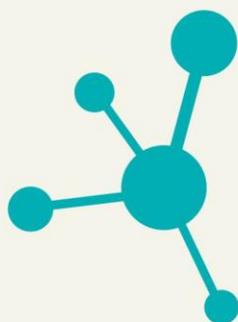


III WORKSHOP

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 4

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

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.

80 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-INOFAR (<http://www.inct-inofar.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

CS24 - Desenvolvimento de lipossomas com γ -terpineno e ação cardiovascular em <i>Rattus norvegicus</i>	9
CS25 - Avaliação toxicológica, genotóxica e da atividade antioxidante do ferulato de isopentila ...	14
CS26 - Efeitos de vitaminas antioxidantes nos danos induzidos ao DNA por antineoplásicos	18
CS27 - Síntese e avaliação da atividade de derivados hidro hidrooxazinas.....	22
CS28 - Exposição ocupacional de trabalhadores ao formaldeído e outros solventes.....	25
CS29 - Intolerância à lactose: epidemiologia, manifestações clínicas, diagnóstico e tratamentos .	27
CS30 - Avaliação do efeito cardioprotetor de uma saponina esteroideal	31
CS31 - Avaliação da toxicidade aguda do (-)-mirtenol em ratos Wistar	34
CS32 - Utilização do fruto <i>Morinda citrifolia</i> “Noni” como agente benéfico para a saúde.....	38
CS33 - Avaliação da atividade antitumoral e toxicológica da espécie vegetal <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> Benth.....	43
CS34 - Desenvolvimento de complexos de inclusão entre ciclodextrinas modificadas e riparina ..	47
CS35 - Avaliação pré-clínica da #GB12 para a obtenção de um bioproduto para o tratamento da esquistossomose	50
CS36 - Efeitos metabólicos do consumo excessivo de frutose.....	56
CS37 - Avaliação do processo cicatrizante pela utilização do mel de abelha	58
CS38 - Atividade farmacológica de um composto isolado de <i>Guatteria friesiana</i> na doença de Alzheimer	62
CS39 - Monoterpenos anticonvulsivantes: uma prospecção tecnológica	65
OR01 - Avaliação do potencial antioxidante e mecanismo de ação ansiolítico do LCNa.....	73
OR02 - Avaliação das propriedades farmacológicas de um derivado do ácido ferúlico	77
OR03 - Ensaios não clínicos com o aceturato de diminazeno: uma abordagem contra o agente infeccioso <i>Schistosoma mansoni</i> Sambon	82

CS24 - Desenvolvimento de lipossomas com γ -terpineno e ação cardiovascular em *Rattus norvegicus*

Kássia Karoline Leal Barros Gomes (PG)^{1*}; Aldeidia Pereira De Oliveira (PQ)²; Hercilia Maria Lins Rolim (PQ)³

1. Universidade Federal do Piauí – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
2. Universidade Federal do Piauí – Prof. Dra Núcleo em Pesquisa de Plantas Medicinais
3. Universidade Federal do Piauí – Prof. Dra do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

Palavras-chave: Lipossomas. γ -terpineno. Anti-hipertensivo.

Resumo

Os óleos essenciais são metabólitos secundários voláteis e caracterizam por serem misturas complexas de compostos orgânicos, são cada vez mais estudados pelas diversas variedade de propriedades encontradas. Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis lipofílicas, na sua maioria odoríferas e líquidas e possuem uma variedade de propriedades biológicas como: analgésicas, anticonvulsivantes, anti-inflamatórias e cardiovasculares. Por ser um composto de baixa solubilidade em água e tendo assim sua absorção dificultada, propõe-se o uso de carreadores para contornar essa dificuldade. Os carreadores de escala manométrica têm mostrado bons resultados. São aplicados para melhorar o perfil farmacocinético dos fármacos que têm limitada aplicabilidade farmacêutica, em particular apresentam tempo elevado no sangue facilitando a entrega da droga, de forma eficiente, para o seu sítio alvo-específico. O projeto visa encapsular em lipossomas o γ -terpineno, nos quais serão caracterizados quanto as suas propriedades físico-químicas, estabilidade e eficácia na encapsulação do fármaco. As melhores preparações caracterizadas serão testadas em modelos animais. Como não existem estudos que relatem as atividades do γ -terpineno isolado sobre o sistema cardiovascular, propomos avaliar a influência dessa biomolécula sobre o sistema cardiovascular de ratos e, posterior incorporação em nanossistemas carreadores como forma de reduzir a baixa solubilidade e aumentar a biodisponibilidade. Desta forma serão estudados os efeitos da administração endovenosa da formulação lipossoma- γ -terpineno em modelos animais e avaliados os parâmetros bioquímicos.

Introdução

Os óleos essenciais, metabólitos secundários voláteis que se caracterizam por serem misturas complexas de compostos orgânicos, são cada vez mais estudados pelas diversas atividades identificadas. O γ -terpineno é um hidrocarboneto terpênico amplamente distribuído como um constituinte de óleos essenciais isolados a partir de uma variedade de fontes vegetais (ROMERO, 2011). Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. São produtos naturais que possuem uma variedade de propriedades biológicas como: analgésicas (ALMEIDA et al., 2003), anticonvulsivantes, (DE SOUSA et al. 2006) anti-inflamatórias (JUERGENS et al., 2003) e cardiovasculares (GUEDES et. al, 2002; BASTOS et al. 2009).

Os níveis de γ -terpineno encontrados em óleos essenciais cítricos é de 21,3% (SAWAMURA et al, 2000). Têm sido relatados como funções fisiológicas do γ -terpineno, atividade sequestradora de radicais *in vitro* (CHOI et al, 2000) e efeito antioxidante sobre o LDL *in vitro* (GRASSMANN et al, 2001). O γ -terpineno apresenta uma poderosa ação antioxidante capaz de inibir a oxidação do LDL (mau colesterol), impedindo assim que assim cause a arteriosclerose e complicações cardíacas posteriores. γ -terpineno (presente no óleo do limão), oxida a p-cimeno (ROMERO, 2011).

O estresse oxidativo produzido por radicais livres tem sido implicado na patogênese e progressão de uma ampla variedade de doenças clínicas como câncer, doenças cardiovasculares, inflamação, epilepsia, diabetes e doença de Alzheimer. O γ -terpineno possui uma potente atividade antioxidante quando comparado ao α -tocoferol (um potente antioxidante natural) e a outros fenóis. Esse comportamento foi atribuído à presença de grupos metileno fortemente ativos na molécula, o que também reflete na lipofilicidade (ROMERO, 2011).

Os carreadores de escala nanométrica têm mostrado bons resultados e podem ser úteis para ultrapassar dificuldades na encapsulação de fármacos insolúveis, fotossensíveis e citotóxicos. São aplicados para melhorar o perfil farmacocinético dos medicamentos que têm limitada aplicabilidade farmacêutica, em particular apresentam tempo elevado no sangue facilitando a entrega da droga, de forma eficiente, para o seu sítio alvo-específico (ANCHIÊTA-JUNIOR et al., 2014; MORENO et al., 2014). Os lipossomas são vesículas em que o núcleo hidrófilo interior é fechado por da bicamada fosfolipídica relativamente impermeável. Eles têm recebido atenção generalizada como um sistema de suporte para compostos terapeuticamente ativos, devido às suas características únicas, como a capacidade de incorporar medicamentos hidrofílicos e hidrofóbicos, boa compatibilidade, baixa toxicidade, falta de ativação do sistema imune e entrega prevista para compostos bioativos para o local de ação (MOREIRA, 2013).

Fármacos lipofílicos são geralmente quase completamente retidos nas bicamadas lipídicas dos lipossomas, e, uma vez que são fracamente solúveis em água, problemas como perda da droga encapsulada é raramente encontrados. Drogas hidrofílicas podem tanto serem aprisionadas no interior dos núcleos aquosos de lipossomas como estarem localizados na fase lipofílica externa, dependendo da composição e da técnica de obtenção utilizada. A aplicação dos lipossomas por via endovenosa promove um prolongado tempo de circulação no sangue, resultando em acúmulo do fármaco nos sítios-alvo de ação e aumento da eficácia terapêutica (SPUCH E NAVARRO, 2011).

O projeto visa encapsular em lipossomas o γ -terpineno, nos quais serão caracterizados quanto as suas propriedades físico-químicas, estabilidade e eficácia na encapsulação do fármaco. Como não existem estudos que relatem as atividades do γ -terpineno isolado sobre o sistema cardiovascular, propomos avaliar a influência dessa biomolécula sobre o sistema cardiovascular de ratos normotensos e posterior incorporação desta molécula sistemas lipossomais. Desta forma serão avaliados os efeitos da administração endovenosa do γ -terpineno livre e na forma formulação nanocarreada que apresentar as melhores características físico-químicas na fase farmacotécnica e posterior testes dos parâmetros bioquímicos.

Material e Métodos

O método escolhido para obtenção das formulações lipossomais contendo γ -terpineno é o método da hidratação do filme lipídico (ANCHIÊTA-JUNIOR et al., 2014; MORENO et al., 2014). Em resumo, serão produzidos lipossomas contendo o fármaco teste e fosfatidilcolina de soja, colesterol e/ou fosfolipídeos carregados positivos ou negativamente.

Para avaliação da estabilidade acelerada e em longo prazo das formulações serão utilizados testes que avaliarão as condições de estresse a que as formulações serão submetidas quando da sua fabricação, transporte e armazenamento. Os parâmetros avaliados serão: aspecto macroscópico, a variação do pH, tamanho das partículas e índice de polidispersão (PDI) (ANCHIÊTA-JUNIOR et al., 2014; MORENO et al., 2014; LIRA et al., 2009).

O conteúdo do princípio ativo na formulação será determinado usando cromatografia de alta eficiência (HPLC), onde os nanossistemas serão diluídos em uma mistura de seus solventes de origem e submetidos ao processo de sonicação para dissolução dos lipossomas. (LIRA et al., 2009). A eficiência de encapsulação será determinada após a aplicação da técnica ultrafiltração. A concentração de princípio ativo encapsulado será determinado usando HPLC, onde a taxa de encapsulação será calculada em relação ao conteúdo inicial dosado nas formulações, segundo descrito em LIRA et al., (2009).

Para os testes clínicos serão utilizados em todos os experimentos ratos Wistar fêmeas (*Rattus norvegicus*) com peso entre 230 a 250 gramas, provenientes do Biotério do Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais da Universidade Federal do Piauí (UFPI) Todos os experimentos desenvolvidos neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animais da UFPI (CEEA/UFPI nº 008/12). Os procedimentos referentes à eutanásia dos animais serão em conformidade com a Resolução Nº 1000, de 2012 do Conselho Federal de Medicina Veterinária – CFMV, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Rozeverter Moreno Fernandes (CFMV-PI N0 0290).

O teste de toxicidade aguda será realizado segundo protocolo experimental Guideline 423 (OECD, 2001) e desenvolvido seguindo normas de cuidados com animais de laboratório e de bem estar animal e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA 008/12) da Universidade Federal do Piauí.

Os testes bioquímicos serão realizados segundo Cartágenes (2009) com modificações. Os parâmetros bioquímicos serão determinados no analisador Biopluss 2000® para os testes: glicose, AST (Aspartato amino-transferase), ALT (Alanina amino-transferase), colesterol, triglicérides, GSH (L-g-glutamil-L-cisteinilglicina). Os testes bioquímicos de sódio e potássio serão determinados no analisador de íon seletivo Easylite®, segundo Cartágenes (2009) modificado. Os parâmetros serão avaliados por três métodos diferentes utilizando kits comerciais. Por métodos enzimáticos serão determinados: glicose, uréia, creatinina, colesterol, triglicérides. Por métodos cinéticos para uréia, creatinina, AST, ALT, catalase e GSH. Por método de íon seletivo verificam-se os valores de sódio e potássio. Após esse procedimento os órgãos (coração, pulmão, fígado e rins) serão removidos, pesados e analisados morfológica e macroscopicamente.

Serão realizados experimentos *in vivo* para avaliação da atividade cardiovascular através de uma cirurgia para introdução da cânula arterial e venosa. Será realizada após aplicação de associação anestésica de cetamina (50 mg/kg) e xilazina (14 mg/kg). As ratas terão os membros fixados e a área inguinal da perna esquerda tricotomizada, desinfetada com 70% de etanol e exposta para a realização da incisão na pele de 3 a 4 mm paralelo ao ligamento inguinal. Após essa abertura será possível visualizar a artéria femoral, veia e nervo. Uma vez identificadas, essas estruturas serão separadas dos tecidos conectivos por uma fita colocada por sob o vaso. O pequeno orifício será feito no vaso e com o auxílio de uma pinça será possível à introdução da cânula. Os cateteres de polietileno (PE), um segmento de PE-10 (diâmetro interno e externo de 0,28 e 0,61 mm, respectivamente), soldado a um segmento de PE-50 (diâmetro interno e externo de 0,58 e 0,96 mm, respectivamente), serão implantados na aorta abdominal e na veia cava inferior, via artéria e veia femoral esquerda, respectivamente. Após a inserção e fixação, os cateteres serão tunelizados subcutaneamente e exteriorizados através de uma incisão na região cervical posterior do animal (scapulae). (BERNDT et al., 2012).

Para Avaliar o efeito da formulação sobre a pressão arterial e frequência Cardíaca em ratos as medidas de PA e FC será realizada 24 h após o procedimento cirúrgico pela conexão do cateter arterial a um transdutor de pressão pré-calibrado (Statham P23 ID; Gould, Cleveland, OH, EUA) acoplado a um amplificador (Modelo TBM-4M, WPI, Sarasota, FL, EUA) e conectado a um micro-computador equipado com placa conversora analógico-digital (CIO-DAS16/JR, Computer Boards, Inc., Mansfield, MA, EUA) e com o programa AQCAD versão 2.3.9 (AVS-PROJETOS-SP). A frequência escolhida para amostragem dos dados será de 500 Hz. Para cada ciclo cardíaco, o computador calcula os valores de pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM), e o intervalo de pulso (referido como frequência cardíaca). (SABINO et al., 2013). O cateter venoso será implantado para a administração das doses do lipossoma contendo γ -terpineno. As medidas de PA e FC serão realizadas 24 h após o procedimento cirúrgico pela conexão do cateter arterial a um transdutor de pressão pré-calibrado (Statham P23 ID; Gould, Cleveland, OH, EUA) acoplado a um amplificador (Modelo TBM-4M, WPI, Sarasota, FL, EUA) e conectado a um micro-computador equipado com placa conversora analógico-digital (CIO-DAS16/JR, Computer Boards, Inc., Mansfield, MA, EUA) e com o programa AQCAD versão 2.3.9 (AVS-PROJETOS-SP).

Na análise estatística os valores serão expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.) dos dados. As diferenças entre os grupos serão determinadas através da Análise de Variância (ANOVA), seguida, quando detectada diferença, pelo teste t-Student-Newman-Keuls com post hoc teste. O nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade será sempre $>$ a 5 %. Toda a análise será realizada no Programa estatístico GraphPadPrism 5.03.

Resultados Esperados

O presente projeto de mestrado irá aplicar a tecnologia de incorporações em nanocarreadores utilizando lipossomas. É esperado a obtenção de uma formulação lipossomal estável de boa eficiência de encapsulação com a perspectiva de melhorar a estabilidade da molécula do γ -terpineno e aumentar a sua solubilidade em meio aquoso que visa amplificar a sua absorção e biodisponibilidade, provavelmente reduzindo a dose necessária para veiculação, diminuindo possivelmente os efeitos de toxicidade. Os estudos de DL_{50} e parâmetros bioquímicos e hematológicos e estudos de atividade cardiovascular do lipossoma de γ -terpineno em modelos de camundongos serão importantes para o futuro delineamento de novos fármacos e espera-se verificar a atividade cardioprotetora dessa formulação.

Referências

- ALMEIDA, R. N.; MOTTA, S. C.; LEITE, J. R. Óleos essenciais com propriedades anticonvulsivantes. **Boletim Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas**, v. 2, p. 3–6, 2003.
- ANCHIÊTA-JUNIOR, J. J. L.; LIMA, H. R. S.; CAVALCANTE, J. M. F.; LEITE, J. R. S. A.; SANTOS-MAGALHÃES, N. S.; ROLIM, H. M. L. Nanoencapsulação de um peptídeo isolado de anuros: citotoxicidade in vitro em células tumorais humanas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 1, p. 119-125, 2014.
- BASTOS, J. F.; MOREIRA, I. J.; RIBEIRO, T. P.; MEDEIROS, I. A.; ANTONIOLLI, A. R.; DE SOUSA, D. P.; SANTOS, M. R. Hypotensive and Vasorelaxant Effects of Citronellol, a Monoterpene Alcohol, in Rats. **Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology**, v. 106, n. 4, p. 331-7, 2010.
- BERNDT, K. A new method for repeated drug infusion into the femoral artery of mice. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 51, n. 6, p. 825-31, 2012.
- CHOI, H. S.; SONG, H.S.; UKEDA, H.; SAWAMURA, M. Radical-scavenging activities of citrus essential oils and their components: detection using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 4156-4161, 2000.
- DE SOUSA, D. P.; GONÇALVES, J. C.; QUINTANS-JUNIOR, L.; CRUZ, J. S., ARAÚJO DA, DE ALMEIDA RN. Study of anticonvulsant effect of citronellol, a monoterpene alcohol in rodents. **Neuroscience Letters**. v. 401, p. 231–235, 2006.
- JUERGENS, U. R.; DETHLEFSEN, U.; STEINKAMP, G.; GILLISSEN, A.; REPGES, R.; VETTER, H. Antiinflammatory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: A double-blind placebocontrolled trial. **Respiratory Medicine**. v. 97, p. 250–6, 2003.
- GUEDES, D. N.; SILVA, D. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; MEDEIROS, I. A. Muscarinic agonist properties involved in the hypotensive and vasorelaxing responses of rotundifolone in rats. **Planta Medica**, v. 68, p. 700-704, 2002.
- GRASSMANN, J.; SCHNEIDER, D.; WEISER, D.; ELSTNER, E. F. Antioxidative effects of lemon oil and its components on copper induced oxidation of low density lipoprotein. **Drug Research**. v. 51, p. 799-805, 2001.
- LIRA, M.C.B.; SIQUEIRA-MOURA, M.P.; ROLIM-SANTOS, H.M.L.; GALETTI, F. C. S.; SIMONI, A. R.; SANTOS, N. P.; EGITO, E.S.T.; SILVA, C.L.; TEDESCO, A.C.; SANTOS-MAGALHÃES, N. S. In vitro uptake and antimycobacterial activity of liposomal usnic acid formulation. **Journal of Liposome Research**, v. 19, p. 49-58, 2009.
- MORENO, L. C.; SILVA-OLIVEIRA, G. Z.; CAVALCANTI, I. M.; SANTOS MAGALHÃES, N. S.; ROLIM, H. M.; FREITAS, R. M. Development and evaluation of liposomal formulation containing nimodipine on anxiolytic activity in mice. **Pharmacology, biochemistry and behavior**, v. 116, p. 64-8, 2014.
- ROMERO, A. L.; ROMERO, R. B.; OLIVEIRA, A. L. de; OLIVEIRA, R. R. de; VIDA, J. B. **Efeito do óleo essencial de Thymus vulgaris no crescimento micelial e na germinação de esporos de Corynespora cassiicola**. Disponível em: <http://www.grupointegrado.br/concepar2011/?abctio=anais_resumo&id=641>. Acesso em: 20/05/2014.
- SABINO C.K.B.; FERREIRA-FILHO E .S.; MENDES M.B.; SILVA-FILHO J.C.; PONTE M.P.T.R.; MOURA L.H.P.; OLIVEIRA E.C.A.; QUINTANS-JUNIOR L.J.; SANTOS M.R.V.; OLIVEIRA R.C.M.; OLIVEIRA A.P. Cardiovascular effects induced by α -terpineol in hypertensive rats. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 28, n.5, p. 333–339, 2013.
- SAWAMURA, M.; SUN, S. H.; OZAKI, K.; ISHIKAWA, J.; UKEDA, H. Inhibitory effects of citrus essential oils and their components on formation of n-nitrosodimethylamine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 4868-4872, 2000.
- SPUCH C, NAVARRO C. Liposomes for Targeted Delivery of Active Agents against Neurodegenerative Diseases (Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease). **Journal of Drug Delivery**. v. 2011, 2011. doi:10.1155/2011/46967.

CS25 - Avaliação toxicológica, genotóxica e da atividade antioxidante do ferulato de isopentila

Marcela Rosado Drumond Taimo (PQ)^{1*}; Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante (PQ)²

1. Universidade Federal do Piauí – Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
2. Universidade Federal do Piauí – Professora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

*marcelardrumond@yahoo.com.br

Palavras-chave: Ácido Ferúlico. Antioxidante. Genotoxicidade. Toxicidade Aguda.

Resumo

A introdução de novos fármacos na terapêutica é necessária para o aperfeiçoamento do tratamento de doenças. O ácido ferúlico é um ácido presente na maioria dos grãos, vegetais e frutos, com função antioxidante (indução de enzimas de defesa), associado à redução do risco de doenças. Um novo derivado ferulato sintetizado foi avaliado quanto ao seu potencial toxicológico e genotóxico, e sua atividade antioxidante. O ferulato de isopentila apresentou atividade de defesa antioxidante celular, demonstrou ser bem tolerado no teste de toxicidade aguda e mostrou-se genotóxico por meio do ensaio cometa. Assim, posteriores investigações são necessárias para a determinação da sua segurança, como também a aplicação de novos testes para confirmar a atividade antioxidante, como um composto com capacidade farmacológica.

Introdução

A introdução de novos fármacos na terapêutica é necessária para o aperfeiçoamento do tratamento de doenças já existentes ou recém-identificadas ou, ainda, para a implementação de tratamentos mais seguros e eficazes (OLIVEIRA et al., 2008). O desenvolvimento de um fármaco pode surgir através de experimentos com produtos naturais ou sintéticos, que tenham similaridade com compostos, com reconhecida atividade para outras doenças ou através de alvos metabólicos específicos para uma determinada célula ou órgão (FIOCRUZ, 2009).

De acordo com um montante continuamente crescente de provas, os efeitos benéficos à saúde, da fitoterapia e dos produtos modernos derivados de plantas medicinais são atribuídos aos metabólitos secundários (KORKINA et al., 2011). O ácido ferúlico (AF) é um fenilpropanóide (exemplo de metabólito secundário) amplamente distribuído entre as plantas. É classificado por um grupo hidroxila aromático e é um representante do grupo dos ácidos hidroxinâmicos. Possui efeitos antioxidantes conhecidos (HYOGO et al., 2010).

Nos estágios iniciais de desenvolvimento de novos fármacos tem sido dada grande ênfase aos estudos de genotoxicidade, uma vez que, dentre as várias reações adversas que um medicamento pode causar, a ocorrência de efeitos genotóxicos e carcinogênicos não pode ser excluída (BRAMBILLA; MARTELLI, 2009).

Agentes genotóxicos interagem quimicamente com o material genético, formando adutos, alteração oxidativa ou mesmo quebras na molécula de DNA. Quando a lesão é fixada, provocando alterações hereditárias (mutações), que podem se perpetuar nas células filhas durante o processo de replicação, o agente é denominado mutagênico (REKHA et al., 2006; ABHILASH et al., 2009). As mutações podem alterar um único gene, bloquear os genes e perder os cromossomos. Mutações de pontos alteram a sequência do gene e são as alterações mais frequentes ao DNA e podem ser divididas em substituições de pares de bases, deleções e inserções (SŁOCZYŃSKA et al., 2014).

Um método para a medição de danos no DNA é a eletroforese em gel, conhecido como teste do cometa. Esta técnica é amplamente difundida como uma simples, sensível e rápida ferramenta para a avaliação de danos de DNA e seu reparo em células individuais. O Cometa é uma boa medida do potencial genotóxico mesmo em estágios iniciais de exposição (WIDZIEWICZ et al., 2012).

O estudo objetivou avaliar os possíveis efeitos toxicológicos e genotóxicos em camundongos, e o potencial antioxidante *in vivo*, de um composto sintético derivado do ácido ferúlico.

Material e Métodos

CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM LINHAGENS DE *Saccharomyces cerevisiae*

Para avaliação da capacidade antioxidante *in vivo* do composto derivado ferulato frente aos danos oxidativos induzidos pelo peróxido de hidrogênio, foram utilizadas linhagens de *S. cerevisiae* proficiente e deficientes em sistema de defesa antioxidante. A metodologia utilizada foi do disco central, segundo Fragoso e colaboradores (2008), com modificações. Neste estudo, três tipos de tratamento antioxidante foram realizados utilizando as linhagens em fase estacionária (2×10^8 células/mL) de *S. cerevisiae*: pré-tratamento, co-tratamento e pós-tratamento. Após 48 horas de incubação em estufa a 30°C, foi medido o halo de inibição do crescimento em milímetros (mm) desde a margem do disco de papel-filtro para o início do crescimento celular.

TESTES DE TOXICIDADE E GENOTOXICIDADE

Animais e droga

Foram utilizados camundongos machos e fêmeas albinos (*Mus musculus*) variedade *Swiss*, adultos com 2 meses de idade, com peso variando de 25-30 gramas, provenientes do Biotério Central do Departamento de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí. Durante todos os experimentos, os animais foram aclimatados a 25 ± 2 °C e mantidos em gaiolas de acrílico de 30 x 30 cm² com ciclo claro/escuro alternado de 12 horas, receberam ração padrão tipo Purina e água *ad libitum*. Os experimentos foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPI sob o número 030/13. O ferulato de isopentila (FI) foi previamente emulsionado em Tween 80 0,05% (Sigma Chem. Co., St. Louis, MO, EUA) dissolvido em solução salina 0,9%, e administrado por via oral, nas doses 1000, 2000 e 3000 mg/Kg e via intraperitoneal, nas doses 1000, 1500 e 2000 mg/Kg. Os controles receberam veículo com o mesmo volume e através da mesma via que os outros grupos tratados.

Estudo da toxicidade aguda em camundongos

Neste estudo os animais foram divididos em três grupos de 20 camundongos. Cada grupo foi dividido em quatro subgrupos com cinco animais (de acordo com o sexo e a via de administração). Após jejum de 12 horas, receberam, por via oral (cânula orogástrica) doses do derivado ferulato de 1000, 2000 e 3000 mg/kg, e por via intraperitoneal doses do ferulato de 1000, 1500 e 2000 mg/kg. Em seguida, os animais foram colocados em gaiolas com ração e água *ad libitum* e o comportamento geral foi monitorizado com 30 minutos, 1 hora, 2 horas 3 horas, 4 horas e 24 horas, e, em seguida, de 48 em 48 horas, para um total de 14 dias. Os parâmetros comportamentais foram observados segundo teste hipocrático descrito por Malone e Robichaud (1962). Os sinais de toxicidade ou morte foram monitorizados. Para a via intraperitoneal, a DL₅₀ foi determinada.

Análise dos parâmetros bioquímicos e hematológicos

Para esta análise foram utilizados quatro grupos por via oral: CN (controle negativo, solução salina), FI₁ (1000 mg/kg), FI₂ (2000 mg/kg), FI₃ (3000 mg/kg); e com quatro grupos por via intraperitoneal: CN (controle negativo, solução salina), FI₁ (1000 mg/Kg), FI₂ (1500 mg/kg), FI₃ (2000 mg/kg). Cada grupo foi composto por 05 camundongos machos. Após 24 horas da administração, os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (40 mg/kg de peso, i.p.) e a coleta do sangue foi realizada por punção cardíaca ventricular. O sangue foi acondicionado em dois tipos de tubo: um com anticoagulante EDTA (Laborlab[®]) para determinação dos parâmetros hematológicos, e o outro, sem anticoagulante, para obtenção do soro para avaliação dos parâmetros bioquímicos.

Para análise bioquímica, o material foi centrifugado a 3500 rpm durante 10 minutos e, em seguida, determinados os parâmetros glicose, uréia, creatinina, aspartato aminotransferase (AST), alanina

aminotransferase (ALT), colesterol total, triglicerídeos, fosfatase alcalina e ácido úrico. Os ensaios foram realizados em aparelho automático Labmax 240 com sistemas comerciais da Labtest®.

Os valores para eritrócitos, leucócitos, plaquetas, hemoglobina, hematócrito e os índices hematimétricos volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram determinados imediatamente após a coleta através do analisador automático de células hematológicas Advia 120/Hematology Siemens. A contagem diferencial de leucócitos foi realizada em extensões coradas com May-Grünwald-Giemsa. Em cada ensaio, 100 células foram analisadas e contadas (MALONE, 1977; AL-HABORI et al., 2002).

Atividade locomotora

Este experimento foi realizado com os mesmos grupos de camundongos realizados no teste de toxicidade aguda, e tratados conforme os protocolos experimentais. A atividade motora dos animais foi verificada por meio de um campo aberto feito de acrílico (paredes transparentes e piso preto, 30 x 30 x 15 cm) e dividido em 9 quadrantes iguais (ARCHER, 1973). Após sete dias do tratamento, os animais, um por vez, foram colocados no centro do campo aberto onde o número de cruzamentos com as quatro patas (atividade locomotora espontânea; ALE), número de comportamento de autolimpeza (*grooming*) e o número de levantamentos (*rearing*), sem encostar-se à parede, foram observados durante o tempo de 5 minutos. Esses parâmetros avaliam o grau de sedação ou medo (ansiedade) e pode ser alterado pelo uso de drogas com atividade ansiolítica ou ansiogênica (MARQUES et al., 2013).

Teste cometa do sangue periférico e medula óssea

O teste cometa foi realizado com três grupos por via oral: CN (controle negativo, solução salina), FI (3000 mg/mL) e CP (controle positivo, ciclofosfamida); e com três grupos por via intraperitoneal: CN (controle negativo, solução salina), FI (1500 mg/mL), CP (controle positivo, ciclofosfamida). Cada grupo foi composto por três camundongos. Após 24 horas da administração, foram realizados os testes experimentais. O ensaio cometa foi realizado em condições alcalinas, pH>13, de acordo com Tice e colaboradores (2000), modificado por Da Silva e colaboradores (2000).

O sangue foi obtido por punção capilar da calda e da medula óssea (extraída do fêmur do animal). Após coleta foram transferidos 5 µL do sangue e misturados com 95 µL de 0,75% de agarose "lowmelling" e colocadas em forma de gotas sobre as lâminas com pré-cobertura de agarose padrão e cobertas com lamínulas adequadas. Duas lâminas foram preparadas para cada animal de cada grupo. Após isso, o gel foi deixado solidificar em temperatura ambiente, mantendo as lâminas na posição horizontal, em seguida as lamínulas foram cuidadosamente retiradas. Estas foram postas em cubetas com solução de lise gelada e protegida da luz, por pelo menos 48 horas ou no máximo uma semana, em geladeira. Após a lise, as lâminas foram acondicionadas em cubeta horizontal com tampão de eletroforese, ficando em repouso por 20 minutos. Depois, foram submetidas à eletroforese a 25 V e 300 mA por 15 minutos. Após o término, as lâminas foram retiradas cuidadosamente da cuba eletroforética.

A observação foi realizada em microscópio óptico no aumento de 100 x com óleo de imersão. Foram analisadas 100 células por animal para determinação da frequência e índice de dano.

Resultados e Discussão

Foram verificados sintomas de toxicidade para todas as doses testadas, tanto por via oral, como intraperitoneal de ferulato de isopentila, após doses únicas no teste de toxicidade aguda. A manifestação comum a todos os grupos foi diminuição da atividade geral. A mortalidade só foi evidenciada após administração intraperitoneal, que se mostrou crescente com o aumento da dose. A dose letal 50% (DL₅₀) calculada da administração intraperitoneal foi 1494,54 mg/kg. Não houve a determinação da DL₅₀ por via oral, pois a dose máxima permitida foi testada e não causou mortalidade.

O sangue é um índice importante da condição fisiológica e patológica em seres humanos e animais e a parâmetros medidos são geralmente as contagens totais de glóbulos vermelhos e seus índices, hemoglobina, hematócrito, o total de contagem de células brancas do sangue e suas contagens diferenciais, contagem de plaquetas e parâmetros bioquímicos, como testes de função hepática e renal (ADENEYE et al., 2010; ODUOLA et al., 2007). No presente estudo, os resultados mostraram que não houve diferença

significativa dos parâmetros bioquímicos e hematológicos entre os grupos tratados com ferulato de isopentila e o veículo, após 24 horas em camundongos machos. Quando observadas diferenças significativas, não houve associação com condição patológica, visto que houve redução dos parâmetros bioquímicos em relação ao controle.

Nenhum dos três parâmetros no teste de campo aberto foi alterado significativamente quando comparado com o controle, sugerindo uma ausência de interferência na atividade psicomotora do ferulato de isopentila.

No ensaio cometa, as doses testadas do ferulato de isopentila causaram genotoxicidade nas células do sangue e medula óssea, evidenciada tanto pelo índice de dano, como pela frequência de dano, quando comparados ao controle negativo.

Conclusão

O ferulato de isopentila demonstrou atividade antioxidante no teste *in vivo* em *Saccharomyces cerevisiae*, mas é preciso a aplicação de novos testes para confirmar a sua capacidade farmacológica. O estudo de toxicidade aguda em camundongos demonstrou que o ferulato de isopentila pode ser tolerado, porém, no estudo de genotoxicidade apresentou efeitos genotóxicos em células do sangue e medula óssea. Assim, posteriores investigações são necessárias para a determinação da sua segurança.

Referências

ABHILASH, P. C.; SINGH, N. Pesticide use and application: An Indian scenario. **Journal of Hazardous Materials**, v.165, p. 1–12, 2009.

AL-HABORI, M.; AL-AGHBARI, A.; AL-MAMARY, M.; BAKER, M. Toxicological evaluation of *Catha edulis* leaves: a long term feeding experiment in animals. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 83, n. 3, p. 209-217, 2002.

ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Animal Behaviour**, v. 21, n. 1, p. 205-235, 1973.

ADENEYE A.A., ADEYEMI O.O., AGBAJE E.O., BANJO A.A.F. Evaluation of the toxicity and reversibility profile of the aqueous seed extract of *Hunteria umbellata* (k. Schum.) Hallier f. in rodents. **African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines**, v. 7, n. 4, p. 350-369, 2010.

