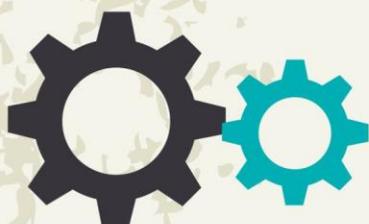
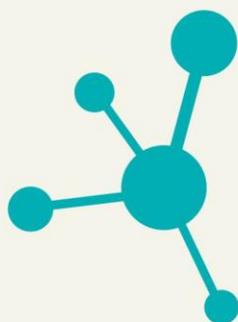


III WORKSHOP

DE PROJETOS E DISSERTAÇÕES
DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS



6 A 7 DE NOVEMBRO DE 2014
TERESINA , PIAUI, BRASIL

Anais do III Workshop de Projetos e Dissertações

(Anais de Eventos)

Volume 1, Número 3

ISSN: 2358-8314

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

A exatidão das referências, a revisão gramatical e as ideias expressas e/ou defendidas nos textos são de inteira responsabilidade dos autores.

	Workshop de projetos e dissertações do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (3. : 2014 : Teresina, PI).
W919a	Os aspectos interdisciplinares da P&D de medicamentos : anais do
do	3º Workshop de projetos e dissertações do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Teresina, Piauí, Brasil, 6-7 novembro, 2014 / editado por Marcus Vinícius O. B. de Alencar; Rivelilson Mendes de Freitas. -- Teresina : EDUFPI, 2014. 51 p. : il.
	ISSN: 2358-8314
	I. Alencar, Marcus Vinícius O. B. de. II. Freitas, Rivelilson Mendes de. III. Título.
	CDD 615.1

Anais do III Workshop de Projetos e Dissertações

COORDENAÇÃO GERAL

Prof. Dr. Paulo Michel Pinheiro Ferreira

COORDENAÇÃO CIENTÍFICA

Prof. Dr. Rivelilson Mendes de Freitas

COMISSÃO ORGANIZADORA

Profa. Dra. Chistiane Mendes Feitosa

Prof. Dr. Gilberto Santos Cerqueira

Prof. Dr. Paulo Michel Pinheiro Ferreira

Prof. Dr. Rivelilson Mendes de Freitas

COORDENADOR DA COMISSÃO CIENTÍFICA

Prof. Dr. Rivelilson Mendes de Freitas

MEMBROS DA COMISSÃO CIENTÍFICA

Prof. Dr. Giovanni Rebouças Pinto

Profa. Dra. Ana Amélia de C. M. Cavalcante

Prof. Dr. André Luís Meneses Carvalho

Dra. Antonia Maria das Graças L. Citó

Prof. Dr. Benedito Borges da Silva

Dra. Chistiane Mendes Feitosa

MEMBROS DA COMISSÃO JULGADORA

Profa. Dra. Hercilia Maria Lins Rolim Santos

Prof. Dr. Livio César Cunha Nunes

Profa. Dra. Maria das Gracas F. de Medeiros

Prof. Dr. Paulo Michel Pinheiro Ferreira

Prof. Dr. Sidney Gonçalo de Lima

Prof. Dr. Francisco de Assis Oliveira

Prof. Dr. Francisco das Chagas Alves Lima

Prof. Dr. Sharbel Weidner Maluf

Programação

Dia: 06/11/14

08h:00 – 8h:30: Credenciamento

09h:00 – 10h:00: Palestra de abertura: Planejamento e desenvolvimento de novos fármacos: os primeiros passos do Brasil - Palestrante: Prof. Dr. Eliezer Jesus de Lacerda Barreiro (UFRJ)

Resumo da palestra: Nesta palestra trataremos de aspectos do planejamento racional de novos fármacos como vocação principal da Química Medicinal, caracterizando sua natureza interdisciplinar. A etapa de desenvolvimento de novos fármacos será, em seguida abordada, com exemplo ilustrativo de sua importância para capacitação científica-tecnológica do País no setor, estratégico no complexo industrial da Saúde. Concluiremos com uma visão retrospectiva das contribuições do Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio; <http://www.farmacia.ufrj.br/lassbio>) da UFRJ, Sede do INCT-INOVAR (<http://www.inct-inovar.ccs.ufrj.br>) nos seus 20 anos de existência, comemorados este ano de 2014.

10h:00 – 11h:00: Biological Barriers: Challenges for a successful Development of Drug Delivery Systems-
Palestrante: Prof. Dr. Arnóbio Antônio da Silva Júnior (UFRN) - Local: Auditório do Curso de Graduação em Farmácia

Resumo da palestra: O tratamento eficiente das doenças depende da interação efetiva das moléculas nos sítios de ação, de modo a inibir ou impedir a evolução da patogenia. O desenvolvimento de novas moléculas tem sido fundamental para a inovação em saúde há tempos, mas um novo olhar sobre os fármacos já conhecidos e sobre os mecanismos das patologias é desejável no sentido de estabelecer novas rotas para superar as eficientes barreiras biológicas. Este olhar sobre a morfologia e biologia molecular dos tecidos alvos é fundamental na aplicação de novos medicamentos mais eficientes. Neste sentido vários materiais naturais, semi-sintéticos e sintéticos tem sido aplicados nas áreas médica e farmacêutica em importantes contribuições para melhorar a saúde humana. O sucesso na aplicação de vários sistemas de liberação de fármacos (SLFs) tem sido descrito, principalmente aqueles constituídos a base de carboidratos, lipídios, polímeros, minerais e tensoativos. Uma avaliação criteriosa na escolha destes materiais para aplicações terapêuticas e o estudo de suas propriedades físico-químicas permitem entender a interação destes sistemas com os sítios biológicos e permitir uma melhor resposta terapêutica. Nesta apresentação oral será realizada uma discussão sobre as características físico-químicas e biológicas de eficientes barreiras biológicas e como estas informações podem auxiliar no delineamento de SLFs.

11h:00 – 12h:00: Biocelulose um material multifuncional aplicado a Medicina - Palestrante: Prof. Dr. Hernane da Silva Barud (PUC-RS) - Local: Auditório do Curso de Graduação em Farmácia

Resumo da palestra: O objetivo principal dessa palestra é apresentar a biosíntese, principais propriedades e aplicações da celulose bacteriana (CB). A CB é produzida em meio de cultura estático por bactérias do gênero Acetobacter, sendo obtida pura quimicamente (livre de lignina e hemiceluloses) como um hidrogel altamente hidratado (99% água). A CB possui massa molecular e cristalinidade superiores quando comparada a celulose vegetal. Essas propriedades aliadas à sua estrutura tridimensional nanométrica (“nanoceluloses”) conferem inúmeras aplicações que vão desde a Indústria Alimentícia (fibra dietética, “Nata de Coco”), passando pela Medicina (pele artificial) até a Indústria Eletrônica (papel eletrônico, OLEDs). Nesse seminário será dada maior ênfase nas aplicações biomédicas de biocelulose, a saber, substituto temporário de pele e sistema de liberação controlada de fármacos.

14h:00 – 16h:00: Sessão oral – Sessões Ciências da Vida, da Saúde e da Natureza

14h:00 - 16h:00: Avaliação das propriedades farmacológicas do ferulato de isopentila - Pós-graduanda: Keylla da Conceição Machado - Local: Auditório do curso de Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais (NPPM)

Banca avaliadora:

Prof. Dr. Rivellison Mendes de Freitas (Orientador/Presidente);
Profa Dra. Rita de Cássia Meneses Oliveira (Examinador interno/UFPI);
Prof. Dr. Waldecy de Lucca Junior (Examinador externo/UFS);
Profa. Dra. Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante (Suplente/UFPI)

04h:00 - 16h:00: Obtenção e caracterização de extrato fluido e extrato seco por aspersão (spray drying) - Pós-graduando: Sean Teles Pereira - Local: Auditório do curso de Farmácia

Banca avaliadora:

Prof. Dr. Livio Cesar Cunha Nunes (Orientador/Presidente)
Profa. Dra. Antonia Maria das Graças Lopes Cito (Examinador Interno/UFPI)
Prof. Dr. Arnóbio Antonio da Silva Junior (Examinador Externo/UFRN)

16h:00 – 18h:00: Sessão painel – Sessões Ciências da Vida, da Saúde e da Natureza
Ciências da Vida (CV01 a CV011)
Ciências da Saúde (CS01 a CS020)

Ciências da Natureza (CN01 a CN03)

07/11/14

08h:00 – 10h:00: Sessão painel – Sessões Ciências da Vida, da Saúde e da Natureza

Ciências da Vida (CV012 a CV022)
Ciências da Saúde (CS021 a CS042)
Ciências da Natureza (CN04 a CN07)

10h:00 – 12h:00: Sessão oral – Sessões Ciências da Vida, da Saúde e da Natureza

Potencial farmacêutico anticâncer de extratos e da molécula marinobufagina obtidos a partir de venenos de *Rhinella marina* e *Rhaebo guttatus* da região Amazônica - Pós-graduanda: Katia da Conceição Machado - Local: Auditório do curso de Farmácia

Banca avaliadora:

Prof. Dr. Paulo Michel Pinheiro Ferreira (Orientador/Presidente)
Profa. Dra. Aldeídia Pereira de Oliveira (Examinador Externo/UFPI)
Prof. Dr. Arnóbio Antonio da Silva Junior (Examinador Externo/UFRN)
Profa. Dra. Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante (Examinador Interno/UFPI)
Profa. Dra. Chistiane Mendes Feitosa (Suplente)

14h:30 – 17h:00: Sessão oral – Sessões Ciências da Vida, da Saúde e da Natureza

Ensaio pré-clínicos com o aceturato de diminazeno: uma abordagem contra o agente infeccioso *Schistosoma mansoni* Sambon - Pós-graduando: George Laylson da Silva Oliveira - Local: Auditório do Curso de Farmácia

Banca avaliadora:

Prof. Dr. Rivellison Mendes de Freitas (Orientador/Presidente)
Prof. Dr. Gilberto Santos Cerqueira (Examinador Interno/UFPI)
Prof. Dr. Arnóbio Antonio da Silva Junior (Examinador Externo/UFRN)
Profa. Dra. Aldeídia Pereira de Oliveira (Suplente/UFPI)

Avaliação do potencial antioxidante e mecanismo de ação ansiolítico de um lipossoma contendo nimodipina: envolvimento dos sistemas serotoninérgico e dopaminérgico - Pós-graduando: Hellen Kelen Maria Medeiros Coimbra Viana - Local: Auditório do curso de Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais (NPPM)

Banca avaliadora:

Profa. Dra. Hercília Maria Lins Rolim (Orientador/Presidente)
Profa. Dra. Aldeídia Pereira de Oliveira (Examinador Interno/UFPI)
Prof. Dr. Waldecy de Lucca Junior (Examinador Externo/UFS)
Profa. Dra. Hilris Rocha e Silva (Suplente/UFPI)

17h:00 – 18h:00: Desafios e perspectivas no uso de técnicas de biologia molecular para o desenvolvimento de novos fármacos - Palestrante: Prof. Dr. Waldecy de Lucca Junior (UFS) - Local: Auditório do Curso de Farmácia

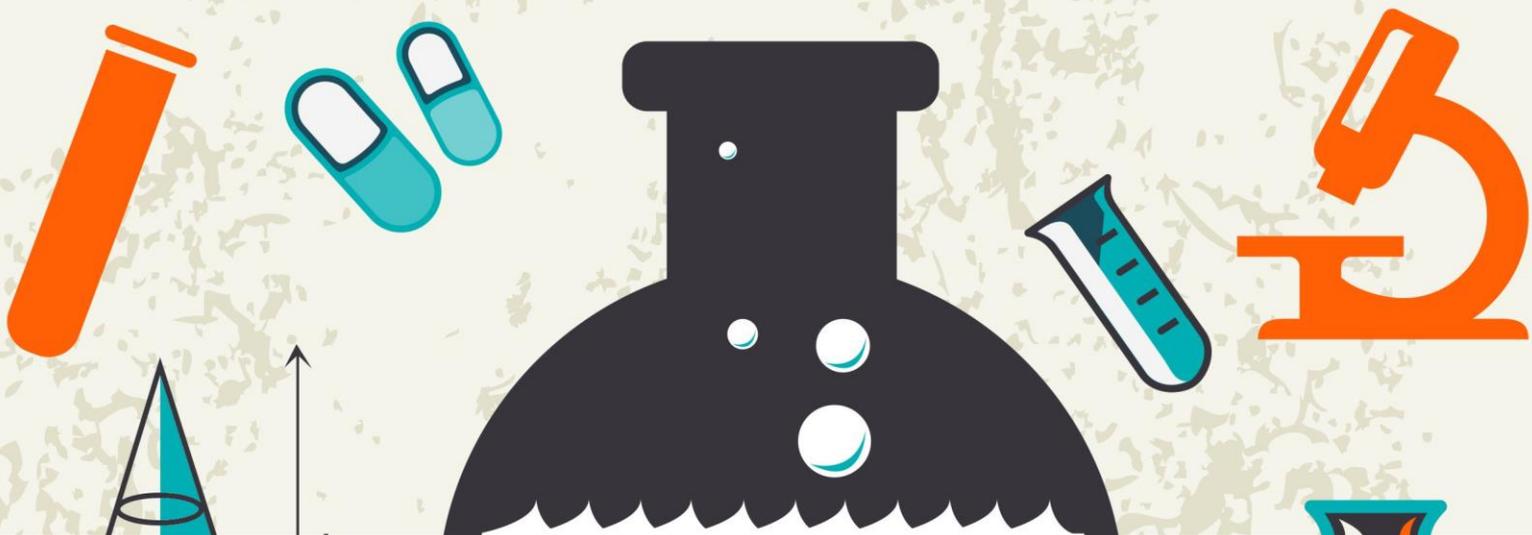
Resumo da palestra: As técnicas de biologia molecular podem ajudar a compreender melhor os efeitos biológicos de fármacos em desenvolvimento, revelando seus diversos potenciais terapêuticos. A imunofluorescência pode revelar os tecidos alvos da ação dos fármacos. No sistema nervoso central, essa técnica pode revelar a ação de um fármaco sobre a ativação ou inibição de circuitos neurais, sobre a

neurogênese, a morte celular programada, a ação antioxidante, processos inflamatórios e a atividade de células gliais modulando sinapses e processos de degeneração ou lesão neuronal. O qPCR pode mostrar a produção de RNA corroborando para a elucidação do mecanismo de ação biomolecular do fármaco. O western Blot pode mostrar a produção de uma proteína marcada na imunofluorescência e sintetizada a partir do RNA quantificado pelo qPCR. Todas essas técnicas de biologia molecular juntas garantem uma confiável elucidação de mecanismos de ação de fármacos, revelando seus potenciais terapêuticos. Esses métodos podem ainda ser usadas em conjuntos com os estudos comportamentais para melhor demonstrar as ações descritas para os fármacos em estudo.

18h:00: Entrega das Menções Honrosas e Premiações.

III WORKSHOP

DE PROJETOS E DISSERTAÇÕES
DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS



Apresentação de trabalhos em painéis



6 A 7 DE NOVEMBRO DE 2014
TERESINA , PIAUI, BRASIL

Sumário

CS11 - Avaliação esquistossomicida, citotóxica e genotóxica de compostos isolados do <i>Anacardium occidentale</i> L.....	9
CS12 - Gel de pilocarpina e avaliação do seu efeito na atrofia do epitélio vaginal de ratas	12
CS13 - Estudo dos efeitos do α -bisabolol na mucosite experimental induzida por 5-fluorouracil...	16
CS14 - Alterações em células isquêmicas resultantes do infarto agudo do miocárdio: revisão da literatura.....	21
CS15 - Estudo da atividade acetilcolinesterásica de um sesquiterpeno hidroxilado direcionada para a doença de Alzheimer	25
CS16 - Farmacovigilância no tratamento farmacológico convencional e/ou com imunobiológicos em portadores da Doença de Crohn	29
CS17 - Atividade antioxidante de uma molécula de <i>Peltophorum dubium</i> (Spreng): poder redutor de íons ferro.....	33
CS18 - Delineamento e Caracterização do Complexo de Inclusão de nerol e β -ciclodextrina.....	35
CS19 - Avaliação do efeito quimioprolifático da fração diclorometano do caule de <i>Mimosa caesalpinifolia</i> Benth (Mimosaceae) em um modelo experimental de carcinogênese vesical	38
CS20 - Revisão de literatura sobre porfiria aguda intermitente	40
CS21 - Triagem Neonatal de Hemoglobinopatias no Piauí: dos indicadores de pesquisa a inserção do diagnóstico e a criação da rede de atenção	43
CS22 - Delineamento e caracterização físico química de micropartículas de nerol.....	47
CS23 - Desenvolvimento de uma formulação farmacêutica sólida a partir de epoxilimoneno	49

CS11 - Avaliação esquistossomícida, citotóxica e genotóxica de compostos isolados do *Anacardium occidentale* L.

Charles Bruno Moura Silva (IC)^{1*}; Nara Raquel Gonçalves Monteiro (IC)¹, Laís Iasmim Soares da Silva (IC)²; Antonio Luiz Gomes Júnior (IC)³; Adailson Almeida Araruna Júnior (IC)⁴; Marcia Fernanda Correia Jardim Paz (IC)⁴; Rivelilson Mendes de Freitas (PQ)³; Ana Amélia de Carvalho Melo-Cavalcante (PQ)⁴

1. Universidade Federal do Piauí – PIBIC/CNPq.

2. Universidade Federal do Piauí – PIBITI/CNPq.

3. Universidade Federal do Piauí – Laboratório de Pesquisa em Neuroquímica Experimental - Programa de Pós-graduação em Biotecnologia (RENORBIO).

4. Universidade Federal do Piauí – Laboratório de Toxicidade Genética (LAPGENIC).

*cbmsilva@ymail.com

Palavras-chave: Doenças Negligenciadas. Composto Natural. Citotoxicidade. Genotoxicidade.

Resumo

A esquistossomose está presente em 76 países pertencentes aos continentes africano, asiático e americano atingindo cerca de 200 milhões de pessoas. Já no Brasil, atinge em 19 das 27 unidades federativas sendo o Nordeste a região com maior índice de prevalência. A esquistossomose é principalmente causada pelo *Schistosoma mansoni* (*S. mansoni*) que parasita hospedeiros diversificados. A esquistossomose é uma doença de múltiplos mecanismos em que há predominância de hepatoesplenomegalia e fibrose periportal em suas formas mais graves. A necessidade de desenvolver novas alternativas terapêuticas aplicadas a doenças negligenciadas é clara uma vez que, estas patologias afetam milhões de pessoas em diferentes áreas geográficas. Este projeto tem por finalidade desenvolver estudos que possam aplicar os compostos presentes na *Anacardium occidentale* em produtos farmacêuticos para o tratamento de esquistossomose. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí sob o nº 032/13. Os protocolos serão realizados de acordo com o Guia de Ensaios não clínicos da ANVISA e em conformidade com Lei federal nº 11.794, de 2008, que estabelece os procedimentos para o uso científico de animais. Com a realização da pesquisa, será analisada a atividade esquistossomícida *in vitro* do ácido anacárdico, catequina e epicatequina. O projeto tem como resultados esperados a produção do conhecimento de forma aplicada a avaliação de novos compostos para um possível tratamento da esquistossomose.

Introdução

A esquistossomose está presente em 76 países pertencentes aos continentes africano, asiático e americano atingindo cerca de 200 milhões de pessoas. Já no Brasil, atinge em 19 das 27 unidades federativas sendo o Nordeste a região com maior índice de prevalência. A esquistossomose é causada pelo *Schistosoma* sp. que parasita hospedeiros diversificados. Os seus aspectos patológicos dependem da interação parasito-hospedeiro nas fases evolutivas e migratórias do verme. Os ovos e a reação granulomatosa são os principais fatores causadores da morbidade. A esquistossomose costuma ser oligossintomática com predominância intestinal e prognóstico incerto. A esquistossomose é uma doença de múltiplos mecanismos em que há predominância de hepatoesplenomegalia e fibrose periportal em suas formas mais graves (WILSON et al., 2007; CUNHA E GUEDES, 2012).

A necessidade de desenvolver novas alternativas terapêuticas aplicadas a doenças negligenciadas é clara uma vez que, estas patologias afetam milhões de pessoas em diferentes áreas geográficas. A maioria das mortes pode ser devido a essas patologias ocorrem em regiões situadas abaixo da linha do Equador. Nesse contexto, alternativas que contemplem inovação farmacêutica baseada em produtos naturais deve ser destacada já que apenas 1% dos novos fármacos registrados entre 1975 e 2004 eram direcionados a doenças negligenciadas reforçando a importância da execução da proposta (SANTOS et al., 2012).

Nesse contexto pode ser destacado o caju (*Anacardium occidentale* L.), um fruto típico do nordeste brasileiro com cultivo de relevância socioeconômica para a região (CARDOSO et al., 1999). Estudos prévios indicaram atividade antimicrobiana e antifúngica significativas, forte potencial antioxidante e antitumoral para constituintes isolados do *A. occidentale* (HIMEJIMA; KUBO, 1991; MAIA et al., 2000; AKINPELU, 2001). Além disso, alguns estudos relataram atividade esquistossomicida e moluscicida para esta espécie (SOUZA et al., 1992; LAURENS et al., 1997). No entanto, o modo de ação que causa dano ao parasita foi pouco investigado e são necessários, mais estudos para confirmar seu valor terapêutico (MØLGAARD et al., 2001).

Assim, este projeto tem por finalidade desenvolver estudos para a descoberta de novas substâncias naturais com atividade esquistossomicida, que possam vir a ser aplicados no desenvolvimentos de produtos farmacêuticos para o tratamento da esquistossomose, bem como, avaliar os efeitos citotóxico e genotóxicos destes compostos naturais isolados do *A. occidentale*.

Material e Métodos

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí sob o nº 032/13. Os protocolos serão realizados de acordo com o Guia de Ensaio não clínicos da ANVISA e em conformidade com Lei federal nº 11.794, de 2008, que estabelece os procedimentos para o uso científico de animais. Serão utilizados 110 camundongos albinos machos e fêmeas, adultos, da linhagem Swiss (*Mus musculus*), com 2 meses de idade, pesando aproximadamente 25 a 30 g, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Agrárias da UFPI, para a realização do teste cometa e avaliação da genotoxicidade. Os animais serão mantidos sob condições monitoradas de temperatura equivalente a 26 ± 1 °C, com livre acesso a ração tipo pellets (Purina®) e água, mantidos em ciclo claro/escuro de 12 horas, sendo a fase clara de 6h:00 às 18h:00.

Com a realização da pesquisa, será analisada a atividade esquistossomicida *in vitro* do ácido anacárdico, catequina e epicatequina, na qual será realizada segundo a metodologia descrita por Pellegrino e Siqueira (1956).

Para a realização do teste cometa em *Allium cepa*, a genotoxicidade dos isolados será avaliada conforme metodologia descrita Radić et al, (2010) com adaptações. No teste serão utilizados 55 espécimes de *Allium cepa* para a realização dos testes. Os espécimes serão distribuídos em 5 exemplares para cada concentração utilizando 3 concentrações diferentes tanto para a catequina como para a epicatequina e ácido anacárdico (125, 250 e 500 µg/mL), além do controle negativo (CN) com água destilada e o controle positivo (CP) com 0,0006 mg/mL de sulfato de cobre. Após 72 horas serão coletadas as amostras de meristemas as quais serão submetidas ao teste cometa alcalino.

