações do extrato (0.25, 2.5, 25 e 250 µg/ml) em células endoteliais humanas (HUVEC).....	25
Figura 7. Porcentagem de crescimento celular diante de diferentes concentrações do quimioterápico doxorrubicina (0.025, 0.25, 2.5 e 25 µg/ml) em células endoteliais humanas (HUVEC).....	25
Figura 8. Porcentagem de crescimento celular em relação ao observado com o controle positivo (COL) após tratamento com diferentes concentrações do extrato etanólico de <i>P. oleracea</i> (2.5 e 0,25 µg/ml) e em diferentes tempos de incubação (24 e 48h) com células HUVEC.....	27
Figura 9. Capacidade de desadesão/descolamento celular de células HUVEC ao colágeno tipo I após incubação com diferentes concentrações do extrato etanólico de <i>Portulaca oleracea</i> (0.0025, 0.025, e 0,25 µg/ml) em relação às células sem incubação em matriz de colágeno tipo I (COL1, controle positivo) e matriz de BSA (controle negativo)	28

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA	9
2.1. Aspectos morfológicos e fitoquímicos.....	10
2.1.1. Importância nutricional: a beldroega e as PANCs.....	10
2.1.2 Usos medicinais e ações biológicas.....	11
2.2. A cicatrização tecidual.....	12
2.2.1. O papel da angiogênese	16
2.2.2. A beldroega e a cicatrização	17
3. OBJETIVOS	18
3.1. Objetivos gerais	19
3.2. Objetivos específicos	19
4. METODOLOGIA	19
4.1. Linhagens celulares e condições de cultivo	19
4.2. Ensaio de citotoxicidade	20
4.3. Ensaio de Proliferação e Viabilidade de Células endoteliais (HUVEC) em Matriz de Colágeno tipo I (Cristal Violeta)	21
4.4. Ensaio de Desadesão/Descolamento Celular.....	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5.1. Citotoxicidade	23
5.2. Teste de proliferação e viabilidade celular em matriz de colágeno tipo I (HUVEC)	26
5.3. Teste de indução à desadesão/descolamento.....	27
6. CONCLUSÃO	29
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1.INTRODUÇÃO

Hipócrates, uma das figuras mais importantes da história da medicina, postulou a seguinte frase: “Que seu remédio seja seu alimento, e que seu alimento seja seu remédio”. Nos mais de 2400 anos que se seguiram após essa premissa, a ciência segue confirmando a estreita relação entre os alimentos e a saúde. O emprego de espécies vegetais comestíveis em práticas terapêuticas é um exemplo disso, visto que as plantas são recursos naturais historicamente utilizados no combate a um largo espectro de patologias (em forma de chás, extratos ou pelo próprio consumo) e também serviram de base para a descoberta de inúmeros fármacos utilizados na atualidade (um exemplo clássico é o ácido salicílico, oriundo da casca da árvore do salgueiro branco (*Salix alba*)). Por conta disso, a bioprospecção de produtos naturais é considerada hoje uma forma promissora de desenvolvimento de alternativas terapêuticas para diversas doenças (Badke *et al.*, 2012; Jamshidi-Kia, Lorigooini e Amini-Khoei, 2017).

A *Portulaca oleracea*, também conhecida como beldroega, uma planta alimentícia não convencional pertencente à família Portulacaceae, é um exemplo de espécie vegetal associada a inúmeros benefícios à saúde. A espécie é citada pela Organização Mundial da Saúde como uma das plantas medicinais mais usadas, chamada de “Global panacea” (em referência a sua distribuição mundial e ao termo “panaceia”, muito utilizado com o significado de remédio para todos os males) (Zhou *et al.*, 2015). De fato, a beldroega está interligada a tradições medicinais de inúmeros povos ao redor do mundo e chama atenção da comunidade científica quanto às suas propriedades biológicas (Zhou *et al.*, 2015).

Dentre as possibilidades já investigadas, está a atuação da planta na cicatrização e remodelamento tecidual, processos biológicos fundamentais para a recuperação de lesões e restauração da função de tecidos do corpo. Tal fato é embasado pelo uso popular como cicatrizante, muito comum em regiões como a Jordânia, além de estudos já publicados acerca dessa atividade. Apesar do mecanismo de ação não ter sido completamente estabelecido, a literatura disponível considera que a espécie é uma candidata promissora para o desenvolvimento de terapias alternativas para o tratamento de feridas, queimaduras e problemas de pele (Rashed, Afifi e Disi, 2003; Guo *et al.*, 2022).

O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade proliferativa *in vitro* do extrato etanólico de *Portulaca oleracea* em fibroblastos murinos (3T3) e células endoteliais humanas (HUVEC), tipos celulares essenciais para o processo de cicatrização e

remodelamento tecidual. Para tanto, investigou-se a citotoxicidade *in vitro* do extrato frente às linhagens citadas, bem como a capacidade de induzir a proliferação e viabilidade celular em células aderidas ao colágeno tipo I e de desaderir/descolar células previamente aderidas ao colágeno tipo I.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. *Portulaca oleracea* (beldroega)

A *Portulaca oleracea*, popularmente conhecida no Brasil como "beldroega", "baldroega", "onze-horas" ou "bedro de porco" é uma planta herbácea anual pertencente à família Portulacaceae. A espécie é caracterizada pela presença de folhas verdes suculentas, caule rastejante e ramificado e flores amarelas solitárias (Figura 1) (Sultana *et al.*, 2013).

O termo *Portulaca* é originado do latim "portare" (carregar) e "lac" (leite), devido à mucilagem leitosa presente em suas folhas (Rashed, Afifi e Disi, 2003). O gênero engloba cerca de 100 espécies, de características suculentas, perenes ou anuais, que apresentam raízes tuberosas e caules aéreos, cilíndricos e muito ramificados (Coelho e Giulietti, 2010).



Figura 1. Aspecto morfológico de *Portulaca oleracea*.

Fonte: Jardineria On. Disponível em:

<<https://www.jardineriaon.com/pt/cuidado-da-portulaca-oler%C3%A1cea.html>>

Acesso em: 16 out. 2023.

Devido à sua capacidade de crescer em diferentes tipos de solo e sua resistência à seca, a *Portulaca oleracea* se espalhou globalmente e é considerada uma planta invasora em muitas regiões. Atualmente, a planta é encontrada em quase todas as partes quentes do mundo, geralmente em áreas sem sombra, que incluem canteiros, plantações, ruas e terrenos baldios (Masoodi *et al.*, 2017). No Brasil, é encontrada em praticamente todo o território nacional, possuindo registros em todos os estados do país (Figura 2) (SiBBr, 2020).



Figura 2. Distribuição geográfica de *Portulaca oleracea* no território brasileiro, registrado na base de dados do Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira (SiBBr).

Fonte: SiBBr. Disponível em:

<https://ala-bie.sibbr.gov.br/ala-bie/species/295697#tab_recordsView> . Acesso em: 16 de outubro de 2023.

2.1.1. Aspectos fitoquímicos

Quanto às características fitoquímicas da espécie, os diversos constituintes químicos já isolados incluem flavonoides, alcaloides, ácidos graxos, terpenoides, polissacarídeos, vitaminas, esteroides, proteínas e minerais (Zhou *et al.*, 2015). Dentre eles, os flavonoides como a quercetina e a luteolina estão entre os metabólitos mais investigados, visto que esses

compostos são biologicamente ativos e se relacionam a inúmeras propriedades farmacológicas, que incluem atividade antimicrobiana, antiviral, anti-inflamatória e antioxidante (Zhu *et al.*, 2010; Zhou *et al.*, 2015).