BRAMBILLA, G.; MARTELLI, A. Genotoxicity and carcinogenicity studies of analgesics, anti-inflammatory drugs and antipyretics. **Pharmacological Research**, v. 60, p. 1-17, 2009.

DA SILVA, J.; FREITAS, T.R.O.; MARINHO, J.R.; SPEIT, G.; ERDTMANN, B. Alkaline single-cell gel electrophoresis (Comet Assay) to environmental *in vivo* biomonitoring with native rodents. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, n. 1, p. 241-245, 2000.

FIOCRUZ (Fundação Oswaldo Cruz). **A história da terapêutica da doença de chagas**, 2009. Acessado em: 20 de junho de 2013. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=126>.

FRAGOSO, V.; do Nascimento, N.C.; MOURA, D.J.; SILVA, A.C.; RICHTER, M.F.; SAFFI, J.; FETT-NETO, A.G. Antioxidant and antimutagenic properties of the monoterpene indole alkaloid psychollatine and the crude foliar extract of *Psychotria umbellata* Vell. **Toxicology In Vitro**, v. 22, n. 3, p. 559-566, 2008.

HYOGO, A.; KOBAYASHI, T.; SAZ, E.G.D.; SEGUCHI, H. Antioxidant Effects of Protocatechuic Acid, Ferulic Acid, and Caffeic Acid in Human Neutrophils Using a Fluorescent Substance. **International Journal of Morphology**, v. 28, n. 3, p. 911-920, 2010.

KORKINA, L.; KOSTYUK, V.; DE LUCA, C.; PASTORE, S. Plant Phenylpropanoids as Emerging Anti-Inflammatory Agents. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 823-835, 2011.

MALONE, M.H. Pharmacological approaches to natural products screening and evaluation. In: WAGNER, H.; WOLF, P. **New natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutical activity**. Berlin: Springer Verlag, p. 23-53, 1977.

MALONE M. H.; ROBICHAUD, R. C. A Hippocratic screen for pure or crude drug materials. **Lloydia**, v. 25, p. 320-332, 1962.

MARQUES, T.H.C.; MARQUES, M.L.B.G.C.B.; LIMA, D.S.; SIQUEIRA, H.D.S.; NOGUEIRA NETO, J.D.; CASTELO BRANCO, M.S.B.G.; SOUZA, A.A.; SOUSA, D.P.; FREITAS, R.M. Evaluation of the neuropharmacological properties of nerol in mice. **World Journal of Neuroscience**, v. 3, p. 32-38, 2013.

ODUOLA, T.; ADENIYI, F.A.A.; OGUNYEMI, E.O.; BELLO, I.S.; IDOWU, T.O.; SUBAIR, H.G. Toxicity studies on an unripe *Carica papaya* aqueous extract: biochemical and haematological effects in Wistar albino rats. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 1, n. 1, p. 1-4, 2007.

OLIVEIRA, S. M.; SILVA, J.B.P.; HERNANDES, M.Z.; LIMA, M.C.A.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R. Estrutura, reatividade e propriedades biológicas de hidantoínas. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 614-622, 2008.

REKHA; NAIK, S.N.; PRASAD, R. Pesticide residue in organic and conventional food–risk analysis, **Chem Health Safety**, v. 13, p. 12-19, 2006.

SŁOCZYŃSKA, K.; POWROŹNIK, B.; PEKALA, E. & WASZKIELEWICZ, A. M. Antimutagenic compounds and their possible mechanisms of action. **J Appl Genetics**, v. 55, p. 273–285, 2014.

TICE, R. R.; AGURELL, E.; ANDERSON, D.; BURLINSON, B.; HARTMANN, A. Single cell gel/ comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 35, p. 206-221, 2000.

WIDZIEWICZ, K.; KALKA, J.; SKONIECZNA, M.; MADEJ, P. The Comet Assay for the Evaluation of Genotoxic Potential of Landfill Leachate. **The Scientific World Journal**, v. 2012, ID 435239, p. 1-8, 2012

CS26 - Efeitos de vitaminas antioxidantes nos danos induzidos ao DNA por antineoplásicos

Marcus Vinícius Oliveira Barros de Alencar (PG)^{1*}; Milena Braga Soares da Silva (IC)²; Germano Pinho de Moraes (PG)³; Ana Amélia de Carvalho Melo-Cavalcante (PQ)⁴

1. Universidade Federal do Piauí – Mestrando em Ciências Farmacêuticas/CAPES
2. Centro Universitário - UNINOVAFAPÍ – Curso de Graduação em Medicina
3. Universidade Luterana do Brasil – Doutorado em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde
4. Universidade Federal do Piauí – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

*marcus-alencar@msn.com

Palavras-chave: Doxorubicina. Ciclofosfamida. Genotoxicidade. Apoptose. Necrose.

Resumo

A dieta e antioxidantes endógenos previnem danos celulares pela reação com radicais livres oxidantes. Por outro lado, no tratamento do câncer, algumas estratégias adotadas para determinados agentes quimioterapêuticos envolvem a geração de radicais livres com o objetivo de produzir danos ao material genético e necrose de células malignas. Sendo assim, uma clara preocupação se desenvolve no tocante ao uso de antioxidantes exógenos concomitantes ao tratamento quimioterápico. Neste sentido, o presente estudo objetiva investigar os efeitos de vitaminas antioxidantes nos danos induzidos ao DNA pelos antineoplásicos Ciclofosfamida e Doxorubicina em estudos não clínicos com roedores e em *Saccharomyces cerevisiae*. Para tanto, serão investigados os efeitos modulatórios do estresse oxidativo por meio do Teste do Disco Central utilizando linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* proficiente e deficientes em defesas antioxidantes enzimáticas expostas concomitantemente aos antineoplásicos Ciclofosfamida 20 mg/mL e Doxorubicina 2 mg/mL e vitaminas antioxidantes (A, C e E) 50 mM. Além disso, serão avaliados os efeitos genotóxicos por meio do Teste Cometa, bem como mutagênicos, apoptóticos e necróticos por

meio do Teste de Micronúcleos com Bloqueio de Citocinese em linhagens celulares de Sarcoma 180 (S-180) ATCC cultivadas em meio RPMI 1640. Os resultados esperados neste estudo consistem em demonstrar os efeitos modulatórios de vitaminas antioxidantes nos danos genotóxicos, mutagênicos e oxidativos produzidos pelos antineoplásicos, bem como a necessidade de desenvolver novas estratégias terapêuticas com maior eficiência no combate ao câncer.

Introdução

A perda da capacidade de reparar uma lesão, seja por redução da detecção do dano ou por deficiência em algum processo enzimático de reparação, é observada em diversas patologias genéticas humanas (YAP et al., 2014). Por estes motivos, dois sistemas são fundamentais para manutenção da integridade do genoma em humanos, a reparação de DNA e a apoptose. As células defectivas em apoptose sobrevivem com danos excessivos ao DNA, permitindo que o mecanismo de replicação perpetue o dano e origine mutações que resultam no desenvolvimento de câncer (BUCHYNSKA et al., 2014).

Em relação ao tratamento do câncer, são vários os tipos de terapias empregadas, dentre elas a quimioterapia (MARSH; LIU, 2009). Nesta modalidade de tratamento, os fármacos são empregados em associação, visando a utilização de menores doses e buscando o sinergismo entre eles em prol da melhora do paciente (YABRO, 2003). A Doxorubicina (DOX), uma das primeiras antraciclinas isoladas em 1960, de *Streptomyces peuceitius* é um antibiótico antitumoral que age formando um complexo ternário com o DNA e a topoisomerase II, ocasionando a morte celular por apoptose. Também comum aos protocolos quimioterápicos, a Ciclofosfamida (CPA) é um agente alquilante que interfere no funcionamento normal do DNA por meio de alquilações, além de provocar ligação cruzada dos seus filamentos originando mutações genéticas e aberrações cromossômicas (SÁNCHEZ-SUÁREZ et al, 2008). Esta substância sofre uma biotransformação enzimática e se torna ativa. Nessa forma, se liga ao DNA podendo causar lesões irreversíveis (WIWANITKIT; CHAIYASIT, 2012).

Em contra partida, pacientes oncológicos, com frequência, apresentam déficits nutricionais que interferem na tolerância à terapia empregada e isto se revela através de danos orgânicos, como anorexia, náuseas, vômitos, estomatite, diarreia e necrose da mucosa do cólon. A reduzida tolerância limita a dose e a eficácia do tratamento oncológico e resulta em toxicidade severa e diminuição dos efeitos desejados, podendo levar à morte (TORRES et al, 2008). Todavia, em muitos casos, durante o tratamento, apesar de serem repassadas recomendações nutricionais, estas carecem de monitoramento, o que pode levar a efeitos danosos (FARSHID et al., 2013; INCA, 2013; SAEIDNIA; ABDOLLAHI, 2013).

Os antioxidantes, entre eles as vitaminas C (ácido ascórbico), carotenoides (vitamina A) e vitamina E (tocoferol), são, segundo o Consenso Nacional de Nutrição ao paciente oncológico, recomendados seguindo doses preconizadas pelo “Dietary Reference Intake” (DRI). Isso porque, são capazes de atrasar ou inibir a oxidação, diminuindo a concentração de radicais livres no organismo e, assim, atuam na prevenção do câncer. Por outro lado, estas substâncias também possuem a capacidade de se transformarem em pró-oxidantes, favorecendo o estresse oxidativo e promovendo até mesmo a carcinogênese (HARRIS; ORSINI; WOLK, 2014).

O limiar entre o efeito benéfico ou prejudicial das vitaminas ainda não está bem esclarecido na literatura, sendo necessário portanto a realização de estudos que demonstrem a sua atuação em pacientes oncológicos durante a terapêutica com antineoplásicos.

Material e Métodos

Avaliação mutagênica

O Teste de Micronúcleos com Bloqueio de Citocinese (CBMN) será realizado de acordo com Fenech (2007), com adaptações. Linhagens celulares de Sarcoma 180 (S-180) ATCC serão cultivadas em meio RPMI-1640 suplementados com soro bovino fetal e antibióticos (Sigma, St. Louis, MO). As células serão estimuladas com fitohemaglutinina (Gibco, Grand Island, NY) e incubados na presença de Ciclofosfamida 20 mg/mL e Doxorubicina 2 mg/mL como também na presença e ausência de vitaminas antioxidantes (A, C e E) 50 mM por 72h a 37° ± 1°C. Após 44h será adicionada às culturas 30 µg de Citocalasina B (Sigma, St. Louis, MO). Após incubação os meios serão centrifugados e lavados por 2 vezes com salina 0,9%, sendo subsequentemente tratados com solução hipotônica gelada (KCl 0,075M). Após centrifugação, as

preparações serão gotejadas (2 a 4 gotas) em lâminas, as quais serão fixadas em solução de Metanol/Ácido acético gelado (3:1) e coradas com Giemsa 5% por 7 minutos. Para cada cultura, um total de 1000 células binucleadas serão avaliadas quanto a frequência de micronúcleos de acordo com critério do IAEA. O índice de divisão nuclear (NDI) será calculado de acordo com a fórmula: $NDI = (M1 + 2(M2) + 3(M3) + 4(M4))/NT$, onde M1 a M4 consiste no número de células com 1, 2, 3 e 4 núcleos, respectivamente e NT representa o número total de células viáveis. Além disso, serão mensurados os percentuais de apoptose e necrose.

Avaliação Genotóxica

O Teste Cometa será realizado conforme descrito por Tice e colaboradores (2000). Alíquotas de 10 µl das suspensões celulares de Sarcoma 180 (S-180) ATCC previamente tratadas em culturas RPMI com antineoplásicos e vitaminas antioxidantes serão misturados com uma fina camada de agarose "low melting" 0,75% (95 µl) e colocadas sobre lâminas pré cobertas com agarose normal a 1,5%; estas lâminas serão mergulhadas em uma solução de lise (2,5 M NaCl, 100 mM EDTA e 10 mM Tris, pH 10 com adição de 1% Triton X-100 e 10% DMSO na hora do uso), por no mínimo 1 hora até no máximo 72 horas a 4°C, para o rompimento das membranas celulares. A lise celular permitirá a migração dos fragmentos de DNA que será realizada após a incubação das lâminas em tampão alcalino (300 mM NaOH e 1 mM EDTA, pH > 13) por 20 minutos e subsequente aplicação de uma corrente elétrica de 300 mA e 25 V (0,90 V/cm) por 15 minutos nas células lisadas sobre as lâminas para microscopia em uma cuba de eletroforese de DNA. As lâminas serão neutralizadas logo após a eletroforese com tampão Tris 0,4 M, pH 7,5 e coradas com solução de prata como descrito por Nadin e colaboradores (2001). Os resultados serão expressos em índice de danos (ID) e frequência de danos (FD). O ID será obtido pela avaliação visual das classes de dano (de 0 a 4), extraindo-se um índice que expressa o dano geral sofrido por uma população de células (50 células por lâmina em duplicata), os núcleos intactos aparecem redondos (classe 0 – sem danos), já nas células lesadas, o DNA migra do núcleo em direção ao ânodo, durante a eletroforese, mostrando uma "cauda" de fragmentos sedimentados, semelhante a um cometa e são classificados entre classes um (dano mínimo) a quatro (dano máximo). A FD será calculada baseada no número de células sem cauda (dano 0) menos 100.

Avaliação dos efeitos oxidativos

Linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* proficiente e deficientes em defesas antioxidantes enzimáticas serão cultivadas em meio YEL (extrato de levedura 0,5%, 2% de bacto-peptona, 2% de glucose) a 28°C em um agitador orbital até atingirem a fase de crescimento estacionária, de acordo com Oliveira e colaboradores (2014) Células em suspensão serão semeadas com swab estéril por todas as direções em placa de petri com meio YEPD (extrato de levedura 0,5%, 2% de bacto-peptona, 2% de glucose e 2% de ágar bacteriológico) contendo no centro um disco de papel filtro estéril, no qual será adicionado 100 µL dos antineoplásicos Ciclofosfamida 20 mg/mL e Doxorrubicina 2 mg/mL isolados e em associação com vitaminas antioxidantes (A, C e E) 50 mM e 5 µL de H₂O₂ 10M e 10 µL de solução salina 0,9% (co-tratamento) serão utilizados como controle positivo e negativo para estresse oxidativo, respectivamente. Após 48hs de incubação em estufa a 30°C, será mensurado em milímetros o halo de inibição do crescimento das leveduras a partir do disco central de papel filtro, sendo estes resultados tabelados e submetidos a tratamento estatístico.

Análise Estatística

Os dados expressos como média ± E.P.M. (Erro Padrão da Média) serão comparados por análise de variância (ANOVA) seguida por Student Newman-Keuls test, usando o programa Prisma 5.0 (GraphPad, Intuitive Software for Science, San Diego, CA) com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

Resultados Esperados

Os resultados esperados neste estudo consistem em evidenciar os efeitos modulatórios de vitaminas antioxidantes nos danos genotóxicos, mutagênicos e oxidativos produzidos pelos antineoplásicos Ciclofosfamida e Doxorrubicina, empregados na quimioterapia.

É esperado que esse trabalho contribua de forma significativa para a pesquisa e desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas no combate ao câncer, além de originar trabalhos a serem apresentados em congressos nacionais e internacionais e também artigos científicos a serem publicados em periódicos indexados. Com bases nos achados e como uma das perspectivas de contribuição científica do projeto será elaborada uma Dissertação de Mestrado.

Referências

BUCHYNSKA, L.; BRIEIEVA, O.; GLUSHCHENKO, N.; VOROBYOVA, L.; BILYK, O. DNA repair deficiency in peripheral blood lymphocytes of endometrial cancer patients with a family history of cancer. **BMC Cancer**, v. 14, n. 1, p. 765-769, 2014.

FARSHID, A.A.; TAMADDONFARD, E.; RANJBAR, R. Oral administration of vitamin C and histidine attenuate cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in rats. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 45, n. 2, p. 126-129, 2013.

FENECH, M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. **Nature Protocols**, v. 2, n. 5, p. 1084-104, 2007.

HARRIS, HR.; ORSINI, N.; WOLK, A. Vitamin C and survival among women with breast cancer: A Meta-analysis. **European Journal of Cancer**, v. 50, n. 7, p. 1223-1231, 2014.

INCA. Ministério da Saúde. **Secretaria de Atenção à Saúde**. Instituto Nacional do Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2013: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2013.

MARSH, S; LIU, G. Pharmacokinetics and pharmacogenomics in breast cancer chemotherapy. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 61, p. 381-387, 2009.

NADIN, S.B.; VARGAS-ROIG, L.M.; CIOCCA, D.R. A silver staining method for single-cell gel assay. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 49, n. 9, p. 1183-1186, 2001.

OLIVEIRA, G.L.S.; OLIVEIRA, F.R.A.M.; ALENCAR, M.V.O.B.; GOMES-JUNIOR, A.L.; SOUZA, A.A.S.; MELO-CAVALCANTE, A.A.C.; FREITAS, R.M. Evaluation of antioxidant capacity of the aqueous extract of *Cynara scolymus* L. (Asteraceae) *in vitro* and in *Saccharomyces cerevisiae*. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 8, n. 5, p. 136-147, 2014.

SAEIDNIA, S.; ABDOLLAHI, M. Antioxidants: Friends or foe in prevention or treatment of cancer: The debate of the century. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 271, n. 1, p. 49-63, 2013.

SÁNCHEZ-SUÁREZ, P.; OSTROSKY-WEGMAN, P.; GALLEGOS-HERNÁNDEZ, F.; PEÑARROJA-FLORES, R.; TOLEDO-GARCÍA, J.; BRAVO, J.L., DEL-CASTILLO, E.R. DNA damage in peripheral blood lymphocytes in patients during combined chemotherapy for breast cancer. **Mutation Research**, v. 640, n. 1-2, p. 8-15, 2008.

TICE, R.R.; AGURELL, E.; ANDERSON, D.; BURLINSON, B.; HARTMANN, A.; KOBAYASHI, H.; MIYAMAE, Y.; ROJAS, E.; RYU, J.C.; SASAKI, Y.F. Single cell gel/comet assay: guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 35, n. 3, p. 206-221, 2000.

TORRES, M.A.; JHINGRAN, A.; THAMES, H.D.; LEVENBACK, C.F.; BODURKA, D.C. Comparison of treatment tolerance and outcomes in patients with cervical cancer treated with concurrent chemoradiotherapy in a prospective randomized trial or with standard treatment. **European Journal of Cancer**, v. 40, n. 1314-1319, 2008.

WIWANITKIT, V.; CHAIYASIT, K. Antioxidant as an anticancer: consideration. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 20, n. 1, p. 96-105, 2012.

YABRO, C.H. International nursing and breast cancer. **Breast Journal**, v. 9, p. 98-100, 2003.

YAP, K.L.; KIYOTANI, K.; TAMURA, K.; ANTIC, T.; JANG, M.; MONTOYA, M.; CAMPANILE, A.; YEW, P.Y.; GANSHERT, C.; FUJIOKA, T.; STEINBERG, G.D. Whole exome sequencing of muscle-invasive bladder cancer identifies recurrent mutations of UNC5C and prognostic importance of DNA repair gene mutations on survival. **Clinical Cancer Research**, v. 20, p. 1-28, 2014.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

CS27 - Síntese e avaliação da atividade de derivados hidrohidrooxazinas

Maria dos Remédios Mendes de Brito (PQ)^{1*}; Yan de Carvalho Araújo (IC)²; José Walter Pelaéz (PQ)³; Rivelilson Mendes de Freitas (PQ)⁴

1. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
2. Universidade Federal do Piauí – PIBIC/CNPq
3. Universidade Nacional de Córdoba
4. Universidade Federal do Piauí – Curso de Graduação em Farmácia

*marremedios@hotmail.com

Palavras-chave: Antioxidante. Toxicidade. Antitumoral.

Resumo

No presente estudo foi feita a síntese, a purificação e a determinação estrutural de nove derivados de hidroquinazolinonas denominadas de WPs. Além disto, foi feita a avaliação da atividade citotóxica frente a três linhagens de células tumorais de diferentes tipos de carcinomas, a atividade antimicrobiana, a citotoxicidade frente a *Artemia salina* e a avaliação da atividade antioxidante *IN VITRO*. A síntese foi obtida por meio de pirólise a vácuo obtendo cis/trans-2-thioxoquinazolin-4-ones e os seus análogos 2,4-diona. Os isômeros trans obtidos na síntese são mais estáveis do que os cis e têm entropias positivas ligeiras de ativação, enquanto que os isômeros cis têm fortes valores negativos, que foram atribuídos a um efeito conformacional. A análise dos resultados demonstrou que as substâncias em estudo possuem atividade de inibição nos três tipos de células tumorais analisadas, atividade antimicrobiana, tendo como destaque a substância WP2331. Desta forma, pode ser sugerido que as WPs possui atividade antitumoral *in vitro* entre as referidas linhagem tumorais analisadas e citotóxica frente a *Artemia salina*, atividade antimicrobiana e atividade antioxidante, sendo necessário uma melhor investigação dessa propriedade farmacológica.

Introdução

A importância dos compostos heterocíclicos é incontestável, particularmente no que se refere ao fato de inúmeros usos como medicamentos. Muitos destes compostos heterocíclicos são fármacos mundialmente consumidos que apresentam atividades farmacológicas diversificadas, tais como anti-hipertensiva (losartan); antiviral (ribavirina); antitumoral (carbamato de fluorouracila); antifúngica (fluconazol); anti-inflamatória e analgésica (dipirona); antiprotozoária (metronidazol) inibidora da da β -lactamase (tazobactama sódica) e antimicrobiana (benzilpenicilina) (MELO et al., 2006). Em comparação com processos biossintéticos da natureza que evoluíram ao longo de bilhões de anos, a síntese orgânica ainda está em sua infância tendo começado no início de 1800. Antes dessa data, a natureza era a única fonte de produtos químicos orgânicos. Arquiteturas estruturais heterocíclicos ocorre em muitos produtos naturais e fármacos sintéticos bioativos, e estas unidades estruturais servem como intermediários importantes na síntese orgânica (LIANG-QIU et al., 2012).

Material e Métodos

Análise Térmica por Espectrofotometria na região do infravermelho (IV):

Os espectros de infravermelho foram obtidos em fase sólida, pesando aproximadamente 1,5 mg de amostra juntamente com 150 mg de brometo de potássio previamente dessecado. Em seguida, esta mistura foi triturada e posteriormente submetida à compressão em prensa hidráulica, obtendo-se dessa forma as pastilhas para análise. Os espectros da matéria-prima (em pó, previamente dessecada) na região do infravermelho (refletância) serão traçados na faixa entre 4000 cm^{-1} e 650 cm^{-1} (MORAES, 2007).

Método DPPH•

Método baseado na eliminação do radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•). A molécula de DPPH• é bastante conhecida por caracteriza-se como um radical orgânico livre estável e tem muitas vantagens, tais como uma boa estabilidade na ausência da luz, aplicabilidade, simplicidade e viabilidade (DENG; CHENG; YANG, 2011). As concentrações de 0,9, 1,8, 3,6, 5,4, 7,2 $\mu\text{g/mL}$ foram utilizadas na avaliação antioxidante e serão preparadas por diluição a partir da maior concentração.

Avaliação do potencial antioxidante contra a produção de espécies reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A determinação do conteúdo de espécies reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi realizada para quantificar o nível de peroxidação lipídica (ESTERBAUER & CHEESEMAN, 1990). Esse método será utilizado para determinar a capacidade antioxidante *IN VITRO* das hexahidroquinazolinonas e seus derivados usando gema de ovo homogeneizado como substrato rico em lipídio (GUIMARÃES et al., 2010). A peroxidação lipídica será induzida pela adição de 0,1 mL de solução AAPH (2,2'- azobis-2-amidinopropano 0,12M). Os resultados são expresso em porcentagem de TBARS formados por APPH (controle induzido).

Avaliação do potencial antioxidante *IN VITRO* dos derivados das hexahidroquinazolinonas contra a produção de radical nitrito (NO_2^-)

O óxido nítrico (NO) é gerado a partir da decomposição espontânea do nitroprussiato de sódio (NPS) em tampão fosfato 20 mM (pH 7,4). Uma vez gerado NO, ele interage com o oxigênio para produzir íons nitrito ($2\text{NO} + \text{O}_2 = \text{NO}_2^-$) que foram medidos pela reação de Griess (FERREIA et al. 2008). A porcentagem de inibição do óxido nítrico gerado é medida por meio da comparação dos valores de absorbância dos controles negativos (apenas 10 nM de nitroprussiato de sódio e veículo) e das preparações para ensaio. Os resultados são expressos em porcentagem de nitrito formado por NPS.

Citotoxicidade frente à *Artemia salina*

Os ovos de *Artemia salina* são eclodidos em água de salinidade a 12 ppm e após 48 horas, as larvas foram coletadas para os bioensaios. As diluições das amostras e do teste em branco foram realizadas em água do mar e 0.5 mL de dimetil sulfóxido concentrado. Foram preparadas soluções em triplicata das amostras a serem testadas nas concentrações 1000, 100, 10 e 1 ppm, e adicionadas 10 artemias em cada frasco, sendo a contagem das sobreviventes realizada após 24 e 48 horas. Após a análise dos resultados, o procedimento é repetido em concentrações intermediárias na tentativa de encontrar a concentração que mata 50% dos microcrustáceos.

Avaliação da atividade antitumoral

A avaliação da atividade citotóxica frente a três linhagens de células tumorais de diferentes tipos de carcinomas, a HEP-2 (linhagem de células de carcinoma da laringe), NCI-H (linhagem de células de carcinoma de pulmão) e MCF-7 (linhagem de células de câncer de mama). O padrão utilizado para a determinação da atividade citotóxica foram a inibição da concentração de 50% do crescimento celular (IC_{50}) das amostras e do controle positivo (doxorubicina 2 mg/mL) nas três linhagens de células tumorais.

Avaliação da atividade antimicrobiana

Os microrganismos utilizados para o referido foram cepas ATCC *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica*, *Serratia marcescens*, *S. flexneri* e *Staphylococcus aureus* obtidos a partir do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS/FIOCRUZ, Brasil). O efeito antibacteriano foi avaliado por meio do método de microdiluição (oito diluições em série resultando em concentrações entre 500 e 3,91 $\mu\text{g/mL}$).

Análises Estatísticas

Os resultados que obedecerem a uma distribuição paramétrica serão analisados pela Análise de Variância (ANOVA) e pelo teste de *Newman-Keuls* como *post hoc* teste por meio do programa Graph Pad Prism versão 5.00 para Windows. Os dados não paramétricos serão analisados pelo mesmo programa utilizando o teste do qui-quadrado. O mesmo programa (GraphPad Prism©) será utilizado para confecção dos gráficos dos resultados obtidos neste trabalho. As diferenças serão consideradas estatisticamente significativas a partir de $p < 0,05$.

Resultados Esperados

Com os referidos testes pode-se caracterizar as referidas substâncias em estudo e verificar a atividade dessas substâncias pelos teste da atividade antitumoral, antimicrobiana, citotoxicidade frente a *Artemia salina* e atividade antioxidante dando destaque a substância WP 2331. Todas as substâncias analisadas possuem alguma atividade antioxidante. A análise dos resultados demonstrou que as substâncias em estudo possuem atividade de inibição nos três tipos de células tumorais analisadas, atividade antimicrobiana, tendo como destaque a substância WP2331. Desta forma, pode ser sugerido que as WPs possuem atividade antitumoral *in vitro* entre as referidas linhagens tumorais analisadas e citotóxica frente a *Artemia salina*, atividade antimicrobiana e atividade antioxidante, sendo necessário uma melhor investigação dessa propriedade farmacológica.

Referências

MELO, J. O. F.; DONNICI, C. L.; AUGUSTI, R.; FERREIRA, V. F.; SOUSA, M. C. B. V.; FERREIRA, M. L. G.; CUHA, A. C. Heterociclos 1,2,3-triazólicos: histórico, métodos de preparação, aplicações e atividades farmacológicas. *Quim. Nova*, v. 29, n. 3, p.569-579, 2006.

LIANG-QIU LU, JIA-RONG CHEN, AND WEN-JING XIAO. Development of Cascade Reactions for the Concise Construction of Diverse Heterocyclic Architectures. *ACCOUNTS OF CHEMICAL RESEARCH*. 1278–1293 ' 2012 ' Vol. 45, No. 8. China, 2012.

MORAES, R.H. Avaliação do comportamento de flavonas e flavonóis frente à celulose microcristalina em estado sólido. 2007. Porto Alegre. 190. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Agradecimentos

Agradecer ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq / Brasil), a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Piauí (FAPEPI/ Brasil) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

CS28 - Exposição ocupacional de trabalhadores ao formaldeído e outros solventes

Maria Lucianny Lima Barbosa (IC)^{1*}; Rosielle Alves de Moura (IC)¹; Larice de Carvalho Vale (IC)¹; Ana Paula Peron (PQ)²; Gilberto Santos Cerqueira (PQ)²

1. Universidade Federal do Piauí – PIVIC
2. Docente da Universidade Federal do Piauí – Campus CSHNB

*marialucianny@gmail.com

Palavras-chave: Formaldeído. Teste do Micronúcleo. Solventes Orgânicos. Carcinógenos.

Resumo

O formaldeído e outros solventes orgânicos utilizados em ciências morfológicas são produtos químicos bastante empregados na indústria, principalmente como germicida, na fabricação de pesticidas, conservação de tecidos biológicos e componentes de produtos cosméticos, como por exemplo, os alisantes capilares. Apesar de alguns compostos serem produzidos normalmente pelo organismo humano como o formaldeído, o mesmo não é bem absorvido pela via dérmica e, quando utilizado em doses acima do recomendado pela vigilância sanitária pode causar vários graus de toxicidade que geram alterações celulares e até mesmo, câncer. Assim, o objetivo desse trabalho será investigar a exposição ocupacional dos trabalhadores dos laboratórios de ciências morfológicas ao formaldeído na Universidade Federal do Piauí. Será realizado um estudo exploratório descritivo com abordagem quantitativa com uma amostra de 200 trabalhadores e estudantes da Universidade Federal do Piauí, utilizando-se de um questionário semiestruturado. Além da realização do teste do micronúcleo nas células bucais esfoliadas dos voluntários. Para análises dos dados será utilizado frequência relativa e o teste do quadrado com auxílio do programa Graph Pad Prisma versão 5.0, sendo considerados significativos os dados que apresentarem o valor de $p < 0,05$.

Introdução

O formaldeído é um gás miscível com água cuja solução resultante é denominada formol ou formalina, sendo esta utilizada em diversas concentrações para variados fins. Apesar de o formol ser um metabólito intermediário normal celular na biossíntese de purinas, timina e de outros aminoácidos, é uma molécula muito reativa que pode ser diretamente irritante a tecidos com os quais entra em contato. Aldeídos são associados com sintomas como dores de cabeça, irritação ocular e respiratória, distúrbio do sono e aumento da sede em trabalhadores com exposição ocupacional assim como em pessoas como certo consumo de produtos com baixa exposição (SILVA et al., 2013).

A mesma autora relata ainda, que muitas profissões expõem o trabalhador a diversos níveis de concentração de formol. Na área Biomédica, por exemplo, os profissionais mais expostos aos efeitos do formol são os anatomistas, técnicos de embalsamamento e de laboratório de Anatomia e os estudantes durante suas práticas de dissecação.

Vários indivíduos apresentam sensibilidade genética a agentes genotóxicos tais como: ambientais, radiações, drogas e vírus. Durante o processo mitótico existem dois agentes que agem no reparo celular, denominados clastogênicos, os quais permitem a quebra cromossômica, e os aneugênicos, onde possuem a capacidade de interferir no fuso mitótico. A atuação de forma anormal destes processos, associada a agente genotóxicos, dão origem as alterações cromossômicas, denominados micronúcleos. Sendo assim, o teste do micronúcleo é considerado um bioindicador da presença de células que sofreram exposição à carcinógenos (CARRARD et al, 2007).

Os primeiros indícios da carcinogenicidade do formaldeído foram demonstrados pelo Chemical Industry Institute of Toxicology (CIIT) dos Estados Unidos em 1978, relatando o desenvolvimento de cancro nasal em ratos laboratorialmente expostos a esta substância (IARC, 2005). A primeira avaliação efetuada

pela International Agency for Research on Cancer (IARC) data de 1981, atualizada em 1982, 1987, 1995 e 2004, considerando-o como um agente cancerígeno do grupo 2A (provavelmente carcinogênico).

No entanto, Viegas; Prista (2008), referem que a mais recente avaliação da IARC considera o formaldeído no Grupo 01 (agente carcinógeno) com base na evidência de que a exposição a essa substância é susceptível de causar câncer, tumorigênico e teratogênico, por produzir efeitos na reprodução humana.

Como o formol pode ser utilizado de várias formas e possui inúmeras funções, isso acarreta uma maior quantidade de pessoas propícias a exposição dessa substância, como pode ser observado na citação de Perrault et al. (2010) que nos diz que a variedade de processos e operações em que o formaldeído intervém potencia a exposição de uma ampla e diversificada população trabalhadora.

Essa exposição pode ocorrer de diversas maneiras, entre as quais as mais comuns citadas por Veronez; Farias et al. (2006) são: inalação do gás ou vapor liberado e contato acidental do formaldeído com a pele. Segundo Horvath et al. (1998) o formaldeído é irritante a mucosa ocular, provocando irritação as mucosas do nariz, cavidade nasal, faringe e laringe e traz consequências mais graves em elevadas concentrações a traqueia, brônquios e pulmões.

Em virtude da toxicidade e da quantidade de pessoas expostas, e ausência de políticas públicas para diminuição dessa exposição, bem como pelo risco de carcinogenicidade dessa substância, este trabalho objetiva avaliar os efeitos tóxicos da exposição aos solventes orgânicos no laboratório de Anatomia da Universidade Federal do Piauí, assim como, coletar dados sobre sinais e sintomas dermatológicos, respiratórios e neurológicos de discentes e relacioná-los com o uso de equipamento de proteção individual.