A pesquisa avaliará a citotoxicidade em células tumorais, na qual será seguida a metodologia do ensaio do MTT de Mosmann (1983), a citotoxicidade será investigada contra células tumorais de HL-60, SF-295, HCT-116 e OVCAR-8, que determina a habilidade das células vivas em reduzir o corante amarelo brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT) a um produto violeta, formazan.

Com o ensaio cometa em células sanguíneas, hepáticas e medula óssea, dos animais (n=10 por grupo) será avaliada a atividade genotóxica no organismo dos camundongos tratados com os compostos: ácido anacárdico, catequina e epicatequina, nas concentrações de 12,5 mg/kg, 25 mg/Kg e 50 mg/Kg e com ciclofosfamida, 50 mg/Kg (Controle positivo) e com solução salina, 1 mL/100g do animal (Controle negativo) e será realizado segundo a metodologia de Singh et al, (1988).

Os dados paramétricos serão analisados por Análise Variância (ANOVA), seguido pelo teste de t-Student-Newman-Keuls como post hoc teste. Por sua vez os dados não paramétricos serão analisados pelo teste do qui-quadrado (GraphPadPrism® 5.00). As diferenças serão consideradas significativas quando $p < 0,05$. Os resultados serão expressos como a média e erro padrão da média.

Resultados Esperados

O projeto tem como resultados esperados a produção do conhecimento de forma aplicada a avaliação de novos compostos para tratamento da esquistossomose. Fortalecimento da instituição onde o projeto será desenvolvido e também na difusão do conhecimento. Este projeto busca avaliar a ação esquistossomicida *in vitro* de compostos isolados do *A. occidentale* e avaliar a segurança destes compostos quanto a ação genotóxica e citotóxica. Com o desenvolvimento deste projeto os dados serão apresentados

em congressos nacionais e internacionais. Através do avanço desta pesquisa será possível descobrir, avaliar a capacidade terapêutica de novas substâncias para o tratamento da esquistossomose.

Referências

- AKINPELU, D. A. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* bark. **Fitoterapia**, v. 72, p. 286-287, 2001.
- CARDOSO, J. E.; CAVALCANTI, J. J. V.; CAVALCANTE, M. J. B.; ARAGÃO, M. L.; FELIPE, E. M. Genetic resistance of dwarf cashew (*Anacardium occidentale* L.) to anthracnose, black mold, and angular leaf spot. **Crop Protection**, v. 18, n. 1, p. 23-27, 1999.
- CUNHA, L. A. D.; GUEDES, S. A. G. Prevalência de esquistossomose mansônica na cidade de Nossa Senhora do Socorro, Sergipe, 2001-2006. **Ideias & Inovação**, v. 1, n. 1, p. 41-48, 2012.
- LAURENS, A.; FOURNEAU, C.; HOCQUEMILLER, R.; CAVÉ, A.; BORIES, C.; LOISEAU, P. M. Antivectorial activities of cashew nut shell extracts from *Anacardium occidentale* L. **Phytotherapy Research**, v. 11, n. 2, p. 145-146, 1997.
- MØLGAARD, P.; NIELSEN, S. B.; RASMUSSEN, D. E.; DRUMMOND, R. B.; MAKAZA, N.; ANDREASSEN, J. Anthelmintic screening of Zimbabwean plants traditionally used against schistosomiasis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, p. 257-264, 2001.
- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunology Methods**, v. 65, 55-63, 1983.
- PELLEGRINO, J.; SIQUEIRA, A. F. Técnica de perfusão para colheita de *Schistosoma mansoni* em cobaias experimentalmente infectadas. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 8, p. 589-597, 1956.
- RADIĆ S.; STIPANICEV, D.; VUJCIĆ, V.; RAJCIĆ, M.M.; SIRAC, S.; PEVALEK-KOZLINA, B. The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the *Allium cepa* test. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 1228–1233, 2010.
- SANTOS, F. L. A.; LYRA, M. A. M.; ALVES, L. D. S.; SILVA, K. E. R.; ROLIM, L. A.; GOMES, T. C. B. L.; FERRAZ, L. R. M.; LIMA, Á. A. L.; SOARES SOBRINHO, J. L.; ROLIM NETO, P. J. Pesquisa, desenvolvimento e inovação para o controle de doenças negligenciadas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 1, p. 37-47, 2012.
- SINGH, N.P.; MCCOY, M.T.; TICE, R.R.; SCHNEIDER, E.L. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. **Exp Cell Research**, v. 175, n.184–191, 1988.
- SOUZA, C. P.; MENDES, N. M.; JANNOTTI-PASSOS, L. K.; PEREIRA, J. P. O uso da casca da castanha do caju, *Anacardium occidentale*, como moluscicida alternativo. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 34, n. 5, p. 459-466, 1992.
- HIMEJIMA, M.; KUBO, I. Antibacterial Agents from the Cashew *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) Nut Shell Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, p. 418-421, 1991.
- MAIA, J. H. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; ZOGHBI, M. G. B. Volatile Constituents of the Leaves, Fruits and Flowers of Cashew (*Anacardium occidentale* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 13, p. 227-232, 2000.
- WILSON, M. S.; MENTINK KANE, M. M.; PESCE, J. T.; RAMALINGAM, T. R.; THOMPSON, R.; WYNN, T. A. Immunopathology of schistosomiasis. **Immunology and Cell Biology**, v. 85, p. 148-154, 2007.

Agradecimentos

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí (FAPEPI) Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), Laboratório de pesquisa em genotoxicidade e citotoxicidade.

CS12 - Gel de pilocarpina e avaliação do seu efeito na atrofia do epitélio vaginal de ratas

Cristina Alves de Sousa Lages (PG)^{1*}; Lívio César Cunha Nunes (PQ)²; Benedito Borges da Silva (PQ)²

1. Universidade Federal do Piauí – MESTRANDA/PPGCF
2. Universidade Federal do Piauí – PESQUIISADOR/PPGCF

*cristinasfarma@gmail.com

Palavras-chave: Atrofia Vaginal. Castração. Epitélio. Estro Permanente. Pilocarpina. Rata.

Resumo

Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do gel pilocarpina tópico em epitélio vaginal de ratas castradas. Para tanto, foi desenvolvida uma formulação em gel de pilocarpina e sua caracterização organoléptica e físico-química. O estudo foi realizado em 40 ratas Wistar possuindo 90 dias de vida e 200 g de peso. Foram divididas aleatoriamente em quatro grupos: I (estro permanente, controle positivo), II (ratas castradas, controle negativo), grupos III e IV (ratas castradas, experimentais) com 10 animais por grupo. Os dados foram analisados pelo teste não paramétrico de modelo de regressão linear, com nível de segurança estabelecido em $p < 0,05$. Os parâmetros organolépticos (aspecto, cor e odor) e físico-químicos (pH e viscosidade) do gel foram satisfatórios de acordo com a Farmacopeia Brasileira. A espessura epitelial média e desvio padrão da vagina dos animais nos grupos I, II, III e IV foi 195.10 ± 12.23 , 30.90 ± 1.14 , 28.16 ± 2.98 e 29.84 ± 2.30 , respectivamente. A espessura do epitélio vaginal das ratas do grupo I foi significativamente maior que a dos animais dos grupos II, III e IV ($p < 0,0001$), enquanto a comparação entre a das ratas dos grupos II, III e IV não mostrou diferença ($p = 0,0809$). Os resultados do presente estudo mostraram que a pilocarpina sob a forma de gel não alterou a espessura do epitélio vaginal de ratas castradas.

Introdução

As mulheres na pós-menopausa frequentemente procuram ajuda médica em consequência dos sintomas climatéricos, causados pela falência ovariana, tais como ondas de calor, perda de massa óssea, queixas urinárias e, principalmente, secura vaginal e dispareunia, decorrentes da atrofia vaginal (ORTMANN; LATTRICH, 2012). A atrofia vaginal decorrentes do hipoestrogenismo são tratados, principalmente, por meio do uso de estrogênios, contudo existem tratamentos alternativos, como hidratantes para os sintomas e usa lubrificantes para a dispareunia (MAC BRIDE et al., 2010). O uso de estrogênios por mulheres na pós-menopausa, portadoras de cânceres hormônio dependentes e atrofia vaginal é contraindicado, daí a busca de terapêuticas alternativas.

A propósito, uma substância não hormonal, cuja pesquisa vem despertando interesse é o cloridrato de pilocarpina por ser um agonista parassimpaticomimético colinérgico com amplo efeito farmacológico, com predominante atividade muscarínica que atua principalmente em receptores M_3 (WIINN, 1996). Alguns autores têm demonstrado um efeito da pilocarpina sobre a secura ocular e oral de pacientes portadores de Síndrome de Sjögren, sendo também observada uma melhora significativa da secura vaginal decorrente da atrofia (VIVINO et al., 1999). Outros autores postularam que a melhora da secura vaginal poderia ser devido a produção de muco pelas glândulas de Bartholin, todavia não comprovaram esta melhora da secura vaginal em humanos, empregando pilocarpina na concentração de 5 mg por via oral no total de 201 pacientes (LOPRINZI et al., 2011).

Assim, devido à necessidade de melhor estudar terapêuticas alternativas aos estrogênios, particularmente em mulheres na pós-menopausa com atrofia vaginal, na qual foi investigada, não foi encontrado qualquer estudo em modelos animais de ratas castradas que analisasse o efeito direto da pilocarpina sobre tecido vaginal, é que concebemos o presente estudo.

Material e Métodos

Manipulação do Gel

A base gel foi manipulada com Carbopol 940[®] disperso em solução de água destilada com pilocarpina a 5% e 15%. A formulação foi mantida sob agitação em temperatura ambiente acrescentando conservante nipagim (0,1%) e NaOH para gelificação.

Avaliação da estabilidade preliminar

Verificou o comportamento da formulação mediante variações extremas de temperatura, com o objetivo de acelerar possíveis reações de incompatibilidade entre seus componentes. Para isto, as mostras dos géis foram submetidas a seis ciclos alternados de 24 h a 45 ± 2 °C em estufa (Quimis, modelo – Q316M2) e 24 h a -5 ± 2 °C em refrigerador (Eletrolux – DC35A) durante 12 dias e outras três amostras permaneceram em temperatura ambiente (entre 20° C e 35°C). Analisou-se os parâmetros organolépticos (aspecto, cor e odor), valor de pH e viscosidade antes e após os ciclos. Depois deste período, as amostras foram submetidas também ao teste de centrifugação (Centrífuga – Centribio[®] - 3.000 rpm/30 min), utilizando-se 5 g de amostra. Mediante a qualquer sinal de instabilidade, os géis seriam submetidos à uma reformulação.

Parâmetros organolépticos

Observou as características organolépticas de cada amostra (aspecto, cor e odor) verificando a ocorrência de modificações. O teste foi realizado por meio da inspeção visual.

Determinação de pH

A análise de pH dos géis foi realizada em pHmetro digital (PHTeK[®]), previamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0, determinadas pelo próprio equipamento. O eletrodo foi inserido diretamente na amostra a temperatura ambiente para verificação do potencial hidrogeniônico das formulações. As leituras foram feitas em triplicata para cada amostra correspondendo o resultado a média dos valores.

Viscosidade

Para avaliação da viscosidade foi empregado o viscosímetro rotativo micro processado (Quimis, modelo Q-860M21) que consiste, basicamente, na medição do requerido para rodar um fuso imerso no gel. Utilizou-se aproximadamente 50 g de amostra, suficiente para manter a arte do sistema imerso na amostra e padronizou o “*spindle 2*”, em quatro velocidades (6, 12, 30 e 60 rpm) o que permite medir eletronicamente a força de torção já convertida em viscosidade. Todas as análises foram realizadas em triplicata e obtido à média.

Animais

Trinta e uma ratas foram divididas aleatoriamente em quatro grupos: grupo I (n=7, estrus persistente, controle positivo), II (n=7, ratas castradas, controle negativo), III (n=8) e IV (n=9), experimentais. O estro persistente foi conseguido por meio da administração subcutânea (s.c.) de propionato de testosterona no segundo dia de vida. As ratas dos grupos II, III e IV, aos 90 dias de vida, foram castradas e receberam por via vaginal gel de veículo (carbopol), pilocarpina a 5% e pilocarpina a 15%, respectivamente, durante 14 dias. A seguir, todos os animais foram eutanasiados para remoção da vagina que foi fixada em formol 10% para confecção de blocos de parafina para estudo histológico. Foi utilizado o teste não paramétrico de modelo linear de regressão robusta para análise dos dados ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

O estudo de estabilidade preliminar estão fundamentados na realização do teste na fase inicial da evolução do produto, que utiliza condições extremas de temperatura com a finalidade de acelerar possíveis reações entre seus constituintes e o aparecimento de sinais de instabilidade que devem ser observados e analisados conforme as características específicas de cada tipo de produto (ANVISA, 2014).

Tabela 1. Resultados da avaliação da estabilidade preliminar do gel de Carbopol® 940 e dos géis de Carbopol® com pilocarpina nas concentrações 5% e 15%.

Amostra/Tempo	Aspecto	pH	Viscosidade	Centrifugação
GC(tempo zero)	Homogêneo, translucido, incolor	5,45	2.114	Não houve nenhuma instabilidade perceptível
GC(final 6 ciclos)	Conservou as características iniciais	5,43	2.111	Manteve as características iniciais
GCP5(tempo zero)	Homogêneo, translucido, incolor	4,65	2.111	Não houve nenhuma instabilidade perceptível
GCP5(final 6 ciclos)	Conservou as características iniciais	4,54	2.111	Manteve as características iniciais
GCP15(tempo zero)	Homogêneo, translucido, incolor	4,57	2.111	Não houve nenhuma instabilidade perceptível
GCP15 (final 6 ciclos)	Conservou as características iniciais	4,53	2.119	Manteve as características iniciais

GC = gel de carbopol; GCP5 = gel de carbopol com pilocarpina a 5%;
GCP15 = gel de carbopol com pilocarpina a 15%.

Durante o estudo de estabilidade na avaliação preliminar, os resultados foram considerados satisfatórios, pois os géis permaneceram estáveis durante os 12 dias de observação. Não foi observados sinais de instabilidades como sinerese (separação espontânea homogêneo em duas fases: gel e líquido) alteração da cor, do odor, da aparência e da homogeneidade. Segundo Singh e colaboradores (2008), as características organolépticas guardam relação com a integridade e a qualidade das amostras e por serem teste visuais devem ser associados a outros métodos que aumente garantia do produto. A composição do gel foi considerada adequada para experiência descartando a possibilidade de reformulação. A tabela 2 descreve os perfis dos géis, por meio da análise das características citados no t_0 e t_{12} .

Para a avaliação do parâmetro de pH foi observado pouca variação durante o período de estudo de estabilidade entre os géis. No entanto, há uma diferença do pH do géis com ativo em relação gel veículo (Tabela 2). ZOPPI e colaboradores (2012), confirmam em seus experimentos que existe interação entre pilocarpina e o Carbopol, em solução e no estado sólido, esta relação é favorecida pela ligação eletrostática entre o grupo amino do fármaco e o grupo ácido carboxílico do Carbopol. Este fenômeno pode está relacionado com a redução do pH do gel com pilocarpina.

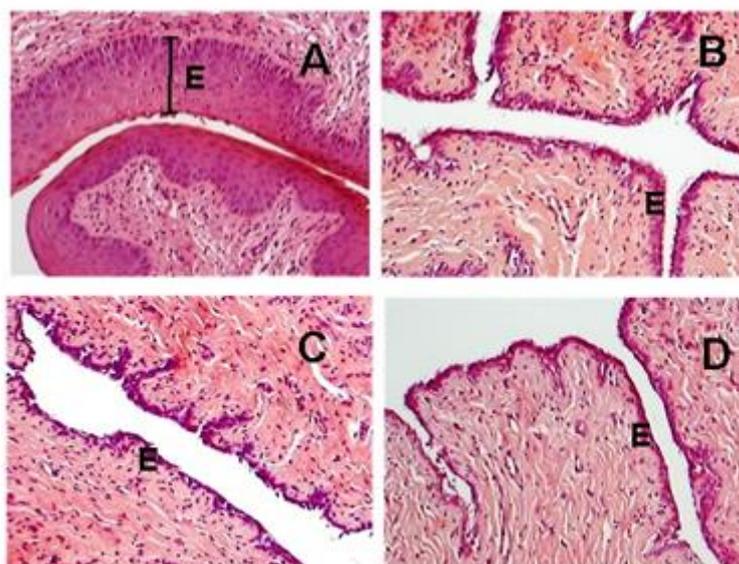
O controle da viscosidade dos géis no estudo da estabilidade é útil, também, para monitorar indiretamente a degradação química e estabilidade física, pois as alterações a nível molecular podem produzir mudanças na viscosidade, além das condições de temperatura (CARVALHO, 2010).

Tabela 2. Espessura do epitelial vaginal de ratas em estro permanente tratadas com veículo, grupo I controle positivo, e ratas castradas II, III e IV com tratamento de gel veículo e de pilocarpina (Média ± Desvio Padrão).

	GRUPOS			
	I	II	III	IV
MÉDIA ±DP	195.10±12.23	30.90±1.14	28.16±2.98	29.84±2.30

Modelo linear de regressão robusta I > II, III e IV ($p < 0,0001$) II x III x IV ($p = 0,0809$).

Figura 1. Fotomicrografias de corte histológico da vagina mostrando o epitélio vaginal (E) de rata em estro permanente e ratas castradas expostas ao gel veículo e ao gel com pilocarpina. A figura [A] grupo I, estro permanente (controle positivo); [B] Grupo II, gel de carbopol veículo (controle negativo), [C] Grupo III, gel de carbopol com pilocarpina a 5% (experimental), [D] Grupo IV, gel de carbopol com pilocarpina a 15% (experimental).



Os resultados morfométricos (Tabela 2) avaliaram o efeito da pilocarpina no tecido epitelial da vagina porque constitui um método simples e prático. O presente estudo mostrou um aumento significativo da espessura do epitélio vaginal de ratas em estro permanente em comparação a dos grupos de ratas castradas tratadas com gel de carbopol e pilocarpina por via vaginal, não havendo diferença entre as ratas castradas que usaram apenas veículo (carbopol) em comparação com as que usaram pilocarpina em diferentes concentrações (Figura 2).

Conclusão

Com base nos resultados deste estudo, pode ser sugerido que a formulação do gel apresentada é estável e, não houve alteração na morfologia e espessura do epitélio vaginal das ratas castradas.

Referências

Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, 2004. Séries Temáticas: **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**, v. I. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 11 de jul. de 2014.

CARVALHO, F. C. ; BARBI, M. S. ; SARMENTO, V. H. V. ; CHIAVACCI, L. A. ; NETTO, F. M. ; GREMIAO, M. P. D. . Surfactant systems for nasal zidovudine delivery: structural, rheological and mucoadhesive properties. **Journal Pharmacy and Pharmacology**, v. 62, p. 430-439, 2010.

DOS SANTOS, L.G. ; LOPES-COSTA, P.V. ; DOS SANTOS, A.R. ; FACINA, G.; DA SILVA B. B. . Bcl-2 oncogene expression in estrogen receptor-positive and negative breast carcinoma. **European Journal of Gynaecological Oncology**, v. 29, p. 459-461, 2008.

LOPRINZI, C. L.;BALCUEVA, E. P.; LIU, H.; SLOAN, J. A.; KOTTSCHADE, L. A.; STELLA, P. J.; CARLSON, M. D.; MOORE, D. F.; ZON, R. T.; LEVITT, R.; JASLOWSKI, A. J. A fase III randomized, double – blid, placebo – controlled study of pilocarpine for vaginal dryness: North central Cancer treatment group study NO4CA. **Supportive Oncology**, v. 9, n. 3, 2011.

MAC BRIDE, M. B., RHODES, D. J., SHUSTER, L. T. Vulvovaginal atrophy. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 85, n. 1, p. 87-94, 2010.

ORTMANN, O.; LATTRICH, C. The treatment of climacteric symptoms. **Deutsches Ärzteblatt International**, v. 109, n. 17, p 316-24, 2012.

SINGH, M. V.; DIAS, L.; BALDINI, N. F. B.; SILVEIRA, D.; ZAGO, R. Desenvolvimento farmacotécnico e avaliação da estabilidade de gel com extrato aquoso de camomila para uso bucal. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, n. 2, p. 123-427. 2008.

VIVINO, F.B., AL-HASHIMI, I., KHAN, Z., LEVEQUE, F.G., SALISBURY, 3RD PL, TRAN-JOHNSON, T.K., MUSCOPLAT, C.C., TRIVEDI, M., GOLDLUST, B., GALLAGHER, S.C. Pilocarpine tablets for the treatment of dry mouth and dry eye symptoms in patients with Sjögren syndrome: a randomized, placebo-controlled, fixed-dose, multicenter trial. P92-01 Study Group. **Archives of Internal Medicine**, v.159, p.174-181, 1999.

WISEMAN, L.R, FAULDS, D. Oral pilocarpine: a review of its pharmacological properties and clinical potential in xerostomia. **Drugs**, 49: 143–155, 1995.

ZOPPI, A; LINCK, Y. G.; MONTI, G. A.; GEOVESE, D. B.; KAIRUZ, A.F.J.; MANZO, R. H.; LONGHI, M. R. Studies of pilocarpine:carbomer intermolecular interactions.International. **Journal of Pharmaceutics**, v 427, p 252-250, 2012.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo e Pesquisa do Piauí pela bolsa.

CS13 - Estudo dos efeitos do α -bisabolol na mucosite experimental induzida por 5-fluorouracil

Driely Erica dos Santos Ribeiro (IC)^{1*}; Neide Sheyla de Melo Araújo (IC)²; Gilberto Santos Cerqueira (PQ)²

1. Universidade Federal do Piauí – PIBIC

2. Docente da Universidade Federal do Piauí – Campus CSHNB

*drielyerica@hotmail.com

Palavras-chave: Alfabisabolol. Mucosite. Inflamação. Produtos Naturais.

Resumo

A mucosite oral e intestinal é um dos principais efeitos colaterais do 5-fluorouracil (5-FU), cisplatina e irinotecano, antimetabólitos utilizado na quimioterapia do câncer. A (MOI) afeta mais de 30% dos pacientes em uso de agentes quimioterápicos, além de ser comum em pacientes submetidos a radioterapia. Diversos estudos demonstram a atividade biológica de produtos naturais em modelos experimentais de (MOI). O α -bisabolol é um sesquiterpeno monocíclico isolado de uma variedade de plantas, entre elas a *M. recutita*. Esse composto demonstrou diversas atividades biológicas entre elas gastroprotetora, antioxidante, antiinflamatória, cicatrizante e antimicrobiana. Assim objetivamos investigar o efeito do alfabisabolol sobre a

MO experimental induzida por 5-FU. Hamsters Sirius machos serão submetidos à MOI induzida por 5-FU por duas administrações intraperitoneal (i.p) de 5-fluorouracil (5-FU) no 1º e 2º dias nas doses de 100 e 200 mg /kg, respectivamente em hamsters (n = 7). O alfabisabolol (100 e 200 mg / kg) será injetado i.p. 24h antes e 24h após o trauma mecânico da mucosa jugal. O grupo controle receberá apenas solução salina. No 10º dia, os animais serão sacrificados e os tecidos da mucosa jugal e jejuno serão colhidos. As análises macroscópicas e histopatológicas (infiltração de células inflamatórias, edema, hemorragia e à formação de ulcerações e abscessos), bem como a análise imunohistoquímica para TNF- α , IL-1 β , NOSi e COX-2 será realizada no tecido mucosa jugal e jejuno. Serão usados Kruskal Wallis / Dunn como testes estatísticos sendo considerado p <0,05. O estudo foi submetido ao Comitê de Ética em pesquisa animal.