Os alcalóides também são constituintes notáveis da espécie, que já demonstraram atividade citotóxica contra linhagens celulares neoplásicas. Estes incluem compostos como a dopamina e noradrenalina, além de oleraceinas A, B, C, D e E (Xiang *et al.*, 2005).

É importante ressaltar que a composição química pode variar conforme a parte da planta analisada ou o tipo de extrato utilizado, bem como as condições de crescimento, incluindo o solo, a luz solar, a água e outros fatores ambientais (Uddin *et al.*, 2012). No extrato etanólico, por exemplo, Chen *et al.* (2006) demonstraram a presença de apenas dois dos flavonóides produzidos pela espécie: kaempferol e apigenina.

2.1.2 Importância nutricional: a beldroega e as PANCs

A *Portulaca oleracea* é considerada uma Planta Alimentícia Não Convencional (PANC). O termo, criado pelo Biólogo e Professor Valdely Ferreira Kinupp, refere-se a todas as plantas comestíveis de maneira total ou parcial, sendo elas espontâneas ou cultivadas, nativas ou exóticas que não estão incluídas em nosso cardápio cotidiano, porém que podem estar na alimentação da população (Kinupp, 2007). Seu potencial alimentício é relacionado ao princípio de Segurança Alimentar e Nutricional (SAN) das comunidades, ou seja, o fomento ao consumo e o fortalecimento do conhecimento acerca de tais espécies são consideradas formas alternativas e econômicas de garantir o direito de todos a uma alimentação de qualidade e em quantidade suficiente (Da Silva *et al.*, 2022; Barreira *et al.*, 2015).

O uso de beldroega na alimentação humana é realizado desde a antiguidade e pode ser feito através do consumo das folhas e ramos crus ou cozidos, bem como em sucos, omeletes e saladas (Sartori *et al.*, 2020). Na China, o consumo também é realizado utilizando-se as folhas secas na produção de chás e sopas (Lim e Quah, 2007). Dentre seus benefícios está o fato de ser uma fonte rica de ômega 3, um ácido graxo importante no bom funcionamento do sistema imune e na prevenção de doenças como a hipertensão e o câncer (Zhou *et al.*, 2015). Além disso, a planta também é rica em minerais (como magnésio, cálcio, zinco, fósforo e ferro) e compostos essenciais para a promoção da saúde e prevenção de doenças como tocoferol, ácido ascórbico, betacaroteno e ácido alfa-linolênico (Uddin *et al.*, 2013).

A presença de vitaminas também é vista como um benefício notável do consumo da planta. A *Portulaca oleracea* contém uma alta quantidade de vitamina A, um antioxidante natural intimamente ligado à visão, bem como vitaminas importantes do complexo B (riboflavina, niacina e piridoxina) (Zhou *et al.*, 2015).

2.1.3 Usos medicinais e ações farmacológicas

Os usos medicinais de *P. oleracea*, como uma planta distribuída mundialmente, estão vinculados às tradições de diversas populações, que a utilizam até os dias atuais para as mais variadas condições clínicas. Na Índia, a beldroega é conhecida por reduzir úlceras, tumores e inflamações, enquanto no Paquistão é considerada útil na dieta para tratar escorbuto, hemoptise, obstrução hepática e debilidade. No Oriente médio, por outro lado, é vista como um afrodisíaco e as folhas são usadas em cataplasmas para drenar pus de feridas infectadas (Chan *et al.*, 2000).

A beldroega, de modo geral, é muito usada no alívio de dores e inchaços, além de ser empregada como um antisséptico natural (Chan *et al.* 2000; Lim e Quah, 2007). Além disso, é possível encontrar indicações da planta para o tratamento de problemas cardiovasculares, alívio de náuseas e vômitos, combate às hemorroidas e para problemas de pele, que incluem picadas de inseto e acne (Lim e Quah, 2007).

Tais usos não foram ignorados pelo campo científico. Existem inúmeros estudos publicados acerca das ações biológicas e do potencial farmacológico *in vivo* e *in vitro* de *Portulaca oleracea*, que investigam diferentes extratos, partes da planta e até mesmo os inúmeros compostos isolados a partir dela. A tabela 1 traz um compilado de ações biológicas já relatadas na literatura.

Quadro 1. Compilado de estudos sobre as propriedades biológicas *in vitro* e *in vivo* de *Portulaca oleracea* disponíveis em bases de dados científicas

Ação biológica	Parte da planta	Extrato/substância	Resultados	Referência
Antioxidante	Folhas e caule	Extrato aquoso	Aumento da glutathione reductase e glutathione peroxidase	Dkhil <i>et al.</i> , 2011

Antioxidante	Folhas	Extrato metanólico	Alta atividade antioxidante em exemplares mais jovens (DPPH e FRAP)	Uddin <i>et al.</i> , 2012
	Partes aéreas	Extratos obtidos com água, metanol, etanol, acetona e hexano	Todos os extratos mostraram notável atividade de eliminação de DPPH, redução férrica/antioxidante potência e redução de nitro azul tetrazólio	Khursheed e Jain, 2021
Analgésico e anti-inflamatório	Folhas e caule	Extrato etanólico	Significante atividade anti-inflamatória e analgésica diante a administração intraperitoneal e tópica	Chan <i>et al.</i> , 2000
	Folhas	Extrato hidro-etanólico	Efeito protetor diante de lesão pulmonar aguda induzida por LPS em ratos.	Rahimi <i>et al.</i> , 2019
	Folhas, caule e raiz	Alcaloide isolado (“oleracone”)	Efeito anti-inflamatório avaliado em macrófagos murinos estimulados por LPS	Meng <i>et al.</i> , 2016
	Folhas e caule	Extrato aquoso	Redução da atividade do fator de necrose tumoral α (TNF- α) em células endoteliais vasculares	Lee <i>et al.</i> , 2012
Atividade antimicrobiana	Folhas e caule	Extrato Etanólico	Atividade antibacteriana e antifúngica	Loundokar e Nayaka, 2011

Atividade antimicrobiana	Folhas e caule	Extração por dióxido de carbono (CO ₂)	Efeito contra microrganismos clinicamente significativos, como <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Candida albicans</i>	Tleubayeva <i>et al.</i> , 2021
	Partes aéreas	Extratos obtidos com água, metanol, etanol, acetona e hexano	Forte atividade antibacteriana e atividade antifúngica, sendo o melhor resultado obtido no extrato etanólico	Khursheed e Jain, 2021
Atividade anticâncer	Toda a planta	Flavonóides isolados combinados com cisplatina	Atividade antiproliferativa in vitro e in vivo contra câncer cervical	JIA <i>et al.</i> , 2022
	Semente	Óleo da semente	Atividade antineoplásica em linhagens de câncer hepático (Hep G2) e pulmonar (A-549)	Al-Sheddi <i>et al.</i> (2015)
	Partes aéreas	Extrato metanólico	Efeito antiproliferativo em MCF-7, HT-29, Hela e CNE-1 e fragmentação de DNA em MCF-7 (câncer de mama)	TAN <i>et al.</i> (2013)
	Partes aéreas	Extrato aquoso	Atividade citotóxica e apoptótica em células PANC-1 (carcinoma pancreático)	ALIPOUR <i>et al.</i> (2021)

Antidiabético e anti-obesidade	Toda a planta	Planta em pó	Supressão do ganho de peso e redução dos níveis de gordura corporal e glicose no sangue em camundongos obesos	Jung <i>et al.</i> , 2021
Atividade cicatrizante	Partes aéreas	Planta homogeneizada em mixer sem nenhum aditivo	Aceleração do processo de cicatrização de feridas <i>in vivo</i> , através da redução da área de superfície da ferida e aumento da força de tensão	Rashed, Afifi e Disi (2003)
	Folhas	Extrato hidroalcoólico	Promoção da cicatrização por redução de tempo de reepitelização, redução da inflamação e indução da migração celular de células endoteliais	Guo <i>et al.</i> (2022)
Atividade neuroprotetora	Partes aéreas	Extrato aquoso	Efeito anti-apoptótico e antioxidante em lesão cerebral induzida por rotenona em ratos	Moneim, Dkhil e Al-quraysh (2013)
	Toda a planta	Extrato aquoso e etanólico	Extratos promoveram recuperação da função motora 15 dias após a lesão e protegeram contra a perda de neurônios em estudo em modelo animal de doença de parkinson	Martins <i>et al.</i> (2016)