Material e Métodos

O presente estudo se caracteriza como um levantamento exploratório descritivo com abordagem quantitativa, que será realizado no laboratório de anatomia da Universidade Federal do Piauí, por meio da coleta das células bucais esfoliadas para a realização do teste do micronúcleo e da aplicação de um questionário semiestruturado.

A população será constituída por 200 pessoas entre docentes e alunos, sendo 50% constituída por aqueles que desenvolvem alguma atividade no laboratório e os outros 50% a amostra controle.

Para a concretização desta pesquisa será levada em consideração a prática preconizada no Brasil em 1996, através da Resolução 196/96, que trata de pesquisas envolvendo seres humanos, a qual atende ao princípio ético de autonomia, principalmente no que se refere ao consentimento e esclarecimento aos participantes da pesquisa (BRASIL, 1996).

Em conformidade com a resolução supracitada, ressaltado que em hipótese alguma será divulgado nesta pesquisa o nome das pessoas envolvidas. Os dados somente serão coletados após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE.

É necessário ressaltar que a pesquisa em questão foi aprovada pelo comitê de ética CAAE: 17931113.0.0000.5054.

Resultados Esperados

Nós acreditamos que os indivíduos expostos ao formaldeído tenham maior grau de lesões celulares, ocasionando assim a presença de grandes quantidades de micronúcleos, os quais serão observados nas células bucais esfoliadas, bem como, maior mutagenicidade quando comparada com indivíduos do grupo controle, os quais não estão expostos.

Espera-se ainda, que o tempo de exposição desses indivíduos ao formol seja em média duas horas, uma vez que as aulas práticas no laboratório de anatomia duram aproximadamente esse tempo. Além disso, espera-se um baixo índice de uso de equipamentos de proteção individual, já que os alunos não dispõem de equipamentos adequados, uma vez que a Universidade não oferece, podendo citar como exemplo as máscaras ofertadas, as quais são inadequadas para a proteção ao formaldeído.

Referências

BRASIL, Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Comissão Nacional de Ética em pesquisa. **Normas para pesquisa envolvendo seres humanos:** (Res. CNS 196/96 e outros). Brasília (DF), 1996.

CARRARD, V.C. COSTA, C.H.; FERREIRA, L.A.; LAUXEN, I.S.; RADOS, P.V. Teste dos Micronúcleos – Um Biomarcador de Dano Genotóxico em Células Descamadas da Mucosa Bucal, **Revista da Faculdade de Odontologia de Porto Alegre**, v.18, n.1/3, p.77-81, 2007.

HORVATH. J.; ANDERSON, Jr.; AERGE, W.E; HANRAHAN, L.; WENDLICK, J.D. Effects of formaldehyde on the mucous membranes and lungs. **Journal of the American Medical Association**. v. 259, 05, 1998.

PERRAULT, G. GERRIN, M.; GÉGIN, D.; PETITJEAN, T. **Étude préliminaire sur l'évaluation de l'impact d'un abaissement des valeurs d'exposition admissibles pour le formaldéhyde**. Montréal: IRSST Institut de Recherche Robert-Sauve en Santé et en Sécurité du Travail, 2001.

SILVA, ACS; FURTADO. SC; CARNEIRO, ALB. **Estudo dos efeitos tóxicos do formaldeído em alunos do laboratório de anatomia humana da UFAM**. <http://www.sbpcnet.org.br/livro/61ra/resumos/resumos/5664.htm> acesso em 22 de maio de 2013.

VERONEZ, D. A. L.; FARIAS, E.L.; FRAGA, R.; FREITAS, F.S. **Potencial para a saúde ocupacional de docentes, pesquisadores e técnicos de anatomia expostos ao formaldeído**. Paraná, 2006.

VIEGAS, S.; PRISTA, J. **Estudo da exposição ocupacional a formaldeído num laboratório de anatomia patológica: relevância da aplicação de uma metodologia (PID) de monitorização ambiental**. São Paulo, 2008.

Agradecimentos

Ao CNPQ e UFPI através do programa de ICV.

CS29 - Intolerância à lactose: epidemiologia, manifestações clínicas, diagnóstico e tratamentos

Mariana Almeida Basso (IC)^{1*}; Ruan Inácio da Silva (IC)¹; Antonio Luiz Gomes Júnior (PQ)²

1. Centro Universitário UNINOVAFAPI – Curso de Graduação em Biomedicina

2. Biomédico. Mestre em Ciências Farmacêuticas pela UFPI. Doutorando em Biotecnologia – RENORBIO.

*marialmeida7@hotmail.com

Palavras-chave: Intolerância. Lactose. Hipolactasia. Leite.

Resumo

Em grande percentual dos mamíferos a atividade da enzima lactase reduz na parede intestinal após o desmame, caracterizando a hipolactasia primária que provoca sintomas de intolerância à lactose (IL). A intensidade dos sintomas de distensão, flatulência, dor abdominal e diarreia variam, dependendo da quantidade de lactose ingerida, e aumentam com o passar dos anos. Apesar da produção da enzima Lactase começar a diminuir por volta dos 2 anos de idade, a IL é rara em pacientes com menos de 6 anos. A hipolactasia é determinada geneticamente, porém uma mutação ocorreu para que fizesse parte da humanidade tolerar o leite na idade adulta. No Brasil, 43% dos brancos e dos mulatos têm alelo de persistência da lactase, sendo a hipolactasia mais frequente entre os negros e japoneses. Porém, na grande maioria dos casos clínicos, os indivíduos com hipolactasia podem ser orientados a consumir alguns derivados do leite e alimentos contendo lactose sem apresentar sintomas de intolerância, enquanto que outros terão que fazer restrição de lactose na dieta. O presente trabalho teve como objetivo desenvolver uma pesquisa bibliográfica destacando as principais características relacionadas a Intolerância à lactose. Com artigos selecionados na base de dados do google acadêmico e na biblioteca virtual LILACS, a pesquisa teve um caráter qualitativo. Foi conclusivo que a taxa de intolerância à lactose é crescente até a faixa etária de 31 anos.

Introdução

A Lactose, um dissacarídeo característico do leite dos mamíferos, é utilizado pelo organismo para intensificar a absorção de vários sais minerais, incluindo cálcio, magnésio e zinco. Ela também promove o crescimento de bactérias intestinais e é uma das principais fontes de galactose, um nutriente essencial para a formação dos galactolipídios cerebrais (BIBLIOMED, 2014).

A deficiência congênita de Lactase (enzima responsável pelo metabolismo da Lactose) é extremamente rara. Contudo, o desenvolvimento de deficiência de lactase durante a infância ou a idade adulta é bastante comum e pode ser herdada como um traço autossômico recessivo (BIBLIOMED, 2014).

Má absorção ou má digestão de lactose é a diminuição na capacidade de hidrolisar a lactose, que é resultante da hipolactasia. A hipolactasia significa diminuição da atividade de enzima lactase na mucosa do intestino delgado, também denominada recentemente de “lactase não persistente” (MATTAR; MAZO, 2010).

O aparecimento de sintomas abdominais por má absorção de lactose caracteriza a intolerância à lactose. A má absorção de lactose nem sempre provoca sintomas de intolerância à lactose. Após o desmame, ocorre uma redução geneticamente programada e irreversível da atividade da lactase na maioria das populações do mundo, cujo mecanismo é desconhecido, resultando em má absorção primária de lactose (MATTAR; MAZO, 2010).

Porém, a hipolactasia também pode ser secundária a doenças que causem dano na borda em escova da mucosa do intestino delgado ou que aumentem significativamente o tempo de trânsito intestinal, como nas enterites infecciosas, giardíase, doença celíaca, doença inflamatória intestinal (especialmente doença de Crohn), enterites induzidas por drogas ou radiação, doença diverticular do cólon e anemia (estudo em ratos, mostrando diminuição na expressão gênica) (MATTAR; MAZO, 2010).

Diferentemente da hipolactasia primária do adulto, a hipolactasia secundária é transitória e reversível (MATTAR; MAZO, 2010).

A intolerância à lactose é muito prevalente na população mundial, especialmente entre negros (70% dos adultos), asiáticos e sul americanos. Na raça branca chega a atingir 20% dos adultos (STEIN, 2011).

Material e Métodos

Pesquisa realizada por meio de levantamento bibliográfico, de caráter qualitativo. Gerhardt (2009) afirma que, uma pesquisa qualitativa é aquela a qual não se preocupa com representatividade numérica, mas, sim com o aprofundamento da compreensão de um grupo social, de uma organização, etc.

Os artigos foram selecionados mediante relevância com o tema, priorizando os relacionados às manifestações clínicas e tratamento. Foram obtidos através da base de dados de literatura científica na internet e também por meio de material disponível na biblioteca virtual LILACS.

Foi pesquisado nas bases de dados, com as palavras chaves “intolerância” e “lactose”, onde obtivemos um resultado de 3000 mil artigos. Estes foram filtrados por ano de publicação e idioma, obtendo assim um resultado de dez artigos que foram lidos e selecionados 8 destes artigos.

Resultados e Discussão

Segundo Stein (2011) três tipos de intolerância a lactose que são decorrentes de diferentes processos:

Deficiência congênita de enzima: patologia rara, no qual não existe a lactase, com vilosidades intestinais normais, causando diarreia desde o nascimento,

Diminuição enzimática secundária a doenças intestinais: a incidência é maior em crianças e é ocasionada pela agressão da mucosa intestinal por gastroenterite infecciosa, desnutrição, giardíase, fibrose cística, doença celíaca, imunodeficiência ou drogas (canamicina, neomicina, colchicina, metrotexate). Esta redução enzimática é transitória até que ocorra recuperação da mucosa intestinal, ou persistente, se a enfermidade primária for crônica.

Deficiência ontogenética ou tipo adulto: a intolerância ocorre em crianças na fase pré-escolar e em adultos, pela diminuição fisiológica da produção de lactase.

A intolerância congênita a lactose é rara. Bebês com este distúrbio apresentam deficiência na lactase jejunal e tem diarreia quando são amamentados ou ingerem alimentos à base de lactose. A desidratação e o desequilíbrio eletrolítico resultantes são potencialmente letais, por isso, estes bebês devem ser alimentados por uma fórmula que contenha sacarose ou frutose em vez de lactose (BARBOSA, 2010).

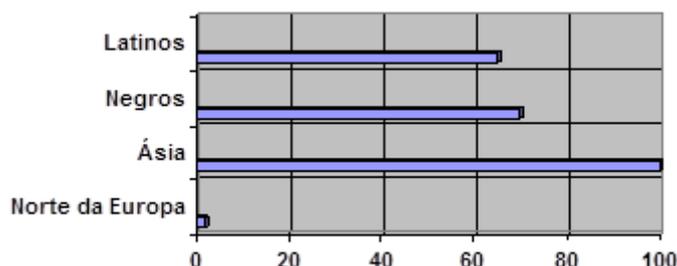
A deficiência de lactase primária e a ausência de lactase, parcial ou total, que se desenvolve na infância, em diferentes idades e em diferentes grupos raciais sendo a causa mais comum de má absorção de lactose e intolerância. A deficiência secundária de lactase é resultado de lesões no intestino delgado ou por alguma patologia, por exemplo, o espru tropical e não tropical, enterite regional, colite ulcerativa, desnutrição, entre outras (BARBOSA, 2010).

EPIDEMIOLOGIA

De acordo com Missio (2011), a deficiência de lactase ocorre normalmente em aproximadamente 75% dos indivíduos adultos em todos os grupos étnicos estudados, exceto nos de origem do noroeste da Europa, onde a incidência nos adultos é menor que 20%.

Todos os mamíferos têm um decréscimo dramático na lactase após o desmame. No mundo todo, os humanos perdem de 90% a 95% dos níveis de lactase ao nascimento no início da infância e existe um contínuo declínio na lactase durante a vida. Entretanto, a prevalência de hipolactasia varia amplamente entre os diferentes grupos étnicos. Estimativas variam de 2% em pessoas no Norte da Europa até quase 100% em adultos da Ásia e americanos indianos. Os negros têm prevalências de 60% a 80% e os latinos, de 50% a 80% (SATIN, 2005).

Gráfico 1 – Prevalência da Hipolactasia em %



No Brasil, estima-se que cerca de 35 a 40 milhões de adultos tenham perturbações digestivas após a ingestão de um copo de leite de vaca, tais como, digestão lenta, distensão abdominal, empachamento, meteorismo, aumento do número diário das evacuações, fezes pastosas e fétidas (MISSIO, 2011).

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Os sintomas podem variar de acordo com o tipo de intolerância à lactose. Na secundária geralmente é observado diarreia, dermatite perineal, flatulência, dor abdominal e distensão abdominal. Na deficiência ontogenética, pode ocorrer dor ou distensão abdominal, aftas, flatulência, náuseas, vômitos ou déficit de crescimento. A intensidade dos sintomas depende da quantidade de lactose que cada pessoa pode tolerar. O tempo de esvaziamento gástrico, que é individual, pode influenciar o tempo para o aparecimento dos sintomas e sua intensidade (STEIN, 2010).

A criança que não metaboliza a lactose terá diarreia e poderá não ganhar peso. O adulto apresentará borborigmo, distensão abdominal, flatulência, náuseas, diarreia e cólicas abdominais (QUILICI, 2010).

Mesmo quando somente a absorção de lactose está diretamente prejudicada pela deficiência da lactase, a diarreia resultante pode ser intensa, o suficiente para eliminar os outros nutrientes antes que eles possam ser absorvidos, podendo provocar a desnutrição (QUILICI, 2010).

DIAGNÓSTICO

A suspeita diagnóstica pode ser feita pela eliminação de fezes líquidas ou semilíquidas, com pH ácido (menor de 6) ou quando após tomar um copo de leite, o paciente desenvolve distensão abdominal e diarreia aquosa em 20 a 30 minutos. Assim, a horizontalização do teste de tolerância oral à lactose faz a suspeita clínica da intolerância à lactose e seu diagnóstico pode ser confirmado pelo achado de baixa atividade da lactase na biópsia da mucosa jejunal. A má absorção de glicose e galactose é também diagnosticada pela demonstração do achatamento do teste de tolerância oral quando a lactose é ingerida (BARRINUEVO, 2014).

TRATAMENTO

Nos pacientes com lactase não persistente, o tratamento é considerado exclusivamente naqueles com sintomas de intolerância à lactose. Inicialmente se recomenda evitar temporariamente leite e produtos lácteos da dieta para se obter remissão dos sintomas. Tal tarefa pode ser dificultada pela presença de alimentos com lactose não identificada na sua composição (MATTAR; MAZO, 2010)

É importante lembrar, em particular, que nos pacientes com diarreia infecciosa aguda, não se deve administrar lactose, por causa da deficiência transitória de lactase que eles apresentam e a consequente diarreia osmótica que agora poderá ocorrer, mesmo nos dias que se seguem a sua resolução. A reposição hídrica e eletrolítica é importante nestes casos, porém, o “soro caseiro” não poderá conter a lactose na sua composição pois, poderá acarretar o agravamento dos sintomas (diarreia) (MISSIO, 2011).

A exclusão total e definitiva da lactose da dieta deve ser evitada, pois pode acarretar prejuízo nutricional de cálcio, fósforo e vitaminas, podendo estar associada com diminuição da densidade mineral óssea e fraturas. Além disto, a maioria das pessoas intolerantes à lactose pode ingerir 12 g/dia de lactose (equivalente a um copo de leite) sem apresentar sintomas adversos (MATTAR; MAZZO, 2010).

Conclusão

Apesar da Intolerância à Lactose ser bastante comum, não é considerada um problema grave de saúde. O diagnóstico é simples e pouco invasivo. O tratamento deve ser direcionado para um gerenciamento no longo prazo. Existem vários produtos capazes de auxiliar a digestão da lactose, diminuindo a irritação gastrointestinal e permitindo uma escolha mais ampla dos alimentos. É importante que o paciente aumente a ingestão de outras fontes de cálcio, além do leite, para manter sua saúde óssea e muscular.

Estudos apontaram que a incidência de intolerância à lactose mostra-se crescente até a faixa etária de 31 a 40 anos, ocorrendo uma diminuição gradativa dessa incidência a partir da idade de 40 anos, também apontaram que não há diferença significativa na incidência de IL entre indivíduos do sexo masculino e feminino.

Assim, o presente trabalho visou expor os principais aspectos relacionados ao quadro de intolerância à lactose, contribuindo positivamente para o enriquecimento científico da classe acadêmica do segmento de saúde.

Referências

BARBOSA, C. R. Intolerância à lactose e suas consequências no metabolismo do cálcio. **V Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica**, 2010.

MATTAR, R; MAZO, D.F.C. Intolerância à lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n.2, p. 230-6, 2010.

MISSIO, A. Nutricionista do HMCP da PUC Campinas. **Intolerância à lactose**, 2011.

QUILICI, F.A. **Intolerancia a lactose**, 2011.

STEIN, C.L.S. Diretriz intolerância à lactose. **Dietary reference intakes**, 2011.

SATIN, J. **Intolerância à lactose: parte 1 - etiologia, epidemiologia e prevalência**. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/leite-saude/intolerancia-a-lactose-parte-1-etilogia-epidemiologia-e-prevalencia-25559n.aspx> Acesso em: 10 Set 2014.

BARRINUEVO, G. Nutricionista. **Intolerância á lactose**. Ago 2014. Nutrição e assuntos diversos.

BIBLIOMED, Equipe Editorial. **Intolerancia a lactose**. Disponível em: <http://www.bibliomed.com.br/lib/showdoc.cfm?LibDocID=15797> Acesso em: 10 set 2014.

CS30 - Avaliação do efeito cardioprotetor de uma saponina esteroidal

Michely Laiany Vieira Moura (PG)^{1*}; Hercília Maria Lins Rolim (PQ)¹; Aldeídia Pereira de Oliveira (PQ)²

1. Universidade Federal do Piauí – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas
2. Universidade Federal do Piauí – Núcleo de Pesquisa em Plantas Medicinais

*michely1221lai@hotmail.com

Palavras-chave: Saponina Esteroidal. Lipossomas. Nanotecnologia. Função Cardioprotetora.

Resumo

A diosgenina é uma saponina esteróide que pode ser encontrada em diversas plantas do gênero *Dioscorea villosa*, *Costus speciosus* e *Trigonella foenum graecum*, apresentando-se com um dos principais constituintes bioativos regulando as funções fisiológicas. Com uma diversidade de aplicações como ação antiinflamatória, regulação metabólica, hormônio esteroidal, antifúngica e antitumoral, além de apresentar ação positiva na musculatura vascular. No presente estudo a diosgenina será encapsulada em nanossistemas lipossomais (LD), os quais serão caracterizados quanto as suas propriedades físico-químicas, estabilidade e eficácia na encapsulação do fármaco. Desta forma serão avaliados os efeitos da administração endovenosa da formulação lipossoma-diosgenina que apresentar características físicoquímicas satisfatória para uso in vivo onde serão avaliados os parâmetros bioquímicos e a função cardioprotetora em modelos animais.

Introdução

A diosgenina tem sido indicada como tendo potencialmente várias aplicações práticas, uma vez que apresenta um impressionante perfil farmacológico, podendo ser utilizada no tratamento de diferentes patologias como hiperglicemia e hiperlipidemia (OKAWARA et al., 2013). Na indústria farmacêutica têm-se estabelecido como material fonte para a produção de hormônios esteróides e utilizada na terapêutica de reposição hormonal em mulheres na menopausa por apresentar-se estruturalmente semelhante à progesterona e o estrogênio (OKAWARA et al., 2014; DIAS et al, 2007).

A administração oral da diosgenina é limitada devido à baixa solubilidade aquosa da molécula (0,7 ng/mL) e limitada pela biodisponibilidade oral absoluta. Administração oral de drogas com baixa solubilidade aquosa e baixo perfil de dissolução resulta em incompleta absorção do fármaco (OKAWARA et al., 2014). Segundo Chen et al., 2012, a solubilidade da diosgenina diminui com o aumento da polaridade dos solventes alcoólicos. Uma opção adicional à administração oral seria a aplicação endovenosa de diosgenina, no entanto como o fármaco é pouco solúvel em água, ele deveria ser solubilizado em etanol e injeções de álcool provocam irritações nos vasos sanguíneos, inviabilizando a técnica (CHEN et al., 2014).

Uma alternativa para transpor esta limitação seria a encapsulação da diosgenina em lipossomas. Lipossomas são vesículas formadas por membranas concêntricas de fosfolípídeos com centro aquoso representam uma excelente forma de liberação controlada de fármacos, devido sua flexibilidade estrutural variando suas características físico-químicas como o tamanho, composição e fluidez da bicamada lipídica. Devido sua biocompatibilidade são utilizados como ferramentas para liberação controlada de fármacos no

sítio-alvo específico melhorando a farmacocinética e farmacodinâmica da molécula encapsulada (GUPTA et al., 2012).

No presente estudo a diosgenina será encapsulada em lipossomas convencionais, os quais serão caracterizados quanto as suas propriedades físico-químicas, estabilidade e eficácia na encapsulação do fármaco. Contudo, para que sua aplicabilidade terapêutica seja aceita será necessária uma investigação da sua segurança através de estudos de toxicidade. Desta forma, serão avaliados os efeitos da administração endovenosa da formulação lipossoma-diosgenina que apresentar as melhores características físico-químicas para os parâmetros bioquímicos e avaliação da função cardíaca.

Material e Métodos

Os lipossomas contendo diosgenina (LD) serão preparados usando o método da hidratação do filme lipídico (ANCHIÊTA-JUNIOR et al., 2014; MORENO et al., 2014). Em geral, serão produzidos lipossomas contendo fosfatidilcolina de soja, colesterol e/ou fosfolípidos carregados positivos ou negativamente, mais o fármaco teste. Após sua produção, as formulações lipossomais contendo diosgenina serão caracterizadas. Os parâmetros avaliados serão: aspecto macroscópico, pH, tamanho das partículas (TP), índice de polidispersão (PDI) e potencial zeta (PZ).

Os testes de estabilidade acelerada avaliarão as condições de estresse a que as formulações serão submetidas quando da sua fabricação, transporte e armazenamento. Para monitoramento das formulações ao longo do tempo, a estabilidade em longo prazo será iniciada logo após as formulações forem preparadas e ao longo dos dias. Os parâmetros avaliados serão: aspecto macroscópico, a variação do pH, tamanho das partículas e índice de polidispersão (PDI) (ANCHIÊTA-JUNIOR et al., 2014; MORENO et al., 2014; LIRA et al., 2009).

O conteúdo do princípio ativo na formulação será determinado usando cromatografia de alta eficiência (HPLC), onde os nanossistemas serão diluídos em uma mistura de seus solventes de origem para dissolução dos LD, como descrito em LIRA et al., 2009.

Serão utilizados em todos os experimentos ratos Wistar fêmeas (*Rattus norvegicus*) com peso entre 230 a 250 gramas, provenientes do Biotério do Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais da Universidade Federal do Piauí (UFPI), os animais serão mantidos em condições controladas de temperatura ($21 \pm 2^\circ\text{C}$) e fotoperíodo de 12 horas, tendo livre acesso à alimentação e água.

O teste de toxicidade aguda será realizado segundo protocolo experimental Guideline 423 (OECD, 2001) e desenvolvido seguindo normas de cuidados com animais de laboratório e de bem estar animal segundo aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA 008/12) da Universidade Federal do Piauí. Os camundongos serão divididos de forma aleatória, em grupo de três animais por caixa, a dose administrada uma única vez será de 2000 mg/kg da diosgenina livre (D) ou lipossoma sem o fármaco (L) ou lipossoma contendo diosgenina (LD). Os animais do grupo controle receberam doses isovolumétricas de salina (NaCl 0,9%) por via oral (v.o). As observações ocorrerão 30 minutos e até 240 minutos após a administração seguindo-se por 24 e 72 horas e até um período de 14 dias, as ações comportamentais sistemáticas serão realizadas de acordo com o *screening* hipocrático: a) Estado de consciência e disposição (aparência geral, frêmito vocal e irritabilidade); b) Coordenação motora (atividade geral, resposta ao toque, resposta ao aperto de cauda, contorção abdominal, marcha e reflexo de endireitamento); c) Tônus muscular (tônus das patas, tônus do corpo, força para agarrar e ataxia); d) Reflexos (auricular e corneal); e) Atividade do sistema nervoso central (tremores, convulsões, estimulações, fenômeno de “*Straub*”, sedação, hipnose e anestesia); f) Atividade do sistema nervoso autônomo (lacrimação, ptosis, micção, defecação, piloereção, hipotermia e respiração). (MALONE; ROBICHAUD, 1962; GAZDA et al, 2006).

A avaliação da atividade cardiovascular ocorrerá pelos métodos de canulação arterial e venosa para registro da pressão arterial e da frequência cardíaca e avaliação do efeito dos LD sobre a Pressão Arterial e Frequência Cardíaca em ratos (BERNDT et al., 2012).

Resultados Esperados

O encapsulamento da diosgenina em lipossomas proporcionará um melhor perfil farmacocinético e farmacodinâmico da diosgenina, de modo a aperfeiçoar sua aplicação farmacológica. Segundo Magalhães e Mosqueira (2010) o encapsulamento de fármacos em lipossomas proporciona liberação controlada do

fármaco, uma vez que esta aumenta a sua biodisponibilidade e seu tempo de permanência na circulação por manter os níveis séricos do fármaco constante, além disso, favorece maior proteção ao medicamento contra a degradação extracelular, reduz a frequência de administração e a duração do tratamento, além de melhorar a seletividade em relação ao alvo.

A partir disso, surge a importância de se realizar o presente estudo no intuito de avaliar a ação cardioprotetora de lipossomas contendo diosgenina e seu potencial para prevenir e tratar doenças que acometem o sistema cardiovascular, visto que estudos demonstram promissores resultados referentes às características físico-químicas e ao bom direcionamento desses carreadores.

Referências

ANCHIÊTA-JUNIOR, J. J. L.; LIMA, H. R. S.; CAVALCANTE, J. M. F.; LEITE, J. R. S. A.; SANTOS-MAGALHÃES, N. S.; ROLIM, H. M. L. Nanoencapsulação de um peptídeo isolado de anuros: citotoxicidade in vitro em células tumorais humanas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 1, p. 119-125, 2014.

BERNDT, K; VOGEL, J; BUEHLER, C; VOGT, P; BORN, W; FUCHS, B. A new method for repeated drug infusion into the femoral artery of mice. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 51, n. 6, p. 825-31, 2012.

CHEN, F. X.; ZHAO, M. R.; LIU, C. C.; PENG, F. F.; REN, B. Z. Determination and correlation of the solubility for diosgenin in alcohol solvents. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 50, p. 1-6, 2012.

CHEN, F. X.; ZHAO, M. R.; LIU, C. C.; PENG, F. F.; REN, B. Z. Application of the NRTL method to correlate solubility of diosgenin. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 71, p. 231-235, 2014.

DIAS, K. L. G.; CORREIA, N. A.; PEREIRA, K. K. G.; BARBOSA-FILHO, J. M.; CAVALCANTE, K. V. M.; ARAÚJO, I. G. A.; SILVA, D. F.; GUEDES, D. N.; NETO, M. A.; BENDHACK, L. M.; MEDEIROS, I. A. Mechanisms involved in the vasodilator effect induced by diosgenin in rat superior mesenteric artery. **European Journal of Pharmacology**, v. 574, p.172–178, 2007.

ESFANDIAREI, M.; LAM, J. T. N.; YAZDI, S.A.; KARIMINIA, A.; DORADO, J.N.; KUZELJEVIC, B.; SYONG, H. T.; HU, K.; BREEMEN, C.V. Diosgenin Modulates Vascular Smooth Muscle Cell Function by Regulating Cell Viability, Migration, and Calcium Homeostasis. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 336, p. 925-939, 2011.

GRUPTA, A.; ARORA, A.; MENAKSHI, A.; SEHGAL, A.; SEHGAL, R. Nanotechnology and Its Applications in Drug Delivery: A Review. **International Journal of Medicine and Molecular Medicine**, v. 3, n. 1, p. 1-9, 2012.

GONG, G.; QIN, Y.; HUANG, W.; ZHOU, S.; WU, X.; YANG, Y.; ZHAO, Y. Protective effects of diosgenin in the hyperlipidemic rat model and in human vascular endothelial cells against hydrogen peroxide-induced apoptosis. **Chemico-Biological Interactions**, v. 184, p. 366-375, 2010.

LIRA, M.C.B.; SIQUEIRA-MOURA, M.P.; ROLIM-SANTOS, H.M.L.; GALETTI, F. C. S.; SIMONI, A. R.; SANTOS, N. P.; EGITO, E.S.T.; SILVA, C.L.; TEDESCO, A.C.; SANTOS-MAGALHÃES, N. S. In vitro uptake and antimycobacterial activity of liposomal usnic acid formulation. **Journal of Liposome Research**, v. 19, p. 49-58, 2009.

MAGALHÃES, N.S.S; MOSQUEIRA, V. C. F. Nanotechnology applied to the treatment of malaria. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n. 4, p. 560-575, 2010.

MORENO, L. C.; SILVA-OLIVEIRA, G. Z.; CAVALCANTI, I. M.; SANTOS MAGALHÃES, N. S.; ROLIM, H. M.; FREITAS, R. M. Development and evaluation of liposomal formulation containing nimodipine on anxiolytic activity in mice. **Pharmacology biochemistry and behavior**, v. 116, p. 64-8, 2014.

OKAWARA, M.; TOKUDOME, Y.; TODO, H.; SUGIBAYASHI, K.; HASHIMOTO, F. Effect of β -Cyclodextrin Derivatives on the Diosgenin Absorption in Caco-2 Cell Monolayer and Rats. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 37(1), p. 54–59, 2014.

OKAWARA, M.; TOKUDOME, Y.; TODO, H.; SUGIBAYASHI, K.; HASHIMOTO, F. Enhancement of Diosgenin Distribution in the Skin by Cyclodextrin Complexation Following Oral Administration. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 36(1), p. 36–40, 2013.

PATEL, K.; GADEWAR, M.; TAHILYANI, V.; PATEL, D. S. A review on pharmacological and analytical aspects of diosgenin: a concise report. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 2, p. 46–52, 2012.

XU, T.; ZHANG, S.; ZHENG, L.; YIN, L.; XU, L.; PENG, J. A 90-day subchronic toxicological assessment of dioscin, a natural steroid saponin, in Sprague–Dawley rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p. 1279–1287, 2012.

CS31 - Avaliação da toxicidade aguda do (-)-mirtenol em ratos Wistar

Oskar Almeida Silva (IC)^{1*}; Aline Jeane Costa Sousa (IC)²; Rivelilson Mendes de Freitas (PQ)¹; Maria das Graças Freire Medeiros (PQ)¹

1. Universidade Federal do Piauí – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGCF

2. Universidade Federal do Piauí – Curso de Graduação em Farmácia - PIBIC

*oskar_almeida@hotmail.com

Palavras-chave: Comportamento. (-)-Mirtenol. Monoterpeno. Toxicidade Aguda.

Resumo

O (-)-mirtenol é um monoterpeno com viabilidade farmacológica comprovada, desenvolvendo ação no sistema nervoso central, atividades anti-inflamatórias e antinocepsiva, representa fonte promissora para o desenvolvimento de novas ferramentas terapêuticas. O presente estudo tem como objetivo avaliar a toxicidade aguda do mirtenol em ratos adultos após tratamento com a dose única de 2 g kg⁻¹. Foram utilizados ratos Wistar albinos, pesando entre 250 a 300 g divididos em grupos de machos e fêmeas, com três animais por grupo. Os animais foram tratados por via intraperitoneal e oral, com (-)-mirtenol em única dose de 2 g kg⁻¹ seguindo as recomendações da Agência Reguladora Nacional do ano de 2013. Para a avaliação da toxicidade observou-se as respostas comportamentais, bem como a taxa de mortalidade, peso corpóreo, consumo de água e ração, produção de excretas durante 14 dias. Após o período de observação, os animais foram sacrificados e realizado a análise morfológica e macroscópica dos principais órgãos. No Screening hipocrático foi verificado a ausência de mortalidade e os sinais clínicos foram discretos. Como estudo preliminar de toxicidade, não foi observado toxicidade aguda do (-)-mirtenol, tendo assim, um nível de segurança aceitável, possibilitando a viabilidade para o desenvolvimento de novas pesquisas e futuros fitofármacos.

Introdução

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, 80% da população dos países em desenvolvimento utilizam-se de plantas medicinais por falta de acesso a outros tratamentos (SANTOS et al., 2013), porém muitas delas apresentam toxicidade relacionadas a constituintes presentes em sua composição (COAN; MATIAS, 2014) desta forma é de fundamental importância estudos toxicológicos da planta e de seus constituintes ativos, para garantir a qualidade, eficácia, segurança e conhecimento de seus efeitos adversos (SACHETTI et al., 2009). Dentre as plantas medicinais podemos destacar as aromáticas, ricas em óleos essenciais, evocadas como fontes relevantes de produtos naturais (JÚNIOR, GRAÇA; SCHEFFER, 2004).

Nas flores e folhas das plantas aromáticas podemos encontrar os monoterpenos, que são metabolitos secundários constituintes dos óleos essenciais de várias destas espécies (CHAUDHARY et al., 2013). A utilização de modelos animais para experimentação é de suma importância na pesquisa científica, principalmente para o desenvolvimento de novos medicamentos. Dentre todas as espécies utilizadas durante os últimos anos, os roedores são as de maior destaque por possuírem características favoráveis

para a prática científica como tamanho reduzido, ciclo reprodutivo curto, prole numerosa, precocidade, nutrição variada, fácil domesticação, adaptação a ambientes variados e sociabilidade (LIMA et al., 2014).

Os roedores são as espécies mais comumente utilizada na avaliação da toxicidade aguda de extratos ou isolados (PAUMGARTTEN et al., 1989; DE ALMEIDA et al., 2012; KOUADIO et al., 2014; XU et al., 2014), possibilitando a verificação do potencial de novas substâncias e produtos que causam danos à saúde humana, bem como classificar essas substâncias de acordo com seu grau de letalidade ou toxicidade (VALADARES, 2007).