Introdução

A mucosite é um dos efeitos adversos mais freqüentes e limitantes observados durante a administração de alguns quimioterápicos, como 5-fluorouracil (5-FU), metotrexato, doxorubicina, bem como nos regimes de quimiorradioterapia concomitante (CHAVES et al., 2007; SOARES et al., 2001).

Pacientes tratados com combinações específicas de certas drogas são ainda mais susceptíveis ao desenvolvimento da mucosa, causando sua inflamação e ulceração. Isso pode originar o desenvolvimento de infecção secundária em uma grande proporção de pacientes (FELD, 1997). De acordo com o "Common Toxicity Criteria" (CTC), a mucosite pode ser classificada de acordo com a superfície mucosa acometida (faringite, estomatite, colite, esofagite, gastrite, vaginite, proctite) (CTCMV, 1999).

Os medicamentos quimioterápicos, incluindo 5-Fluorouracil (5-FU), danificam as células cancerosas, mas também causa injúria às células da mucosa intestinal, causando mucosite intestinal (TOOLEY et al., 2006).

Os sintomas iniciais mais frequentes descritos pelos pacientes com mucosite são diarreia, dor abdominal, náuseas, vômitos, sensação de queimação da mucosa oral, eritema, erosão e ulceração da mucosa e, embora casos graves possam ser associados com febre, neutropenia, sepse, e até mesmo a morte (BLIJLEVENS; SONIS, 2007). A incidência, gravidade, localização da mucosite são estritamente dependentes do protocolo quimioterápico e pode variar a depender do paciente está utilizando uma ou múltiplas drogas, bem como o regime de dosagem aprovado (KEEFE, 2007; LEMBERSKY; POSNER, 1996; LIMA-JÚNIOR et al., 2012).

Duncan e Grant (2003) propuseram que a mucosite intestinal se desenvolve através de três fases interligadas a disfunção epitelial: a fase inflamatória inicial, a fase de degradação epitelial, e a ulceração/fase bacteriana. Recentemente, Miyazono et al. (2004) demonstraram que a infiltração de neutrófilos e o stress oxidativo foram envolvidos em mucosite intestinal induzida por quimioterápicos (SOARES et al., 2011).

As manifestações intestinais da mucosite incluem uma série de sintomas gastrointestinais e esses efeitos podem prejudicar significativamente a adesão do paciente ao tratamento (DUNCAN; GRANT, 2003; SONIS et al., 2004; XIADONG et al., 2011; LEITÃO et al., 2011). Portanto, a mucosite intestinal tornou-se um dos fatores limitantes do tratamento intensivo do câncer, e há uma necessidade clínica urgente para a prevenção e tratamento da mucosite intestinal induzida por quimioterapia (XIADONG et al., 2011). No entanto, não existe atualmente nenhum produto natural disponível para o tratamento direto das lesões da mucosa intestinal.

O (-) alfabisabolol é um álcool sesquiterpeno natural monocíclico encontrado nos óleos essenciais de camomila (*Matricaria chamomilla*), *Vanillosmopsis erythropappa* e outras plantas. Esse composto tem sido usado por centenas de anos em cosméticos devido às suas propriedades de cura percebidos na pele (ROCHA et al., 2011; OLIVEIRA, 2011). Diversos estudos demonstram que (-)- α -bisabolol possui uma variedade de atividades biológicas, tais como despigmentadora (KIM et al, 2008.), atividade anti-fúngica (VILA et al., 2010.), antinociceptiva (LEITE et al., 2011; ROCHA et al., 2011), atividade anti-tumoral (CAVALIERI et al., 2004; CHEN et al., 2010; DA SILVA et al., 2010; PIOCHON et al., 2009); e atividade gastroprotetora (BEZERRA et al., 2009).

A atividade anti-inflamatória do alfabisabolol já vem sendo estudada por alguns autores em modelos experimentais. Dessa forma foi demonstrado que o alfabisabolol possui atividade anti-inflamatória em um modelo de peritonite, onde inibiu a adesão e rolamento de leucócitos por um mecanismo dependente de óxido nítrico, bem como inibiu a expressão do TNF- α (ROCHA et al., 2010). O mesmo alfabisabolol também mostrou um efeito gastroprotetor em modelos de úlcera gástrica induzida por etanol, indometacina ou por

ácido acético, e foi capaz de reduzir a hemorragia gástrica além de manter a integridade da mucosa e diminuição do estresse oxidativo (BEZERRA et al., 2009; ROCHA et al., 2010; OLIVEIRA, 2011).

Em um estudo realizado por Oliveira e colaboradores em (2011), foi avaliada a atividade antioxidante do (-) alfabisabolol, verificando que esse composto mostrou grande capacidade antioxidativa, relacionada principalmente à inibição da geração de superóxidos, e diminuindo a atividade da catalase. Mostrou-se também capaz de reduzir as lesões gástricas associadas a administrações de etanol, provavelmente pela redução do estresse oxidativo e da atividade da mieloperoxidase no estômago (OLIVEIRA, 2011). Siqueira et al (2012) demonstrou propriedades relaxantes sobre a musculatura lisa traqueal de ratos através da inibição dos canais de cálcio voltagem-dependentes. Estudos clínicos em um paciente com mucosite oral induzida por metotrexato devido ao tratamento de artrite reumatóide, a paciente foi tratada com sucesso através de bochechos de infuso de “camomila” (*Matricaria recutia*) que contem o alfabisabolol (MAZOKOPAKIS et al., 2003).

Atualmente, o tratamento da mucosite intestinal consiste apenas em uma abordagem essencialmente paliativa, não existindo um protocolo de atendimento preventivo e eficaz, provavelmente, devido à deficiência da compreensão precisa dos mecanismos e mediadores envolvidos nesse processo. Todavia, estudos mais bem desenhados tornam-se necessários para confirmar a eficácia clínica do (-) alfabisabolol na mucosite intestinal experimental induzida por quimioterápicos. Entretanto, sabe-se que determinados mediadores inflamatórios, como as citocinas TNF- α e IL-1, são importantes na sua patogenia (LIMA et al., 2005; LEITÃO, 2007). Está também definido a ocorrência de estresse oxidativo no desenvolvimento dessas condições inflamatórias (SONIS et al, 2004).

Entretanto, existem poucos dados da literatura demonstrando o efeito de produtos naturais sobre a mucosite intestinal. Todavia, nosso grupo de pesquisa vem há alguns anos se dedicando ao estudo da patogênese das doenças inflamatórias do trato gastrointestinal, bem como sua possível modulação farmacológica, tendo publicado alguns trabalhos nesta área (SILVA et al., 200; ROCHA et al., 2010; CERQUEIRA et al., 2012).

Assim, baseado no fato que o alfabisabolol é reconhecido por sua atividade anti-inflamatória, e que os produtos naturais são uma alternativa terapêutica relativamente barata e utilizada há milhares de anos pela população, o objetivo do nosso trabalho será investigar o efeito do alfabisabolol sobre a prevenção e tratamento da mucosite oral e intestinal experimental induzida por 5-Fluorouracil em ratos, através do estudo de vários parâmetros inflamatórios.

Material e Métodos

A mucosite oral será induzida por duas administrações intraperitoneal (i.p) de 5-fluorouracil (5-FU) no 1º e 2º dias nas doses de 60 e 40 mg / kg, respectivamente em hamsters (n = 5). O alfabisabolol (100 e 200 mg / kg) será injetado i.p. 24h antes e 24h após o trauma mecânico da mucosa jugal e intestinal. O grupo controle receberá apenas solução salina. No 10º dia, os animais serão sacrificados e os tecidos da mucosa jugal e jejuno serão colhidos. As análises macroscópicas e histopatológicas (infiltração de células inflamatórias, edema, hemorragia e à formação de ulcerações e abscessos), bem como a análise imunohistoquímica para TNF- α , IL-1 β , será realizada no tecido mucosa jugal e jejuno. Serão usados Kruskal Wallis / Dunn como testes estatísticos sendo considerado p <0,05. O estudo será submetido ao Comitê de Ética em pesquisa animal.

Resultados Esperados

Dessa forma avaliando o papel do alfabisabolol na mucosite, espera-se fornecer informações científicas que assegurem seu uso pela população, indicando o grau de confiança a ser depositado em uma determinada espécie vegetal.

Assim, espera-se que o alfa bisabolol demonstre atividade antiinflamatória no modelo de mucosite oral e intestinal induzida pelos 5-FU. Uma vez que o alfa bisabolol possui características antiinflamatórias. Além disso, esperamos que o alfabisabolol seja capaz de inibir a expressão de citocina inflamatórias como TNF, IL1 e NFKB e atividade de MPO.

Referências

- BEZERRA, S.B; LEAL, L.K; NOGUEIRA, N.A; CAMPOS, A.R. Bisabolol-induced gastroprotection against acute gastric lesions: role of prostaglandins, nitric oxide, and KATP+ channels. **Journal of Medicinal Food**, v. 12, n. 6, p. 1403-06, 2009.
- CHEN, W; HOU, J; YIN, Y; JANG, J; ZHENG, Z; FAN, H; ZOU, G. Alpha-Bisabolol induces dose- and time-dependent apoptosis in HepG2 cells via a Fas- and mitochondrial-related pathway, involves p53 and NFkappaB. **Biochemical Pharmacology**, v. 80, n. 2, p. 247-54, 2010.
- COMMON TOXICITY CRITERIA MANUAL. **National Cancer Institute**, 1999.
- CAVALIERI, E.; MARIOTTO, S.; FABRIZI, C.; DE PRATI, A.C.; GOTTARDO, R; LEONE, S.; BERRA, L.V; LAURO, G.M; CIAMPA, A.R; SUZUKI, H. Alpha-Bisabolol, a nontoxic natural compound, strongly induces apoptosis in glioma cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 315, p. 589-94, 2004.
- CHAVES, AP; GOMES, JÁP; HOFLING-LIMA, AL. Alterações oculares induzidas pela quimioterapia. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 70, n. 4, p. 718-25, 2007.
- CERQUEIRA, GS; SILVA, GS; RIOS, ERV; FREITA, APF; MOURA, BA; MACEDO, DS; SOUTO, AL; BARBOSA-FILJO, JM; BRITO, GCB; SOUCCAR, C; VIANA, GSB, Effects of hecogenin and its possible mechanism of action on experimental models of gastric ulcer in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 683, p. 260-69, 2012.
- DA SILVA, A.P.; MARTINI, M.V.; DE OLIVEIRA, C.M.; CUNHA, S.; DE CARVALHO, J.E.; RUIZ, A.L.; DA SILVA, C.C. Antitumor activity of (–)-alpha-bisabolol-based hiosemicarbazones against human tumor cell lines. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 2987-93, 2010.
- FELD, R. The role of surveillance cultures in patients likely to develop chemotherapy-induced mucositis. **Support Care Cancer**, v. 5, n. 5, p. 371-5, 1997.
- KEEFE, DM; SCHUBERT, MM; ELTING, LS; SONIS, ST; EPSTEIN, JB; RABER-DURLACHER, JE. Updated clinical practice guidelines for the prevention and treatment of mucositis. **Cancer** 109:820–831, 2007.
- KIM, S.; LEE, J.; JUNG, E.; HUH, S.; PARK, J.O.; LEE, J.W.; BYUN, S.Y.; PARK, D. Mechanisms of depigmentation by alpha-bisabolol. **Journal of Dermatology**, v. 52, p. 219–222, 2008.
- LEITAO RF, RIBEIRO RA, BELLAGUARDA EA, MACEDO FD, SILVA LR, ORIA RB, VALE ML, CUNHA FQ, BRITO GA. Role of nitric oxide on pathogenesis of 5-fluorouracil induced experimental oral mucositis in hamster. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 59, n. 5, p.603-12, 2007.
- LEITÃO, R. F. C. ; BRITO, G.A.C. ; ORIÁ, R.B. ; BRAGA NETO, M. B. ; BELLAGUARDA, E.A.L. ; SILVA, J.V. ; GOMES, A.S. ; LIMA JUNIOR, R. C. P. ; SIQUEIRA, F.J.W.S. ; FREIRE, R. S. ; VALE, M. L. ; RIBEIRO, R A. . Role of inducible nitric oxide synthase pathway on methotrexate-induced intestinal mucositis in rodents. **BMC Gastroenterology**, v. 11, p. 90, 2011.
- LEITE, G.O. Attenuation of visceral pain in mice by the essential oil from *Vanillosmopsis arborea* bark. **Revista DOR**, v. 12, n. 1, 2011.
- LEMBERSKY, B; POSNER M. **Gastrointestinal toxicities**. In: Kirkwood JM, Lotze MT, Yasko JM, editors. *Current cancer therapeutics*. 2 ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 1996. cap.27. p.326-37.
- LIMA-JÚNIOR, RCP; FIGUEIREDO, AA; FREITAS, HC; MELO, MLP; WONG, DVT; LEITE, CAV; · MEDEIROS, RP · MARQUES-NETO, RD; VALE, ML; BRITO, GCB; ORIÁ, RB; SOUZA, MHLP; CUNHA, FQ; RIBEIRO, RA. Involvement of nitric oxide on the pathogenesis of irinotecan-induced intestinal mucositis: role of cytokines on inducible nitric oxide synthase activation **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 69, p. 931–942, 2012.
- LIMA, V.; BRITO, G.A.C.; CUNHA, F.Q; REBOUÇAS, C.G.; FALCÃO, B.A.A; AUGUSTO, R.F.; SOUZA, M.L.P; LEITÃO, B.T.; RIBEIRO, R.A. Effects of the tumor necrosis factor-alpha inhibitors pentoxifylline and

thalidomide in short-term experimental oral mucositis in hamsters. **European Journal of Oral Science**, v. 113, n. 3, p. 210-217, 2005.

MIYAZONO, Y; GAO, F; HORIE, T. O stress oxidativo contribui para o metotrexato induzida toxicidade do intestino delgado em ratos. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 11, p. 1119-27, 2004.

OLIVEIRA, GV. **Avaliação do efeito do alfa bisabolol em parâmetro de stress oxidativos em camundongos submetidos ao tratamento absoluto.** (Dissertação de Mestrado em Farmacologia). Universidade Federal do Ceará, 2011.

PIOCHON, M.; LEGAULT, J.; GAUTHIER, C.; PICHETTE, A. Synthesis and cytotoxicity evaluation of natural alpha-bisabolol beta-D-fucopyranoside and analogues. **Phytochemistry**, v. 70, p. 228–236, 2009.

ROCHA, N.F.M; VENÂNCIO, B.A; MOURA, M.I.G; SILVA, M.R.A; NETO, E.R.V; RIOS, D.P; DE SOUSA, S.M.M; VASCONCELOS, M.M.F; FONTELES, F.C.F. Gastroprotection of (-) bisabolol on acute gastric mucosal lesions in mice: the possible involved pharmacological mechanisms, **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 24, p. 63–71, 2010.

SIQUEIRA, R.J.B; FREIRE, W. B. S; SILVA, A. A. V; MAGALHAES, P. A. F; LIMA, F. J. B; BRITO, T. S; MOURAO, L. T. C.; RIBEIRO, R. A; LAHLOU, S; MAGALHÃES, PJC. In vitro characterization of the pharmacological effects induced by (-)- α -bisabolol in rat smooth muscle preparations. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 1, p. 23-35, 2012.

SOARES, PMG. Methotrexate-induced intestinal mucositis delays gastric emptying and gastrointestinal transit of liquids in awake rats. **Archives of Gastroenterology**, v. 48, n. 1, 2011.

SONIS, S.T.; ELTING, L.S.; KEEFE, D.; PETERSON, D.E.; SCHUBERT, M.; HAUER-JENSEN, M.; BEKELE, B.N.; RADER-DURLACHER, J.; DONNELLY, J.P.; RUBENSTEIN E.B. Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury: pathogenesis, measurement, epidemiology, and consequences for patients. **Cancer**, v. 100, n. 9, p. 1995-2025, 2004.

TOOLEY, KL; SAXON, BR; WEBSTER J. A novel non-invasive biomarker for assessment of small intestinal mucositis in children with cancer undergoing chemotherapy. **Cancer biology & therapy**, v. 10, p. 1275–81, 2006.

VILA, R.; SANTANA, A.I.; PEREZ-ROSES, R.; VALDERRAMA, A.; CASTELLI, M.V.; MENDONCA, S.; ZACCHINO, S.; GUPTA, M.P.; CANIGUERAL, S. Composition and biological activity of the essential oil from leaves of *Plinia cerrocampanensis*, a new source of alpha-bisabolol. **Bioresource Technology**, v. 101, p.2510-14, 2010.

XIAODONG, H; ZHENQIAN, WU; JIANZHONG, DI; PAN, YE; HONGWEI, Z.; YIBAO, DU; CHENG, Z; ZHIMING, JIN; ZHANG, PIN; WANF, YU. Attenuated chemotherapy-induced intestinal mucositis by inhibiting proliferation and reducing apoptosis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 65, n. 8, p. 547-54, 2011.

Agradecimentos

Ao CNPQ por concessão da bolsa de PIBIC.

CS14 - Alterações em células isquêmicas resultantes do infarto agudo do miocárdio: revisão da literatura

Elvis Martins Cabral (IC)^{1*}; Bruno de Araújo Brito (IC)¹; Francisco Talyson Marques Rodrigues (IC)¹; Antonio Luiz Gomes Júnior (PQ)²; José Zilton Lima Verde (PQ)²

1. Acadêmico de Medicina do Centro Universitário Uninovafapi
2. Docentes do curso de Medicina do Centro Universitário Uninovafapi

*izow@bol.com.br

Palavras-chave: Isquemia do Miocárdio. Isquemia. Reperusão.

Resumo

A isquemia é a situação patológica em que as células têm seu suprimento de oxigênio impedido ou reduzido, com graves consequências. Em cardiomiócitos esse processo pode ocorrer através da interrupção (total ou parcial) de artérias que irrigam o miocárdio, o que prejudica sua intensa atividade metabólica e possibilita a liberação de substâncias químicas específicas. Desta forma, os danos são bastantes significativos para o organismo, o que ocasiona grande risco de morte. Esse trabalho objetivou elaborar um resumo atual através de uma revisão sistemática de literatura. Como fontes de pesquisa foram utilizados 9 artigos de periódicos em língua inglesa, a partir do banco de dados PubMed, e livros. Os descritores utilizados foram: isquemia do miocárdio, isquemia, reperusão. Por meio da revisão, foi possível chegar à identificação das características histológicas e bioquímicas advindas da isquemia – que geralmente proporciona o infarto agudo do miocárdio. Além disso, a análise dos artigos mostrou que a maioria dos trabalhos são pesquisas qualitativas, que se utilizam da descrição dos mecanismos fisiopatológicos e da identificação destes por meio de marcadores bioquímicos emitidos por células miocárdicas em isquemia como embasamento de pesquisa. Os estudos abordados foram satisfatórios como fontes de pesquisa e serviram de subsídio, com relevantes informações em número e especificidade. A análise feita pelo estudo centrou-se nas alterações em células isquêmicas para melhor compreensão, formas de diagnóstico e tratamento do infarto agudo do miocárdio, além de procurar auxiliar o entendimento dos processos que causam a isquemia e que, conseqüentemente, levam à morte de cardiomiócitos.

Introdução

O coração, segundo Rubin et al., (2010) é uma bomba muscular que trabalha incessantemente por toda a vida humana impulsionando sangue para todo o organismo, que fornece suprimento constante de nutrientes e facilita a excreção de metabólitos residuais. Seu desenvolvimento embriológico se inicia, de acordo com Moore e Persaud (2012), no final da terceira semana quando as células do mesoderma primitivo migram cefalicamente de cada lado do processo notocordal e em torno da placa precordal, o que origina o mesoderma cardiogênico da área cardiogênica, esse passa a apresentar função pulsátil a partir do 21^a dia do desenvolvimento embrionário. É formado por tecido miocárdio atrial, ventricular e fibras modificadas especializadas na formação e condução do impulso nervoso, que gera um potencial de ação capaz de contrair ritmicamente o músculo cardíaco – chamado miocárdio (GUYTON; HALL, 2011).

Esse músculo é composto por células conhecidas como cardiomiócitos que realizam, principalmente, a fosforilação oxidativa para suprir suas necessidades energéticas. Assim, apresentam grande quantidade de mitocôndrias, que necessitam de oxigênio para realizar tal processo. Diante disso, os cardiomiócitos são mais vulneráveis à isquemia do que outras células, pois o processo anaeróbio de obtenção de energia (glicólise) não é suficientemente favorável às necessidades metabólicas daquelas células (ROBBINS; COTRAN, 2010).

A doença caracteriza-se pela interrupção do fornecimento de sangue para o tecido específico, com privação de oxigênio, configurando-se em uma emergência clínica determinada principalmente pela magnitude e duração da interrupção do suprimento sanguíneo. Ocorre rápida lesão dos tecidos, devido ao comprometimento do transporte de substrato para glicólise uma vez que, no processo anaeróbio, a geração

de energia é interrompida após o esgotamento do fornecimento de substratos, implicando perda da função glicolítica (redução dos níveis de ATP) e acúmulo de lactato (ROBBINS; COTRAN, 2010). Assim, dentre os principais distúrbios isquêmicos responsáveis por morte súbita, encontramos o infarto agudo do miocárdio como mais preponderante (KALOGERIS et al., 2012).

Devido ao processo inflamatório, desencadeado pela necrose, hipóxia e isquemia no infarto agudo do miocárdio, alterações macroscópicas e microscópicas são observadas nas primeiras 24 horas, como infiltração de leucócitos, desenvolvimento de cicatriz fibrosa e infamação aguda. Ocorre evolução dos danos anatômicos e funcionais progressivos de acordo com a intensidade da lesão. Este trabalho apresenta como objetivo um resumo atual através de uma revisão sistemática da literatura, de modo a agregar os conhecimentos bioquímicos, histológicos e anatômicos na análise das alterações celulares encontradas no miocárdio após lesão isquêmica, abrangendo uma compreensão multifatorial dos mecanismos consequentes da isquemia.

Material e Métodos

Esse estudo corresponde a uma revisão bibliográfica, de caráter descritivo exploratório, que se deu por meio do levantamento das produções científicas sobre fatores condicionantes das alterações isquêmicas em células cardíacas, que utilizou como base de dados, livros e artigos científicos publicados em revistas e periódicos especializados.

As bases de dados utilizadas para a coleta foram a Pubmed que fornece acesso aos trabalhos publicados ao longo dos anos e a BVS (Biblioteca Virtual em Saúde) que ofereceu acesso ao banco de dados do Lilacs e MedLine. Os descritores utilizados foram: isquemia do miocárdio, isquemia, reperfusão. O processo de busca foi realizado com utilização dos descritores, leitura do título e resumo, leitura flutuante do artigo na íntegra, leitura aprofundada e respectiva análise. Para a organização das informações contidas inicialmente em 20 trabalhos científicos, tiveram-se como critérios de inclusão os textos completos, idioma inglês, publicados no período de 2008 a 2014. Com isso, foram selecionados 9 artigos, dos quais foram extraídos os conceitos básicos para identificação dos processos fisiopatológicos e diagnóstico das alterações em células isquêmicas do miocárdio. Assim, foi possível chegar na identificação das características anatômicas, histológicas e bioquímicas do infarto agudo do miocárdio.