Atividade antiulcerogênica	Partes aéreas	Extrato aquoso e etanólico	Os extratos reduziram a severidade de úlcera induzida por HCl e suprimiram lesões induzidas por etanol absoluto	Karimi, Hosseinzadeh e Ettehad (2004)
-----------------------------------	---------------	----------------------------	---	---------------------------------------

2.2. A cicatrização tecidual

A cicatrização tecidual, um processo biológico fundamental para a recuperação de lesões e restauração da função de tecidos do corpo, é um alvo importante no estudo de uma variedade de patologias tais como processos inflamatórios crônicos, doenças cardiovasculares e queimaduras (Shedoeva *et al.*, 2019).

Após uma lesão tecidual devido à trauma ou processos isquêmicos, a regeneração e reparo tecidual ocorrem em três etapas principais: (1) Fase inflamatória: envolve a hemostasia (contração de pequenos vasos e formação do tampão plaquetário) e a formação do infiltrado inflamatório, caracterizada pela liberação de substâncias inflamatórias, como citocinas e fatores de crescimento, que atraem células do sistema imunológico para a área lesionada para o *clearance* de restos celulares e combate à possíveis patógenos; (2) Fase proliferativa: caracterizada pela proliferação de fibroblastos (responsáveis pela síntese de componentes da matriz extracelular e colágeno tipo III), angiogênese (relacionada às células endoteliais, que formam novos vasos sanguíneos para fornecer oxigênio e nutrientes às células em crescimento na área da lesão) e reepitelização e (3) Remodelação tecidual: caracterizada pela substituição do colágeno tipo III pelo colágeno tipo I, remodelamento da matriz extracelular e diferenciação dos fibroblastos em miofibroblastos, que atuam na maturação e contração da cicatriz recém-formada. A desregulação de alguma dessas fases pode alterar toda a cascata da cicatrização e resultar em diversos problemas de pele (Shedoeva *et al.*, 2019).

A natureza oferece uma ampla gama de compostos bioativos com propriedades cicatrizantes, capazes de acelerar esse processo por possuírem propriedades como anti-inflamatórias, antimicrobianas e antioxidantes, estimulando a produção de colágeno e promovendo a regeneração celular. Plantas medicinais como *Aloe Vera*, *Calendula officinalis*,

Panax ginseng e *Centella asiatica* são utilizadas historicamente para esse fim e consideradas meios de tratamento eficazes e acessíveis (Shedoeva *et al.*, 2019; Sharma *et al.*, 2021).

2.2.1. O papel da angiogênese e as células endoteliais

No ano de 1971, Judah Folkman constatou que o processo de crescimento tumoral está intimamente relacionado à formação de vasos sanguíneos, marcando o início dos estudos acerca do processo de angiogênese. Sabe-se, hoje em dia, que a inibição seletiva desse processo pode ser uma estratégia potencial para o tratamento do câncer e para a prevenção de metástases. O medicamento Bevacizumab, por exemplo, é um agente antineoplásico aprovado pela FDA e também utilizado no Brasil, que atua contra o VEGF (fator de crescimento endotelial vascular) e, portanto, inibe a angiogênese (Gupta e Zhang, 2005; Pradella, Maciel e Cardoso, 2022).

Apesar da importância em processos neoplásicos, a angiogênese é também um fator essencial em diversos processos fisiológicos, como o desenvolvimento fetal, o ciclo reprodutivo feminino e o reparo tecidual. A sua desregulação, no entanto, é relacionada ao desenvolvimento de condições patológicas (tanto por insuficiência vascular quanto pelo crescimento excessivo de novos vasos sanguíneos) tais quais nefropatias, psoríase e retinopatias (Wang *et al.*, 2015). Por conta disso, a terapia pautada na modulação da angiogênese pode ser benéfica no tratamento de diversas patologias, como por exemplo doenças cardiovasculares e isquemias (Gupta e Zhang, 2005).

A formação de novos vasos sanguíneos, como citado anteriormente, é também uma etapa essencial na fase proliferativa da cicatrização da pele, visto que estes são responsáveis pela chegada de nutrientes, oxigênio e moléculas sinalizadoras importantes ao sítio lesado. Dessa forma, induzir a angiogênese também é uma maneira de acelerar a cicatrização de feridas, prevenindo processos de necrose (Bao, 2009). A aplicabilidade pode ser vista inclusive na produção de biomateriais de uso terapêutico: Guo *et al.* (2022) investigaram a indução da angiogênese como forma de acelerar a cicatrização por meio dos chamados “scaffolds”, materiais de diferentes composições que atuam como um suporte físico temporário ou permanente para células e tecidos em crescimento durante a regeneração e cicatrização de tecidos.

2.2.2. A beldroega e a cicatrização tecidual

A utilização da beldroega como um cicatrizante remonta à literatura folclórica e aos costumes de habitantes nativos da Jordânia. Tal fato baseia o estudo realizado por Rashef, Afif e Disi (2003), que avaliou a atividade cicatrizante da planta em camundongos *Mus musculus* JVI-1. Foram utilizados extratos frescos das partes aéreas da planta, aplicados topicamente na superfície da ferida em diferentes doses e frequências. A cicatrização foi avaliada por meio de medidas de força de tensão (utilizando-se um equipamento que mede a força necessária para romper a ferida) e por meio de análises histológicas em amostras de tecido coletadas das feridas tratadas e do grupo controle. Como resultado, verificou-se que a utilização de *Portulaca oleracea* diretamente sobre feridas contribuiu para a aceleração do processo de cura, através da redução da área de superfície da ferida e aumento da força de tensão. Dessa forma, o estudo contribui para a compreensão da utilização tradicional da planta na medicina popular jordaniana.

Em outro estudo, realizado por Guo *et al.* (2022), a metodologia empregada envolveu a preparação de um extrato hidroalcoólico e de uma fração aquosa de *Portulaca oleracea* por maceração e extração líquido-líquido. Em seguida, foram realizados testes para avaliar a capacidade dos extratos em promover a regeneração vascular e inibir a acumulação de ferro em lesões de pressão de tecido profundo. Em células HUVEC *in vitro*, observou-se um aumento notável na viabilidade celular e na taxa de migração. Já nos estudos com camundongos, a administração apresentou efeitos positivos na vascularização e no acúmulo de ferro nos tecidos lesionados. Isso se refletiu no aumento do número de novos vasos sanguíneos, na expressão elevada de VEGF-A e na redução da concentração de ferro muscular nos grupos tratados, comparativamente aos grupos sem tratamento. Além disso, a capacidade dos extratos de *P. oleracea* em favorecer a cicatrização de feridas foi avaliada, considerando parâmetros como o tempo de reepitelização, o grau de inflamação e a área de deposição de colágeno. Os resultados sugerem que o extrato de POL oferece benefícios significativos na reparação de músculos lesionados após isquemia.

Diante dos parâmetros já apontados, a literatura disponível considera que a espécie é uma candidata promissora para o desenvolvimento de terapias alternativas para a promoção da cicatrização tecidual. No entanto, é importante ressaltar que o mecanismo de ação exato

para esse processo permanece incerto e carece de estudos mais aprofundados (Rashed, Afifi e Disi, 2003; Guo *et al.*, 2022).