Material e Métodos

Foram utilizados 18 ratos *Wistar* 9 machos e 9 fêmeas albinos, divididos em 6 grupos com 3 animais por cada grupo, pesando entre 250 a 300 g, todos com aproximadamente 3 meses de idade, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Agrárias - CCA da Universidade Federal do Piauí (UFPI). Os animais foram mantidos sob condições monitoradas de temperatura equivalente a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, com livre acesso a ração tipo pellets (Purina®) e água, mantidos em ciclo claro/escuro de 12 horas, sendo a fase clara de 6h00 às 18h00. Todos os experimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPI - CEEA/UFPI sob protocolo número 013/11. Para realização dos testes o monoterpene utilizado foi adquirido da Sigma Aldrich ® com grau de pureza de 99%, e emulsionado em Tween 80 0,05% dissolvido em solução salina 0,9% (veículo).

Os animais foram tratados por via intraperitoneal e oral, com solução de mirtenol em única dose de 2 g kg^{-1} de acordo com a resolução da ANVISA de 31 de Janeiro de 2013. Para estudo de toxicidade aguda em dose única, o grupo controle foi tratado com Tween 80 (0,05%) dissolvido em solução salina 0,9% (veículo). Após trinta minutos da administração os animais foram colocados em gaiolas de polipropileno, divididos em grupo de três animais por gaiola e observados durante quatro horas continuamente a fim de avaliar possíveis alterações comportamentais, e após 24 horas, foram observados uma vez ao dia durante os 14 dias, a fim de registra possível mortalidade causada pelo (-)-mirtenol.

Os animais foram avaliados e observados por meio de estudos comportamentais, bem como o peso corpóreo, consumo de água e ração e produção de excretas durante os 14 dias de observação. Após esse período, foram sacrificados para análise morfológica macroscópica dos principais órgãos.

Screening hipocrático

Após a administração do mirtenol nos grupos experimentais, foram observados os seguintes parâmetros: atividade geral, anestesia, ataxia, cianose, contorção, crise epiléticas, calda em *straub*, frêmito vocal, irritabilidade, resposta ao toque, reflexo de endireitamento, tônus muscular, força para agarrar, reflexo auricular, reflexo corneal, tremores, hipnose, lacrimação, ptose palpebral, micção, defecação, piloereção, hipotermia, respiração, hiperemia, morte (SANTANA et al., 2013).

Teste de campo aberto

O campo aberto é uma caixa de acrílico com paredes transparentes e piso preto, dividido em nove quadrados de área igual. Este teste é utilizado para avaliar a atividade exploratória do animal como número de cruzamentos de quadrantes e números de comportamentos de autolimpeza (*grooming*) e número de levantamentos sem encostar-se nas paredes (*rearing*) (ARCHER, 1973; SOUSA et al., 2007).

Teste da barra giratória

O teste da barra giratória consiste em colocar o animal com as quatro patas em uma barra giratória a uma velocidade constante de 12 rpm, para avaliar uma possível ação relaxamento muscular ocasionado pela administração da substância testada. Os parâmetros observados são o número de quedas (até três quedas) e o tempo de permanência na barra durante 1 min (DUNHAM; MIYA, 1957; GUIMARÃES et al., 2010; BARTH; MODY, 2014).

Resultados e Discussão

Screening hipocrático

Após avaliação do Screening hipocrático todos os animais dos diferentes sexos (macho e fêmea) e diferentes vias (oral e intraperitoneal), que receberam a dose única de 2 g kg⁻¹ de mirtenol não foi observada nenhuma morte, na via intraperitoneal foram observados alteração na respiração dita ofegante, sinais de anestesia e diminuição do reflexo corneal, enquanto que via oral não apresentou nenhuma alteração. Este tipo de avaliação fornece uma estimativa geral de natureza farmacológica e toxicológica de uma substância desconhecida, principalmente sua influência no estado de consciência e disposição, coordenação motora, reflexos, atividade sobre o sistema nervoso central e sistema neurovegetativo dos animais testados (SILVA et al., 2007).

Teste da barra giratória

No teste da barra giratória, foi observada uma redução significativa no tempo de permanência na barra de 31,65; 41,1; 28,8 e 43,8 %, nos grupos tratados com (-)-mirtenol respectivamente MIR FeV.O (mirtenol 2 g kg⁻¹, fêmeas via oral; 120,7 ± 5,8), MIR MaV.O (mirtenol: 2 g kg⁻¹, machos via oral; 104,0 ± 5,0), MIR FeV.I.P (mirtenol 2 g kg⁻¹, fêmeas via intraperitoneal; 125,7 ± 4,1) e MIR MaV.O (mirtenol 2 g kg⁻¹, machos via intraperitoneal; 99,2 ± 3,5) quando comparados com o com o veículo (controle negativo; 170,6 ± 0,949; p<0,05;) conseqüentemente houve o aumento do número de quedas em 43,76; 56,24; 56,24 e 56,24 %, nos grupos tratados com (-)-mirtenol respectivamente MIR FeV.O (mirtenol 2 g kg⁻¹, fêmeas via oral; 2,56 ± 0,22), MIR MaV.O (mirtenol: 2 g kg⁻¹, machos via oral; 2,78 ± 0,11), MIR FeV.I.P (mirtenol 2 g kg⁻¹, fêmeas via intraperitoneal; 2,78 ± 0,11) e MIR MaV.O (mirtenol 2 g kg⁻¹, machos via intraperitoneal; 2,78 ± 0,11) quando comparados com o com o veículo (controle negativo; 1,78 ± 0,22; p<0,05;) sugerindo um possível efeito sedativo.

Teste do campo aberto

Na avaliação da atividade locomotora espontânea não foi evidenciada diferença significativa no número de cruzamentos, número de groomings e número rearings (p<0,05) em relação ao grupo controle, apesar das oscilações decorridas durante todo o tratamento.

Na avaliação da atividade locomotora espontânea, foi observada um aumento significativa no número de cruzamentos de 79,70; 4166,0; 62,75 e 171,20 %, nos grupos tratados com (-)-mirtenol respectivamente MIR FeV.O (mirtenol 2 g kg⁻¹, fêmeas via oral; 11,78 ± 0,78), MIR MaV.O (mirtenol: 2 g kg⁻¹, machos via oral; 17,44 ± 2,89), MIR FeV.I.P (mirtenol 2 g kg⁻¹, fêmeas via intraperitoneal; 10,7 ± 10,67) e MIR MaV.O (mirtenol 2 g kg⁻¹, machos via intraperitoneal; 17,78 ± 1,97) quando comparados com o com o veículo (controle negativo; 6,56 ± 0,40; p<0,05;).

Observado uma diminuição no números de levantamento apoiado apenas nas patas traseiras (rearing) de 66,67; 41,75; 63,9 e 66,67 %, nos grupos tratados com (-)-mirtenol respectivamente MIR FeV.O (mirtenol 2 g kg⁻¹, fêmeas via oral; 1,33 ± 0,0), MIR MaV.O (mirtenol: 2 g kg⁻¹, machos via oral; 2,33 ± 0,33), MIR FeV.I.P (mirtenol 2 g kg⁻¹, fêmeas via intraperitoneal; 1,44 ± 0,11) e MIR MaV.O (mirtenol 2 g kg⁻¹, machos via intraperitoneal; 1,33 ± 0,19) em relação ao veículo (controle negativo; 4,00 ± 0,19; p<0,05;).

Em relação ao número de movimento de autolimpeza do animais tratados com(-)-mirtenol foi observado um aumento significativo de 33,35; 30,55; 13,9 e 25,00 %, nos respectivos grupos MIR FeV.O (mirtenol 2 g kg⁻¹, fêmeas via oral; 5,33 ± 1,9), MIR MaV.O (mirtenol: 2 g kg⁻¹, machos via oral; 5,22 ± 0,22), MIR FeV.I.P (mirtenol 2 g kg⁻¹, fêmeas via intraperitoneal; 4,56 ± 0,29) e MIR MaV.O (mirtenol 2 g kg⁻¹, machos via intraperitoneal; 5,00 ± 0,57) em relação ao veículo (controle negativo; 4,00 ± 0,00; p<0,05;). Número de movimento de autolimpeza.

Os resultados obtidos com o presente estudo indicam que o (-)-mirtenol não causou mortalidade dos animais até 14 dias após administração da dose testada, sugerindo uma baixa toxicidade para o (-)-mirtenol.

Conclusão

De acordo com os resultados encontrados, o (-)-mirtenol não apresentou toxicidade na dose única de 2 g kg⁻¹ em ratos *Wistar* albinos de ambos os sexos, por via oral e intraperitoneal, viabilizando um certo grau de segurança para a sua utilização em estudos futuros de viabilização de futuro fitofármacos.

Referências

- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Animal behaviour**, v. 21, n. 2, p. 205-235, 1973.
- BARTH, A. M.; MODY, I. Novel test of motor and other dysfunctions in mouse neurological disease models. **Journal of neuroscience methods**, v. 221, p. 151-158, 2014.
- CHAUDHARY, H.; ROHILLA, A.; RATHEE, P.; Kumar, V. Optimization and formulation design of carbopol loaded Piroxicam gel using novel penetration enhancers. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 55, p. 246-253, 2013.
- COAN, C. M.; MATIAS, T. A utilização das plantas medicinais pela comunidade indígena de Ventarra Alta-RS. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 9, n. 1, 2014.
- DE ALMEIDA, A. A. C.; COSTA, J. P.; DE CARVALHO, R. B. F.; DE SOUSA, D. P.; DE FREITAS, R. M. Evaluation of acute toxicity of a natural compound (+)-limonene epoxide and its anxiolytic-like action. **Brain research**, v. 1448, p. 56-62, 2012.
- DUNHAM, N.; MIYA, T. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. **Journal of the American Pharmaceutical Association**, v. 46, n. 3, p. 208-209, 1957.
- GUIMARÃES, A. G.; OLIVEIRA, G. F.; MELO, M. S.; CAVALCANTI, S. C.; ANTONIOLLI, A. R.; BONJARDIM, L. R.; SILVA, F. A.; SANTOS, J. P. A.; ROCHA, R. F.; MOREIRA, J. C. F. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 107, n. 6, p. 949-957, 2010.
- JÚNIOR, C. C.; GRAÇA, L. R.; SCHEFFER, M. C. **Complexo agroindustrial das plantas medicinais, aromáticas e condimentares no Estado do Paraná: diagnóstico e perspectivas**. Sociedade Paranaense de Plantas Medicinais, 2004.
- KOUADIO, J. H.; BLEYERE, M. N.; KONE, M.; DANO, S. D. et al. Acute and Sub-Acute Toxicity of Aqueous Extract of *Nauclea Latifolia* in Swiss Mice and in OFA Rats. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 13, n. 1, p. 109-115, 2014.
- LIMA, C. M.; LIMA, A. K.; MELO, M. G. D.; DÓRIA, G. A. A.; SERAFINI, M. R.; ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R. L. C.; ARAÚJO, A. A. S. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem *Wistar*) provenientes do biotério da Universidade Tiradentes. **Scientia Plena**, v. 10, n. 3, 2014.
- PAUMGARTTEN, F. J.; DELGADO, I. F.; ALVES, E. N.; NOGUEIRA, A. C.; DE FARIAS, R. C.; NEUBERT, D. Single dose toxicity study of beta-myrcene, a natural analgesic substance. **Brazilian journal of medical and biological research Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas**, v. 23, n. 9, p. 873-877, 1989.
- SACHETTI, C. G.; FASCINELI, M. L.; SAMPAIO, J. A.; LAMEIRA, O. A.; Caldas, E. D. Avaliação da toxicidade aguda e potencial neurotóxico do óleo-resina de copaíba (*Copaifera reticulata* Ducke, Fabaceae). **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 937-941, 2009.
- SANTANA, L. C. L. R.; BRITO, M. R. M.; SOUSA, G. F.; FREITAS, R. M. Physicochemical properties and acute toxicity evaluation of ethanol extract of the leaves from *Mikania glomerata* Sprengel. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 15, n. 4, p. 742-750, 2013.
- SANTOS, R. L.; NOBRE, M. S. D. C.; GUIMARÃES, G. P.; DANTAS, T. B.; VIEIRA, K. V. M.; FELISMINO, D. D. C.; DANTAS, I. C. Contaminação fúngica de plantas medicinais utilizadas em chás. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 2, p. 289-293, 2013.
- SILVA, M. I. G.; DE AQUINO NETO, M. R.; TEIXEIRA NETO, P. F.; MOURA, B. A.; DO AMARAL, J. F.; DE SOUSA, D. P.; VASCONCELOS, S. M. M.; DE SOUSA, F. C. F. Central nervous system activity of acute

administration of isopulegol in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 88, n. 2, p. 141-147, 2007.

SOUSA, D. P. D.; NÓBREGA, F. F.; CLAUDINO, F. S.; ALMEIDA, R. N. D.; LEITE, J. R.; MATTEI, R. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 2, p. 170-175, 2007.

VALADARES, M. C. Avaliação de toxicidade aguda: estratégias após a “era do teste DL₅₀ “. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, 2007.

XU, J.; HU, Z.-Q.; WANG, C.; YIN, Z.-Q.; WEI, Q.; ZHOU, L.-J.; LI, L.; DU, Y.-H.; JIA, R.-Y.; LI, M. **International journal of clinical and experimental pathology**, v. 7, n. 4, p. 1495, 2014.

CS32 - Utilização do fruto *Morinda citrifolia* “Noni” como agente benéfico para a saúde

Paulo Henrique de Araújo Viana (IC)^{1*}; Adriana de Oliveira Silva (IC)¹; Keylla da Conceição Machado (PQ)²

1. Faculdade de Tecnologia de Teresina – CET – Curso de Graduação Biomedicina
2. Faculdade de Tecnologia de Teresina – CET - Professora da disciplina de Farmacologia.

*ph.henriq@hotmail.com

Palavras-chave: Noni. Fitoterápicos. Benefícios do Noni. Efeitos do Noni.

Resumo

A *Morinda citrifoliam* normalmente conhecida por noni, é uma pequena árvore da família das Rubiaceae, originária do sudoeste da Ásia. O emprego tradicional do noni pelos polinésios está atribuído aos efeitos relacionados com atividade antibacteriana, antiviral, antifúngica, antitumoral, anti-helmíntica, analgésica, anti-inflamatória, hipotensora e imunoestimulante. O presente trabalho teve como objetivo identificar e aprimorar através da literatura científica conhecimentos referentes ao fruto noni, evidenciando seus benefícios para a saúde e os casos em que pode causar efeitos adversos. Este estudo consiste em revisão de bibliografia, com natureza qualitativa, baseado em materiais já elaborados, retirados de artigos científicos, periódicos e dissertações com a finalidade de aprimorar os conhecimentos sobre a *Morinda citrifoliam*. As principais vitaminas presentes são a vitamina A e a vitamina C em grande quantidade o que justifica seu potencial antioxidante. Durante a busca de materiais utilizando as palavras chave para realização da revisão de literatura foram encontrados nas bases de dados *Scielo*, *Lilacs* e *Bireme* o total de 1272 artigos, evidenciando que o fruto *Morinda Citrifoliam* é de bastante interesse para a população no que diz respeito aos seus verdadeiro benefícios ao organismo humano. Como qualquer composto xenobiótico seu uso de forma exagerada e inadequada pode trazer sérios efeitos colaterais. Entende-se que a administração do suco do noni de maneira adequada pode ser um importante agente na busca pela saúde.

Introdução

A *Morinda citrifoliam* normalmente conhecida por noni, é uma pequena árvore da família das Rubiaceae, originária do sudoeste da Ásia, tendo sido difundida pelo homem por meio da Índia, e do Oceano Pacífico até as ilhas da Polinésia Francesa, onde se situa o Taiti. O emprego tradicional do noni pelos polinésios está atribuído aos efeitos relacionados com atividade antibacteriana, antiviral, antifúngica, antitumoral, anti-helmíntica, analgésica, anti-inflamatória, hipotensora e imunoestimulante, usado há mais de 2000 anos (WANG et al., 2002).

Fitoterápicos são medicamentos obtidos sendo empregado, como princípio-ativo, exclusivamente derivados de drogas vegetais. São caracterizados pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, como também pela constância de sua qualidade. Fitoterápicos são regulamentados no Brasil como

medicamentos convencionais e têm que apresentar critérios similares de qualidade, segurança e eficácia requeridos pela ANVISA para todos os medicamentos (ANVISA, 2004).

Segundo Rosa e colaboradores, nas últimas décadas o interesse pela fitoterapia teve um aumento considerável entre usuários, pesquisadores e serviços de saúde. Na Declaração de Alma-Ata, em 1978, a Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece que 80% da população dos países em desenvolvimento utilizam práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde e 85% usam plantas ou preparações destas. Desde então, a OMS tem expressado a sua posição a respeito da necessidade de valorizar a utilização de plantas medicinais no âmbito sanitário e na atenção básica à saúde.

De acordo com a Associação Brasileira de Empresas de Vendas Diretas (ABEVD) existe mais de 18.000 distribuidores dos produtos derivados do noni cadastrados no país, sendo o Brasil o quinto mercado de TAHITIAN NONI® no mundo. Além da comercialização do suco de noni também estão à venda cápsulas de extrato seco e cápsulas do pó da planta através das farmácias de manipulação e há divulgação de suas propriedades medicinais e curativas através dos meios de comunicação (MULLER, 2007).

O trabalho tem importância devido ao misticismo que se formou referentes as curas que este fruto propicia. Visto isto entende-se que precisam ser feitos estudos para elucidar as verdades sobre o noni, mostrando seus efeitos para a saúde humana.

O presente trabalho teve como objetivo identificar e aprimorar por meio da literatura científica conhecimentos referentes ao fruto noni, evidenciando seus benefícios para a saúde e os casos em que pode causar efeitos adversos.

Materiais e Métodos

Este estudo consistem em uma revisão de bibliografia, com natureza qualitativa e quantitativa, baseado em materiais já elaborados, retirados de artigos científicos, periódicos e dissertações com a finalidade de aprimorar os conhecimentos sobre a *Morinda citrifoliam*. Foi utilizado como metodologia a seleção de artigos científicos e periódicos coletados e triados de acordo com o interesse e relevância, excluindo artigos publicados antes de 2002 e que não se adequavam aos objetivos propostos para o trabalho. Material foi coletado nas plataformas: Scielo, Lilacs e Bireme, com documentos em português, inglês e espanhol entre os anos 2002 a 2014.

Informações referentes a regulamentação e comercialização do noni foram retirados de documentos e informativos disponibilizados no site da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que é o órgão responsável por estas atribuições. A busca por material ocorreu durante os meses de setembro e outubro de 2014.

Resultados e Discussão

Durante a busca por materiais utilizando as palavras chave para a realização da revisão científica foram encontrados nas bases de dados *Scielo*, *Lilacs* e *Bireme* o total de 1272 artigos, evidenciando que o fruto *Morinda citrifoliam* é de bastante interesse para a população no que diz respeito aos seus verdadeiros benefícios ao organismo humano (Quadro 1).

Quadro 1. Quantidade de artigos encontrados de acordo com as palavras chave.

Palavras Chave	Bases de dados pesquisadas		
	Scielo	Lilacs	Bireme
Noni	16	25	395
Fitoterápicos	157	255	330
Benefícios do noni	0	2	2
Efeitos do noni	0	5	89

O noni, fruto nativo do sudeste da Ásia (Indonésia) e da Austrália, é conhecido, entre outros nomes vulgares, como Ba Ji Tian, Nonu, Indian Mulberry, Canary wood e Cheese fruit. Os cultivos comerciais de noni podem ser encontrados no Taiti, Havaí e outros países da Polinésia, onde se fabricam a maioria dos sucos comercializados no mundo. Como não existe cultivares selecionados, a exploração comercial de noni

dá-se a partir de plantas originadas de sementes. A denominação botânica do gênero é devida à união das palavras latinas *morus* (amora) e *indicus* (Índia), justificada pela semelhança ao fruto de *Morus alba* L. O nome da espécie indica que a folhagem da planta é similar a alguns tipos de citros. Pertence à família Rubiaceae, mesma do cafeeiro, essa frutífera possui arquitetura de copa similar ao sistema radicular, sendo que a planta adulta atinge de 3 a 10 m de altura e permanece enfolhada o ano todo. Dependendo da origem do material ou do local de cultivo, as plantas podem não desenvolver uma copa típica e permanecem com aspecto arbustivo (TOMBOLATO et al., 2005).

Atualmente, um número expressivo de plantas nativas e exóticas, com potencial socioeconômico para a região Nordeste do Brasil, está sendo cultivado de maneira empírica. Entre essas espécies, merece atenção especial a *Morinda citrifolia* L., pertencente à família Rubiaceae e popularmente conhecida por noni, pelo seu elevado valor de mercado e adaptabilidade às condições e dafoclimáticas do Nordeste brasileiro (SOUSA, 2010).

O fruto do noni é rico em água (90%) e os principais componentes da matéria seca parecem ser sólidos solúveis, fibras dietéticas e proteínas. O teor de proteínas chega a 11,3%, os aminoácidos principais são o ácido aspártico, ácido glutâmico e isoleucina. Os minerais correspondem a 8,4% do peso seco, e são principalmente potássio, cálcio, enxofre e fósforo (CHAN-BLANCO et al., 2006). Em uma de suas publicações BARROS, 2008 afirma que as principais vitaminas presentes são a vitamina A e a vitamina C em grande quantidade o que justifica seu potencial antioxidante (BARROS, 2008).

Apesar do uso de plantas medicinais para tratamento, cura e prevenção de determinadas doenças ser uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade e estar apoiada em um conhecimento consolidado por séculos de observação, planta medicinal não é sinônimo de inocuidade. Ao contrário do senso comum de que “medicamento natural se não fizer bem, mal não faz” a planta medicinal é um xenobiótico, ou seja, um produto estranho ao organismo com finalidades terapêuticas, que ao ser introduzido no organismo humano sofre biotransformação e pode desta forma, gerar produtos tóxicos (OLIVEIRA, 2014)

Trabalhos científicos recentes vêm comprovando e dando suporte ao senso comum polinesiano, que defendia o emprego de noni para prevenção e cura de algumas enfermidades. Consta que o fruto é um poderoso antioxidante natural e que o seu consumo diário, na forma de suco, auxilia o sistema imunológico e aumenta a capacidade das células na absorção de nutrientes. Um dos principais componentes encontrados na fruta é a Proxeronina, precursora do alcaloide Xeronina que ativa as enzimas catalisadoras do metabolismo celular. Além dessa substância encontrada na fruta, há muitas outras presentes nas folhas, flores e raízes, também empregadas terapeuticamente no tratamento e prevenção de doenças (TOMBOLATO et al., 2005).

Uma das teorias mais utilizadas para explicar a função do noni está relacionada com a proxeronina quando chega a partes específicas das células, como as mitocôndrias, os microssomas, o aparelho de Golgi, o retículo endotelial, os sistemas de transporte de elétrons, DNA, RNA e dentro destas estruturas se combina com outros agentes bioquímicos naturais e blocos construtores (hormônios, proteínas, enzimas, serotonina, vitaminas, minerais e antioxidantes) onde age, pela corrente sanguínea, nas células do organismo. Esta combinação se converte em xeronina, que ajuda a célula na sua reparação e regeneração. Devido a essas propriedades, a xeronina intervém potencialmente no corpo humano de muitas maneiras, que vão desde o aumento da vitalidade de uma pessoa até a redução da dependência das drogas. Os transtornos internos e neurogênicos também podem reagir positivamente à xeronina devido à sua habilidade de normalizar as proteínas encontradas em todos os tecidos vivos essenciais, até do cérebro (LAVAUT, 2003).

A ANVISA, órgão responsável pela regulamentação de fitoterápicos no Brasil alerta em informe de 2007, para o fato de que não existem estudos suficientes sobre a eficácia do Noni e que os estudos existente divergem sobre sua segurança, por conta de alguns trabalhos científicos produzidos relacionarem o consumo do suco de Noni com casos de hepatotoxicidade. Fatos que impedem a sua regulamentação e consequentemente sua comercialização para consumo diário (ANVISA, 2007).

Muitos dos efeitos benéficos não são comprovados cientificamente, alguns estudos citam que entre as doenças tratadas com mais efetividade estão: a alergia, artrites, asma, câncer, depressão, diabetes, digestão, aumento da energia, doenças do coração, rins, ciclo menstrual, doenças mentais, musculares, obesidade, dores de cabeça, apetite sexual, insônia e stress. Mencionam, também, que alguns sintomas do

HIV foram diminuídos, assim como da esclerose e da paralisia; e eliminaram o hábito de fumar em mais de 50 % dos tratados para cada doença (LAVAUT, 2003).

Embora existam inúmeros trabalhos e evidências positivas sobre a utilização do Noni, deve ser salientado informações sobre efeitos adversos resultantes de sua ingestão. Segundo CHITARRA, citado por MATOSO et al., 2013, O noni pode apresentar alguns efeitos colaterais como náuseas, dores epigástricas, constipação ou diarreia, inchaço, tosse, dores de cabeça e erupção cutâneas. Estes efeitos são geralmente experimentados quando grande quantidade de noni é consumido. Para evitar o excesso da utilização do suco de noni e conseqüentemente seus efeitos colaterais, é recomendável ingerir 20 – 30 mL de suco. Deve-se tomar uma vez ao dia em jejum e a duração do tratamento não deve exceder seis meses.

Conclusão

A partir da análise e estudo dos materiais coletados foi possível constatar que o fruto da *morinda citrifolia* nos últimos anos tornou-se um importante aliado na busca pela saúde e bem estar, principalmente pelo conhecimento empírico que o acompanha como um “cura-tudo”. O confronto entre estudos sobre o presente fruto confirmou que existem inúmeras propriedades em sua constituição que contribuem significativamente na saúde de seus usuários, mas como qualquer outro composto xenobiótico seu uso de forma exagerada e inadequada pode trazer sérios efeitos colaterais. Entende-se que a administração do suco do noni pode ser um importante aliado na busca pela saúde.

Referências

Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) 48/2004**. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/orientacao_RDC48.pdf. Acessado em: 12/out/2014;

Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Informe Técnico nº. 25, de 29 de maio de 2007, atualizado em 18 de junho de 2008**. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/informes/25_290507.htm. Acessado em: 12/out/2014;

BARROS, S. P.; MAIA, G. A. BRITO, E. S.; SOUZA NETO, M. A. SOUSA, J. A. **Caracterização físico-química da polpa de noni (*Morinda citrifolia*)**. XX Congresso de Fitoricultura. ES, 2008;

CHAN-BLANCO, Y.; VAILLANT, F.; PEREZ, A.M.; REYNES, M.; BRILLOUET, J. M.; BRAT, P. The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. **Journal of Food Composition and Analysis** 19 (2006) 645–654.

GONZALEZ LAVAUT, N.E.; GONZALEZ LAVAUT, J.A.; *Morinda citrifolia* Linn: potencialidades para su utilización en la salud humana. **Revista Cubana de Farmácia**. 2003, vol.37, n.3, pp. 1-1. ISSN 1561-2988

MATOSO, L.M.L.; DE MELO, C.C.R.; MENEZES, L.M.C.S.; DE OLIVEIRA, L.E.; DUARTE, K.K.O.; Características e a utilização do noni (*Morinda citrifolia*). **C&D-Revista Eletrônica da Fainor**, Vitória da Conquista, v.6, n.1, p.42-50, jan./jun. 2013

MULLER, J. C. **Toxicidade reprodutiva da *Morinda citrifolia* Linn**. Dissertação. UFPR, Curitiba, 2007.

ROSA, CAROLINE DA; CAMARA, S.G; BERIA, J.U; Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. **Ciência e Saúde Coletiva**. 2011, vol.16, n.1, pp. 311-318. ISSN 1413-8123.

SOUZA, JOÃO ALENCAR DE et al., **Produção de mudas de noni (*Morinda citrifolia* L.)**. Comunicado técnico Embrapa. 2010, Fortaleza-CE. ISSN 1679-6535.

OLIVEIRA, L.A.R.; MACHADO, R.D.; RODRIGUES, A.J.L.. Levantamento sobre o uso de plantas medicinais com a terapêutica anticâncer por pacientes da Unidade Oncológica de Anápolis. **Rev. Bras. Plantas Med**. 2014, vol.16, n.1, pp. 32-40. ISSN 1516-0572.

TOMBOLATO, F.C.A; BARBOSA, W; HIROCE, R.; **Noni: frutífera medicinal em introdução e aclimação no Brasil**. Informações técnicas: O agrônomo, Campinas. 2005;57(1):20-1.

WANG, M. Y et al.. *Morinda citrifolia* (Noni): A literature review and recent advances in Noni research. **Acta Pharmacologica Sinica**. n. 12. v. 23, 2002.

CS33 - Avaliação da atividade antitumoral e toxicológica da espécie vegetal *Mimosa caesalpinifolia* Benth

Renata Rosado Drumond (PQ)^{1*}; Paulo Michel Pinheiro Ferreira (PQ)²; Jurandy do Nascimento Silva (PQ)¹

1. Universidade Federal do Piauí – Mestrando (a) do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

2. Universidade Federal do Piauí – Professor do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

*renata.r.d@hotmail.com

Palavras-chave: *Mimosa caesalpinifolia*. Atividade Antitumoral. Toxicidade. Sarcoma 180.

Resumo

O século XX apresentou um avanço extraordinário na pesquisa de produtos naturais, especialmente de plantas e microorganismos, no campo do tratamento oncológico. A *Mimosa caesalpinifolia* Benth é uma árvore nativa do nordeste brasileiro, perene, utilizada para diversas finalidades e na medicina tradicional. Este projeto tem como objetivo avaliar a atividade antitumoral *in vivo* da fração diclorometano (FDCM) da casca do caule da *Mimosa caesalpinifolia* Benth contra o tumor experimental Sarcoma 180 e seus efeitos toxicológicos em camundongos *Swiss* após 7 dias de tratamento com a FDCM (10 e 25 mg/kg/dia, via oral e intraperitoneal).

Introdução

O câncer tem afligido os seres humanos ao longo de sua história. Por ter se tornado um estigma de mortalidade e dor, é uma das doenças que mais causam temor na sociedade (RIOS, 2013).

Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 200 doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células, que invadem tecidos e órgãos (INCA, 2014). Dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores malignos, que podem espalhar-se para outras regiões do corpo. Os tumores malignos são responsáveis por um número expressivo e crescente de pacientes em todo o mundo (COSTA-LOTUFO et al., 2010).

As seis características de câncer que a maioria, se não, todos os tumores necessitam para a progressão do crescimento benigno para maligno são: auto-suficiência em sinais de crescimento, insensibilidade a sinais anticrescimento, capacidade de evadir a apoptose, potencial replicativo ilimitado, sustentada angiogênese e invasão do tecido adjacente (metástase). Recentemente, a sétima marca, câncer relacionado à inflamação (CRI) foi proposta e refere-se à indução de instabilidade genética por mediadores inflamatórios, levando à acumulação de alterações genéticas. CRI é acompanhada de remodelação do tecido e angiogênese (RÄSÄNEN; VAHERI, 2010).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, o câncer está se tornando a maior causa de morte no mundo, deixando para trás o coração e a doença vascular. Pesquisa sobre o câncer tem se concentrado em elucidar mecanismos de progressão do câncer para um melhor diagnóstico e tratamento (RÄSÄNEN; VAHERI, 2010). No Brasil, a estimativa para o ano de 2014, que será válida também para o ano de 2015, aponta para a ocorrência de aproximadamente 576 mil novos casos (INCA, 2014).

Desde os tempos antigos, produtos naturais, ervas e especiarias são utilizados para a prevenção de diversas doenças, incluindo o câncer (MEHTA et al., 2010). O século XX apresentou um avanço extraordinário na pesquisa de produtos naturais, especialmente de plantas e microorganismos, no campo da oncologia propiciando a descoberta de diversas substâncias utilizadas atualmente na terapêutica antineoplásica. A maioria (60%) dos fármacos anticâncer introduzida na terapêutica nas últimas décadas tem sua origem nos produtos naturais (COSTA-LOTUFO et al., 2010). Dentre as espécies vegetais, a *Mimosa caesalpinifolia* Benth é uma árvore nativa do nordeste brasileiro, perene, utilizada para diversas finalidades e na medicina tradicional (SILVA et al., 2014). É amplamente utilizada pela população na forma de infusões para o tratamento de feridas, bronquites e como anti-inflamatório (SILVA et al., 2012).

Este projeto tem como objetivo avaliar a atividade antitumoral *in vivo* da fração diclorometano (FDCM) da casca do caule da *Mimosa caesalpinifolia* Benth e seus efeitos toxicológicos em animais portadores do sarcoma 180.

Materiais e Métodos

Obtenção da FDCM da casca do caule da planta *M. caesalpinifolia*

A fração foi obtida a partir do Departamento de Química da Universidade Federal do Piauí através do procedimento descrito abaixo:

As cascas do caule foram secas à temperatura ambiente e reduzidas a pó fino em moinho de facas. O material obtido (883,54 g) foi macerado com 10 x EtOH na proporção 1:4 de material vegetal/solvente (m/v) com sonicação em banho de ultrassom 30 minutos a cada dia. A fase orgânica (sobrenadante) foi submetida à filtração simples no intervalo de 3 dias e o extrato etanólico reunido foi concentrado à pressão reduzida em evaporador rotativo. Após a remoção do solvente, o extrato foi liofilizado e pesado, obtendo-se 36,63 g de extrato etanólico bruto das cascas do caule (E. EtOH) com rendimento de 4,15%. Parte do extrato (30 g) foi destinada ao processo de partição líquido – líquido. Tal processo foi realizado em funil de separação de 1 L, onde 30,0 g de E. EtOH foi suspensa em 330 mL MeOH/H₂O (2:1/v:v). A fase hidroalcoólica foi extraída exaustivamente com: 6 x 165 mL de hexano, 7 x 165 mL de diclorometano e 12 x 165 mL de acetato de etila, respectivamente. Ao final da obtenção de cada fração, a fase orgânica reunida foi evaporada. A massa adquirida da FDCM foi de 3,94 g (10,75%).