Resultados e Discussão

Dos 9 trabalhos científicos trabalhados, a maioria abordou complicações (5 dos artigos pesquisados) e outros, tratamentos (3 dos artigos analisados), com base em novos métodos diagnósticos e efeitos desempenhados por metabólitos (1 artigo encontrado). A análise dos artigos mostrou que a maioria dos trabalhos são pesquisas qualitativas que utilizam descrição dos mecanismos fisiopatológicos e identificação por meio de marcadores bioquímicos de células isquêmicas do miocárdio. Através da análise dos 9 artigos selecionados podemos perceber que de 2008 a 2014 houve uma considerável produção de trabalhos sobre o tema. Podemos observar também que os estudos sobre a temática direcionaram-se à elucidação dos processos e mecanismos isquêmicos, bem como possíveis novas formas de tratamento e identificação.

De acordo com os trabalhos pesquisados pôde-se perceber que a isquemia miocárdica é fator de risco altíssimo para morte. A isquemia, descrita por Kalogeris e colaboradores (2014), resulta da diminuição do fluxo sanguíneo para determinado órgão e sua gravidade está relacionada ao tempo de duração e magnitude da lesão, de modo que os níveis de ATP e a redução do pH intracelular resultam do metabolismo anaeróbio. Para Rubin e colaboradores (2010), a cardiopatia isquêmica deriva de uma prévia aterosclerose coronária, que torna insuficiente o fluxo arterial cardíaco. Fu e colaboradores (2010), em trabalho experimental, atestou que o estado isquêmico estimula as fibras cardíacas aferentes simpáticas, e isso gera angina de peito e respostas cardiovasculares.

Segundo Robbins e Cotran (2010), alguns fatores causadores da isquemia, enfatizando a obstrução coronária, por meio de ateromatose ou tromboembolia, como principais eventos promotores dessa patologia. As placas de ateroma são formadas a partir de um processo inflamatório das células endoteliais, determinado pela deposição de cristais de colesterol – por meio de lipoproteínas de baixa densidade, as LDL – com proliferação de monócitos, que irão se diferenciar em macrófagos. Esses componentes coalescem e bloqueiam a passagem sanguínea pelo lúmen vascular formando, ao final, uma placa de

ateroma fibrosa – devido à proliferação de fibras conjuntivas, que formam uma capa – com centro necrótico e acúmulo lipídico extracelular e de cristais de colesterol (SOLOPERTO; CASCIARO, 2012).

Devido à interrupção do fluxo sanguíneo, ocorre a instalação do processo isquêmico, implicando em necrose tecidual devido ao esgotamento das reservas de ATP celular, fato que inativa as ATPases dependente de cálcio (Ca^{2+}), responsáveis por limitar a reabsorção do íon cálcio pelo retículo endoplasmático, e desencadeia seu acúmulo na célula. A consequência disso é o aumento da permeabilidade mitocondrial, que reduz a produção do ATP e ativa proteases intracelulares, as quais causam rompimento da membrana plasmática da célula, com posterior migração de neutrófilos, capilares, fibroblastos e macrófagos para a área necrosada (KALOGERIS et al., 2012).

Com o processo necrótico se instalando, alguns marcadores podem ser identificados, de acordo com Kierszenbaum (2008) a troponina I específica dos cardiomiócitos, creatinoquinase e isoenzima MB são marcadores bioquímicos convencionais de necrose no miocárdio. Para Miranda e Lima (2011) os biomarcadores mais utilizados para auxiliar no diagnóstico de isquemia miocárdica, por lesão muscular são a troponina (polipeptídios TnT e TnI), creatinoquinase fração MB (CK-MB), mioglobina e o indicador de inflamação e homeostase a endotelina-1.

Murphy e Steenbergen (2008) afirmam que muitos mecanismos cardioprotetores mediam um processo de sinalização celular na mitocôndria com o objetivo de reduzir a morte celular ao diminuir a sobrecarga de Ca^{2+} e de espécies reativas de oxigênio, tendo efeito geral na redução da lesão isquêmica. Em meio à reperfusão, um tratamento comum utilizado após os infartos, a mitocôndria perde a seletividade de sua membrana, por sobrecarga oxidativa, fazendo abrir o poro de transição de permeabilidade mitocondrial, o que leva à sobrecarga de Ca^{2+} e perda do citocromo C (que realiza a retirada de agentes oxidativos em excesso), piorando a situação pós-isquemia (PASDOIS et al., 2011).

Ocorrido o infarto, a isquemia que o predispõe lesa gravemente as células – que não se regeneram – e geralmente causam insuficiência cardíaca, além de emitirem sinalizadores pró-inflamatórios, como o TNF-alfa (fator de necrose tumoral alfa), proteína C reativa, interleucina 6 (IL-6), quimiocinas e metaloproteinases (MONTECUCCO et al., 2012). A partir daí, se dá o processo inflamatório, seguido de necrose, com infiltração de macrófagos e leucócitos não induzida por microorganismos, mas com sinalização também por citocinas e quimiocinas – e, por isso, chamada inflamação estéril – que lesa o parênquima do órgão justamente devido à infiltração de neutrófilos, que dirigem seus agentes citotóxicos, fato que é estimulado por enzimas como a NADPH-oxidase, que induz a adesão entre leucócitos e endotélio, e estimula também a não liberação de óxido nítrico (NO), reduzindo a distendibilidade coronária (KALOGERIS et al., 2012).

Dentre os vários biomarcadores detectados quando ocorre a isquemia miocárdica, Miranda e Lima (2011) relatam que na sua investigação-diagnóstico devem ser utilizados, no mínimo, dois desses biomarcadores: um precoce, representado pela mioglobina e CK-MB, e um definitivo, representado pela a troponina e CK-MB. No entanto, para Fu e colaboradores (2010), a endotelina endógena (ET-1) – potente vasoconstritor – pode apresentar-se como importante sinalizador da isquemia, sendo detectado o aumento nos níveis séricos desse peptídeo no plasma após tal lesão, uma vez que receptores de endotelina A (ETA) contribuem na estimulação das fibras cardíacas aferentes simpáticas em resposta à isquemia. Já Teixeira e colaboradores (2009) dizem que, devido à inflamação em resposta à lesão isquêmica, é liberada a proteína C-reativa (PCR), uma proteína de fase aguda, que é considerada marcador padrão-ouro para esse tipo de inflamação.

Diante desses eventos Faghihi e colaboradores (2008) propõem a hipótese de que o íon magnésio (Mg^{2+}) – aplicado extracelularmente – pode proteger os cardiomiócitos contra a isquemia, devido ao aumento da resistência celular aos efeitos da despolarização da membrana mitocondrial no citosol, resguardando as células cardíacas contra o estresse metabólico, pela ativação de canais de K_{ATP} sensível no sarcolema. Quian e colaboradores (2009) relatam que o estímulo da expressão da proteína térmica 20 (Hsp20) protege o miocárdio do insulto isquêmico, por meio do aumento da capacidade de fosforilação dessa proteína, que gera efeito cardioprotetor. Eltzhig e colaboradores (2013) também levantam uma importante ação cardioprotetora: a da adenosina. Ela seria usada tanto nos casos de lesões por reperfusão como nos de lesões isquêmicas, tornando o miocárdio mais resistente – já que a adenosina é uma molécula que serve como base para a síntese do ATP – por não exigir mais esforço do que ele é capaz após o infarto.

Outra possível estratégia terapêutica para proteger órgãos da isquemia seria a indução de episódios curtos de isquemia e reperfusão do tecido, de modo que estes adquiram resistência ao episódio isquêmico

de longa duração, uma vez que a reperfusão nos primeiros vinte minutos causam menores danos aos cardiomiócitos devido à menor produção de espécies de oxigênio reativas (LIM; HAUSENLOY, 2012). Dessa forma, percebe-se que estudos têm sido direcionados para descoberta de novas formas de intervenção e prevenção contra a isquemia do miocárdio.

As alterações patológicas em células isquêmicas do miocárdio, de forma resumida, devem ser entendidas como um conjunto de fatores desencadeados pela falta de suprimentos metabólicos devido à interrupção do fluxo sanguíneo que, dependendo da duração da interrupção, leva a uma cascata de reações inflamatórias precedidas de necrose, apoptose e autofagia celular, com respectiva deposição de tecido fibroso, leucócitos e macrófagos, além de desencadear a formação de radicais livres, como as espécies reativas de oxigênio, e danos à mitocôndria e sua permeabilidade, que podem ser percebidas a nível macroscópico com alterações funcionais e histológicas.

Conclusão

Os estudos abordados foram satisfatórios como base de pesquisa, servindo de subsídios informativos importantes, apresentando-se em grande quantidade e especificidade. Este estudo utiliza a compreensão das alterações patológicas em células isquêmicas como ferramenta para melhor compreensão do infarto agudo do miocárdio, e visa a auxiliar o entendimento dos processos multifatoriais causadores da lesão miocárdica, bem como do conhecimento prévio dos fatores desencadeantes da morte dos cardiomiócitos e possíveis formas de diagnóstico e tratamento, como observados em alguns trabalhos abordados.

Referências

- ELTZSCHIG, H. K.; BONNEY, S. K.; ECKLE, T. Attenuating myocardial ischemia by targeting A2B adenosine receptors. **Trends in Molecular Medicine**, v. 6, p. 345-354, 2013.
- FAGHIHI, M.; SUKHODUB, A.; JOVANOVIĆ, S.; JOVANOVIĆ, A. Mg²⁺ protects adult beating cardiomyocytes against ischaemia. **International Journal of Molecular Medicine**, v.1, p. 69-73, 2008.
- FU, L.W.; GUO, Z.L.; LONGHURST, J.C. Endogenous endothelin stimulates cardiac sympathetic afferents during ischaemia. **The Journal of Physiology**, v. 1, p. 2473-2486, 2010.
- GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 12ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. p.107-110.
- KALOGERIS, T.; BAINES, C.P.; KRENZ, M.; KORTHUIS, R. J. Cell Biology of Ischemia/Reperfusion Injury. **International Review of Cell and Molecular Biology**, v. 298, p. 229-317, 2012.
- KIERSZENBAUM, A.L. **Histologia e biologia celular: uma introdução à patologia**. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p. 217-218.
- LIM, S.Y.; HAUSENLOY, D.J. Remote ischemic conditioning: from bench to bedside. **Frontier in Physiology**, v.3, p.1-11, 2012.
- MIRANDA, M. R.; LIMA, L. M. Marcadores bioquímicos do infarto agudo do miocárdio. **Revista de Medicina de Minas Gerais**. v.1, p.98-105, 2011.
- MONTECUCCO, F.; BRAUNERSREUTHER, V.; VIVIANI, G.L. LENGLET, S.; MACH, F. Update on the Pathophysiological Role of Intracellular Signaling Pathways in Atherosclerotic Plaques and Ischemic Myocardium. **Bentham Science Publishers**, v.7, p. 104-110, 2012.
- MOORE, K.L.; PERSAUD, T.V.N. **Embriologia Clínica**, 9ed. Rio de Janeiro; Elsevier, 2013, p.62-64.
- MURPHY, E.; STEENBERG C. Mechanisms Underlying Acute Protection from Cardiac Ischemia-Reperfusion Injury. **Physiological Review**, v. 2, p. 581-609, 2008.
- PASDOIS, P.; PARKER, J. E.; GRIFFITHS, E. J.; HALESTRAP, A. P. The role of oxidized cytochrome c in regulating mitochondrial reactive oxygen species production and its perturbation in ischaemia. **Biochemical Journal**. v. 436, p. 493-505, 2011.

QUIAN, J.; REN, X.; WANG, X.; ZHANG, P.; JONES, W. K.; MOLKENTIN, J. D.; FAN, G. C.; KRANIAS, E. G. Blockade of Hsp20 Phosphorylation Exacerbates Cardiac Ischemia/Reperfusion Injury by Suppressed Autophagy and Increased Cell Death. **Circulation Research**. v. 12, p. 1223–1231, 2009.

ROBBINS, S.L.; COTRAN, R.S. **Patologia: Bases Patológicas das Doenças**, 8ed. Rio de Janeiro; Elsevier, 2010. p. 553-555.

RUBIN, E.; GORSTEIN, F.; RUBIN, R., SCHWARTING R., STRAYER D. **Patologia: Bases Clinicopatológicas da Medicina**. 4ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. p. 554-558.

SOLOPERTO, G.; CASIARO, S. Progress in atherosclerotic plaque imaging. **World Journal of Radiology**. v.4, p. 353-371, 2012.

TEIXEIRA, D. A.; SOUSA, C. F. P.; PEREIRA, G. L. H.; MAIA, L. F. L.; TEIXEIRA, F. H.; LISITA, C. L. F. Proteína C-reativa: associação entre inflamação e complicações pós-infarto agudo do miocárdio em idosos. **Revista Brasileira de Clínica Médica**. v. 7, p. 24-26, 2009.

CS15 - Estudo da atividade acetilcolinesterásica de um sesquiterpeno hidroxilado direcionada para a doença de Alzheimer

Francisca Pâmella Sá de Sousa França (IC)^{1*}; Rusbene Bruno Fonseca de Carvalho (PG)²; Rivelilson Mendes de Freitas (PQ)³; Stanley Juan Chavez Gutierrez (PQ)³

1. Universidade Federal do Piauí – Bolsista de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq)
2. Universidade Federal do Piauí – Doutorado da Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO)
3. Universidade Federal do Piauí – Professor do Curso de Graduação em Farmácia (PPGCF)

*franciscapamella@hotmail.com

Palavras-chave: Óleo Essencial. Acetilcolinesterase (AChE). Teste Toxicológico.

Resumo

As plantas têm sido utilizadas com fins medicinais desde o início da civilização humana com a finalidade de prevenção, tratamento e cura de diversas doenças. Nas práticas tradicionais da medicina chinesa, diversas plantas têm sido usadas para tratar distúrbios cognitivos, incluindo doenças neurodegenerativas como a doença de Alzheimer (DA). O presente estudo teve por objetivo identificar compostos com potencial inibição da enzima acetilcolinesterase *in vitro* e *in vivo*, bem como realizar uma avaliação qualitativa e quantitativa da atividade desses compostos para verificar suas propriedades farmacológicas enfatizando na prevenção e/ou tratamento da DA. O composto analisado foi o Nerolidol, um sesquiterpeno observado em diferentes óleos essenciais de plantas medicinais.

Introdução

A doença de Alzheimer afeta aproximadamente 10% dos indivíduos com idade superior a 65 anos e 40% acima de 80 anos. Estima-se que, em 2050, mais de 25% da população mundial será idosa, aumentando, assim, a prevalência da doença. As áreas cerebrais patologicamente mais afetadas na DA é o hipocampo e o neocórtex. Estas áreas estão associadas às funções mentais de forma mais predominante. Um promissor tratamento para doença é o aumento do nível de acetilcolina no cérebro usando inibidores da acetilcolinesterase (AChE), justificando as pesquisas por novos agentes mais eficazes e com menor custo para a saúde humana (FEITOSA, 2011; CARVALHO et al., 2013).

O tratamento para a DA é sintomático e consiste na tentativa de restauração da função colinérgica; a elevação do nível da acetilcolina pode se mostrar útil na melhora da deficiência da aprendizagem, um dos

sinais da doença. Inibidores da acetilcolinesterase (AChE) são amplamente usados baseados na hipótese colinérgica. Inibidores como: tacrina, rivastigmina, donepezil e galantamina, alteram a função colinérgica central ao inibir as enzimas que degradam a acetilcolina (enzimas acetilcolinesterase e butirilcolinesterase), aumentando, assim, a capacidade da acetilcolina de estimular os receptores nicotínicos e muscarínicos cerebrais (FEITOSA et al., 2007; SERENIKI et al., 2008).

A busca de novos inibidores da AChE de origem vegetal através do método de Ellman constitui em uma alternativa interessante e viável (CARVALHO et al. 2013). Dentre os compostos de origem natural os sesquiterpenos têm revelado uma variedade de atividades biológicas como inseticida, anorexígena, antineoplásica e antimicrobiana (PORTO et al., 2013; GORETTI et al., 2013; ROMERO et al., 2013).

Vários compostos de origem vegetal encontrados em abundância na natureza têm sido estudados, dentre eles o nerolidol, um sesquiterpeno observado em diversos óleos essenciais de plantas medicinais como nerol (*Citrus aurantium var. Sinensis*), gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), lavanda (*Lavandula angustifolia* Miller) e capim limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) (NETO; SOUSA; FREITAS, 2013).

Dentro da classe dos sesquiterpenos, o nerolidol (3,7,11-trimethyl-1,6,10-dodecatrien-3-ol), é um dos mais encontrados na natureza e de grande importância econômica. (QUEIROGA *apud* GELISNKI; ROSA; DUQUESNE, 2007). O nerolidol é usado como agente aromatizante pelas indústrias alimentícias e apresenta um grande interesse para a indústria de cosméticos em virtude de ser um fixador natural (FRIZZO *apud* NETO; SOUSA; FREITAS, 2013). O nerolidol é um ingrediente usado na perfumaria como fragrâncias em muitos produtos. Podendo ser encontrado em fragrâncias utilizadas em artigos de higiene de pessoal como cosméticos, perfumes, xampus, sabonetes, bem como em produtos de limpeza (IFRA *apud* NETO; ALMEIDA; SILVA, 2012).

Nessa perspectiva, o presente estudo pretende identificar compostos com potencial inibição da enzima acetilcolinesterase *in vitro* e *in vivo*, bem como realizar uma avaliação qualitativa e quantitativa da atividade desses compostos para verificar suas propriedades farmacológicas enfatizando na prevenção e/ou tratamento da DA.

Material e Métodos

Preparação do sesquiterpeno hidroxilado

Para obtenção do produto, o precursor do sesquiterpeno será submetida à reação em piridina seca juntamente com anidrido acético sob refluxo. Após formação dos produtos, a mistura será cromatografada para isolamento. O produto será sintetizado e fornecido pelo Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa da Universidade Federal da Paraíba.

Teste de toxicidade frente à *Artemia salina* L.

Este experimento será executado conforme a metodologia descrita por Meyer e colaboradores (1982), com algumas modificações.

Para o experimento, será utilizada uma câmara de claro-escuro a qual se adicionará água do mar e cerca de 300 ovos de *Artemia salina* para eclodirem. Em seguida, será preparada a solução-mãe na concentração de 10000 µg/mL. Para isso, deve-se pesar 0,02 g do óleo Nerolidol e misturar com 2 mL de Diclorometano (CH₂Cl₂). Para a obtenção de soluções em diferentes concentrações, irá se diluir a solução-mãe, todas em triplicata. Após 24 h, a cada tubo contendo as soluções, será adicionado uma gota de Dimetilsulfóxido (DMSO), um pouco de água do mar e 10 espécimes de *A. salina*, completando em seguida o volume de 5 mL com água do mar em cada tubo. O controle será feito com água do mar, DMSO mais água do mar e CH₂Cl₂ mais água do mar, todos em triplicata. A contagem dos sobreviventes e mortos será feita após 24 h.

Avaliação da atividade de acetilcolinesterase

a) Ensaio em cromatografia de camada delgada (CCD) - Atividade de inibição qualitativa

A substância será dissolvida em metanol para uma concentração de 1 mg/mL. A amostra será aplicada em CCD, DC Alufolien, Silicagel 60 F₂₅₄, 0,2 mm (Merck), e eluída em clorofórmio: metanol 9:1.

Após a placa ser desenvolvida, a atividade inibitória será detectada utilizando revelador baseado no método de Ellman²⁴ adaptado por Rhee e colaboradores (2001). A placa foi pulverizada com DTNB (ácido 5,5'-ditiobis-[2-nitrobenzóico])/ATCI (Iodeto de acetiltiocolina) (1 mM DTNB e 1 mM ATCI em tampão A). Depois de seca por 3-5 minutos pulverizou-se com 3 units/mL da enzima acetilcolinesterase, tipo VI-s, liofilizada, 292 U/mg sólida, 394 U/mg proteína (Sigma Chemical Co.) e, em 10 min, foi observado a coloração amarela. Onde houver inibição da enzima, será observado o aparecimento de halos brancos. A coloração desaparece em cerca de cerca de 20 a 30 min. A cafeína é utilizada como substância padrão.

b) Ensaio em cromatografia de camada delgada (CCD) - Atividade de inibição quantitativa

O efeito inibitório da substância isolada sobre atividade da enzima acetilcolinesterase *in vitro* é avaliada por uma adaptação do método espectrofotométrico de Ellman e colaboradores (1961) e os procedimentos para o ensaio estão detalhados em publicações recentes. Para a atividade de inibição quantitativa, será utilizado um espectrômetro Varian Cary NMR. Inicialmente, 100 µL da amostra (concentrações de 1 mg/mL, 0,5 mg/mL; 0,025 mg/mL; 0,0125 mg/mL e 0,00625 mg/mL em solução tampão 50 mM Tris-HCl, pH 8, e 10% de metanol) será misturado com 100 µL de AChE (0,22 U/mL em 50 mMol/L Tris-HCl, tampão pH 8, 0,1% BSA) e 200 µL de tampão (50 mMol/L Tris-HCl, pH 8, 0,1% BSA). A mistura será incubada por 5 min a 30°C. Posteriormente, 500 µL de ácido ditiobisnitrobenzóico (DTNB) (3 mMol/L em Tris-HCl, pH 8, 0,1 mol/L de NaCl, 0,02 mol/L MgCl) e 100 µL de iodeto de acetiotiocolina (ATCI) (4 mMol/L em água) serão adicionados. Um branco também será preparado substituindo a enzima AChE com 100 µL de tampão (50 mMol/L Tris-HCl, pH 8, 0,1% BSA). A reação foi monitorada por 5 min em 412 nm e velocidade inicial (V_0) gravada. Como controle negativo será utilizado o Tampão (0,1% de metanol em 50 mMol/L Tris-HCl, pH 8, 10%) e o medicamento neostigmina foi usado como padrão. A atividade anticolinesterásica (% I) será calculada de acordo com a seguinte equação:

$$I (\%) = 1 - \left(\frac{V_0 \text{ amostra}}{V_0 \text{ branco}} \right) \times 100$$

V_0 amostra e V_0 branco representam as velocidades iniciais de amostras e branco. Os valores da concentração inibitória de 50% (CI_{50}) foram obtidos por intermédio de plotagem Log-Probit.

c) Atividade da enzima Acetilcolinesterase *in vivo*

Nesse estudo serão utilizados 50 camundongos Swiss albinos (*Mus musculus*) adultos com dois meses de idade com peso variando entre 25 e 30 gramas. Os animais serão divididos em seis grupos (n=5) para a avaliação do efeito inibitório do composto na atividade da enzima acetilcolinesterase. O primeiro grupo será tratado com Tween 80 0,05% dissolvido em solução salina 0,9% por via oral (v.o.) (controle negativo), o grupo controle positivo será tratado com neostigmina (25, 50 e 75 mg/kg; i.p.), três outros grupos serão tratados com o sesquiterpeno nas doses de 25, 50 e 75 mg/kg (v.o.; n = 5) e os outros três grupo serão tratados com CI nas mesmas doses usadas para o sesquiterpeno.