3.Objetivo

3.1. Objetivo geral

Avaliar a citotoxicidade e a influência na proliferação e desadesão ao colágeno tipo I do extrato alcoólico de *Portulaca oleracea* (beldroega) em fibroblastos e células endoteliais.

3.2. Objetivos específicos

- Obter o extrato etanólico das folhas e ramos de *Portulaca oleracea*;
- Avaliar a citotoxicidade (GI50) do extrato obtido em fibroblastos murinos (3T3) e células endoteliais humanas (HUVEC) por meio do teste de sulforrodamina B (SRB);
- Avaliar a capacidade proliferativa e pró-angiogênica do extrato por meio de ensaios de proliferação e viabilidade celular em matriz de colágeno tipo I com células endoteliais humanas (HUVEC);
- Avaliar a capacidade de desadesão/descolamento ao colágeno tipo I em células endoteliais humanas (HUVEC);

4. METODOLOGIA

4.1. Preparação do extrato etanólico de *Portulaca oleracea*

A preparação do extrato foi realizada por técnica de maceração, conforme protocolo descrito por Nuria *et al.* (2021). As amostras de *Portulaca oleracea* foram por fornecedor local na cidade de Campo Grande MS (coordenadas geográficas -20.42841196815502, -54.616445921516586).

As partes aéreas da planta (caule e folhas) foram separadas e higienizadas em água corrente. Posteriormente, foi feita a secagem do material em estufa ventilada a 55°C por um período de sete dias. Após a secagem completa do material, utilizou-se um moinho mecânico

para a pulverização e realizou-se a tamisação do pó obtido, resultando em 35 gramas de amostra seca.

O pó separado foi submetido à extração por maceração em etanol 96%. Realizou-se a filtração em filtro de papel comum a cada 4 dias e a substituição do solvente a cada etapa de filtração. O filtrado final obtido foi armazenado ao abrigo da luz em recipiente fechado e posteriormente reduzido por rota-evaporação a 65°C até a obtenção de um extrato espesso, com rendimento final de cerca de 6%. A figura 3 esquematiza o processo de extração realizado.



Figura 3. Esquema representativo da metodologia empregada para a obtenção do extrato etanólico

Fonte: Autora

4.2. Linhagens celulares e condições de cultivo

Foram utilizadas as seguintes linhagens celulares: 3T3 (ATCC CRL-1658), fibroblasto murino, aderentes, disponíveis no Laboratório de Cultura de Células (FACFAN-UFMS) e HUVEC (ATCC CRL-1730), células endoteliais de cordão umbilical humano, aderentes.

As células foram descongeladas e cultivadas em meio RPMI-1640 (*Rowell Park Memorial Institute Medium*) para as 3T3 e DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) para

as HUVEC. Os meios foram suplementados com 10% de soro fetal bovino (SFB), penicilina (10.000 IU/ml) e estreptomicina (10 mg/ml).

As linhagens foram mantidas em estufa úmida com temperatura e CO₂ controlados (37°C e 5% CO₂). Para a manutenção e repique, utilizou-se tripsina (inativada com meio de cultura suplementado com SFB na proporção de uma parte de tripsina para três partes de meio de cultivo) para o descolamento das células das garrafas de cultivo e PBS (*Phosphate Buffered Saline*) para a lavagem.

4.3. Ensaio de citotoxicidade (SRB)

As células foram cultivadas até atingirem uma confluência de 90% e foram aliqüotadas e incubadas em placas de 96 poços (10000 células/100µl para a linhagem HUVEC e 7500 células/100µl para as demais linhagens). As placas foram mantidas em estufa úmida a 37°C e 5% CO₂ por 24h para adesão. Ao fim das 24 horas, a placa T0 foi fixada com ácido tricloroacético (TCA) 20% por 30 minutos à 4°C e, posteriormente, foi feito o protocolo para coloração com sulforrodamina B (SRB). Nas demais placas, 100µl do extrato (previamente diluído em meio de cultura) foi adicionado às células já estabilizadas nas concentrações de 250 µg/ml, 25 µg/ml, 2,5 µg/ml e 0,25 µg/ml. Para o controle positivo foi utilizada doxorubicina, enquanto para o controle negativo as células foram cultivadas somente na presença do meio de cultura. As placas foram novamente incubadas a 37 °C na presença de 5% CO₂ por 48 horas.

Para a realização da coloração, o sobrenadante foi aspirado e as células foram fixadas com TCA 20% por 30 minutos à 4°C. Posteriormente, o novo sobrenadante foi descartado e as placas foram lavadas com água 5 vezes. Após a secagem, foram adicionados em todos os poços 50 µL de SRB (0,1%) diluído em ácido acético 1% e as placas foram mantidas ao abrigo da luz por 30 minutos em temperatura ambiente. Decorrido esse tempo, realizou-se a lavagem com ácido acético 1% por 5 vezes e as placas foram secas novamente. Nesse momento foi adicionado Tris Base 10 mM e as placas foram colocadas sob agitação por 20 minutos. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 540 nm. (MONKS et al., 1991; ORELLANA & KASINSKI, 2016; LIMA E SILVA et al., 2018).

4.4. Ensaio de Proliferação e Viabilidade de Células endoteliais (HUVEC) em Matriz de Colágeno tipo I (Cristal Violeta)

A influência do extrato etanólico de *Portulaca oleracea* na proliferação e viabilidade de células HUVEC na presença de matriz de colágeno tipo I foi avaliada a partir da metodologia descrita por Ribeiro (2009).

No procedimento, os poços das placas foram tratados no dia anterior ao experimento. Estes foram sensibilizados com colágeno tipo I (10 µg/100µl) nos poços de teste e controle positivo, enquanto nos poços do controle negativo foi usado BSA 2%. Após a sensibilização, os poços foram incubados a 4°C.

No dia seguinte, os poços foram incubados com BSA (albumina sérica bovina) 1% à temperatura ambiente para prevenir ligações inespecíficas. As placas foram então colocadas em uma estufa a 37°C por 30 minutos. Após essa etapa, os poços foram lavados com PBS (tampão fosfato-salino) e foram adicionadas 10³ de células/100 µl. Após aguardar 2 horas para adesão, as células foram incubadas com diferentes concentrações do extrato (0,25 e 2,5µg/100µl) a 37°C por 24 e 48 horas.

Após cada período de incubação, o meio de cultivo foi removido, os poços foram lavados com PBS e as células aderidas foram fixadas com etanol 70% (100 µL) por 10 minutos. Após nova lavagem com PBS (100 µL), as células fixadas foram coradas com 70 µL de cristal violeta 0,5% por 30 minutos. Posteriormente, os poços foram lavados exaustivamente com PBS para remover o excesso de corante, e as células foram solubilizadas em 100 µL de SDS 1% sob agitação por 30 minutos. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro TP-READER (*Thermo Plate*®) a 540 nm. Os experimentos foram conduzidos em triplicata.

4.5. Ensaio de Desadesão/Descolamento Celular

No ensaio de desadesão/descolamento celular, o colágeno tipo I foi fixado em placas de 96 poços a uma concentração de 1 µg/poço. Estas placas foram então incubadas a 4°C *overnight*. Como controle positivo, foi adicionado BSA 2% aos poços.