Avaliação da atividade antitumoral *in vivo* – Sarcoma 180

Animais

Serão utilizados camundongos fêmeas albinas (*Mus musculus*) variedade *Swiss*, adultas com 2 (dois) meses de idade, com peso variando de 25-30 gramas, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí. Durante todos os experimentos, os animais serão aclimatados a 25 ± 2 °C e mantidos em gaiolas de acrílico de 30 x 30 cm² com ciclo claro / escuro alternado de 12 horas, receberão ração padrão tipo Purina e água *ad libitum*. Os experimentos serão realizados de acordo com os princípios éticos na experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Todos os procedimentos foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí - UFPI, sob o número 034/14.

Protocolo de Tratamento

O modelo tumoral – tumor sólido Sarcoma 180 - será utilizado após 10 dias de implantação na região intraperitoneal. O líquido ascítico será retirado da cavidade abdominal e preparada uma suspensão de células com 5,0 mL de Ringer lactato, 100 µL de gentamicina (10 mg/mL) e 0,5 mL do líquido ascítico. Nos animais receptores, serão injetadas 2 x 10⁶ células/0,5 mL na região axilar esquerda dos camundongos. Após 24 horas de inoculação, o tratamento será iniciado e realizado durante 7 (sete) dias consecutivos, utilizando como controle negativo, o veículo de diluição (DMSO 4 %) e como controle positivo, o quimioterápico 5-Fluorouracil (25 mg/kg/dia). Para a FDCM, foram estabelecidas as doses de 10 e 25 mg/kg/dia, ambas administradas via intraperitoneal (i.p.) e via oral (v.o.) por gavagem. O animal doador, ou da manutenção, será eutanasiado por administração de pentobarbital sódico (150 mg/kg) via intraperitoneal.

Os animais serão pesados a cada 2 (dois) dias e observados quanto ao aparecimento de qualquer sinal de toxicidade, como diarreia, letargia e convulsões. Os animais serão anestesiados com pentobarbital sódico e a coleta do sangue será realizada por punção cardíaca ventricular. O sangue será acondicionado em dois tipos de tubo: um com anticoagulante, para determinação dos parâmetros hematológicos, e o outro, sem anticoagulante, para obtenção do soro para avaliação dos parâmetros bioquímicos.

No final do experimento, os animais serão sacrificados por deslocamento cervical, sendo seus órgãos (rins, baço, fígado e estômago) e tumores dissecados para avaliação do peso relativo e da atividade antitumoral, respectivamente.

O percentual de inibição do crescimento tumoral (IT) foi calculado pela fórmula:

$$IT (\%) = [(A-B)/A] \times 100$$

Onde:

A = média dos pesos dos tumores no grupo controle.

B = média dos pesos dos tumores nos animais tratados.

Análise dos dados

Os resultados (peso relativo dos órgãos e peso dos tumores) serão expressos como média \pm E.P.M. A diferença entre os grupos será analisada por análise de variância (ANOVA) seguida de Student Newman Keuls usando o programa GraphPad Prism[®] (Intuitive Software for Science, San Diego, CA) e considerada estatisticamente significativa quando $p < 0,05$.

Análise Toxicológica

Parâmetros Bioquímicos

Para análise bioquímica, o material será centrifugado a 3500 rpm durante 10 minutos e, em seguida, determinados os parâmetros glicose, colesterol total, triglicerídeos, creatinina, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (ALP), bilirrubinas total e direta, proteínas totais, albumina, ácido úrico, amilase e isoenzima MB da creatina quinase (CKMB). Os ensaios serão realizados em aparelho automático Bio 2000 (Labtest) com sistemas comerciais da Labtest[®].

Parâmetros Hematológicos

Os valores para eritrócitos, leucócitos, plaquetas, hemoglobina, hematócrito e os índices hematimétricos volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) serão determinados imediatamente após a coleta através do analisador automático de células hematológicas Advia 120/Hematology Siemens. A contagem diferencial de leucócitos será realizada em extensões coradas com May-Grünwald-Giemsa. Em cada ensaio, 100 células serão analisadas e contadas.

Observações Histopatológicas

Imediatamente após a dissecação, os órgãos e os tumores serão armazenados em formalina tamponada 10% para posterior análise macroscópica em relação à cor, tamanho e presença de focos hemorrágicos. Em seguida, os tecidos serão processados, embebidos em parafina e secções de 4 a 6 μ m de espessura serão preparadas em lâminas. Depois de fixadas em formalina tamponada 10%, desparafinizadas em xilol por 15 minutos e desidratadas em álcool em crescentes concentrações, as lâminas serão lavadas em água destilada, coradas com hematoxilina/eosina (H/E) e examinadas em microscópio óptico (400x).

Avaliação da atividade antiproliferativa por imunohistoquímica

A imunohistoquímica (IHQ) é um método capaz de localizar antígenos específicos em tecidos ou células com base no reconhecimento antígeno-anticorpo, conseguindo explorar também a especificidade fornecida por esta ligação a nível de microscopia de luz (COSTA, 2011).

Os tumores serão fixados em solução de formalina tamponada 10%, com tempo de fixação ideal entre 18 e 24 horas, e, posteriormente, incluídos em parafina e seccionados em micrótomo, com espessura variando entre 4 e 6 μ m, “pescados” em lâminas silanizadas. Após o corte, as lâminas serão colocadas para secar em estufa (58 – 60 °C) por, no mínimo 2 horas e, máximo overnight (16 – 18 horas). Em seguida, serão colocadas em bateria de xilol e álcoois graduados até a água destilada para desparafinização e reidratação. Após, será realizada a recuperação antigênica dos tecidos, com tampão de recuperação citrato pH 6,0. As lâminas serão colocadas dentro do tampão já pré-aquecido em banho-maria (95-99 °C), por 30 minutos, e, posteriormente, lavadas em água corrente e, depois, em água destilada. Após a secagem ao redor dos cortes e demarcação com caneta hidrofóbica, será realizado o bloqueio da peroxidase endógena, através da aplicação do peróxido de hidrogênio 3% sobre os cortes de tecido, serão incubados por 20

minutos em temperatura ambiente (20 – 25 °C), depois, lavados em água destilada e um banho de 5 minutos em tampão de lavagem. Mais uma vez, será seco ao redor dos cortes, para a aplicação dos anticorpos primários (CD-31, PCNA, KI-67), que serão incubados por 60 minutos, em temperatura ambiente (T.A). Em seguida, as lâminas serão lavadas mais uma vez em tampão de lavagem. Para sistema de visualização, será aplicado o polímero/HRP e incubadas por 30 minutos em T.A e posteriormente lavadas em tampão de lavagem, para a aplicação do substrato cromógeno (DAB), por 5 minutos (T.A), depois, lavagem em água corrente e destilada. A contra-coloração será feita com H/E e passagem em água amoniacal. Por fim, será realizada a desidratação (bateria de álcoois e xilol) e montagem permanente das lâminas.

Resultados Esperados

- Atividade antitumoral significativa
- Efeito antiproliferativo da fração diclorometano (FDCM) da casca do caule da *M. caesalpinifolia* confirmado por imunohistoquímica
- Toxicidade reduzida ou tolerável

Referências

COSTA-LOTUFO, L. V. et al. A Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Revista Virtual Química**, v.2, n.1, p.47-58, 2010.

COSTA, P. M. **Avaliação do potencial antitumoral e antiangiogênico de novos análogos ftalimídicos da talidomida**. [Tese de Doutorado]. Fortaleza: Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará - UFC, 2011.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). **Estimativa 2014 – Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, 2014.

MEHTA, R. G. MURILLO, G.; NAITHANI, R.; PENG, X. Cancer chemoprevention by natural products: how far have we come? **Pharmacol Research**, v.27, p.950-61, 2010.

RÄSÄNEN, K.; VAHERI, A. Activation of fibroblasts in cancer stroma. **Experimental Cell Research**, p.2713-22, 2010.

RIOS, M. E. F. Estudo da atividade citotóxica e do potencial antitumoral do extrato acetônico das sementes de *Annona muricata* L.(AMSA), em modelos experimentais *in vitro* e *in vivo*. [Dissertação de Mestrado]. Fortaleza: Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará - UFC, 2013.

SILVA, M. J. D. et al. Ethanol extract of *Mimosa caesalpinifolia* leaves: Chemical characterization and cytotoxic effect on human breast cancer MCF-7. **South African Journal of Botany**, v.93, p.64-9, 2014.

SILVA, M. J. D. et al. Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana dos extratos e frações orgânicas de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. (Mimosaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.33, n.2, p.267-74, 2012.

CS34 - Desenvolvimento de complexos de inclusão entre ciclodextrinas modificadas e riparina

Rian Felipe de Melo Araújo (PG)^{1*}; Lívio César Cunha Nunes (PQ)¹; Stanley Juan Chaves Gutierrez (PQ)¹; Geandra Batista Lima Nunes²; Edson Cavalcanti da Silva Filho (PQ)³; José Lamartine Soares Sobrinho (PQ)⁴

1. Universidade Federal do Piauí – Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas
2. Centro de Ensino Unificado de Teresina - CEUT
3. Universidade Federal do Piauí – Pós-graduação em Ciências de Materiais
4. Universidade Federal de Pernambuco – Pós-Graduação em Inovação Terapêutica

*rianfmelo@gmail.com

Palavras-chave: Ciclodextrinas. β -ciclodextrina modificada. Riparina. Complexo de Inclusão.

Resumo

A Riparina é extraída da planta *Aniba riparia*, encontrada na Amazônia e nas Guianas. Do fruto dessa planta foram isoladas três alcaloides: Riparina I, II e III, a partir das quais foram sintetizadas outras moléculas semelhantes. As Riparinas, em estudos *in vivo*, apresentaram atividade antimicrobiana, antifúngica, antiparasitário, citotóxico e antitrombótico. As ciclodextrinas (CD) têm apresentado um papel importante no desenvolvimento de fármacos pouco solúveis em água, por aumentar a solubilidade dos mesmos, devido à sua propriedade de formar complexos de inclusão, atuando como carreadores hidrofílicos de fármacos. A aplicação farmacêutica mais importante das ciclodextrinas é o aumento da solubilidade, estabilidade, segurança e biodisponibilidade de fármacos. No entanto, a β -ciclodextrina, ciclodextrina mais utilizada, também apresenta uma baixa solubilidade em água, representando uma importante limitação da sua aplicação na área farmacêutica. Assim, objetiva-se nesta pesquisa modificar quimicamente a β -ciclodextrina com o intuito de aumentar sua solubilidade e melhorar sua aplicabilidade. Além disso, através do estudo de docagem molecular pretende-se definir qual estrutura molecular da Riparina melhor se complexa com a nova ciclodextrina desenvolvida. Em seguida, o complexo de inclusão será feito e caracterizado com posterior comprovação da eficácia *in vitro*. Com a metodologia supracitada pretende-se: desenvolver uma β -ciclodextrina mais solúvel do que as comercializadas atualmente e utilizá-las na complexação de um fármaco pouco solúvel, melhorando sua eficácia terapêutica. Visto isso, o desenvolvimento de um novo medicamento a partir do complexo riparina: β -ciclodextrina modificada seria promissor, assim como o desenvolvimento da ciclodextrina modificada com suas potenciais aplicações.

Introdução

Ciclodextrinas (CDs) são ferramentas multifuncionais de inigualável importância que tem sido extensamente utilizada pela indústria farmacêutica. Classificam-se como oligossacarídeos com seis a oito unidades de glicose unidas por ligações α -1,4-glicosídicas. A cavidade interna hidrofóbica favorece a complexação de um grande número de moléculas (GIDWANI; VYAS, 2014).

As modificações se dão preferencialmente e de forma seletiva nas hidroxilas presentes nos C-2, C-3 e C-6 das unidades de glicose, sendo que a hidroxila da posição 6 situa-se na abertura estreita do cone enquanto que as hidroxilas 2 e 3 na abertura mais larga. Assim, as CDs possuem três hidroxilas livres em cada molécula de glicose mesmo após a formação das ligações glicosídicas α -(1-4), conferindo características nucleofílicas a estas moléculas. Isso se deve à pré-disposição a formar alcóóxido e pelo grande número de hidroxilas presentes em cada macrociclo (GIAMMONA, et al., 2006).

As Riparinas podem ser usadas como fontes promissoras na Pesquisa & Desenvolvimento de Medicamentos, uma vez que foram sintetizadas, com grupo farmacofórico inspirado em produto natural (alcalóides isolados da *Aniba riparia*), com bioatividade já cientificamente comprovada em alguns estudos, especialmente no que se refere a atividades antimicrobianas (CATÃO, et al., 2010).

Do ponto de vista fitoquímico, *A. riparia*, planta que deu origem às Riparinas, apresenta três análogos estruturais: Riparinas I, II e III, encontradas na natureza de forma limitada (BARBOSA-FILHO, 1997).

Com a obtenção da Riparina III, por meio de uma rota de síntese, com técnicas desenvolvidas e padronizadas no laboratório de Tecnologia Farmacêutica da UFPB, foram planejados e sintetizados os análogos das Riparinas (riparinas A, B, C, D, E e F), utilizando uma metodologia simples e de resultados seguros (GUTIERREZ, 2007).

Essas Riparinas foram avaliadas por Nunes e colaboradores (2014), e mostraram-se ativas em ensaios de atividade antimicrobiana, antifúngica, antiparasitário, citotóxico e antitrombótico. Acredita-se que o aumento da solubilidade destas moléculas venha potencializar suas atividades e/ou usos

A docagem molecular (do inglês molecular *docking*) é uma das principais estratégias de Pesquisa & Desenvolvimento de Medicamentos, que consiste na predição da conformação bioativa de uma pequena molécula (ligante) no sítio de ligação de uma macromolécula (ciclodextrina), seguido da avaliação e classificação do modo de ligação proposto (ANDRICOPULO et al., 2009).

Visto isso, este projeto tem por objetivo obter e caracterizar complexos de inclusão entre β -ciclodextrinas modificadas quimicamente e Riparina, visando o incremento da solubilidade do fármaco.

Materiais e Métodos

Inicialmente, será realizado uma busca nos bancos de dados da PubMed, Web of Science e ScienceDirect utilizando os descritores: “*cyclodextrin modified*”, “*drug release*”, “*high solubility*”, afim de desenvolver uma elaborada revisão da literatura. Serão considerados apenas artigos em inglês e publicados no período entre 2004 e 2014. Após a leitura dos títulos e resumos, aqueles que não se referirem a modificações realizadas na ciclodextrina com o intuito de otimizar a liberação de fármacos serão descartados.

A partir das informações obtidas na revisão, realizar-se-á modificação química visando o aumento da solubilidade da β -ciclodextrinas e conseqüentemente sua otimização como excipiente. A caracterização do produto obtido será feita através de: espectroscopia no Infravermelho; análises térmicas (DSC/TG); Ressonância Magnética Nuclear (RMN); difratometria de Raios X (DRX).

Em seguida, será feito o estudo de docagem molecular, onde se visará determinar a estrutura geométrica otimizada, descrever a natureza das ligações intramoleculares, mudanças conformacionais da Riparina dentro da cavidade da β -ciclodextrina modificada, estabilidade do complexo bem como a energia envolvida no processo de formação do complexo, incluindo parâmetros termodinâmicos.

Uma vez determinada a forma estrutural da Riparina que melhor se encaixa na estrutura da β -ciclodextrina modificada, realizar-se-á a preparação do complexo de inclusão através dos métodos de mistura física, malaxagem e spray dried, sendo os complexos então caracterizados pelas técnicas: Espectroscopia no Infravermelho; Análises Térmicas (DSC/TG); Ressonância Magnética Nuclear (RMN); Difratometria de Raios X (DRX); Microscopia eletrônica de varredura (MEV);

Por fim, avaliar-se-á a capacidade antitrombótica, antimicrobiana e antifúngica dos complexos de inclusão, assim como comparar os resultados obtidos com aqueles descritos na literatura referentes à aplicação do fármaco de forma isolada.

Para o teste que avalia a capacidade antitrombótica *in vitro*, parte-se do sangue venoso de 10 voluntários saudáveis. Após a formação de coágulo, este é isolado através da retirada do soro, e pesado.

Cada tubo receberá uma amostra de Riparina complexada, que após incubação o fluido será removido e os tubos novamente pesado para observar a diferença de peso após a quebra do coágulo.

As atividades antibacterianas e antifúngicas das Riparinas complexadas serão avaliados pelo método de difusão em disco (BAUER et al., 1966) contra quatro bactérias Gram (+) e seis espécies de bactérias Gram (-), além de sete espécies de fungos patogênicos humanos. Ciprofloxacina e azitromicina serão usados como padrões nos testes de atividade antibacteriana e o fluconazol será usado como padrão antifúngico.

Resultados Esperados

Inicialmente, com a revisão da literatura espera-se conhecer as β -ciclodextrina modificadas já existentes, assim como suas características físico-químicas. A partir de então, promover-se-á uma

modificação inovadora, visando o aumento de sua solubilidade com a consequente otimização das propriedades de vetorização.

As caracterizações realizadas na β -ciclodextrina modificada deverão apresentar resultados que permitam conhecer as estruturas químicas da macromolécula e confirmar a eficácia do processo de modificação. A partir de então, com o estudo de docagem molecular entre a β -ciclodextrina modificada e as diferentes formas sintéticas da riparina é pretendido prever, através de comprovações científicas, qual ou quais das moléculas da riparina melhor se complexa com a β -ciclodextrina modificada.

Uma vez determinado computacionalmente qual a complexação ideal, proceder-se-á com a efetiva elaboração do complexo de inclusão. Com os testes analíticos supracitados, pretende-se comprovar a eficácia do método de elaboração do complexo

Por fim, com os resultados dos testes *in vitro* das atividades antimicrobiana e antifúngicas é pretendido comprovar que a complexação foi efetiva e que a modificação realizada demonstra ser um avanço na utilização da ciclodextrinas com terapia.

Referências

ANDRICOPULO, A. D. Structure-based drug design strategies in medicinal chemistry. **Current Topics Medicine Chemistry**, v.9, n.9, p.771-90, 2009.

BARBOSA-FILHO, J. M. Quimiodiversidade e potencialidade farmacológica da flora paraibana. **Caderno de Farmácia**, v. 13, n. 2, p. 85-102, 1997.

BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by standardized single method. **American Journal of Clinical Pathology**. v. 45, n. 4, p. 493-396, 1996.

CATÃO, R. M. R.; BARBOSA-FILHO, J.M.; GUTIERREZ, S.J.C. Avaliação da atividade antimicrobiana de riparinas sobre cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* multirresistentes. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v.37, p.98-106, 2008.

GIAMMONA, G.; CAVALLARO, G.; MANISCALCO, L.; CRAPARO, E.F.; PITARRESI, G. Synthesis and characterisation of novel chemical conjugates based on α , β -polyaspartylhydrazide and β -cyclodextrins. **European Polymer Journal**, v. 42, n. 10, p. 2715-2729, 2006.

GIDWANI, B.; VYAS, A. Synthesis, characterization and application of Epichlorohydrin- β -cyclodextrin polymer. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 114, p. 130-137, 2014.

GUTIERREZ, S. J. C. **Síntese do Bowdenol, um dihidrobenzofuranoide isolado de *Bowdichia virgilioides* e preparação de derivados da Riparina isolada de *Aniba riparia* com potencial atividade biológica**. Tese (Doutorado) UFPB/CCS. João Pessoa, 2007.

NUNES, G. B. L; et al. In Vitro Antioxidant and Cytotoxic Activity of Some Synthetic Riparin. **Derived Compounds. Molecules**, v. 19, p. 4595-4607, 2014.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida, ao Laboratório de Pesquisa de Medicamentos e Cosméticos (LAPCOM) e ao Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados (LIMAV).

CS35 - Avaliação pré-clínica da #GB12 para a obtenção de um bioproduto para o tratamento da esquistossomose

Sabryna Brena Cunha Fontele (IC)^{1*}; Guilherme Antônio Lopes Oliveira (PG)²; Ana Paula dos Santos Correia Lima da Silva (PG)³; Jorge Mauricio David (PG)⁴; Rivelilson Mendes de Freitas (PG)⁵

1. Universidade Federal do Piauí - PIBIC/CNPq
2. Universidade Federal do Piauí - RENORBIO
3. Universidade Federal do Piauí - RENORBIO
4. Universidade Federal da Bahia - Prof. Dr.
5. Universidade Federal do Piauí – Prof. Dr.

*sabrynabrena@hotmail.com

Palavras-chave: Avaliação Pré-clínica, Bioproduto, #GB12, Esquistossomose, *Pelthorum dubium*.

Resumo

A esquistossomose é uma doença parasitária de grande impacto social, uma vez que é considerada um problema de saúde pública em muitos países. Assim, é de grande importância a busca por novas alternativas terapêuticas para o tratamento dessa patologia. A #GB12, obtida a partir de *Peltophorum dubium*, é um composto de significativa importância médica, pois possui diversas atividades clínicas, como antiasmática, anti-inflamatória e hepatoprotetora. O seguinte projeto objetiva realizar uma avaliação pré-clínica da #GB12, através da análise da toxicidade e dos parâmetros bioquímicos e hematológicos, para a obtenção de um bioproduto para o tratamento da esquistossomose.

Introdução

A utilização de plantas medicinais no tratamento e na cura é uma prática tão antiga quanto a espécie humana. E, em regiões mais pobres do país e até mesmo em grandes centros urbanos brasileiros, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais (MACIEL et al., 2002). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), aproximadamente 40% dos medicamentos atualmente disponíveis foram desenvolvidos direta ou indiretamente a partir de fontes naturais, subdivididos em: 25% de plantas, 12% de microorganismos e 3% de animais. Das 252 drogas consideradas básicas e essenciais pela OMS, 11% têm origem de plantas e um número significativo são drogas sintéticas obtidas de precursores naturais (SECRETARIA DA AGRICULTURA FAMILIAR, 2006).

Conhecida como “canafístula”, a espécie *Peltophorum dubium*, pertencente à família *Caesalpinaceae*, tem ocorrência natural no Paraguai, no Uruguai, na Argentina e no Brasil, tendo ampla expressão em diversos estados brasileiros, como Paraíba, Paraná, Pernambuco, Goiás, Mato Grosso do Sul, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo. Apesar de ser encontrada em todo o país, encontra-se na lista das espécies ameaçadas de extinção. As suas raízes, folhas, flores e frutos têm propriedades medicinais, logo é utilizada na medicina popular, como a utilização da casca do caule como anticoncepcional, por índios de várias etnias do Paraná e de Santa Catarina (CARVALHO, 2002).

Um dos compostos encontrado na *Peltophorum dubium* é a #GB12, também encontrada em outras plantas como a *Endopleura uchi* e *Saxifraga stolonifer*, porém a #GB12 têm sido mais relatada em gêneros pertencentes à família *Euphorbiaceae*, *Saxifragaceae* e *Myrsinaceae*. A #GB12 é um (4-metoxi-2[tetrahydro-3,4,5-trihidroxi-6 (hidroximetil) piran-2-il]-aresocíclico ácido δ -lactona, um derivado do ácido gálico (BORGES et al, 2011).

Experimentos farmacológicos têm indicado que a #GB12 possui significativa atividade antiasmática, antitussígena, anti-inflamatória, antifúngica, anti-HIV e atividade hepatoprotetora. Também tem sido utilizada, no Japão, para o tratamento de doenças gastrointestinais, como úlcera gástrica, diarreia e constipação (FERREIRA et al, 2012)

Conhecida pelos brasileiros como xistosa, barriga d'água ou doença do caramujo, a esquistossomose mansoni é uma endemia parasitária típica da Ásia, da África e das Américas (KATZ, 2003), constituindo grande problema de saúde pública. No Brasil há cerca de 2,5 milhões de pacientes com esquistossomose, a maioria deles localizados nos estados do Nordeste. Os estados mais atingidos são Alagoas, Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Paraíba, Pernambuco e Sergipe. (VITORINO et al, 2012)

A esquistossomose mansônica é causada pelo *Schistosoma mansoni*, que tem como hospedeiro o caramujo da gênero *Biomphalaria preston*. É uma helmintose de transmissão hídrica (MOREIRA et al, 2008) e está intimamente relacionada ao baixo desenvolvimento econômico e à pobreza, que geram a necessidade de uso de águas naturais contaminadas para o exercício da agricultura, trabalho doméstico e lazer (KATZ, 2000). Sua patogênese é dependente da interação entre o hospedeiro e o helminto, podendo acometer diferentes órgãos e sistemas, salientando as características das formas crônicas com sérias implicações para o indivíduo (VITORINO et al, 2012)

Diante desse contexto, uma avaliação toxicológica de extratos de #GB12 em conformidade com os rigorosos critérios da Anvisa, seria de grande interesse científico e comercial, já que os resultados obtidos poderiam servir tanto ao conhecimento como ao desenvolvimento de um futuro fitoterápico no tratamento da esquistossomose, uma vez que os estudos toxicológicos têm a finalidade de avaliar a ideia errada de que produtos fitoterápicos, por serem naturais, são isentos de efeitos tóxicos ou adversos, e que o uso popular de plantas medicinais serve como validação da eficácia destes medicamentos (CARVALHO et al., 2008).

Sabendo-se da publicação do Guia para a Realização de Estudos de Toxicidade Pré-clínica de Fitoterápicos (RE N°90), pela ANVISA, o presente trabalho visa realizar uma avaliação pré-clínica da #GB12, isolada da *Pelthorum dubium*, para a obtenção de um bioproduto para o tratamento da esquistossomose.

Materiais e Métodos

Estudos toxicológicos pré-clínicos da #GB12

A metodologia adotada nessa etapa será realizada segundo 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 ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*) machos e fêmeas, adultos, com 2 meses de idade, com peso variando de 250-280g provenientes do Biotério Central do CCA da UFPI. Os animais serão mantidos sob condições monitoradas de temperatura equivalente a 25 ± 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.

Determinação da dose letal (DL₅₀)

Os animais serão divididos em 4 grupos de ratos (n = 10). Cada grupo, em jejum de 12 horas, receberá por via oral (cânula oro-gástrica) doses da #GB12, que variarão de 500 a 2000 mg/kg (quatro doses) (grupos I, II e III) (BRASIL, 2013). Os animais serão colocados em gaiolas com ração e água *ad libitum* e observados durante 72 h para observação dos parâmetros comportamentais (MALONE; ROBICHAUD, 1962). O número de mortes de cada grupo será expresso como o percentual do número total de animais que receberam o produto. A determinação da DL₅₀ será feita através da interpolação semilogarítmica.

Avaliação da toxicidade aguda com doses repetidas, subcrônica e crônica

Nesse estudo serão utilizados ratos albinos, machos e fêmeas, divididos em 3 grupos (n = 5) separados em gaiolas de acordo com o sexo. Os grupos receberão por via oral, durante 30 dias (doses repetidas), 60 dias (subcrônico) e 120 dias (crônico) (VIJAYALAKSHMI et al., 2000), de #GB12. O grupo controle receberá água destilada correspondente a 0,1 mL/100g de peso vivo (grupo I). Os grupos II e III receberão a dose de 1/10 e 2/10 da DL₅₀ de #GB12. Durante os 30, 60 e 120 dias de experimentos os animais serão monitorados quanto a eventuais alterações comportamentais. Em intervalos de 2 dias os animais serão pesados e, diariamente, tanto água quanto a ração, medidos e pesados, respectivamente. Os

animais serão anestesiados com pentobarbital sódico (40 mg/kg i.p.) e a coleta do sangue será realizada por punção cardíaca em dois tubos para determinar parâmetros hematológicos e bioquímicos.

Análise dos parâmetros bioquímicos e hematológicos

Para análise bioquímica, o material será centrifugado a 3500 rpm durante 10 min e, em seguida, determinados os parâmetros glicose, uréia, creatinina, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, colesterol total, triglicérides, fosfatase alcalina, bilirrubinas total e direta, proteínas totais e ácido úrico. Os ensaios serão realizados em aparelho automático LABMAX 240®. Os valores para eritrócitos, leucócitos, plaquetas, hemoglobina, hematócrito e os índices hematimétricos volume corpuscular média, hemoglobina corpuscular média e concentração de hemoglobina corpuscular média serão determinados imediatamente após a coleta através do analisador automático de células hematológicas ADVIA 120/Hematology® SIEMENS®. A contagem diferencial de leucócitos será realizada em extensões coradas com May-Grünwald-Giemsa.

Estudo da genotoxicidade e citotoxicidade em linhagens tumorais

A genotoxicidade, toxicidade e mutagênicidade será avaliada segundo os protocolos descritos por Fiskesjö (1985) com algumas adaptações descritas por Mitteregger e colaboradores (2007) para o bioensaio *Allium cepa*. O teste de *Artemia salina* será executado segundo o protocolo estabelecido por Meyer e colaboradores (1982) com algumas modificações. O ensaio cometa será realizado segundo os protocolos ditos por Singh e colaboradores (1988). Já o teste do micronúcleo será executado conforme o protocolo de Mavournin e colaboradores (1990). O estudo citotóxico será feito pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade (BERRIDGE et al., 1996).

Análise histopatológica em estômago e tecido hepático de roedores

Os animais serão divididos em quatro grupos de ratos ($n = 5$) e tratados conforme descrito anteriormente para observação dos parâmetros de toxicidade. Após o período de observação de 24 horas, todos os grupos serão eutanasiados por anestesia. Seus estômagos e fígados serão removidos e fixados em formalina a 10% por 72 h para a realização das análises histopatológicas (WHO, 1995).

Análise Estatística

Os resultados que obedecerem a uma distribuição paramétrica serão analisados pela Análise de Variância (ANOVA) e pelo teste de *t-Student-Newman-Keuls* como *post hoc* por meio do programa GraphPadPrism® versão 6.00. Os dados não paramétricos serão analisados pelo mesmo programa utilizando o teste do qui-quadrado. O mesmo programa será utilizado para confecção dos gráficos dos resultados obtidos neste trabalho. As diferenças serão consideradas estatisticamente significativas a partir de $p < 0,05$.

Resultados Esperados

São esperados a obtenção de dados toxicológicos pré-clínicos da #GB12, bem como da genotoxicidade, citotoxicidade e análise histopatológica em estômago e tecido hepático de roedores.

Agradecimentos

BARBOSA, C. S.; SILVA, C. B.; BARBOSA, F. S. Esquistossomose: reprodução e expansão da endemia no estado de Pernambuco, no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 30, p. 609-615, 1996.

BERRIDGE, M.V.; TAN, A.S.; MCCOY, K.D.; WANG, R. The biochemical and cellular basis of cell proliferation assays that use tetrazolium salts. **Biochemica**, v. 4, 1996.

BRASIL, Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. A diretoria colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o **Guia para a Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos**. Diário Oficial da União, Brasília, 02 de Junho de 2003.

- CARVALHO, D. M. M ; CRAVEIRO, A. C. ; ALVES, M. F. S. ; NUNES, R. S.; SILVA, F. T. Acute toxicity of the aqueous extract of *Erythrina velutina* leaves in experimental animals. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 733-738, 2008.
- CARVALHO, P. **Canafístula Colombo: Embrapa Florestas**. Embrapa Florestas. Circular Técnica, v. 64, p. 15, 2002.
- SILVA, L.B.; BORTOLI, M. G.; AZEVEDO, M. B. Cytogenetic biomonitoring of Brazilian workers exposed to pesticides: Micronucleus analysis in buccal epithelial cells of soybean growers. **Mutation Research**, v. 675, 2009.
- FERREIRA, S. C.; ISHIDA, A. K. N.; SOUZA FILHO, A. P. S.; SILVA, C. T. B. **Atividades antibacteriana de bergenina sobre *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae***. In: 16 Seminário de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Oriental, 2012, Belém. 16 Seminário de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Oriental, 2012.
- FISKEJO, G. The Allium test as standard in environmental monitoring. **Hereditas**. v. 102, p. 99-112, 1985.
- KATZ, N. Esquistossomose, Xistosa, Barriga d'água. **Ciência e Cultura**, v. 55, p. 652-656, 2003.
- KATZ, N PEIXOTO, S.V. Análise crítica da estimativa do número de portadores de esquistossomose mansoni no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, p. 303-308, 2000.
- MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C; VEIGA JR, V. F.; ECHEVARRIA, A; GRYNBERG, N. F. Plantas Medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, Brasil, v. 25, p. 429-438, 2002.
- MALONE, M.H., ROBICHAUD, R.C. A Hippocratic screen for pure or crude drug materials. **Lloydia**, v. 25, p. 320-332, 1962.
- MOREIRA, M. L.; MARTINS, J.; VALADÃO, A. Prevalência da esquistossomose mansônica e fatores associados à sua ocorrência em escolares da zona rural de Inhapim-MG. **Neuro Psicologia e Aprendizagem**, v. 02. p. 08-08, 2008.
- MAVOURNIN K.H. The in vivo Micronucleus assay in mammalian bone marrow and peripheral blood. A report of the U.S. Environmental Protection Agency. Gene-Tox Program. **Mutation Reserch**, v. 239, p. 29-80, 1990.
- MITTEREGGER JUNIOR, H.; SILVA, J.; AREZON, A.; PORTELA, C.S.; FERREIRA, I.C.F.S.; HENRIQUES, J.A.P. Evaluation of genotoxicity and toxicity of water and sediment samples from a Brazilian stream influenced by tannery industries. **Chemosphere**, v. 67, p.1211–1217, 2007.
- SECRETARIA DA AGRICULTURA FAMILIAR. **Oficina nacional discute a implementação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Acesso em: 14 maio 2014.
- SINGH, N.P. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells, Exp. **Cell Research**. v.175, p.184–191, 1988.
- TICE, R.R. Single cell gel/Comet assay; guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 25, p. 206-221, 2000.
- SILVA, A. P. S. C. L.; COSTA JUNIOR, J. S.; VIEIRA, P. S. ; LACERDA, J. S.; SILVA, M. L. G.; FREITAS, R. M. **'Avaliação da toxicidade aguda e dose letal 50% (DL50) da Garcinielliptona FC isolada de *Platonia insignis***. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2013. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2013.
- VITORINO, R. R.; SOUZA, F. P. C.; DE-PINA-COSTA, A.; FARIA JUNIOR, F. C.; SANTANA, L. A.; GOMES, A. P. Esquistossomose mansônica: diagnóstico, tratamento, epidemiologia, profilaxia e controle. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, v. 10, p. 39-45, 2012.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for good clinical practice (GCP) for trials on pharmaceutical products**. WHO Technical Report Series, n. 850, 1995.