Após os tratamentos, os animais serão colocados em gaiolas de acrílico (30 x 30 cm²) com água e ração *ad libitum* e observados durante 24 horas para verificação dos parâmetros comportamentais. Durante esse período será registrado o número de morte entre os animais de cada grupo, os animais que sobreviveram ao período de observação serão anestesiados pela administração de pentobarbital sódico (10-15 mg/100 g de peso, i.p.) e em seguida, eutanasiados por decapitação para a remoção do encéfalo e dissecação da área cerebral (hipocampo) em ambos os lados dos cérebros em estudo.

A atividade enzimática de acetilcolinesterase no hipocampo de camundongos será medida por meio de métodos espectrofotométricos e os resultados comparados aos valores obtidos dos grupos tratados com o veículo e com neostigmina.

O experimento será realizado de acordo com o guia de cuidados e usos de animais de laboratório do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos da América (EUA). Os procedimentos referentes à eutanásia dos animais estarão em conformidade com o Parágrafo Único do Artigo 2º da Resolução Nº 714, de 20 de Junho de 2002 do Conselho Federal de Medicina Veterinária – CFMV. O

projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animais da Universidade Federal do Piauí (003/2011).

Análises Estatísticas

Os resultados obtidos foram expressos como média \pm erro padrão a média (E.P.M). Para avaliar a significância das diferenças entre as médias, utilizou-se Análise de Variância (ANOVA One-way) seguido do t-Student-Neuman-Keuls como *post hoc* teste. As diferenças entre as médias foram consideradas significativas quando o valor obtido para “p” foi menor que 0,05 ($p < 0,05$). A análise estatística foi realizada utilizando o programa estatístico Graph-PadPrism® 5.01 (GraphPadSoftware, San Diego, CA, E.U.A.).

Resultados Esperados

Espera-se que o composto em estudo, nerolidol, depois de realizado todos os testes, apresente um potencial de inibição da enzima acetilcolinesterase *in vitro* e *in vivo*, e atividades farmacológicas que permita seu uso na prevenção e/ou tratamento da DA.

Com esse composto, por ser de origem vegetal, esperamos também uma diminuição no custo envolvendo fármacos industrializados convencionais no tratamento dos problemas distúrbios cognitivos, em especial, a doença de Alzheimer e com isso facilitar o acesso da população menos favorecida aos medicamentos originados dos estudos realizados, oferecendo menor preço em relação aos medicamentos convencionais disponíveis no mercado farmacêutico.

Referências

CAMPELO, L. M. L.; GONÇALVES, F. B. M.; FEITOSA, C. M.; FREITAS, R. M. Antioxidant activity of Citrus limon essential oil in mouse hippocampus. **Pharmaceutical Biology**, v. 49, p. 709-715, 2011.

CARVALHO, R. B. F.; ALMEIDA, A.A.C.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. L.; LIMA, L. S.; FREITAS, R.M.; FEITOSA, C.M. Composição química e atividade anticolinesterásica de uma fração ativa do extrato de folhas de *Citrus limon* (L.) Burm. **Química Nova**. v. 36, p. 1375-1379, 2013.

FEITOSA, C. M.; LUZ, N. N.; FREITAS, R. M.; BEZERRA, M. Z. B.; TREVISAN, M. T. S. Acetylcholinesterase inhibition by some promising Brazilian medicinal plants. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, p. 783-789, 2011.

FEITOSA, C.M.; Barreto, J.C.; Trevisan, M.T.S.; Araújo, R.M. Alzheimer e produtos naturais como inibidores da acetilcolinesterase, in: **Produtos naturais estudos químicos e biológicos**. Moraes, S.M. Braz-Filho, R.B. (Org.). Fortaleza, EdUECE, 240 p, 2007.

GELINSKI, J.M.L.N.; ROSA, J.C.D.; DUQUESNE, E.F.A.P.; BARATTO, C.M. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) e de seu composto ativo Neroliol em combinação com EDTA ou lizosima. **Evidência – Ciência e tecnologia**. v. 7, p. 132-133, 2007.

GORETTI, M.; TURCHETTI, B.; RAMAROSSA, M.R.; FORTI, L.; BUZZINI, P. Production of flavours and fragrances via bioreduction of (4R)-(-)-carvone and (1R)-(-)-myrtenal by non-conventional yeast whole-cells. **Molecules**, v.18, n.5, p. 5736-48, 2013.

NETO, J.D.N.; SOUSA, D.P.; FREITAS, R.M. Avaliação do potencial antioxidante *in vitro* do Nerolidol. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básicas e Aplicadas**, v. 34, p. 125-126, 2013.

NETO, J.D.N.; ALMEIDA, A.A.C.; SILVA, O.A.; CARVALHO, R.B.F.; SOUSA, D.P.; FREITAS, R.M. Avaliação da toxicidade aguda e das propriedades ansiolíticas do nerolidol em camundongos. **Revista de Biologia e Farmácia**, v. 8, p. 43-44, 2012.

PORTO, K. R. A.; ROEL, A. R.; MACHADO, A. A.; CARDOSO, C. A. L.; OLIVEIRA, J. M. Atividade inseticida do líquido da castanha de caju sobre larvas de *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 11, p. 419-422, 2013.

RIBEIRO, A.F.; MAIA, J.G.; ANDRADE, E.H.; RIBEIRO, F.P. Avaliação da toxicidade do óleo das folhas de *Lippia origanoides* frente à *Artemia salina*. In: **53º Congresso Brasileiro de Química da Associação Brasileira de Química**, 2013.

ROMERO, A. L.; OLIVEIRA, R. R.; ROMERO, R. B.; ALMEIDA, A. L.; DINIZ, S. P. S. S.; VIDA, J. B. Efeito de monoterpenos naturais no crescimento micelial e germinação de conídios de *Corynespora cassiicola*. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 18, p. 3-7, 2013.

SERENIKI, A.; VITAL, M. A. B. F. A doença de Alzheimer: aspectos fisiopatológicos e farmacológicos. **Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul**, v. 30, n.1, 2008.

VIZIN, R.C.L.; MARQUES, L.C. Padronização da metodologia de avaliação da ação anticolinesterásica em fármacos e extratos vegetais. In: **IV Jornada de Iniciação Científica e Tecnológica UNIBAN - Ciências da Vida - Farmácia**. 2011.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí (FAPEPI) pelo apoio financeiro.

CS16 - Farmacovigilância no tratamento farmacológico convencional e/ou com imunobiológicos em portadores da Doença de Crohn

Galileia Santos Oliveira Barbosa (IC)^{1*}; Rivelilson Mendes de Freitas (PQ)²

1. Universidade Federal do Piauí – Mestranda em Ciências Farmacêuticas
2. Universidade Federal do Piauí – Professor doutor do curso de Farmácia

*galileiathe@hotmail.com

Palavras-chave: Doença Inflamatória Intestinal. Farmacovigilância. Reações Adversas.

Resumo

A doença de Crohn (DC) é definida como um processo inflamatório crônico, não curável por tratamento clínico ou cirúrgico e que acomete o trato gastrointestinal de forma uni ou multifocal, de intensidade variável e comprometendo a estrutura da parede do órgão afetado. A DC afeta indivíduos de todas as faixas etárias, com maior frequência em adultos jovens. A terapêutica da DC engloba o tratamento farmacológico, nutricional e cirúrgico, tendo como objetivo controlar a atividade da doença, bem como a prevenção das recidivas. Para atingir esses objetivos são utilizados fármacos de diversas classes farmacológicas (aminossalicilatos, corticoides, imunossupressores, antibióticos e agentes biológicos). Pode ser estimado que o uso destes fármacos pode ser inapropriado em vários casos. Estudos relatam que este grupo de medicamentos pode ter uma alta incidência de efeitos colaterais e reações adversas. Nesse sentido, o presente projeto visa acompanhar a utilização do tratamento farmacológico convencional e/ou com imunobiológicos em portadores da DC no Hospital Universitário (HU) da Universidade Federal do Piauí, tendo em vista a necessidade da segurança e eficácia de seu uso, bem como uma melhor qualidade de vida destes usuários. Durante o estudo serão aplicados instrumentos de coleta de dados (Ficha de Notificação de suspeita de Reação Adversa a Medicamentos), nos quais deverão constar informações pertinentes a história clínica, hipótese diagnóstica, anamnese farmacológica e outros dados de importância para o projeto através da coleta sistemática de dados do prontuário. É esperado que com o acompanhamento farmacoterapêutico dos portadores da DC que seja possível delinear o perfil das RAMs (Reação Adversa a medicamentos) e levantar os possíveis fatores de risco relacionados à sua ocorrência, contribuindo para a literatura específica em relação ao uso racional de medicamentos para a DC no contexto hospitalar.

Introdução

A doença de Crohn(DC) é uma doença inflamatória intestinal(DII) crônica, recidivante ao longo da vida e que afeta qualquer porção do trato gastrointestinal(TGI), da boca ao ânus. Semelhante a colite ulcerativa(UC), a outra principal DII. A DC se manifesta, na maioria das vezes, na segunda e terceira década de vida, mas os primeiros sintomas da doença podem ocorrer em qualquer idade. Embora a etiopatogenia precisa da DC seja desconhecida, vários fatores imunológicos, genéticos e ambientais que contribuem para a doença foram identificados. É referido um desequilíbrio entre a tolerância à microbiota comensal ou antígenos derivados de alimentos e respostas imune à patógenos. Assim, a inflamação da mucosa observada na DC é desencadeada em indivíduos geneticamente predispostos pelas respostas imune inata e adaptativa desreguladas (LAASS et al, 2014).

Os sintomas mais comuns da DC são a diarreia, dor abdominal (cólicas), febre, perda de apetite, anorexia, perda de peso e emagrecimento. Nas últimas décadas, a incidência da DC aumentou tanto nos países ocidentais como nos países em vias de desenvolvimento. Esta doença ocorre aproximadamente em igual proporção nos dois sexos (Magro et al, 2012). Manifestações extra-intestinais associadas ou isoladas podem ocorrer e atingem mais frequentemente pele, articulações, olhos, fígado e trato urinário (HABR-GAMA et al, 2011).

O diagnóstico da DC resulta da análise de dados clínicos (de anamnese, exame físico e proctológico completo), endoscópicos, radiológicos, laboratoriais e histológicos. As manifestações clínicas são mais frequentemente de natureza inflamatória, obstrutiva e/ou fistulizante, as quais têm maior ou menor valor prognóstico. A aferição da atividade da doença de Crohn pode ser de difícil realização em decorrência de diferentes padrões de localização da doença, bem como a presença de complicações. A diferenciação entre doença em atividade e em remissão pode ser feita por meio do Índice de Atividade da Doença de Crohn (CDAI, do inglês Crohn's Disease Activity Index). A doença é considerada em remissão quando o CDAI é inferior a 150; leve a moderada quando o CDAI oscila entre 150 e 219; moderada a grave entre 220 e 450; e grave ou fulminante quando os valores são superiores a 450 (HABR-GAMA et al, 2011).

Devido à etiologia desconhecida e a falta de uma cura, o tratamento da DC é, em grande parte, empírico, visando redução da inflamação. A terapêutica convencional consiste, em primeira linha, no ácido 5-aminossalicílico, antibióticos e corticosteroides. Estes fármacos, especialmente os últimos citados, promovem a melhoria dos sintomas sem modificar o curso da doença em longo prazo. A utilização prolongada dos corticoides, primeiros medicamentos utilizados para o tratamento, é associada a efeitos adversos graves, por vezes irreversíveis. Quanto à antibioticoterapia, o metronidazol é eficaz no tratamento da doença perianal, e a sua eficácia é tão efetiva quanto à sulfassalazina. A manutenção do tratamento em longo prazo tende a ser necessária, pela frequente recidiva após sua interrupção. Entretanto, o uso prolongado desses fármacos está relacionado a riscos de neuropatia periférica (LEITE; MATHEUS, 2012).

Nos doentes refratários os quais as terapias de primeira linha falharam, é feita a imunossupressão com azatioprina (AZA), 6-mercaptopurina (MP) ou metotrexato(MT), com uso limitado por possuir eficácia moderada, lento início de ação e efeitos secundários, portanto, tratamentos alternativos são cruciais a fim de permitirem a redução de complicações, cirurgias e mortalidade. Com os insucessos dos fármacos anteriormente utilizados, foi verificada a necessidade de outros esforços para a restauração da função normal do intestino, a partir da supressão da inflamação e na indução da cicatrização da mucosa, que está associada com a redução de complicações graves (hospitalização e cirurgia), fazendo um diferencial para um tratamento adequado (LEITE; MATHEUS, 2012).

O Fator de Necrose Tumoral ou FNT (do inglês Tumoral Necrosis Fator ou TNF) é um mensageiro químico(citocina) importante para várias vias pró-inflamatórias e proliferativas da doença inflamatória intestinal, que está presente em concentrações elevadas no sangue, mucosa e fezes dos doentes. Ele é uma das principais citocinas encarregadas de mediar a resposta imune, característica da DC (Leite; Matheus, 2012). A insuficiência cardíaca moderada a grave (grau III/IV na classificação da New York Heart Association) é contra- indicação absoluta para o uso de agentes anti-TNF (APARÍCIO; SOUSA, 2013).

Estão atualmente disponíveis no mercado os anticorpos monoclonais anti-TNF infliximab (IFX), adalimumab (ADA), certolizumab pegol (CZP) e o natalizumab. O mercado brasileiro só dispõe dos dois primeiros. O IFX, sendo o primeiro e o mais estudado de todos os anticorpos anti-TNF, é considerado hoje como sendo especialmente benéfico nos pacientes com DC moderada a severa. Devido ao risco de reações anafiláticas de infusão, a sua administração deve ocorrer em ambiente controlado e com presença de resposta médica urgente caso seja necessário. O uso de IFX está também associado a um risco aumentado

de desenvolver infecções oportunistas, nomeadamente tuberculose, listeriose e histoplasmose, as quais podem ser fatais quando não tratadas de forma adequada. História pessoal de patologia do foro neurológico deve ser considerada alerta clínico, uma vez que existe relação, ainda que tênue, entre o uso do IFX e o desenvolvimento de doenças desmielinizantes. Há também que prestar atenção aos pacientes com antecedentes pessoais de doença do foro neoplásico, os quais têm risco aumentado para o desenvolvimento de linfoma e outras doenças mieloproliferativas (APARÍCIO; SOUSA, 2013).

De acordo a evidência científica atual, a melhor alternativa terapêutica de momento é um tratamento híbrido, definido como uma abordagem “step up” mais agressiva: o clínico deve preservar a associação diretamente proporcional entre o grau de severidade da doença e a potência do tratamento, tendo sempre a lembrança que quanto mais precocemente forem introduzidos os imunossuppressores ou os agentes biológicos, melhor será a evolução clínica a longo prazo. No entanto, é necessário contrabalançar estes efeitos benéficos com o risco de toxicidade destes fármacos, cujos efeitos secundários adversos a longo prazo incluem infecções oportunistas e doenças de foro mieloproliferativo (APARÍCIO; SOUSA, 2013).

Baseado nesses dados, propomos constituir um projeto de pesquisa em Farmacovigilância para detectar, registrar e analisar reações adversas a medicamentos no tratamento convencional e/ou com imunobiológicos na Doença de Crohn dos pacientes com tal moléstia atendidos pelo Hospital Universitário do Piauí (HU-PI), tendo em vista a necessidade da segurança e eficácia de seu uso, bem como uma melhor qualidade de vida destes usuários.

Material e Métodos

O projeto foi submetido ao parecer da Comissão de Ética da UFPI e Hospital Universitário (HU), como também serão respeitados todos os direitos dos portadores da DC ao anonimato e à autonomia. Será utilizado um termo de consentimento livre esclarecido, no qual o responsável pelo paciente autorizará ou não a sua participação no projeto.

O projeto baseado no estudo da Farmacovigilância do tratamento farmacológico convencional e/ou com imunobiológicos em portadores da DC que será desenvolvido no Hospital Universitário (HU) da Universidade Federal do Piauí no município de Teresina, Piauí. O HU é um hospital geral com nível de atenção terciário e com esfera administrativa federal mantida pelo SUS. O HU possui 100 leitos ativos e atende todo o estado do Piauí e estados vizinhos. O HU conta com o serviço de acompanhamento clínico de portadores da Doença Crohn que atualmente é desenvolvido pelos profissionais de saúde das áreas de medicina, enfermagem, farmácia e nutrição.

Durante o estudo será aplicado um termo de consentimento livre e esclarecido e os instrumentos de coleta de dados (Ficha de Notificação de Reação Adversa a Medicamentos), nos quais deverão constar as informações pertinentes a história clínica, hipótese diagnósticas, anamnese farmacológica e outros dados de importância para o projeto. Será iniciada a coleta de dados: realizando o levantamento dos portadores da Doença de Crohn que estavam iniciando o tratamento com o acompanhamento desses portadores através da realização de visitas e coleta sistemática dos dados do prontuário.

Serão notificadas as suspeitas de RAMs, através do preenchimento da Ficha de Notificação de Suspeita de RAMs e procederá ao preenchimento do formulário para o sistema NOTIVISA da Agência Nacional de Vigilância Sanitária; Serão realizados os estudos dos casos de suspeita de RAM e sua classificação (COELHO et al., 1999).

Na última fase do projeto será criado e introduzido os dados coletados em um banco de dados, utilizando-se o programa estatístico Epi-info versão 6.0; Será feita também a determinação da incidência de RAMs ao tratamento farmacológico convencional e com imunobiológicos e os testes de hipótese, bem como a determinação dos fatores de risco que predispõem o aparecimento de RAMs ao tratamento farmacológico convencional e com imunobiológicos. Em suma, será elaborado um relatório técnico e artigos para publicação em revistas científicas indexadas. Para as análises Estatísticas dos dados serão usados os testes estatísticos (ANOVA e Kruskal Wallis) para testar a influência das variáveis estudadas na ocorrência de RAM. Os dados serão considerados significativos quando $p < 0.05$.

Resultados Esperados

As suspeitas de RAM serão notificadas na Ficha de Notificação de Suspeita de Reação Adversa a Medicamento e encaminhadas ao ANVISA, também serão classificadas segundo a relação de causalidade

reação/uso do tratamento farmacológico convencional e/ou com imunobiológicos e segundo a gravidade, de acordo com a metodologia preconizada pela Organização Mundial de Saúde/OMS. Os programas estatísticos determinarão se há relações de coexistência entre as reações adversas e o tratamento farmacológico convencional e/ou com imunobiológicos nesse estudo.

Referências

APARÍCIO, A.S.; SOUSA, R. C. **Doença Inflamatória Intestinal: Manutenção Clínica e Novos tratamentos**. Dissertação (Mestrado em Medicina)- Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2013.

COELHO, H.L.; ARRAIS, P.S.D.; GOMES, A.P.; Sistema de farmacovigilância do Ceará: um ano de experiência. **Cadernos de Saúde Pública**, v.15, n.3, p.631-640, 1999.

HABR-GAMA, A.; CERSKI, C.T. S.; MOREIRA, J.P.T. CASERTA, N.M.G.; OLIVEIRA JÚNIOR, O.; ARAÚJO, S.E.A. Doença de Crohn intestinal: manejo. **Revista da Associação Médica Brasileira**; v. 57, n.1, p. 10-13, 2011.

LAASS, M. W.; ROGGENBUCK, D.; CONRAD, K. Diagnosis and classification of Crohn's disease. **Autoimmunity Reviews**, v. 13, p. 467-471, 2014.

LEITE, T. O. C.; MATHEUS, M.E. Infliximab para tratamento da Doença de Crohn: da descoberta aos tempos atuais. **Revista Brasileira de Farmácia(RBF)**, v.93, n. 3, p. 298-303,2012.

CS17 - Atividade antioxidante de uma molécula de *Peltophorum dubium* (Spreng): poder redutor de íons ferro

Guilherme Antônio Lopes de Oliveira (PG)^{1*}; Sabryna Brena Cunha Fontele (IC)¹; Thalys Ribeiro de Souza Leite (IC)¹; Jorge Maurício David (PQ)²; Rivelilson Mendes de Freitas (PQ)¹

1. Laboratório de Pesquisa em Neuroquímica Experimental, UFPI
2. Instituto de Química, UFBA

*guilhermelopes@live.com

Palavras-chave: Antioxidante. Produtos Naturais. Poder Redutor.

Resumo

O #GB12 pode ser um potencial precursor de novas terapias para uso na medicina e ainda existem poucos estudos sobre suas características físicoquímicas e seu potencial antioxidante, diante disto, é importante avaliar suas características para ser usada em formulações farmacêuticas, dessa forma o presente trabalho mostra resultados do teste antioxidante que mede a capacidade que uma molécula tem de transformar o íon Fe³⁺ em Fe²⁺. O #GB12 apresentou forte capacidade de reduzir os íons ferro em dose dependente. Por isto, serão avaliados outros mecanismos antioxidantes para ajudar nos estudos de delineamento de uma formulação farmacêutica contendo o #GB12.

Introdução

A fonte mais rica de diversidade química disponível com aplicabilidade na indústria farmacêutica são os produtos naturais oriundos de plantas, animais e microorganismos (OGBOURNE; PARSONS, 2014; FONSECA, 2014). Cerca de metade de todos os medicamentos usados pela população são provenientes de produtos naturais ou de seus análogos (KOEHN; CARTER, 2009). Com base nas observações empíricas e na medicina popular, o extrato de plantas foi a primeira forma de tratamento medicamentoso usado pela humanidade e por muito tempo a única forma de terapia disponível (GANESAN, 2008).

Neste campo de descoberta de novas drogas para fins terapêuticos existem obstáculos muitas vezes complexos que começam na triagem de moléculas e são estendidos para os ensaios farmacológicos, separação química e na determinação estrutural, mas com os avanços da biotecnologia aliados com a bioinformática e a genômica esses passos podem ser reduzidos e mostram um impacto na elaboração de novas drogas (CRAGG; NEWMAN, 2013).

Na pesquisa para elaboração de novas drogas a maior fonte são as plantas, pelo fato da grande diversidade nacional e a vasta gama de moléculas ativas. Uma das famílias de plantas mais estudadas pela indústria farmacêutica, de cosméticos e alimentícia é a Fabaceae, com ampla distribuição geográfica, possui 745 gêneros e mais de 19.500 espécies de leguminosas, sendo a terceira maior família de plantas (LEWIS, 2014; WINK, 2013). A molécula de nosso trabalho #GB12 é isolada a partir das raízes da espécie *Peltophorum dubium* (Spreng), mais conhecida popularmente no Brasil como Cana-fístula, pertencente à esta família, algumas atividades biológicas dessa molécula já estão descritas na literatura, como atividade tripanomicida, antiinflamatória e efeito hepatoprotetor. A #GB12 pode ser um potencial precursor de novas terapias para uso na medicina e ainda existem poucos estudos sobre suas características físico-químicas e seu potencial farmacológico, diante disto, é importante avaliar suas características para ser usada em formulações farmacêuticas, dessa forma o presente trabalho mostra resultados do teste antioxidante que mede a capacidade que uma molécula tem de transformar o íon Fe³⁺ em Fe²⁺.

Os antioxidantes naturais possuem potencial efeito na prevenção de doenças crônicas, pois protegem o organismo contra a ação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, que são os maiores causadores de danos oxidativos aos lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos. Diante disto, o objetivo do estudo foi avaliar o potencial antioxidante do #GB12 através do teste “poder redutor de íons ferro”.