A seguir, os poços foram bloqueados com PBS contendo BSA 0,5% por 30 minutos à temperatura ambiente e, em seguida, foram lavados com meio de cultivo sem SFB. Cada poço foi inoculado com 5 x 10⁴ células em meio de cultivo sem SFB e, após 2 horas de incubação em estufa, o extrato em diferentes concentrações (0,0025, 0,025, 0,25 e 2,5 µg/mL) foi adicionado aos poços. A placa foi novamente incubada por 30 minutos em estufa e a leitura foi realizada conforme os itens 4.3 e 4.4.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Citotoxicidade (SRB)

No teste de citotoxicidade realizado, o extrato etanólico de *Portulaca oleracea* não demonstrou efeito citotóxico sobre as linhagens celulares em nenhuma das concentrações testadas (0.25, 2.5, 25 e 250 µg/mL), sendo considerado GI₅₀>250µg/ml (concentração capaz de produzir 50% de inibição do crescimento celular). Foi observado, no entanto, que o tratamento com o extrato induziu a proliferação celular de modo inversamente proporcional em ambas as linhagens.

As figuras 4 e 6 demonstram a porcentagem de crescimento celular diante do tratamento com o extrato em comparação ao controle negativo (crescimento de 100%, sem tratamento). É possível observar que os efeitos proliferativos decaem de acordo com o aumento da concentração utilizada. Portanto, obteve-se melhores resultados em concentrações mais baixas.

Para o controle positivo, utilizou-se o quimioterápico doxorrubicina, um fármaco muito utilizado na atualidade em diversos tipos de neoplasias (Peter *et al.*, 2022). As concentrações testadas foram de 0.025, 0.25, 2.5 e 25 µg/ml, sendo possível observar a inibição do crescimento celular com valores de GI₅₀ de 2,41µg/ml para os fibroblastos (3T3) e 0,023µg/ml para as células endoteliais humanas (HUVEC) (Figuras 5 e 7).

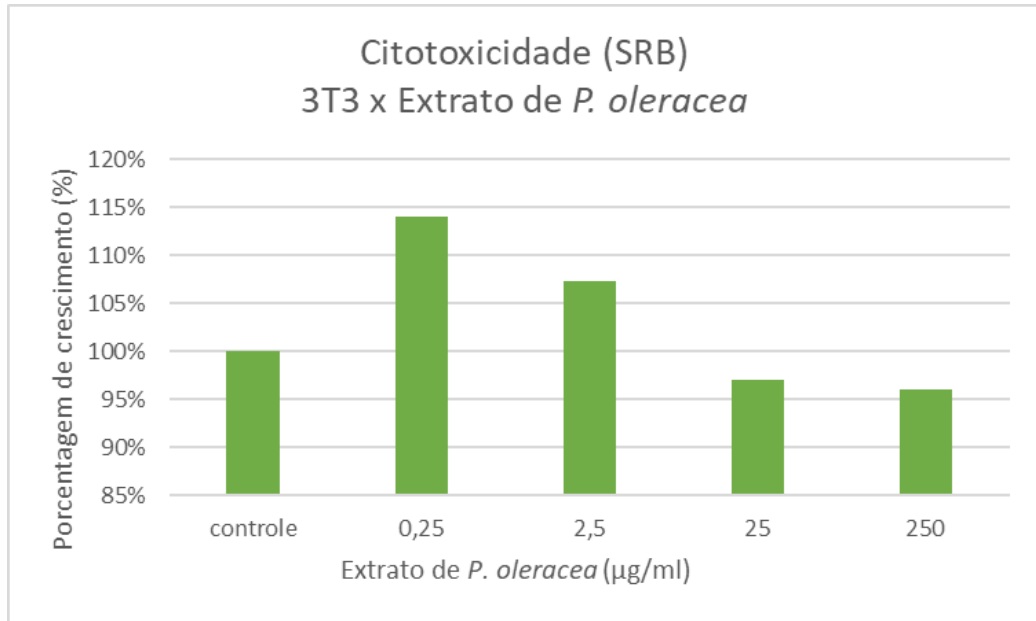


Figura 4. Porcentagem de crescimento celular diante de diferentes concentrações do extrato (0.25, 2.5, 25 e 250 µg/ml) em fibroblastos murinos (3T3).

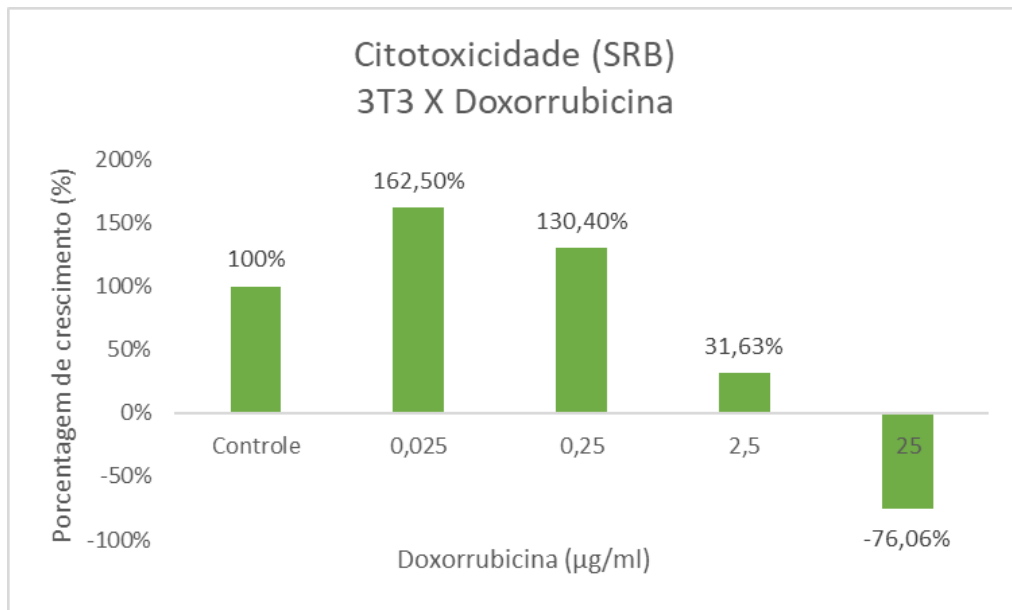


Figura 5. Porcentagem de crescimento celular diante de diferentes concentrações do quimioterápico doxorrubicina (0.025, 0.25, 2.5 e 25 µg/ml) em fibroblastos murinos (3T3).

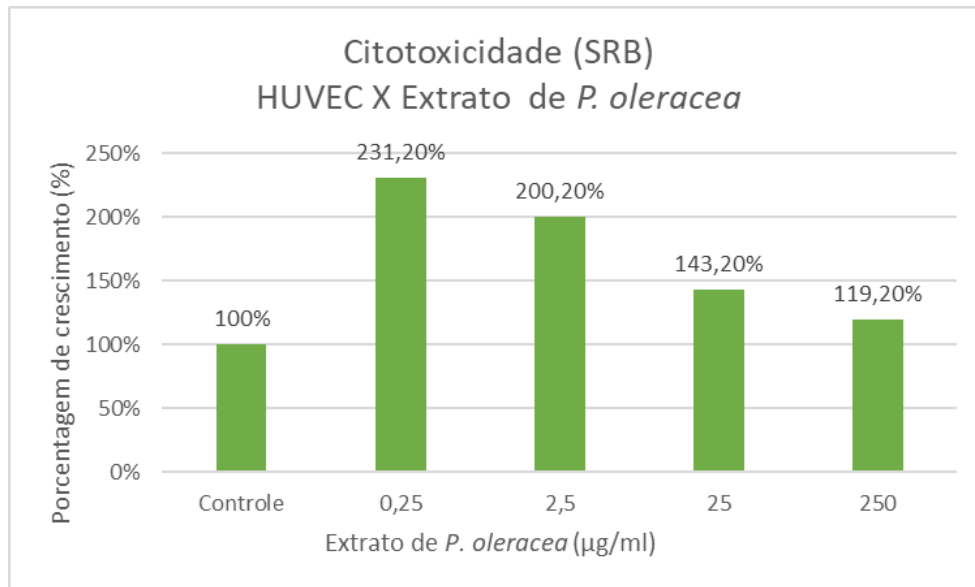


Figura 6. Porcentagem de crescimento celular diante de diferentes concentrações do extrato (0.25, 2.5, 25 e 250 µg/ml) em células endoteliais humanas (HUVEC).