CS36 - Efeitos metabólicos do consumo excessivo de frutose

Amélia de Melo Barbosa Neta (IC)¹; Roberto Lobo do Nascimento Neto (IC)¹; Thiago de Sousa Lopes (IC)^{1*}; Welbia Maria da Silva Gadelha (IC)¹; Antonio Luiz Gomes Junior (PQ)²

1. Acadêmicos do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Uninovafapi
2. Professor do Centro Centro Universitário UNINOVAFAPI

*tthiago.ma@hotmail.com

Palavras-chave: Frutose. Carboidrato. Efeitos Metabólicos.

Resumo

A frutose é um importante carboidrato encontrado nas frutas e vegetais, e em produtos industrializados. É conhecida pelos erros inatos do seu metabolismo, cujas manifestações clínicas são potencialmente graves, e por seu uso como substituta da glicose na dieta de diabéticos. Determinados açúcares de adição dos alimentos industrializados, são alvos de estudos que relacionam o seu consumo excessivo com o aumento da obesidade e comorbidades associadas como o diabetes, câncer, dislipidemia e aterosclerose. O objetivo do presente trabalho é discutir por meio de uma pesquisa bibliográfica os efeitos metabólicos do consumo excessivo de frutose. A metodologia do presente trabalho consistiu na análise de 4 artigos científicos disponíveis nas bases de dados SCIELO, utilizando o descritor excesso de frutose. Estudos em animais e em seres humanos demonstraram aumento nos triglicerídeos após a ingestão de dietas contendo frutose quando comparadas às dietas com carboidratos mais complexos e outros açúcares. Há aumento da síntese de gordura em detrimento da gliconeogênese, e esse aumento ocorre pela maior síntese hepática de glicerol e de ácidos graxos, 1,4 a 18,9 vezes, quando comparamos com a glicose. O consumo do açúcar em pequenas quantidades não parece estar relacionado com doenças. No entanto, seu uso abusivo em sucos de frutas e alimentos, que contenham em sua composição o xarope de milho com alta concentração de frutose, está diretamente associado ao aumento da incidência da síndrome metabólica, a doença cardiovascular, o diabetes e a obesidade.

Introdução

A frutose é um monossacarídeo naturalmente encontrado nas frutas e no mel, mas as maiores fontes do seu consumo excessivo são através da sacarose (50% de glicose e 50% de frutose) e do xarope de milho rico em frutose, encontrado em alimentos e bebidas industrializados, como refrigerantes, sucos, cereais matinais e alimentos pré-preparados (GAINO; SILVA; 2011). Como componente de frutas e outros vegetais, é ingerida regularmente com a dieta. Também é sintetizada no organismo a partir da glicose, via sorbitol, e esse processo se relaciona com a manutenção do equilíbrio óxido-redutivo (BARREIROS; BOSSOLAN; TRINDADE; 2010).

Determinados açúcares de adição dos alimentos industrializados, são alvos de estudos que relacionam o seu consumo excessivo com o aumento da obesidade e comorbidades associadas como o diabetes, câncer, dislipidemia e aterosclerose. Nesta perspectiva, seu consumo excessivo merece destaque, por estar negativamente associado à ingestão de nutrientes essenciais e à qualidade da dieta, podendo contribuir para o substancial consumo energético e, por consequência, para o aumento de peso (BARREIROS; BOSSOLAN; TRINDADE; 2010).

Inicialmente, a frutose foi pensada como adoçante potencialmente benéfico para pacientes com diabetes mellitus, devido ao seu menor índice glicêmico em comparação com a glicose. No entanto, o consumo excessivo de frutose exerce efeito lipogênico, ou seja, induz a síntese de lipídios e está associado com os componentes da síndrome metabólica, como resistência à insulina, circunferência da cintura elevada, dislipidemia e hipertensão (GAINO; SILVA; 2011).

Embora caloricamente idêntica à glicose, o metabolismo da frutose (particularmente o metabolismo hepático) difere da glicose em vários aspectos importantes. A taxa de absorção hepática da frutose via circulação portal é maior do que a taxa de captação de glicose (GAINO; SILVA; 2011).

O presente artigo visou, por meio de revisão da literatura, discutir os efeitos metabólicos do consumo excessivo de frutose e demonstrar os diferentes aspectos do consumo de frutose e glicose.

Materiais e Métodos

A metodologia do presente trabalho consistiu na análise de artigos científicos disponíveis nas bases de dados SCIELO e PUBMED, entre os anos de 2009 a 2013, para o descritor excesso de frutose. Dos artigos encontrados foram selecionados apenas aqueles que abordavam o tema efeitos metabólicos causados pelo consumo excessivo de frutose.

Resultados e Discussão

Foram encontrados um total de 7 artigos (SciELO : 6 artigos , PubMed: 1 artigo), no entanto, apenas 4 traziam dados completos referentes ao delineamento de pesquisa empregado. Destes 4 artigos, 2 eram escritos na língua portuguesa e 2 na língua inglesa (Tabela 1).

Tabela 1. Publicações nas bases de dados Scielo, PubMed, 2009-2013.

Ano/Autor	Título do artigo	Periódicos
GAINO E SILVA, 2011	Consumo de frutose e impacto na saúde humana	Segurança Alimentar e Nutricional
DOUARD ET AL., 2010	Dietary fructose inhibits intestinal calcium absorption and induces vitamin D insufficiency in CKD	J Am Soc Nephrol
PEREZ-POZO ET AL., 2009	Excessive fructose intake induces the features of metabolic syndrome in healthy adult men: role of uric acid in the hypertensive response	Int J Obes
BARREIROS; BOSSOLAN; TRINDADE, 2010	Frutose em humanos: efeitos metabólicos, utilização clínica e erros inatos associados	Revista de Nutrição

Há uma nítida interrelação entre o metabolismo da frutose e o da glicose. A frutose administrada oralmente ou por via endovenosa é captada pelas células do fígado, onde é convertida em glicose e principalmente em glicogênio. Quanto à produção de lipídios a partir da frutose, estudos em animais e em seres humanos demonstraram aumento nos triglicerídios após a ingestão de dietas contendo frutose quando comparadas às dietas com carboidratos mais complexos e outros açúcares. Há aumento da síntese de gordura em detrimento da gliconeogênese, e esse aumento ocorre pela maior síntese hepática de glicerol e de ácidos graxos, 1,4 a 18,9 vezes, quando comparamos com a glicose. O aumento da atividade das enzimas lipogênicas no fígado resulta em maior síntese de lipídios, e, como consequência, níveis mais elevados de lipídios totais na circulação e de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) (BARREIROS; BOSSOLAN; TRINDADE; 2010).

Segundo Perez-Pozo e colaboradores (2011) a frutose pode induzir à síndrome metabólica, tendo como base um estudo realizado com 74 homens adultos que consumiram 200g de frutose por dia durante duas semanas. A ingestão de frutose resultou em aumento da pressão arterial, triglicérides, insulina de jejum e todos os testes da função hepática mostraram alterações nos valores. A proporção de indivíduos com síndrome metabólica aumentou (variação de 25-33%). A excessiva ingestão de frutose pode ser uma das causas da atual epidemia de obesidade e diabetes.

Existem muitas evidências considerando que a ingestão elevada de frutose pode induzir a alterações do metabolismo. Douard e colaboradores (2010) por meio de estudo experimental, envolvendo ratos, já com a função renal comprometida, alimentados com uma dieta com 60% de frutose durante seis semanas, mostraram que a ingestão de frutose dietética em excesso inibe a absorção intestinal de cálcio e induz a insuficiência de vitamina D na doença renal crônica, além de agravar outros sintomas clássicos da mesma.

O consumo de frutose pode induzir a resistência à insulina, tolerância à glicose diminuída, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e hipertensão. Apesar de existirem análises mostrando os efeitos metabólicos e endócrinos do crescimento do consumo de frutose e o aumento ponderal, adiposidade corporal e resistência à insulina, é necessário maior número de investigações para esclarecer completamente o efeito metabólico da frutose em seres humanos (GAINO; SILVA; 2011).

Conclusão

O uso abusivo em sucos de frutas e alimentos, que contenham em sua composição o xarope de milho com alta concentração de frutose, está diretamente associado ao aumento da incidência da síndrome metabólica e de suas principais consequências, a doença cardiovascular, o diabetes e a obesidade. A ingestão de frutose, especialmente nos alimentos industrializados, deve ser feita com cuidado, sempre sob a supervisão de um profissional da saúde.

Referências

BARREIROS, R.C.; BOSSOLAN, G.; TRINDADE, C.E.P. Frutose em humanos: efeitos metabólicos, utilização clínica e erros inatos associados. **Revista de Nutrição**, v.18, p. 377-389, 2005.

DOUARD, V.; ASGERALLY, A.; SABBAGH, Y.; SUGIURA, S.; SHAPSES, S.A.; CASIROLA, D. Dietary fructose inhibits intestinal calcium absorption and induces vitamin D insufficiency in CKD. **Journal of American Society of Nephrology**. v. 21, p. 261-71, 2010.

GAINO, N.M.; SILVA, M.V. Consumo de frutose e impacto na saúde humana. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 18, p. 88-98, 2011.

PEREZ-POZO, S.E.; SCHOLD, J.; NAKAGAWA, T.; SANCHEZ-LOZADA, L.G.; JOHNSON, R.J.; LILLO, L. Excessive fructose intake induces the features of metabolic syndrome in healthy adult men: role of uric acid in the hypertensive response. **International Journal of Obesity**. v. 34, p. 454-61, 2010.

CS37 - Avaliação do processo cicatrizante pela utilização do mel de abelha

Alan Davidy da Silva (IC)¹; Valdek da Silva Lira Filho (IC)^{1*}; Fabricio Williams Sousa Silva (IC)¹
Keylla da Conceição Machado (PQ)¹

1. Faculdade de Tecnologia de Teresina – CET – Curso Bacharelado em Biomedicina

*valdeklira@gmail.com

Palavras-chave: Abelha. Agentes Antibacterianos. Mel. Cicatrização de Feridas. Uso Terapêutico.

Resumo

O Mel tem mostrado resultados promissores como elemento terapêutico, devido sua atividade antibacteriana e facilitador da cicatrização no tratamento de feridas e queimaduras, atuando como importante barreira viscosa impedindo a entrada de substâncias e a perda de fluidos para o meio externo. O objetivo deste estudo foi realizar uma busca e apresentar uma visão geral do estudo atual de desenvolvimento científico e tecnológico relacionado ao uso do mel de abelha no processo cicatrizante da pele. Foram feitas buscas de artigos científicos e de patentes nos bancos de dados SCIELO, PUBMED, GOOGLE ACADÊMICO, INPI e ESPACENET, onde foram encontrados 11 artigos e 4 patentes usando a associação das palavras mel e cicatrização de pele. Diante dos resultados, foi observado que, há uma necessidade de incentivos para a criação de patentes relacionada o uso tópico do mel em feridas para que haja criação de produtos capazes de melhorar o processo de cicatrização.

Introdução

O mel é um alimento de extraordinário valor energético e medicinal (WOLFF, 2007), apreciado pelo homem como alimento por ser uma substância natural, com alto valor nutritivo, possuir sabor característico, ser uma fonte de energia para o organismo e também por contribuir pra o equilíbrio dos processos biológicos do corpo humano (OSTERKAMP, 2009).

Aparentemente simples, o mel é um dos produtos biológicos mais complexos já estudados, pois tem sido reportado por conter em torno de 200 substâncias como proteínas, vitaminas, minerais, ácidos orgânicos, flavonoides, ácidos fenólicos, enzimas e outros fitoquímicos (PEREIRA, 2010).

A composição do mel depende de vários fatores, como por exemplo, das fontes vegetais de onde é derivado, solo, espécie da abelha que o produz, estado fisiológico da sociedade, estado de maturação do mel, condições meteorológicas, entre outros (ALVES et al., 2005).

A utilização indiscriminada de antibióticos para tratamento de feridas infectadas tem favorecido ao aparecimento de linhagens de micro-organismos resistentes, dessa forma, houve a necessidade do desenvolvimento de novas classes destes medicamentos. Por outro lado, diversas pesquisas têm contribuído para a utilização de produtos naturais que possam atuar como terapias alternativas, visando diminuir o uso de antibióticos. O mel é um suplemento alimentar, que atualmente vem recebendo cada vez mais importância no consumo comercial devido às comprovações científicas das suas diversas propriedades terapêuticas. (GONÇALVES et al., 2005).

A ação antibacteriana do mel está associada a vários fatores, destacam-se, a alta concentração de açúcares que leva ao aumento da pressão osmótica do meio; a baixa atividade de água; o meio ácido; a presença de agentes antibacterianos como o peróxido de hidrogênio, lisozima, ácidos fenólicos e substâncias voláteis acarretam em condições desfavoráveis para o crescimento e desenvolvimento de microrganismos (BASTOS et al., 2002).

O processo de cicatrização é universal e após o ferimento ocorre uma sequência de reações físicas, químicas e biológicas cuja finalidade é reconstituir a continuidade tecidual que foi interrompida. Esta sequência de reações é idêntica em qualquer tipo de lesão tissular e pode ser dividida em três fases, ou seja, a inflamatória, a fibroblástica e a maturação, que embora sejam distintas, se sobrepõem de tal maneira, que numa delas pode-se observar elementos da fase subsequente e vice-versa, num processo de envolvimento eminente e dinâmico (MODOLIN; BEVILACQUA, 1985).

O tratamento de feridas infectadas continua sendo um tema de grande importância médica, particularmente na prática cirúrgica, numa época em que o uso indiscriminado de antimicrobianos tem dificultado o tratamento hospitalar dos pacientes, com repercussão no aparecimento cada vez maior de micro-organismos resistentes aos antimicrobianos. Diversas terapias alternativas têm sido testadas, dentre as quais o uso tópico de substâncias com elevada osmolaridade, sendo o açúcar e seus derivados citados como agentes cicatrizantes e antimicrobianos (VERMEULEN, 2005). Nesse sentido, o uso do mel de abelha como elemento terapêutico tem mostrado resultados promissores. Tem sido demonstrada sua atividade como antibacteriano e facilitador da cicatrização no tratamento de feridas e queimaduras, atuando como importante barreira viscosa, impedindo a entrada de substâncias e a perda de fluidos para o meio externo (SUBRAHMANYAM, 2001).

Existe, atualmente, em todo mundo, uma grande tendência para o aproveitamento de recursos naturais na medicina, por apresentarem vantagens econômicas, serem eficientes e apresentarem poucos efeitos colaterais. Dentre as substâncias naturais mais utilizadas para cicatrização de feridas cutâneas, destacam-se o mel e o açúcar mascavo (OLIVEIRA et al., 2000).

A presente prospecção teve por objetivo realizar uma busca e apresentar uma visão geral do estudo atual de desenvolvimento científico e tecnológico relacionado ao uso do mel de abelha no processo cicatrizante da pele.

Materiais e Métodos

A pesquisa quantitativa, foi realizada no período de 1º a 15 de outubro de 2014, através de artigos acadêmicos com sua publicação entre os anos de 2000 a 2012. Nos bancos de dados SCIELO, PUBMED, GOOGLE ACADÊMICO e pesquisa de patentes entre os anos 2000 a 2012, nos bancos de dados INPI, ESPACENET, usando a associação das palavras mel e cicatrização de pele.

Resultados e Discussão

Foram encontrados 11 artigos científicos, destes 2 internacionais, com os critérios de associação do mel ao o processo cicatrizante. Com isso, no INPI foram encontrados 73 patentes com a palavra mel e 15 patentes com a palavra cicatrização de feridas, e entre a associação das duas palavras não foram encontradas. No banco de dados espacenet, foram encontrados aproximadamente 4.137 resultados quando digitado “honey” (mel em inglês) e 3.660 com palavra “wound healing” (cicatrização de feridas em inglês), e entre a associação de palavra 4 resultados foram encontrados, como mostram as tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Quantidade de patentes encontradas nas bases tecnológicas com as palavras-chaves.

Palavras chaves	INPI	ESPACENET
<i>Cicatrização de feridas</i>	15	3.660
<i>Mel</i>	73	4.137
<i>Mel e cicatrização de feridas</i>	0	4

Tabela 2. Quantidades de artigos encontrados em bases de dados.

Artigos científicos e bancos de dados	Associação entre o mel e processo cicatrizante
<i>Pubmed, scielo, google acadêmico</i>	11 artigos em comum

Apesar dos recentes avanços em modelo de drogas, a química sintética, e a biotecnologia promoverem o desenvolvimento de drogas novas e potentes, os produtos naturais como plantas e minerais continuam sendo a maior fonte para obtenção de medicamento para os mais diversos fins. Alguns agentes medicinais comumente usados para tratamento de várias patológicas, têm sua origem na medicina popular (NOORMORHAMED et al, 1994). Dentre as substâncias naturais mais amplamente utilizadas para cicatrização de feridas cutâneas, destacam-se o mel (ORYAN; ZAKER, 1998).

Nos últimos 5 anos houve um aumento no interesse pelo o uso do mel de abelha no tratamento de feridas, mas ainda a pouca evidência científica para dar suporte ao uso tópico em feridas e queimaduras. No presente trabalho foram observados as evidencias de pesquisas com finalidade do uso tópico do mel para fins terapêuticos. No estudo de Van Der Weyden (2003), em poucos dias de tratamento houve desbridamento de tecido desvitalizado, diminuição do odor, da dor e do exsudato, bem como diminuição gradual do tamanho da ferida revitalizan do a pele original. Sare (2008) observou a ação anti-bactericida, além da eficácia na redução do tamanho da lesão, ausência de exsudato e presença de tecido de granulação.

Eddy e Gideonsen (2005) e Lotfy e colaboradores (2006), que utilizaram o mel no pé diabético, com resultados satisfatórios de ausência de exsudato e pus e aparecimento de tecido de granulação. O uso do mel associado a outros compostos também tem sido alvo de estudos, como o desenvolvido por Al-Waili (2005) que utilizou uma solução tópica de mel, óleo de oliva e cera de abelha em dermatites de contato em crianças, apresentando benefícios clínicos e microbiológicos, diminuindo a dermatite.

Conclusão

Diante da análise dos dados obtidos, foi possível observar que há uma boa quantidade de patentes sobre cicatrização de feridas e mais ainda quando se pesquisa sobre o mel, porem quando verificamos esses dois termos em conjunto, nota-se poucas patentes relacionado a esses tema. Contudo, ao verificar os termos juntos relacionados a artigos científicos, foi observado uma boa quantidade de pesquisa relacionada ao uso do mel no processo cicatrizante. O que mostra que existe uma boa quantidade de trabalhos pesquisa para pouca patentes deste assunto.

Assim, é necessário o incentivo de criação de patentes relacionada ao presente tema, pois sua legalização, possibilitaria a produção de farmacos a base de mel para o uso topico, ja que, diante dos resultados dos artigos, foi comprovada a ação cicatrizante e antibacteriana do mel, além de ser um produto natural e tem como vantagem ser um ótimo bactericida que pode ser usado com alternativa aos antibióticos.

Referências

- ALVES, O.M.R.; CARVALHO, L.A.C.; SOUZA, A.B.; SODRÉ, S.G.; MARCHINI, C.L. Características Físico-Químicas de Amostras de Mel de Melipona mandacaia SMITH (Hymenoptera: Apidae). **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, p. 644–650, 2005.
- AL-WAILI, N.S. Topical application of natural honey, beeswax and olive oil mixture for atopic dermatitis or psoriasis: partially controlled, single-blinded study. **Complementary Therapies in Medicine**; v. 11, n. 4, p. 226-234, 2003;
- BASTOS, D. H. M.; FRANCO, M. R. B.; DA SILVA, M. A. A. P.; JANZANTTI, N. S.; MARQUES, M. O.M. Composição de voláteis e perfil de aroma e sabor de méis de eucalipto e laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 2, p. 122-129, 2002.
- EDDY, J.J.; GIDEONSEN, M.D. Topical honey for diabetic foot ulcers. **The Journal of Family Practice**, v. 54, n. 6, p. 533-535, 2005.
- GONÇALVES, A.L.; FILHO, A.A.; MENEZES, H.; Atividade Antimicrobiana Do Mel Da Abelha Nativa Sem Ferrão Nannotrigona Testaceicornis (Hymenoptera: Apidae, Meliponini). **Arquivo do Instituto de Biologia**, v. 72, n. 04, 2005.
- MODOLIN, M.; BEVILACQUA, R.G. Cicatrização das feridas: síntese das aquisições recentes. **Revista Brasileira de Clínica e Terapêutica**, v. 14, n. 6, p. 55-64, 1985.
- NOORMOHAMED, S.E., KUMAR, V., MIN, D.I. Evaluation of traditional african medicine "compound R" for the treatment of thermal burn wounds in fuzzy rats. **Journal of Burn Care e Rehabilitation**, v. 15, n. 6, p. 519-522, 1994.
- OLIVEIRA, S.T.; LEME, M.C.; PIPPI, N.L.; RAISER, A.G. Melânia Palermo Manfron4 Formulações de confrei na cicatrização de feridas cutâneas de ratos. **Rev FZVA Uruguiana**, vol.7/8, n.1, p. 6474, 2000.
- OSTERKAMP, C.I. - Características Polínicas e Físico-químicas de Amostras de Méis de Apis mellifera L., 1758 (Hymenoptera, Apidea) e de Tetragonista angustula latreille, 1811 (Hymenoptera, trigonini) da Região do Vale do Taquari, estado do Rio Grande do Sul. Dissertação de Mestrado em Ambiente e Desenvolvimento, Centro Universitário UNIVATES, 2009.
- SARE, J. Leg ulcer management with topical medical honey. **British Journal Community Nursing**; v. 13, n. 9, p. 22-26, 2008.
- SUBRAHMANYAM, M. SHAHAPURE, AG. NAGNE, NS. BHAGWAT, VR. GANU, JV. Effects of topical application of honey on burn wound healing. **Annals of Burns and Fire Disasters**, v. 14, n. 1, p. 143-5, 2001.
- VAN DER WEYDEN, E.A. The use of honey for the treatment of two patients with pressure ulcers. **British Journal Community Nursing**; v. 8, n. 12, p. 14-20, 2003.
- VERMEULEN, H. UBBINK, DT. GOOSSENS, A. LEGEMATE, DA. Systematic review of dressings and topical agents for surgical wounds healing by secondary intention. **British Journal of Surgery**. v. 92, n. 6, p. 665-72, 2005.
- WEISS, R.G. et al. Tratamento da feridos operatória infetada: açúcar uma nova opção. **Revista Amigs Porto Alegre**, v. 28, n. 4, p. 337-342, 1984.

CS38 - Atividade farmacológica de um composto isolado de *Guatteria friesiana* na doença de Alzheimer

Valéria Lima Silva (IC)^{1*}; Ana Carolina Cardoso Sucupira (IC)²; Chistiane Mendes Feitosa (PQ)¹

1. Universidade Federal do Piauí – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas

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

*valeriafisiobr@hotmail.com

Palavras-chave: Doença de Alzheimer. Guatteria. Acetilcolinesterase.

Resumo

A doença de Alzheimer é uma das doenças neurodegenerativas que mais atinge a população mundial atualmente. Sua fisiopatologia está relacionada com a redução de alguns neurotransmissores, dentre esses a acetilcolina, além da formação de placas de proteínas chamadas β -amiloides cuja formação é devida ao estresse oxidativo. Um tratamento que vem se mostrando bastante promissor nessa doença é o uso de fármacos inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChE). Guateriopsiscina é um alcalóide isolado das folhas ou do caule de *Guatteria friesiana*, uma árvore popularmente conhecida como “envireira” pertencente à família Annonaceae. O objetivo deste estudo foi verificar a atividade inibitória da guateriopsiscina frente à enzima AChE em ensaios *in vitro*, além de realizar uma bioprospecção sobre a espécie em questão. Para isso foram pesquisadas em bases de dados científicas e tecnológicas patentes e estudos sobre *G. friesiana*, também foi realizado ensaio *in vitro* de acordo com o método proposto por Ellman (1961) e modificado por Rhee (2001). O alcaloide mostrou potente atividade inibitória sobre a enzima AChE o que sugere que mais estudos devem ser feitos para que se possa viabilizar essa substância como uma alternativa na terapia da doença de Alzheimer.

Introdução

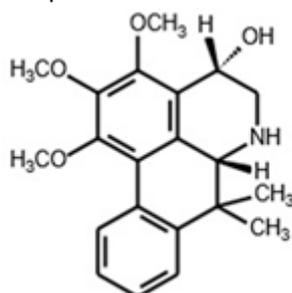
As plantas têm sido utilizadas com fins medicinais desde o início da civilização humana com a finalidade de prevenção, tratamento e cura de diversas doenças (VEIGA-JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

A espécie *Guatteria friesiana* (W. A. Rodrigues) Erkens & Maas é uma pequena árvore conhecida como “envireira” e “envira” encontrada na Bacia Amazônica Brasileira e Colombiana e pertence à família Annonaceae. Plantas dessa família são conhecidas pelo seu conteúdo rico em alcaloides (COSTA et al., 2009). Guateriopsiscina (Figura 1), um dos alcaloides de *G. friesiana*, pode ser isolado das folhas ou do caule do vegetal.

A atividade anticolinesterásica refere-se à capacidade que uma substância tem de se ligar ao sítio ativo da enzima acetilcolinesterase (AChE) impedindo a ligação do neurotransmissor acetilcolina (ACh) a esta enzima, dessa forma a ACh permanecerá em maior quantidade e por mais tempo nas sinapses colinérgicas uma vez que a AChE é uma enzima que degrada a ACh. Esse mecanismo é importante em algumas patologias nas quais há uma redução na quantidade de ACh, como é o caso das doenças neurodegenerativas (BORES et al., 1996).

Uma das abordagens que têm demonstrado maior eficácia clínica na terapia dessas doenças é o uso de inibidores diretos da enzima AChE (BALLONE, 2001). Diante disso o presente estudo objetivou avaliar a atividade inibitória AChE *in vitro* do alcaloide guateriopsiscina, isolado das folhas da espécie *G. friesiana*.

Figura 1. Estrutura química do alcaloide guateriopsiscina.



Materiais e Métodos

Prospecção

Foi realizada em agosto de 2014, tendo como base os pedidos de patente depositados nos bancos de dados do European Patent Office (ESPACENET), World Intellectual Property Organization (WIPO), United States Patent and Trademark Office (USPTO) e Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) do Brasil. O estudo foi feito utilizando as palavras-chave Guateriopsiscine, *Guatteria friesiana* e *Guateriopsis friesiana*, efetuando a busca exclusivamente em títulos e resumos. Também foi feita uma busca, no mesmo período, nas bases de dados Science Direct, Scopus, Web of Science, Pubmed, Portal da Capes, Bireme, Lilacs, Cochrane e Scielo, utilizando-se as palavras-chave citadas anteriormente.

Ensaio *in vitro* para determinação da atividade da enzima AChE – Teste qualitativo

A substância experimental foi dissolvida em metanol até se obter uma concentração de 1 mg/ml, então 1,5-2,5 µL dessa amostra foi aplicada em placa de sílica gel e eluída em clorofórmio e metanol na proporção 9:1, respectivamente. Após o desenvolvimento da placa, a atividade inibitória da substância eluída fora detectada utilizando-se revelador baseado no método de Ellman (ELLMAN et al., 1961). A placa foi pulverizada com DTNB (ácido 5,5'-ditiobis-[2-nitrobenzóico) e ATCI (iodeto de acetilcolina) (1 mM DTNB e 1 mM ATCI em tampão 50 mM Tris-HCl, pH 8) até a saturação com o reagente, mas não tanto para escorrer. As placas foram secas em temperatura ambiente durante 3-5 minutos e posteriormente pulverizadas com 5 U/ml da enzima (tipo VI-s, liofilizada, 292 U/mg sólida, 394 U/mg proteína; adquirida de Sigma Chemical Co.). A cafeína, um alcaloide isolado da espécie *Paulinia cupana* Kunth, foi utilizada como padrão positivo. Finalmente, o teste positivo fora observado através da mudança de cor da placa e realizado o registro por fotos.

Ensaio *in vitro* para determinação da atividade da enzima AChE – Teste quantitativo

Esse teste foi realizado através de uma adaptação do método espectrofotométrico de Ellman (ELLMAN et al., 1961). Em um tubo de ensaio, adicionou-se 100 µL da amostra (concentração de 0,1% em solução de tampão 50 mM Tris-HCl, pH 8, e 10% de metanol) misturou-se com 100 µL de AChE 0,22 U/mL (22 U de enzima diluída em 100 mL de tampão 50 mM Tris-HCl, pH 8, 0,1% BSA) e 200 µL de tampão (50 mM Tris-HCl, pH 8, 0,1% BSA). Incubou-se a mistura por 5 min a 30 °C. Posteriormente, adicionou-se, 500 µL de DTNB (3 mM em tampão Tris-HCl, pH 8, e NaCl 0,1 M, MgCl₂ 0,02 M) e 100 µL de ATCI (4 mM em água). Preparou-se o branco por substituição de AChE com 100 µL de tampão (50 mM Tris-HCl, pH 8 buffer, 0,1% BSA). A reação foi monitorada por 5 min em 412 nm e velocidade inicial (V₀) gravada. A atividade anticolinesterase (I%) foi calculada pela seguinte equação:

$$I (\%) = \left(1 - \frac{V_{0 \text{ amostra}}}{V_{0 \text{ branco}}}\right) \times 100$$

V_{0 amostra} e V_{0 branco} representam as velocidades iniciais da amostra e do branco. Os valores de CI₅₀ (concentração inibitória de 50%) foram obtidos por intermédio de plotagem Log-Probit.

Resultados e Discussão

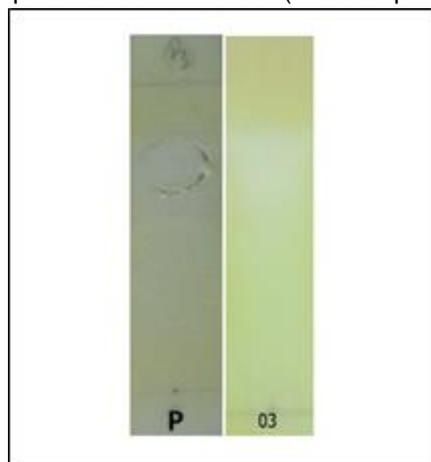
Prospecção

Não foi encontrado nenhum pedido de patente nas bases tecnológicas pesquisadas. Nas bases científicas encontrou-se um total de 85 artigos, mas após a exclusão dos estudos repetidos e dos que não versavam sobre a espécie *G. friesiana* totalizaram-se 6 estudos sobre essa espécie.

Ensaio para verificação da atividade AChE

A substância testada frente à enzima AChE apresentou resultado positivo de inibição qualitativa sendo que este resultado foi observado através da formação de halo branco em um campo amarelo da placa de cromatografia em camada delgada o que é indicativo da ação inibitória sobre a AChE (ELLMAN et al., 1961; RHEE et al., 2001), como mostrado na figura 2.

Figura 2. Placa de inibição qualitativa. P = cafeína (controle positivo); 03 = guateriopsiscina.



O teste quantitativo da enzima AChE permitiu calcular o valor da concentração inibitória de 50% (CI_{50}) para a substância guateriopsiscina, que foi igual a $0,3 \mu\text{g}/\text{m}\ell$. Isso mostra que o alcalóide guateriopsiscina apresentou resultado significativo quando comparado com a galantamina ($0,37 \times 10^{-3} \mu\text{g}/\text{m}\ell$) e com a rivastigmina ($1,87 \mu\text{g}/\text{m}\ell$), ambas são substâncias anticolinesterásicas utilizadas no tratamento da doença de Alzheimer (Tabela 1).

Tabela 1. Atividade inibitória sobre AChE de alguns compostos.

Substância	CI_{50} ($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)
Guateriopsiscina	0,30
Rivastigmina	1,87
Galantamina	$0,37 \times 10^{-3}$

Conclusão

O alcaloide guateriopsiscina apresentou-se como potente inibidor da enzima AChE. Testes *in vivo* serão realizados para verificação das atividades anticolinesterásica, antioxidante e toxicológica; além de testes comportamentais em camundongos para análise da atividade desse alcaloide sobre o sistema nervoso central incluindo seu possível efeito sobre a memória, visando sua futura aplicação em formulações farmacêuticas para a terapêutica de doenças neurodegenerativas que dependem da modulação desta enzima, incluindo o Mal de Alzheimer.

Referências

BALLONE, G.J. **Doença de Alzheimer**. Disponível em: <www.psiqweb.med.br/geriat/alzh.html> Acesso em 15 de ago de 2001.

BORES, G. M., HUGER, F. P., PETKO, W., MUTLIB, A., CAMACHO, F., RUSH, D. K., SELK, D. E., WOLF, V., KOSLEY, R. W Jr., DAVIS, L., VARGAS, H. M. Pharmacological evaluation of novel Alzheimer's disease therapeutics: acetylcholinesterase inhibitors related to galanthamine. **Journal Pharmacology Experimental Therapeutics**, v. 277, p.728-738, 1996.

COSTA, E.V. MARQUES, F.A.; PINHEIRO, M.L.; VAZ, N.P.; DUARTE, M.C.; DELARMELENA, C.; BRAGA, R.M.; MAIA, B.H. 7,7-Dimethylaporphine Alkaloids from the Stem of *Gutteriopsis friesiana*. **Journal Natural Products**, v. 72, p. 1516–1519, 2009.

ELLMAN, G.L.; COURTNEY, K.D.; ANDRES-JÚNIOR, V.; FEATHERSTONE, R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, p. 88-95, 1961.

RHEE, I. K.; VAN DE MEENT, M.; INGGANINAN, K.; VERPOORTE, R. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. **Journal of Chromatography A**, v. 915, p. 217-223, 2001.

VEIGA JUNIOR, V.F.; PINTO, A.C.; MACIEL, M.A.M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, p. 519-528, 2005.

Agradecimentos

Ao professor Dr. Emanuel Vilaça Costa por ter cedido a substância; à Universidade Federal do Piauí e ao Laboratório de Pesquisas em Neuroquímica Experimental por proporcionarem a infraestrutura necessária para a realização desta pesquisa.