Material e Métodos

Para este estudo foi utilizada a metodologia descrita por Singhal e colaboradores (2011), com modificações. A mistura reacional foi preparada com #GB12 em diferentes concentrações (0,1; 0,3; 0,7; 1,5 e 3,0 mM), com 0,5 mL de ferricianeto de potássio 1% e 0,5 mL de tampão fosfato de sódio (0,2 M, pH 6.6). Foi feita incubação a 50 °C por 20 minutos, depois foi adicionado 0,5 mL de ácido tricloroacético 10%, 0,5 mL de água destilada e 0,150 mL de cloreto férrico (FeCl₃) 0,1%. Da mesma forma foi utilizado também o Trolox como controle nas mesmas concentrações do #GB12 em molaridade. A absorbância da mistura reacional foi medida em espectrofotômetro a 700 nm, o equipamento foi zerado apenas com tampão fosfato de sódio.

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos no presente estudo mostram que o composto #GB12 apresenta capacidade antioxidante. O poder redutor foi avaliado pela transformação do Fe³⁺ em Fe²⁺, a reação passa de amarelo para verde, pela capacidade de reduzir os elétrons. Foi observado que aumento dos valores da absorbância mostra o quanto a substância é capaz de reduzir os íons em relação ao controle. O #GB12 apresentou as seguintes médias e desvio padrão (p>0,05): 0,202 ± 0,0 (0,1 mM), 0,348 ± 0,0 (0,3 mM), 0,529 ± 0,0 (0,7 mM), 0,876 ± 0,002 (1,5 mM), 1,326 ± 0,01 (3,0 mM). Já o Trolox, substância usada como controle por ser conhecida como potente antioxidante, tendo capacidade de reduzir os íons ferro apresentou os seguintes valores: 0,133 ± 0,04 (0,1 mM), 0,612 ± 0,0 (0,3 mM), 1,253 ± 0,01 (0,7 mM), 2,144 ± 0,02 (1,5 mM), 2,464 ± 0,03 (3,0 mM). De acordo com os resultados observados, os valores do #GB12 e do Trolox aumentam quando a concentração aumenta (dose dependente). Quando o #GB12 é comparado ao Trolox nas mesmas concentrações calculadas em molaridade, portanto equivalentes, é observado a molécula #GB12 (isolada de produto natural) tem grande capacidade de reduzir os íons ferro, mesmo os valores sendo menores que o controle Trolox (produto sintético).

Conclusão

Portanto a avaliação da capacidade que a molécula #GB12 tem de reduzir os íons ferro mostrou que essa molécula tem a capacidade de transformar Fe³⁺ em Fe²⁺ em dose dependente. Sendo um importante mecanismo antioxidante, desta forma outros estudos para avaliar outros meios de atividade antioxidante serão investigados para subsidiar os estudos de formulação farmacêutica a partir da #GB12.

Referências

FONSECA, F.; FREITAS, C.; DUTRA, L.; GUIMARÃES, R.; CARVALHO, O. Spatial modeling of the *Schistosomiasis mansoni* in Minas Gerais State, Brazil using spatial regression. **Acta Tropical**, v. 133, p. 56-63, 2014.

OGBOURNE, S.M.; PARSONS, P.G. The value of nature's natural product library for the discovery of New Chemical Entities: The discovery of ingenol mebutate. **Fitoterapia**, v.98, n. 1, p. 36-44, 2014.

GANESAN, A. The impact of natural products upon modern drug discovery, **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 12, n. 3, p. 306-317, 2008.

CRAGG, G.M.; NEWMAN, D.J.; Natural products: A continuing source of novel drug leads. **Biochemical et Biophysical Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1830, n. 6, p. 3670-3695, 2013.

LEWIS, G.P. *Peltophorum* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB83567>>. Acesso em: 05 Ago. 2014.

SINGHAL, M.; PAUL, A.; SINGH, H. P. Synthesis and reducing power assay of methyl semicarbazone derivatives. **Journal of Saudi Chemical Society**, *In press*, 2013.

Agradecimentos

Agradecemos ao apoio financeiro da CAPES, CNPq e UFPI.

CS18 - Delineamento e Caracterização do Complexo de Inclusão de nerol e β -ciclodextrina

Herlane Oliveira Meireles da Silva (IC)^{1*}; Juliana Costa dos Santos (IC)¹; Mayara Ladeira Coêlho (PQ)^{1,2}; Rivelilson Mendes de Freitas (PQ)²

1. Faculdade Integral Diferencial – Curso de Graduação em Farmácia
2. Universidade Federal do Piauí – Curso de Graduação em Farmácia

*herlanemeireles@outlook.com

Palavras-chave: Monoterpeno. Vetorização. Solubilidade. Complexo de inclusão.

Resumo

Os óleos voláteis são produtos obtidos de plantas mediante destilação por arraste com vapor d'água. As substâncias repelentes ou atraentes das plantas são principalmente de natureza terpênica e se apresentam como moléculas de baixo peso molecular e volátil. Os principais constituintes desses óleos são os monoterpenos, seguidos pelos sesquiterpenos, e pelos compostos aromáticos de baixo peso molecular. O Nerol, um álcool primário acíclico, é um monoterpeno utilizado como composto de fragrância em perfumaria. Essa substância pode apresentar atividade atraente, repelente, e até tóxica a insetos e microorganismos, e apresenta efeitos antiespasmódico. A vetorização de um fármaco é uma operação que visa modular e, se possível, direcionar totalmente a distribuição de uma substância, associando a um sistema apropriado, denominado vetor. O nerol apresenta baixa solubilidade aquosa e o delineamento de formas de vetorização deste fármaco, através da complexação do mesmo com β -ciclodextrina é uma ferramenta promissora para solubilização e biodisponibilidade desta substância, que em estudos recentes demonstrou potencial atividade esquistossomicida.

Introdução

Planta medicinal é todo e qualquer vegetal que contém, em um ou vários de seus órgãos, substâncias que podem ser empregadas para fins terapêuticos ou precursores de substâncias utilizadas para tais fins, sendo amplamente utilizadas pela medicina alternativa (RODRIGUES, 2013).

Os óleos voláteis são produtos obtidos de plantas obtidos mediante destilação por arraste com vapor d'água. Os principais constituintes desses óleos são os monoterpenos, seguidos pelos sesquiterpenos, e pelos compostos aromáticos de baixo peso molecular (KNAAK, 2010).

Substâncias como essas são pouco solúveis em água e apresentam, em geral, problemas de biodisponibilidade, sendo a dissolução o fator limitante para a absorção dos mesmos. A solubilidade e a ionização de fármacos na água, juntamente com o coeficiente de partição dos fármacos entre a água e lipídios, influenciam a facilidade de passagem através de uma membrana celular, assim como transporte um fármaco desde sua via de administração até o seu sítio de ação. (KNAAK, 2010).

Diante disto a complexação de fármacos com ciclodextrinas faz com que as propriedades físico-químicas destes mudem, podendo aumentar a solubilidade em água, estabilidade química e a sua biodisponibilidade (MELO et al., 2007).

Com isso, este trabalho pretende revisar a literatura científica e delinear racionalmente o complexo de inclusão nerol com a β -ciclodextrina. Além disso, propõe-se a caracterizar físico-quimicamente o complexo de inclusão obtido bem como a mistura física.

Material e Métodos

Materiais

Nerol cedido pelo (SIGMA), Polivinilpirrolidona (PVP K 30), ciclodextrina β (CD). As soluções serão preparadas utilizando reagentes de grau analítico, água destilada e membranas filtrantes de porosidade 28 μm .

Métodos

DIAGRAMA DE SOLUBILIDADE DAS CICLODEXTRINAS

O estudo de solubilidade será realizado conforme o método descrito por Higuchi e Connors (1965), em triplicata, adicionando-se excesso de nerol a tubos de ensaio contendo soluções aquosas da ciclodextrinas natural, β -CD, em concentração de (0 – 10 mmolL^{-1}). As amostras serão mantidas em banho-maria a 37 °C, sob agitação, por 2 dias, até obter-se o equilíbrio. Alíquotas vão ser retiradas, filtradas em papel filtro e adequadamente diluídas em água destilada. O conteúdo será determinado em espectrofotômetro UV-Vis (Varian modelo AA 50) no LIMAV, no comprimento de onda de 475 nm, a partir da equação da reta $y = 0,0198x + 0,0185$ ($R^2 = 0,9999$) (MEIRELLES, 2012).

PREPARO DOS COMPLEXOS DE INCLUSÃO

O complexo de inclusão do nerol foi preparado empregando a ciclodextrina natural do tipo β -CD pelo método de malaxagem, na razão molar 1:1. O método de malaxagem consiste em triturar a massa do sistema binário nerol: β -CD em gral de porcelana, com auxílio de pistilo, adicionando uma pequena quantidade de água destilada, suficiente para obter uma pasta. Em seguida, o gral contendo a mistura vai ser mantido em banho-maria, sob 37 °C, até secagem completa, protegido da luz. O material resultante será triturado, dessecado, e acondicionado em frasco-ampola de vidro hermeticamente fechado, sendo armazenado em dessecador. Empregado também para obtenção da dispersão sólida nerol: β -CD, na proporção de 1:1 (p/p)

PREPARO DAS MISTURAS FÍSICAS

As misturas físicas do nerol e ciclodextrina (MF NRL:CD) serão preparadas mediante pesagem de quantidade equimolar (1:1) (p/p). A massa de cada sistema binário foi triturada em gral de porcelana, com auxílio de pistilo, até homogeneização. O material resultante foi acondicionado em frasco-ampola hermeticamente fechado e armazenado em dessecador de vidro preparadas mediante pesagem de quantidade equimolar (1:1) e a mistura física do nerol e PVP (MF NRL:CD) será pesada na proporção de 1:1 (p/p). A massa de cada sistema binário será triturada em gral de porcelana, com auxílio de pistilo, até homogeneização. O material resultante foi acondicionado em frasco-ampola hermeticamente fechado e armazenado em dessecador de vidro.

CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

A análise térmica através de DSC (2920 TA Instruments), será realizada no Laboratório de Análise de Combustíveis (LAPETRO) da UFPI, em atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 mLmin⁻¹), empregando uma massa de aproximadamente 5,5 mg, acondicionada em porta-amostra de alumínio, hermeticamente fechado. Será realizada a análise do fármaco puro, a ciclodextrina (β -CD), e as misturas físicas, os complexos de inclusão obtidos por malaxagem e a dispersão sólida, na faixa de aquecimento de 30 – 350 °C, sob um razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹, usando N₂ como gás de purga.

ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Os espectros de absorção no infravermelho por transformada de Fourier serão obtidos pelo método de refletância total atenuada (ATR). As amostras de nerol puro, das misturas suas físicas e dos complexos de inclusão e da dispersão sólida serão obtidos em Espectrômetro FTIR (Bruker modelo Vertex 70). Empregou-se resolução de 4 cm⁻¹, na faixa de 4000 – 400 cm⁻¹, com 32 scans.

DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

A análises de raios X do nerol puro, das misturas físicas nerol:CD (MF Nerol:CD) e CD, dos complexos de inclusão) obtidos por malaxagem, e da dispersão sólida serão realizados, em difratômetro (Shimadzu modelo XRD-6000), operando a 40 KV, 30 mA, com varredura angular 2 θ de 2° min⁻¹, variando de 2 - 40°, utilizando radiação de cobre.

Resultados Esperados

Delinear e obter complexo de inclusão do nerol com a β -ciclodextrina, avaliar as características físico-químicas dos complexos de inclusão e mistura física obtidos. Com isso, pretende-se um incremento na solubilidade do nerol, um monoterpeneo com atividades farmacológicas promissoras, principalmente para ser empregado como agente anti-helmíntico.

Referências

KNAAK, N.; FIUZA, L. M. **Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos**. Rio Grande do Sul, 2010. v. 5. Disponível em: < http://www.unisinios.br/blogs/ppg-biologia/files/2011/05/art08_knaak_et_al.pdf>. Acesso em: 25 set. 2014

MEIRELLES, L. M. A. **Incremento de solubilidade do fármaco rifampicina por complexo de inclusão e dispersão sólida**. Piauí, 2012. Disponível em: <http://www.ufpi.br/subsiteFiles/ppgcf/arquivos/files/Lyghia_Meirelles.pdf>. Acesso em: 01 out. 2014.

MELO, N.F.S. et al. **Preparação e caracterização inicial de complexo e inclusão entre nitrofurazona e 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina**. São Paulo, 2007. v. 28, n1. Disponível em: < http://serv-bib.fcfa.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewFile/343/328>. Acesso em: 25 set. 2014.

RODRIGUES, M. M. **Inventário de plantas medicinais do programa farmácia viva da cidade de picos**. Picos, 2013. 41p. Disponível em: < <http://www.ufpi.br/subsiteFiles/picos/arquivos/files/monografia%282%29.pdf>>. Acesso em: 26 set. 2014.

Agradecimentos

Às instituições que apóiam esse projeto (LAPNEX, Laboratório de Pesquisa em Neuroquímica Experimental e Universidade Federal do Piauí).

CS19 - Avaliação do efeito quimioprolifático da fração diclorometano do caule de *Mimosa caesalpinifolia* Benth (Mimosaceae) em um modelo experimental de carcinogênese vesical

Ian Jhemes Oliveira Sousa (IC)^{1*}; Nathanael Ibsen da Silva Soares (IC)²; Nayana Bruna Nery Monção (PG)³; Antônia Maria das Graças Lopes Citó (PQ)³; Paulo Michel Pinheiro Ferreira (PQ)⁴

1. Universidade Federal do Piauí – Curso de Graduação em Farmácia

2. Universidade Federal do Piauí – Curso de Graduação em Nutrição

3. Universidade Federal do Piauí – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas / Departamento de Química

4. Universidade Federal do Piauí – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas / Departamento de Biofísica e Fisiologia

*ianjhemes@gmail.com

Palavras-chave: Carcinogênese. Bexiga. Quimioprolifaxia. *Mimosa caesalpinifolia*.

Resumo

Como característica particular do processo carcinogênico, temos um somatório de fatores que influenciam diretamente nas etapas da transformação celular, sendo que nesta ótica o stress oxidativo está intrinsecamente relacionado com a promoção do processo tumoral, desta forma, utilizar substâncias com poder antioxidante é uma premissa válida quando se objetiva regressão do processo carcinogênico. A *Mimosa caesalpinifolia* Benth é citada em diversos estudos pelo seu potencial antioxidante, sua utilização como quimiopreventivo neste modelo de carcinogênese in vivo pode gerar resultados para preceder novas possibilidades de estudo com protótipos de antioxidantes naturais na quimioprolifaxia tumoral, visto que além da eficácia antioxidante comprovada do estrato, o modelo de carcinogênese vesical é muito apontado pela literatura como promissor, pois há grande semelhança tecidual entre a bexiga animal quando comparado com a humana. Nesse processo de carcinogênese, pretende-se utilizar o carcinogênio “BBN”, N-butil-N-(4-hidroxibutil) nitrosamina na dieta dos ratos em proporção de 0,05%, o esquema de administração será feito por meio de grupos de controle e avaliação profilática, para posteriormente ser realizado um monitoramento bioquímico, histopatológico, imunohistoquímico e hematológico, que objetiva relatar traços de alterações sistêmicas e teciduais provocadas pelo uso da nitrosamina carcinogênica, bem como os possíveis efeitos preventivos da administração da fração de *M. caesalpinifolia* Benth concomitante com o esquema carcinogênico, avaliando o efeito do extrato como antagonista do processo carcinogênico.

Introdução

De acordo com Grasso, (2008) o carcinoma de bexiga é a quarta causa mais comum de neoplasia nos homens e a oitava nas mulheres, especificamente no homem tem incidência que pode variar de 5 a 10% de todas as neoplasias do sexo masculino. Eufrásio (2011) relata que esse tipo de tumores tem alta recidiva e baixa prognóstica quando o processo de tumoração está avançado, desta forma a quimioprolifaxia é comprovadamente uma alternativa considerável.

Dentro desta ótica e ainda de acordo com Eufrásio, (2011), as vias de inflamação e stress oxidativo estão diretamente ligadas no processo carcinogênico, portanto, diminuir essa condição de desequilíbrio é uma medida que pode apresentar eficácia real. Dessa forma, é relevante o papel das espécies de oxigênio reativo, como moléculas capazes de promover danos diretos na molécula de DNA, e que de forma indireta,

são também capazes de condicionar dano no DNA através da peroxidação lipídica, da oxidação de proteínas e de alterações na expressão genética (COUSSENS, 2002).

Apesar de permanentemente sujeitas a stress oxidativo resultante do metabolismo, as células e os tecidos mantêm um equilíbrio dinâmico entre radicais livres e mecanismos antioxidantes. Como mecanismos protetores, as células utilizam sequestradores de radicais livres como a glutatona, vitaminas (C e E), enzimas antioxidantes como catálases, peroxidases e a superóxido dismutase que desempenham igualmente um papel importante os sofisticados mecanismos de reparação do DNA (TEIXEIRA, 2013).

Todavia normalmente o corpo humano é submetido a diversos níveis de stress, e o equilíbrio pode ser rompido por quadros de deficiências alimentares, insalubridade ocupacional e/ou exposição a agentes exógenos, deslocando o equilíbrio em favor do acúmulo de substâncias oxidantes e configurando o stress oxidativo. O dano oxidativo, resultante das espécies de oxigênio reativo livres, pode levar à mutação de moléculas de DNA. Dentre várias, existe uma que se destaca pela facilidade da sua medição, comportando-se como biomarcador de dano oxidativo. Trata-se da 8-hidroxideoxiguanosina 8-OHdG (TEIXEIRA, 2013).

Esta molécula de nucleotídeo defeituosa é apontada por várias literaturas como mutagênica, que segundo Roessner (2008), tem a capacidade de emparelhar com resíduos de adenina, aumentando a frequência de translocações espontâneas g:C→T:A. A 8-OHdG pode ser expulsa pelos mecanismos de reparação do DNA e, desta forma, costuma aparecer no plasma.

Nesta ótica, esclarecido da participação do stress oxidativo na promoção da transformação tumoral, um estudo utilizando um modelo que possa simular uma condição fisiológica o mais próxima do ser humano é muito satisfatório, desta maneira Campos, (2013) define o modelo experimental de carcinogênese vesical induzido pela nitrosamina BBN (N-butyl-N-(4-hidroxibutil) nitrosamina em ratos um modelo ideal para protocolos in vivo, visto que há notória semelhança bioquímica e histológica entre os ratos e humanos, principalmente no que se refere ao tecido da bexiga. Portanto, o objetivo desse estudo será avaliar o potencial de quimioprevenção carcinogênica da fração diclorometânica do caule (FDC) de *Mimosa caesalpinifolia* Benth.

Materiais e Métodos

Serão utilizados quarenta e quatro ratos da espécie *Rattus norvegicus* de linhagem albina (n=40), entre 8 e 10 semanas de idade e a seleção dos ratos pretenderá evitar desvios padrão de peso dos animais. Estes animais irão dispor de água e comida à vontade e serão submetidos ao regime padrão de luminosidade (12 h claro e 12 h escuro).

Os animais serão divididos e organizados em grupos: sendo que o grupo I, receberá na sua dieta apenas água com suco de laranja (n=10, controle negativo), o grupo II, receberá na sua dieta 0,05% de N-butyl-N-(4-hidroxibutil) nitrosamina (BBN) adicionado à água com suco de laranja (n=10, controle positivo). O grupo III receberá na sua dieta a FDC na dose de 50 mg/kg (n=10, avaliação fisiológica). O grupo IV receberá, além da mesma concentração de BBN adicionado a sua bebida, a dose padrão de 50 mg/kg da FDC (n=10, avaliação quimioprolifática). Com base no experimento realizado por Teixeira, (2013), o procedimento terá duração de 20 semanas, sendo 08 semanas para a iniciação, onde os animais receberão os carcinogênicos e controles em sua alimentação, e depois, 12 semanas de tratamento completo.

Após o tempo de experimento total, os ratos serão sedados por uma injeção intraperitoneal de tiopental 3 mg/kg e as amostras de sangue para os exames bioquímicos serão colhidos por punção na jugular. Em seguida, os órgãos do sistema digestório serão retirados e pesados, e a bexiga será pré-processada por uma injeção de formaldeído a 4% para possibilitar uma pré-fixação para análise macroscópica e procedimentos padrão de histopatologia (coloração por hematoxilina/eosina) e imunohistoquímica (marcação de proliferação celular para Ki-67 e PCNA) e o sangue será processado para obtenção dos parâmetros bioquímicos (TGF-beta, TNF-alfa, IL-2, MDA, 8-OHdG e TSA).

Os testes histopatológicos serão realizados pelo mesmo patologista para evitar discrepâncias na quantificação dos resultados. Os marcadores imunohistoquímicos serão examinados por meio de protocolo padrão (Biogen®) e as análises bioquímicas e hematológicas por equipamentos automatizados (Biogen®). Todos os testes serão submetidos a aprovação do CEP antes de qualquer manipulação ou procedimento experimental.

Resultados Esperados

Espera-se que a incidência tumoral seja reduzida pela ação antitumoral da fração diclorometano de *Mimosa caesalpinifolia* Benth, visto sua potência antioxidante real que com base na observação de Silva *et*

al (2012), pode se dizer que representa um terço do equivalente antioxidante em ácido ascórbico. De acordo com Silva (2014), a fração diclorometano da casca da espécie *M. caesalpinifolia* Benth apresentou potencial citotóxico promissor com CI_{50} variando entre 4,7-7,1 $\mu\text{g/mL}$ para as linhagens SF-295 (glioblastoma) o tipo mais comum de tumor cerebral maligno. Desta forma é válida e bem fundamentada a hipótese da ação da fração diclorometano de *M caesalpinifolia* Benth como quimioprotetiva neste modelo de carcinogênese vesical, sendo que a comprovação desta hipótese postula a viabilidade de isolamento de substâncias desse extrato para experimentos com princípios ativos bem definidos.

Referências

CAMPOS, L.; PARADA, B.; REIS, F.; SERENO, J.; NUNES, P.; MOTA, A.; FIGUEREDO, A.; TEIXEIRA, F. Eficácia da atorvastatina na quimioprevenção da carcinogênese vesical num modelo experimental: Propriedades anti-oxidantes, anti-proliferativas e anti-inflamatórias. **Acta Urológica**, v. 1, n. 30, p.29-38, 2013.

COUSSENS, L. M.; WERB, Z. Inflammation and cancer. **Nature**, v. 420 n. 6917 p. 860-867, 2002.

GRASSO, M. Bladder cancer: A major public health issue. **European Urology Supplements**, v. 1, n. 7, p. 510-515, 2008.

ROESSNER, A.; KUESTER, D.; MALFERTHEINER, P.; SCHNEIDER-STOCK, R. Oxidative stress in ulcerative colitis-associated carcinogenesis. **Pathology - Research and Practice**, v. 7 n. 204, p. 511-24, 2008.

SILVA, J. N. **Análise da Atividade Antioxidante e Citotóxica de Extratos de Plantas do Semiárido Nordestino**. 2014. (Qualificação de Mestrado) Universidade Federal do Piauí, Teresina.

SILVA, M. J. D.; ENDO, L. H.; DIAS, A. L. T. Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana dos extratos e frações orgânicas de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. (Mimosaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 2 n. 3, p. 267-274, 2012.

TEIXEIRA, M. S. R. Stress oxidativo e dano no DNA na doença inflamatória intestinal. **Arquivos de Medicina**, v. 27, n. 6, p. 248-255, 2013.