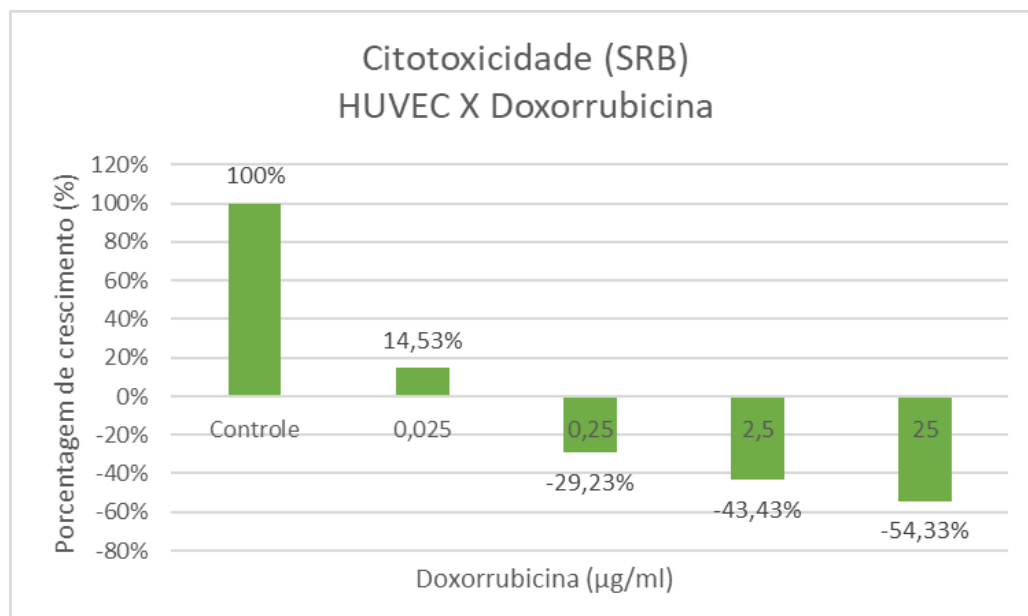


Figura 7. Porcentagem de crescimento celular diante de diferentes concentrações do quimioterápico doxorubicina (0.025, 0.25, 2.5 e 25 µg/ml) em células endoteliais humanas (HUVEC).

A indução da proliferação de fibroblastos pode ser uma estratégia eficaz no desenvolvimento de novos candidatos a cicatrizantes, visto que essas células são essenciais na fase proliferativa do reparo tecidual (Fronza *et al.*, 2009). Resultados semelhantes foram

encontrados em pesquisas realizadas com outras plantas usadas popularmente para esse fim. Alkan *et al.* (2014) avaliou os efeitos proliferativos de extratos aquosos e etanólicos de *Symphytum officinale* em fibroblastos murinos 3T3 e obteve sucesso na indução da proliferação celular, que também demonstraram importante atividade antioxidante. Em outro estudo, a determinação da atividade cicatrizante de extratos de *Calendula officinalis* foi realizada utilizando-se da mesma linhagem celular, sendo que o tratamento das células induziu a proliferação em baixas concentrações e também a migração celular dos fibroblastos, corroborando com o uso popular da planta como cicatrizante (Fronza *et al.*, 2009).

O desenvolvimento de um suprimento vascular que possa suportar as necessidades metabólicas dos tecidos regenerados também é um desafio na melhoria do processo de cicatrização. Logo as células endoteliais, que possuem um papel crucial na formação de novos vasos sanguíneos, também são um alvo interessante no desenvolvimento de novas terapias. As plantas medicinais e seus derivados podem ser utilizadas nesse processo: alguns dos fitoquímicos pró-angiogênicos mais frequentemente estudados são ginsenosídeos de *Panax ginseng*, beta-sitosterol de *Aloe vera*, calicosina de *Radix Astragali* e extratos de *Hippophae rhamnoides L.* e *Angelica sinensis*. Tais componentes atuam em processos como a proliferação e a migração celular de células endoteliais (Majewska e Gendaszewska-Darmach, 2020). Portanto, a indução da proliferação *in vitro* de células HUVEC promovida pelo extrato de *Portulaca oleracea* também pode estar correlacionada com a ação cicatrizante da planta. Entretanto, mais estudos devem ser realizados para comprovar esse mecanismo.

5.2. Teste de proliferação e viabilidade celular em matriz de colágeno tipo I (HUVEC)

O colágeno tipo I é um dos principais componentes da matriz extracelular (MEC), sendo uma opção interessante de matriz em estudos *in vitro* para simular a ligação de proteínas de adesão presentes nas membranas celulares à MEC. Tal processo é fundamental para processos biológicos como a organização tecidual e diferenciação, desempenhando papel essencial no remodelamento e homeostase de tecidos e órgãos (MOREIRA, 2014).

Por conta disso, a influência do extrato etanólico de beldroega na proliferação e viabilidade das células HUVEC foi também avaliada na presença de matriz de colágeno tipo I. Foram testadas as concentrações que obtiveram melhores resultados no teste de citotoxicidade por SRB (0,25 e 2.5µg/ml). A adesão observada apenas na presença da matriz (controle

positivo) foi considerada como 100%, enquanto que o controle negativo foi realizado com o BSA, que representa células aderidas de forma não específica

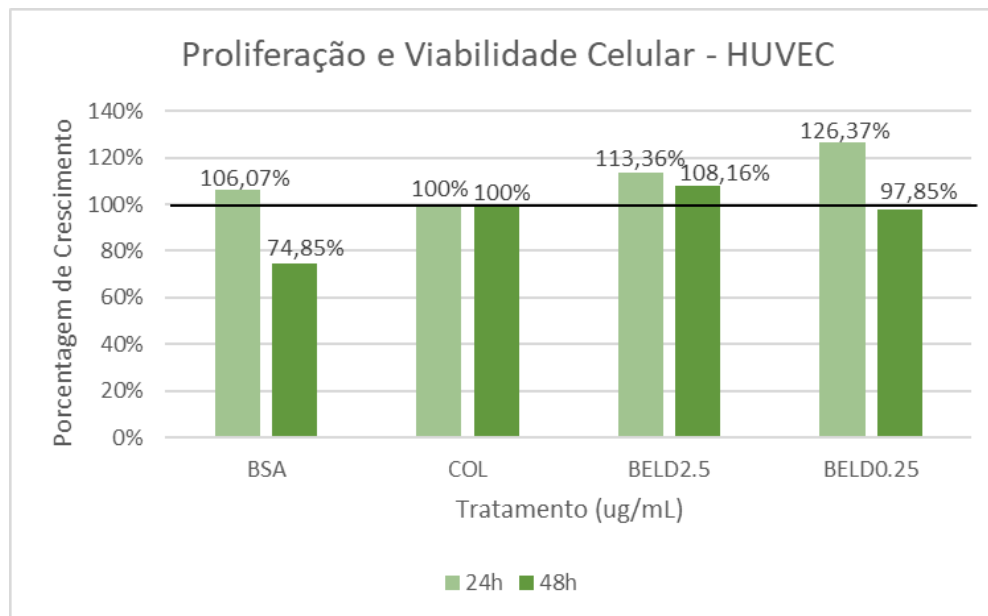


Figura 8. Porcentagem de crescimento celular em relação ao observado com o controle positivo (COL) após tratamento com diferentes concentrações do extrato etanólico de *P. oleracea* (2.5 e 0,25 µg/ml) e em diferentes tempos de incubação (24 e 48h) com células HUVEC.