CS39 - Monoterpenos anticonvulsivantes: uma prospecção tecnológica

Yan de Carvalho Araújo (IC)^{1*}; Oskar Almeida Silva (PQ)²; Maria dos Remédios Mendes de Brito (PQ)²; Julyanna Maciel Martins (IC)¹; Rivelilson Mendes de Freitas (PQ)²

1. Universidade Federal do Piauí – PIBIC/UFPI
2. Universidade Federal do Piauí – PÓS-GRADUAÇÃO EM CIENCIAS FARMACEUTICAS
3. Universidade Federal do Piauí – Curso de Graduação em Farmácia

*yan_carvalho@live.com

Palavras-chave: Terpenos. Convulsão. Sistema Nervoso Central. Fitomedicamento. Patentes.

Resumo

Os óleos essenciais são substâncias voláteis extraídas de plantas aromáticas, que possuem uma grande variedade de atividades farmacológicas, sendo inúmeras atribuídas aos monoterpenos. Estudos têm relatado que os monoterpeno e seus derivados podem agir no sistema nervoso central. Dentre esses compostos psicoativos, vários estudos têm demonstrado a atividade anticonvulsivante destes produtos naturais. Essa prospecção teve por objetivo analisar as patentes que envolvem os monoterpenos e sua ação anticonvulsivante, sendo realiza por meio de uma pesquisa tendo como base os pedidos de deposito de patente no Instituto Nacional de Propriedade Industrial, no *United States Patentand Trademark Office*, no *European Patent Office* e na *World Intellectual Property Organization*. Os resultados demonstraram pedidos de deposito de patente recentes, mas não ocorreu nenhum pedido no 2 últimos anos, onde o maior detentor

de patente é a *World Intellectual Property Organization* e a Classificação Internacional mais abundante foi a A61K. O Brasil possui somente 1 pedido de depósito, demonstrando o baixo investimento em pesquisa.

Introdução

A utilização de plantas medicinais para o tratamento, cura e prevenção de doenças que acometem a espécie humana é tão antiga quanto a própria existência de vida humana na Terra. O Brasil apresenta uma diversidade genética vegetal das maiores do mundo, englobando de 15 a 25% de todas as espécies vegetais do planeta, sendo a região nordeste um das regiões exploradoras desta riqueza vegetal, embora ainda de maneira tímida, na investigação de plantas para o tratamento de diversos tipos de doenças (MOREIRA et al., 2013).

Os óleos essenciais são substâncias voláteis extraídas de plantas aromáticas, constituindo matérias-primas de grande importância para as indústrias cosmética, farmacêutica e alimentícia. (SIMÕES; SPITZER, 1999). Muitos óleos voláteis possuem uma grande variedade de atividades farmacológicas ansiolíticas, anticonvulsivante e/ou antinociceptiva. E esses efeitos são provavelmente devido à diversidade estrutural dos constituintes presentes nos óleos essenciais de plantas medicinais aromáticas. Inúmeras atividades biológicas destes óleos voláteis são atribuídas aos monoterpenos, que são os principais componentes químicos dos óleos essenciais (SANTOS; FREITAS, 2013).

Estudos têm relatado que os monoterpenos e seus derivados sintéticos têm várias propriedades farmacológicas, e algumas podem agir no sistema nervoso central. Dentre esses compostos psicoativos, vários estudos têm demonstrado a atividade anticonvulsivante destes produtos naturais, destacando-se como um importante campo de pesquisa, já que esta afecção acomete um grande número de pessoas, afetando diretamente suas qualidades de vida e convívio social (SANTOS; FREITAS, 2013).

Os monoterpenos demonstra capacidade para o desenvolvimento de novos psicofármacos, sendo essa uma das mais importantes classes de medicamentos e estão presentes diariamente na vida de uma parte 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 (MORENO, 2011). As necessidades do mercado farmacêutico aliadas ao reconhecimento de que pesquisas com plantas medicinais usadas na medicina popular representam uma abordagem compatível com o desenvolvimento de novas drogas levaram a um aumento do número de publicações neste campo, em virtude do reconhecimento da importância desta área de estudo por parte das instituições privadas ou governamentais (COELHO, 2013).

Tendo em vista que os monoterpenos são um dos principais constituintes dos óleos essenciais e possuem atividade anticonvulsivante, essa prospecção teve por objetivo analisar os pedidos de depósitos de patentes que envolvem os monoterpenos e sua ação anticonvulsivante, por meio de uma pesquisa em bases de depósitos de patentes afim de verificar a frequência de depósitos, suas aplicações e as perspectivas.

Materiais e Métodos

A pesquisa foi realizada em abril de 2014 nas bases de dados *on line* do Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), no *United States Patent and Trademark Office* (USPTO), no *European Patent Office* (EPO) e na *World Intellectual Property Organization* (WIPO), utilizando como palavras-chave monoterpenos ou *monoterpenes*, anticonvulsivantes ou *anticonvulsants*, sistema nervoso central ou *central nervous system*, monoterpenos e anticonvulsivantes ou *monoterpenes and anticonvulsants*. Os termos em inglês e em português foram utilizados respectivamente para as bases internacionais e nacionais, sendo considerados válidos os documentos que apresentassem esses termos no campo título e/ou resumo.

Resultados e Discussão

O número de patentes depositadas nas bases de dados do INPI, EPO, WIPO e USPTO estão apresentados na tabela 1, sendo possível observar vários processos envolvendo os termos monoterpenos ou *monoterpenes*, anticonvulsivante ou *anticonvulsants* e sistema nervoso central ou *central nervous system*, contudo quando combinado os termos monoterpenos e anticonvulsivantes ou *monoterpenes and anticonvulsants*, o INPI apresenta 1 pedido, o WIPO apresenta 32 e os demais não possuem nenhum.

Tabela 1. Total de depósitos de patentes pesquisados nas bases do INPI, EPO, WIPO e USPTO.

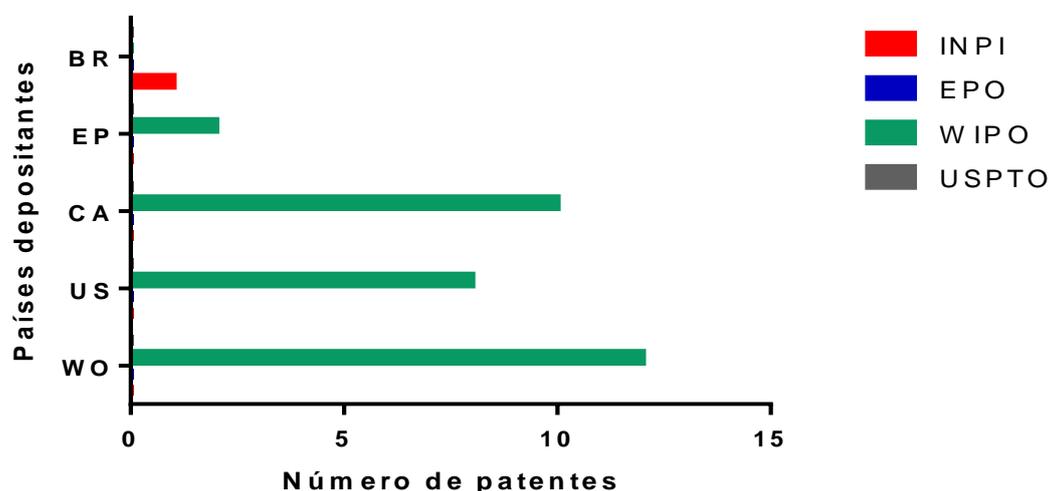
Palavras-chave	INPI	EPO	WIPO	USPTO
Monoterpenos ou Monoterpenes	18	180	3281	40
Anticonvulsivantes ou Anticonvulsants	21	1032	862	321
Sistema Nervoso Central ou Central Nervous System	630	16171	14657	2963
Monoterpenos e Anticonvulsivantes ou Monoterpenes and Anticonvulsants	1	0	32	0

Considerando que somente as bases de dados INPI e WIPO possuem pedido de depósito de patente relacionando os dois termos, monoterpeno e anticonvulsivante ou *monoterpenes and anticonvulsants*, o estudo foi direcionado com intuito de investigar as informações relacionadas à distribuição de patentes por país, ano de depósito e por classificação internacional de patentes (CIP).

Patentes relacionadas ao termo Monoterpenos e Anticonvulsivantes ou *Monoterpenes and Anticonvulsants*

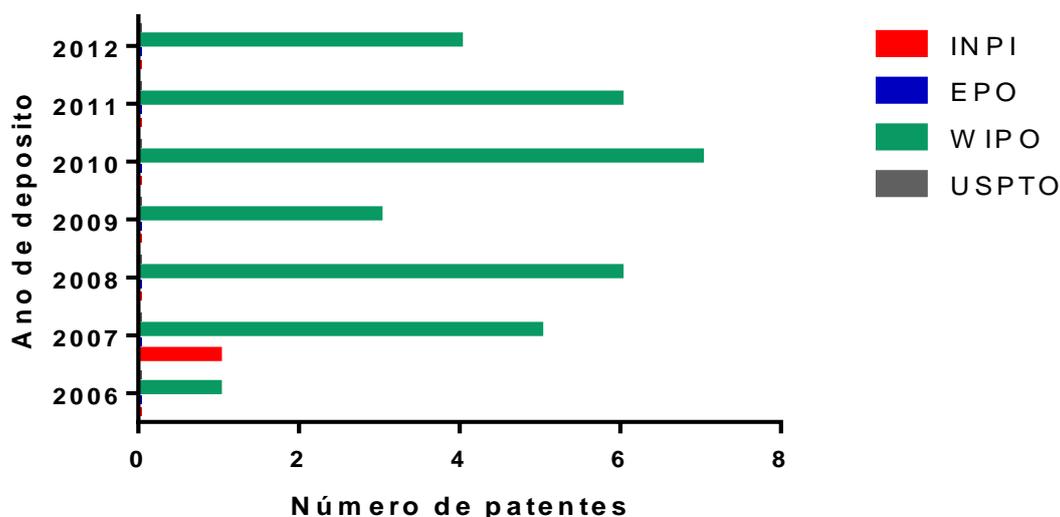
De acordo com o gráfico 1, WIPO (WO) possui o maior número de patentes depositados, onde se encontram registrados 12 pedidos de patentes, seguindo pelo Canada com 10, Estados Unidos da América com 8, EPO com 2 e o Brasil com 1. Pode ser observado que 32 pedidos de patentes foram depositados no WIPO e somente 1 foi depositada no INPI, o que pode demonstrar uma maior preocupação em proteger as patentes em nível mundial. O Brasil possui 22 a 24% de toda biodiversidade vegetal do mundo, o que faz a flora nativa uma das mais ricas fontes de substâncias com potencial farmacológico (AZEVEDO, 2003). Um levantamento envolvendo 278 plantas nativas brasileiras revelou que 66,9% delas são sujeitas à aplicação ou a concessão de patentes (MOREIRA et al., 2013), mas apesar desse número elevado, pode ser observado de acordo com a gráfico 1 o baixo número de patentes em relação aos demais países, o que demonstrar uma baixa exploração da flora, um fator que esta ligado ao baixo investimento em pesquisa por parte do governo.

Gráfico 1. Número de patentes em função do país depositante para o termo Monoterpenos e Anticonvulsivantes ou *Monoterpenes and Anticonvulsants*.



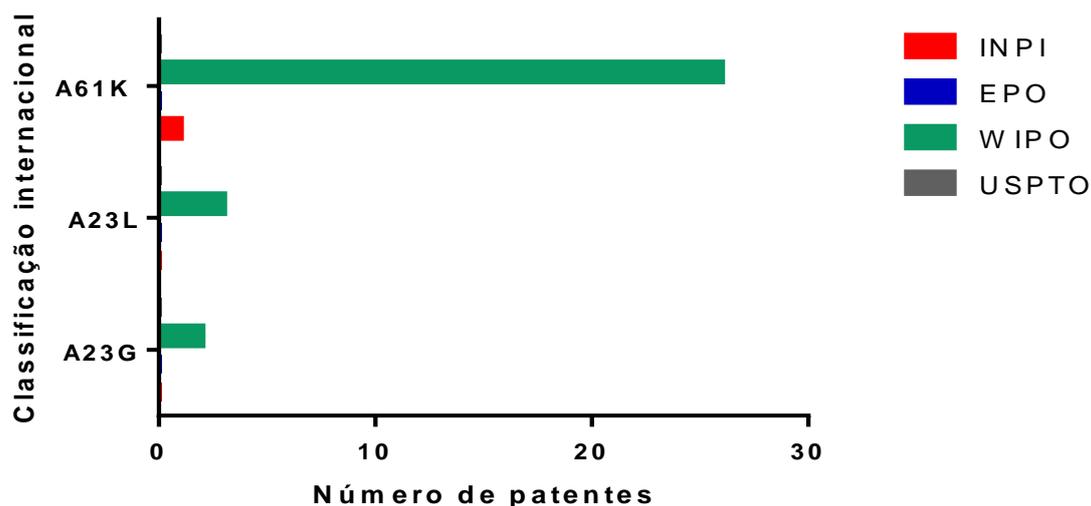
No intuito de verificar a evolução dos pedidos de depósitos de patente, foi realizado a análise do ano, que estão apresentados gráfico 2, sendo possível observar que o primeiro pedido de patente foi registrado no ano de 2006, ocorrendo uma elevação no número de pedidos no ano subsequente e em 2010 foi registrado o maior número de depósitos, nos anos seguintes ocorreu um retrocesso, sendo possível observar que a partir de 2013 não houve registro de nenhuma patente envolvendo monoterpenos anticonvulsivantes.

Gráfico 2. Número de patentes em função do ano de depósito para o termo Monoterpenos e Anticonvulsivantes ou *Monoterpenes and Anticonvulsants*.



Na Classificação Internacional de Patentes gráfico 3, todas as patentes apresentavam registro na seção A, que tratam de necessidades humanas. Na subseção foram encontrados 5 patentes que se enquadram na A23 (Alimentos ou produtos alimentícios) e 27 na A61 (Ciências medicas; higiene). Na classe A23G (Cacau, produtos de cacau, substitutos de cacau ou produtos de cacau; confeitos, goma de mascar, sorvetes, preparações dos mesmos) foram encontrados 2 patentes, na A23L (Alimentos, produtos alimentícios ou bebidas não alcoólicas) 3 patentes e na A61K (Preparações para fins médicos, odontológicos e higiênicos) 27, sendo 1 brasileira. É possível observar que a maior parte das patentes esta classifica na área de ciências medicas, demonstrando uma grande aplicação dos monoterpenos nessa área.

Gráfico 3. Número de patentes em função da classificação para o termo Monoterpenos e Anticonvulsivantes ou *Monoterpenes and Anticonvulsants*.



Conclusão

Por meio da análise dos dados nas bases consultadas, foi possível observar que é recente as patentes envolvendo o uso de monoterpenos como anticonvulsivantes, mas ocorreu um decréscimo nos últimos anos, chegando a nenhuma em 2013. Além disso, apesar de sua grande biodiversidade, foi constatada apenas uma patente brasileira, o que demonstrando uma maior necessidade de investimento

em pesquisa, inovação e desenvolvimento tecnológico, já que existe um grande potencial para desenvolvimento de novas tecnologias que vem sendo pouco explorada em território nacional.

Referências

AZEVEDO, C. M. A. **Bioprospecção: Coleta de material biológico com finalidade de explorar os recursos genéticos**. Caderno nº 17 2ª Ed. Revisada. CETESB, São Paulo, 2003.

COÊLHO, M.L.; ALMEIDA, A.A.C.; CARVALHO, R.B.F; FREITAS, R.M. Formulações farmacêuticas contendo monoterpenos: uma prospecção tecnológica. **Revista GEINTEC: gestao, inovacao e tecnologias**, v. 3, p. 058-065, 2013.

MOREIRA, M. R. C.; FREITAS, R. M.; SOUSA, D. P.; ALMEIDA, R. N. **Prospecção tecnológica do miternol: Um monoterpeno com atividade farmacológica sobre o sistema nervoso central**. In: Anais do IV Simpósio internacional de inovação tecnológica; 2013, Aracaju-BR. Anais SIMTEC, 2013. p.636-644.

MORENO, L.C.G.A.I. **Delineamento e caracterização de lipossomas contendo nimodipina para uso direcionado a doenças neurodegenerativas**. 2011. 115f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Piauí.

SANTOS, P. S.; FREITAS, R. M. Atividade ansiolítica e anticonvulsivante de constituintes de óleos essenciais. **Revista Interdisciplinas**. v.6, n.1, p. 105-111, 2013.

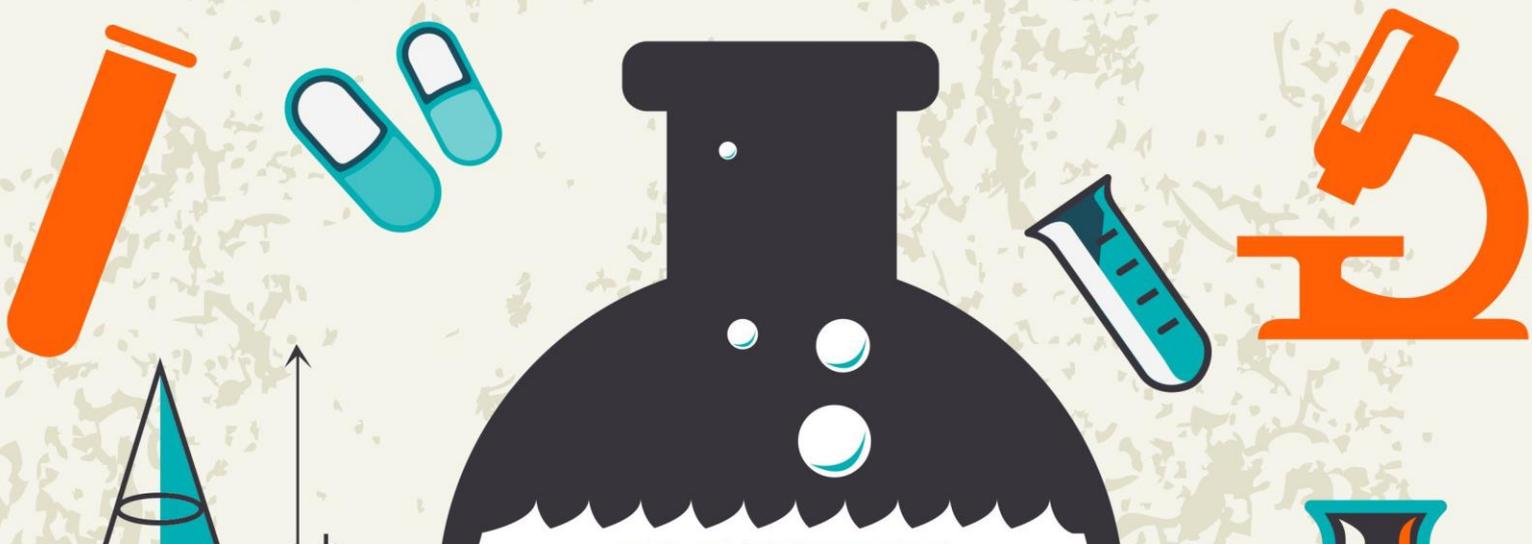
SIMÕES, C. M. O.; SPITZER. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004, p. 467-495.

Agradecimentos

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

III WORKSHOP

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



Trabalhos com apresentação oral



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

OR01 - Avaliação do potencial antioxidante e mecanismo de ação ansiolítico do LCNa

Hellen Kelen Maria Medeiros Coimbra Viana (PG)¹; Rivelilson Mendes de Freitas (PQ)²; Hercília Maria Lins Rolim (PQ)²

1. Universidade Federal do Piauí – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
2. Universidade Federal do Piauí – Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

*hellenkelen@yahoo.com.br

Palavras-chave: Lipossomas. Nimodipina. Ansiedade. Antioxidante.

Resumo

Pesquisas anteriores demonstraram que lipossomas contendo nimodipina (LCNa) apresentam efeito ansiolítico, antidepressivo, anticonvulsivante e elevada capacidade antioxidante *in vitro*. Complementando estes estudos, o presente trabalho teve como objetivo investigar o envolvimento dos sistemas serotoninérgicos e dopaminérgicos no mecanismo de ação ansiolítico de LCNa e avaliar a seu potencial antioxidante *in vitro*. Foi realizada a avaliação do potencial antioxidante *in vitro* da nimodipina e de LCNa por meio da eliminação do radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•) e pelo 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) - ABTS, radical superóxido (O₂^{•-}) e potencial redutor nas concentrações (2,15; 4,30; 8,60; 12,90 e 17,20 nM). Os estudos realizados demonstraram moderada capacidade antioxidante da nimodipina com valores de CE₅₀ iguais a 127,54 nM; 4,91nM; 229,36 nM e 183,59 nM contra os radicais DPPH•, ABTS^{•+}, superóxido e poder redutor, respectivamente. Quando avaliada a capacidade antioxidante do LCNa nas mesmas condições experimentais que a nimodipina, foi observado maior efeito antioxidante com valores da CE₅₀ de 0,19 nM; 0,05 2nM; 0,949 nM e 2,35 nM, respectivamente. Quanto a investigação do envolvimento dos receptores serotoninérgicos e dopaminérgicos no mecanismo de ação ansiolítico do LCNa, foram realizados testes comportamentais claro/escuro, labirinto em cruz elevada, campo aberto e *rota rod*. Foi verificado que LCNa produziram atividade ansiolítica sem causar sedação e sem alterar a capacidade locomotora dos animais testados. O uso dos antagonistas WAY-100635 (5 mg/kg) e sulpirida (50 mg/kg) reverteram os efeitos do LCNa (10 mg/kg). Sugerindo o envolvimento dos receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} e dopaminérgicos D₂ no mecanismo de ação ansiolítico de LCNa.

Introdução

A ansiedade é definida como um estado emocional negativo, é uma reação de defesa caracterizada por sentimento de apreensão, incerteza, preocupação, inquietação e tensão (ENNACEUR, 2014). Os transtornos da ansiedade apresentam elevada prevalência na população. A organização mundial de saúde aponta a ansiedade como a maior causa de incapacitação nos últimos anos nos Estados Unidos, causando impactos na qualidade de vida, trazendo prejuízos na vida profissional e social do indivíduo (KULESSKAYA; VOIKAR, 2014; CHIOCA, 2013).

Os tratamentos farmacológicos atualmente disponíveis para transtornos da ansiedade são os benzodiazepínicos, considerados fármacos de primeira escolha no tratamento da ansiedade, mas infelizmente estão relacionados com a ocorrência de vários efeitos adversos tais como. E a buspirona, fármaco serotoninérgico que tem demonstrado eficácia no tratamento sem apresentar os efeitos adversos observados com o uso dos benzodiazepínicos. Porém, os efeitos ansiolíticos só aparecem após 3 - 4 semanas (COSTA et al., 2014; MANSOURI et al., 2014). Assim, é importante a busca por novos agentes terapêuticos seguros e eficazes para o tratamento da ansiedade e que apresentem menos efeitos adversos.

As dihidropiridinas foram desenvolvidas principalmente para tratamento de doenças cardiovasculares; no entanto, as investigações têm sido ampliadas para considerar o seu potencial para prevenir o envelhecimento cerebral. Nimodipina, 1,4-dihidropiridina, é o composto estudado mais extensivamente a

este respeito. Bloqueadora seletiva dos canais de cálcio tipo L, possui alta lipossolubilidade e apresenta potente efeito vasodilatador cerebral. A neuroproteção produzida em modelos animais tratados com nimodipina após acidente vascular cerebral isquêmico forneceu a justificativa para avaliar se o tratamento crônico com esta droga poderia retardar o envelhecimento cerebral (GOTZ et al., 1994; CÁRDENAS – MÉJILA et al., 2010).

No entanto, o uso da nimodipina está limitado pela sua baixa solubilidade e biodisponibilidade oral e extenso metabolismo de primeira passagem, sendo necessárias doses elevadas para obtenção dos efeitos desejados (NASCIMENTO, 2005). Assim, o uso de lipossomas que são sistemas versáteis, capazes de reter princípios ativos neles encapsulados, promovem liberação controlada dos fármacos, melhoram a biodisponibilidade e reduzem efeitos colaterais (FRÉZARD et al., 2005). Estudos anteriores evidenciaram a efetividade de entrega de nimodipina na forma lipossomal sem causar toxicidade nos animais testados em modelos de ansiedade (MORENO et al., 2014). Também foi sugerido um positivo potencial antioxidante de lipossomas contendo nimodipina (LCNa) que foi demonstrado pela redução de radicais nitritos, remoção de radicais hidroxila e de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (OLIVEIRA, 2013). Nessa perspectiva, o objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial antioxidante e mecanismo de ação ansiolítico de lipossomas contendo nimodipina: envolvimento dos sistemas serotoninérgico e dopaminérgico.

Material e Métodos

Os Lipossomas contendo nimodipina (LCNa) foram preparadas usando o método da hidratação do filme lipídico, tal como descrito por Moreno et al (2014).

Avaliação do potencial antioxidante *in vitro* do LCNa

A avaliação do potencial antioxidante do LCNa *in vitro* foi realizado por meio de metodologias previamente descritas: Inibição da produção do radical DPPH (OLIVEIRA et al., 2014), Inibição da Produção do radical ABTS (OLIVEIRA e colaboradores, 2014), contra o radical superóxido gerado pela auto-oxidação do Pirogalol (LI et al., 2013) e avaliação do potencial redutor (Singhal et al., 2011), com modificações.

Animais

Camundongos Swiss machos com dois meses de idade e peso variando entre 25 a 30 g, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí. Os animais receberam água e dieta (Labina®) *ad libitum* e foram mantidos sob condições controladas de iluminação (com ciclo claro/escuro de 12 h) e temperatura ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) antes da realização dos protocolos experimentais.

Os protocolos e procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí (CEEA / UFPI No.014 / 11).

Protocolos experimentais

Investigação do envolvimento serotoninérgico no mecanismo de ação ansiolítico de lipossomas contendo nimodipina

Os animais foram tratados de forma aguda, sendo cada grupo constituído por sete camundongos. Os protocolos de tratamento foram realizados da seguinte forma: solução salina 0,9% (i.p; controle negativo; veículo), buspirona 5 mg/kg (i.p; controle positivo), nimodipina livre 10 mg/kg (v.o) e LCNa (i.p) 10 mg/kg. Após 30 minutos das aplicações, os animais foram submetidos aos testes comportamentais para avaliação da atividade ansiolítica e dos parâmetros relacionados à atividade e coordenação motora.

Para investigar o possível envolvimento de LCNa com os sítios dos receptores 5-HT_{1A}, foi realizado pré-tratamento com WAY – 100635 (10 mg/kg i.p) 15 minutos antes das aplicações de LCNa (i.p) e buspirona (5 mg/kg i.p), bem como um outro grupo foi tratado apenas com WAY - 100635 na dose de 10 mg/kg (i.p). Desta forma, as avaliações comportamentais nos testes de Campo Aberto (ARCHER, 1973) , Claro/Escuro (CRAWLEY, 1985), Labirinto em Cruz Elevada (LISTER, 1987) e *Rota Rod* (DUNHAM, MIYA, 1987) foram realizadas 30 minutos após a administração das últimas drogas.

Investigação do envolvimento dopaminérgico no mecanismo de ação ansiolítico de lipossomas contendo nimodipina

Os animais foram tratados de forma aguda, sendo cada grupo constituído por sete camundongos. Os protocolos de tratamento foram realizados da seguinte forma: solução salina 0,9% (i.p; controle negativo; veículo), dopamina 0,5 mg/kg (i.p; controle positivo), nimodipina livre 10 mg/kg (v.o) e LCNa (i.p) 10 mg/kg. Após 30 minutos das aplicações, os animais foram submetidos aos testes comportamentais para avaliação da atividade ansiolítica e dos parâmetros relacionados à atividade e coordenação motora.

Para investigar o possível envolvimento de LCNa com os sítios dos receptores dopaminérgicos – D₁ e D₂, foi realizado pré-tratamento com sulpirida (50 mg/kg i.p) 30 minutos antes das aplicações de LCNa (i.p) e dopamina (0,5 mg/kg i.p), bem como um outro grupo foi tratado apenas com sulpirida na dose de 50 mg/kg (i.p). Dessa forma, as avaliações comportamentais nos testes de Campo Aberto, Claro/Escuro, Labirinto em Cruz Elevada e *Rota Rod* foram realizadas 30 minutos após a administração das últimas drogas.

Análise estatística

Todos os resultados foram apresentados como média ± erro padrão da média (E.P.M). Análise estatística foi realizado utilizando *one way* ANOVA, seguido pelo teste *Newman – Keuls* como *post hoc* teste. Os resultados foram considerados estatisticamente significante quando $p < 0,05$. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando *GraphPad Prism* 6.02 (San Diego, CA, USA). Os valores antioxidantes *in vitro* da CE₅₀ foram obtidos por regressão linear utilizando o software *GraphPad Prism* 6.02 (*GraphPad, Inc.*, Califórnia, EUA).

Resultados e Discussão

Avaliação do potencial antioxidante *in vitro* do LCNa e da nimodipina

Os estudos realizados demonstraram moderada capacidade antioxidante da nimodipina contra radical DPPH (CE₅₀ = 127,54 nM), ABTS (CE₅₀ = 4,91 nM), superóxido (CE₅₀ = 229,36 nM) e potencial redutor (CE₅₀ = 183,59 nM). Quando avaliada a capacidade antioxidante do LCNa nas mesmas condições experimentais que a nimodipina, foi observado maior efeito antioxidante com o valor da CE₅₀ de 0,19 nM para o radical DPPH[•], 0,052 nM para o radical ABTS^{•+}, 0,949 nM para o radical superóxido e 2,35 nM para o potencial redutor. Assim, foi demonstrado que LCNa melhorou a capacidade antioxidante da nimodipina, o que pode estar relacionado a uma maior solubilidade do fármaco e ao conseqüente aumento da interação com os radicais testados.

Investigação do envolvimento dos sistemas serotoninérgico e dopaminérgico no mecanismo de ação ansiolítico do LCNa

Trinta minutos após os tratamentos com LCNa (10 mg/kg, i.p) e nimodipina livre (10 mg/kg, v.o), foi detectado um aumento do tempo de permanência no campo claro do teste claro/escuro, bem como aumento no número de entradas e no tempo de permanência nos braços abertos do teste labirinto em cruz elevada, entre animais tratados com LCNa em relação aos animais tratados com nimodipina (NMD) e com o veículo. A buspirona (5 mg/kg, i.p) e dopamina (0,5 mg/kg) promoveram aumento no tempo de permanência no campo claro, bem como no tempo de permanência nos braços abertos. No teste do campo aberto foi demonstrado que a buspirona reduziu o número de cruzamentos, *groomings* e *rearings* comparado ao veículo, já o LCNa aumentou o número de cruzamentos, de *groomings* e de *rearings* quando comparado a buspirona e não demonstraram alterações significativas com relação ao veículo. No teste *rota rod*, a buspirona promoveu aumento no número de quedas e diminuiu o tempo de permanência na barra giratória, em relação aos animais que receberam solução salina, a nimodipina e os lipossomas contendo nimodipina não provocaram alterações significativas comparadas ao veículo. Já a dopamina não apresentou resultados significativos comparados aos valores obtidos entre os animais tratados com veículo, NMD e LCNa em todos os parâmetros observados nos testes campo aberto e *rota rod*. O uso do

WAY100635 (5 mg/kg, i.p) antagonizou os efeitos sobre a atividade ansiolítica do LCNa, da mesma forma, a sulpirida (50mg/kg) também reverteu estes efeitos. Não foram observadas alterações sobre a coordenação motora dos animais testados. Em suma, os resultados obtidos sugerem que há participação dos sistemas serotoninérgicos e dopaminérgicos no mecanismo de ação ansiolítico dos lipossomas contendo nimodipina.

Conclusão

Os lipossomas foram capazes de melhorar a solubilidade da nimodipina. Os lipossomas contendo nimodipina apresentaram melhoria da capacidade antioxidante *in vitro* (DDPH, ABTS, superóxido e potencial redutor) com quantidade de fármaco muito inferior comparado com a nimodipina não encapsulada.

Por meio dos testes comportamentais claro-escuro, labirinto em cruz elevado, campo aberto e *rota rod*, foi observada atividade ansiolítica de lipossomas contendo nimodipina sem causar comprometimento da atividade locomotora e coordenação motora. E ainda, podemos sugerir que o LCNa pode exercer seu mecanismo de ação ansiolítico por meio de receptores serotoninérgicos, 5-HT_{1A} e dopaminérgicos, D₂.

Referências

ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: A review. **Animal Behaviour**, v. 21, n.1, p. 205-235, 1973.

CÁRDENAS – MÉJILA, A.; GOMEZ, C.G.; ESTRADA - TRISTÁN, C. A.; AGUIRRE - CRUZ, M.L. **Efecto del nimodipino sobre la integración de injertos nerviosos en ratas**. Cirugía Plástica, v. 20, n.1, p. 6-16 -16, 2010.

CHIOCA, L.R. **Avaliação do mecanismo de ação do efeito tipo ansiolítico da inalação do óleo essencial de lavanda em camundongos**. 2013. 92f. Tese (Doutorado em farmacologia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

COSTA, J.P.; OLIVEIRA, G.A.L.; ALMEIDA, A.A.C.; ISLAM, T.; SOUSA, D.P.; FREITAS, R.M. Anxiolytic-like effects of phytol: Possible involvement of GABAergic transmission. **Brain Research**, v. 1547, p. 34- 42, 2014.

CRAWLEY, J.N. Neuropharmacologic specificity of a simple model for the behavioural actions of benzodiazepines. **Pharmacology Biochemistry Behaviour**, v. 695-699, 1981.

DUNHAM, N.W.; MIYA, T. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. **Journal of the American Pharmacists Association**, v. 46, n. 3, p. 208-209, 1957.

ENNACEUR, A. Tests of unconditioned anxiety - Pitfalls and disappointments. **Physiology & Behavior**, v. 135, p. 55-71, 2014.

FREZARD, F.; SCHETTINI, D. A.; ROCHA, O. G. F.; DEMICHELI, C. Lipossomas: propriedades físico-químicas e farmacológicas, aplicações na quimioterapia à base de antimônio. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 3, 2005.