Agradecimentos

CNPq e FAPEPI.

CS20 - Revisão de literatura sobre porfiria aguda intermitente

Jéssica Milena Moura Neves (IC)^{1*}; Maria de Fátima Martins (IC)¹; Thayra Tulipa Lima Braga (IC)¹; Wallyson André dos Santos Bezerra (IC)¹; Márcia Fernanda Correia Jardim Paz (PQ)²; Antonio Luiz Gomes Júnior (PQ)³

1. Acadêmicos do curso de Biomedicina do Centro Universitário UNINOVAFAPI

2. Biomédica e Mestre em Genética e Toxicologia Aplicada,

3. Professor Mestre do curso de Biomedicina do Centro Universitário UNINOVAFAPI

*milenamoura80@hotmail.com

Palavras-chave: Porfiria. Doença Metabólica. Diagnóstico

Resumo

A porfiria aguda intermitente (PAI) é uma doença genética rara, autossômica dominante, decorrente de um distúrbio na via hepática da biossíntese do heme-porfirina causado pela redução dos níveis da enzima porfobilinogênio desaminase (PBG-D). A falta de reconhecimento do diagnóstico clínico e o uso

desnecessário de recursos adiam o tratamento específico, o que leva a um aumento da mortalidade. Essa revisão bibliográfica teve como objetivo: compreender as informações obtidas através da pesquisa bibliográfica sobre Porfíria Aguda Intermitente, discutir sobre as causas, etiologia, diagnóstico e sintomas da PAI. Foi realizado um estudo exploratório por meio de uma pesquisa bibliográfica que teve como suporte teórico artigos científicos, que tinham como tema a Porfíria Aguda Intermitente. A pesquisa teve caráter qualitativo. Utilizou-se os bancos de dados SciELO, PubMed, Google Acadêmico, SCOPUS, fontes de pesquisa importantes na área da saúde. Teve-se como resultados que a porfíria aguda intermitente é a principal porfíria que causa sintomas agudos, que podem ser severos e com risco de vida, mas de curta duração. Tipicamente, as crises de PAI ocorrem após a puberdade e são mais frequentes em mulheres do que em homens. Após análise dos artigos pesquisados, os pacientes apresentados nos casos clínicos relatados possuíam quadros clínicos semelhantes com fortes dores abdominais associadas a vômitos, e evoluíram para alucinações, quadriplegia e parada respiratória.

Introdução

Segundo Lopes (2008), a porfíria aguda intermitente (PAI) é uma doença genética rara, autossômica dominante, decorrente de um distúrbio na via hepática da biossíntese do heme-porfirina causado pela redução dos níveis da enzima porfobilinogênio desaminase (PBG-D). É caracterizada por sinais e sintomas, geralmente intermitentes, que incluem dor abdominal, náuseas, vômitos, constipação ou diarreia, distensão abdominal, íleo adinâmico, retenção ou incontinência urinárias, taquicardia, sudorese, tremores, febre, neuropatia periférica, distúrbios hidroeletrólíticos e psiquiátricos. Entretanto, existem muitos fatores que podem precipitar uma crise de PAI, entre estes destaca-se a dieta hipocalórica e pobre em carboidratos.

De acordo com Arandia (2012), a porfíria aguda deve ser considerada nas possibilidades de diagnóstico em qualquer doente a consultar para a dor aguda abdominal, distúrbios neuropsiquiátricos, neuropatia motora sensitiva periférica e crises disautonômicas hiponatremia. O diagnóstico pode ser confirmado rapidamente demonstrando níveis elevados de porfobilinogênio (PBG) na urina, com valores normais de 20 a 200 mg/L, assim como de ácido delta-aminolevulínico (ALA) com 1,5 a 7,5 mg/dL em 24 de urina 3hrs. Terapia hemina intravenosa iniciada o mais rápido possível é o tratamento mais eficaz, devem ser identificados e tratados simultaneamente. O diagnóstico precoce e o tratamento adequado melhora muito o prognóstico e preveni o desenvolvimento de complicações neurológicas crônicas. Este trabalho teve como objetivo discutir sobre a etiologia, causas, diagnóstico e sintomas da porfíria aguda intermitente.

Materiais e Métodos

Foi realizado um estudo exploratório por meio de uma pesquisa bibliográfica que teve como suporte teórico artigos científicos, que tinham como tema a Porfíria Aguda Intermitente. A pesquisa teve caráter qualitativo. Utilizou-se os bancos de dados SciELO, PubMed, Google Acadêmico, SCOPUS, fontes de pesquisa importantes na área da saúde. Foram incluídos artigos que abordam o tema porfíria aguda e porfíria aguda intermitente, e excluídos aqueles que relatam outros casos de porfíria. Os artigos compreendem entre os anos de 2008 a 2014, sendo que um faz uma revisão sistemática de artigos publicados e os outros três artigos relatam casos clínicos da doença e foi avaliado a pertinência do conteúdo por meio de leitura prévia dos resumos dos trabalhos encontrados.

Resultados e Discussão

Foram encontrados 32 artigos que tratam do tema Porfíria, mais apenas 4 se encaixaram no estudo do assunto abordado nessa revisão bibliográfica. Os artigos compreendem entre os anos de 2008 a 2014, sendo que um faz uma revisão sistemática de artigos publicados e os outros três artigos relatam casos clínicos da doença. Foram incluídos artigos em português e dois em espanhol e avaliou-se a pertinência do conteúdo por meio de leitura prévia dos resumos dos trabalhos encontrados. Após análise dos artigos pesquisados nas bases de dados SciELO, PubMed, Google Acadêmico, SCOPUS, os pacientes apresentados nos casos clínicos relatados possuíam quadros clínicos semelhantes com fortes dores abdominais associada a vômitos, e evoluíram para alucinações, quadriplegia e parada respiratória (LOPES et al., 2008). Cada paciente recebeu um tratamento diferenciado de acordo com a manifestação da doença, dentre eles, redução da dor, náuseas e vômitos com drogas consideradas seguras e suspender medicamentos porfirinogênicos. O diagnóstico precoce e o tratamento adequado melhora consideravelmente o prognóstico e previne possíveis complicações na doença (ARANDIA et al., 2012).

A perspectiva dos artigos estudados nos mostrou que a porfiria aguda intermitente (PAI) é a principal porfiria que causa sintomas agudos, que podem ser severos e com risco de vida, mas de curta duração. Tipicamente, as crises de PAI ocorrem após a puberdade e são mais frequentes em mulheres do que em homens (LOPES et al., 2008). Apesar da porfiria aguda intermitente ser uma doença rara, deve ser considerada em pacientes com dor abdominal grave, que pode ser acompanhada de sintomas neurológicos e psiquiátricos. É o mais comum e grave caso em porfirias agudas (ARANDIA et al., 2012).

A partir dos estudos realizados sobre o tema, foi visto que existem quatro subtipos de ataques agudos que causam porfiria: porfiria aguda intermitente, porfiria variegata e déficit coproporfirina, porfiria hereditária associada com dehidratase aminolevulínico ácido plumboporfirina. Os ataques dos três últimos, produzem efeitos agudos associados com lesões de pele, apresentam casos de crise neurovisceral, embora menos grave e menos comum, ao contrário da porfiria aguda intermitente (TORREGROSSA et al., 2011).

Em condições normais, a deficiência da enzima não é suficiente para iniciar as crises. São necessários outros fatores para induzir os sintomas. Assim, portadores da deficiência enzimática que não apresentam quaisquer sintomas, são chamados de indivíduos com PAI “latente” (LOPES et al., 2008).

Foi visto que com base na pesquisa de dados relatada nos artigos, foi constatado que os sintomas clínicos da PAI estão relacionados ao excesso de produção de precursores de porfirina e aumento da atividade da enzima ALA sintetase (ALAS) no fígado pela ação de alguns fatores precipitantes, tais como hormônios esteróides e drogas porfirinogênicos (SANTOS et al., 2010).

Vários fatores contribuem para o curso da doença, como: alguns fármacos (barbitúricos, anticonvulsivantes, bloqueadores dos canais de cálcio, alguns sedativos, antibióticos, antifúngicos e hormônios), uso exacerbado de bebidas alcoólicas, tabaco ou dietas hipocalóricas e pobre em carboidrato. Além disso, o estresse como resultado de infecção, cirurgia ou distúrbios psicológicos também pode ser implicado na gênese da crise de porfiria (SANTOS et al., 2010).

O diagnóstico de porfiria, mesmo em pacientes com crises severas, é usualmente complicado, só deve ser realizado alguns meses após o início do acompanhamento e de várias crises. Precocemente, é considerado a hipótese diagnóstica de PAI quando há histórico familiar da doença ou se houver alto índice de suspeitas. (ARANDIA et al., 2012).

A prevenção de novas crises é tão importante quanto o diagnóstico e tratamento precoce, evitando complicações. Para isso, se faz necessário acompanhamento médico periódico associado a medidas simples como manter uma dieta adequada, evitar drogas porfirinogênicas, álcool, tabaco, atividade física extenuante e stress. Como o risco de suicídio é alto, é recomendado o tratamento psiquiátrico se houver sinais de depressão. Deve-se monitorar adequadamente a pressão arterial, pois a hipertensão prolongada acelera e aumenta o risco de doença renal (LOPES et al., 2008). Em manifestações de laboratório, a anemia causada por uma redução na síntese do heme-porfirina em células precursoras eritróides da medula óssea conduz a uma geração de tipo microcíticas e anemia hipocrômicas (SANTOS et al., 2010).

O tratamento de PAI é baseado em terapias específicas para reduzir os níveis de precursores de heme e os sintomas da doença. Nos ataques de porfiria, é feito tratamento com hematina (LOPES, et al., 2010). O tratamento das crises consiste em reduzir a dor, náuseas e vômitos com drogas consideradas seguras, suspender medicamentos porfirinogênicos (SANTOS et al., 2008).

Dos artigos analisados, os relatos dos autores entram em convergência quanto ao tema do acima referido no que se diz sobre a porfiria aguda intermitente ser uma doença genética autossômica rara decorrente de um distúrbio na via hepática da biossíntese do heme-porfirina causado pela redução dos níveis da enzima porfobilinogênio desaminase (PBG-D) e que a falta de reconhecimento do diagnóstico clínico e o uso desnecessário de recursos adiam o tratamento específico, o que leva a um aumento da mortalidade.

Conclusão

De acordo com os artigos pesquisados, os pacientes apresentados nos casos clínicos relatados possuíam quadros clínicos semelhantes com fortes dores abdominais associada a vômitos, e evoluíram para alucinações, quadriplegia e parada respiratória. O diagnóstico de porfiria, mesmo em pacientes com crises severas, é usualmente complicado. O primeiro passo no diagnóstico da PAI é a dosagem ALA e de PBG na urina, quando o paciente estiver em crise. O diagnóstico definitivo, seja em pacientes com sintomas característicos ou pela forma latente, é realizado pela pesquisa do gene mutante através de teste genético

molecular. O tratamento de PAI é baseado em terapias específicas para reduzir os níveis de precursores de heme e os sintomas da doença.

Referências

ARANDIA, M.C.; APARICIO, F.M.O.; BALDERRAMA, B.E.; GRANADO, R.C. Porfiria aguda intermitente la importancia de ampliar la perspectiva del diagnóstico diferencial. **Revista Científica de Ciências Médicas**, v. 15, n. 2, p. 45-48, 2012.

LOPES, D.V.; VALLE, M.A.; TAGUTI, J.; TAGUTI, R.C.T.C.; BETÔNICO, G.N.; MEDEIROS, F.C. Porfiria aguda intermitente: relato de caso e revisão da literatura, **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 20, n.4 p. 9-434, 2008.

SANTOS, A.R.R.; ALBUQUERQUE, R.R; DORIQUEI, M.J.R; COSTA, G.C.; SANTOS, A.P.S. As análises bioquímicas e hematológicas em porfiria aguda intermitente (AIP): relato de caso. **Anais Acadêmicos Brasileiros de Ciências**, v. 85, n. 3, p. 1207-1214, 2013.

TORREGROSA, L.; AYALA, J.C.; CERVERA, S.; VILLA, C.A. La porfiria aguda intermitente y el cirujano: un reto diagnóstico Reporte de un caso y revisión de la literatura, **Revista Colombiana de Cirugía** v. 26, p. 131-137, 2011.

CS21 - Triagem Neonatal de Hemoglobinopatias no Piauí: dos indicadores de pesquisa a inserção do diagnóstico e a criação da rede de atenção

Leonardo Ferreira Soares (PQ)¹; Evaldo Hipólito de Oliveira (PQ)²; José Felipe Pinheiro do Nascimento Vieira^{3*}; Naiara Rego Medeiros³

1. Universidade Estadual de Campina Grande – PIBIC/PPSUS
2. Universidade Federal do Piauí – PIBIC/PPSUS
3. Laboratório Central de Saúde Pública - LACEN-PI

*scout_lipe@hotmail.com

Palavras-chave: Triagem Neonatal. Hemoglobinopatias. Rede de Atenção

Resumo

Doença genética de maior prevalência no mundo, a doença falciforme é considerado um grande problema de saúde pública. O presente estudo tem por finalidade apresentar a prevalência da doença falciforme e da sua herança genética em recém-nascidos em maternidade pública de referência na cidade de Teresina, Piauí, bem como, demonstrar a sua prevalência em relação a outras capitais no nordeste do país. Dessa forma, pretendemos comparar com os indicadores já publicados no intuito de fornecer subsídios para a implantação da fase II do teste do pezinho para a criação da Rede Estadual da Doença Falciforme no estado do Piauí. Foram analisados no presente estudo 1034 (um mil e trinta e quatro) amostras de sangue de cordão umbilical, foi observado que Teresina apresentou 0,5% Hemoglobina Falciforme (Hb FS) e 3,4% Traço falciforme (Hb FAS). A doença falciforme foi 100% prevalente em RN's de mulheres de etnia negra ou parda, onde apresentaram um elevado índice de desinformação relativos a herança genética da doença.

Introdução

A primeira observação científica da doença das células falciformes datam de um pouco mais de um século. Herrick em 1910 observou a forma anormal dos eritrócitos do sangue periférico de um estudante negro procedente da Jamaica, o qual era portador de um grave quadro anêmico acompanhado de icterícia, complicações pulmonares e úlceras de membros inferiores. Em 1917, Emmel observou a transformação da

hemácia na sua forma original, bicôncava, para a forma de foice, *in vitro*, e em 1922, o termo anemia falciforme foi utilizado por Manson. Em 1927, Hanh e Gillepsie descobriram que a falcização dos eritrócitos ocorria como consequência da exposição das células a uma baixa tensão de O₂.

Em 1947, Accioly, no Brasil, pela primeira vez havia sugerido que a falciformação ocorria como consequência de uma herança autossômica dominante, mas só em 1949, através dos trabalhos de Neel e Beet, e que se definiu a doença somente em estado de homozigose, sendo os heterozigotos portadores assintomáticos. Em 1949, Linus Pauling e colaboradores demonstraram que havia uma diferente migração eletroforética da hemoglobina de pacientes com anemia falciforme quando em comparação com a hemoglobina de indivíduos normais. Posteriormente coube a Ingram (1956) elucidar a natureza bioquímica desta doença, quando, através de um processo de *fingerprint* (eletroforese bidimensional associada com cromatografia), fracionou a hemoglobina e estudou os seus peptídeos. Ficou caracterizado que a anemia falciforme era ocasionada pela substituição do ácido glutâmico por valina na cadeia β da hemoglobina (NETO, 2003).

Hoje se sabe que a causa da substituição dos aminoácidos e uma mutação de ponto (GAG->GTG) no gene da globina beta da hemoglobina, originando uma hemoglobina anormal, denominada hemoglobina S (HbS), ao invés da hemoglobina normal denominada hemoglobina A (Hb A). Este gene, que codifica a Hb S, pode combinar-se com outras anormalidades hereditárias das hemoglobinas, como hemoglobina C (Hb C), hemoglobina D (HbD), beta-talassemia, entre outros, gerando combinações que também são sintomáticas, denominadas, respectivamente, hemoglobinopatia SC, hemoblobinopatia SD,S/beta-talassemia. No conjunto, todas essas formas sintomáticas do gene da HbS, em homozigose ou em combinação, são conhecidas como doenças falciformes. Apesar das particularidades que as distinguem e de graus variados de gravidade, todas estas doenças tem um espectro epidemiológico e de manifestações clínicas e hematológicas superponíveis (BRASIL, 2010).

A Doença Falciforme (DF) originou-se na África, estendeu-se para a Península Arábica, sul da Itália, Índia e foi trazida às Américas pela imigração forçada de cerca de 3-4 milhões de africanos trazidos como escravos. Considerada a patologia genética de maior prevalência mundial, a anemia falciforme, possui uma frequência de 25 a 40% em países africanos. A população brasileira apresenta uma composição de mistura de três grupos genéticos: índios, africanos e europeus, sendo a contribuição africana advinda de diversos grupos étnicos. Este grupo veio para o Brasil como escravos, estabelecendo nas várias regiões do país comunidades de escravos fugidos denominadas quilombos. No campo da saúde pública, a ênfase na anemia falciforme como doença étnico-racial apóia em três aspectos relacionados a essa patologia que caracterizariam uma maior suscetibilidade da população negra e parda: origem geográfica, etiologia genética e as estatísticas de prevalência (BRASIL, 2004; OLIVEIRA 2003; DI NUZZO, 2004; LAGUARDIA, 2006; CANCELO, 2007)

Diante da grave situação dos pacientes falcêmicos e da desassistência do Estado quanto a políticas públicas eficientes, há mais de trinta anos os segmentos sociais organizados de homens e mulheres negros no Brasil vêm reivindicando o diagnóstico precoce e um programa de atenção integral às pessoas com doença falciforme (CANCELO, 2007).

Com a pressão política exercida por esses movimentos, o Governo Federal enfim reconhecendo a importância epidemiológica da doença falciforme, conforme cita Rodrigues (2010), estabeleceu duas políticas importantes: a elaboração do "Programa Anemia Falciforme (PAF)", em 1996, e a criação do "Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN)", em 2001, Portaria GM/MS nº822/01, que estabeleceu a inclusão de testes para identificação da doença falciforme nos exames de rotina realizados em todos os recém-nascidos brasileiros, conhecido como "teste do pezinho". Em 2005 houve a criação da Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com DF e outras hemoglobinopatias (MARTINS, 2010).

O Ministério da Saúde publicou em 2001 através da portaria GM/MS nº 822 que prevê no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) o diagnóstico, tratamento e acompanhamento de: fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito, fibrose cística, DF e outras hemoglobinopatias em todo o território nacional. Com base, nos dados do PNTN nascem atualmente no Brasil cerca de 2500 crianças/ano com doença falciforme e 180.000 portadores do traço falciforme (RAMALHO, 2003). A sua distribuição na população ocorre de forma heterogênea, com maior prevalência nos estados que possuem maior concentração de afro descendente, com recorte social entre os mais pobres (BRASIL, 2008).

O presente estudo tem por finalidade apresentar a prevalência da doença falciforme e da sua herança genética em recém-nascidos em maternidade pública de referência na cidade de Teresina, Piauí, bem como, demonstrar a sua prevalência em relação a outras capitais no nordeste do país. Dessa forma, pretendemos comparar com os indicadores já publicados no intuito de fornecer subsídios para a

implantação da fase II do teste do pezinho para a criação da Rede Estadual da Doença Falciforme no estado do Piauí.

Materiais e Métodos

Esse estudo de caráter transversal e quantitativo realizado na Maternidade Dona Evangelina Rosa. A escolha do cenário deu-se pelo fato de ser um hospital de grande porte e referencia na rede municipal a assistência a gestante de alto risco, mantendo a referencia estadual no atendimento. Realizou-se a coleta de 1034 (um mil e trinta e quatro amostras) oriundas de gestantes das diversas regiões do estado. Os dados obtidos foram coletados em entrevista previa por acadêmicos, residentes de medicina e obstetras no momento do pré- parto, no período de outubro de 2008 a abril de 2009. No parto realizou-se aplicação do questionário socioeconômico com as variáveis dados pessoais, estado de origem, no de gestações, etnia, escolaridade, casamento consanguíneo e conhecimento sobre anemia falciforme (apêndice B). Estas ações ocorreram apos efetivação da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (apêndice A) por parte da mãe.

No momento do parto foram coletados por parte dos profissionais acima citados 5 ml de sangue do cordão umbilical de recém-nascidos. Os registros referentes a pesquisa, serão arquivados por um prazo de 5 anos nas dependências do Bloco de farmácia, na Universidade Federal do Piauí, sob responsabilidade do coordenador da pesquisa, Prof. Dr. Leonardo Ferreira Soares. A pesquisa obedeceu aos aspectos éticos conforme a resolução 466/2012 do CNS, sendo aprovada pelo comitê de pesquisa da Universidade Federal do Piauí, sob o numero 0181.0.045.000-08. Foram coletados os dados dos gestantes: idade superior a 18 anos; o acompanhamento pré-natal realizado no Instituto de Perinatologia do Piauí (INPPI); disponibilidade e aceitação de responder o questionário voluntariamente; consentir em participar da pesquisa com o termo de consentimento livre e Esclarecido (TCLE).

As amostras coletadas eram encaminhadas ao laboratório de hematologia clinica da UFPI, para realização do diagnostico, onde as analises realizadas através da técnica da cromatografia liquida de alta performance (HPLC), procedidas no sistema Variant II (Bio-Rad), fazendo uso do programa sickle cell. Os dados foram analisados utilizando o pacote estatístico SPSS 17.0 e posteriormente comparados com os dados obtidos de estudo de outras cidades do nordeste.

Resultados e Discussão

Foram analisadas no presente estudo 1034 (hum mil e trinta e quatro) amostras de sangue de cordão umbilical, onde se obtiveram informações acerca da presença da doença falciforme (FS), sua herança genética, o traço falciforme (FAS), em recém-nascidos (RN's) na cidade de Teresina.

Foi observado, que a doença falciforme apresentou um nº de 5 RN's (0,5%) e as hemoglobinas variantes FAS, FAC, FAD, outras hemoglobinas (E/↑A2 elevada), apresentaram respectivamente 39 (3,8%); 9 (0,9); 2 (0,2%) e 5 (0,5 %). A doença falciforme foi 100% prevalente em RN's de mulheres de etnia negra ou parda. Observa-se que Teresina apresentou 0,5% Hb FS e 3,4% Hb FAS fato que pode ser analisado por o Piauí apresentar uma alta densidade de população negra, possuir uma elevada população de redutos quilombolas espalhados nas diferentes zonas do estado e, além disso, a MDER ser o hospital materno infantil de referencia na região Meio-Norte por estar localizada na capital, que regionalmente reconhecida como pólo de saúde. Dessa forma, possibilitam-se um elevado nº de atendimentos as parturientes das diversas regiões do estado e ate mesmo do Maranhão, Ceara e Tocantins.

As parturientes apresentaram um elevado índice de desinformação relativo à herança genética da doença, quando perguntadas se possuíam conhecimento sobre a anemia falciforme, apenas 8,8% do total de mães pesquisadas responderam afirmativamente, índice menor apresentaram as mães de RN's diagnosticados com hemoglobinas variantes, apenas 3,9%. Porem existe ênfase na idéia de que as pessoas informadas podem contribuir para aspectos educativos da doença, mediar essa tênue fronteira entre prevenção e reconhecimento das liberdades individuais e coletivas, para só assim poder auxiliar na superação desse desafio não só para a saúde publica, mas também para os meios de comunicação (DINIZ, 2006). O Piauí aponta indicadores que o colocam entres os estados do nordeste com uma incidência de elevada na população do gene da hemoglobina S de 3,8% (Hb FAS) e de 0,5% (Hb FS) em neonatos acompanhados em parto de alto risco, ocupando a segunda posição nessa região dos pais, ficando atrás apenas da Bahia (SOARES, 2012).