As duas concentrações testadas do extrato foram capazes de induzir a proliferação celular em 24h de incubação. Porém, tal efeito não se sustentou após 48 horas, demonstrando um padrão de adesão similar ao observado no controle positivo (COL). Portanto, pode-se observar que a maior taxa de proliferação foi alcançada com o uso da menor concentração testada (0.25 µg/mL). Tal fato está de acordo com os resultados *in vitro* utilizando o SRB, demonstrando que o extrato etanólico de *Portulaca oleracea* induz a proliferação de HUVEC de maneira inversamente proporcional à dose empregada. Além disso, o ensaio *in vitro* demonstrou que o extrato é mais eficaz em concentrações mais baixas.

5.3. Teste de indução à desadesão/descolamento

A desadesão/descolamento das células é um processo resultante da quebra de interações entre proteínas de adesão presentes na membrana plasmática e a matriz de colágeno tipo I. A capacidade de indução à desadesão/descolamento das células endoteliais previamente aderidas ao colágeno foi investigada utilizando-se concentrações de 0.0025,

0.025, e 0,25 $\mu\text{g/ml}$ do extrato testado. O colágeno tipo I foi utilizado como controle positivo e o BSA como controle negativo.

Não foi observada a indução à desadesão/descolamento celular em nenhuma das concentrações testadas, sendo os resultados semelhantes aos grupos controles, como pode ser observado na representação gráfica a seguir (Figura 10). A partir desses resultados, portanto, pode-se observar que o extrato etanólico de *Portulaca oleracea* não possui capacidade proteolítica em nenhuma das concentrações testadas.

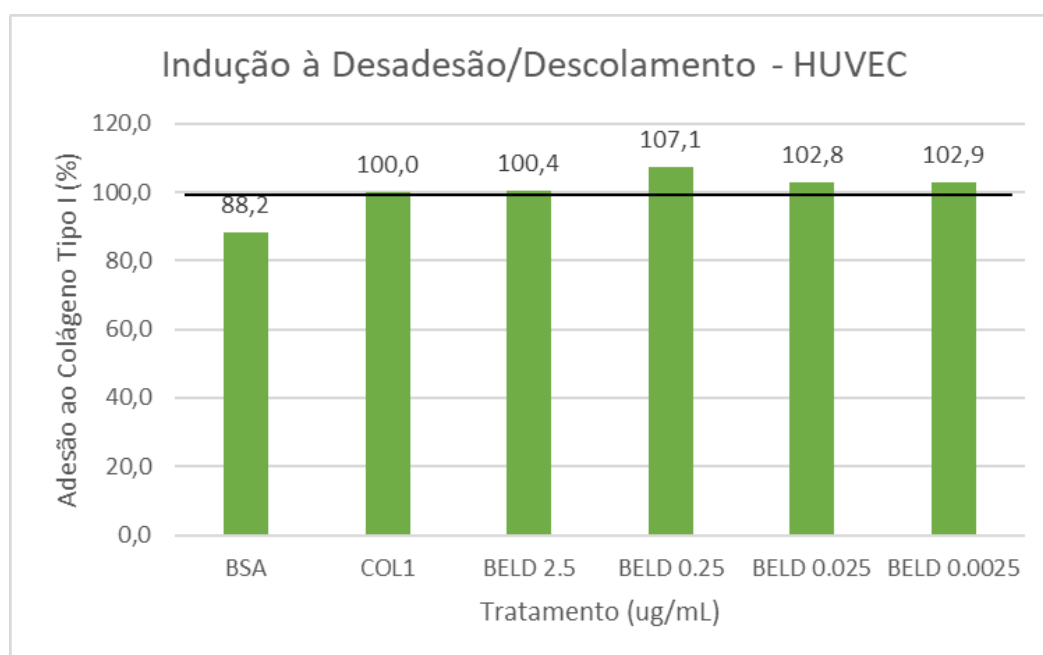


Figura 9. Capacidade de desadesão/descolamento celular de células HUVEC ao colágeno tipo I após incubação com diferentes concentrações do extrato etanólico de *Portulaca oleracea* (0.0025, 0.025, e 0,25 $\mu\text{g/ml}$) em relação às células sem incubação em matriz de colágeno tipo I (COL1, controle positivo) e matriz de BSA (controle negativo).

Os resultados observados no teste de proliferação e viabilidade de células endoteliais humanas (HUVEC) em matriz de colágeno tipo I, em conjunto com os resultados observados nos testes de citotoxicidade em fibroblastos murinos (3T3) e células endoteliais humanas (HUVEC) demonstram que o extrato etanólico de *Portulaca oleracea* não apresenta citotoxicidade frente às linhagens testadas e pode aumentar a proliferação e a viabilidade de células endoteliais em baixas concentrações. A ausência de atividade proteolítica, por sua vez, complementa essas constatações.

Os ensaios realizados também reafirmam a potencialidade do extrato, corroborando os resultados relacionados encontrados por Guo *et al.* (2020) para a mesma espécie. No estudo citado, a avaliação do potencial cicatrizante de vários extratos de *Portulaca oleracea* foi realizada de forma abrangente, combinando a avaliação *in vitro* da proliferação de células endoteliais com estudos *in vivo* que demonstraram a redução do tempo de reepitelização e a deposição de colágeno distinta e de alta qualidade em feridas, fato que pode estar relacionado ao aumento da atividade e proliferação dos fibroblastos, uma vez que essas células são responsáveis pela produção de colágeno no processo de reparo tecidual.

6. CONCLUSÃO

Os resultados adquiridos com o uso do extrato etanólico de *Portulaca oleracea* em células endoteliais humanas (HUVEC) e em fibroblastos murinos (3T3) corroboram ~~em~~ os estudos disponíveis na literatura científica e são um forte indicativo do potencial uso da espécie na indução de processos que envolvam cicatrização, revascularização e reparo tecidual.

A indução da proliferação de células HUVEC, além de reforçar os estudos anteriores já abordados, também abre caminho para novas hipóteses e investigações acerca do potencial farmacológico de *Portulaca oleracea*, pois o papel das células endoteliais é crucial no desfecho de inúmeras patologias, como doenças cardiovasculares e isquemias (Hajzamani *et al.*, 2020).

Os resultados deste estudo demonstram o valor terapêutico da *Portulaca oleracea* como um agente cicatrizante natural. A continuidade dos estudos nessa área é crucial para aprofundar nosso entendimento sobre os compostos ativos da planta, suas interações biológicas e aplicações clínicas potenciais, algo fundamental para transformar descobertas científicas em benefícios tangíveis para a saúde, proporcionando soluções eficazes e seguras para os desafios médicos contemporâneos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-SHEDDI, E. S. *et al.* *Portulaca oleracea* seed oil exerts cytotoxic effects on human liver cancer (HepG2) and human lung cancer (A-549) cell lines. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 16, n. 8, p. 3383-3387, 2015.

ALKAN, Fulya Ustun *et al.* Antioxidant and proliferative effects of aqueous and ethanolic extracts of *Symphytum officinale* on 3T3 Swiss albino mouse fibroblast cell line. **Asian J Plant Sci Res**, v. 4, n. 4, p. 62-8, 2014.

BADKE, Marcio Rossato *et al.* Saberes e práticas populares de cuidado em saúde com o uso de plantas medicinais. **Texto & Contexto-Enfermagem**, v. 21, p. 363-370, 2012.

COELHO, Alexa de Araújo Oliveira Paes; GIULIETTI, Ana Maria. O gênero *Portulaca* L. (*Portulacaceae*) no Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, p. 655-670, 2010.