GOTZ, M.E; KUNING, G; RIEDERER, P., YODIM, M.B. Oxidative stress: Free radical production in neural degeneration. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 63, p. 37-122, 1994.

LI, X.; MAI, W.; WANG, L.; HAN, W. A hydroxyl-scavenging assay based on DNA damage in vitro. **Analytical Biochemistry**, v. 438, n. 1, p. 29-31, 2013.

LISTER, R.G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, n. 2, p. 180-185, 1987.

MANSOURI, M.T.; SOLTANI, M.; NAGHIZADEH, B.; FARBOOD, Y.; MASHAK, A.; SARKAKI, A. **A possible mechanism for the anxiolytic-like effect of gallic acid in the rat elevated plus maze**. Pharmacology Biochemistry and Behavior, v. 117, p. 40-46, 2014.

MORENO, L. C. G. A. I.; OLIVEIRA, G. Z. S.; CAVALCANTI, I. M. F.; SANTOS-MAGALHÃES, N. S.; ROLIM, H. M. L.; FREITAS, R. M. Development and evaluation of liposomal formulation containing

nimodipine on anxiolytic activity in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 116,p.64–68, 2014.

NASCIMENTO, V. S. **Estudo do processo convulsivo e das ações da nimodipina no modelo de convulsão com pilocarpina em ratos jovens**. 2005. 151f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) Universidade Federal do Ceará – UFC, Ceará.

OLIVEIRA, G. Z. S. **Desenvolvimento e caracterização de uma formulação farmacêutica lipossomal contendo nimodipina: ensaios pré-clínicos com ênfase em transtornos psicossociais**. 2013. 123f. Dissertação (Mestrado em Ciências farmacêuticas), Universidade Federal do Piauí – UFPI, Piauí.

OLIVEIRA, G.L.S.; OLIVEIRA, F.R.A.M.; ALENCAR, M.V.O.B.; JUNIOR, A.L.G.; ARAUJO, A. S.; CAVALCANTE, A.A.C.; FREITAS, R.M. Evaluation of antioxidant capacity of the aqueous extract of *Cynara scolymus* L. (Asteraceae) *in vitro* and in *Saccharomyces cerevisiae*. **African Journal of Pharmacy and**, v. 8, n. 5, p. 136-147, 2014.

SINGHAL, M.; PAUL, A.; SINGH, H. P. Synthesis and reducing power assay of methyl semicarbazone derivatives. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 1, p. 644-650, 2011.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Universidade Federal do Piauí (UFPI), ao Laboratório de Pesquisa em Neuroquímica Experimental (LAPNEX) e ao Laboratório de Nanossistemas Farmacêuticos de Liberação Modificada (NANOSFAR).

OR02 - Avaliação das propriedades farmacológicas de um derivado do ácido ferúlico

Keylla da Conceição Machado (PG)^{1*}; Kátia da Conceição Machado (PG)³; Adailson Almeida Araruna Júnior (G)²; Rivelilson Mendes de Freitas (PQ)⁴

1. Universidade Federal do Piauí – Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia
2. Faculdade Santo Agostinho – Curso de Graduação em farmácia
3. Universidade Federal do Piauí – Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
4. Universidade Federal do Piauí – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

*keyllamachado06@hotmail.com

Palavras-chave: Ansiedade. Antioxidante. Camundongos. Epilepsia.

Resumo

O FI é um éster derivado do ácido ferúlico obtido por meio de uma reação de esterificação. Contudo, ainda não há pesquisas quanto as propriedades farmacológicas e toxicológicas, principalmente sobre o Sistema Nervoso Central deste fenilpropanoíde. O objetivo do estudo foi avaliar a toxicidade, investigar o potencial antioxidante e as propriedades farmacológicas. Para tanto, foi realizada a avaliação da toxicidade no teste de *Artemia salina* e o potencial antioxidante *in vitro* pelos métodos 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, ácido 2,2'-azinobis-3 etilbenzotiazolina-6- sulfônico, hidroxila e óxido nítrico. Além disto, foi verificada sua capacidade em inibir a peroxidação lipídica por meio da determinação das substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico, bem como o seu potencial redutor nas concentrações 2,36; 4,72; 7,08 e 14,16 mM. Os testes do campo aberto e do *rota rod* foram aplicados para avaliar o efeito sobre a atividade locomotora e coordenação motora em camundongos *Swiss* que foram tratados por via intraperitoneal (i.p.) com 25, 50, 75 ou 150 mg/kg do FI, e para os grupos: grupo controle (salina, 10 mL/kg) e diazepam (1 mg/kg) (i.p., controle positivo nos testes comportamentais), flumazenil (2,5 mg/kg) e ácido ascórbico (2,5

mg/kg controle positivo testes antioxidantes). A atividade ansiolítica foi observada pelo teste de esconder esferas. Para avaliação da atividade antiepiléptica com as mesmas doses do FI usadas no teste psicomotores. Os resultados sugerem que o FI apresenta potencial para o desenvolvimento de estudos futuros que visam novas alternativas para o tratamento de doenças neuropsiquiátricas relacionadas ao estresse oxidativo.

Introdução

A busca por alternativas terapêuticas mais seguras, eficazes e com menor custo, bem como que apresentem baixa toxicidade pode combinar na busca pela diminuição do uso de associações, e na introdução de substâncias isoladas e/ou sintéticas na terapêutica, sendo sua aplicação disseminada no século XX. Desta forma, os constituintes encontrados em óleos essenciais em pequenas quantidades são sintetizados em larga escala, sendo utilizado como matéria prima para pesquisa sobre suas atividades farmacológicas sobre sistema nervoso central (SOUSA, 2011; SANTOS; FREITAS, 2013).

Diante disso, estudos farmacológicos com produtos naturais e sintéticos que apresentam atividade sobre o sistema nervoso central (SNC) e combatem os radicais livres tem auxiliado a compreensão das desordens relacionadas às atividades psicomotoras, tornando-se um campo bastante promissor para o desenvolvimento de novas opções terapêuticas com maior eficácia e menor toxicidade (CAMPELO et al., 2011; SILVA et al., 2011; ALMEIDA et al., 2012).

Neste trabalho, está sendo investigado pela primeira vez um derivado fenilpropanóide, FI, proveniente do ácido ferúlico. Seu precursor já possui descrito na literatura diversas ações farmacológicas comprovadas, como por exemplo: antidepressivo (ZENI et al., 2012) e antioxidante (ITAGAKI et al., 2009). No entanto, os efeitos do derivado deste fenilpropanóide sobre o sistema nervoso central ainda não foi estudado. Desta forma, o presente estudo realizou a determinação antioxidante como também, a caracterização comportamental por meio da coordenação motora em camundongos após administração com FI.

Material e Métodos

Drogas e Tratamentos

O composto é derivado do ácido ferúlico, possui um índice de refração de $1,544 \pm 0,02$, tensão superficial de $40,3 \pm 3,0$ dyn/cm e densidade de $1,104 \pm 0,06$ g/cm³. O processo de elaboração do produto consiste em uma reação de esterificação do ácido.

Processo para a esterificação do ácido ferúlico: Em uma mistura com agitação de ácido ferúlico (5 mmol) em álcool isoamílico (200 mL) foi adicionado a ácido sulfúrico concentrado (0,067 mL, 1,25 mmol), e a mistura da reação foi submetida a refluxo durante 3 horas em um balão de 500 mL. Depois de arrefecer até 25 °C, de acetato de etila foi adicionado e a solução foi lavada com água e salmoura. A fração de acetato de etila foi seca sobre MgSO₄, filtrada, e concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica usando 20% de acetato de etila em hexano, para se obter o FI isopentila (rendimento de 55%) (SHI et al., 2012). Foi emulsionado com Tween 80 0,05% (Sigma Chem. Co. St. Louis, Missouri, EUA) dissolvida em solução salina 0,9% (veículo) e administrado por via intraperitoneal nas doses de 25 mg/kg, 50 mg/kg, 75 mg/kg e 150 mg/kg para os testes comportamentais, diazepam (DZP) com dose 1 mg/kg (Union Chemical, Brasil) foi utilizado como droga padrão. O grupo controle negativo recebeu veículo com dose de 10 mL/kg, via intraperitoneal.

Animais: Foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) da linhagem Swiss machos e fêmeas (25-30 g) albinos, pesando entre 25 e 30 g, com aproximadamente 2 meses de idade, provenientes do Biotério do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí (UFPI). Todos os animais foram mantidos a uma temperatura controlada (26 ± 1 °C) e um ciclo de claro/escuro de 12 h, os animais tiveram livre acesso à água e ao alimento. Os grupo controle tratado com o veículo, três grupos tratados com doses do FI a 25 mg/kg, 50 mg/kg, 75 mg/kg e 150 mg/kg, respectivamente, bem como o grupo da droga de referência foi tratada com DZP 1 mg/kg. Todos os grupos foram tratados por via intraperitoneal (i.p.) 30 minutos antes dos

testes. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animais da Universidade Federal do Piauí (Nº 030/13).

Teste de toxicidade com Artemia salina: Foi utilizada metodologia descrita por Meyer e colaboradores (1982).

Avaliação antioxidante in vitro: Para o método DPPH•, foi utilizada a metodologia descrita por Silva, Menezes e Eleutherio (2005). Para a determinação da capacidade antioxidante pelo método do ABTS•+, foi utilizada a metodologia descrita por Re e colaboradores (1999). Avaliação da capacidade antioxidante contra o radical hidroxila gerado pela reação de Fenton, foi utilizada a metodologia descrita por Lopes e colaboradores (1999). Na avaliação do óxido nítrico foi produzido a partir da decomposição espontânea de nitroprussiato de sódio (NPS) em 20 mM de tampão fosfato (pH 7,4). Uma vez gerado, o óxido nítrico interage com oxigênio para produzir íons nitrito, os quais foram medidos pela reação de Griess de acordo como o método de Basu e Hazra (2006). A determinação da capacidade antioxidante pela inibição da peroxidação lipídica, foi utilizado o método TBARS (substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico) segundo Guimarães e colaboradores (2010). Para a determinação do poder redutor do FI pela redução direta do ferricianeto de potássio (Fe^{3+}) para ferrocianeto de potássio (Fe^{2+}), foi utilizada a metodologia descrita por Singhal e colaboradores (2014).

Para avaliação da capacidade antioxidante pela inibição da hemólise dos eritrócitos de rato, foi utilizada a metodologia descrita por Ugartondo e colaboradores (2009). O grau de peroxidação lipídica foi mensurado por meio da determinação dos níveis de TBARS, método previamente descrito por Draper e Hadley (1990). Determinação do conteúdo de nitrito no hipocampo de camundongos submetidos ao teste de esconder esferas de acordo com (GREEN; TANNENBAUM; GOLDMAN, 1981). Avaliação da atividade da catalase no hipocampo de camundongos submetidos ao teste de esconder esferas foi determinada pelo método de LOWRY e colaboradores (1951). Determinação dos níveis de glutatona reduzida, da atividade da glutatona peroxidase e SOD (superóxido dismutase) no hipocampo de camundongos submetidos ao teste de esconder esferas (GRIFFITH, 1980).

Teste do campo aberto: Este teste foi realizado para avaliar a atividade exploratória do animal (ARCHER, 1973).

Teste da barra giratória (rota rod): O teste do Rota Rod mede o efeito de relaxamento muscular ou incoordenação motora produzidos por drogas em animais (CARLINI; BURGOS, 1979). O teste de esconder esferas descrito em ratos por Poling e colaboradores (1981). Na avaliação da possível atividade antiepiléptica, induzida por pentilenotetrazol e pilocarpina (FREITAS, 2009).

Análise Estatística

Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). Os dados obtidos foram avaliados por meio da análise de variância (ANOVA) seguida do teste *t*-Student-Neuman-Keuls como *post hoc* teste. Os grupos experimentais foram comparados com o grupo veículo. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

Os resultados demonstram que o FI não possui efeito tóxico frente a taxa de mortalidade sobre as artêmias, a capacidade antioxidante pela hemólise de eritrócitos dos ratos em todas concentrações testadas (3,4; 6,8; 13,6; 27,2 e 54,4 nM) apresentou ação antioxidante, o melhor efeito ansiolítico do FI foi observado na dose de 150 mg/kg pela redução de 88%; 93,17% e 94% o número de esferas escondidas ($p < 0,05$), quando comparados com os grupos diazepam, ácido ascórbico e o veículo. Esta redução foi observada após tratamento de forma aguda. O efeito ansiolítico do FI foi revertido pelo pré- tratamento com flumazenil

(2,5 mg/kg) da mesma forma como foi observado com o diazepam (1 mg/kg), sugerindo que estes medicamentos possuem um mecanismo de ação semelhante. O tratamento do FI reduziu o nível de peroxidação lipídica o conteúdo de nitrito, sugerindo um papel antioxidante ex vivo, além de que, ocorreu o aumento da atividade das enzimas catalase, superóxido dismutase e glutathione peroxidase no hipocampo dos camundongos, sugerindo que a sua função antioxidante pode ser devido à regulação positiva destas enzimas.

Em todos os resultados antioxidantes in vitro, o FI demonstrou ser potente na concentração de 54,4 nM, apresentando um percentual de inibição de $91,29 \pm 0,57$; $92,63 \pm 0,28$; $16,37 \pm 1,40$; $20,30 \pm 1,62$ e $18,8 \pm 1,57\%$ para o radical DPPH•, ABTS•+, hidroxila, óxido nítrico e da peroxidação lipídica, respectivamente. Em relação ao seu poder redutor houve um aumento da absorvância em 700 nm nas concentrações. Resultado semelhante foi obtido com o trolox, um análogo sintético hidrofílico do α -tocoferol, que é largamente usado como padrão antioxidante.

Os resultados revelados demonstram que o FI (25, 50, 75 e 150 mg/kg, i.p) não apresentaram efeitos sedativo e déficit muscular ($p > 0.01$), toda via, houve uma redução nas crises epilépticas como também um aumento na taxa de sobrevivência. Em todas as doses utilizadas, não apresentou atividade locomotora, sob o número de rearing e grooming no teste do campo aberto, sugerindo que não há ação sedativa. No rota rod não foi verificada alteração no tempo de permanência na barra giratória, nem mudanças no número de quedas, demonstrando que seus efeitos não se devem ao bloqueio neuromuscular periférico. Além disso, na maior dose de 150 mg/kg, o FI demonstrou uma proteção antiepiléptica significativa ($p < 0.05$) observada pelo número de crises epilépticas e a taxa de sobrevivência.

Conclusão

Baseado nos resultados obtidos e sobre a investigação dos efeitos farmacológicos relacionados ao FI pode ser sugerido propriedades farmacológicas como: antioxidante, ansiolítico e antiepiléptico.

Referências

- ALMEIDA, A.A.C.; COSTA, J.P.; CARVALHO, R.B.F.; SOUSA, D.P.; FREITAS, R.M. Evaluation of acute toxicity of a natural compound (+)-limonene epoxide and its anxiolytic-like action. **Brain Research**, v. 1448, p. 56-62, 2012.
- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: A review. **Animal Behaviour**, v. 21, p. 205-235, 1973.
- BARROS, H.M.; TANNHAUSER, S.L.; TANNHAUSER, A.L.; TANNHAUSER, M. The effects of GABAergic drugs on grooming behavior in the open field. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 74, p.339-344, 1994.
- BASU, S.; HAZRA, B. Evaluation of nitric oxide scavenging activity, In Vitro and Ex Vivo, of selected medicinal plants traditionally used in inflammatory diseases. **Phytotherapy Research**, v. 20, p. 896-900, 2006.
- CAMPELO, L.M.L.; SÁ, C.G.; ALMEIDA, A.A.C.; COSTA, J.P.; MARQUES, T.H.C.; FEITOSA, C.M.; SALDANHA, G.B.; FREITAS, R.M. Sedative, anxiolytic and antidepressant activities of Citrus limon (Burn) essential oil in mice. **Die Pharmazie**, v. 66, p. 1-5, 2011.
- CARLINI, E.A., BURGOS, V. *Screening* farmacológico de ansiolíticos: metodologia laboratorial e comparação entre o diazepam e o clorobenzapam. **Revista da Associação Brasileira de Psiquiatria**, v. 1, p. 25-31, 1979.
- DANTAS, M.C; DE OLIVEIRA, F.S.; BANDEIRA, S.M.; BATISTA, J.S.; SILVA, C.D.J.; ALVES, P.B.; ANTONIOLLI, A.R. MARCHIORO, M. Central nervous system effects of the crude extract of Erythrina velutina on rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v.94, p. 129–133, 2004.
- DRAPER, H.H., HADLEY, M. Malondialdehyde determination as an index of lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 421-431, 1990.
- DUNHAM, N.W.; MIYA, T. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. **Journal of the American Pharmacists Association**, v. 46, p. 208-209, 1957.

- FREITAS, R.M. Investigation of oxidative stress involvement in hippocampus in epilepsy model induced by pilocarpine. **Neuroscience Letters**, v. 462, p. 225-229, 2009.
- GREEN, LC, TANNENBAUM, SR, GOLDMAN, P. Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. **Science**, v. 212, p. 56-58, 1981.
- GRIFFITH, O.W. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. **Analytical Biochemistry**, v. 106, p. 207–212, 1980.
- GUIMARÃES, A. G.; OLIVEIRA, G.F.; MELO, M.S.; CAVALCANTI, S.C.H.; ANTONIOLLI, A.R.; BONJARDIM, L.R.; SILVA, F. A.; SANTOS, J.P.A.; ROCHA, R.F.; MOREIRA, J.C.F.; ARAÚJO, A.A.S.; GELAIN, D.P. QUINTANS-JÚNIOR, L.J. Bioassay-guided Evaluation of Antioxidant and Antinociceptive Activities of Carvacrol. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 107, p. 949-957, 2010.
- ITAGAKI, S.; KUROKAWA, T.; NAKATA, C.; SAITO, Y.; OIKAWA, S.; KOBAYASHI, M.; HIRANO, T.; ISEKI, K. In vitro and in vivo antioxidant properties of ferulic acid: A comparative study with other natural oxidation inhibitors. **Food Chemistry**, v.114, p.466–471, 2009.
- LOPES, G. K. B.; SCHULMAN, H. M.; HERMES-LIMA, M. Polyphenol tannic acid inhibits hydroxyl radical formation from Fenton reaction by complexing ferrous ions. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1472, n. 1–2, p. 142-152, 1999.
- LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.
- MEYER, B.N.; FERRIGNI, N.R.; PUTNAM, J.E.; JACOBSEN, L.B.; NICHOLS, D.E.; MCLAUGHLIN, J.L. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 45, p.31-34,1982.
- PEREZ, R.M.G.; PEREZ, J.A.L.; GARCIA, L.D.M.; SOSSA, H.M. Neuropharmacological activity of *Solanum nigrum* fruit. **Journal of Ethnopharmacology**, v.62, p.43-48, 1998.
- PINTO, W. V. R.; KO, G. M. Teste de rotarod: contribuições no estudo das doenças neuromusculares, das síndromes extrapiramidais e das ataxias cerebelares. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório**, v. 1, p. 202-212, 2011.
- POLING, A.; CLEARY, J.; MONAGHAN, M. Burying by rats in response to aversive and non-aversive stimuli. **Journal of the Experimental Analysis of Behavior**, v. 35, p. 31-44, 1981.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.
- SÁ, C.G.; CARDOSO, K.M.F.; FREITAS, R.M.; FEITOSA, C.M. Efeito do tratamento agudo do óleo essencial de *Citrus sinensis* (L) Osbeck na aquisição da memória espacial de ratos avaliada no labirinto aquático de Morris. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, p. 211-215, 2011.
- SANTOS, P.S.; FREITAS, R.M. Atividades ansiolítica e anticonvulsivante de constituintes de óleos essenciais. **Revista Interdisciplinar**, v. 6, p. 105-111, 2013.
- SEDELIS, M.; SCHWARTING, R. K.W.; HUSTON, J. P. Behavioral phenotyping of the MPTP mouse model of Parkinson's disease. **Behavioural Brain Research**, v.125, p. 109–122, 2001.
- SHI, Z.H.; LI, N.G.; SHI, Q.P.; TANG, H.; TANG, Y.P. Design, Synthesis, and Preliminary Evaluation of Substituted Cinnamic Acid Esters as Selective Matrix Metalloproteinase Inhibitors. **Drug Development Research**, v. 73, p. 317–24, 2012.
- SILVA, F.O.; CERQUEIRA, G.S.; SABINO, E.B.; FEITOSA, C.M.; FREITAS, R.M. Central nervous system effects of Iso-6-spectraline isolated from *Senna spectabilis* var. *excelsa* (schrad) in mice. **Journal of Young Pharmacists**, v. 3, p. 232-236, 2011.

SILVA, J.F.M.; MENEZES, F.S.; ELEUTHERIO, E.C.A. Evaluation of antioxidant activity of Brazilian plants. **Pharmacological Research**, v. 52, p. 229-233, 2005.

SINGHAL, M.; PAUL, A.; SINGH, H. P. Synthesis and reducing power assay of methyl semicarbazone derivatives. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 8, p. 121–127, 2014.

SOUSA, D.P. Analgesic-like Activity of Essential Oils Constituents. **Molecules**, v. 16, p. 2233-2252, 2011. URBANIAK, A.; SZELA, M.; MOLSKI, M. Theoretical investigation of stereochemistry and solvent influence on antioxidant activity of ferulic acid. **Computational and Theoretical Chemistry**, v.1012, p.33–40, 2013.

ZENI, A.L.B.; ZOMKOWSKI, A.D.E.; MARCELO MARASCHIN, M.; RODRIGUES, A.L.S.; TASCA, C.I. Ferulic acid exerts antidepressant-like effect in the tail suspension test in mice: Evidence for the involvement of the serotonergic system. **European Journal of Pharmacology**, v. 679, p.68–74, 2012.

OR03 - Ensaios não clínicos com o aceturato de diminazeno: uma abordagem contra o agente infeccioso *Schistosoma mansoni* Sambon

George Laylson da Silva Oliveira (PG)¹; Rivellilson Mendes de Freitas (PQ)¹

1. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Piauí.

*georggeoliveira@outlook.com

Introdução

O diminazeno é uma diamidina aromática de origem sintética ligada por uma ponte triazeno e que pode ser denominado pelos nomes químicos 4-[2-(4-carbamimidoil fenil)iminohidrazinil]benzenocarboximidamida, 1,3 bis(4amidinofenil)triazeno, 1,3 bis(paraamidinofenil)triazeno, 4,4 diamidinodiazaminobenzeno, 4,4(diazamino)dibenzamidina e 4-[2-(4-carbamimidoil fenil)iminohidrazinil]benzenocarboximidamida (SCHOLAR, 2009). O diminazeno é composto também conhecido como aceturato de diminazeno quando é constituinte de uma formulação farmacêutica contendo dois compostos de sal de aceturato (**Ilustração 1**), na qual pode ser denominado quimicamente de 4,4'-(diamino) *dibenzamidinadiaceturato*, 4,4'-(diazamino)dibenzamidinadiaceturato e 2-acetamido acético; 4-[2-(4-carbamimidoil fenil)iminohidrazinil]benzenocarboximidamida (ČIMBORA-ZOVKO et al., 2011).

O aceturato de diminazeno possui uma longa história como agente quimioterápico comumente usado contra protozoários tripanossomatídeos que infectam principalmente animais domésticos (PEREGRINE; MAMMAN, 1993; ATSRIKU et al., 2002). A principal atividade atribuído a este composto tem sido contra os parasitas patogênicos do gênero *Trypanosoma* (*Trypanosoma congolense*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*), no qual, são conhecido por está presente como hospedeiro no sangue de vários mamíferos e por ser uma importante agente causador de doenças afetando regiões em áreas tropicais e subtropicais do mundo (ROTUREAU; VAN DEN ABEELE; 2013). Além da tripanossomose, o aceturato de diminazeno também é utilizado em alguns países do continente Africano para o tratamento de animais infectados por protozoários parasitas do gênero *Babesia* (VIAL; GORENFLOT, 2006; NEHRBASS-STUEDLI et al., 2011).

O agente antiparasitário aceturato de diaminazeno (C₁₄H₁₅N₇·2C₄H₇NO₃) é uma diamidina aromática que tem sido estudado com relação a seu potencial terapêutico para outras doenças e conseqüentemente tem despertado o interesse pelo desenvolvimento de novas pesquisas. Desta forma, o presente estudo teve por objetivo determinar a atividade antiparasitária *in vitro* do aceturato de diminazeno contra vermes adultos de *Schistosoma mansoni*, bem como sua toxicidade aguda em camundongos.

Material e Métodos

Estudo da toxicidade aguda em camundongos

Para a avaliação da toxicidade aguda, o aceturato de diminazeno em dose única (0, 1.000 e 2.000 mg/kg) foi administrado por via oral e intraperitoneal em camundongos *Swiss* e os parâmetros fisiológicos, bioquímicos, hematológicos e alterações no comportamento (atividade locomotora e coordenação motora) analisados (**Tabela 1**). Além destes procedimentos, o presente estudo determinou a toxicidade em *Artemia salina* (Meyer et al., 1982), capacidade hemolítica em eritrócitos de ratos (Ugartondo et al., 2009) e antioxidante *in vitro* contra o radical DPPH[•] (Oliveira et al., 2014), ABTS^{•+} (Re et al., 1999) e potencial redutor (Singhal et al., 2011). Os experimentos com animais foram realizados de acordo com o Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório, do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos EUA, Washington DC, 1985. Todos os experimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí (CEE/UFPI # 016/14).

Tabela 1. Grupos de animais para avaliação da toxicidade.

Grupo	Tratamento	Número e sexo
Via oral		
1	Controle (veículo)	5 machos e 5 fêmeas
2	Aceturato de diminazeno (1.000 mg/kg)	5 machos e 5 fêmeas
3	Aceturato de diminazeno (2.000 mg/kg)	5 machos e 5 fêmeas
Via intraperitoneal		
1	Controle (veículo)	5 machos e 5 fêmeas
2	Aceturato de diminazeno (1.000 mg/kg)	5 machos e 5 fêmeas
3	Aceturato de diminazeno (2.000 mg/kg)	5 machos e 5 fêmeas

Avaliação esquistomicida *in vitro* com *S. mansoni*

Parasitas de *S. mansoni* adultos foram cultivados em meio RPMI 1640 (pH 7,5) contendo 25 mM de HEPES (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) e suplementado com soro fetal bovino (10%), estreptomicina (200 µg/mL), penicilina (200 UI/mL) (Invitrogen). Em seguida, os parasitas foram distribuídos em placas de cultura de células com 24 poços (Techno Plastic Products, TPP, St. Louis, MO, USA) contendo 2 mL do meio RPMI 1640 e mantidos em uma estufa com 5% de CO₂ e a 37 °C. Os parasitas foram constantemente monitorados durante 120 h. O aceturato de diminazeno foi solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO 0.5 %, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) nas concentrações de 30,3, 60,6, 121,2, 242,5, 484,2 e 969,9 nM, as quais foram usadas para avaliação antiequistossomal *in vitro* em placas de culturas com um volume final de 2 mL (RPMI 1640). Simultaneamente, foi preparado um controle negativo com DMSO 0,5% em meio RPMI 1640 e um controle positivo com o PZQ (praziquantel) na concentração de 3,2 nM. Todo o procedimento experimental foi realizado em triplicate. Usando um microscópio invertido, os parâmetros da atividade esquistomicida avaliados foram taxa de mortalidade, redução na atividade motora (leve ou significativa), alterações tegumentares e capacidade reprodutiva (oviposição) pelos vermes *S. mansoni* durante o tratamento *in vitro* nos intervalos de 24, 48, 72, 96 e 120 h. Neste estudo, um verme de *S. mansoni* foi considerado morto na ausência de movimento por 1 minuto (MORAES, 2012).

Resultados e Discussão

Para a avaliação da toxicidade aguda, o aceturato de diminazeno em dose única (0, 1.000 e 2.000 mg/kg) foi administrado por via oral e intraperitoneal em camundongos *Swiss* e os parâmetros fisiológicos, bioquímicos, hematológicos e alterações no comportamento (atividade locomotora e coordenação motora) analisados. Além destes procedimentos, o presente estudo determinou a toxicidade em *Artemia salina*, capacidade hemolítica em eritrócitos de ratos e antioxidante *in vitro*. Os resultados obtidos com a administração aguda do aceturato de diminazeno indicaram alterações ($p < 0,05$) em alguns parâmetros

bioquímicos e hematológicos, interferiu no Sistema Nervoso Central pela redução da capacidade comportamental (atividade locomotora e coordenação motora) e provocou a morte de camundongos de ambos os sexos. Neste estudo também foi observado que camundongos fêmeas tratados por via oral são mais suscetíveis ao aceturato de diminazeno na dose de 1.000 mg/kg e principalmente na dose de 2.000 mg/kg, na qual, foi observado uma taxa de mortalidade três vezes maior (60%).

Em relação a exposição ao aceturato de diminazeno por meio da via intraperitoneal, 100% dos animais de ambos os sexos tratados nas doses de 1.000 e 2.000 mg/kg morreram apresentando vários sinais de toxicidade. Diferentemente do observado em camundongos, o aceturato de diminazeno não foi tóxico para as *A. salina* e apenas foi observado taxa de mortalidade a partir de 72 horas de exposição. Além da baixa toxicidade em *A. salina*, o aceturato de diminazeno não demonstrou ser citotóxico pelo rompimento das membranas das bicamadas lipídicas de eritrócitos de ratos. Os resultados antioxidantes *in vitro* indicaram baixa capacidade antioxidante contra os radical radicais DPPH• e ABTS•+, bem como a sua capacidade de transferir elétrons pelo potencial redutor. Para a avaliação da atividade esquistocida *in vitro*, os resultados obtidos demonstraram que o aceturato de diminazeno nas concentrações de 242,5, 484,2 e 969,9 nM provocou uma redução da atividade motora e elevada taxa de mortalidade dos vermes *S. mansoni* ($p < 0,05$).

Os resultados também demonstraram que o aceturato de diminazeno tem a capacidade de separar todos os casais adultos de *S. mansoni* (inibição da oviposição) e na análise por microscopia confocal a laser foram observadas alterações morfológicas na superfície de vermes machos de *S. mansoni* como desintegração de tubérculos.

Conclusão

O presente estudo demonstrou que o aceturato de diminazeno induziu vários sinais de toxicidade quando administrado por via oral e intraperitoneal em dose única (1.000 e 2.000 mg/kg) ao longo de um período de tempo de 14 dias em camundongos e também descreveu uma nova atividade farmacológica contra vermes adultos de *S. mansoni in vitro* por meio de observações nos parâmetros de mortalidade, redução na atividade motora, alterações tegumentares e oviposição.

Referências

- ATSRIKU, C.; WATSON, D. G.; TETTEY, J. N. A.; GRANT, M. H.; SKELLERN, G. G. Determination of diminazene aceturate in pharmaceutical formulations by HPLC and identification of related substances by LC/MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 30, n. 4, p. 979-986, 2002.
- ČIMBORA-ZOVKO, T.; BROZOVIC, A.; PIANTANIDA, I.; FRITZ, G.; VIRAG, A.; ALIČ, B.; MAJCE, V.; KOČEVAR, M.; POLANC, S.; OSMAK, M. Synthesis and biological evaluation of 4-nitro-substituted 1,3-diaryltriazenes as a novel class of potent antitumor agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, n. 7, p. 2971-2983, 2011.
- OLIVEIRA, G.L.S.; OLIVEIRA, F.R.A.M.; ALENCAR, M.V.O.B.; JUNIOR, A.L.G.; ARAUJO, A. S.; CAVALCANTE, A.A.C.; FREITAS, R.M. Evaluation of antioxidant capacity of the aqueous extract of *Cynara scolymus* L. (Asteraceae) *in vitro* and in *Saccharomyces cerevisiae*. **African Journal of Pharmacy and**, v. 8, n. 5, p. 136-147, 2014.
- MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. **Planta Medica**, v. 45, n. 05, p. 31-34, 1982.
- MORAES, J. Antischistosomal natural compounds: present challenges for new drug screens. **Current Topics in Tropical Medicine, Dr. Alfonso Rodriguez-Morales (Ed.), ISBN**, p. 978-953, 2012.
- NEHRBASS-STUEDLI, A.; BOYKIN, D.; TIDWELL, R. R.; BRUN, R. Novel Diamidines with Activity against *Babesia divergens* In Vitro and *Babesia microti* In Vivo. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 7, p. 3439-3445, 2011.
- PEREGRINE, A. S.; MAMMAN, M. Pharmacology of diminazene: a review. **Acta Tropica**, v. 54, n. 3-4, p. 185-203, 1993.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231-1237, 1999.

ROTUREAU, B.; VAN DEN ABEELE, J. Through the dark continent: African trypanosome developments in the tsetse fly. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 3, 2013

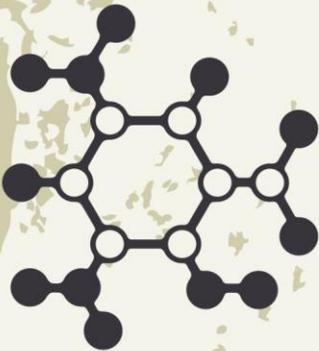
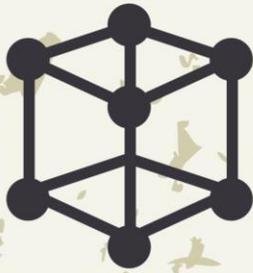
SCHOLAR, E. Diminazene. In: EDITORS-IN-CHIEF: , S. J. E. e DAVID, B. B. (Ed.). **xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference**. New York: Elsevier, 2009. p.1-4.

SINGHAL, M.; PAUL, A.; SINGH, H. P. Synthesis and reducing power assay of methyl semicarbazone derivatives. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 18, n. 2, p. 121-127, 2014.

VIAL, H. J.; GORENFLOT, A. Chemotherapy against babesiosis. **Veterinary Parasitology**, v. 138, n. 1–2, p. 147-160, 2006.

Agradecimentos

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Lapnex (Laboratório de Pesquisa em Neuroquímica Experimental).



Realizadores

Patrocinadores