Conclusão

Diante do exposto fica evidente que o estado do Piauí precisa garantir ao indivíduo com DF o amplo acesso a saúde através de uma política de atenção integral a essas pessoas desde a triagem neonatal até medidas preventivas e tratamento das complicações agudas e crônicas.

Apesar da grande necessidade de implantação destes programas, foi observado que no Piauí são lentas as ações no sentido de beneficiar e melhorar o status de saúde das pessoas com DF. Pacientes ainda são atendidos por profissionais despreparados que desconhecem as especificidades da doença e tem dificuldades de acesso aos serviços especializados, dentre outros empecilhos para obtenção de uma vida melhor.

Nesse sentido, a criação do Programa Estadual de Atenção Integral as Pessoas com Doença Falciforme e Outras Hemoglobinopatias em consonância com o Programa Nacional de Atenção Integral as Pessoas com Doença Falciforme e outras Hemoglobinopatias, é urgente no Piauí. A implementação da fase II do PNTN (“teste do pezinho”), a garantia de atendimento, o apoio diagnóstico, o tratamento, com o acesso aos medicamentos necessários (especialmente a Hidroxiureia) e estudos sobre a doença no estado devem ser políticas tomadas como prioridades pelo estado do Piauí.

Diante dos dados apresentados e da ausência da triagem neonatal (“teste do pezinho”) pode ser identificado de forma evidente a falta de um programa de detecção sistemática da AF. Fato que aponta para existência de um problema grave de saúde pública no Piauí, quando se leva em consideração a mortalidade, sua sub-notificação e os problemas de saúde enfrentados por estes pacientes que, por falta de um diagnóstico claro e precoce, não trataram sua enfermidade em tempo hábil para obter os benefícios de um tratamento preventivo. A alta incidência da doença falciforme e sua herança genética em RN’s nascidos na cidade de Teresina (PI) observada no presente estudo, trás a tona um importante dado para a criação e consolidação de políticas públicas voltadas para essa patologia no Piauí. Onde até então, não dispunha destes preocupantes indicadores relativos a doença em nascidos vivos. Estes índices demandam urgência na implantação, da fase II do (PNTN) no estado, construção da rede de assistência e atenção multiprofissional ao doente falciforme englobando deste o diagnóstico pré-natal até acompanhamento multidisciplinar e a consolidação dos princípios igualitários da saúde pública para esses pacientes. Com isso, a efetivação dessas propostas e o apoio incondicional prestado pelo Ministério da Saúde e possível tentar reduzir os impactos desta doença nos pacientes, visto que essas iniciativas têm apresentados resultados significativos nas mais diferentes regiões do país.

Referências

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Manual de Diagnóstico e Tratamento de Doença Falciforme**. Brasília: 2010

_____, MINISTERIO DA SAUDE. **Seminário Nacional de Saúde da População Negra**. Brasília. 2004.

_____. MINISTERIO DA SAUDE. **Secretaria de atenção a saúde**. Departamento de Atenção Especializada. Manual de Educação em Saúde. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2008.

CANCADO, R.D; JESUS, J.A. A doença falciforme no Brasil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, n. 3, p. 203-206, 2007.

DI NUZZO, D.V.P; FONSECA, SF. Anemia falciforme e infecções. **Jornal de Pediatria**, v. 80, n. 5, 2004

DINIZ, D; GUEDES, C. Informação genética na mídia impressa: a anemia falciforme em questão. **Revista de Ciência e Saúde Coletiva**, v. 11, n. 4, p. 1055-62, 2006

LAGUARDIA, J. No fio da navalha: anemia falciforme, raça e as implicações no cuidado a saúde. **Estudos Feministas**, v. 14, n. 1, p. 336-9, 2006

MARTINS, P.R.J. MORAES-SOUSA, H.; SILVEIRA, T.B. Morbimortalidade em doença falciforme. **Rev. Bras. Hematologia Hemoterapia**, v. 32, n. 5, p. 378-383, 2010

NETO, G.C.G. PITOMBEIRA, M.S. Aspectos moleculares da anemia falciforme. **Jornal Brasileiro de Patologia e medicina laboratorial**, v. 39, n. 1, p. 51-56, 2003.

OLIVEIRA, M.F. Saúde da população negra: Brasil ano 2001. **Organização Pan-Americana da Saúde**, Brasília, 2003.

RAMALHO, AS; MAGNA, LA; PAIVA, E; SILVA, RB. A Portaria no 822/01 do Ministério da Saúde e as peculiaridades das hemoglobinopatias em saúde pública no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 1, p. 195-99, 2003;

RODRIGUES, D.O.W; et.al. Diagnostico histórico da triagem neonatal para doença falciforme. **Revista de APS**, v. 13, n. 1, p. 34-45, 2010

SOARES, L.F; ROCHA, O.A.M.S.; OLIVEIRA, E.H.; VIEIRA, J.F.P.N. Neonatal screening in the state of Piauí: an urgent need – a study on the prevalence of sickle cell disease in newborns. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 34, n. 5, p. 392-393, 2012.

Agradecimentos

Agradeço a UFPI e o curso de farmácia que possibilitaram a execução dessa pesquisa, ao Ministério da Saúde (MS) na pessoa da Dra Joice Aragão, por fornecer todos os caminhos para a realização dessa pesquisa, a SESAPI pelo financiamento dos kits de diagnóstico, no intuito de ter indicadores para a criação das políticas. Ao professor Leonardo por ter sido um grande incentivador dessa causa e me sensibilizar enquanto estudante e hoje como profissional esta trabalhando dentro do estado justamente na rede de atenção ao paciente falciforme. E estando participando do III workshop projetos e dissertações no sentido de voltar a UFPI, para sociabilizar e discutir os resultados e demonstrar que a pesquisa realmente impacta nos indicadores de gestão e realmente propõe e incentiva o estado a formulação de políticas para os que mais precisam e necessitam.

CS22 - Delineamento e caracterização físico química de micropartículas de nerol

Juliana Costa dos Santos (IC)^{1*}; Herlane Oliveira Meireles da Silva (IC)¹; Mayara Ladeira Coêlho (PQ)^{1,2}; Rivelilson Mendes de Freitas (PQ)²

1. Curso de Farmácia – FACID | DeVry
2. Curso de Farmácia -UFPI

*julianasantosctv@hotmail.com

Palavras-chave: Micropartículas. Monoterpeno. Solubilidade. Nerol.

Resumo

Os óleos essenciais ou óleos voláteis estão presentes nas plantas aromáticas e podem apresentar atividade atraente, repelente e até tóxica a insetos e microrganismo. Os monoterpenos são metabólitos secundários constituintes de óleos essenciais que apresentam importantes atividades relacionadas e são objeto de estudo quanto a avaliação de suas propriedades. Neste sentido, o nerol, um monoterpeno alcoólico utilizado como composto de fragrância em perfumaria, apresentou em estudos recentes efeitos antiespasmódico e anti-helmíntico. As micropartículas são polímeros que estão sendo cada vez mais investigados por suas propriedades de liberação sustentada e por alcançar sítios específicos de ação de fármacos, possuem diâmetro maior ou igual a 1 µm. De acordo com os dados já vistos na literatura, o nerol possui uma baixa solubilidade o que pode repercutir em diminuição da sua biodisponibilidade. Tendo em vista essas características, este estudo propõe vetorizar o nerol em micropartículas, com a finalidade de melhorar as

propriedades físico-químicas deste bioativo, principalmente no que diz respeito ao incremento na solubilidade.

Introdução

Desde os primórdios o homem vem buscando alternativas para melhorar suas condições de vida. Inicialmente procurou recursos na natureza para aumentar suas chances de sobrevivência e acabou encontrando nas plantas fontes de alimento, onde começou um longo percurso de manuseio, adaptação e modificação dos recursos naturais para o seu próprio benefício (CHAVES, 2008).

Os monoterpenos são substâncias de odor agradável encontrado em uma grande variedade de óleos essenciais, com ampla aplicação industrial. Deste modo, é usado em indústrias de produtos de perfumaria como constituinte de sabonetes e cosméticos, em indústrias de produtos de limpeza como repelente de insetos, desinfetante e aromatizante, em indústrias farmacêuticas como antifúngico e anti-séptico. Eles são considerados como uma das maiores famílias de produtos naturais e percussores importantes para a produção biotecnológica. Os monoterpenos interferem com a integridade e funcionamento da membrana celular, através da mudança de potencial da membrana, perda de material citoplasmático e inibição da cadeia respiratória (BAPTISTELLA, 2009; PROBST, 2012).

As micropartículas tem conhecida propriedade de melhorar a disponibilidade de compostos ativos e permitir uma liberação modificada destas. São sistemas micrométricos que podem ser classificados de acordo com a sua constituição em: microesferas, que são sistemas matriciais; e microcápsulas, que são sistemas reservatórios, contendo uma substância ativa ou núcleo rodeado por uma membrana ou revestimento, os quais possibilitam que se possa direcionar o fármaco ao local de ação, reduzindo os efeitos adversos e promovendo muitas vezes uma barreira de proteção ao ativo frente aos diversos processos de degradação (PERREIRA et al., 2006, PONS, 2011).

A busca por drogas mais solúveis e menos tóxicas e que trate ou previna doenças humanas tem sido objetivo de vários estudos. Entre as diversas estratégias utilizadas para a introdução de novos fármacos na terapêutica a vetorização de fármacos através de diversos sistemas mostra-se promissoras. Estes consistem em operações que visa modular e, se possível, direcionar totalmente a distribuição de uma substância, associando a um sistema apropriado, denominado vetor (SABINO, 2008).

Este trabalho teve como objetivo principal delinear e obter micropartículas a partir do nerol, um composto bioativo promissor. Além disso, pretende caracterizar por meio de testes físico-químicos em micropartículas contendo o nerol, para subsidiar estudos futuros de avaliação de suas propriedades terapêuticas, como anti-helmíntica, atraente, repelente e até toxica a insetos e outros microrganismos.

Materiais e Métodos

Será realizado as seguintes pesagens: 1. Poli L- ácido láctico-co-ácido glicólico (PLGA): 0,225 g, 2.Polietilenoglicol (PEG): 0,125 g, 3.Nerol: 0,015 g, onde será solubilizado o PLGA em 3 mL de diclorometano e Nerol e 1,5 mL de diclorometano. Após solubilização do PLGA adicionar Nerol e lavar o béquer com o volume restante do solvente (1,5 mL). Deixará em agitação por 10 min e solubilizar o PEG em 2 mL de água Milli-Q. Em seguida será emulsificado o PEG no PLGA por 1 min á 8000 rpm, em banho de gelo e posteriormente será emulsificado a emulsão simples em PVA 1,25% por 30 seg, 8000 rpm em banho de gelo, logo após levará para evaporação do solvente. Seguidamente cobrirá o equipamento devido à luminosidade, após evaporação do solvente realizará a centrifugação para separação das micropartículas a 10000 rpm, por 10 min e em seguida realizar três lavagens com água Milli-Q e agitará em um vórtex as micropartículas cuidadosamente. No outro dia, realizará a centrifugação para separação das micropartículas a 10000 rpm por 10 min e logo após realizar duas a lavagens com água Milli-Q, onde será ressuspenso em trealose 1% (5 mL). Separar o volume em dois tubos de penicilina e cobrir com papel alumínio e filme plástico (fazer os furinhos para liofilização). Após isso colocar no freezer branco identificado para liofilização.

Resultados Esperados

O nerol, um monoterpeno extraído do óleo essencial de plantas medicinais, apresenta baixa solubilidade e diversas atividades farmacológicas descrita na literatura. Com isso é pretendido o melhoramento solubilidade deste composto e realizar vetorização do nerol em micropartículas. Com isso serão avaliadas as características físico-químicas do produto obtido. Estes estudos subsidiarão estudos futuros de avaliação da atividade antihelmíntica desse composto bioativos.

Referências

BAPTISTELLA, L. Preparação do (+)- α -terpineol a partir do (+)-limoneno: monoterpenos de odor agradável em um projeto para química orgânica experimental. **Química Nova**, v. 32, p. 1069-71, 2009.

CHAVES, T.P. Lamedor: um Conhecimento Popular em Abordagem Científica. **Revista de Biologia e Farmácia BioFar**, v. 2, n. 1, 2008.

PERRIRA, M; CRUZ, L; RÉ, M.I. Micropartículas Secas Contendo Fármaco Modelo Lipofílico Preparadas a partir de Suspensão Aquosa: Estudo de Formulação. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 25, n. 2, p. 198-205, 2006.

PONS, J.R. **Suspensões e Formulações Tópicas Contendo Nanocápsulas e Micropartículas de Cetoconazol: Avaliação da Estabilidade e Atividade Antimicrobiana**. Dissertação (Mestrado Profissionalizante em Ensino de Física e Matemática) Centro Universitário Franciscano, Rio Grande do Sul, 2011.

PROBST, I.S. **Atividade Antibacteriana de Óleos Essenciais e Avaliação de Potencial Sinérgico**. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2012.

SABINO, E.B. **Desenvolvimento de Sistema de Vetorização a Base de Novo Derivado Tiofênico**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêutica) Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011.

Agradecimentos

FACID/DEVRY e ao LAPNEX/UFPI (Laboratório de Pesquisa em Neuroquímica Experimental).

CS23 - Desenvolvimento de uma formulação farmacêutica sólida a partir de epoxilimoneno

Julyanna Maciel Martins (IC)^{1*}; Antonia Amanda Cardoso de Almeida²; Rivelilson Mendes de Freitas (PQ)³

1. Universidade Federal do Piauí – PIBIT/UFPI
2. Universidade Federal do Piauí – Programa de Pós-graduação em Biotecnologia – RENORBIO
3. Universidade Federal do Piauí - Curso de Graduação em Farmácia

*julyanna.maciel@hotmail.com

Palavras-chave: Antidepressivo. Bioproduto. Cápsulas. Limoneno. Semissintético.

Resumo

Na literatura há diversos estudos que demonstram as ações de terpenóides sobre o Sistema Nervoso Central, desse modo, o limoneno e seus derivados podem ser utilizados para diversos fins, principalmente como ação antidepressiva. O projeto pretende fornecer subsídios, particularmente na área dos transtornos depressivos, de maneira aprofundada, para o desenvolvimento de novos alvos terapêuticos e melhoria da morbidade e do sofrimento individual e familiar associado à depressão além de desenvolver uma formulação farmacêutica sólida a partir de um derivado semissintético do limoneno, baseado em estudos não clínicos objetivando investigar uma possível atividade em nível do SNC em modelos experimentais de depressão e verificar a existência de uma relação estrutura-atividade da substância estudada em roedores. Possibilitando a descoberta de novas substâncias com capacidade terapêutica baseada nos compostos estudados. Serão utilizados camundongos (*Mus musculus*) da linhagem Swiis, albinos, machos e fêmeas, para o teste do nado forçado. Para caracterização das substâncias ativas serão usados os seguintes métodos: Análise Térmica por Espectroscopia de Infravermelho (IV), Calorimetria Exploratória Diferencial

(DSC), Análise Térmica por Termogravimetria (TGA) e Estudo de Solubilidade. Os resultados serão expressos como a média e erro padrão ou porcentagem e analisados estatisticamente utilizando o teste de Análise de Variância (ANOVA) com uma classificação (one-way), seguido do Teste de Dunnet e teste t-Student-Newman-Kewls com *post-hoc* teste.

Introdução

O Brasil encontra-se em uma situação geográfica privilegiada, o que, por si só, já justifica a pesquisa de substâncias naturais derivadas de plantas no tratamento de vários distúrbios (NOGUEIRA et al., 1998). Como alternativas para produção de novos fármacos, modificações estruturais podem ser propostas, em um processo de biotransformação de compostos orgânicos para a obtenção de grande diversidade de moléculas, havendo, assim, um aumento da perspectiva de novos fitomedicamentos para o tratamento clínico de diversas doenças que acometem a saúde humana e/ou animal (CARVALHO et al., 2003). As transformações dos terpenos podem ser realizadas por meio de processos catalíticos envolvendo inúmeros tipos de reações como isomerização, hidrogenação, carbonilação, oxidação, metátese, dimerização e outras. As metodologias citadas são utilizadas normalmente para adicionar maior eficácia ou menor toxicidade aos monoterpenos (COSTA et al., 2011).

Os psicofármacos representam uma das mais importantes classes de medicamentos e estão presentes na vida diária de boa parcela da população mundial. A importância atribuída a esses agentes químicos pode ser creditada ao seu inestimável valor terapêutico, o qual resulta em efeitos fisiológicos e psicológicos específicos que possibilitam aos seus usuários terem uma vida relativamente normal (ALMEIDA, 2006). As hipóteses etiopatológicas das doenças mentais são originadas a partir de estudos em animais sobre os efeitos de drogas sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). Os experimentos em animais, embora sofram as restrições inerentes ao fato de que as características dos transtornos humanos, não são passíveis de reprodução fidedigna, são responsáveis, em grande parte, pelo que se sabe atualmente sobre os efeitos dos psicofármacos em diversas etapas dos processos de transmissão sináptica. Os modelos experimentais de animais tentam estabelecer um paralelo entre os efeitos comportamentais induzidos pelos psicofármacos com os sinais clínicos e/ou neurofisiológicos em humanos, visando contribuir para a elucidação das bases etiológicas das várias doenças mentais (GORENSTEIN; SCAVONE, 1999).

Na literatura há diversos estudos que demonstram as ações de terpenóides sobre o Sistema Nervoso Central (PASSOS et al., 2009; GONÇALVES et al., 2010). Dentre estas moléculas o limoneno é um dos constituintes de óleos essenciais presente em mais de 300 espécies de vegetais. Além disto, dois de seus enantiômeros são os mais abundantes monoterpenos na natureza, bem como sua ampla utilização pode ser justificada pela baixa estabilidade do anel presente na molécula e a facilidade deste em reagir com ácidos e bases, havendo mudanças conformacionais em sua estrutura. O isômero R-(+)-limoneno é encontrado em óleos essenciais provenientes da casca de frutas cítricas, principalmente laranja, em concentrações superiores a 90% em relação aos demais terpenos. Devido ao fato de ser facilmente disponibilizado como resíduo da indústria de sucos cítricos e obtido de fonte renovável, indústrias como a farmacêutica, química e alimentícia têm demonstrado grande interesse pelos derivados oxigenados do limoneno (CASUSCELLI et al., 2004).

Desenvolver uma formulação farmacêutica sólida a partir de um derivado semissintético do limoneno, bem como estudo não clínico para investigar a possível atividade em nível do Sistema Nervoso Central em modelos experimentais de depressão e verificar a existência de uma relação estrutura-atividade da substância estudada em roedores.

Materiais e Métodos

Animais

Serão utilizados camundongos (*Mus músculos*) 20-25 g e dois meses de idade da linhagem *Swiiss*, albinos, machos e fêmeas, provenientes do Biotério Central de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí (UFPI).

Avaliação do efeito antidepressivo do epóxilimoneno

Para a realização do teste comportamental do nado forçado (PORSOLT et al., 1987) será utilizado um tanque de 22 cm de diâmetro e 40 cm de altura contendo água fresca a 26 ± 1 °C até a metade do tanque. Os camundongos serão divididos em sete grupos de sete camundongos e tratados conforme os protocolos experimentais já citados. Após 30 minutos dos tratamentos, os animais serão colocados, um por vez, no tanque onde o tempo de imobilidade, em segundos, será registrado durante cinco minutos. O animal será considerado imóvel quando permanecer flutuando na água, fazendo apenas movimentos suaves necessários para manter a cabeça acima da água.

Caracterização a matéria prima

Para caracterização da substância ativa serão usados os seguintes métodos: Análise Térmica por Espectroscopia de Infravermelho (IV), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Análise Térmica por Termogravimetria (TGA) e Estudo de Solubilidade (MORAES; RODRIGUES, 2007).

Analises estatísticas

Os resultados serão expressos como a média e erro padrão ou percentagem e analisados estatisticamente utilizando o teste de Análise de Variância (ANOVA) com uma classificação (one-way), seguido do Teste de Dunnet e teste t-Student-Newman-Kewls com *post-hoc* teste. (REANMONGKOL et al., 1994).

Resultados Esperados

Obter uma formulação farmacêutica sólida de administração oral, a partir de um derivado semissintético do limoneno com possíveis efeitos no Sistema Nervoso Central agindo principalmente como antidepressivo.

Referências

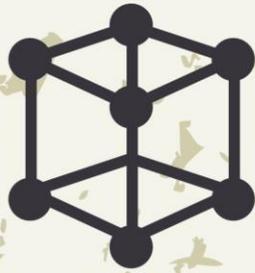
- ALMEIDA, R.N. **Psicofarmacologia: fundamentos práticos**, 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
- CASUSCELLI, S.G; CRIVELLO, M.E; PEREZ, C.F. Effect of reaction conditions on limonene epoxidation with H₂O₂ catalyzed by supported Keggin heteropolycompounds. **Applied Catalysis A: General**, v. 274, p. 115-122, 2004.
- CARVALHO, C.C.C.R.; FONSECA, M.M.R. Towards the bio-production of *trans*-carveol and carveone from limonene: induction after cell growth on limonene and toluene. **Tetrahedron: Asymetry**, v. 14, n. 24, p. 3925-3931, 2003.
- GONÇALVES, J.C.R. ALVES, A.M.H.; ARAÚJO, A.E.V.; CRUZ, J.S.; ARAÚJO, D.A.M. Distinct effects of carveone analogues on the isolated nerve of rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 645, p.108-112, 2010.
- GORENSTEIN, C.; SCAVONE, C. Advances in psychopharmacology: mechanism of action of psychoactive drugs today. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 21, p. 64-72, 1999.
- MORAES, R.H. **Avaliação do comportamento de flavonas e flavonóis frente à celulose microcristalina em estado sólido**. Porto Alegre. 190. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2007.
- NOGUEIRA, E.; ROSA, G.J.; HARAGUCHI, M.; VASSILIEFF, V.S. Anxiolytic effect of *Rubus brasiliensis* in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 61, p. 111-117, 1998.
- PASSOS, C.S; ARBO, M.D.; RATES, S.M.K.; POSER, G.L. Terpenóides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 140-149, 2009.

REANMONGKOL, W.; MATSUMOTO, K.; WATANABE, H.; SUBHADHIRASAKUL, S.; SAKAI, S.I. Antinociceptive and antipyretic effects of alkaloids extracted from the stem bark of *Hunteria zeylanica*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 17, p. 1345-1350, 1994.

RODRIGUES, P.O., CARDOSO, T.F.M., SILVA, M.A.S, MATOS, J.R. Aplicação de Técnicas Termoanalíticas na Caracterização, Determinação da Pureza e Cinética de Degradação da Zidovudina (AZT). **Acta Farmacêutica Bonaerense**. v. 43, n. 3, p 386-395, 2007.

Agradecimentos

A Universidade Federal do Piauí e ao Laboratório de Pesquisa em Neuroquímica Experimental.



Realizadores

Patrocinadores