CHAN, K; ISLAM, M.W; KAMIL, M.; RADHAKRISHNAN, R.; ZAKARIA, M.N.M; HABIBULLAH, M.; ATTAS, A. The analgesic and anti-inflammatory effects of *Portulaca oleracea* L. subsp. *sativa* (Haw.) Celak. **Journal of Ethnopharmacology**, v.73, n.3, p.455-461, 2000.

COMINETTI, Marcia R. *et al.* Inhibition of platelets and tumor cell adhesion by the disintegrin domain of human ADAM9 to collagen I under dynamic flow conditions. **Biochimie**, v. 91, n. 8, p. 1045-1052, 2009.

DA SILVA, G. M. *et al.* O potencial das plantas alimentícias não convencionais (PANC): uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 2, p. 14838-14853, 2022.

FRONZA, Marcio *et al.* Determination of the wound healing effect of *Calendula* extracts using the scratch assay with 3T3 fibroblasts. **Journal of ethnopharmacology**, v. 126, n. 3, p. 463-467, 2009.

GUPTA, K.; ZHANG, J. Angiogenesis: a curse or cure? **Postgraduate Medical Journal**, v. 81, p. 236-242, 2005.

GUO, Jinglin *et al.* Extracts of *Portulaca oleracea* promote wound healing by enhancing angiology regeneration and inhibiting iron accumulation in mice. **Chinese Herbal Medicines**, v. 14, n. 2, p. 263-272, 2022.

GUO, *et al.* 1D, 2D, and 3D scaffolds promoting angiogenesis for enhanced wound healing. **Chemical Engineering Journal**, v. 437, p. 134690, 2022.

HAJZAMANI, Dorfam *et al.* Effect of engineered PLGA-gelatin-chitosan/PLGA-gelatin/PLGA-gelatin-graphene three-layer scaffold on

adhesion/proliferation of HUVECs. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 31, n. 9, p. 1896-1910, 2020.

JAMSHIDI-KIA, Fatemeh; LORIGOOINI, Zahra; AMINI-KHOEI, Hossein. Medicinal plants: Past history and future perspective. **Journal of herbmed pharmacology**, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2017.

JIA, Guiyan et al. Anti-cervical cancer activity of *Portulaca oleracea* L. and the mechanism of synergistic cisplatin. **Journal of Functional Foods**, v. 98, p. 105267, 2022.

JUNG, Jae Hyun et al. Antiobesity and antidiabetic effects of *Portulaca oleracea* powder intake in high-fat diet-induced obese C57BL/6 mice. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2021, 2021.

MARTINS, Waleska B. et al. Neuroprotective effect of *Portulaca oleracea* extracts against 6-hydroxydopamine-induced lesion of dopaminergic neurons. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, p. 1439-1450, 2016.

MOHAMED, A. Dkhil; MONIEM, Ahmed E. Abdel; AL-QURASHY, Saleh; SALEH, Reda Awadallah. Antioxidant effect of purslane (*Portulaca oleracea*) and its mechanism of action. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 9, p. 1589-1593, 2011.

MONEIM, Ahmed E. Abdel; DKHIL, Mohamed A.; AL-QURASHY, Saleh. The potential role of *Portulaca oleracea* as a neuroprotective agent in rotenone-induced neurotoxicity and apoptosis in the brain of rats. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 105, n. 3, p. 203-212, 2013.

KARIMI, Gholamreza; HOSSEINZADEH, Hossein; ETTEHAD, Negin. Evaluation of the gastric antiulcerogenic effects of *Portulaca oleracea* L. extracts in mice. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 18, n. 6, p. 484-487, 2004.

KINUPP, V. F. Plantas alimentícias não-convencionais da região metropolitana de Porto Alegre, RS. Tese (Doutorado em Fitotecnia-área de Concentração:Horticultura). Programa de Pós-graduação em fitotecnia, p. 590. 2007.

LIMA E SILVA, M. C. B. et al. Antiproliferative activity of extracts of *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg and isolated compound dimethylchalcone against B16-F10 murine melanoma. **Journal of Medicinal Food**, p. 1-11, 2018.

LIM, Y.Y; QUAH, E.P.L. Antioxidant properties of different cultivars of *Portulaca oleracea*. **Food Chemistry**, v.103, n.3, p-134-740, 2007.

MASOODI, Mubashir; AHMAD, Bahar; MIR, Showkat R.; ZARGER, Bilal. *Portulaca oleracea* L. A Review. **Journal of Pharmacy Research**, v. 4, n. 9, p. 3044-3048, 2011.

MONKS, A. *et al.* Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. **J. Nat. Cancer Inst.**, v.83 p.757-766, 1991.

MOREIRA, Cheisy Daiana Freitas. Avaliação da adição de colágeno tipo I e nanopartículas de vidro bioativo a hidrogéis termossensíveis de quitosana para uso na engenharia de tecido. 2014.

RAHIMI, Vafa Baradaran *et al.* Anti-inflammatory and anti-oxidant activity of *Portulaca oleracea* extract on LPS-induced rat lung injury. **Molecules**, v. 24, n. 1, p. 139, 2019.

SARTORI, Valdirene Camatti *et al.* Plantas Alimentícias não Convencionais. Resgatando a soberania alimentar e nutricional. Universidade Federal de Caxias do Sul. **Educs Acadêmico**, p. 42-43, 2020.

SULTANA, Arshiya *et al.* *Portulaca oleracea* Linn. A global Panacea with ethno-medicinal and pharmacological potential. **Int J Pharm Pharm Sci**, v. 5, n. 2, p. 33-39, 2013.

ORELLANA, E. A. & KASINSKI, A. L. Sulforhodamine B (SRB) assay in cell culture to investigate cell proliferation. **Bio. Protoc.**, v.6, 2016.

PRADELLA, Rafaella Aquino; MACIEL, Caroline Aparecida; CARDOSO, Bruna Muller. Abordagem terapêutica com bevacizumabe em câncer de cólon e reto. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 5, p. 41638-41655, 2022.

RASHED, A. N.; AFIFI, F. U.; DISI, A. M. Simple evaluation of the wound healing activity of a crude extract of *Portulaca oleracea* L.(growing in Jordan) in *Mus musculus* JVI-1. **Journal of ethnopharmacology**, v. 88, n. 2-3, p. 131-136, 2003.

RIBEIRO, J. U. Efeitos das desintegrinas alternagina-c e DisBa-01 de *Bothrops alternatus* em fibroblastos, células endoteliais e tumorais. Tese (Doutorado em Genética e Evolução) – Universidade Federal de São Carlos. São Carlos. p. 175. 2009.

UDDIN, Kamal; JURAIMI, Abdul Shukor; HOSSAIN, Md Sabir; NAHAR, Most, Altaf Un; ALI, Md. Equb; RAHMAN, M.M. Purslane Weed (*Portulaca oleracea*): A Prospective Plant Source of Nutrition, Omega-3 Fatty Acid, and Antioxidant Attributes. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.

XIANG, Lan *et al.* Alkaloids from *Portulaca oleracea* L. **Phytochemistry**, v. 66, n. 21, p. 2595-2601, 2005.

WANG, Z *et al.* Broad targeting of angiogenesis for cancer prevention and therapy. **Seminars in Cancer Biology**, p. 1-20, 2015

ZHOU, Yan-Xi; XIN, Hai-Lang; RAHMAN, Khalid; WANG, Su-Juan; PENG, Cheng; ZHANG, Hong. *Portulaca oleracea L.*: A Review of Phytochemistry and Pharmacological Effects. **BioMed Research International**, v.2015, 2015.

ZHU, HONGBIN; WANG, Yuzhi; LIU, Yuxuan; XIA, Yalin; TANG, Tian. Analysis of flavonoids in *Portulaca oleracea L.* by UV–vis spectrophotometry with comparative study on different extraction technologies. **Food Analytical Methods**, v. 3, p. 90-97, 2010.